



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SORGHUM BICOLOR VAR. TECHNICUM TOHUM EKSTRAKTI
İLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN YEŞİL SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA DALGIÇ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

ÇANAKKALE – 2022



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***SORGHUM BICOLOR VAR. TECHNICUM* TOHUM EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİNİN YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA DALGIÇ

Tez Danışmanı

DR. ÖĞR. ÜYESİ NESLİHAN DEMİR

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)
kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2021-3745

ÇANAKKALE – 2022

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; 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 çalışmada 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.

Büşra DALGIÇ

08/08/2022

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun desteğini ve yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR'e, tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa YILDIZ, Prof. Dr. Nurcihan HACIOğLU DOğRU hocalarıma ve jüri üyesi Prof. Dr. Seyhun YURDUGÜL'e teőekkürlerimi borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımları ve bu süreç boyunca esirgemedikleri manevi desteklerinden dolayı sevgili arkadaşlarım Ebru CAMBAZ, Sultan SÜCÜ, Didem KURTUL, Uzman Biyolog Elif ÜNALDI, Aida VISHA ve Merve DUMAN'a çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca benden desteklerini esirgemeyen, hayatımın her anında arkamda duran ve beni destekleyen, haklarını asla ödeyemeyeceğim annem Canan DALGIÇ, babam Hasan DALGIÇ, ablam Afra DALGIÇ, kardeşim Yusuf Yuşa DALGIÇ ve dayım Cahit etin ATAY'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Büşra DALGIÇ
anakkale, Ağustos 2022

ÖZET

***SORGHUM BICOLOR VAR. TECHNICUM* TOHUM EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN YEŞİL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Büşra DALGIÇ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

08/08/2022, 83

Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal yöntemler ile sentezi maliyetlidir ve uzun zamana ihtiyaç duyulur. Bu yöntemlere alternatif olarak kullanılan nanopartiküllerin yeşil sentez olarak da bilinen biyolojik sentezinin amacı, kısa süreli, düşük maliyetli, çevreye duyarlı sentezi mümkün kılmaktadır. Çalışmada Edirne'nin Uzunköprü ilçesinden toplanan, halk arasında süpürge otu olarak da bilinen *Sorghum bicolor var. technicum* (Körn) Stapf ex Holland tohumlarından yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikülleri (AgNP) sentezlendi. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS), Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ve UV-Vis Spektroskopisi (UV-Vis) analizleri ile yapıldı. Ekstrakt ve AgNP'lerin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik, DNA kesme ve fotokatalik aktiviteleri belirlendi. Antimikrobiyal aktivite, agar disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile incelendi. Elde edilen sonuçlar, hem ekstrakt hem de AgNP'nin güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gösterdi. AgNP'lerin, biyofilm üreticilerinin önde gelen mikroorganizmalarından biri olan *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı güçlü antibiyofilm aktivite gösterdiği bulundu. Antioksidan aktiviteleri; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Serbest Radikal Giderme Aktivitesi, 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{•+}) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi, Demir İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (FRAP) ve Metal Şelatlama Aktivitesi yöntemleri ile belirlendi. Her iki örnek de güçlü radikal giderme aktivitesi gösterdi. Mutajenik aktivite, Ames/Salmonella testi ile *Salmonella typhimurium*'a ait iki suş (TA98 ve TA100)

kullanılarak belirlendi. Her iki suş için ekstrakt konsantrasyona bağlı olarak artan mutajenik aktivite gösterirken, AgNP aktivite göstermedi. DNA kesme aktivitesi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile belirlendi. Hem ekstraktın hem de AgNP'nin oksitleyici ajan (H₂O₂) varlığında DNA'yı kestiği gözlemlendi. Fotokatalitik aktivite, AgNP'lerin metilen mavi boyasını degrade etme özelliğine göre belirlendi. AgNP'lerin 24 saat sonunda metilen mavi boyasını %83,78 oranında indirgediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: *Sorghum bicolor* var. *technicum*, Gümüş nanopartikül, Yeşil sentez, Biyolojik aktivite



ABSTRACT

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING *SORGHUM BICOLOR VAR. TECHNICUM* SEED EXTRACT, THEIR CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES

Büşra DALGIÇ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Assist. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

08/08/2022, 83

Synthesis of nanoparticles by physical and chemical methods is costly and takes a long time. The aim of biological synthesis of nanoparticles, also known as green synthesis, which is used as an alternative to these methods, enables short-term, low-cost, environmentally friendly synthesis. In the study, silver nanoparticles (AgNP) synthesized from the seeds of *Sorghum bicolor var. technicum* (Körn) Stapf ex Holland, also known as heather by green synthesis method, collected from Uzunköprü/Edirne. The characterization of the synthesized AgNPs performed by Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and UV-Vis Spectroscopy (UV-Vis) analyses. Antimicrobial, antibiofilm, antioxidant, mutagenic, DNA cleavage and photocatalytic activities of the extract and AgNPs determined. Antimicrobial activity was investigated by agar disc diffusion and broth microdilution methods. The results showed that both the extract and AgNP have strong antimicrobial activity. AgNPs were found to have strong antibiofilm activity against *Pseudomonas aeruginosa*, one of the leading microorganisms of biofilm producers. Antioxidant activities were evaluated by 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) Free Radical Scavenging Activity, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS⁺) Cation Radical Scavenging Activity, Ferrous Ion Reducing Activity (FRAP) and Metal Chelation Activity methods. Both samples showed strong radical scavenging activity. Mutagenic activity was determined by the Ames/*Salmonella* test using two strains of *Salmonella typhimurium* (TA98 and TA100). For both strains, the extract showed increased

mutagenic activity depending on the concentration, while AgNP did not. DNA cleavage activity was determined by agarose gel electrophoresis method. It observed that both extract and AgNP cleaved DNA in the presence of oxidizing agent (H₂O₂). Photocatalytic activity was determined according to the ability of AgNPs to degrade the methylene blue dye. AgNPs able to degrade methylene blue by 83,78% at the end of 24 hours.

Keywords: *Sorghum bicolor* var. *technicum*, Silver nanoparticles, Green synthesis, Biological activity



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ETİK BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

4

2.1. Nanoteknoloji.....	4
2.2. Nanopartiküller.....	5
2.3. Metalik Nanopartiküller.....	5
2.3.1. Gümüş Nanopartikülleri.....	6
2.4. Nanopartikül Sentez Yöntemleri.....	7
2.4.1. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi.....	8
2.4.2. Bitki Ekstraktları Kullanılarak Nanopartikül Sentezi.....	9
2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri	10
2.5.1. UV-Vis Spektroskopisi.....	10
2.5.2. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)	11
2.5.3. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	11
2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	11
2.5.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	12
2.6. Biyolojik Aktiviteler.....	12

2.6.1.	Antimikrobiyal Aktivite.....	12
2.6.2.	Antibiyofilm Aktivite.....	13
2.6.3.	Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.....	13
	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) Radikali Giderme Aktivitesi	15
	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS ⁺) Katyon Radikali Giderme Aktivitesi	16
	Demir İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (FRAP)	17
	Metal Şelatlama Aktivitesi.....	17
2.6.4.	Mutasyonlar.....	18
2.6.5.	Mutajenik Aktivite.....	20
	Ames/Salmonella Testi	21
2.6.6.	DNA Kesme Aktivitesi.....	22
2.6.7.	Fotokatalitik Aktivite.....	23
2.7.	<i>Sorghum bicolor</i>	24
2.8.	Literatür Araştırması.....	25

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM MATERYAL YÖNTEM

3.1.	<i>Sorghum bicolor</i> var. <i>technicum</i> Tohum Ekstraktının Hazırlanışı.....	31
3.2.	Gümüş nanopartiküllerinin (AgNP'lerin) Sentezi.....	31
3.3.	AgNP'lerin Karakterizasyonu.....	31
	3.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi.....	31
	3.3.2. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi.....	32
	3.3.3. Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi.....	33
	3.3.4. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi.....	33
	3.3.5. UV-Vis Spektroskopi Analizi.....	33
3.4.	Antimikrobiyal Aktivite Analizleri.....	33
	3.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi.....	34
	3.4.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerlerinin Belirlenmesi	34
3.5.	Antibiyofilm Aktivitenin Belirlenmesi.....	34
3.6.	Antioksidan Aktivite Analizleri.....	35
	3.6.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Belirleme Yöntemi.....	35
	3.6.2. ABTS ⁺ Katyon Radikali Giderme Aktivitesi Belirleme Yöntemi.....	35
	3.6.3. FRAP Aktivitesi Belirleme Yöntemi.....	36

3.6.4. Metal Şelatlama Aktivitesi Belirleme Yöntemi.....	36
3.7. Ames/Salmonella Testi ile Mutajenik Aktivitenin Belirlenmesi.....	37
3.8. Agaroz Jel Elektroforezi Yöntemi ile DNA Kesme Aktivitesinin Belirlenmesi..	39
3.9. Fotokatalitik Analiz.....	39
3.9.1. Metilen Mavi Boyasının UV Spektrumunun ve Kalibrasyon Eğrisinin Bulunması.....	39
3.9.2. Metilen Mavi Boyasının AgNP'ler Tarafından Degradasyonu.....	39
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM	
ARAŞTIRMA BULGULARI	
4.1. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	41
4.1.1. Morfolojik Gözlem.....	41
4.1.2. SEM Analizinin Değerlendirilmesi.....	41
4.1.3. TEM Analizinin Değerlendirilmesi.....	42
4.1.4. EDS Analizinin Değerlendirilmesi.....	43
4.1.5. FT-IR Analizinin Değerlendirilmesi.....	44
4.1.6. UV-Vis Spektroskopi Analizinin Değerlendirilmesi.....	45
4.2. Antimikrobiyal Aktivite.....	46
4.2.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	46
4.2.2. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	47
4.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	49
4.4. Antioksidan Aktivite.....	50
4.4.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	50
4.4.2. ABTS ⁺⁺ Katyon Radikali Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	52
4.4.3. FRAP Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	54
4.4.4. Metal Şelatlama Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	56
4.5. Mutajenik Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	58
4.6. DNA Kesme Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	59
4.7. AgNP'lerin Metilen Mavi Boyası Üzerine Fotokatalitik Etkisinin Değerlendirilmesi.....	61

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER

65

KAYNAKÇA

67



SİMGELER VE KISALTMALAR

Abs	Absorbans
ABTS ^{•+}	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit)
Ag	Gümüş
Ag-Cuo	Gümüş-bakır oksit
AgNO ₃	Gümüş nitrat
Ag-ZnO	Gümüş-çinko oksit
AgNP	Gümüş nanopartikül
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CuO	Bakır oksit
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDS	Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
Ferrozin	Dinatrium -4- [3- pyridin-2-yl-6-(4-sulfonatophenyl)-1,2,4-triazin-5-yl] benzosulfonat
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP	Demir İyonlarını İndirgeyici Antioksidan Gücü
FT-IR	Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HBA	Histidin/Biyotin/Ampisilin Agar
HB	Histidin/Biyotin Agar
HCl	Hidroklorik Asit
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
MGA	Minimal Glikoz Agar

