



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***STYRAX OFFICINALIS* EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİNİN YEŞİL SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜLYA KARATAŞ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN GÜLEÇ

ÇANAKKALE – 2025



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**STYRAX OFFICINALIS EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN
YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜLYA KARATAŞ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN GÜLEÇ

ÇANAKKALE – 2025



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Hülya KARATAŞ tarafından Dr. Öğretim Üyesi Neslihan GÜLEÇ yönetiminde hazırlanan ve **29/01/2025** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “*Styrax officinalis* Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerinin Yeşil Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan GÜLEÇ

(Danışman)

Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

Doç. Dr. Kaan HÜRKAN

İmza

.....

.....

.....

Tez No : 10705717

Tez Savunma Tarihi : 29/01/2025

.....

Prof. Dr. Melis ULU DOĞRU

Enstitü Müdürü

../.../2025

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Hülya KARATAŞ

29/01/2025

TEŞEKKÜR

Çalışmam esnasında bana danışmanlık yapan ve katkılarını sunan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan GÜLEÇ hocama içtenlikle teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından ötürü Uzman Biyolog Büşra DALGIÇ, İrem AKYOL, Sultan SÜCÜ'ye teşekkür ederim. Aileme yanımda oldukları ve verdikleri destek için minnettarım. Ayrıca bu çalışmaya tekrar başlamam için beni teşvik edip cesaretlendiren arkadaşım Sevgi ACARCA'ya da teşekkürü bir borç bilirim.

Hülya KARATAŞ
Çanakkale, Ocak 2025

ÖZET

STYRAX OFFICINALIS EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hülya KARATAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan GÜLEÇ

29/01/2025, 61

Nanopartiküller, nanoteknolojinin bir parçası olarak, küçük boyut, yüzey hacim oranı, iletkenlik gibi özellikleriyle ön plana çıkmaktadırlar. Nanopartiküllerin sentezinde çevre dostu, düşük maliyetli, uygulaması kolay bir yöntem olan yeşil sentez geleneksel yöntemlere göre tercih sebebi olmaktadır. Birçok alanda kullanımı tercih edilen nanopartiküllerden biri de gümüş nanopartiküllerdir. Bu çalışmada Styracaceae familyasına ait halk tarafından ayı fındığı, tespih ağacı, tesbi olarak adlandırılan *Styrax officinalis* bitkisinin sulu yaprak ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi yapıldı. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis Spektroskopisi (UV-Vis), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstrakt ve AgNP'lerin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik, DNA kırma aktiviteleri belirlendi. Antimikrobiyal aktivite analizinde, broth mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri ile ekstrakt ve AgNP'lerde antimikrobiyal aktivite belirlendi. Antibiyofilm aktivite mikropilak metodu ile çalışıldı ve AgNP'lerin *Bacillus subtilis* bakterisine karşı en yüksek antibiyofilm aktivite gösterdiği gözlemlendi. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi ve ABTS^{•+} Katyon Radikali Giderme yöntemleri ile antioksidan aktivitesi çalışıldı. Ekstraktın AgNP'lerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görüldü. Ames/*Salmonella* testi ile *Salmonella typhimurium*'a ait iki suş olan TA98 ve TA100 kullanılarak mutajenik aktivitesi incelendi. Ekstrakt ve AgNP'lerin mutajenik aktiviteye sahip olmadığı görüldü. DNA kırma aktivitesini araştırmak için agaroz jel

elektroforez yöntemi kullanıldı. Oksitleyici ajan, H₂O₂ (Hidrojen peroksit) varlığında ekstrakt ve AgNP'ler DNA kırma aktivitesi gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Styrax officinalis*, Gümüş Nanopartikül, Yeşil Sentez, Biyolojik Aktivite.



ABSTRACT

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING *STYRAX OFFICINALIS* EXTRACT, THEIR CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES

Hülya KARATAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Neslihan GÜLEÇ

29/01/2025, 61

Nanoparticles, as a part of nanotechnology, stand out with their properties such as small size, surface volume ratio, and conductivity. Green synthesis, which is an environmentally friendly, low-cost, and easy-to-apply method in the synthesis of nanoparticles, is preferred over traditional methods. One of the nanoparticles preferred in many areas is silver nanoparticles. In this study, silver nanoparticles (AgNP) were synthesized by green synthesis method using the aqueous leaf extract of *Styrax officinalis* plant, which belongs to the Styracaceae family and is commonly known as bear hazelnut, tesbih tree, and tesbi. UV-Vis Spectroscopy (UV-Vis), Scanning Electron Microscopy (SEM), and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) methods were used to characterize the synthesized AgNPs. The antimicrobial, antibiofilm, antioxidant, mutagenic, and DNA breaking activities of the extract and AgNPs were examined. In the antimicrobial activity analysis, broth microdilution method was used. Antimicrobial activity in extracts and AgNPs was determined with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value. Antibiofilm activity was studied by microplate method and it was observed that AgNPs showed the highest antibiofilm activity against *Bacillus subtilis* bacteria. Antioxidant activity was studied by DPPH Radical Scavenging and ABTS•+ Cation Radical Scavenging Activities methods. It was found that the extract had higher antioxidant capacity than AgNPs. Mutagenic activity was investigated using two strains of *Salmonella typhimurium*, TA98 and TA100, with Ames/*Salmonella* test. It was seen that the extract and AgNPs did not have mutagenic

activity. Agarose gel electrophoresis method was used to investigate DNA cleavage activity. In the presence of H₂O₂ (Hydrogen peroxide), which as an oxidizing agent, the extract and AgNPs showed DNA cleavage activity.

Keywords: *Styrax officinalis*, Nanoparticle, Green Synthesis, Silver Nanoparticle.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
BİRİNCİ BÖLÜM	
GİRİŞ	1
İKİNCİ BÖLÜM	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Nanoteknoloji	3
2.2. Nanopartiküller	4
2.2.1. Karbon Bazlı Nanopartiküller	4
2.2.2. Kuantum Noktaları	5
2.2.3. Metalik Nanopartiküller	5
Gümüş Nanopartiküller	6
2.3. Nanopartikül Sentez Yöntemleri	9
2.3.1. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi	9
2.3.2. Bitki Ekstraktları Kullanılarak Nanopartikül Sentezi	10
2.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu	11
2.4.1. UV-Vis Spektroskopisi.....	11
2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS).....	11
2.5. Biyolojik Aktiviteler.....	12

2.5.1.	Antimikrobiyal Aktivite.....	12
2.5.2.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK).....	13
2.5.3.	Antibiyofilm Aktivite.....	14
2.5.4.	Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.....	14
	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Süpürme Aktivitesi	16
	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS ⁺) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi.....	17
2.5.5.	Mutasyonlar.....	17
2.5.6.	Mutajenik Aktivite.....	18
	Ames/ <i>Salmonella</i> Testi.....	19
2.5.7.	DNA Kırma Aktivitesi.....	20
2.6.	<i>Styrax officinalis</i>	21
2.7.	Önceki Çalışmalar.....	23
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM		28
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM		
3.1.	<i>Styrax officinalis</i> Yaprak Ekstraktının Eldesi	28
	3.1.1. GC-MS Analizi (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi).....	28
3.2.	Yeşil Sentez Yöntemi ile Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi.....	28
3.3.	Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	29
	3.3.1. UV-Vis Spektroskopisi Analizi.....	29
	3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi.....	29
3.4.	Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi.....	29
	3.4.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)	30
3.5.	Nanopartiküllerin Antibiyofilm Aktivitelerinin İncelenmesi.....	30
3.6.	Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi	31
	3.6.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Süpürme Aktivitesinin İncelenmesi	31
	3.6.2. ABTS ⁺ Katyon Radikali Giderme Aktivitesi İncelenmesi	31
3.7.	Ames/ <i>Salmonella</i> Testi ile Mutajenik Aktivitesinin Belirlenmesi	32
3.8.	Nanopartiküllerin DNA Kırma Aktivitesinin İncelenmesi	32

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

	33
4.1. GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) Analiz Sonuçları.....	33
4.2. AgNP'lerin Karakterizasyonu.....	34
4.2.1 AgNP'lerin Morfolojik Karakterizasyonu.....	34
4.2.2. UV/Vis Spektroskopisi Analizi Sonuçları	35
4.2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi(EDS) Analizi Sonuçları	35
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	37
4.3.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları Değerlendirilmesi	37
4.4. Antibiyofilm Aktivite Sonuçları	39
4.5. Antioksidan Aktivite Sonuçları	40
4.5.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Süpürme Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	40
4.5.2. ABTS ^{•+} Katyon Radikali Giderme Aktivitesi İncelenmesi	42
4.6. Mutajenik Aktivite Sonuçları	43
4.7. DNA Kırma Aktivitesi Sonuçları	44

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

	46
5.1. Sonuç ve Öneriler	46
KAYNAKÇA	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS•+	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit)
Ag	Gümüş
AgNP	Gümüş Nanopartikül
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
AuNP	Altın Nanopartikül
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EDS	Enerji Dağılım Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HBA	Histidin/Biyotin/Ampisilin Agar
HB	Histidin/Biyotin Agar
HCl	Hidroklorik Asit
IC ₅₀	İnhibisyon Konsantrasyonu
MGA	Minimal Glikoz Agar
MHB	Mueller Hilton Broth
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	Mililitre
NaOH	Sodyum Hidroksil
Nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
NPD	4- Nitro- <i>o</i> -Fenilendiamin
pH	Hidrojen Potansiyeli
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SA	Sodyum Azid
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu

Tris	(Tris-Hidroksimetil)-Aminometan
TSB	Tryptic Soy Broth
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole Görüntüleme Spektroskopisi
Mg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
%	Yüzde
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad Derece



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1.	<i>S. officinalis</i> yaprak özütü fitokimyasal bileşenleri.	33
Tablo 2.	Ekstrakt ve AgNP'nin minimum inhibisyon konsantrasyonu değerleri.	38
Tablo 3.	Ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm % inhibisyon değerleri.	39
Tablo 4.	Ekstrakt ve AgNP'nin % DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi.	41
Tablo 5.	Ekstrakt ve AgNP'nin ABTS ^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi (%).	42
Tablo 6.	Ekstrakt ve AgNP'nin Ames/ <i>Salmonella</i> testi ile mutajenik aktivitesi.	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1.	AgNP'lerin sentez sonrası renk değişimi görüntüsü	34
Şekil 2.	Gümüş nanopartiküllerin UV-Vis spektroskopisi.	35
Şekil 3.	Gümüş nanopartiküllerin SEM analizi.	36
Şekil 4.	Gümüş nanopartiküllerin EDS spektroskopisi.	36
Şekil 5.	Ekstrakt ve AgNP'lerin % DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi.	40
Şekil 6.	Ekstrakt ve AgNP'lerin % ABTS•+ kation radikali giderme aktivitesi.	42
Şekil 7.	Ekstrakt DNA kırma aktivite analizi AgNP DNA kırma aktivite analizi.	44
Şekil 8.	AgNP DNA kırma aktivite analizi.	45

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Nanopartiküller (NP), önemli ölçüde küçük boyutları nedeniyle yeni nanoteknoloji çağına ait malzemeler olarak tanınmaktadır. Cüce manasına karşılık gelen “nano” esasen Yunanca asıllı bir kelimedir. Nanoteknolojik ürünler nanoparçacıklardan oluşmaktadır. Nanopartiküller 1-100 nm arasındaki materyalleri ifade etmekte, nanoteknoloji de bu boyutta ürünler elde etmeyi hedeflemekte, nanoboyutta maddelerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini kontrol etmek amacıyla atomik düzeyde değişiklikler yapılması ve işlevselleştirilmesi yeni sistemler cihazlar geliştirilmesini kapsamaktadır (Erdoğan vd., 2019; Yanık, 2019). Yarı iletken fiziği, organik kimya, moleküler biyoloji, tıp, biyoteknoloji, malzeme bilimi, mühendislik gibi birçok alanı içinde barındıran multidisipliner bir bilim dalı olarak nitelendirilebilir.

Nanopartiküller doğal kaynaklı olabileceği gibi insan üretimi sonucu da elde edilebilmektedirler. Fiziksel ve kimyasal yöntemler ile nanopartikül sentezlenmesi sürecinin uzun sürmesi, işlem maliyetinin yüksekliği gibi dezavantajlar ve doğaya zarar vermeyen yaklaşımların arayışı bilim insanlarını geleneksel yöntemlerden farklı bir yöntem aramaya itmiştir, bu amaçla, doğadaki canlı organizmaların sahip olduğu yeteneklerden esinlenerek, inorganik maddeleri biyolojik sistemler kullanarak üreten, insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olmayan, çevre dostu olarak nitelendirilen, "yeşil nanoteknoloji" kavramı ortaya çıkmıştır (Duncan, 2011). Yüksek basınç, sıcaklık ve zararlı kimyasalların kullanımı yerine, doğal kaynakların kullanıldığı yeşil sentez yöntemleriyle nanopartikül üretimi, daha temiz ve sürdürülebilir bir alternatif sunar, enerji tüketimi az olup daha az atık üretilir. Canlı organizmalarla etkileşime girecek birçok uygulamada nanopartiküller kullanılır ve bu nedenle nanopartikül üretiminde toksik kimyasallardan kaçınılmalıdır. Biyolojik sentezde algler, bitkiler, mantarlar, mayalar, bakteri ve virüsler kullanılabilir. Mikrobiyal araçlar kullanılarak gerçekleştirilen nanopartikül sentezi pahalı bir yöntemdir ve endüstriyel açıdan uygulanabilir değildir bu da NP sentezinde bitkilerin tercih edilmesine olan ilgiyi arttırmıştır.

Nano boyutlu malzemeler kimyasal kompozisyonlarına göre; karbon bazlı nanopartiküller (fullerenler ve karbon nanotüpler), kuantum noktaları (nanokristaller), metal içeren nanopartiküller (demir, bakır, gümüş, demiroksit, titanyum dioksit gibi) olarak 3 grupta sınıflandırılmaktadır (Ateş vd., 2013).

Metalik nanopartikül olan gümüş nanopartikül (AgNP) nanoteknolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. Sürdürülebilir bir yöntem olan yeşil sentez sayesinde elde edilen AgNP'ler doğa dostu niteliğindedir. AgNP'ler, sağlık endüstrisi, gıda depolama, tekstil kaplamaları, antibakteriyel yüzey kaplamaları ve çevresel uygulamalar gibi birçok alanda antibakteriyel ajan olarak, tarım ve tıp alanındaki çalışmalarda antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve antiviral amaçlarla da kullanılmaktadırlar (Duncan, 2011). Kansere tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçlarının nanopartikül ile taşınması ile ilgili çalışmalar yürütülmekte özellikle altın ve gümüş nanopartiküller bu konudaki çalışmalara olanak sağlamaktadır (Khan vd., 2017).

Styrax officinalis bitkisi Styracaceae familyasına ait olup ülkemizde Kuzey, Güney ve Batı Anadolu'da yayılış göstermektedir (Cesur vd., 2018). Bitkinin değişik kısımlarından elde edilen ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Proestos vd., 2006).

Bu tezin amacı halk arasında ayı fındığı, tespih ağacı olarak isimlendirilen *S. officinalis* L. yapraklarının sulu ekstraktının ve yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonunu ve biyolojik aktivitelerini belirlemektir.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Nanoteknoloji

Nanoparçacıklar, üç boyutundan en az birinde 1 ila 100 nm arasında değişen çaplara, yüzey alanı/hacim oranları sayesinde kimyasal kararlılık, termal iletkenlik, optik performansa sahip parçacıklar olarak karakterize edilir (Khan vd. 2016; Kolahalam vd., 2019). Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI), nanoteknolojiyi açıklarken nano boyutlu maddelerin ifadesi, kontrolü, incelenmesinin yanı sıra yeni farklı malzemeler ve üretim yöntemlerini gerçekleştirebilen bir bilim dalı olarak tanımlanmıştır (Denkbaş, 2015). Hayatımızda birçok alanda yer alan nanoteknoloji çeşitli sektörlerde kullanım alanı bulmaktadır ve bu hızlı ilerleyiş ile gelecekte yaşamımızda büyük değişimlere yol açacaktır. Kullanım alanları arasında; elektronik ve bilişim, sağlık, havacılık ve uzay, çevre, gıda, tıp, tekstil, otomotiv, tarım gibi sektörler yer almaktadır (Ali vd., 2021; Ergül ve Çakır, 2023).

Nanoparçacıkların yüksek yüzey alanı ve reaktivitesi sayesinde, su arıtma süreçlerinde, mikroorganizmaların, ağır metaller ve organik kirleticilerin giderilmesi büyük ölçüde sağlanabilmektedir (Theron vd. 2008). Kullanmakta olduğumuz ve gelişmekte olan nanoteknolojik uygulamalara optik fiberler, güneş kremleri, antimikrobiyaller, yakıt ve güneş pilleri, çizilmelere karşı dayanıklı kaplamalar, termal sprey kaplamalar, otomotiv katalizörleri gösterilebilir (Rittner, 2002). Nanoparçacıklar, tekstil endüstrisinde pamuklu kumaşlara renklendirme, leke tutmama, kendi kendini temizleme, antimikrobiyal, UV koruma gibi özellikleri ile daha fonksiyonel bir yapının kazandırılması amaçlı eklenmektedir (Kundu vd., 2022). Nano içerikli ambalajların kullanılması gıdaların paketlenip, raf ömürlerinin uzatılması, UV ışınlarının etkisinin azaltılması ve gıda güvenliği adına etkili bir yaklaşım oluşturmaktadır (Shawon vd., 2020). Nanomalzemelerin sergilediği yüzey oksidasyonu, toksik iyon salınımı ve fototermal reaksiyonlar, viral partikül hücre etkileşimlerini bozarak viral bulaşma sürecini olumsuz etkilemekte ve bu sayede etkili bir antiviral strateji sunmaktadır (Balagna vd., 2020).

2.2 Nanopartiküller

Nanopartiküllerin küçük boyutları, yüzey alanı/hacim oranı gibi özellikleri onlara benzersiz özellikler kazandırır. Bir nanometrede sadece iki üç atom birlikte yer alabilmektedir. Nanopartiküler elektriksel, optik, manyetik ve mekanik özellikler gibi çeşitli yönleriyle değişkenlikler sergilerler. Doğal optik özellikleri nedeniyle nesne, boyutlarına bağlı olarak görünür spektrumda değişen tonlar sergilemektedir. Nanopartiküller tipik olarak karbon bazlı nanopartiküller, kuantum noktaları ve metal içeren nanopartiküller olarak kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılır (Ateş vd., 2013).