MHA	Mueller-Hinton Agar
mM	Milimolar
mmol	Milimol
mL	Mililitre
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
NA	Nutrient Agar
NaCl	Sodyum Klorür
NB	Nutrient Broth
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
NPD	4- Nitro- <i>o</i> -Fenilendiamin
NRRL	Kuzey Bölgesel Araştırma Laboratuvarı
pH	Hidrojen Potansiyeli
ppm	Milyonda Bir
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medyum
SA	Sodyum Azid
sa	Saat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
TiO ₂	Titanyum oksit
Tris	(Tris-Hidroksimetil)-Aminometan
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür Bölge
ZnO	Çinko Oksit
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
%	Yüzde
°C	Santigrad Derece

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1.	Ekstrakt ve AgNP'nin inhibisyon zon çapları (mm).	47
Tablo 2.	Ekstrakt ve AgNP'nin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK, µg/mL) değerleri.	48
Tablo 3.	Ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivitesi (%).	49
Tablo 4.	Ekstrakt ve AgNP'nin % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi.	52
Tablo 5.	Ekstrakt ve AgNP'nin ABTS ^{•+} katyon radikali giderme aktivitesi (%).	53
Tablo 6.	Ekstrakt ve AgNP'nin FRAP aktivitesi.	55
Tablo 7.	Ekstrakt ve AgNP'nin metal şelatlama aktivitesi.	57
Tablo 8.	Ekstrakt ve AgNP'nin Ames/ <i>Salmonella</i> testi ile mutajenik aktivitesi.	58
Tablo 9.	AgNP ve H ₂ O ₂ metilen mavisi degradasyonu (%).	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1.	Nanoteknolojinin sunduğu imkanlar.	5
Şekil 2.	Nanopartikül sentez yöntemleri.	8
Şekil 3.	DPPH• radikalinin antioksidan ile indirgenmesi.	16
Şekil 4.	ABTS ⁺⁺ kation giderme aktivitesi.	16
Şekil 5.	FRAP testi reaksiyonu.	17
Şekil 6.	Metal-ligand komplekslerinde şelat halkası oluşumunun şematik gösterimi.	18
Şekil 7.	Çerçeve kayması mutasyonu.	19
Şekil 8.	Baz çifti değişim mutasyonları.	20
Şekil 9.	Plazmid pBR322.	23
Şekil 10.	Metilen mavisi kimyasal formülü.	24
Şekil 11.	Taramalı elektron mikroskobu (SEM).	32
Şekil 12.	Geçirimli elektron mikroskobu (TEM).	32
Şekil 13.	AgNP'lerin morfolojik gözlemi.	41
Şekil 14.	AgNP'lerin SEM görüntüleri.	42
Şekil 15.	AgNP'lerin TEM görüntüleri.	43
Şekil 16.	AgNP EDS analizi.	43
Şekil 17.	Ekstrakt ve AgNP FT-IR analizi.	44
Şekil 18.	AgNP UV-Vis spektrum analizi.	45
Şekil 19.	Ekstrakt ve AgNP % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi grafiği.	51
Şekil 20.	Ekstrakt ve AgNP % ABTS ⁺⁺ kation radikali giderme aktivitesi grafiği.	53
Şekil 21.	Ekstrakt ve AgNP FRAP aktivitesi grafiği.	54

Şekil 22.	Ekstrakt ve AgNP metal şelatlama aktivitesi (%) grafiği.	56
Şekil 23.	Ekstrakt ve AgNP DNA kesme aktivitesi.	60
Şekil 24.	Metilen mavisi kalibrasyon eğrisi grafiği.	62
Şekil 25.	H ₂ O ₂ metilen mavisi degradasyonu UV-Vis spektrumu.	62
Şekil 26.	AgNP metilen mavisi degradasyonu UV-Vis spektrumu.	63



BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Nanoteknoloji, boyutu 100 nanometreden (nm) küçük olan nanomateryallerle ilgilenir. Organik kimya, yer bilimi, yarı iletken fiziği, moleküler biyoloji, mikro fabrikasyon gibi birçok bilim alanlarında araştırılan çok geniş bir konudur. Nanomateryal terimi Avrupa Komisyonuna göre "Boyutlarının 1-100 nm arasında olduğu, kümelenmiş, bağlanmamış veya aglomere parçacıklara sahip, doğal veya sentetik bir materyal" şeklinde tanımlanmaktadır (Potočnik, 2011). Doğal ve sentetik olarak ikiye ayrılan nanomateryallerin uygulamaları optik, kimyasal ve mekanik özellikleri tanımlandıkça artmıştır. Doğal nanomateryaller doğada kendiliğinde bulunabilmektedir. Sentetik nanomalzemeler ise kimyasal, fiziksel, biyolojik veya hibrit yöntemler ile sentezlenebilmektedirler (Jeevanandam vd., 2018).

Çevre kirliliği günümüzde önemli küresel sorunlardan biridir ve bu sebeple çevre dostu çalışmalar son yıllarda oldukça popülerlik kazanmıştır. Yeşil sentez olarak da adlandırılan nanopartiküllerin biyolojik sentezi toksik maddelerin üretimini ve kullanımını azaltmak veya ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır (Anastas ve Eghbali, 2010). Metal, metal oksit nanopartiküller, manyetik nanopartiküller, kuantum noktaları yeşil sentez yöntemi ile üretilebilen nanomateryallerden bazılarıdır (Jeevanandam vd., 2018). Nanopartiküllerin yeşil sentezinin temelinde, organizmalarda bulunan aminoasitler, polisakkaritler, vitaminler ve enzimler/proteinler gibi çeşitli biyomoleküllerin metal iyonlarını indirgemesi yatmaktadır. Gümüş, altın, demir, bakır, titanyum, paladyum, kurşun, çinko gibi birçok metal sentezinde de yeşil sentez yöntemi kullanılır. Günümüzde gelişen nanopartikül teknolojisi ile biyolojik yollarla sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin aktivitelerini geliştirdiğine dair birçok çalışma vardır.

Bir metal nanopartikül türevidir olan gümüş nanopartiküller, benzersiz antimikrobiyal özellikleri sebebiyle temizlik malzemeleri, tıbbi cihazlar ve giysiler gibi birçok ürünün tasarlanmasında kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküllerin hazırlanması, çözeltide ya da gazlı ortamlarda sıcaklık verilerek gümüş iyonlarının indirgenmesini kapsamaktadır (Cheng

vd., 2013). Toksik olmayan kimyasalların kullanımı ile gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinin geliştirilmesi doğa dostu çözücülerin kullanımı açısından oldukça ilgi çekicidir.

Deoksiribonükleik asit (DNA) bazı virüsler dahil tüm organizmaların canlılığı için gerekli olan genetik bilgileri taşıyan bir makromoleküldür. Oksijenden türetilen radikaller reaktif oksijen türleri (ROT) olarak bilinir, ROT üretimindeki bir artış, hücresel membranlarda lipid peroksidasyonuna, protein denatürasyonuna, karbohidrat oksidasyonuna, pigment bozulmasına ve DNA hasarına neden olarak olumsuz sonuçlara sebep olabilir; ayrıca ROT birikimi oksidatif hasara ve nihai hücre ölümüne yol açabilir (Nxele vd., 2017). Yapay antioksidanların kullanımı günümüzde endişe uyandıran bir konudur. Bu endişeden kaynaklı yoğun ilgi çeşitli doğal materyallerden elde edilebilen doğal antioksidanlara kaymaktadır. Böyle bir durumda araştırmacılar, potansiyel antioksidan madde olduğu düşünülen aromatik ve tıbbi bitkiler üzerine odaklanmaktadır.

Mutasyonlar kendiliğinden (spontan) olarak ortaya çıkabildiği gibi, mutajen adı verilen fiziksel ve kimyasal bazı ajanların etkisiyle de oluşabilmektedir. Spontan mutasyonlar, bütün hücrelerde görülebilen ve doğal olarak oluşan mutasyonlardır. Bu tip mutasyonlar, genellikle DNA replikasyonu, onarımı ya da rekombinasyonu sırasında meydana gelen hatalar sonucu oluşabilmektedir (Venitt ve Parry., 1984; Forster, 1986)

Günümüzün gelişen teknoloji ve sanayisi ile çevre ve su kirliliği göz ardı edilemeyecek şekilde artmaktadır. Kullanım alanı oldukça geniş olan boyar maddeler, ekolojik problemlere yol açabilir (Tanaka vd., 2000). Boyaların büyük çoğunluğu kanserojen ve mutajenik etkiler içermekle birlikte, insan sağlığı için büyük problemler oluşturabilmektedirler (Padhi, 2012). Bu gibi sebeplerden dolayı temiz su kaynaklarına ulaşmak gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır. Kullanılan yöntemler genellikle tehlikeli kimyasallar içerdiğinden ve çevreye zarar veren ara ürünler üretebildiğinden, yeşil kimya yöntemleri araştırmacıları toksik etki yaratabilen kimyasalların kullanımını en aza indirmeye teşvik etmektedir.

Biyolojik olarak aktif bileşiklere sahip bitkiler, doğada bulunan değerli kaynaklardır. Bitkiler, biyolojik sentez için kullanıldıklarında kolay elde edilebilmeleri, maliyetlerinin uygun olması, tekrarlanabilme olasılıkları, ekstraktlarının indirgeyici ve kaplayıcı ajanlar içermesi gibi birçok avantaja sahiptir ve şifalı bitkilere olan talep her geçen gün artmaktadır (Iravani, 2011).

Poaceae (Buğdaygiller) familyasına ait bir tahıl olan Sorgum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] içeriğindeki temel bileşenleri arasında nişasta, yağ, protein aynı zamanda B vitamini, yağda çözünen vitaminler yer almaktadır (Przybylska-Balcerek vd., 2019). Sorgum tohumlarının, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve antikanser aktivitesi ile ilişkili, oksidatif stresi azaltabilen serbest radikal temizleme özelliğine sahip olduğu bilinmektedir (Rao vd., 2018).

Bu tezin amacı, ülkemizde özellikle Trakya Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılmakta olan, halk arasında süpürge otu olarak da bilinen *Sorghum bicolor* var. *technicum* (Körn) Stapf ex Holland tohumlarının hem sulu ekstraktının hem de yeşil sentez yöntemi kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin karakterizasyonunu ve biyolojik aktivitelerini belirlemektir.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Nanoteknoloji

Nano teriminin kökeni Yunancaya dayanmaktadır ve cüce anlamına gelmektedir. Nanometrik ölçekli sistemlerde bir ölçü birimini ifade eder ve birimi nm'dir. Kelime olarak nano, fiziksel bir büyüklüğün milyarda biri olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji kelimesi ise, materyallerin bir molekül ya da atomdan işlenmesi, ayrılması, bir araya getirilmesinden ibaret olarak tanımlanmaktadır (Singh vd., 2008). Nanoteknoloji materyal olarak 1-100 nm arasındaki boyutlarda, atomik, moleküler ve makromoleküler ölçülerde malzemeleri kabul eder. Bu malzemelerin oluşum aşamalarını, özelliklerini, yanıtları anlama ve kontrol etme bilimi olarak tanımlanan nanoteknoloji bilimi, modern bilimin en aktif ve en önemli alanlarından biri olarak tanımlanır (Logothetidis, 2012).

Moleküler veya atomik boyutlardaki materyallerin temel yapıları nanoteknoloji ile istenildiği şekilde düzenlenebildiği gibi nano boyutlara indirgenebilir ve yeni özellikler kazandırabilir. Materyal nano boyuta indirgendiğinde mekanik özellikleri ve ışık ile elektromanyetik etkileşimleri değişir. Bu noktada atomlar arası kuantum noktaları devreye girmektedir. Kütleli malzeme davranışları yüzey davranışları tarafından baskılanır ve fiziksel/kimyasal özelliklerinde değişiklik meydana gelir (Ayas, 2015).

Nanoteknoloji, teknoloji ve mühendisliği harmanladığı gibi pek çok alana yönelik ekonomik, sağlam, uzun ömürlü, çevre dostu ve benzeri birçok önemli özellikleri bünyesinde barındırdığı gibi çeşitli üretim yöntemlerinin de oluşturulmasını mümkün kılar. Şekil 1'de nanoteknoloji ile bilim dünyasına giren imkanlar gösterilmiştir.



Şekil 1. Nanoteknolojinin sunduğu imkanlar.

2.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller, kuantum etkileri ile yeni fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip oldukları için oldukça fazla dikkat çekmektedirler. Doğal formlarının yanı sıra insan yapımı formları da bulunmaktadır ve metal, silikon, karbon ve benzeri çeşitli malzemelerden oluşabilmektedirler. Geleneksel formlarına kıyasla nanopartiküllerin bilim dünyasında oldukça ilgi çekici hale gelmesinin ve önemli kimyasal reaktivite göstermelerinin sebebi daha geniş yüzey/hacim oranına sahip olmalarıdır (Patil ve Kim, 2017). Nanopartiküller, şekillerine, boyutlarına, atomlar arası dizilimlerine göre değişkenlik gösterebilmektedirler. Boyutlarının daha küçük olması ve yüzey alanlarının geniş olmasıyla üstün mekanik, elektriksel, optik ve termal özelliklere sahiptirler. Bundan dolayı nanopartiküller, elektronik, makine ve kimya endüstrilerinde süper iletkenler, ilaç taşıyıcılar, katalizörler, manyetik malzemeler ve elektronik malzeme uygulamalarında kullanılmaktadırlar (Okuyama ve Lenggoro, 2003).

2.3. Metalik Nanopartiküller

Metalik nanopartiküller gün geçtikçe daha fazla ilgi odağı haline gelmektedir. Bunun sebeplerinden biri de çeşitli alanlarda kullanılabilmesi ve biyolojik uygulamalar ile sentezlendiklerinde antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite gibi önemli etkilere sahip

olmalarıdır (Patil ve Kim, 2017). Çeşitli kanser tedavileri, tıbbi görüntüleme, ilaç taşınımı, biyosensör yapımı gibi birçok uygulama alanında da metalik nanopartiküllerinden yararlanılmaktadır. Metalik nanopartiküllerin sahip oldukları antimikrobiyal aktivite, temas yüzeyi ile ilişkili olarak değiştiğinden dolayı yüzey alanlarındaki genişlemeyle metallerin özelliklerinde değişiklikler oluşturabilmektedir (Luo vd., 2015). Bu nanopartiküller yükleri ve hidrofobik özellikleri dolayısıyla plazma proteinleri ve hücre dışı matrisler ile etkileşir (Lopes vd., 2014).

Birçok metal kaynağı metalik nanopartikül sentezlemek için kullanılmaktadır. Farklı metalik kaynakların farklı kullanım alanları ve özellikleri bulunduğundan metalik nanopartikül sentezlerken bu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Gümüş, altın ve platin gibi metaller ile nanopartikül sentezlendiğinde hem biyolojik sistemlere toksik etki yaratmadan uyum sağlayabilirler hem de hazırlama ve kullanım kolaylığından dolayı birçok sistemde sıkça kullanılır.

Metalik nanopartiküllerin yaygın olmasının sebeplerinden biri de pratik uygulaması ile benzersiz özelliklere sahip olmalarıdır. Altın, bakır, nikel, gümüş, platin, demir oksit, çinko oksit, gadolinyum, silika ve titanyum dioksit parçacıkları ilaç dağıtım sistemlerinde en çok kullanılan metalik nanopartiküller olarak sayılmaktadır. Gümüş, altın ve çinko gibi metallerden elde edilen nanopartiküller antibakteriyal ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Patil ve Kim, 2017).

2.3.1. Gümüş Nanopartikülleri

Babil ve Yunan zamanlarından itibaren antimikrobiyal özellikleri ile kullanılan gümüş, metalik nanopartiküller arasında da oldukça ilgi çekmektedir (Khan vd., 2015). Gümüş nanopartikülleri mikrobiyoloji, gıda teknolojisi, kimya, hücre biyolojisi, parazitoloji ve farmakoloji gibi birçok alanda geniş uygulamalara sahiptir.

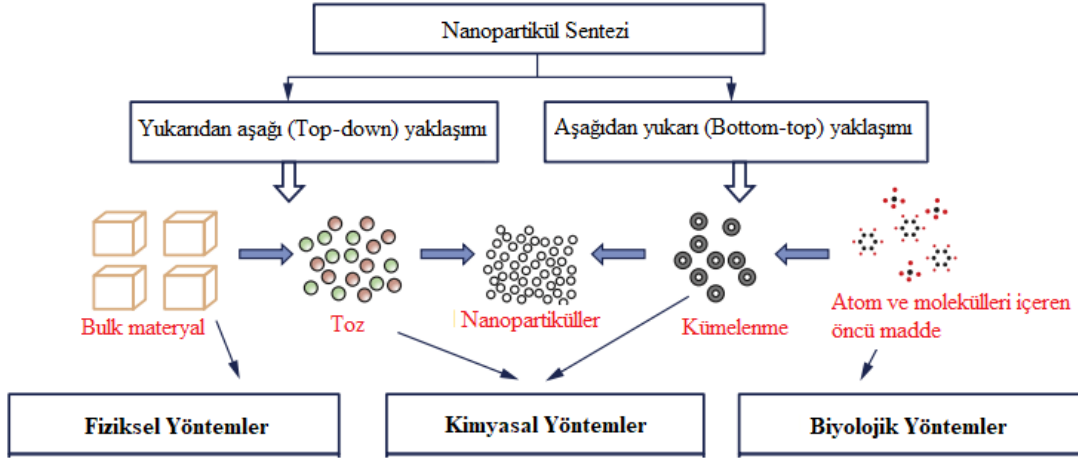
Gümüş nanopartiküllerinin, virüs, bakteri, mantar gibi insan patojenlerine karşı kolay ve kalıcı etki yaratabilen antimikrobiyal ve antikanser özelliklerinin yanı sıra, ilaç üretiminde

de kullanılmaları oldukça ilgi toplamaktadır (Dhand vd., 2016). Mikroorganizmaların son yıllarda antibiyotik direnci geliştirmeye başlaması ile gümüşün geniş spektrumlu antibiyotik özelliğine dair araştırmalar oldukça artmıştır. Son yıllarda gümüş nanopartikülleri antibiyotiklere direnç gösteren mikroorganizmalara karşı kullanılabilecek en etkili potansiyel çözümlerden biri olarak görülmektedir (Hamsa vd., 2019).

Gümüş de dahil olmak üzere metalik nanopartikülleri sentezlemek için yaygın olarak farklı kimyasal ve fiziksel sentez yöntemleri kullanılmaktadır (Daniel ve Astruc, 2004). Ancak biyolojik yollarla gümüş nanopartikülleri sentezlendiğinde kimyasal ve fiziksel yöntemlere kıyasla çok daha değerli sonuçlar elde edilmektedir. Bitkiler kullanılarak gümüş nanopartikülleri biyolojik yöntemlerle sentezlendiklerinde bitki bileşenlerinden elde edilen ekstraktların içinde bulunan fitokimyasal maddeler ile ortamdaki Ag^+ iyonları Ag^0 formuna indirgenerek gümüş nanopartikülleri oluşur.

2.4. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Günümüzde metalik nanopartikülleri sentezlemek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yollarla metalik nanopartiküllerini sentezlemek mümkündür. Nanopartikül sentez yöntemlerine yapısal olarak bakıldığında iki yaklaşımdan bahsedilebilir. Bunlar, “aşağıdan yukarı (bottom up)” ve “yukarıdan aşağı (top down)” yaklaşımlarıdır (Şekil 2). Aşağıdan yukarı yöntemi molekül veya atomlardan nano boyuta sahip yapı oluşumunu sağlar. Biyolojik ve kimyasal sentez aşağıdan yukarı yöntem içinde yer almaktadır. Yukarıdan aşağı yöntemde ise fiziksel sentez yer almaktadır ve malzemeye mekaniksel veya kimyasal işlemlerle enerji verilerek malzemeler nano boyutlara ayrılır. Aşağıdan yukarı yöntemi ile nanopartiküller üretildiklerinde hata oranı düşük monodispers nanomateryaller elde edildiğinden daha uygun bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Matteis ve Rinaldi, 2018).



Şekil 2. Nanopartikül sentez yöntemleri.

(Devatha ve Thalla, 2018).

Üretim hızının düşük olması, kullanılan kimyasalların pahalı olması, indirgeyici ajanların ve çözücülerin organizmalara ve çevreye potansiyel toksik etkilerinin olması gibi sebeplerden dolayı nanopartikül sentezinde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler bazı dezavantajlara sahiptir. Bu sebeplerden dolayı uzun yıllardır bu iki yönteme ek yeni bir prosedüre ihtiyaç duyulmaktadır (Ai vd., 2011). Nanopartiküllerin yeşil sentez olarak da adlandırılan biyolojik sentezi, fiziksel ve kimyasal yöntemlere nazaran çevre dostu ve uygun maliyetli oluşuyla en iyi alternatif olarak düşünülmektedir.

2.4.1. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

Nanopartiküllerin yeşil sentezinde maya (Skalickova vd., 2017), bakteri (Narayanan ve Sakthivel 2010), mantar (Durán vd., 2011), alg (Khan vd., 2022) ve bitki ekstraktlarının (Gardea-Torresdey vd., 2003) kullanıldığı bildirilmiştir. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi, çevre dostudur, geniş çapta üretim ve enerji tasarrufu sağlar, toksik kimyasallar kullanılmaz ve biyolojik olarak uyumludur. Metal iyonlarının enzimler, mikroorganizmalar ve bitki ekstraktları içerisindeki biyomoleküller tarafından indirgenmesi çevresel olarak uyumlu ancak kimyasal olarak karmaşıktır (Narayanan ve Sakthiyel, 2010; Rastogi ve Arunachalam, 2011).