2.2.1. Karbon Bazlı Nanopartiküller

Karbon nanoteknolojisinin başlangıcı, bilim camiasının ünlü mimar Buckminster Fuller'ın adını taşıyan C60 Buckminsterfullerene'nin tanımlanmasıyla önemli bir atılım yaptığı 1960'lara kadar uzanabilir. Fulleren ve karbon nanotüpleri (CNT'ler), birincil karbon bazlı nanopartikülleri temsil eder. Fullerenler, karbon atomlarını kendi çerçeveleri içinde kapsülleyen içi boş, kafes benzeri yapılardan oluşan kendine özgü morfolojileriyle karakterize edilmektedir. Karbon nanotüpler, grafen tabakalarından oluşan silindirik yapıları ile karakterize edilen bir tür karbon allotropudur. Söz konusu nanotüpler, bir C60 molekülünün iki eşit parçaya bölünmesi ve iki yarı arasına bir grafen silindirin yerleştirilmesiyle oluşturulan bir karbon nanotüp mimarisi olarak kavramsallaştırılabilir. Doğal dayanıklılığı, hafif yapısı ve elastik özellikleri nedeniyle bu malzeme elektronik, optik, polimer ve seramik kompozit yapılar dahil olmak üzere çeşitli alanlarda uygulama alanı bulmaktadır (Harris, 2004). Karbon nanomateryal sınıfında yer alan karbon noktalardan tetrasiklin grubu antibiyotiklerin hızlı şekilde tespitinin yapılabilmesi amaçlı floresan sensörler geliştirilmiş ve musluk suyu, süt gibi numune örneklerinden tetrasiklinin tespitinin yapılabilmesi sağlanmıştır (Fan vd., 2022).

2.2.2.Kuantum Noktaları

Yarı iletken nanokristaller olup 2-10 nm aralığında çapa sahiptirler. Periyodik cetvelde II-VI ve III-V gruplarında yer alan elementlerin birleşmesi ile ortaya çıkmaktadırlar. Floresans görüntüleme, çeşitli lazerler, güneş pilleri ve biyolojik tedavilerin yer aldığı farklı alanlarda kullanılmaktadırlar (Vardar vd., 2018). Çevresel konularda ve gıda alanında kuantum partiküller kullanılabilen ve üretilen yeni malzemelerin birçok sorun için yeni çözümler sunabileceği belirtilmektedir (Saman, 2022).

2.2.3. Metal İçeren Nanopartiküller

Metalik nanopartiküller, genellikle metal ya da metal oksit çekirdekleri üzerine organik veya inorganik bir kabukla kaplanmış nanopartiküllerdir (Khan, 2020). Metalik nanopartiküller, altın, gümüş, platin, selenyum, demir, bakır ve çinko dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli saf metallere oluşan bir inorganik nanopartikül sınıfıdır. Yüzey/hacim oranlarının yüksek, erime sıcaklıklarının düşük olması gibi avantajları sebebiyle manyetik ve optik özelliklere sahip nano malzemelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Metal nanopartiküller, bir dizi farklı biyomedikal uygulamada kullanılmaktadır bu alanlar ilaç dağıtımını, kanser tedavileri, tıbbi teşhis ve sensörler, atık su arıtımını, malzeme bilimi, nano tıp, elektronik, kozmetik ve gıda sektörlerindeki içermektedir (Erci, 2018).

Crataegus monogyna meyve özütünden sentezlenen altın nanopartiküllerin (AuNP) bakteri ve mantarlar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Baran vd., 2022). *Lemna minor* bitki ekstraktından sentezlenen demir nanopartiküllerin atık sulardan ağır metal temizlenmesi için değerlendirilmesi yapılmış orta düzey tuzlu sularda etkinliği gözlemlenmiştir (Oğuzperdahçi, 2019). Yara tedavilerinde titanyum nanopartiküllerin (TiNP) kullanıldığı bildirilmiştir (Sivaranjani vd., 2016). *Plantago lanceolata* bitkisi su ekstraktından sentezlenen demir nanopartiküllerin (FeNP) antioksidan, antikanser aynı zamanda antimikrobiyal etkinlikler sergiledikleri görülmüştür (Gökdağ, 2021).

Rezin içeren protezler, maksilofasiyal protezler, implantlar, kompozitler gibi diş hekimliği uygulamalarında dental tedavi amaçlı kullanılmakta olan malzemelere daha iyi özellikler kazandırılmak amaçlı günümüzde gümüş nanopartiküller (AgNP), silisyum dioksit (SiO₂), titanyum dioksit (TiO₂), zirkonyum dioksit (ZrO₂) gibi nanopartiküller kullanılmaktadır (Agnihotri vd., 2020). Kozmetik alanında çinko oksit nanopartikülleri (ZnONP), güneş koruyucu ürünlerin etkinliğini artırmakta ve ürünlerin estetik özelliklerini de iyileştirerek yeni formülasyonların geliştirilmesine imkan tanımaktadır (Kayacı ve Andaç, 2024).

Gümüş Nanopartikülleri

Gümüş geçmiş zamanlardan bu yana farklı amaçlarla kullanılmış olup çeşitli medeniyetler gümüşün antibakteriyel özelliğini keşfettiklerinde yiyeceklerin muhafazasını gümüş kaplar içinde sağlamışlardır. Gümüş iyonu yüksek antimikrobiyal aktivitesi ve insan vücudu üzerindeki düşük toksisitesiyle öne çıkar. Gümüş paraların süte atılması ile sütün muhafazasının sağlandığı bilinmektedir. Kolloidal gümüş yara tedavilerinde, ciltte, boğaz ağrılarında ve bakteriyel enfeksiyonlarda etkili bir biçimde kullanılmıştır. Yeterli süre kullanıldığında ve etkileşim olduğu durumlarda kolloidal gümüşün allerji, apandisit, sistit, dizanteri vb. çok sayıda hastalık üzerinde etki ettiği bilinmektedir (Bulut, 2007).

Gümüş, penisilin antibiyotiğinin keşfedilmesinden önce göz damlası olarak kullanılmış ayrıca yanık tedavilerinde de yer almıştır. Antibiyotiklerin hayatımıza girişi ile kullanımı azalmış fakat nanopartikül çalışmaları ile tekrar kullanımına ilgi artmıştır. Gümüşün bakteriler üzerine etki mekanizmasında bakteri DNA'sı üzerine etki ederek bakterilerin üremesini engellediği ya da enzimlerin tiyol grupları ile etkileşim sağlayarak bu grubu etkisiz konuma getirmek gibi bir çalışma mekanizmasına sahip olduğu kanısı hakimdir. Liao vd. (1997), tiyol gruplarına sahip aminoasitler ve tiyol grubu içermeyen aminoasitlerle Ag iyonlarının etkisi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Gümüş iyonlarının tiyol gruplarına bağlandığını gözlemlemişlerdir. Tiyol grupları ile girilen bu etkileşim sonucu solunum enzimleri inhibe olmakta ve mikroorganizmanın ölümü gerçekleşmektedir.

AgNP'ler, son derece küçük boyutlarda olan gümüş parçacıklarıdır ve nanoteknoloji de kullanımları yaygındır. AgNP'lerin başta gelen nitelikleri arasında büyük yüzey alanı ve büyük yüzey/çap oranı ön plana çıkmaktadır. AgNP'ler mikroorganizmaların zar yapılarına zarar veren reaktif oksijen türleri üretmesi ve bu reaktif oksijen türlerinin miktarının antioksidan kapasiteyi geçmesi durumunda protein, DNA, enzim, lipit yapıları üzerinde toksik etkiler oluştururlar (Eraslan, 2020).

Aynı zamanda mükemmel iletkenliğe sahip AgNP'ler optik ve antimikrobiyal özelliklere de sahiptir. Geniş kullanım yelpazesine sahip özellikleri, AgNP'leri birçok uygulama alanında kullanılabilir kılmaktadır. AgNP'ler, sağlık endüstrisi, gıda depolama, tekstil kaplamaları, antibakteriyel yüzey kaplamaları ve çevresel uygulamalar gibi birçok alanda antibakteriyel ajanlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalarda, *Pseudomonas fluorescens* mikroorganizmaları kullanılarak gümüş nanopartiküllerinin sentezlendiği ve ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı yaygın antibiyotiklerle bu biyosentetik nanopartiküllerin sinerjistik etkisinin gözlemlendiği ifade edilmektedir. Kanser hastalığında kullanılan tedavi biçimlerinden kemoterapi, radyoterapi gibi yöntemlere cevap vermeyen kanserli hücreler üzerine etkili olabilecek nanomalzeme üretim çalışmaları yapılmaktadır. Morones vd. (2005), 1-10 nm aralığındaki AgNP'lerin *Escherichia coli* bakteri hücre duvarına tutunarak geçirgenliğini bozduğunu sitoplazmada protein ve DNA ile etkileşime girdiğini, sitotoksik etkiye yol açtığını bildirmişlerdir.

Saintpaulia (Afrika menekşesi) yaprak özütünden AgNP'lerin sentezi yapılmış, antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, Gram pozitif bakteriler *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus subtilis* (DSMZ 1971), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (DSMZ 20044); Gram negatif bakteriler *Salmonella infantis*, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Salmonella typhimurium* kullanılmıştır. Sonuçlara bakıldığında AgNP'lerin 10 mM konsantrasyonda çalışılan bakteriler üzerinde bakteriyosidal etki gösterdiği *S. typhimurium* dışında, diğer bakterilere karşı 5 mM konsantrasyonda minimum

inhibe edici etki gösterdiği ve tüm konsantrasyonlarda AgNP'lerin biyofilm inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmüştür (Korkmaz, 2019).

Kalishwaralal vd. (2010), AgNP'lerin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerinin biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. AgNP'lerin *Prevotella melaninogenica* ve *Arcanobacterium pyogenes* üzerindeki anti-biyofilm aktiviteleri incelenmiş, AgNP'lerin *Prevotella melaninogenica* bakterisinin biyofilm aktivitesini %95, *Arcanobacterium pyogenes*'in biyofilm aktivitesini %90'dan fazla azalttığı gözlemlenmiştir (Gurunathan vd., 2018). AgNP'ler mayalar üzerinde antifungal etki göstermektedir mayaların hücre duvar yapısında bozulmaya yol açarlar, hidroksil radikali ve reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturarak ATP sentezini ve DNA replikasyonunu engellerler bu şekilde maya hücreleri üzerinde ölümcül etki oluştururlar (Koduru vd., 2018).

AgNP'lerin sivrisineklerin larvaları üzerinde etkiye sahip olduğu bu sayede larva kontrollerinde kullanılabilir olduğu bildirilmiştir. *Sterculia foetida* L. (Hint badem ağacı) tohum özütü kullanılarak elde edilen AgNP'ler *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* ve *Culex quinquefasciatus* sivrisinek larvalarına karşı larvasid etki göstermiştir (Rajasekharreddy ve Rani, 2014). AgNP'lerin *Sorghum bicolor* var. *technicum* bitkisi tohumlarından eldesi ile biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdikleri aynı şekilde güçlü antioksidan etki sergiledikleri bildirilmiştir (Dalgıç, 2022).

Elaeagnus angustifolia ekstraktı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, HeLa (Serviks adeno karsinom hücresi) ve PC3 (Prostat kanser hücre hattı) kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiği ve hücre ölümüne yol açtığı tespit edilmiştir. Bu etkinin, nanopartikül konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu görülmüştür (Erdoğan vd., 2021).

Beyaz çay yapraklarından yeşil sentez ile üretilen gümüş nanopartiküllerin, çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiş, elde edilen sonuçlar, nanopartiküllerin Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ile *Candida albicans* türüne karşı belirgin bir inhibisyon etkisi gösterdiğini ortaya koymuştur (Özdemir ve Doğru, 2022).

Chaerophyllum macrospermum bitkisinden sentez edilen AgNP'lerin antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir (Koçak, 2023).

2.3. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Nanopartikül (NP) sentezinde; yukarıdan aşağıya (Top-Down) ve aşağıdan yukarıya (Bottom-Up) olarak adlandırılan yaklaşımlar bulunmaktadır. Büyük malzemenin nanoboyuta ayrıştırılması yukarıdan aşağıya, atomik ya da molekül molekül birleştirilmesi sonucu nanoboyutta yapılar (1-100 nm) oluşturulması ise aşağıdan yukarıya yaklaşım yöntemidir. Nanopartikül sentezinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak 3 temel yöntemden faydalanılmaktadır. Fiziksel yöntemde daha çok tercih edilen Top-Down yaklaşımıdır ki; Top-Down malzeme boyutunun küçültülerek geldiği yöntemlere, mekanik öğütme, kimyasal aşınma, termal ablasyon/lazer ablasyon, elektro püskürtme, patlama prosesi örnek verilebilir (Erci, 2018). Top-Down yaklaşımı daha çok nanopartikül hazırlanmasına imkan sağlarken yeni ürün ortaya koymada yeterli olmamaktadır (Keskin, 2011). Kimyasal ve biyolojik yöntemi kapsayan Bottom-Up küçükten büyük yapılar inşa edilen yöntemlere, kimyasal/elektrokimyasal çöktürme, buhar biriktirme, atomik moleküler yoğunlaşma, sol jel prosesi, sprey prolizi, lazer prolizi, aerosol prosesi, biyoredüksiyon örnek verilebilir (Erci, 2018). Biyolojik yöntemde bitki, bakteri, alg, mantar gibi biyolojik öğelerden faydalanılıyor olması ile çevre dostu bir yaklaşım oluşturulmaktadır.

2.3.1. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

Yeşil sentez yöntemi ile boyut, şekil ve içerik olarak fizikokimyasal farklılıklara sahip nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Nanopartikül sentezinde kullanılan üç yöntemden biri olan biyolojik yöntem ile nanopartikül üretimi yeşil sentez olarak adlandırılmaktadır. Biyolojik yöntemin uygulanması kolay, çevreye olan zararı ise azdır bu sebeple çevre dostu olarak kabul görmektedir. Nanopartikül sentezi için kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerde toksik kimyasallar ile işlem yapılıyor olması biyolojik yöntemi daha ön plana çıkarmaktadır. Nanopartikül sentezinde bitkiler, bakteriler, algler, mantarlar, aktinomisetler kullanılabilir (Verma vd., 2021).

Alglerin metal iyonlarını indirgeyebilen metabolitler anlamında zengin olmaları ve metal iyon depolaması yapabilmeleri nanopartikül sentezinde kullanımında tercih sebebi oluşturmaktadır (Mutaf vd., 2023). Bakteriler, erişilebilirlikleri ve genetik manipülasyonlara uygun olmaları nedeniyle NP sentezi sürecinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Nanopartikül sentezi için sıkça kullanılan bakteriler arasında *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas proteolytica*, *Corynebacterium* sp. türleri yer almaktadır (Remya vd, 2017). Funguslar, hücre içi enzimler bulundurmaları sayesinde metal nanopartikül ve metal oksit nanopartiküllerin sentezi için verimli birer biyolojik ajandırlar (Singh vd., 2018).

2.3.2. Bitki Ekstraktları Kullanılarak Nanopartikül Sentezi

Son yıllarda hastalıkların tedavisinde bitkilerin kullanımına yönelim giderek artış göstermektedir. Bitkiler, eldesinin ucuz ve kolay olması, güvenli bir kullanım alanı oluşturması, işlem sürecinin basitliği, bitki çeşitliliğinin çok olması, sentezin hızlı gerçekleşmesi daha kararlı yapıya sahip nanopartiküllerin üretimi ile tercih sebebi olmakta bilim dünyasında ilgi görmekte çalışma konusu olmaktadır.

Metal iyonlarının bitkiler tarafından biriktirilmesi ve bitkilerin metal iyonlarını indirgeme özelliğine sahip olmaları metal nanopartikül sentezinde tercih edilme sebeplerindedir. Metalik nanopartikül sentezinde bitkilerin kullanılması sürecinde bitkiler de yer alan çeşitli proteinler, aminoasitler, vitaminler, enzim ve polisakkarit gibi moleküllerin aracılığı söz konusudur. Ayrıca bitkilerin yapısında yer alan saponinler, terpenoid, flavonoid, alkaloid gibi fitokimyasal metabolitler indirgeyici ajan olarak görev almaktadır (Pandit vd., 2022). Bitkilerin aracı edildiği NP sentezinde suyun çözücü olması, bu yöntemle üretilen nanopartiküllerin biyouyumlu olup toksik olmaması biyomedikal amaçlı olarak kullanımını arttırmaktadır (Singh vd., 2018). Bitkilerin kullanılması ile üretilen nanopartiküller, toksik kimyasallar içermediği için biyomühendislik, kozmetik, tarım, gıda, ayrıca tıp gibi çeşitli alanlarda yüksek biyolojik etkinlik göstermektedir (Saravanan vd., 2021).

2.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin yüzey özellikleri, şekli, boyutu gibi fiziksel aynı zamanda kimyasal, elektriksel, manyetik gibi parametreleri belirlemek amaçlı karakterizasyon işlemleri yapılmaktadır. Nanopartiküllerin karakterizasyonunda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), UV-Vis Spektroskopisi ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) dir. Mikroskopi tabanlı karakterizasyon yöntemleri ile fiziksel karakterizasyon (şekil, morfoloji, yüzey alanı, parçacık boyutu gibi) yapılmaktadır.

2.4.1. UV-Vis Spektroskopisi

UV-Vis Spektroskopisi mor ötesi ve görünür ışık dalga boyu aralığı olarak geniş bir spektral bölgeyi içine alarak ölçüm yapmaktadır. UV bölgesi 10-400 nm dalga boyunu kapsarken, 400-800 nm görünür ışık dalga boyudur. Çözelti içerisinde yer alan bir bileşence absorbe edilmiş olan UV veya görünür ışığa ölçümü yapılır. Işın demetinin örnekten geçmesi veya yansması sonucu ışının şiddetinin azalıp absorpsiyonun artması temeline dayanılarak molekül tayini yapılmaktadır. UV-Vis görünür ışık spektroskopi yöntemi ile nanopartiküllerin boyutları hakkında bilgi edinilebileceği gibi konsantrasyon ve kararlılıkları da değerlendirilir.