Diğer yeşil sentez yöntemlerine kıyasla bitki aracılı sentez kısa sürede kararlı nanopartiküllerin oluşumuna yol açması ve sentezi kolay hale getirmesi nedeniyle daha kullanılabilir bir yöntem olarak görülmektedir (Iravani, 2011). Bununla beraber tıbbi bitkiler çok sayıda fitokimyasal madde içermesiyle daha yüksek terapötik değerlere sahiptir. Toksik kimyasallardan arındıkları ve doğal örtücü ajanlar sağladıkları için nanopartikül sentezinde daha iyi bir platform sağlar (Rehana vd., 2017).

2.4.2. Bitki Ekstraktları Kullanılarak Nanopartikül Sentezi

Hastalıkları tedavi etmenin temelini oluşturan doğal ürünler genellikle bitki, hayvan ve minerallerden elde edilmektedir. Şifalı bitkilere olan talebin her geçen gün giderek artmasının sebeplerinden biri de ekosistemde üretici fonksiyonlarıyla vazgeçilmez bir role sahip olmalarıdır. Yeşil sentez kapsamında genellikle çok kolay temin edilebilen ve çokça bulunabilen bitkiler tercih edilmekte, elde edilen nanopartiküllerin daha stabil olduğu bilinmektedir. Geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla bitkilerle yeşil sentez uygulaması, sadeliği, ekolojik dost ve geniş antimikrobiyal kapasitelere sahip olması gibi yönlerden iyi bir alternatif olarak görülmektedir. Yöntemin temelinde, bir metal türevi ile bitki ekstraktının karıştırılması ve sıcaklık faktörü ile beraber birkaç saat süreyle inkübasyona bırakıldıktan sonra metal tuzlarının ilgili nanopartiküllere bitki tarafından indirgenmesi prensibi yatmaktadır. Bu teknik ile nanopartiküller sentezlendiklerinde, antimikrobiyal uygulamalarda, insektisitlerde, toksik bileşenlerin ayrışmasında, biyosensörlerde, atık su tesisleri ve benzeri uygulama alanlarında kullanıldıkları görülmektedir (Sasidharan vd., 2019).

İnorganik nanopartiküller arasında altın ve gümüş nanopartikülleri, fonksiyonel çok yönlülük ile üstün malzeme özellikleri sağlar. Özellikle gümüş nanopartiküller, biyosensör malzemelerine, antimikrobiyal uygulamalara, kompozit liflere, katalitik uygulamalara, kriyojenik süper iletken malzemelere dahil edilebilen benzersiz özellikleri ile ön plana çıkmıştır (Azizi vd., 2017). Bitki ekstraktları genellikle çevre ve ekonomik olarak dost

malzemelerdir ve gümüş nanopartiküllerinin sentezinde araştırılmıştır (Ponarulselvam vd., 2012).

2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri

Metalik ve metalik olmayan nanopartiküllere olan ilgi 2000’li yıllardan itibaren artmıştır. Farklı fiziksel ve kimyasal teknikler şekil, boyut, yüzey yükleri ve kimyasal reaktivite özellikleri açısından farklılık gösteren nanopartiküllerin karakterizasyonu için geliştirilmiştir. Nanopartiküllerin fiziko-kimyasal özellikleri, davranış, biyolojik dağılım, verimlilik ve güvenlik açısından önemlidir. Sentezlenen nanopartiküllerin bu sebeple fonksiyonel yönlerini değerlendirmek için karakterizasyonu önemlidir.

2.5.1. UV-Vis Spektroskopisi

Ultraviyole ve görünür ışık spektroskopisi (UV-Vis), çalışılan örneğin üzerinden geçirilen ya da yansıtılan ışın demetinin numuneden uzaklaştıktan sonraki azalmasının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Genel olarak inorganik iyon, molekül ve komplekslerin ölçümü için kullanılmaktadır. Her bir molekül farklı dalga boylarını absorbe eder ve molekül yapısına dair bilgi edinilir.

UV-Vis Spektrofotometresinde, UV ve görünür bölge olarak iki farklı ışık kaynağı bulunur. Işık kaynakları tarafından gönderilen bu ışınlar bir filtre yardımıyla monokromatöre ulaşır ve tek dalga boyu haline getirilir. Bu ışın bir ayna yardımıyla iki parçaya ayrıldığında biri sadece çözücü madde içeren küvet içinden, diğeri ise numunenin bulunduğu küvetten geçer. Bu sebeple küvet ve çözücüden kaynaklı oluşabilecek farklılıklar ortadan kaldırılmış olur (Perkampus, 2013).

2.5.2. Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS)

Nanopartiküller, biyolojik olarak sentezlendiklerinde elementel kompozisyonunu belirlemek için enerji dağılım X-RAY spektroskopisi (EDS) analizleri yapılır. Bu yöntem, bir elektron ışınının X ışınlarına gönderilerek nanopartiküllerden saçılması prensibine dayanmaktadır. EDS detektörü taramalı elektron mikroskobuna takılır ve elektronlar arasındaki enerji değişikliğini dengeye sokabilmek için yayılmakta olan X ışınlarının miktarını tespit edebilir. Elementin karakteristik özelliği olan X ışını enerjisi ile elementin kalitatif ve kantitatif analizi mümkündür (Kumar vd., 2011).

2.5.3. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Bir titreşim spektroskopisi biçimidir ve hem moleküler ortamı hem de moleküler yapıyı yansıtır. Organik veya inorganik bileşiklerin karakterizasyonunda kullanılmaktadır (Faraji vd., 2010). Absorbans bantlarındaki karakteristik değişiklikler, malzeme bileşimindeki değişiklikleri göstermektedir. FT-IR bilinmeyen materyalleri tanımlamada ve karakterize etmede, katkı maddelerini bulmada, materyaldeki kirlilikleri tespit etmede ve bozunma ile oksidasyonu belirlemede kullanılabilir. FT-IR spektroskopisi doğrudan ve geri dönüşlü bir yöntem olmakla beraber az miktarda örnekle bile kısa sürede sonuç alınabilir.

2.5.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Yüksek kalite ve çözünürlükle partiküllerin görüntüsünü elde etme prensibine dayalı elektron mikroskobu tekniğidir. Büyük ölçüde materyallerin yüzey olaylarını gözlemlemek için kullanılır. Partiküller SEM’de yüksek enerjili elektron ışınına maruz bırakılır ve morfoloji, şekil, bileşim, boyut gibi özellikleri hakkında bilgi elde edilir (Pal vd., 2011).

2.5.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Farklı nanomateryallerin morfolojisini, boyutunu, kristal yapısını ve kimyasal bileşenini analiz etme prensibine dayanmaktadır (Chauhan vd., 2012). TEM'in çeşitli avantajları ve dezavantajları vardır. Avantajları arasında nanomateryalleri yüksek çözünürlükte ve mükemmel görüntü kalitesiyle karakterize etmek sayılabilirken yüksek fiyat ve çok yüksek vakum ortamına ihtiyaç duyulması dezavantajları arasındadır.

2.6. Biyolojik Aktiviteler

2.6.1. Antimikrobiyal Aktivite

Mikroorganizmaların, antibiyotiklere karşı sahip olduğu direnç küresel bir tehdit oluşturmaktadır. Yeni antibiyotiklerin ve terapötik ajanların geliştirilmesi bu global problem için bir ihtiyaç haline gelmiştir. Kullanılan antibiyotiklere olumlu katkıda bulunan alternatif terapiler araştırmacıların ilgisini üzerinde toplamaktadır.

Gümüş nanopartiküllerinin, antimikrobiyal özellikleri çok eski çağlardan itibaren bilinmektedir. Bu antimikrobiyal etkilere sahip gümüş nanopartikülleri hem tıp hem de gündelik uygulamalarda kullanılmaktadır. Hazırlanan ürünler Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve diğer ülkelerde süregelen test kuruluşları tarafından onaylanmıştır (Veeraputhiran, 2013). Patojen organizmaların ilaç tedavisine karşı direnç kazanmasıyla halk sağlığı için ciddi bir problem teşkil etmektedir. Bu bakımdan yeni bakterisitler ve virüs öldürücü ajanları geliştirmek için araştırmacılar gümüş nanopartiküllere dönmüştür (Kasthuri vd., 2009). Gümüşün antiseptik ve dezenfektan olarak kullanımı uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Gümüş nanopartikülleri ve gümüş iyonları, mikroorganizmaların disülfür bağları ile etkileşime girerek yaşamsal işlevlerini engeller ve proteinlerin üç boyutlu yapısını değiştirebilir (Sadeghi ve Gholamhoseinpoor, 2015).

2.6.2. Antibiyofilm Aktivite

Biyofilm, doğal çevrede sıklıkla rastlanabilen bir mikrobiyal yaşam formudur. Çeşitli mikroorganizmaların olumsuz çevresel etkenlerden korunabilmek ve yaşamsal işlevlerini elverişli ortamda devam ettirebilmek için oluşturdukları bir mikro-ekosistem olarak tanımlanabilmektedir. Biyofilmler, yüzeylere yapışan ve polimerik yapılı jelsi bir tabaka üreterek içinde yaşamlarını sürdüren mikroorganizma topluluğudur (Gün ve Ekinçi, 2009). Antibiyotiklere ve insanlarda bağışıklık sistemine karşı direnç mekanizması oluşturabilen biyofilm oluşturan mikroorganizma topluluklarını yok etmesi neredeyse imkansız olduğundan kalıcı enfeksiyonlar gibi problemlere neden olmaktadır (Markowska vd., 2013). Biyofilmlerin önemli yapısal ögesi olan hücre dışı polimerik matriks; polisakkarit, protein, DNA ile sudan oluşur ve biyofilm hücrelerinin tutunmasında görev alır. En yaygın biyofilm oluşturan bakteriler *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis*'tir.

Nanopartiküller, biyomateryallerin yüzeyini kaplayarak biyofilm oluşumunu engellemek amacıyla araştırılmaktadır (Markowska vd., 2013). Yüksek yüzey alanı/hacim oranı ve küçük boyut, nanomateryallerin mikroorganizmalarla etkileşime girmesini sağlayan önemli özellikleridir (Morones vd., 2005). Çeşitli nanomateryallerin antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. Gümüş nanopartikülleri, antimikrobiyal etkisi kanıtlanmış metal nanopartikülleri arasında özellikle etkili bakterisidal ajan olarak bilinmektedir.