2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS)

Bu yöntem, hücrelerin ve dokuların yüzey yapıları, ince filmler, polimerler, toz partiküllerin karakterizasyonu, 9-15 mm çap ve 0.1-30 mm kalınlıkta yapıları incelemek gibi geniş bir kullanım alanı sunmaktadır. Çalışma prensibine bakıldığında, yüksek enerjili bir elektron demetinin numune ile etkileşimiyle, tarama yapılır örnek yüzeyinden mikro ve nano boyutta yüksek çözünürlükte görüntüler alınması sağlanır. Taramalı Elektron Mikroskobu, nanopartiküllerin şekil (küresel, çubuk vb), dağılım ve boyutu gibi özelliklerini belirler.

Oluşan karakteristik X ışınlarının enerji miktarı ve örneğin istenilen bir kısımdaki elemental analizleri SEM'e bağlı çalışan Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) ile gerçekleştirilebilir.

2.5. Biyolojik Aktiviteler

2.5.1. Antimikrobiyal Aktivite

Virüsler dışındaki mikroorganizmaları öldüren veya onların büyümeleri ve yaşamsal fonksiyonlarını engelleyen maddeler antimikrobiyal madde olarak adlandırılır. Mikroorganizmaların üremeleri üzerine durdurucu etki yaparlar. Son zamanlarda artış gösteren mikrobiyal enfeksiyonlar ve sağlık sorunları antimikrobiyal maddelere olan ilgiyi arttırmıştır. Son yıllarda bakterilerin üzerine etkili olan bakterisidal ilaçlar ve antibiyotiklere karşı direnç artışı olmuş, bu da yeni ilaçların araştırılmasını gerekli kılmıştır. Alternatif olarak antimikrobiyal etkiye sahip bitkiler araştırılmaktadır. Bitkilerde bulunan fenolikler, lektinler ve polipeptitler ile poliasetilenler gibi birçok fitokimyasal madde antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Altuner, 2008).

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde, Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) disk difüzyon, dilüsyon, gradient strip ve otomatize yöntemler gibi test yöntemleri kullanılmaktadır. Metalik nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi o partikülün temas yüzeyi ile ilişkilendirilmektedir. Nanopartiküllerin yüzey alanlarındaki genişleme, mikroorganizmalarla temas etme kapasitelerini artırır ve bu nedenle antimikrobiyal aktivitelerini artırabilmektedir. Metal nanopartiküllerin yüzey özellikleri, yüzey atomlarının dizilimi ve düzenlenmesi, yüzey reaktivitesi gibi faktörler, mikroorganizmalarla etkileşimlerini etkiler. Yüzeydeki gümüş iyonları, mikroorganizmaların hücre zarlarına nüfuz edebilir, zar yapısının bozulması, DNA replikasyonun engellenmesi ile hücrelerin işlevini bozabilir, bu da bakterilerin ölümüne neden olmaktadır ve bakteri zarı zarar gördüğü için bölünemeyecek buna paralel olarak üreme gerçekleştiremeyecektir (Altuner, 2014). AgNP'lerin olası etki mekanizmaları; Hücre zarına bağlanan AgNP'lerin hücre içine alımı (Eby vd., 2009), elektron taşıma sisteminin (ETS) bozulması (Sondi ve Salopek, 2004), serbest radikal oluşumu sonucu oksidatif stres oluşması (Morones vd., 2005), DNA hasarının

oluşmasına (Matsumura vd., 2003) bağlı hücre ölümünün gerçekleşmesi şeklinde sıralanabilir.

Antimikrobiyal aktivite de bakterilerin Gram özellikleri önemli bir etkidir. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapıları farklılık içerir, en bariz farklılık peptidoglikan yapısındadır. Gram negatif bakterilerde sitoplazmik membrandan sonra ince yapıda peptidoglikan tabakası ve daha sonra tekrar dış membran bulunmaktadır bu membran lipopolisakkarit yapısındadır, teikoik ve lipoteikoik asitlere bağlı değildir, Gram pozitif bakterilerin hücre zarından sonra yer alan peptidoglikan yapı teikoik asitlerle bağlantılıdır ve hücre duvar yapıları daha kalındır (Cabeen vd., 2005).

Gram (-) ve Gram (+) bakterilerin hücre duvar kalınlıklarındaki farklılık nedeni ile AgNP'lerin girişleri Gram (+) lerde daha zor gerçekleşecektir. Gümüş nanopartiküllerin yapısındaki gümüş katyonlar bakteri hücre zar yapısında değişiklik oluşturur ve zar geçirgenliği artar. Nanopartiküllerin tasarımı ve sentezi, antimikrobiyal etkinliklerini kontrol etmek için kritik öneme sahiptir ve mikroorganizmalara karşı etkili bir şekilde kullanılmalarını sağlar.

2.5.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Mikroorganizmaların gelişiminin tamamen durup üremenin gözlemlenmediği en düşük antimikrobiyal bileşen konsantrasyonu Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerini ifade etmektedir. MİK değeri her antimikrobiyal madde için aynı değildir, test edilen mikroorganizma, inokulum, inkübe edilen sıcaklık gibi şartlar MİK değerini etkilemektedir (Altuner, 2008).

2.5.3. Antibiyofilm Aktivite

Biyofilm, canlı veya cansız yüzeylere yapışan bakterilerin yaşamına devam etme stratejisi olarak oluşturduğu bir yapıdır. Bakteriler, polisakkarit içeren, hücre dışı polimerik yapı (EPS) üreterek etraflarını kaplarlar ve bu jelimsi organik yapının içerisinde (matriks) bir yüzeye veya birbirlerine yapışarak oluşturdukları topluluk biyofilm olarak adlandırılır (Leone vd., 2006). Biyofilm oluşturan canlı bakterilerin klasik antimikrobiyal etkilere karşı dirençli oldukları düşünülmüştür. Matriks yapısı pH, UV, ısı, konakçının bağışıklık tepkisi, besin yetersizliği, antibiyotikler gibi çeşitli etmenlere karşı bakteriyi korumaktadır (Yin vd., 2019). Biyofilm yapısının çok büyük bir yüzdesi sudan oluşmakta olup kalan içerik ise EPS, proteinler, globüler glikoproteinler, lipit, fosfolipit ve nükleik asittir (Allison, 2003).

Biyofilm yapısındaki bakteriler aralarında yaydıkları sinyaller ile haberleşmektedir. Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdikleri direncin fazla olması nedeni ile hastalıklarda tedavi süreci zorlaştırmaktadır, antibiyotik direnci biyofilm oluşturmeyen bakterilere nazaran 100-1000 kat daha fazladır (Olsen, 2015). Biyofilm oluşması için öncelikle bir bakterinin yüzeye tutunması gerekir. Zamanla elverişli yaşam ortamı bulan bakteri yapıştığı noktada çoğalarak bakteri kolonisi haline dönüşür. Canlılığın devam etmesiyle biyofilm oluşması gözlenir. AgNP'lerin biyofilm oluşturan bakteriler üzerinde bakteriosidal etki gösterdikleri biyofilm oluşumunu engelledikleri belirtilmiştir. Yiğit vd. (2024) *Aloe vera* bitkisi ile sentezlenen AgNP'lerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27833), *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterilerinin biyofilm oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir.

2.5.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, eşleşmemiş bir elektrona sahip olduklarından dolayı yüksek reaktifliğe sahiptir, kararsız yapılıdır ve diğer moleküllerle elektron transferi yoluyla reaksiyona girme eğilimindedirler, bir başka molekül ile rahatlıkla elektron alışverişi yapabilen atom ya da moleküllerdir. Reaktif oksijen partikülleri, oksidan molekül olarak da isimlendirilirler. Reaktif oksijen türleri (ROT), düşük konsantrasyonlarda hücre sağlığı için

önemli işlevlere sahipken, yüksek konsantrasyonlarda toksik etki göstererek hücre ölümüne yol açabilirler (Ramsey ve Sharpless, 2006). Reaktif oksijen türleri arasında, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), peroksi radikali (ROO^{\cdot}), hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2) iyonları sayılabilir. Canlı sistemlerde ROT seviyesi belli bir değeri geçerse radikallerin birikmesi sonucu hücrelere zarar verecektir ve bu durum oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stresin birçok hastalıkta etkin olduğu bilinmektedir (Sies, 2019).

Radikaller DNA, lipit, proteinler, enzim ve karbonhidratlar gibi makromoleküllerde hasara neden olabilirler. DNA’da oluşturdukları hasara bağlı olarak kanser, yaşlanma, hücre ölümü, lipitlerde peroksidasyon oluşturarak mitokondri zarındaki lipit peroksidasyonu yaşlanmaya bağlı çeşitli hastalıkların oluşumuna, proteinlerdeki oksidasyona bağlı enzim antikor gibi yapıların etkilenmesine yol açarlar. Serbest radikaller dışarıdan alınabilir, canlıda metabolik aktivitelere bağlı (örneğin mitokondriyal solunum sonucu) da oluşabilirler. Hücrede serbest radikallerden korunabilmek amaçlı antioksidan savunma sistemleri vardır fakat bütüncül bir koruma sağlaması olası değildir. Bu sistem ROT’ların meydana getirdiği hasarı engellemeye çalışır, yetersiz kaldığında ise oksidatif stres oluşur (Gupta vd., 2014).

Antioksidanlar, vücuttaki var olan savunma sistemlerinin bir parçasıdır ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bu türlerin neden olduğu hasarı önlemeye yardımcı olan maddelerdir. Canlılık gösteren hücrelerde ve dokularda beklenmeyen oksidasyon reaksiyonların önlenmesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanlar, vitaminler, mineraller ve bazı enzimler gibi farklı bileşenlerden oluşur. Bu maddeler, oksidatif stresle oluşan zararlı serbest radikallere karşı koruyucu bir etkiye sahiptirler. Antioksidan maddeler, ortamdaki serbest radikallerin etkinliğini sonlandırarak oksidasyon oluşumunu engeller, ancak bu sırada kendileri oksitlenirler.

Birçok hastalığın nedenleri arasında oksidatif stres yer almaktadır ve oksidatif stres ile baş etme özelliği yüksek olan maddeler içerisinde bitkisel metabolitler önemli bir yere sahiptir. Tarımsal üretim, tıbbi uygulamalar ve ilaç üretiminde geniş bir kullanım alanı

bulurlar. Bitkisel metabolitler primer ve sekonder olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılır. Primer metabolitler, organizmanın büyüme, gelişme ve üreme süreçlerinde hayati öneme sahip olan karbonhidrat, protein ve yağ gibi molekülleri içerirler. Sekonder metabolitler, birincil metabolitlerden üretilen ve temel yaşam fonksiyonları için doğrudan gerekli olmasa da, canlının uzun süreli devamlılığı ve çevresel uyum sağlama yeteneği açısından önemli rol oynayan bileşiklerdir (Twajj ve Hasan, 2022). Bitkilerin savunma sisteminde, sistemik direnç mekanizmalarında rol oynayarak zararlılara ve hastalıklara karşı korunmasında, hayatta kalma stratejilerinde önemlidirler. Bitkisel sekonder metabolitler, ilaç, gıda, kozmetik ve tarım gibi çeşitli alanlarda yüksek ekonomik değere sahip olmakla birlikte özellikle tıp ve eczacılık alanlarında, aynı zamanda fonksiyonel gıda ve besin takviyesi olarak da kullanılabilirler. Sekonder metabolitler: terpenoidler, kükürt içeren bileşikler, fenolik bileşikler, azot içeren bileşikler (alkaloidler) olmak üzere dört ana sınıfa ayrılırlar (Adhikary ve Dasgupta, 2023).

Antioksidan maddelerin aktivitesini ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Demir iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) yöntemi, 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) yöntemi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) bu yöntemler arasındadır, antioksidanların etkinliklerini değerlendirmek ve karşılaştırmak için kullanılmaktadırlar.

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Süpürme Aktivitesi

DPPH• serbest radikali süpürme yöntemi, antioksidan aktiviteyi belirlemede kısa sürede ve hızlı sonuç veren, düşük maliyetli UV-Vis spektrometresi kullanılarak yapılan bir işlemdir. DPPH, kararlı bir azot radikalidir ve 517 nm'de absorpsiyonu gösterir. Uygulanan analiz antioksidanların DPPH• radikalini indirgemeleri temeline dayanmaktadır. Antioksidan ortama hidrojen vererek DPPH• radikalini indirgenmesi sağlanmakta, koyu mor/menekşe renkli radikal indirgenerek difenil-pikrilhidrazile dönüşümüne renk değişerek sarı bir renk almaktadır. Antioksidanın radikal süpürme aktivitesi arttıkça DPPH• absorbansı azalır, DPPH absorbansında görülen azalma bir maddenin antioksidan aktivitesinin varlığını göstermektedir (Blois, 1958).

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{•+}) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

Bu yöntem özellikle bitkilerde antioksidan etkinliklerin belirlenmesi amacı ile tercih edilmekte olup Miller ve arkadaşları (1993) tarafından geliştirilmiştir. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{•+}) radikali ile potasyum persülfat (K₂S₂O₈) ile okside edilir ve ABTS^{•+} radikalinin renk değişimi spektrofotometrik ölçüm ile takip edilir. Organik ve sulu çözeltilerde çözünebilme özelliğine sahip olan ABTS organik örneklerde ve vücut sıvılarının hidrofilik ve lipofilik antioksidan aktivitelerini tespit etmekte kullanılmaktadır (İzol vd., 2021). Bu testin temelinde yatan olgu, antioksidanların ABTS^{•+} katyon radikalinin absorbanasını engellemesidir.

2.5.5. Mutasyonlar

Mutasyonlar genetik materyalde kalıtsal olarak meydana gelen değişikliklerdir. Mutasyonlar oluş nedenine göre; spontan olabilecekleri gibi ki bu mutasyonların oluşma oranı düşüktür, mutajene (radyasyon, UV, çeşitli kimyasallar) maruz kalınması sonucu tetiklenebilen mutasyonlar ise uyarılmış mutasyon olarak adlandırılabilir (Ahloowalia vd., 2004).

Mutasyonlar, kromozomun yapısındaki, sayısındaki değişimler ve gen değişimleri olarak sınıflandırılabilir. Kromozom sayısı ve yapısında meydana gelen değişiklikler kromozom mutasyonlarıdır. Sayısal kromozom mutasyonları öploidi ve anöploidi olarak ayrılır. Öploidi mutasyonlar; Monoploidi (n), Diploidi (2n), Triploidi (3n), Tetraploidi (4n) gibi haploid (23 kromozom)'in katları olarak artması ya da azalmasıdır. Anöploidi mutasyonlar; Monozomi (2n-1), Nullizomi (2n-2), Trizomi (2n+1), Tetrazomi (2n+2) gibi mayoz bölünmeler esnasında kromozomların ayrılmaması sonucu oluşan diploid sayıdaki artış veya azalışları ifade eden mutasyonlardır. Yapısal kromozom mutasyonları; Delesyon (Kromozom yapısından bir parça eksilmesi), Duplikasyon (Bir kromozom kısmının tekrar eklenmesi, aynı kromozom üzerinde), İnversiyon (Kopan kromozom parçasının ters dönüp tekrar eklenmesi), Halka mutasyon (Kromozom uçlarının bağlanması ile yüzük yapısı

oluşması), Translokasyon (Homolog olmayan kromozomların parçalarının yer değiştirmesi) olarak sınıflandırılabilir (Dilsiz, 2004).

Gen mutasyonları; Çerçeve kayması ve baz çifti mutasyonları şeklinde gerçekleşebilir. Çerçeve kayması mutasyonları gende kodon kayması sonucu oluşan ürüne ait bilgi değişimiyle gerçekleşir. Kodon bölgelerine nükleotid eklenebilir ya da çıkabilir kodon kayması olur, okuma esnasında aminoasit dizisi değişir, normal proteinden farklı bir protein oluşur. Baz çifti mutasyonları; Pürin-Pirimidin bazları veya Pirimidin-Pirimidin baz çiftleri arasında meydana gelen yer değişimi sebebi ile ortaya çıkan mutasyonlardır (Bütüner ve Kantarcı, 2006).

2.5.6. Mutajenik Aktivite

Endüstrileşme ve artan kimyasal kullanım, çevre kirliliği yoluyla insan sağlığını olumsuz etkileyebilir. Bu etkileri önlemek amacıyla birçok alanda çalışmalar yürütülmektedir. Özellikle son yıllarda kimyasal maddelerin yaygın kullanımının artması, toksik etkilere karşı korunmanın önemini vurgulamıştır. Kimyasalların neden olduğu toksik etkilerin azaltılması için çeşitli araştırmalar yürütülmektedir. Bu toksik etkilerin bir sonucu olarak mutasyonlar ortaya çıkabilir; mutasyonlar, genetik materyaldeki hasarlar sonucu meydana gelir. Mutasyona sebep olan maddeler mutajen olarak adlandırılmaktadır Mutajenler: Fiziksel (UV ışınları, X ışınları, sıcaklık derecesi, pH), kimyasal (baz analogları, alkilleyici ajanlar, interkalasyon oluşturan ajanlar, kimyasal maddeler vb.) kökenli olabilirler (Dilsiz, 2004).

Çeşitli mutajen maddelerin tespit edilebilmesi adına hayvanlar üzerinde testler uygulanmaktadır. Bu testler maliyet açısından yüksek, zamanın kullanımı açısından verimsizdir ve memelilerin mutajen duyarlılıkları azdır. İnsanlar günümüzde birçok mutajen ile karşı karşıyadır, mutasyona sebep olan maddelerin tespiti önem arz etmektedir. Mutajen maddelerin varlığını kısa sürede belirlemek için özel olarak tasarlanmış testler mevcuttur. *E. coli* ile Lac 1 mutasyon test analizi, SOS analizi ve Ames bakteriyel test yöntemleri bunlardandır.

Ames/*Salmonella* Testi

1970'li yılların başında Dr. Bruce N. Ames ve arkadaşlarınca geliştirilmiş bir testtir. Maliyetinin düşüklüğü, kısa zamanlı ve uygulanabilirliğin kolay olması, hassas tespit yapılabilmesi gibi sebeplerle Ames/*Salmonella* testi mutajenite ve antimutajeniteyi belirlemek amaçlı günümüzde sıkça kullanılmaktadır (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Bakteriyal kökenli olan bu test *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşu ile çalışılmakta olup, bu suşunda çeşitli mutasyonlarla oluşmuş TA97, TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535, TA1537 şeklinde mutant suşları bulunmaktadır. Tüm suşların histidin operonlarında oluşan mutasyonlardan ötürü histidin sentezi gerçekleşmemektedir (his^-), histidin sentezi gerçekleştiremeyen bu suşlar oksotrof olarak adlandırılırlar. Histidin üretemediklerinden yaşama ve üreme faaliyetlerini devam ettiremeyecekler koloni oluşturamayacaklardır. *Salmonella* suşları aynı zamanda *Rfa* mutasyonu içermektedirler. Bu mutasyon bakterinin dışında yer alan hücre duvarının lipopolisakkarit katmanını şifrelemekte olan genlerde oluşur. Hücre duvarının koruyuculuğu zarar görür ve büyük moleküllerin geçişine neden olur (Yüksel, 2005).

TA102 dışında diğer *Salmonella* suşları *uvrB* genlerinde delesyon tipi mutasyon bulundurmaktadırlar. DNA çeşitli onarım mekanizmalarına sahiptir, *uvrB* geni DNA kesme – onarım tamir mekanizmasından sorumludur. Bu gen yokluğunda tamirde görevli enzim sentezi yapılamadığından dolayı mutant bakterinin başka mutajenlere duyarlılığı artmaktadır (Yüksel, 2005). Ayrıca kullanılan suşlar pKM101 plazmidi bulundurlar ve bu plazmit ampisilin direnç geni taşır. Bu plazmit hata eğilimi yüksek DNA tamir mekanizmasını aktifleştirmektedir.

Ames/*Salmonella* testinde amaçlanan histidin sentezi yapamayan oksotrof mutant bakterilerin, etkinliği test edilecek olan örnek ile muamele edilip, ikinci bir mutasyon geçirmeleri ve böylece histidin sentezi yapabilmeleri (his^+) yani prototrof hale dönüşmeleridir. Denede kullanılan suşlar histidin operonlarında farklı mutasyonlara sahiptir. TA98 suşunda çerçeve (kodon) kayması mutasyonu vardır. Histidin sentezlenmesi

sırasında çerçeve kayması sonucu (son enzimi kodlayan his D geninde) oluşmaktadır, bu mutasyon hisD3052'dir. TA100 suşunda baz çifti değişim mutasyonu bulunur. Yine histidin sentezlenirken bu kez ilk enzimi kodlayan hisG geninde lösün yerine prolin kodonu gelmesi ile oluşmaktadır, bu mutasyon his G46'dır (Maron ve Ames,1983; Mortelmans ve Zeiger., 2000).

Ames/*Salmonella* testi birçok amaçla kullanılmaktadır. İçme suyu ve diğer su kaynaklarında (akarsu, göl vb), havada bulunan mutajenlerin tespitinde kullanıldığı bilinmektedir (Dilek, 2004). Besin maddelerinin taşıdığı mutajen ve karsinojenlerin tanımlanmasında (Ames, 1983), ilaç ham maddelerinin mutajenik-karsinojenik ve toksik etkilerinin araştırılmasında (Oğuz vd., 2013), pestisitlerin mutajenik etkisinin araştırılmasında (Özkara, 2022), nanopartiküllerin ve bitki ekstraktlarının mutajenik ve antimutajenik aktivitesinin belirlenmesinde (Dalgıç, 2022), bu test sisteminden faydalanılmıştır.

2.5.7. DNA Kırma Aktivitesi

DNA, bütün canlı organizmaların genetik bilgilerini saklayan ve aktaran temel bir biyomoleküldür. DNA molekülünün yapısı, fosfodiester bağlarıyla birbirine bağlanmış deoksiriboz şekerleri ve nükleobazları içerir. DNA'nın yapısının ve bütünlüğünün korunması, organizmaların canlılık işlevleri ve biyolojik aktiviteleri için hayati öneme sahiptir. Hidrolitik ve oksidatif olarak iki şekilde DNA kırma aktiviteleri araştırılmaktadır. DNA'nın oksitleyici bir ajan olmadan fosfodiester bağının koparılması ile zincir kırıkları oluşturulması hidrolitik DNA kırma aktivitesidir. Oksidatif DNA kırma aktivitesinde, oksitleyici bir ajanın varlığı ile nükleobazlarda veya deoksiriboz şekerinde oksidasyon gözlenilir. Oksidatif DNA kırma reaktif oksijen türleri (ROT) adı verilen serbest radikallerin ortaya çıkması ile başlamaktadır bu radikaller sayesinde DNA kırılmaktadır (Russo vd., 2001).

DNA' da hasara sebebiyet verecek maddelerin tespiti bu test ile araştırabilmektedir. pBR322 süper sarmal plazmid DNA *Escherichia coli* bakterisinden izole edilmiştir.

Genomik DNA'ya göre baz sayısı daha az (4361 baz çifti), düşük moleköl ağırlıklı, ampisilin ve tetrasiklin direnç genleri taşıyan pBR322 DNA plazmidi genetik çalışmalarda sık tercih edilmektedir. Form I süper sarmal yapısı zarar görürse, Form II (halkasal yapı)'ye dönüşür burada DNA zincirlerinden bir tanesi hasar almıştır, plazmid DNA'nın iki zinciride zarar görürse Form III'e (linear form) dönüşüm gözlenir. Test edilen örnekler oksidatif ve hidrolitik işleme tabi tutulduktan sonra agaroz jel elektroforezi yöntemi ile bant görünümüleri gözlenilir. DNA'nın yürütülmesi esnasında hareket hızlarında farklılık olduğu, Form I plazmit DNA'nın Form II' den, Form II plazmit DNA'nın ise Form III' den hızlı hareket ettiği görülür (Mansour ve Ragap, 2019).

2.6. *Styrax officinalis*

Styracaceae familyası, 11 farklı cins ve yaklaşık 130 tür içeren bir bitki ailesini temsil eder (Jaradat, 2020; Paşa, 2023). Bu familya için tropik ve subtropik bölgeler doğal yaşam alanıdır, doğal olarak yayılan çalı ve küçük ağaç türlerini içerir. *Styrax*, bu ailenin en bilinen cinsidir ve ağaçların kabuklarından elde edilen çeşitli reçine maddeleri ile tanınmaktadır. Bu reçineler, ağaç kabuklarına yapılan çentikler yoluyla toplanmaktadır. Styracaceae ailesi içerisinde en büyük sayıyı kapsayan *Styrax* cinsinin kabuğunda açılan bir yara ile benzoin reçinesi salınımı olmakta ve faydaları sebebi ile farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Elde edilen reçineler nörolojik rahatsızlıklar, cilt hastalıkları, artrit, kas ağrıları ve yaraların tedavisinde kullanılır (Sohail ve Alam, 2022).

S. officinalis bitkisinin Akdeniz Bölgesi, Orta Amerika bölgesi, Meksika, Güneybatı Asya, Güneydoğu Avrupa bölgesinde yetiştiği gözlemlenmiştir (Jaradat, 2020). Bu bitkinin Türkiye'deki yayılışı deniz hizasında 10 ila 1000 metre yükseklik arasında değişmektedir ve Akdeniz, Marmara, Ege, Orta Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu, bölgelerinde bulunmaktadır (Cesur vd., 2018). Ülkemizde genelde tespih çalısı olarak bilinen ve yetiştiği bölgeye göre farklılık gösterebilen *S. officinalis* yöreye göre Antakya'da "Havz", Adana ve Muğla'da yalnızca "Tespah", Tire'de "Mangık", Ödemiş'te "Deli tespih", Bayındır'da "Domuz tespih" olarak adlandırılmıştır.

Styrax officinalis L. bitkisinin sınıflandırmadaki yeri şu şekildedir:

Alem: Plantae (Bitkiler)

Sınıf: Magnoliopsida (Çift çenekliler)

Takım: Ericales

Familya: Styracaceae

Cins: *Styrax*

Tür: *Styrax officinalis*

S. officinalis'in, yeşil yaprakları olan ve kış aylarında yaprak döken bir ağaç olduğu bilinmektedir. Yapraklarının üst yüzeyi tüysüzken, alt yüzeyi tüylüdür. Tespih çalısının boyu 2 ila 6 metre arasında değişiklik göstermektedir. Beyaz çiçekleri vardır ve çiçek boyutları 2 ila 4 cm arasındadır. Çiçekler, 3-6 adet birleşerek çiçek salkımını oluştururlar. Çiçek yapraklarının alt tarafta birleşerek kısa bir tüp oluşturduğu görülür. Kiraz büyüklüğünde ve beyaz kabuklu meyvesi vardır (Balyen ve Kiraz, 2024).

S. officinalis'in reçinesi olan Storax, antik çağlardan beri tütüsü, parfüm hazırlanmasında ve tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Fenikeliler, Romalılar, İyonya ve Mısırlılar bu reçineyi değerli bir ticaret ürünü olarak değerlendirmiştir. *S. officinalis*, geleneksel tıpta solunum sistemi hastalıkları, cilt hastalıkları, idrar yolu enfeksiyonları, zührevi hastalıklar gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde ve antiseptik olarak kullanıla gelmiştir, bu bitki geniş bir kullanım alanına sahip olup, eczacılık, parfümeri ve sabun endüstrilerinde de yaygın olarak tercih edilmektedir, ayrıca tütüsü olarakta kullanılmaktadır (Jaradat vd., 2018). *S. officinalis* antimikrobiyal (Mansour vd., 2016), antioksidan (Bölükbaşı vd., 2016) etkinliklerinin yanı sıra çevre dostu bir yakıt olan biyodizel üretimi içinde potansiyel bir hammaddedir (Yeşilyurt ve Cesur, 2020).

S. officinalis'in yapraklarından elde edilen uçucu yağ, MCF-7 (İnsan meme kanseri hücre hattı), HCT-116 (İnsan kolon kanser hücre hattı), CacoII (İnsan kolorektal adenokarsinom) ve HepG2 (Karaciğer kanser hücre hattı) tüm kanser hücre hatlarına karşı

antikanser özellik göstermiştir (Almulla, 2020). *S. officinalis* bitki yapraklarından elde edilen metanolik ve sulu ekstraktlar meme bezi karsinomu (DCIS), insan hepatoselüler karaciğer karsinomu (HCC) ve normal fibroblast hücre hattında incelenmiş ekstraktların kanserli hücrelerde sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Almulla vd., 2024).

S. officinalis tohum analizlerinde yağ içeriğinin %44.3-%60.3 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Tohumların yağ asidi profiline bakıldığında ise oleik asit (%45.50) ve linoleik asit (%37.74) en yüksek oranlara sahip yağ asitleri olarak belirlenmiştir (Cesur vd., 2018). Meyvelerinin yapısında bol miktarda saponin bileşiği bulunmaktadır (Paşa, 2023). Meyve perikarp özütünde fenolik bileşenlerin krizin (2737.43 mg/kg) ve t-sinnamik asit (1497.16 mg/kg) ana bileşikler olarak belirlenmiş, meyve perikarp ve tohum özütlerinde organik asit olarak süksinik asit içeriği yüksek bulunmuştur (Sak vd., 2024). Bitkide uçucu yağ oranları, çiçekte (%0.007), gövdede (%0.004) yaprakta (%0.013) olmak üzere farklı organlarda değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Toplam 26 farklı uçucu yağ bileşeni tespit edilmiş olup, bu bileşenlerin büyük bir kısmı (%42.2-48.7) terpenoidlerden oluşmaktadır. Özellikle oksijenli monoterpenlerin tüm organlarda baskın olduğu görülmüştür. Yaprak uçucu yağında, linalool (%11.9), geranial (%5.5), (E)-2-heksenal (%17.6), çiçek uçucu yağında linalool (%26.4), tridekanal (%9.8) ve dodekan (%9.6), gövde uçucu yağında ise öjenol (%9.9), α -terpineol (%17) başlıca bileşenler olarak belirlenmiştir (Tayoub vd., 2006). *S. officinalis* yaprak özütünün naringenin, kateşin, epikateşin, kuarsetin flavonoidleri, alkaloidler, kardiyak glikozitler, fenolik içeriğine bakıldığında kafeik, p-hidroksibenzoik, p-kumarik, vanilik, gentisik, ferulik tespit edilmiştir (Jaradat vd., 2018; Paşa, 2023).

2.7. Önceki Çalışmalar

Styrax cinsi ile yapılan çalışmalara baktığımızda,

Yaşar vd. (2016), yaptıkları çalışmada beş farklı maki (*Fontanesia phillreaoides*, *Styrax officinalis*, *Pistacia terebinthus*, *Paliurus spina-christi*, *Myrtus communis*) türünün kimyasal bileşimi ve fenolik ekstraktif maddelerin ölçümünü yaparak antioksidan hammaddesi olarak kullanılma potansiyellerini araştırmışlardır. Araştırmada bitkilerin dallarından ve gövdelerinden alınan örnekler kurutulup öğütülmüş ve numunelerdeki,

holoselüloz, lignin, selüloz, α -selüloz, kül tayini, suda çözünürlük, NaOH çözünürlüğü ve fenolik ekstraktif madde içeriğine bakılmıştır. *Styrax officinalis*'in fenolik madde içeriği değerlerine bakıldığında; gallik asit 0.03, kateşin 0.12, p-hidroksibenzoik asit 0.02, klorojenik asit 0.15, kafeik asit 0.01, epikateşin 0.03, siringik asit 0.01, vanilin 0.03, p-kumarik asit 0.02, ferulik asit 0.01 olmak üzere toplamda 0.43 mg/g, klorojenik asiti ise diğer fenolik maddelere göre daha yoğun olarak bulmuşlardır.

Bölükbaşı vd. (2016), *Styrax officinalis* bitkisinin tohumlarından elde ettikleri öjenolün insan eritrositleri üzerine antioksidan etkisini araştırmışlar, belli oranlardaki öjenol eritrositler üzerine eklenilip elde edilen hemozilatta katalaz (KAT), glutatyon-s-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenip kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Öjenol farklı konsantrasyonlarında (0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mg/mL); SOD aktivitesinin sırası ile %7.7, 23.4, 33.3, 43.3, GST'nin %19.4, 23.2, %37.2, 71.3 olduğu ve giderek arttığı izlenmiştir. GPx ve KAT enzim aktivitelerinde belirgin bir artış gözlenmemiştir. Antioksidan savunma sisteminin serbest radikallere karşı vücudu koruyan bir sistem olması öjenolün SOD ve GST enzimlerinin aktivitesini arttırmak suretiyle serbest radikal temizliğine katkı sağlaması, *Styrax officinalis* tohumlarından elde edilen öjenolün antioksidan kapasitesinin olduğunu düşünmüşlerdir.

Öztürk vd. (2008) yaptıkları çalışmada, *Styrax officinalis* tohumlarından öjenol izole etmişlerdir. Sentez çalışmaları ile elde edilen on bir çeşit benzofuran çeşidinin antimikrobiyal aktivitelerini *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, bakterileri ve *Candida albicans* üzerinde incelemişlerdir. Sonuç olarak elde edilen benzofuranlardan, 5-(300-chloropropyl)-7-methoxy-2-(30,40-methylenedioxyphenyl) bileşiği, *B. subtilis* ve *E. coli* bakterilerine karşı sırası ile 64 μ g/mL ve 25 μ g/mL; *C. albicans*'a karşı ise 64 μ g/mL ile en yüksek MİK değerini verirken, 3-[2-(1,3-benzodioxol-5-yl)-7-methoxy-1-benzofuran-5-yl] propanal bileşiği ise 64 μ g/mL MİK değeri ile *S. aureus* bakterisi üzerinde en yüksek aktivite göstermiştir.

Jaradat vd. (2018) yaptıkları çalışmada, içinde *Styrax officinalis* bitkisinde bulunduğu üç farklı bitki türünün toprak üstü kısımlarının sulu ve organik ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlar ve fitokimyasal bileşenlerini karakterize etmişlerdir. Bitkilerin sulu ve organik ekstraktlarının antibakteriyel etkinliği *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecium* (ATCC 700221), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella sonnei* (ATCC 25931) ve klinik izolat Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) üzerinde denenmiştir. Sulu ve organik ekstraktların antifungal aktiviteleri de *Candida albicans* (ATCC 90028) ve *Epidermatophyton flocosum* (ATCC 52066) üzerinde incelenmiştir. *S. officinalis* organik ekstraktının antibakteriyel aktivite sonuçlarına bakıldığında *S. aureus* ve *E. faecium* için MİK değerinin 12.5 mg/mL ile diğer bakterilerden; antifungal aktivitesinin ise *C. albicans*'a karşı daha etkili olduğu görülmüştür. *S. officinalis* sulu ekstraktının ise en iyi etkiyi *P. aeruginosa* (MİK değeri 6.25 mg/mL) ve Methicillin Resistance *S. aureus* bakterisinde (MİK değeri 3.125 mg/mL) gösterdiği belirtilmiştir. Bütün bu özelliklerinden dolayı gelecekte antibiyotik alternatifi ya da doğal gıda koruyucu olarak kullanılabileneceği düşünülmüştür.

Mansour vd. (2016), *Styrax officinalis* bitkisinin meyve kısımlarından hazırladıkları metanol ekstraktının antibakteriyel etkisini *Staphylococcus aureus* (Gr+) ve *Escherichia coli* (Gr-) bakterileri ile disk difüzyon metodu kullanarak bakmışlardır. Çalışma sonucunda bitkinin yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve antibakteriyel ajan olarak yeni ilaçlarda kullanım potansiyeli olduğunu belirtmişlerdir.

Timmers vd. (2015), Styracaceae familyasından olan Meksika da yetişen *Styrax ramirezii* Greenm üzerine yaptıkları çalışmada bu bitkinin fitokimyasallarının tespitini yaparak antioksidan, antiinflamatuvar aktivitelerini değerlendirmişlerdir. HPLC-TOF-MS ile altı norneolignan tanımlanmış ve bunlardan iki tanesi öjenol ve homoöjenol değerlendirmesi yapılmıştır. Bu değerlendirmede lipopolisakarit kaynaklı nitrik oksit üretimi, reaktif oksijen türleri (ROT) üretimi ve inflamasyonun biyobelirteçleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Öjenol'ün nitrik asit üretimini inhibe ettiği ve ROT salınımını da azalttığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak antiinflamatuvar açıdan zengin bileşiklere sahip

olduğu görülmüş ve *S. ramirezii* bitkisinin meyve özütünde antioksidan kapasitesi ölçümü DPPH radikal giderme aktivitesi ile belirlenmiş 114.6 mg TE/g olarak bildirilmiştir.