2.6.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, yüksek enerjili atom veya molekül olarak da adlandırılabilir. Bunun sebebi, dış orbitallerinde taşıdıkları bir veya birden çok eşlenmemiş elektrondur (Bast vd., 1991). Eşlenmemiş elektronları sayesinde başka maddeler ile kolaylıkla reaksiyona girebilmektedirler. Elektronları eşlenmiş halde olan atomlar ya da moleküller, kararlı halde bulduklarından dolayı başka moleküller ile reaksiyona girebilme

potansiyeli serbest radikaller kadar yüksek değildir. Bu sebepten dolayı diğer maddeler ile daha daha zayıf reaksiyona giren, kararlı yapıya ve eşlenmiş elektronlara sahip moleküller nonradikal olarak adlandırılır (Valko vd., 2007).

ROT üretimindeki bir artış, hücrel membranlarda lipid peroksidasyonuna, protein denatürasyonuna, karbohidrat oksidasyonuna, pigment bozulmasına ve DNA hasarına neden olarak zararlı etkiler oluşturabilir; ayrıca ROT birikimi oksidatif hasara ve nihai hücre ölümüne yol açabilir (Nxele vd., 2017). ROT, radikal olmayan, biyolojik molekülleri ve serbest radikalleri oksitleyebilen reaktif bileşikleri kapsamaktadır. Hidroksil radikalleri, süperoksit, singlet oksijen ve hidrojen peroksit aktif oksijen türlerinden birkaç tanesidir. Aşırı ROT üretiminin sinyal yollarındaki değişikliklerle onkogenezi uyardığı, bunun sonucunda da hücre proliferasyonu, sinyal iletimi ve apoptozda kritik bir role sahip olduğu daha önceden bildirilmiştir (Ajiboye vd., 2014).

Serbest radikal giderici olarak da bilinen antioksidanlar, serbest radikallerin sebep olduğu hasarı önleyebilen ya da yavaşlatan maddelerdir. İnsan vücudunda enzimatik ve non-enzimatik olarak adlandırılan doğal, karmaşık bir antioksidan sistemi bulunmaktadır. Diğer oksidanların ve serbest radikallerin toksik etkilerine karşı vücudu bu sistem korumaktadır. Serbest radikaller kanser (Kinnula ve Crapo, 2004), nöral hastalıklar (Sas vd., 2007), ülseratif kolit (Ramakrishna vd., 1997) ve aterosklerozun (Singh ve Jialal, 2006) da dahil olduğu birçok hastalığın sebebi olarak bilinmektedir.

İnsan vücudu doğal olarak antioksidan üretebilmekte, aynı zamanda dışarıdan gıda yoluyla sentetik antioksidanlar da alınabilmektedir. Beslenme düzeninde edinilen antioksidanların bol miktarda tüketimi ile serbest radikallere karşı korunma arttırılabilmektedir. ROT'un sebep olduğu oksidatif hasarı durdurmak için antioksidan tayini oldukça önemlidir. Hidrojen transferi (HAT) ve tek elektron transferi (SET) içeren mekanizmalar antioksidan kapasitesini belirlemektedir. α, α -difenil- β -pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi, demir iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) ve 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS⁺) katyon

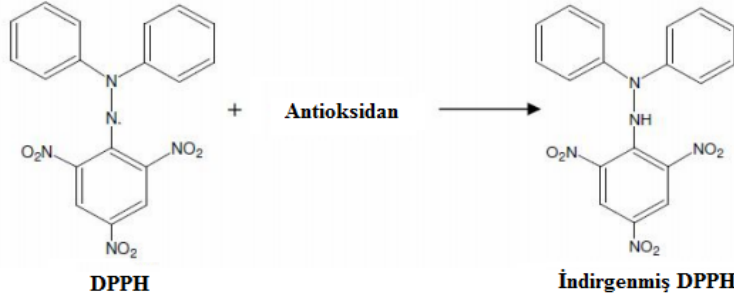
radikali giderme aktivitesi belirleme yöntemleri de elektron ve hidrojen transferlerine dayanan yöntemlerdir (Prior vd., 2005).

Gümüş nanopartiküllerinin neden olduğu toksik etki ile ilgili en önemli konular arasında hücreler ile nanomateryaller arasındaki etkileşimde hücre alım ve hücrenin toksik cevabı bulunmaktadır. Gümüş nanopartiküllerinin hücre içine alınması ve daha sonra hücre reseptörünü tanıması translokasyon ile başlar ve hücreler tarafında birikme veya bozulma ile sonlanmaktadır. Gümüş nanopartiküllerinin, hücre içine endositoz yolu ile girmesi doza, zamana ve enerjiye bağlıdır. Temel hedefte bulunan organeller ise endozom ve lizozomlardır (Luther vd., 2011). Gümüş nanopartiküllerin sitotoksositeye neden olmalarının asıl sebebi, nanopartiküller tarafından salınan gümüş iyonlarından kaynaklanan oksidasyon stresidir (He vd., 2012). Bitkiler ise, moleküler düzeyde hücre mekanizmalarını ROT'un neden olduğu hasara karşı korumak amacıyla antioksidan enzimlerin aşırı üretimine giderek gümüşten kaynaklı toksositeye cevap verir (Cvjetko vd., 2018).

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

Bu yöntem, hızlı sonuç alınabilen, basit işlem basamaklarından oluşan bir serbest radikal giderme yöntemlerinden biridir. DPPH• radikali indirgenme reaksiyonu esnasında 517 nm'de DPPH'ın absorbensinde meydana gelen azalmasının izlenmesi ile takip edilmektedir.

DPPH• yönteminin temelinde ortamda bulunan hidrojen veren bir antioksidan ile DPPH• solüsyonu indirgenmesi yatmaktadır. DPPH• solüsyonunun kendisinin 517 nm'de koyu mor renginde güçlü absorbens bandı gösterdiği görülür. Kararlı bir radikal olan DPPH•, eşleşmemiş bir elektron ile indirgenir nötr hale geçerek sahip olduğu mor renk, sarı renge dönüş yapar ve absorbens azalır (Ricci vd., 2019). DPPH• radikalının bir antioksidan madde ile tepkimesi Şekil 3'te verilmiştir.

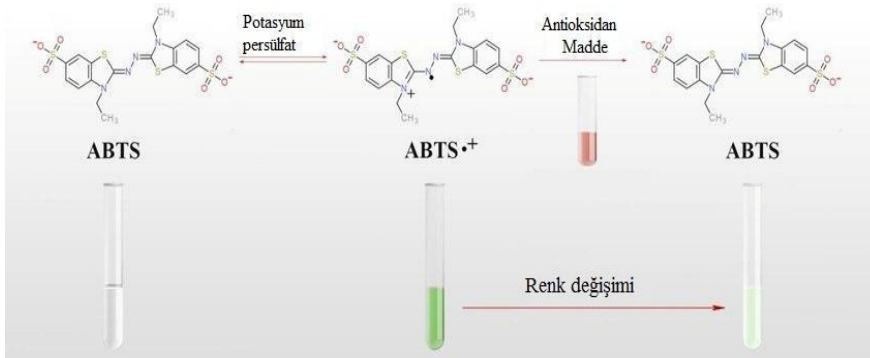


Şekil 3. DPPH• radikalının antioksidan ile indirgenmesi.

(Yavaşer, 2011).

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

ABTS^{•+} katyon radikali giderme aktivitesinin belirlenmesi yönteminde 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiozolin-6-sülfonik asit) (ABTS) kimyasalının potasyum persülfat (K₂S₂O₈), manganaz dioksit (MnO₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi güçlü yükseltgen kimyasallarla tepkimeye sokulması esasına dayanır. Temelinde ABTS^{•+} katyon radikali oluşturulması yatmaktadır. Bu radikal, oda sıcaklığında saklandığında 2 gün boyunca kararlı halde kalabilir. Maksimum absorbanlarını 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında vermektedir.



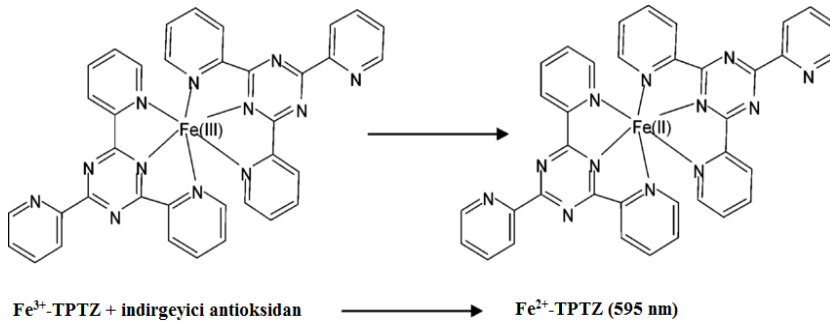
Şekil 4. ABTS^{•+} katyon giderme aktivitesi

(Üstündaş vd., 2018).

ABTS^{•+} katyon radikali antioksidanlar ile karıştırıldığında oluşan tepkime sonucunda radikalın absorbansında azalma meydana gelir (Şekil 4). Absorbanstaki azalma, test edilen antioksidan maddenin aktif ve güçlü olduğunu gösterir. Bu test yöntemi konjuge çifte bağlı antioksidanların aktivitesini ölçmek için kullanılan uygun bir yöntemdir. Ayrıca hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlerde kullanılabilmesi bu yöntemin en büyük avantajlarından bir tanesidir (Re vd., 1999).

Demir İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (FRAP)

Demir iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) belirleme yöntemi Fe³⁺-TPTZ kompleksini Fe²⁺-TPTZ kompleksine indirgeme esasına dayanmaktadır (Dlugosz vd., 2020) (Şekil 5). Optik yoğunluk okumaları ile belirlenen FRAP değerlerinde yüksek yoğunluk elde edilmesi daha fazla demir içeren indirgeme kapasitesini belli eder (Divya vd., 2019). Gümüşün, Ag⁰'a indirgenmesine etki sağlayan ekstrakt içindeki fitokimyasal maddeler FRAP testi sonucunda bulunabilir (Bedlovičová vd., 2020).



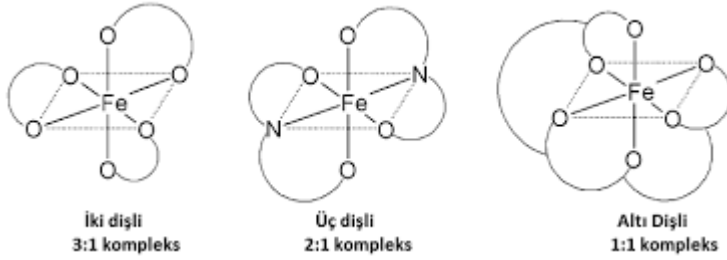
Şekil 5. FRAP testi reaksiyonu.

(Prior vd., 2005).

Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesinin belirlenmesi yöntemi, Demir (II) iyonu (Fe²⁺) ve ferrozin kimyasalının birbiri ile karıştırılması ile Fe²⁺'nin indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Antioksidanlar bu çözelti ortamı ile karıştırıldığında 562 nm dalga boyunda

maksimum absorbansını veren kompleksi meydana getirirler (Decker ve Welch, 1990). Metal şelatlama aktivitesi yöntemi, hidrofilik ve lipofilik sistemlerde kolay ve hızlı uygulanabilen bir yöntemdir.