Du vd. (2016), *Styrax benzoin*'den elde edilen benzoin gam tozunu ticari olarak satın almışlar ve gümüş ile sentezleyerek elde edilen nanopartikülün karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerine bakmışlardır. Elde edilen AgNP'leri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 43894), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) üzerinde test etmişler ve test edilen tüm bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivite özelliğine sahip olduğunu ve AgNP konsantrasyonlarının artmasıyla aktivitenin de arttığını tespit etmişlerdir. 500 ppm'de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* bakterileri ve *Candida tropicalis*' e etkisi sırası ile 11.0 ± 0.7 , 9.9 ± 0.5 , 9.5 ± 0.5 , 9.3 ± 0.6 mm, 1000 ppm'de ise sırası ile 12.6 ± 0.6 , 11.7 ± 0.6 , 13.7 ± 0.3 , 10.6 ± 0.4 mm zon gözlemlenmiştir. Antibiyofilm aktivitesine baktıklarında AgNP'lerin *E. coli*'nin biyofilm oluşumunu engelleyebildiğini belirtmişlerdir. AgNP'lerin antioksidan aktivitesine, 100, 500 ve 1000 µg/mL'lik farklı konsantrasyonlarda DPPH testi ile bakmışlar ve AgNP'lerin doza bağlı bir şekilde artan serbest radikal süpürme aktivitesine sahip olduğunu gözlemlenmiştir.

Styracaceae familyasına ait bitkiler üzerinde yapılmış çalışmalar göstermiştir ki bu bitkiler arilpropanoidler ve triterpenoidler açısından zengindirler. Pauletti vd. (2000), Brezilya Cerrado bölgesine özgü endemik tür olan *Styrax ferrugineus* yapraklarından izole edilen çeşitli arilpropanoidlerin spektroskopik analizlerini yapmışlar aynı zamanda izole edilen bileşikler *Candida albicans* (ICB 12 mayası), *Cladosporium cladosporioides* (SPC 491) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 12228) mikroorganizmalarına karşı incelemişler, antifungal ve antibakteriyel etki gösterdiklerini görmüşlerdir.

Min vd. (2004) çalışmalarında, sekiz çeşit lignan bileşimini; styrakslignolid B, styraxlignolide C, styraxlignolide D, styraxlignolide E, styraxlignolide F, taraxerol, syringin, (-)- pinosinol glukozit, *Styrax japonica* gövde kabuğundan izole edip, daha sonra bunların DPPH radikal temizleme aktivitesini test etmişlerdir. Styraxlignolide C (2), styraxlignolide D (3), styraxlignolide E (4) ve (-)-pinosinol glukozid (8) bileşiklerinin,

IC₅₀ değerleri sırasıyla 380, 278, 194, 260 µM olarak belirlenmiş ve zayıf radikal temizleme aktivitesi sergilediği belirtilmiştir.

Hou vd. (2003), *Styrax formosanum* bitkisinde 1.1- difenil-2- pikrilhidrazil (DPPH) yöntemiyle %70 sulandırılmış aseton özütünde serbest radikal süpürme kapasitesini ayrıca hidroksil radikalleri antioksidan analiz değerlendirilmesini yaparak aseton özütünün DPPH testinde 31.5 µg/mL, hidroksil radikal incelenmesinde 0.3 µg/mL IC₅₀ değerine sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

de Oliveria vd. (2016), çalışmalarında *Styrax camporum* hidroalkolik ekstresi (SCHE) ve *Styrax camporum*'un yapısında bulunan fitokimyasallar öjenol (EG) ve homoeogonol (HE)'ün V79 hücreleri (akciğer fibroblastları) üzerindeki DNA hasarına etkilerini araştırmışlardır. Bu maddeler metil metansülfonat (MMS), hidrojen peroksit (H₂O₂), (S)-(+)-kamptotesin (CPT) ve etoposide (VP-16) mutajenleri ile muamele edilmiş ve sonuçlara bakıldığında SCHE 60 µg/mL olan en yüksek konsantrasyonun da genotoksik olduğu, EG ve HG tek olarak genotoksik etki göstermezken ikisi birleştğinde genotoksik etki gösterdikleri görülmüştür. Ekstrakt, öjenol ve homoeogonol, MMS ve CPT'nin indüklediği DNA hasarının sıklığını etkilememiş fakat bunların kullanıldığı konsantrasyon ve mutajene göre DNA hasar indüksiyonun etkilenebileceği bildirilmiştir.

Debnath vd. (2024), yaptıkları çalışmada Kuzey Amerika'nın subtropikal veya tropikal bölgeleri ve Doęu Asya'ya özgü olan *Styrax benzoin* bitkisinin reçinesinden elde edilen ekstrakt kullanılarak içerisinde yer alan uçucu bileşiklerin bakteriyel proteinlere bağlanma afinitesi tanımlanmış ve ekstraktın antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan bakteriler *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Mycobacterium tuberculosis*'dir. *Mycobacterium tuberculosis*'in DHPS (Dihidropteroat sentaz)'sine, *Staphylococcus aureus*'un DHFR (Dihidrofolat redüktaz)'sine, *Escherichia coli*'nin tRNA sentetazına olan etkileri incelenmiştir. Laboratuvar koşullarında in-vitro disk difüzyon tekniği kullanılmıştır. Aseton ekstraktında öneme sahip antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Aseton ekstraktında yer alan bazı bileşikler *S. aureus*'un DHRP'sine bağlanmıştır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. *Styrax officinalis* Yaprak Ekstraktının Eldesi

Çalışmada kullanılan *Styrax officinalis* bitki yaprakları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Terzioğlu Kampüsünden toplandı. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Ersin KARABACAK tarafından bitkinin tayini yapıldı. Toplanan yapraklar saf su ile iki kez yıkandı, kurutulan yapraklar havanda dövülerek öğütülme işlemine tabi tutuldu. Toz haline getirilen yapraklardan 10 gram tartılarak, 100 mL saf su ile 60-70 °C sıcaklıkta 60 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. İşlem sonucunda elde edilen su ekstraktı filtre kağıdından (Whatman filtre kağıdı No.1) süzüldü. Daha sonra kullanılmak üzere sıvı berrak renkli kısım +4 °C’de muhafaza edildi.

3.1.1. GC-MS Analizi (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi)

Ekstrakttaki bileşenlerin kalitatif analizi Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (MERLAB) tarafından GC-MS analizi hizmet alımı gerçekleştirilerek belirlendi.

3.2. Yeşil Sentez Yöntemi ile Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi

Bitki yaprak ekstraktı ile 1 mM gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisi 1:10 oranda, manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Sarı renkli ekstraktın bordo-kahverengiye dönmesi, gümüş iyonlarının AgNP'lere döndüğünü göstermektedir. Bu renk değişimi gözlemlendikten sonra nanopartikül çözeltisi 1 saat 8000 rpm’de santrifüj edilip (Hettich Universal 320) süpernatant kısım atılarak pelet kısmına 3 defa yıkama işlemi uygulandı. Yıkama işleminde: 30 dakika, 10.000 rpm’de santrifüj (Thermo Scientific Espresso) işlemi uygulanarak her

seferinde süpernatant kısım atılıp pelet kısmı saf sudan geçirildi. Bu işlemin tamamlanması ile en son elde edilen pelet cam petri kutusuna yayılarak bir gün boyunca kuruması için inkübatöre (60 °C) bırakıldı.

3.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.3.1. UV-Vis Spektroskopisi Analizi

Sentezlenmiş olan gümüş nanopartiküller (AgNP) distile su ile 1mg/mL şeklinde hazırlanarak 390-500 nm dalga boyu aralığında T80+UV/VIS görünür absorpsiyon spektroskopisinde köre karşı okutularak ölçümü yapıldı (PG Instruments Ltd).

3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS)

Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin morfolojisi, parçacık büyüklükleri, boyut dağılımları ölçümlerinin yapılması Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (TAUM) tarafından hizmet alımı ile gerçekleştirildi.

3.4. Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi

Fen Fakültesi Moleküler Toksikoloji Laboratuvarındaki kültür koleksiyonunda yer alan *Proteus vulgaris* (NRRL-B-123), *Enterococcus faecalis* (NRRL-B-14617), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) bakterilerine karşı nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi test edildi.

3.4.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) Belirlenmesi

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün önerdiği şekilde (CLSI, 2006), broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri belirlendi. AgNP'ler ve ekstraktın konsantrasyonları 96 kuyucuklu U tabanlı mikropalakalarda Mueller Hinton Broth (MHB) kullanılarak seri dilüsyon yöntemi ile ayarlandı. Mueller Hinton Broth (MHB) besiyeri kullanılan 16 saatlik kültürlerden bakterilerin inokulumu yapıldı. 0.5 McFarland standardına göre bakteri süspansiyonlarının yoğunlukları ayarlandı. Mikropalakalara ekimi yapılan bakteriler 24 saat süre ile 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Göz ile görülebilen üremenin gerçekleşmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kaydedildi.

3.5. Nanopartiküllerin Antibiyofilm Aktivitelerinin İncelenmesi

Antibiyofilm aktivite mikropalaka metodu ile çalışıldı (Merrit vd., 2006). Bakteriler üreyebilmeleri için 37 °C sıcaklıkta 24 saat %5 glikoz ilave edilmiş Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde inkübe edildi. Mikroorganizmalar 0.5 McFarland'a göre seyreltildi. İşlemin devamında 100 µL TSB, "F" tabanlı 96 kuyucuklu plakalara eklenip AgNP ve ekstraktın seri dilüsyonu yapıldı. Uygun bakteri kültürleri eklendi. 37 °C'de 48 saat bekletilmek suretiyle inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra planktonik hücreler plakanın kuyucuklarından uzaklaştırıldı. Yıkama işlemi yapıldı, yıkamada steril saf su kullanıldı. Kuyulara %0.1'lik kristal viyole boyası 200 µL eklenerek 15 dakika sonunda boya uzaklaştırılıp yeniden yıkama işlemi yapıp kuruması için bırakıldı. Glasiyel asetik asitten (%33) 200 µL Gram pozitif bakteriler için eklenirken, Gram negatif bakteriler için etil alkol (%95) eklendi. Absorbans değerleri 620 nm'de mikropalaka okuyucuda (INNO, LITEK Co Ltd) okutularak değerlendirildi.

3.6. Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi

3.6.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Süpürme Aktivitesi

Örneklerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak serbest radikal süpürme aktiviteleri belirlendi (Blois, 1958). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnekler DPPH çözeltisi (1:4) ilave edilerek karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. 517 nm’de köre karşı absorbans ölçümleri yapıldı (INNO, LTEK Co Ltd). İşlem 3 kez tekrar edildi. Ölçümü yapılan örneklerin absorbanslarının % inhibisyon olarak hesaplanması için aşağıda verilen formül kullanıldı (3.1). Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) pozitif kontrol olarak kullanıldı.

$$\% \text{ DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi İnhibisyonu: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.1)$$

A₀: Örnek veya standart içermeyen DPPH radikal absorbansı

A₁: Örnek içeren DPPH radikal absorbansı.

3.6.2. ABTS^{•+} Katyon Radikali Giderme Aktivitesi Belirleme Yöntemi

ABTS^{•+} (2,2’-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) katyon radikali giderme aktivitesini belirlemek için Re vd. (1999) yöntemi kullanıldı. Farklı konsantrasyonlardaki (50, 100, 200, 400, 800 µg/mL) örnekler 7 mM ABTS, 2.45 mM potasyum persülat (ABTS reaktifi) ile muamele edildi ve oda sıcaklığında 6 dakika inkübe edildi. İnkübasyona tabi tutulan örneklerin absorbansları köre karşı 734 nm’de okutuldu. Deney üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. Aşağıda verilen formül esas alınarak % ABTS radikali giderme aktivitesi belirlendi (3.2).

$$\% \text{ ABTS}^{\bullet+} \text{ Katyon Giderme Aktivitesi İnhibisyonu: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.2)$$

A₀: Örnek veya standart içermeyen ABTS^{•+} radikali absorbansı

A₁: Örnek içeren ABTS^{•+} radikal absorbansı.

3.7. Ames/Salmonella Testi ile Mutajenik Aktivitenin Belirlenmesi

Ames ve Maron (1983) tarafından geliştirilen Ames/Salmonella test sistemi kullanılarak mutajenik aktivitenin belirlenmesi hedeflenmiştir. Deneyde *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşunun, TA98 ve TA100 olarak iki farklı suşu kullanıldı. Bu suşlardan TA98 suşu çerçeve kayması, TA100 suşu ise baz çifti değişimi mutasyonu oluşturmaktadır (Mortelmans ve Zeiger, 2000). Kullanılan Ames testinde oksotrof mutant suşların (his⁻) test ettiğimiz madde tarafından protrof (his⁺) hale dönmesi amaçlanır.

TA98 suşunun pozitif kontrolü için 4-nitro-*o*-fenilendiamin (NPD), TA100 suşunun pozitif kontrolü için sodyum azid (SA) kullanılırken, her iki suşun negatif kontrolü amaçlı distile su kullanıldı. Test edilen oksotrof mutant (his⁻) TA98 ve TA100 suşları spontan şekilde protrof (his⁺) şekle dönüşebilmektedir. Deneyde kullanılan *S. officinalis* yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin çalışılan konsantrasyonlarının mutajenik aktivitelerini belirlemek amaçlı negatif kontrolle karşılaştırılmıştır. Negatif kontrol ile kıyaslandığında revertant koloni sayısının iki katı olması gereklidir. Mutajenik etkiden bahsedebilmek için test edilen dozdaki revertant koloni sayısının negatif kontroldeki revertant koloni sayısının iki katı olması gerekir.

3.8. Nanopartiküllerin DNA Kırma Aktivitesinin İncelenmesi

Çalışmada kullanılan bitki yaprak ekstraktı ve gümüş nanopartiküllerin DNA kırma aktivitesi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile belirlendi. pBR322 Form I (süper sarmal) plazmit DNA kullanıldı. Hidrolitik ve oksidatif olarak çalışmalar iki türlü yürütüldü. Oksitleyici ajan olarak Hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı. Farklı oranlarda (50, 100, 200, 400, 800 µg/mL) hazırlanan örnekler tris-HCL tamponuyla karıştırılarak pBR322 plazmit DNA'ya eklendikten sonra 3 saat 37 °C' de inkübasyonda bırakıldı. Sonrasında Tris – Asetik asit – EDTA (TAE) tamponuyla %0.8'lik agaroz jel hazırlandı. 6X DNA loading dye ile karıştırılan örnekler agaroz jele yüklenilip, 60 V'ta bir saat yürütüldü. Süre sonunda jel UV ışık altında incelenip görüntülendi (DNR Bioimage Systems).

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

BULGULAR

4.1. GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) Analizi Sonucu

GS-MS analizi sonucu *S. officinalis* yaprak metanol özütünün fitokimyasal taramasında 24 adet bileşik tanımlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1

GS-MS analizi sonuçları

Pik	Ahkonma Zamanı	Oran (%)	Bileşik İsmi
1	29.306	0.85	Anhydroglucopyranose, Tbs 1x
2	35.038	40.81	Styracitol
3	35.736	0.26	4,4,5,8-Tetramethylchroman-2-ol
4	36.384	0.08	(Z)6-Pentadecen-1-ol
5	37.017	0.21	Tetradecanal (CAS)
6	38.159	0.34	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol
7	40.272	0.32	2-Hexadecene, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-
8	40.420	2.62	Neophytadiene
9	40.596	0.68	2-Hexadecene, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-
10	41.087	0.40	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]] (CAS)
11	41.557	0.77	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)
12	43.883	6.02	Palmitic acid
13	47.378	3.06	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)
14	48.030	1.25	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
15	48.190	13.83	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
16	48.435	1.58	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester (CAS)
17	48.694	1.85	Octadecanoic acid
18	52.173	0.33	Octadecanal
19	53.043	2.69	9-Octadecenamide
20	53.759	5.05	Squalene
21	53.888	6.28	Squalene
22	59.274	6.21	Triacetyl heptafluorobutyrate
23	61.650	0.80	2,2-Dimethyl-3-(3,7,16,20-tetramethyl-heneicosa-3,7,11,15,19-pentaenyl)-oxirane
24	62.659	3.72	2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,8-dimethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-, [2R-[2R*(4R*,8R*)]]-

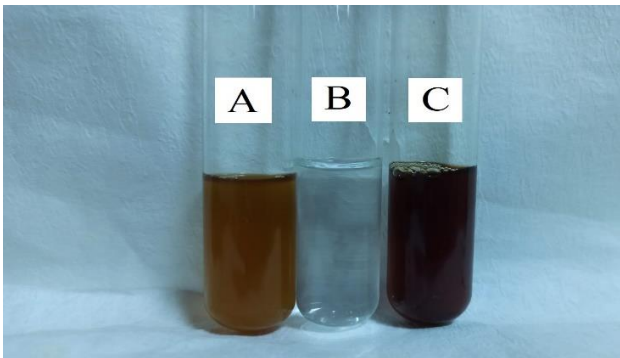
Yaprak özütünde en fazla bulunan bileşikler Styracitol %40.81 oranında, 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- %13.83, Squalene %6.28, Triacetyl heptafluorobutyrate %6.21, Palmitic acid %6.02, 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,8-dimethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-, [2R-[2R*(4R*,8R*)]]- %3.72 oranında bulunma yüzdesine sahiptirler (Tablo 1).

Styracitol bir mannitol türevidir, Venditti vd. (2018), *Styrax officinalis* L. meyve fitokimyasal analizinde 1,5-anhydro-D-mannitol (Styracitol) bileşimini tanımlamışlardır, ayrıca Anıl (1977), *Styrax officinalis* meyve kabuklarında Styracitol varlığını belirtmiştir. *S. officinalis* bitkisinin tohumlarında yapılan çalışmaya bakıldığında yağ asidi linoleik asit %37.74 olarak belirlenmiştir (Cesur vd., 2018). 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- bir omega 6 yağ asidi olan linolenik asittir ve mevcut çalışmada yaprak ekstraktında %13.83 olarak tespit edilmiştir.

4.2. AgNP Karakterizasyonu

4.2.1 AgNP'lerin Morfolojik Karakterizasyonu

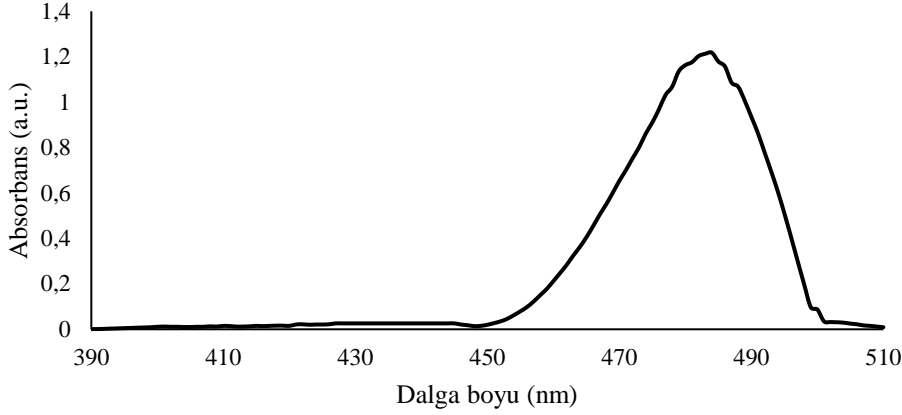
S. officinalis yaprakları kullanılarak elde edilen AgNP'lerin sentezinin gerçekleştiği renk değişimi gözlenerek tespit edilmiştir. Ekstraktın sarı renkten bordo-kahverengiye geçiş yapması gümüş nanopartiküllerinin oluştuğunu göstermiştir (Şekil 1).



Şekil 1. AgNP'lerin sentez sonrası renk değişimi görüntüsü. A. *S. officinalis* L. su ekstraktı, B. AgNO₃, C. AgNP.

4.2.2. UV-Vis Spektroskopisi Analizi Sonuçları

UV-Vis spektrofotometre analizi ile AgNP'lerin, 390-510 nm aralığında ölçümü yapıldı. 484 nm'de maksimum pik gösterdi, gümüş nanopartiküllerin sentezini doğrulayan ve litaretürdeki diğer çalışmalarla uyumlu bir kanıt sunmuştur (Şekil 2).

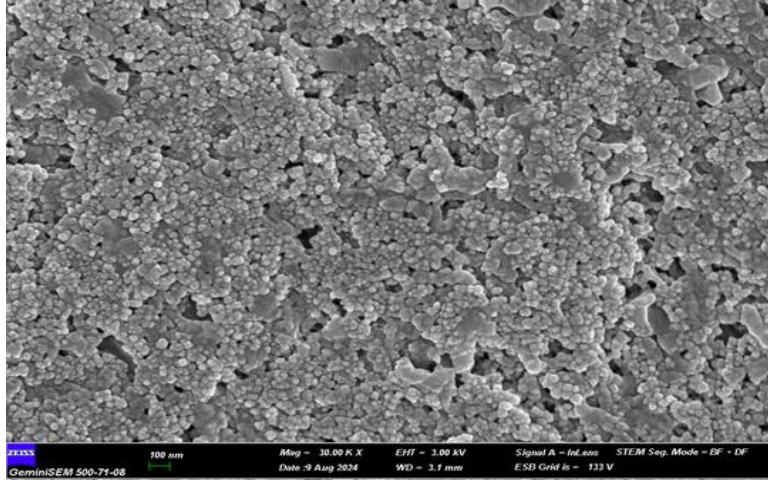


Şekil 2. Gümüş nanopartiküllerin UV-Vis spektroskopisi

Yapılan literatür çalışmalarında; *Styrax benzoin*'den elde edilen benzoin tozunun AgNP'lerinin 450 nm civarında (Du vd., 2016), *Helichrysum arenarium* çiçek özütü kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin 427 nm'de (Acar vd., 2023), *Persea americana* Mill. bitki yapraklarından yeşil sentez yöntemi ile elde edilen AgNP'lerin 416 nm'de (Adıgüzel, 2023), *Allium turcicum* bitkisinden elde edilen nanopartiküllerinde 483 nm'de pik gösterdiği bildirilmiştir (Yavuz, 2024).

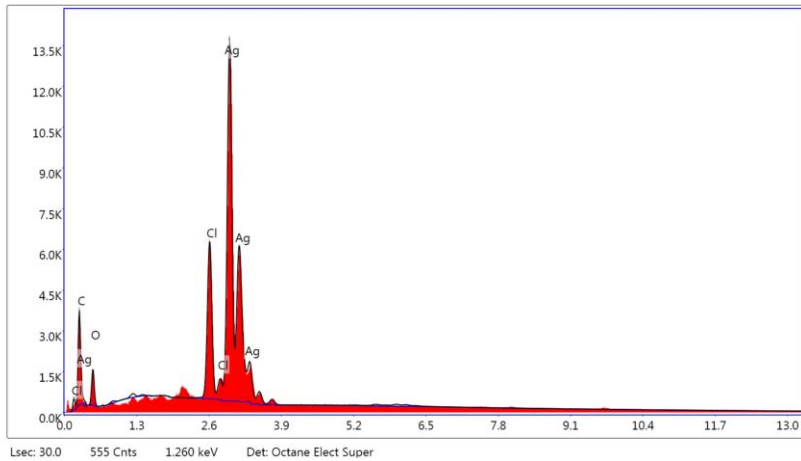
4.2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi Sonuçları

SEM karakterizasyon tekniği ile nanopartiküllerin morfoloji, şekil ve boyut gibi özellikleri hakkında bilgi edinilmektedir. SEM analizi sonucunda küresel gümüş nanopartiküllerin oluşumu görüldü (Şekil 3).



Şekil 3. Gümüş nanopartiküllerin SEM analizi

Literatüre bakıldığında, *Prunus spinosam* meyve özütü kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin analiz sonuçlarında küresel yapıda olduğu bildirilmiştir (Atalar vd., 2021). *Persea americana* Mill. bitki yapraklarından sentez edilen gümüş nanopartiküllerin SEM görüntülerinde küresel gümüş nanopartiküllerin varlığı görülmüştür (Adıgüzel, 2023). Ayrıca başka bir çalışmada *Polygonum cognatum* Meissn. bitkisi kullanılarak sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin morfolojik özellikleri SEM ile incelendiğinde küresel nanopartiküller elde edilmiştir (Birsen, 2024).



Şekil 4. Gümüş nanopartiküllerin EDS spektroskopisi

Sentezlenen nanopartiküllerin EDS analizi değerlendirildiğinde yaklaşık 3 keV'de pik verdiği görülmektedir (Şekil 4). EDS analizinde 3 keV gümüş nanopartiküllerin karakteristik bir değeridir, bu pik değerinin varlığı gümüş nanopartiküllerin sentezini doğrulamaktadır ve litaretür ile uyumludur. Chakraborty vd. (2021), *Galphimia glauca* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'ler EDS spektrumu 3keV'de belirgin absorpsiyon piki verdiğini göstermişlerdir. Acar vd. (2023), *Helichrysum arenarium* çiçek özütü ile sentezledikleri AgNP'lerin elementel bileşimini EDS ile belirlemişler ve gümüşün varlığını doğrulamışlardır.

Çalışmada EDS spektroskopisinde görülen karbon (C), klor (Cl) ve oksijen (O₂) piklerinin nanopartikül yüzeyindeki ekstrakt kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4). Yavuz (2024), *Allium turcicum* bitki ekstraktından sentezlenen AgNP'lerin EDS spektroskopisi sonucunda karbon, klor, oksijen piklerinin nanopartiküllerin yüzeyindeki fitokimyasallardan kaynaklı olabileceğini belirtmiştir.

4.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.3.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları Değerlendirilmesi

Antimikrobiyal etkinliği araştırmak amaçlı çeşitli testler kullanılmaktadır. Eskiye nazaran günümüzde sentetik maddeler yerine doğal bitkisel ürünlerin kullanımına olan ilginin artışı ile çeşitli bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması yönünde çalışmalar artmıştır. Çalışmada kullanılan *S. officinalis* bitki yapraklarından elde edilen ekstrakt ve nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinlikleri ile enfeksiyonlara karşı potansiyel olarak etki gösterip göstermeyecekleri araştırılmıştır.

Antimikrobiyal etkisini araştırdığımız ekstrakt ve AgNP'lerin mikroorganizmaların gözle görülebilecek üremelerini inhibe ettikleri konsantrasyonları Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri olarak kabul edilir.

Tablo 2

Ekstrakt ve AgNP'nin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK, µg/mL) değerleri

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	AgNP	Ampisilin
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	1000	500	0.32
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	1000	500	2
<i>P. vulgaris</i> (NRRL-B-123)	1000	1000	0.06
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	1000	500	0.06
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	1000	1000	0.06
<i>E. faecalis</i> (NRRL-B-14617)	1000	500	1

Çalışmada kullanılan Gram negatif bakteriler (*E.coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*) ve Gram pozitif bakterilerin (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis*) ekstrakt ve AgNP'lere karşı duyarlılıkları broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. MİK üremenin olmadığı en düşük konsantrasyondur. AgNP'lerin Gram negatif bakteriler üzerine MİK değerleri *E. coli* 500 µg/mL, *P. aeruginosa* 500 µg/mL, *P. vulgaris* 1000 µg/mL iken Gram pozitif bakterilerin ise *B. subtilis* 500 µg/mL, *S. aureus* 1000 µg/mL, *E. faecalis* 500 µg/mL olarak belirlendi. Ekstraktın Gram negatif bakterilerde MİK değerleri; *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* için 1000 µg/mL, Gram pozitif bakterilerde MİK değerleri *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis* 1000 µg/mL olarak belirlendi (Tablo 2). Sonuç olarak ekstraktın inhibe edici etki göstermediği, AgNP'lerin ise *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde inhibe edici etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Jaradat vd. (2018), *Styrax officinalis* yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın 6.25 mg/mL, *Pseudomonas aeruginosa* ve Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* bakterilerinde ise 3.125 mg/mL MİK değeri ile bakteri büyümesini inhibe ettiği, organik ekstraktın ise *P. aeruginosa* üzerinde inhibisyon göstermediği buna karşın 12.5 mg/mL MİK değeri ile *S. aureus*, *Enterococcus faecium* bakterilerinde ve *Candida albicans* üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir.

Styrax ferrugineus yapraklarından izole edilen bileşikler ve metanolik özüt *Candida albicans* (ICB 12 mayası), *Cladosporium sphaerospermum* (SPC 491) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 12228) üzerinde incelenmiş ve ham özütün *S. aureus*'a 200 mg/mL, *C. albicans* (ICB 12 mayası) 800 mg/mL ve *C. sphaerospermum* (SPC 491)'a karşı 750 mg/mL MİK değeri ile etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (Pauletti vd., 2000). *Styrax pohlii* bitkisinin toprak üstü kısımlarından (sap ve yapraklar) elde edilen etanolik ekstrakt ve çeşitli fraksiyonlarının antibakteriyel etkinlikleri incelenmiş ham etanolik ekstraktın *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)'ya karşı 400 µg/mL'lik MİK değeri tespit edilmiştir (Bertanha vd., 2013). *Styrax officinalis* bitkisinin meyve kısımlarından hazırlanan metanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerinde antibakteriyel etkisi *E. coli*'ye karşı inhibisyon zon çapları 12-13 mm, *S. aureus*'a karşı inhibisyon zon çapları 11-14 mm olarak bildirilmiştir (Mansour vd., 2016).

4.4. Antibiyofilm Aktivite Sonuçları

Tablo 3

Ekstrakt ve AgNP'lerin Antibiyofilm % İnhibisyon (µg/mL) değerleri

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	AgNP
<i>P. vulgaris</i> (NRRL-B-123)	-	25.61
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	58.39	77.23
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	63.75	86.38
<i>E. faecalis</i> (NRRL -B-14617)	27.03	33.78
<i>S. aureus</i> (ATTC 25923)	36.45	45.79
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	88.24	91.58

Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerindeki antibiyofilm aktiviteleri değerlendirildi. Buna göre %88.24 µg/mL ile *B. subtilis*'e karşı ekstraktın en yüksek antibiyofilm etkinliği gözlemlenirken, AgNP'lerin %91.58 µg/mL ile yine *B. subtilis* bakterisine karşı en yüksek antibiyofilm aktiviteye sahip olduğu görüldü. En düşük antibiyofilm aktivite ekstraktta %27.03 µg/mL olarak *E. faecalis*

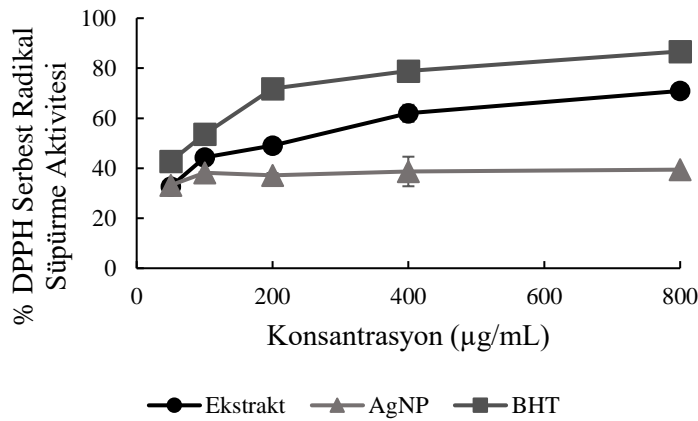
bakterisine, AgNP'ler için %25.61 µg/mL oranla *P. vulgaris* bakterisine karşı gözlemlendi. *P. vulgaris* bakterisinin ekstrakt üzerinde aktivite gösterdiği tespit edildi (Tablo 3).

Du vd. (2016), *Styrax benzoin*'den elde edilen benzoin tozundan sentezledikleri AgNP'lerin *Escherichia coli* (ATCC 43894) bakterisi biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini 1-10 µg/mL aralığında konsantrasyonlarda AgNP ile muamele ederek incelemişlerdir. 1, 2, 5, 10 µg/mL konsantrasyonlarda biyofilm oluşumunda %10.9, %44.1, %54.0, %65.5'lik azalma tespit etmişlerdir. AgNP'lerin biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

4.5. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.5.1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Radikali Süpürme Aktivitesi Değerlendirilmesi

DPPH• çözeltisi, 517 nm'de koyu mor renkli güçlü bir absorbans gösterir. Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin antioksidan aktivite tayinlerini belirlemek için DPPH yöntemi kullanılmış olup DPPH serbest radikal süpürme aktiviteleri % İnhibisyon-konsantrasyon (µg/mL) grafiği verilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Ekstrakt ve AgNP'lerin % DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi.

Sonuç olarak ekstraktın AgNP'ler ile kıyas edildiğinde daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir. DPPH radikali süpürme aktivitesi antioksidan konsantrasyonu arttıkça DPPH radikalinin süpürme aktivitesi artmıştır özellikle ekstraktta konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite artış göstermektedir. En yüksek antioksidan aktivite 800 µg/mL konsantrasyonda ekstrakt için 70.91±3.41, AgNP'ler için, 39.43±5.91 olarak görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4

Ekstrakt ve AgNP'lerin % DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi

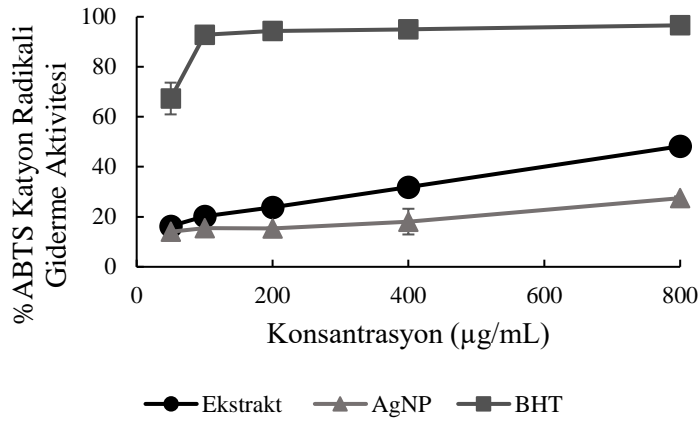
Konsantrasyon (µg/mL)	Ekstrakt	AgNP	BHT
50	32.61±1.70	33.18±4.43	42.73
100	44.32±1.25	38.13±0.74	53.69
200	49.09±1.70	37.10±0.28	71.87
400	61.93±0.34	38.69±0.97	78.90
800	70.91±3.41	39.43±5.91	86.70

Mevcut çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin sırası ile IC₅₀ değerleri 0.43 mg/mL, 0.71 mg/mL olarak tespit edilmiştir. *Styrax formosanum* yapraklarından sentezlenen aseton ekstraktın DPPH analizinde IC₅₀ değerini 31.5 µg/mL olarak belirlenmiştir (Hou vd., 2003). Jaradat vd. (2018), *Styrax officinalis* bitkisi yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın ve ham ekstraktın IC₅₀ değerlerini 11.7±0.53 µg/mL ve 15.5±0.53 µg/mL olarak bildirmişlerdir.

Styrax sumatrana bitkisinden elde edilen kemenyan reçinesinin antioksidan aktivitesi DPPH analiz sonucuna göre IC₅₀ değerleri 15.28 ila 31.74 mL aralığında tespit edilmiş olup antioksidan kapasitesinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Hidayat vd., 2018). *Styrax ferrugineus* hidroetanolik çiçek ekstraktının DPPH sonucu antioksidan aktivitesi 22.74 µg/mL IC₅₀ olarak bildirilmiştir (de Menezes Filho vd., 2020). *Styrax officinalis* bitkisi meyve perikarpı metanolik ekstraktının DPPH radikal giderme aktivite oranı % 81±0.001 (0.52 µg TE/g) olarak en yüksek oranda belirlenmiştir (Sak vd., 2024).

4.5.2. ABTS^{•+} Katyon Radikali Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi

ABTS^{•+} [2,2'-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] kararlı bir radikaldir antioksidan kapasite tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemlerdendir. 734 nm'de en yüksek absorbans göstermekte absorbansı düştükçe inhibisyon artmakta ve antioksidanlara karşı renk değişimine uğramaktadır (Dong vd., 2015).



Şekil 6. Ekstrakt ve AgNP'lerin % ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi.

Tablo 5

Ekstrakt ve AgNP'nin ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi (%)

Konsantrasyon (µg/mL)	Ekstrakt	AgNP	BHT
50	16.30±0.55	14.02±1.37	67.30±6.34
100	20.17±0.34	15.52±1.77	92.80±1.50
200	23.86±0.82	15.34±0.34	94.31±0.78
400	31.83±0.27	18.07±5.13	94.94±1.43
800	48.22±0.27	27.45±0.68	96.58±2.27

Ekstrakt ve AgNP'lerin ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi sonuçları incelendiğinde ekstraktın AgNP'lere göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Konsantrasyon oranı arttıkça hem ekstrakt hem AgNP'lerin aktivitesinde bir

artış tespit edilmiştir. Ekstrakt 800 µg/mL olan en yüksek konsantrasyonda %48.22±0.27 oranında katyon radikali giderme aktivitesi gösterirken, AgNP'ler aynı konsantrasyonda %27.45±0.68 oranında aktivite göstermiştir (Şekil 6, Tablo 5).