Şekil 6. Metal-ligand komplekslerinde şelat halkası oluşumunun şematik gösterimi.
(Liu ve Hider, 2002).

Belirli koordinat grupları, metal iyonunu aynı zamanda bağlayabilmektedirler. Bunlar, sayısı göz önünde bulundurularak iki dişli, üç dişli ve altı dişli olarak sınıflandırılabilirler. Elde edilen bu komplekslerin dişlilik sayısı ile şelatör belirlenebilir (Şekil 6). Bu yönden bakıldığında metal kompleksinin kararlılığına ilişkin, ligand-metal kompleksinde oluşan halkaların büyüklüğü ve sayısı en önemli faktördür (Liu ve Hider, 2002).

2.6.4. Mutasyonlar

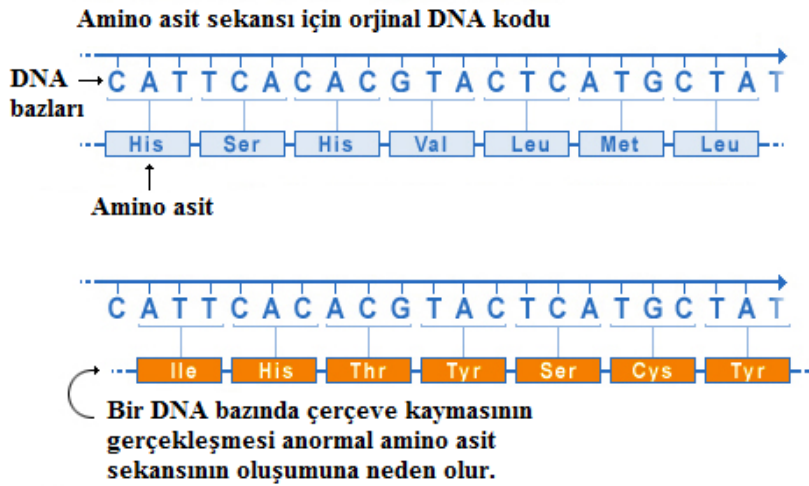
Mutasyonlar, genetik dizimdeki kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanabilmektedir. Organizmalardaki çeşitliliğin temelinde genlerde oluşan mutasyonlar yatmaktadır ve nükleik asitlerinin etkilendiği değişiklikleri ifade etmektedir (Loewe, 2008). Mutasyonlar kendiliğinden (spontan) olarak ortaya çıkabildiği gibi, mutajen adı verilen fiziksel ve kimyasal bazı ajanların etkisiyle de oluşabilmektedir.

Spontan mutasyonlar, bütün hücrelerde görülebilen ve doğal olarak oluşan mutasyonlardır. Bu tip mutasyonlar, genellikle DNA replikasyonu, onarımı ya da

rekombinasyonu sırasında meydana gelen hatalar sonucu oluşabilmektedir. Mutasyonları kromozom mutasyonu ve gen mutasyonları olarak ikiye ayırabiliriz.

Kromozom mutasyonları, kısaca mayoz bölünme esnasında crossing over aşamasında meydana gelen hataların sonucu ortaya çıkan mutasyonlar olarak tanımlayabiliriz. Mutajenlerin bazılarının kromozomlarda mutasyonlara sebep olduğu ve yüksek oranda DNA'yı etkilediği bilinmektedir.

Gen mutasyonları ise kalıcı değişimlerdir ve gen yapısında meydana gelir. Çerçeve kayması mutasyonu, frameshift olarak da bilinir ve DNA dizisine baz eklenmesi veya çıkarılması ile meydana gelmektedir. Eklenen ya da çıkarılan bazların bir üçlü şeklinde olmadığı takdirde ortaya çıkan mutasyondur. Değişikliğin gözlemlendiği noktadan itibaren okuma çerçevesinin kayması ile çoğunlukla işlevsiz bir proteinin üretimine neden olmaktadır (Campbell ve Reece, 2010) (Şekil 7).

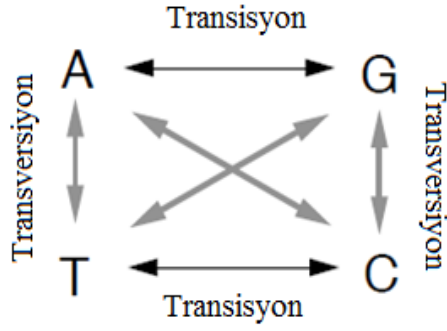


U.S. National Library of Medicine

Şekil 7. Çerçeve kayması mutasyonu.

Baz çifti değişiminde ise iki baz çifti birbiri ile yer değiştirir ve bu olaya baz substitüsyonu adı verilir. Bu tip mutasyonlar iki şekilde meydana gelebilmektedir. Bir pürin bazı (A, G) yerine diğer pürin bazı, bir pirimidin bazı (T, C) yerine diğer pirimidin bazının geçmesi ile transisyon; pürin bazı ile pirimidin bazının yer değiştirmesi ile de transversiyon

olarak adlandırılan iki olay, baz çifti değişimi mutasyonlarıdır (şekil 8). Bazı yer değişimleri ise gen ürününün yapısını ve aktivitesini değiştirmedikleri için sessiz mutasyonlar olarak adlandırılır. Bu durum da DNA’da bulunan tripletlerin ilk iki bazının spesifik olmasına rağmen üçüncü bazının farklılığı tolere edebilmesinden kaynaklanmaktadır.



şekil 8. Baz çifti değişim mutasyonları.

2.6.5. Mutajenik Aktivite

İnsan sağlığını oldukça fazla etkileyen faktörlerden biri de endüstrileşme ile ortaya çıkan çevre kirliliğidir. Bu etkiyi ortadan kaldırmak için pek çok alanda çalışmalar sürmektedir. Son zamanlarda kimyasal kullanımının da artmasıyla bu alana daha fazla araştırmacı yönelmiş, kimyasalların oluşturduğu toksik etkilerden korunmanın önemine değinilmiştir. Mutasyonlar, genetik materyalde oluşan hasarlar sonucunda ortaya çıkmaktadırlar.

Mutajenlerin saptanmasında genellikle sıçan ve farelerin kullanıldığı *in vivo* testler yapılmaktadır. Fakat bu testler uzun zaman alır ve oldukça pahalıdır (Ames, 1971). Ek olarak *in vivo* testler fazla iř gücüne ihtiyaç duyulması, hava ve su kirletici kompleks maddeler ve besinlerde bulunan doğal kimyasal maddelerin çalışmaya uygun olmaması, test duyarlılığının düşük olması gibi dezavantajlara da sahiptir. Bu nedenle çok sayıda kimyasalın mutajenitesini araştırabilmek için hayvan deneylerine kıyasla *in vitro* test sistemleri iyi bir alternatif olarak görülmektedir.

Ames/Salmonella Testi

Bakteriyel mutajenite testleri içerisinde en yaygın kullanılanlardan olup, detaylarının iyi bilinmesi, uygulamasının kolay olması ve hassaslığı nedeniyle birçok araştırmacının fazlaca tercih ettiği test sistemlerinden biridir. Prof. Dr. Bruce N. Ames ve ekibi tarafından 1970'lerin başında geliştirilmiş ve dünya çapında kabul görmüş bakteriyel bir test olmasıyla beraber temelinde, oksotrof (histidin sentezleme yeteneğini kaybetmiş, his⁻) *Salmonella* suşlarının test edilecek örnek ile muamelesinden sonra ikinci mutasyonla birlikte oluşan prototrof (yabani tip, his⁺) forma dönüşmesi yatmaktadır (Ames, 1971; Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Ames testinde kullanılan *Salmonella* suşlarının hepsi histidin operonunda bulunan genlerden bir tanesinde farklı yapıda (çerçeve kayması veya baz çifti değişimi) bir mutasyon taşımaktadır. Yaygın olarak kullanılan bir *S. typhimurium* TA100 suşunda histidin sentezinde ilk enzimi kodlayan hisG geninde bir baz çiftinin değişmesi ile *hisG46* mutasyonu oluşmuştur. Böyle mutasyonlar baz çifti değişime neden olan mutajenler tarafından eski haline dönebilmektedir. Yine sıklıkla kullanılan bir suş olan TA98 suşunda ise, *hisD3052* mutasyonu bulunur ve histidin sentezindeki son enzimi kodlayan hisD geninde oluşan çerçeve kayması sonucunda oluşur. *hisD3052* mutasyonunun eski haline dönmesi, çerçeve kayması mutasyonuna yol açabilen mutajenler tarafından mümkündür. Testte kullanılan suşlar histidin operonunda bir mutasyon taşıdığından dolayı yaşamsal faaliyetlerini sürdürmeleri için gerekli olan histidini sentezleyememektedirler. Bu yüzden bu genetik özelliğe sahip olan mutant suşlar ortamda histidin eksikliğinde hayatta kalamazlar ve üreyemezler (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Yine test düzeneğinde kullanılan tüm suşlar, etraflarını saran lipopolisakkarit tabakaların yapımında görevli genlerde bir mutasyona (*rfa*) sahiptirler. Bu mutasyon hasarlı hücre duvarına sahip olduklarını göstermektedir. Bu hasar nedeniyle de normalde hücre duvarından geçemeyecek büyüklükteki moleküller, rahatlıkla duvardan geçebilmektedirler.

Testte kullanılan TA102 suşu hariç, diğer tüm suşlarının ortak özelliklerinden biri de *uvrB*-bio genlerinde delesyon taşımalarıdır. Hata yapmaya eğilimli DNA tamir sistemi *uvrB* mutasyonu ile devreye girmektedir. Aynı zamanda test suşları hayatta kalmak için ortamda biyotine ihtiyaç duymalarının sebebi de, biyotin sentezinde görev alan bio geni de delesyona uğratmasıdır.

Ames testinde kullanılan birçok suş (TA97, TA98, TA100, TA102 ve TA104) pKM101 plazmidini içermektedir. pKM101 geni ampisilin direnç geni taşımaktadır. Bu plazmid, hataya eğilimli DNA tamir sistemini uyarır ve hücre içindeki plazmidin varlığını belirlemesi için uygun bir marker taşır (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

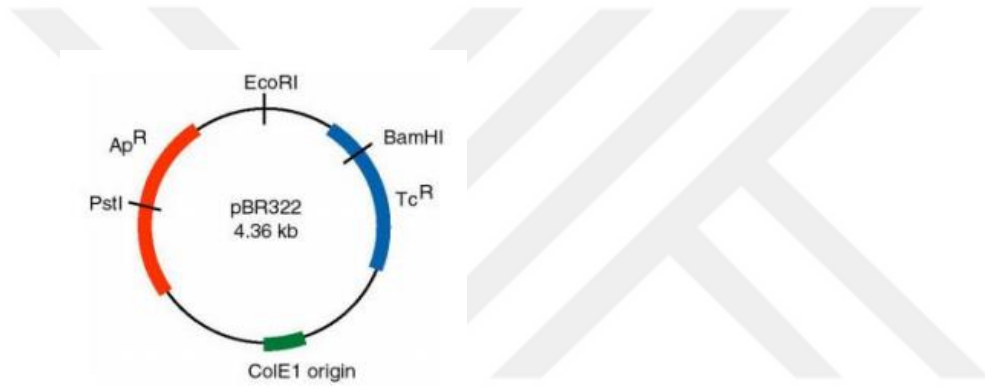
Biyolojik yollarla sentezlenen nanopartiküllerin amacı, çevreye toksik etki oluşturmayacak materyal elde etmek olsa da, bazı çalışmalar yeşil sentez yaklaşımı ile sentezlenmiş nanopartiküllerin sanılanın tersine canlılara ve çevreye zarar verebilme potansiyeli taşıdığını bildirmişlerdir (Song vd., 2014). Bu nedenledir ki, yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş nanopartiküllerin toksik etkilerinin araştırılması neredeyse zorunlu hale gelmiştir.

2.6.6. DNA Kesme Aktivitesi

DNA, tüm organizmaların canlılık işlevleri ile biyolojik faaliyetleri için önemli ve gerekli olan genetik materyalleri taşımakta olan bir makro moleküldür. DNA kesme aktivitesinde temel hedefler fosfodiester bağı, deoksiriboz şekeri ya da nükleobazlardır. Bunlar DNA'nın ana bileşenleridir. DNA kesme aktivitesi hidrolitik veya oksidatif olarak araştırılabilir. Hidrolitik yolla kesimde, DNA herhangi bir oksitleyici ajan ile muamele edilmez ve fosfodiester bağlarının hidrolizi ile zincir kırıkları meydana gelmesi hedeflenir. Oksidatif DNA kesme aktivitesinde ise DNA oksitleyici ajan ile karıştırılır ve deoksiriboz şekerinde veya nükleobazların oksidasyonu gözlenir. Oksidatif kesimde, yalnızca oksitleyici ajan kullanılmaz; bunun yerine ışık, indirgeyici ajanlar veya moleküler oksijen ve benzeri yardımcı reaktifler de kullanılabilir. Oksidatif kesme aktivitesinde kullanılan bazı yardımcı reaktifler foto-oksidasyon, singlet oksijen, hidroksil radikali, iyonize radyasyon, hidrojen

peroksit veya diğ er transient radikal türleridir (Stubbe ve Kozarich, 1987; Breen ve Murphy, 1995). DNA, hidrolize karşı kararlı bir yapıya sahiptir. Ancak DNA'nın omurgasını fosfodiester bağlar oluşturur, bu sebeple hidroliz edilmesi oldukça önemli bir enzimatik reaksiyondur.

pBR322 plazmid DNA, *Escherichia coli* bakterisinden izole edilen bir vektördür ve yaygın bir şekilde test edilmek istenen örneklerin DNA ile etkileşimlerinde kullanılır. 4,361 baz çifti uzunluğunda ve $2,83 \times 10^6$ dalton moleküler ağırlılığında olan plazmid DNA, %90  ift sarmallı bir yapıya sahiptir (Bolivar vd., 1977) (şekil 9).



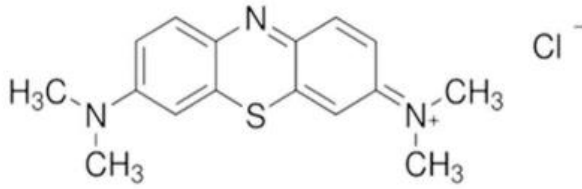
şekil 9. Plazmid pBR322.

(Hardison, 2005).

2.6.7. Fotokatalitik Aktivite

Baskı, kağıt, tekstil endüstrileri ve benzeri kaynaklı toksik boyalar içeren endüstriyel atıklar, su ortamına salınmasıyla ekosistem için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Su kütleleri ve tekstil boya larının agregasyonu hipertrofikasyona sebep olur. Bundan kaynaklı reoksijenasyon kapasitesini azaltarak suda bulunan mikroorganizmalara karşı büyük tehdit oluşturur (Sriramulu ve Sumathi, 2017). Bu sebeple, kirleticilerin atık sudan uzaklaştırılması için  evre dostu yöntemler araştırılmaktadır. Kimyasal pıhtılaşma, biyolojik oksidasyon, adsorbsiyon, iyon değişimi ve fotokataliz gibi sayısız teknik bu sorunu ortadan kaldırmak mevcuttur (Lei vd., 2017). Son yıllarda araştırmaların nanoteknolojiye yönelmesiyle de metal nanopartiküllerin boya lar üzerindeki fotokatalitik etkileri araştırılmaya başlanmıştır.

Metilen mavisi; bazik, mavi renkli ve kokusuz bir boyadır. Endüstriyel ve laboratuvar kullanımları için koyu mavi toz halinde satılmaktadır. Su içinde çözebilir bir yapıya sahiptir ve molekül ağırlığı 319,86 g/mol'dür. Tekstil sektörünün yanı sıra saç boyaları, kumaşlar, kağıt boyama gibi birçok farklı olana kullanılan metilen mavi boyası, UV-Vis spektrofotometresinde 665 nm'de maksimum absorbanans pikine ulaşmaktadır. Kimyasal formülü Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Metilen mavisi kimyasal formülü.

2.7. *Sorghum bicolor*

Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] Poaceae (Buğdaygiller) familyasına ait bir tahıldır. Amerika'da başlıca kullanımı sığır ve kümes hayvanlarının beslenmesi, diğer ülkelerde de nişasta ve alkol endüstrisinde hammadde olarak kullanılmaktadır (Pérez vd., 2010). Afrika ve Hindistan'da, nüfusun büyük bir bölümünün beslenmesinde önemli bir vitamin, mineral, protein ve enerji kaynağı olması nedeniyle önemli bir kısmı gıda tüketimine ayrılmıştır (Iyabo vd., 2018).

İçeriğinde polifenoller, fenolik asitler, flavonoidler ve yoğunlaştırılmış tanenler bulunur. Yoğunlaştırılmış tanenler sorgumda sık görülür ve sorgumdaki bu bileşikler diğer herhangi bir tahıldan daha yüksek antioksidan seviyelerine sahip olanlardır (Chung vd., 2011). Sorgum tohumu esas olarak karbohidratlardan, ardından proteinler, lipidler, lif, diyet lifi ve külden oluşur (Cabrera-Ramírez vd., 2020). Sorgum tohumları, çoğu tahıldan daha yüksek lipid seviyelerine sahiptir; mısır yağı ile karşılaştırıldığında, Sorgum çekirdeği yağı

daha yüksek seviyelerde oleik ve stearik asit ile daha az miktarda linoleik, miristik ve palmitoleik asit içerir, bu da onu daha az doymuş yağ yapar (Althwab vd., 2015).

Sorgum tohumu polifenoller, prosiyanidinler, flavonoidler, fenolik asit ve diğer antioksidan bileşikler içerir (Zhang vd., 2019). İçeriğinde bulunan tanenler ayrıca antioksidan özellikleri ve radikal süpürücü işlevleri nedeniyle immünomodülatör ve antikanser aktivite, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, vazodilatör ve antitrombotik olarak da önem arz etmektedir (Queiroz vd., 2018).

Prosiyanidinler açısından zengin sorgum ekstraktları ile yapılan çalışmalar, karyojenik bakteri *Streptococcus mutans*'ın büyüme inhibisyonunu göstermiştir. Bu nedenle sorgumun diş çürüklerinin önlenmesinde önemli olduğu düşünülebilir (Yu vd., 2018). Sorgum tohumlarından izole edilen tanenler açısından zengin özler ile *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarına karşı olağanüstü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Suliman vd., 2007).

2.8. Literatür Araştırması

Koca ve Duman (2019), su nanesi (*Mentha aquatica*) yaprak ekstraktı ile titanyum oksit (TiO₂) nanopartikülleri sentezlemiş ve pBR322 plazmid DNA'yı farklı TiO₂ nanopartikül konsantrasyonlarına (62,5, 125, 250, 500 µg/mL) maruz bırakarak DNA kesme özelliğine bakmışlardır. En yüksek titanyum oksit nanopartikül konsantrasyonunda (500 µg/mL) plazmid DNA'yı kestğini belirlemişlerdir.

Jadhav vd. (2018), elma (*Malus domestica*) yaprak ekstraktları kullanarak bakır oksit (CuO) ve gümüş-bakır oksit (Ag-CuO) nanopartiküllerini sentezlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivitelerini, gram pozitif ve gram negatif bakteri türleri kullanarak araştırmış, nanopartiküllerin konsantrasyonuna bağlı olarak inhibisyon zon çapında artış görmüşlerdir. Sentezlenen CuO nanopartiküllerinin antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde inhibisyon

zon çapının Ag-CuO nanopartiküllerine göre daha fazla olduğunu görmüşlerdir. Sentezlenen nanopartiküllerin gram pozitif bakterilerde, negatif bakterilere kıyasla daha etkili aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Nanopartiküllerin DPPH testi ile antioksidan aktivitelerini incelediklerinde CuO nanopartiküllerin Ag-CuO nanopartiküllere göre daha güçlü antioksidan aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. DNA kesme aktivitelerini plazmid pBR322 DNA kullanarak jel elektroforez yöntemi ile incelemişlerdir. Tek başına yaprak ekstraktının kesme aktivitesi gözlenmezken CuO nanopartiküllerin DNA kesme aktivitesinin Ag-CuO nanopartiküllerine göre daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır.

Prakash ve Kalyanasundharam (2015), su kabağı (*Lagenaria siceraria*) ve manila demirhindi (*Pithecellobium dulce*) yaprak ekstraktları kullanarak çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri sentezlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivitenin çalışılan konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür. DPPH metodu ile serbest radikal süpürme aktivitelerine bakıldığında ise güçlü radikal giderici etkileri olduğunu saptamışlardır.

Ijaz vd. (2017), *Abutilon indicum* bitkisinin yaprak ekstraktları ile hazırlanan bakır oksit (CuO) nanopartiküllerinin, DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığını ve 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda en yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. CuO nanopartiküllerinin *Klebsiella* ve *Bacillus subtilis*'e karşı önemli bakterisidal etkisinin olduğunu, Acid Black 210 boyası ile baktıkları fotokatalitik aktivite sonucunda, CuO nanopartiküllerinin boyayı iyi derecede indirgediğini belirtmişlerdir.

Madadi vd. (2019), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ile sentezledikleri titanyum dioksit (TiO₂) nanopartiküllerle, metilen mavisi, asidik kırmızı 88 ve coumarin 30 boyaalarının degradasyonunu araştırmışlardır. 30 mg nanopartikülü 500 mL farklı konsantrasyonlardaki (10 mg/L ve 20 mg/L) boyaaların içine bırakmışlar, 30 dakikada bir ölçüm almışlardır. Sonuç olarak TiO₂ nanopartiküllerinin metilen mavi boyasının gideriminde başarılı sonuçlar elde etmişler, ancak asidik kırmızı 88 ve coumarin 30 boyaalarının gideriminin uzun zaman aldığını belirtmişlerdir.