4.6. Mutajenik Aktivite Sonuçları

Tablo 6

Ekstrakt ve AgNP'lerin Ames/Salmonella testi ile mutajenik aktivitesi

Uygulama	Konsantrasyon (µg/mL)	His ⁺ Geri Dönen Koloni Sayısı/Plaka	
		TA98	TA100
		Ort±SS	Ort±SS
PK	NPD	491.00±5.51	
	SA	983.67±132.21	
Ekstrakt	0.5	19.33±8.50	77.33±9.71
	5	16.67±5.51	69.33±6.51
	50	15.33±1.53	67.00±5.57
	100	15.00±1.00	37.00±2.00
AgNP	0.5	17.67±7.67	65.00±1.00
	5	15.33±7.37	61.00±5.00
	50	18.00±2.00	80.67±12.66
	100	2.67±1.53	80.00±2.00
NK	dH ₂ O	20.33±2.89	104.67±2.52
SK		22.00±2.65	82.00±1.00

PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol, SK: Spontan kontrol,

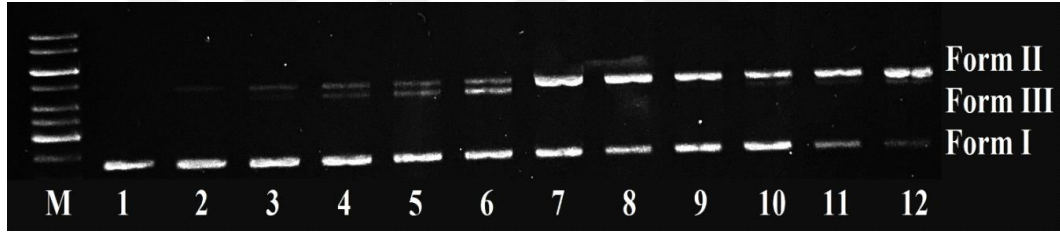
NPD: 4-nitro-o-fenilendiamin (10^{-2} µg/plaka), SA: Sodyum azid (10^{-3} µg/plaka).

Çalışmada, ekstrakt ve AgNP'lerin mutajenik aktivitelerini belirlemek amaçlı Ames/Salmonella testi kullanıldı. *S. typhimurium* mutant suşları olan TA98 ve TA100 üzerinde mutajenik aktivite araştırıldı. Sonuçları değerlendirdiğimizde hem ekstrakt hemde AgNP'lerin TA98 ve TA100 suşlarındaki geri dönen koloni sayısı negatif kontrol grubu ile kıyas edildiğinde mutajenik aktiviteye sahip olmadığı gözlemlenmiştir (Tablo 6). Başka bir

çalışmada Ames/ *Salmonella* testi sonucu gümüş nanopartiküllerin mutajenik aktivite sergilemedikleri belirtilmiştir (Dalgıç, 2022).

4.7. DNA Kırma Aktivitesi Sonuçları

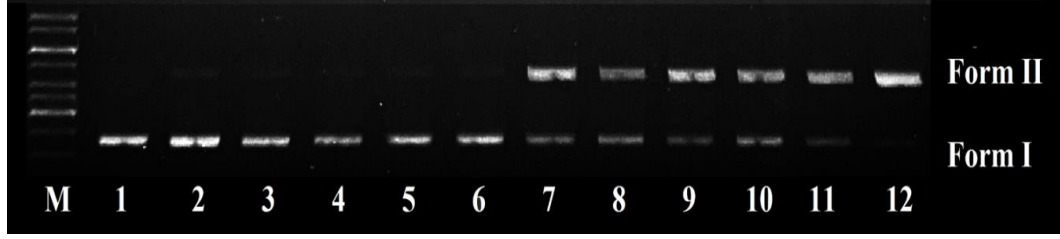
Çalışmada kullanılan ekstrakt ve AgNP'lerin DNA kırma aktivitelerini araştırmak amaçlı agaroz jel elektroforez yöntemi ile aktivite hidrolitik ve oksidatif olarak değerlendirildi. Ekstrakt, oksitleyici ajan yokluğunda (hidrolitik) DNA'yı 100 µg/mL den itibaren kırma aktivitesi göstermiş, oksitleyici ajan varlığında (oksidatif) DNA kırma aktivitesi gösterdiği fakat 800 µg/mL konsantrasyonlarda denatüre olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Ekstrakt DNA kırma aktivite analizi. 1-6. Hidrolitik aktivite, 7-12. Oksidatif aktivite.

M: Marker, 1. DNA kontrol, 2. DNA + 50 µg/mL, 3. DNA + 100 µg/mL, 4. DNA + 200 µg/mL, 5. DNA + 400 µg/mL, 6. DNA + 800 µg/mL, 7. DNA + H₂O₂, 8. DNA + H₂O₂ + 50 µg/mL, 9. DNA + H₂O₂ + 100 µg/mL, 10. DNA + H₂O₂ + 200 µg/mL, 11. DNA + H₂O₂ + 400 µg/mL, 12. DNA + H₂O₂ + 800 µg/mL.

AgNP'lerin oksitleyici ajan yokluğunda DNA kırma aktivitesi göstermezken, oksitleyici ajan H₂O₂ varlığında DNA kırma aktivitesi gösterdikleri Form I DNA'nın (Süper sarmal), Form II (Halkasal form)'ye dönüşümü ile gözlemlendi. 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonda denatüre olduğu görülmüştür (Şekil 8).



Şekil 8. AgNP'lerin DNA kırma aktivite analizi. 1-6. Hidrolitik aktivite, 7-12. Oksidatif aktivite.

M: Marker, 1. DNA kontrol, 2. DNA + 50 µg/mL, 3. DNA + 100 µg/mL, 4. DNA + 200 µg/mL, 5. DNA + 400 µg/mL, 6. DNA + 800 µg/mL, 7. DNA + H₂O₂, 8. DNA + H₂O₂ + 50 µg/mL, 9. DNA + H₂O₂ + 100 µg/mL, 10. DNA + H₂O₂ + 200 µg/mL, 11. DNA + H₂O₂ + 400 µg/mL, 12. DNA + H₂O₂ + 800 µg/mL.

Literatüre bakıldığında bitkilerin indirgeyici ajan olarak kullanıldığı yeşil sentez ile AgNP sentezi sonucu oluşan AgNP'lerin DNA kırma aktivitesi gösterdiğine dair çalışmalar yer almaktadır. *Pimenta dioica* bitkisinden yeşil sentez yöntemiyle sentez edilen gümüş nanopartiküllerin DNA'yı hidrolitik ve oksidatif olarak DNA kırma aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Akyol vd., 2024). *Verbascum thapsus* yapraklarından elde edilen AgNP'lerin pBR322 plazmiti üzerinde DNA kırma aktivitesi gözlemlenmiştir (Gonca vd., 2021). *Rosa canina* bitkisinden sentezlenen AgNP'lerin DNA kırma aktiviteleri jel elektroforez yöntemi incelenmiş Form I DNA'nın Form II'ye dönüşümünün gözlenmesi ile AgNP'lerin DNA kırma aktivitesi tespit edilmiştir (Gulbagca vd., 2019).

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, *Styrax officinalis* bitkisinin yaprakları kullanılarak, yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküller elde edilmiştir. Bu süreç, çevre dostu ve sürdürülebilir bir yaklaşım olarak ön plana çıkmaktadır. Sentezlenen AgNP'lerin biyolojik aktiviteleri, kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve bu nanopartiküllerin çeşitli mikroorganizmalar üzerinde etkileri, antioksidan kapasiteleri, mutajenik aktiviteleri ve DNA kırma potansiyelleri araştırılmıştır. Yapılan analizler, elde edilen AgNP'lerin özelliklerini ortaya koyarken, literatürdeki benzer çalışmalarla tutarlı ve destekleyici bulgular sunmuştur.

AgNP'lerin karakterizasyonu için kullanılan yöntemler arasında, UV-Vis spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) bulunmaktadır. UV-Vis spektroskopisi, nanopartiküllerin yüzey plasmon rezonansını gösteren tipik bir analiz yöntemi olup, 484 nm'lik maksimum absorbans piki elde edilmiştir. SEM ve EDS analizlerinde küresel morfolojide nanopartiküllerin elde edildiği doğrulanmıştır. Bu sonuçlar, yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin spektral özellikleri ile ilgili yapılan önceki çalışmalarda belirtilen karakteristik değerlerle uyumludur.

Çalışmamızda kullandığımız *S. officinalis* yapraklarından elde edilen sulu ekstrakt ve sentezlenen AgNP'lerin biyolojik etkinlikleri incelendiğinde, nanopartiküllerin çeşitli patojenlere karşı önemli bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* gibi bakterilere karşı inhibisyon etkisi gösteren AgNP'ler, yeşil sentezle elde edilen nanomateryallerin antimikrobiyal potansiyelini bir kez daha ortaya koymuştur. AgNP'lerin yüzeyindeki aktif bileşikler, bakteriyel hücre duvarlarıyla etkileşime girerek mikroorganizmaların gelişmesini inhibe eder. Buda nanopartiküllerin antibakteriyel tedavi yöntemlerinde kullanılabileceği anlamına gelmektedir.

Ayrıca, AgNP'lerin biyofilm oluşumunu inhibe edici etkisi de bu çalışmanın önemli bulgularındandır. Biyofilm, mikroorganizmaların yüzeylere tutunarak oluşturdukları koruyucu tabakalardır ve bu yapı, patojenlerin tedavilere karşı direnç geliştirmesine neden olabilir. Sentezlenen AgNP'lerin, özellikle *B. subtilis* üzerinde biyofilm oluşumunu inhibe etme yeteneği gösterdiği bulunmuştur. Biyofilm inhibisyonunun sağlanması, AgNP'lerin enfeksiyon tedavisindeki etkinliğini artırabilecek bir özellik olarak öne çıkmaktadır. Nanopartiküllerin bu potansiyeli, bakteriyel hastalıkların tedavisinde yeni ve etkili bir yaklaşım sağlayabilir.

Çalışmamızda, ekstraktın 70.91 µg/mL, AgNP'lerin ise 39.43 µg/mL ile en yüksek radikal süpürme aktivitesine ve ekstraktın %48.22±0.27, AgNP'lerin %27.45±0.68 oranında katyon radikali giderme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. DPPH ve ABTS radikal süpürme testleri kullanılarak yapılan analizler, her iki materyalin de konsantrasyona bağlı olarak artan antioksidan kapasiteye sahip olduğunu, ekstraktın AgNP'lerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. AgNP'lerin antioksidan özellikleri, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin önlenmesine yardımcı olabilir ve bu da AgNP'lerin potansiyel terapötik etkilerini destekler. Antioksidan özelliklerinin, bitkisel ekstraktlarda bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu bileşikler, hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasında önemli rol oynamaktadır. *S. officinalis* geleneksel tıpta cilt hastalıklarında kullanılmıştır, günümüzde kozmetik ürünlerde yaşlanma belirtilerinin azaltılması ön planda yer almakta, *S. officinalis* bitki ekstraktı ve AgNP'lerin göstermiş oldukları antioksidan özellik kozmetik alanda cilt ürünlerinde, kullanımına kapı aralayabileceği düşünülmektedir.

Nanopartiküllerin mutajenik etkileri üzerine yapılan testler de bu çalışmanın önemli bulgularını oluşturmaktadır. AgNP'ler ve sulu ekstrakt üzerinde yapılan Ames testi, mutajenik bir etki göstermemiştir. Bu bulgu nanopartiküllerin genotoksik olmadığını ve potansiyel olarak toksik etkilerinin olmadığını ortaya koymaktadır. Litaretüre bakıldığında yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin genellikle toksikolojik açıdan güvenli olduğu görülmektedir. Genotoksik olmayan nanopartiküller, biyomedikal uygulamalarda daha güvenli bir seçenek sunmakta ve bu da onların geniş bir uygulama alanı bulmasını sağlamaktadır.

DNA kırma aktivite analizinde, bitki ekstraktının hem hidrolitik hem de oksidatif koşullarda DNA üzerinde hasar oluşturduğu, ancak AgNP'lerin yalnızca oksidatif koşullarda etki gösterdiği gözlenmiştir.

Bu çalışma, *S. officinalis* bitki yapraklarından elde edilen ekstrakt ve yeşil sentez ile elde edilen AgNP'lerin biyolojik aktivitelerini ortaya koymuştur. Literatürde, benzer yöntemlerle elde edilen AgNP'lerin tıbbi cihazlar, biyomedikal ürünler, gıda ambalajları ve kozmetik uygulamalarında geniş bir kullanım potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir. Özellikle antibiyofilm ve antimikrobiyal aktiviteler, bu nanopartiküllerin medikal alanda enfeksiyon kontrolü için önemli bir aday olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlar, yeşil sentez yönteminin çevre dostu, ekonomik ve etkin bir yöntem olduğunu doğrulamakta ve bu yöntemin sürdürülebilir nanoteknoloji uygulamaları için geniş bir potansiyel sunduğunu desteklemektedir.

KAYNAKÇA

- Acar, A. C., Pehlivanoglu, S., Yeşilot, S. and Uzuner, S. (2023). “Microwave-assisted biofabrication of silver nanoparticles using *Helichrysum arenarium* flower extract: characterization and biomedical applications”. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(15), 14211-14223.
- Adhikary, S. and Dasgupta, N. (2023). “Role of secondary metabolites in plant homeostasis during biotic stress”. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102712.
- Adıgüzel, B. (2023). *Persea americana* Mill. yapraklarından sentezlenen gümüş ve altın nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Agnihotri, R., Gaur, S. and Albin, S. (2020). “Nanometals in dentistry: applications and toxicological implications—A systematic review”. *Biological Trace Element Research*, 197(1), 70-88.
- Ahloowalia, B. S., Maluszynski, M. and Nichterlein, K. (2004). “Global impact of mutation-derived varieties”. *Euphytica*, 135, 187-204.
- Akyol, İ., Duman, M. ve Demir, N. (2024). “*Pimenta dioica* sulu ekstraktı ile gümüş nanopartikülü sentezi ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması”. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 11(3), 815-824.
- Ali, A., Shah, T., Ullah, R., Zhou, P., Guo, M., Ovais, M. and Rui, Y. (2021). “Review on recent progress in magnetic nanoparticles: synthesis, characterization, and diverse applications”. *Frontiers in Chemistry*, 9, 629054.
- Allison, D. G. (2003). “The biofilm matrix”. *Biofouling*, 19(2), 139-150.
- Almulla, S. (2020). In vitro cytotoxic and antioxidant potentials of extracts and essential oils of *Styrax officinalis* L. (Styracaceae) from Jordan on three human cancer cell lines. Unpublished Ph.D. thesis, Jordan Üniversitesi, Amman.

- Almulla, S. I., Diwood, N. M. and Alzbeede, A. A. (2024). "Assessment of cytotoxic potentials of *Styrax officinalis* (Styracaceae) extracts from Jordan against human cancer cell lines". *J. Biomed. Sci*, 1, 31-39.
- Anil, H. (1977). "Isolation of styracitol and sucrose from fruit peels of *Styrax officinalis* L.". In *Chemical Abstracts*, 90, 36298.
- Altuner, E. M. (2008). Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Altuner, E. E. (2014). "Nano kremlerin üretimi". *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 4(1), 52-57.
- Ames, B. N. (1983). "Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases". *Science*, 221(4617), 1256-1264.
- Ames, B. N. and Maron, D. M. (1983). "Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test." *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(3-4), 173-215.
- Atalar, M. N., Baran, A., Hatipoğlu, A., Firat Baran, M., Yavuz, Ö., Aktepe, N. and Keskin, C. (2021). "The characterization of silver nanoparticles synthesized from *Prunus spinosa* fruit and determination of antimicrobial effects on some food pathogens". *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32), 298-305.
- Ateş, M., Demir, V. ve İmamoğlu, H. (2013). "Nanoparçacıkların özellikleri ve akuatik çevreye etkisi". *Ziraat Mühendisliği*, (360), 52-59.
- Balagna, C., Perero, S., Percivalle, E., Nepita, E. V. and Ferraris, M. (2020). "Virucidal effect against coronavirus SARS-CoV-2 of a silver nanocluster/silica composite sputtered coating". *Open Ceramics*, 1, 100006.
- Balyen, İ. and Kiraz, A. B. (2024). "Determination of nutritional value and methane production potential of styrax tree (*Styrax officinalis* L.) leaves". *Heliyon*, 10(14).

- Baran, A., Hatipoğlu, A., fırat Baran, M. ve Aktepe, N. (2022). “Alıç (*Crataegus monogyna*) meyve özütünden altın nanopartiküllerin sentezi ve antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi”. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32), 974-978.
- Bertanha, C. S., Utrera, S. H., Gimenez, V. M. M., Groppo, M., Silva, M. L. A., Cunha, W. R. and Pauletti, P. M. (2013). “Antibacterial evaluation of *Styrax pohlii* and isolated compounds”. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49, 653-658.
- Birsen, Y. (2024). Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) ekstraktı kullanarak yeşil olarak sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu ve bazı *Phytophthora* türlerine karşı antifungal aktivitesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Blois, M. S. (1958). “Antioxidant determinations by the use of a stable free radical”. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bölükbaşı, S. Ş., Öztürk, S. E., Anıl, H. and Siliđ, Y. (2016). “Effects of egonol that isolated from seeds of *Styrax officinalis* (L.) on lipid peroxidation and antioxidant defense system in human erythrocytes”. *Cumhuriyet Medical Journal*, 38(3), 168-178.
- Bulut, E. (2007). Gümüş nanopartiküllerin polifenollerle sentezi ve karakterizasyonu. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Bütünler, D. B ve Kantarcı, G. (2006). “Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi”. *Journal Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 35(2), 149-170.
- Cabeen, M. T. and Jacobs-Wagner, C. (2005). “Bacterial cell shape”. *Nature Reviews Microbiology*, 3(8), 601-610.
- Cesur, C., Şenkal, B. C., Uskutođlu, T., Dođan, H., Kaya, A. R. ve Fidan, H. (2018). “Tarımsal ormancılık kapsamında yeni bir endüstri bitkisi: Tesbi (*Styrax officinalis* L.) Çalışı”. *Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences (Ejons)*, 2(5), 83-90.

- Chakraborty, B., Kumar, R. S., Almansour, A. I., Kotresha, D., Rudrappa, M., Pallavi, S. S. and Nayaka, S. (2021). "Evaluation of antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity of silver nanoparticles derived from *Galphimia glauca* leaf extract". *Journal of King Saud University-Science*, 33(8), 101660.
- CLSI, W. (2006). "Clinical and laboratory standards institute methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically". Approved Standard M7-A7, CLSI, Seventh ed, PA, USA.
- Dalgıç, B. (2022). *Sorghum bicolor* var. *technicum* tohum ekstraktı ile gümüş nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çanakkale.
- Debnath, S., Nath, M., Sarkar, A., Roy, G., Chakraborty, S. K. and Debnath, B. (2024). "Phytochemical characterization of *Styrax benzoin* resin extract, molecular docking, ADME, and antibacterial activity study". *Natural Product Research*, 38(7), 1263-1268.
- de Menezes Filho, A. C. P., Santos, M. C., de Sousa, W. C. and de Souza Castro, C. F. (2020). "Avaliações físico-químicas, fitoquímicas e bioativas do extrato hidroetanólico floral de *Styrax ferrugineus* Nedd & Mart.(laranjinha-do-cerrado)". *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 3(3), 380-380.
- Denkbaşı, E. B. (2015). "Nanotechnology in Turkey". *The Informatics Association of Turkey Informatics Magazine*, 172, 78-87
- de Oliveira, P. F., Damasceno, J. L., Nicoletta, H. D., Bertanha, C. S., Pauletti, P. M. and Tavares, D. C. (2016). "Influence of *Styrax camporum* and of chemical markers (egonol and homoeonol) on DNA damage induced by mutagens with different mechanisms of action". *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 39(11), 1839-1845.
- Dilek, B. (2004). Porsuk nehri mutajenitesinin Ames/*salmonella* test metodu le araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Eskişehir.

- Dilsiz, N. (2004). *Moleküler Biyoloji*. Palme Yayıncılık: Ankara.
- Dong, J. W., Cai, L., Xing, Y., Yu, J. and Ding, Z. T. (2015). “Re-evaluation of ABTS•+ assay for total antioxidant capacity of natural products”. *Natural Product Communications*, 10(12), 2169-2172.
- Du, J., Singh, H. and Yi, T. H. (2016). “Antibacterial, anti-biofilm and anticancer potentials of green synthesized silver nanoparticles using benzoin gum (*Styrax benzoin*) extract”. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39, 1923-1931.
- Duncan, T. V. (2011). “Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors”. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363(1), 1-24.
- Eby, D. M., Schaeublin, N. M., Farrington, K. E., Hussain, S. M. and Johnson, G. R. (2009). “Lysozyme catalyzes the formation of antimicrobial silver nanoparticles”. *ACS Nano*, 3(4), 984-994.
- Eraslan, T. (2020). *Daphne oleoides*'den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya.
- Erci, F. (2018). Yeşil sentez ile elde edilen metal nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliklerinin değerlendirilmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Erdoğan, Ö., Birtekocak, F., Oryaşın, E., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Paşa, S. ve Çevik, Ö. (2019). “Enginar yaprağı sulu ekstraktı kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu, anti-bakteriyel ve sitotoksik etkileri”. *Duzce Medical Journal*, 21(1), 19-26.
- Erdoğan, Ö., Paşa, S. and Cevik, O. (2021). “Green synthesis and characterization of anticancer effected silver nanoparticles with silverberry (*Elaeagnus angustifolia*) fruit aqueous extract”. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(3), 391-400.

- Ergül, V. ve Çakır, S. (2023). “Nanoteknoloji'nin Sektörel Uygulamaları”. *Journal of Defense Sciences/Savunma Bilimleri Dergisi*, 43(1), 1-22.
- Fan, Y., Qiao, W., Long, W., Chen, H., Fu, H., Zhou, C. and She, Y. (2022). “Detection of tetracycline antibiotics using fluorescent “Turn-off” sensor based on S, N-doped carbon quantum dots”. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 274, 121033.
- Gonca, S., Arslan, H., Isik, Z., Özdemir, S. and Dizge, N. (2021). “The surface modification of ultrafiltration membrane with silver nanoparticles using *Verbascum thapsus* leaf extract using green synthesis phenomena”. *Surfaces and Interfaces*, 26, 101291.
- Gökdağ, S. (2021). *Plantago lanceolata* L. (*sinir otu*) su ekstraktı ile demir nanopartiküllerin (FeNPs) sentezlenmesi, kongo red boya giderimi ve biyolojik aktivitesinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Gulbagca, F., Ozdemir, S., Gulcan, M. and Sen, F. (2019). “Synthesis and characterization of Rosa canina-mediated biogenic silver nanoparticles for anti-oxidant, antibacterial, antifungal, and DNA cleavage activities”. *Heliyon*, 5(12).
- Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Choudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C. and Pakuwal, U. (2014). “Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review”. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(11), 4405-4409.
- Gurunathan, S., Choi, Y. J. and Kim, J. H. (2018). “Antibacterial efficacy of silver nanoparticles on endometritis caused by *Prevotella melaninogenica* and *Arcanobacterium pyogenes* in dairy cattle”. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1210.
- Harris, P. J. (2004). “Carbon nanotube composites”. *International Materials Reviews*, 49(1), 31-43.
- Hidayat, A., Iswanto, A. H., Susilowati, A. and Rachmat, H. H. (2018). “Radical scavenging activity of kemenyan resin produced by an Indonesian native plant, *Styrax sumatrana*”. *Journal of The Korean Wood Science and Technology*, 46(4), 346-354.

- Hou, W. C., Lin, R. D., Cheng, K. T., Hung, Y. T., Cho, C. H., Chen, C. H. and Lee, M. H. (2003). "Free radical-scavenging activity of Taiwanese native plants". *Phytomedicine*, 10(2-3), 170-175.
- İzol, Ö. G. E., Bingöl, Ö. G. Z., İnci, H., İlkaya, M. ve Gülçin, İ. (2021). "Erkek arı larvasının (Apilarnil) ABTS radikali giderme aktivitesi". Ispac 8th International Conference on Agriculture, Animal Sciences and Rural Development 24-25 December 2021, Bingol, Turkey.
- Jaradat, N., Al-Masri, M., Zaid, A. N., Hussein, F., Shadid, K. A., Al-Rimawi, F. and Eid, A. (2018). "Assessment of the antimicrobial and free radical scavenging activities of *Moluccella spinosa*, *Helichrysum sanguineum*, and *Styrax officinalis* folkloric medicinal plants from Palestine". *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 18, 107-114.
- Jaradat, N. (2020). "Phytochemistry, traditional uses and biological effects of the desert plant *Styrax officinalis* L". *Journal of Arid Environments*, 182, 104253.
- Kalishwaralal, K., BarathManiKanth, S., Pandian, S. R. K., Deepak, V. and Gurunathan, S. (2010). "Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 340-344.
- Kayacı, H. ve Andaç, M. (2024). "Güneş koruyucu ürünlerde ZnO nanopartiküllerinin rolü: güneşten koruyucu teknolojisinin yenilikçi boyutları". *Ata-Kimya Dergisi*, 4(2), 68-82.
- Khan, S. T., Musarrat, J. and Al-Khedhairi, A. A. (2016). "Countering drug resistance, infectious diseases, and sepsis using metal and metal oxides nanoparticles: current status". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 70-83.
- Khan, Z. U. H., Khan, A., Chen, Y., Shah, N. S., Muhammad, N., Khan, A. U. and Wan, P. (2017). "Biomedical applications of green synthesized Nobel metal nanoparticles". *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 150-164.

- Khan, S. A. (2020). "Metal nanoparticles toxicity: role of physicochemical aspects". In *Metal Nanoparticles for Drug Delivery and Diagnostic Applications* (pp. 1-11). Elsevier.
- Kasthuri, J., Veerapandian, S. and Rajendiran, N. (2009). "Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68(1), 55-60.
- Keskin, A. S. (2011). Nano boyutta gümüş sentezi ve tetra pirollerle etkileşimlerinin incelenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Koduru, J. R., Kailasa, S. K., Bhamore, J. R., Kim, K. H., Dutta, T. and Vellingiri, K. (2018). "Phytochemical-assisted synthetic approaches for silver nanoparticles antimicrobial applications: A review". *Advances in Colloid and Interface Science*, 256, 326-339.
- Kolahalam, L. A., Viswanath, I. K., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V. and Murthy, Y. L. N. (2019). "Review on nanomaterials: Synthesis and applications". *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190.
- Korkmaz, N. (2019). "Saintpaulia sulu yaprak özütü kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitesi". *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(4), 2225-2234.
- Kundu, C. K., Hossen, M. T. and Saha, R. (2022). "Coloration with nanoparticles: Scope for developing simultaneous colouring and functional properties onto textile surfaces— a short review". *Coloration Technology*, 138(5), 443-455.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A. and Parrilli, M. (2006). "The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides". *Carbohydrate Research*, 341(14), 2456-2461.
- Liau, S. Y., Read, D. C., Pugh, W. J., Furr, J. R. and Russell, A. D. (1997). "Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions". *Letters in Applied Microbiology*, 25(4), 279-283.

- Mansour, O., Darwish, M., Ali, E. and Ali, A. (2016). "Screening of antibacterial activity in vitro of *Styrax officinalis* L. Covers of berries extracts". *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 9(3), 209-211.
- Mansour, A.M. and Ragap, M.S. (2019). "Benzimidazol /2,2' – bipyridin bazlı binükleer üçlü geçiş metali komplekslerinin DNA / lizozim bağlanma eğilimi ve nükleaz özellikleri". *Royal Society of Chemistry*, 9, 30879-30887.
- Matsumura, Y., Yoshikata, K., Kunisaki, S. I. and Tsuchido, T. (2003). "Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate". *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4278-4281.
- Merritt, J. H., Kadouri, D. E. and O'Toole, G. A. (2006). "Growing and analyzing static biofilms". *Current Protocols in Microbiology*, (1), 1B-1.
- Miller, N. J., Rice-evans, C. and Davies, M. J. (1993). "A new method for measuring antioxidant activity". *Biochem Soc Trans*, 21(2), 95.
- Min, B. S., Na, M. K., Oh, S. R., Ahn, K. S., Jeong, G. S., Li, G. and Lee, H. K. (2004). "New furofuran and butyrolactone lignans with antioxidant activity from the stem bark of *Styrax japonica*." *Journal of Natural Products*, 67(12), 1980-1984.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. and Yacaman, M.J. (2005). "The bactericidal effect of silver nanoparticles". *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
- Mortelmans, K. and Zeiger, E. (2000). "The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay". *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1-2), 29-60.
- Mutaf, T., Çalışkan Bilgin, G., Öncel, S. ve Elibol, M. (2023). "Metal nanopartiküllerin mikroalgler aracılığı ile yeşil sentezi". *Su Ürünleri Dergisi*, 40(1), 81-89.
- Oğuz, S., Omurtag, G. Z., Arıcıoğlu, F. ve Şardaş, S. (2013). "Mutajenik-karsinojenik etkinin ames testi ile araştırılması". *Clinical and Experimental Health Sciences*, 3(2), 75-82.

- Oğuzperdahçi, T. (2019). Tuz stresinin biyolojik sentez demir nanopartikülleri ile sulu ortamdan ağır metal giderimine etkisi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Olsen, I. (2015). "Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance". *European Journal of Clinical Microbiology ve Infectious Diseases*, 34, 877-886.
- Özdemir, A. B. E. ve Doğru, N. H. (2022). "Beyaz çay yapraklarından yeşil sentez ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi". *In The 14th International Scientific Research Congress* (s. 148).
- Özkara, A. (2022). "Assessment of mutagenic activity of karate zeon pesticide by Ames test". *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22(3), 465-469.
- Öztürk, S. E., Akgül, Y. and Anıl, H. (2008). "Synthesis and antibacterial activity of egonol derivatives". *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(8), 4431-4437.
- Pandit, C., Roy, A., Ghotekar, S., Khusro, A., Islam, M. N., Emran, T. B., and Bradley, D. A. (2022). "Biological agents for synthesis of nanoparticles and their applications". *Journal of King Saud University-Science*, 34(3), 101869.
- Pauletti, P. M., Araújo, A. R., Young, M. C. M., Giesbrecht, A. M. and da Silva Bolzani, V. (2000). "nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity". *Phytochemistry*, 55(6), 597-601.
- Paşa, C. (2023). "The use of *Styrax officinalis* L. in folk medicine and chemical composition". *GSC Advanced Research and Reviews*, 17(03), 086-089.
- Ramsey, M. R. and Sharpless, N. E. (2006). "ROS as a tumour suppressor?" *Nature Cell Biology*, 8(11), 1213-1215.
- Rajasekharreddy, P. and Rani, P. U. (2014). "Biofabrication of Ag nanoparticles using *Sterculia foetida* L. seed extract and their toxic potential against mosquito vectors and HeLa cancer cells". *Materials Science and Engineering*, 39, 203-212.

- Remya, V. R., Abitha, V. K., Rajput, P. S., Rane, A. V, and Dutta, A. (2017). “Silver nanoparticles green synthesis: a mini review”. *Chem. Int*, 3(2), 165-171.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”. *Free Radical Biology and Medicine*, 26,1231–1237.
- Rittner, M. N. (2002). “Nanostructured Materials”. *American Ceramic Society Bulletin*, 81(3), 33-36.
- Russo, A., Izzo, A. A., Cardile, V., Borrelli, F. and Vanella, A. (2001). “Indian medicinal plants as antiradicals and DNA cleavage protectors”. *Phytomedicine*, 8(2), 125-132.
- Sak, S., Özdenefe, M. S., Erol, Ü. H. and Takcı, A. M. (2024). “Total chemical components, biological activity and chromatographic analyzes of *Styrax officinalis* fruit extract”. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 9(3), 457-463.
- Saman, F. (2022). Nano/Kuantum partikül bazlı yapıların gıda nanoteknolojisi uygulamaları: mikroplastik kirliliği için nanomagnetik plastikler ve floresan nişasta eldesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D. V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R. and George, C. S. (2021). “A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications”. *Chemosphere*, 264, 128580.
- Shawon, Z. B. Z., Hoque, M. E. and Chowdhury, S. R. (2020). “Nanosensors and nanobiosensors: Agricultural and food technology aspects”. In *Nanofabrication for Smart Nanosensor Applications* (pp. 135-161). Elsevier.
- Sohail, A. M. and Alam, T. (2022). Chemistry, biological activities, and uses of benzoin resin. In *gums, resins and latexes of plant origin: chemistry, biological activities and uses* (pp. 1-22). Cham: Springer International Publishing.
- Sies, H. (2019). Oxidative stress: Eustress and distress in redox homeostasis. In *Stress: physiology, biochemistry, and pathology* (pp. 153-163). Academic Press.

- Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P. and Kumar, P. (2018). “Green synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation”. *Journal of Nanobiotechnology*, 16, 1-24.
- Sivaranjani, V. and Philominathan, P. J. W. M. (2016). “Synthesize of titanium dioxide nanoparticles using *Moringa oleifera* leaves and evaluation of wound healing activity”. *Wound Medicine*, 12, 1-5.
- Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). “Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria”. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182.
- Tayoub, G., Schwob, I., Bessiere, J. M., Masotti, V., Rabier, J., Ruzzier, M. and Viano, J. (2006). “Composition of volatile oils of *Styrax* (*Styrax officinalis* L.) leaves at different phenological stages”. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(9), 705-709.
- Theron, J., Walker, J. A. and Cloete, T. E. (2008). “Nanotechnology and water treatment: applications and emerging opportunities”. *Critical Reviews in Microbiology*, 34(1), 43-69.
- Timmers, M. A., Guerrero-Medina, J. L., Esposito, D., Grace, M. H., Paredes-Lopez, O., García-Saucedo, P. A. and Lila, M. A. (2015). “Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory activities from mamuyo (*Styrax ramirezii* Greenm.) fruit”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10459-10465.
- Twaij, B. M. and Hasan, M. N. (2022). “Bioactive secondary metabolites from plant sources: types, synthesis, and their therapeutic uses”. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4-14.
- Vardar, D. Ö., Aydın, S. and Başaran, N. (2018). “Kuantum nokta nanopartiküllerin toksik etkilerine genel bakış”. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 7(1), 82-88.
- Venditti, A., Frezza, C., Serafini, I., Pulone, S., Scardelletti, G., Sciubba, F. and Serafini, M. (2018). “Chemical profiling of the fruits of *Styrax officinalis* L. from Monti Lucretili

(Latium region, Central Italy): Chemotaxonomy and nutraceutical potential”. *Trends in Phytochemical Research*, 2(1), 1-12.

Verma, R., Pathak, S., Srivastava, A. K., Praver, S. and Tomljenovic-Hanic, S. (2021). “ZnO nanomaterials: Green synthesis, toxicity evaluation and new insights in biomedical applications”. *Journal of Alloys and Compounds*, 876, 160175.

Yanık, F. (2019). *Triticum aestivum* L.(buğday)’da gümüş nanopartikülleri ile oluşturulmuş programlı hücre ölümünün belirlenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Yaşar, S., Demir, F. and Karatepe, Y. (2016). “Studies on chemical composition and phenolic extractives of some maquis species”. *Turkish Journal of Forestry*, 17(2), 187-193.

Yavuz, Ş. (2024). Zuzubak Bitkisinin (*Allium turcicum*) gümüş nanopartikül sentezi ve antimikrobiyal uygulamaları. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Batman Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Batman.

Yeşilyurt, M. K. and Cesur, C. (2020). “Biodiesel synthesis from *Styrax officinalis* L. seed oil as a novel and potential non-edible feedstock: A parametric optimization study through the Taguchi technique”. *Fuel*, 265, 117025.

Yiğit, A., Tunç, A. K. and Sarıtaş, B. M. (2024). “Investigation of the antimicrobial and antibiofilm effects of silver nanoparticles obtained from aloe vera plant by green synthesis”. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 166-176.

Yin, W., Wang, Y., Liu, L. and He, J. (2019). “Biofilms: the microbial “protective clothing” in extreme environments”. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3423.

Yüksel, S. (2005). Bazı sübsititüe benzinidenilin türevlerinin mutajenik aktivitelerinin Ames *Salmonella* mikrozom testi ile araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.