Gümüş nanopartiküllerle yapılan yeşil sentez çalışmalarının bazılarına baktığımızda;

Shah vd. (2018), *Daphne mucronata* su ekstraktı ile 12 nm boyutlarında, gümüş nanopartikülleri sentezlemişlerdir. DPPH metodu ile serbest radikal giderme aktivitesi araştırılmış, en yüksek antioksidan aktivitesinin ekstraktın ve gümüş nanopartiküllerinin 600 µg/mL konsantrasyonunda sırasıyla %91,99 ile %85,4 olduğunu belirlemişlerdir. Ekstraktın ve sentezlenen gümüş nanopartiküllerin mutajenik etkisi Ames testi ile TA98 ve TA100 suşlarında test edilmiş, ekstraktın ve gümüş nanopartiküllerin iki suş için de mutajenik olmadığı belirlenmiştir.

Lakshmanan vd. (2018), 20-50 nm boyutlarında gümüş nanopartikülleri, *Cleome viscosa* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenmiş ve bu partiküllerin antikanser ve antibakteriyal aktivitelerini araştırmışlardır. Gümüş nanopartiküllerin *Kleibselia pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyal aktivitesi olduğu saptanmıştır. Ayrıca, bu nanopartiküllerin yumurtalık kanseri (PA1) ve akciğer kanseri (A549) hücre hattında güvenilir olduğu belirtilmiştir.

Coşkunçay (2017) tarafından yapılan çalışmada, Atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*) bitkisinin yapraklarından sentezlenen küresel ve 50±5 nm boyutlarında gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. On dört bakteriye (7 gram pozitif, 7 gram negatif) karşı antibakteriyal etki gözlenirken test edilen üç maya suşuna karşı antifungal etki gözlemlenmemiştir. Gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile belirlemiş, serbest radikal giderme aktivitesinde konsantrasyona bağlı (1,56-100 ppm) artış gözlemlenmiş, 100 ppm'lik konsantrasyonda % inhibisyon değerini 54,72 olarak hesaplamıştır. Agaroz jel elektroforezi ile 5 farklı konsantrasyonda (6,25-100 ppm) nanopartiküllerin pBR322 plazmid DNA ile etkileşimlerini incelemiş, nanopartiküllerin DNA'ya herhangi bir etkisi görülmemiştir.

Genc (2020), *Origanum onites* bitki ekstraktı kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan etkisini DPPH ve ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesi ile

aydınlatmıştır. Örneklerin indirgeme kapasitesine ise ferrik tiyosiyanat metodu ile bakılmış, gümüş nanopartikül ile birleştiğinde bitkinin antioksidan aktivitesinin arttığını gözlemlemiştir.

Bhagat vd. (2019), *Rosa brunonii* bitkisi kullanarak yeşil sentez yöntemiyle sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesine 5 farklı bakteri (*Campylobacter jejunii*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsella pneumoniae*, *Alcaligenes denitrificans*) ve 4 maya (*Fusarium oxysporum*, *Bipolaris specifera*, *Curvularia lunata* ve *Aspergillus niger*) ile bakmışlardır. Başta *C. jejunii* olmak üzere *K. pneumoniae*, *A. denitrificans* ve *B. cereus* üzerine güçlü antibakteriyel özellik sergilediğini bildirmişlerdir. Antifungal aktivitenin en iyi gözlemlendiği organizmanın ise *A. niger* olduğu sonucuna varmışlardır. Nanopartiküllerin antioksidan özelliği, DPPH, FRAP ve demir şelatlama deneyleri ile araştırılmış ve nanopartiküllerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca sentezlenmiş nanopartiküllerin fotokatalitik analizi Kongo kırmızısı boyasının degradasyonu ile aydınlatılmış ve gümüş nanopartiküllerinin 3 saatte boyanın rengini açmasıyla güçlü fotokatalitik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Vinay vd. (2019), *Rauwolfia tetraphylla* su ekstraktı kullanarak yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin genotoksik potansiyelini *Allium cepa* testi kullanarak antimitotik aktivite ve kromozomal anomalileri ile tanımlamış ve antioksidan aktivitesi için DPPH testi ile serbest radikal süpürme aktivitesini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda, *A. cepa* testi ile kromozomal anomaliler (kromozom kırılmaları, kromozom yapışkanlığı, gecikmeli kromozomlar ve kümelenmiş kromozomlar) belirlenmiş, mitotik indekste azalma gözlemlemiştir. Gümüş nanopartiküllerin, DPPH serbest radikallerini potansiyel olarak temizleyerek iyi antioksidan aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Özetle, sentezlemiş oldukları gümüş nanopartiküller biyo-tıbbi uygulamalar alanında başarılı bulunmuştur.

S. bicolor ile yapılan çalışmalara baktığımızda;

Kil vd. (2009), *S. bicolor* hekzan, etil asetat, n-butanol ve su ekstraktlarını, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsella pneumoniae* ve *Salmonella typhimurium* türleri üzerinde disk difüzyon tekniği ile test etmişlerdir. Ekstraktların güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, bunun sonucunda da Sorgum'un gıda endüstrisinde potansiyel bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini doğrulamışlardır.

Sreedevi vd. (2020), *S. bicolor* tohumları kullanarak gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde su ekstraktı, gümüş nitrat (AgNO_3) ve gümüş nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarını denemişlerdir. Sulu ekstrakt ve AgNO_3 çözeltisi karşılaştırıldığında, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin deneyde kullanılan bakteri suşlarına karşı daha fazla inhibisyon zonu sergilediğini gözlemlemişlerdir.

Ziotti vd. (2021) çimlendirdikleri *S. bicolor* üzerinde biyojenik gümüş nanopartikül ve AgNO_3 'ün etkilerini karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Tohumlar, kontrollü koşullara sahip bir büyüme odasında artan biyojenik gümüş nanopartikül ve AgNO_3 (0, 10, 100, 500 ve 1000 μM) konsantrasyonlarında çimlendirilmiş ve gelişimini 15 gün boyunca değerlendirmişlerdir. Aldıkları sonuçlar hem gümüş nanopartikül hem de AgNO_3 'ün çimlenmeyi bozduğunu göstermiştir. Gümüş nanopartiküllerine maruz kalan bitkilerin, AgNO_3 'e maruz kalan bitkilere kıyasla daha etkili koruyucu mekanizmaları tetiklediği gözlemlemişlerdir. Sonuçların, yüksek konsantrasyonlarda hem gümüş nanopartikül hem de AgNO_3 'ün Sorgum çimlenmesini, büyümesini ve biyokütle bölünmesini tehlikeye attığını belirtmişlerdir. Biyojenik gümüş nanopartiküllerinin Sorgum için AgNO_3 'ün daha az toksik olduğunu söylemenin makul olduğu sonucuna varmışlardır.

Rakgotho vd. (2022), *Sorghum bicolor* tohumlarını stres altında yetiştirerek çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri sentezlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada aşırı ROT üretiminin sebep olduğu oksidatif hasarı belirlemişlerdir. Tuz stresi ile yetiştirdikleri bitkiler, hasara

sebepler olurken, sentezlenmiş ZnO nanopartiküllerin H₂O₂ birikimini önlediğini bildirmişlerdir.

Balkan (2008), yaptığı araştırmada Trakya'nın farklı bölgelerinden 10 farklı yerel süpürge otu [*S. bicolor* (L.) Moench var. *technicum* (Körn.)] toplamış ve bazı genotip özelliklerinin belirlenmesini amaçlamıştır. Araştırma sonucunda, Uzunköprü ve Maksutlu'dan toplanan süpürge darıların genotiplerinin Trakya bölgesi koşullarında yetişmek için daha uygun olduğunu belirtmiştir.



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. *Sorghum bicolor* var. *technicum* Tohum Ekstraktının Hazırlanışı

Tohumlar, Edirne'nin Uzunköprü ilçesinden toplandı. Tohumlar iki defa distile su ile yıkanarak kurutulmaya bırakıldı. Havanda öğütülerek toz haline getirilen tohumlardan 5 g alınarak, 100 mL distile su içine ilave edildi. Ekstraksiyon işlemi 70°C sabit sıcaklıkta manyetik karıştırıcıda 1 saat boyunca karıştırılarak gerçekleştirildi. Elde edilen su ekstraktı oda sıcaklığına geldiğinde Whatman No.1 filtre kâğıdından geçirilerek katı kısım, çözüldüden ayrıldı ve +4°C'de saklandı.

3.2. Gümüş Nanopartiküllerinin (AgNP'lerin) Sentezi

AgNP'lerin sentezi oda sıcaklığında, 250 mL'lik erlen içinde manyetik karıştırıcıda yapıldı. Tohum ekstraktına, 1 mM gümüş nitrat (AgNO₃) çözeltisi 1:10 oranda eklenerek, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Karıştırma işlemi ekstraktın sarı rengi bordo-kahverengine dönene kadar devam etti. Renk değişimi tamamlandıktan sonra karışım 8.000 rpm'de bir saatlik sürede (Hettich Universal 320) santrifüjlendi. İlk santrifüjün ardından süpernatant kısmı pelet kısmından uzaklaştırıldı. Yıkama işlemi mikrosantrifüj cihazında (Thermo Espresso) 10.000 rpm'de 30 dakika sürede distile su ile 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleşti. Yıkama işlemi ardından elde kalan pelet kısmı cam petri kabında 60°C sabit sıcaklıkta bir gün boyunca kurumaya bırakıldı.

3.3. AgNP'lerin Karakterizasyonu

3.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

SEM, moleküllerin mikron altı düzeyde morfolojik özelliklerini ve mikron düzeyinde temel bilgileri sağlar. Sentezlenen AgNP'lerin morfolojisi, boyutu ve dağılımı Quanta FEG

250 (FEI, ABD) taramalı elektron mikroskobu kullanılarak MERLAB, Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirildi (Şekil 11).



Şekil 11. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).

3.3.2. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

AgNP'lerin boyutu ve şekli, geçirimli elektron mikroskobu (TEM, Hitachi HT-7700) kullanılarak DAYTAM, Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı gerçekleştirilerek belirlendi (Şekil 12).



Şekil 12. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM).

3.3.3. Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS) Analizi

Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS), nanopartiküllerin kimyasal analizleri için uygulanan analitik bir test sistemidir (Hodoroaba, 2020). MERLAB tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirildi.

3.3.4. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

AgNP'lerin sentezindeki indirgeyici ajanı belirlemek için Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi yapıldı. Ekstraktların ve AgNP'lerin FT-IR (KBr disk) spektrumları, 4000-400 cm^{-1} aralığında, 1 cm^{-1} çözünürlükte, 16 tarama numarası ile Perkin Elmer BX II FT spektrometresinde kaydedildi.

3.3.5. UV-Vis Spektroskopi Analizi

AgNP'lerin distile su ile hazırlanmış solüsyondaki biyosentezi (1 mg/mL) UV-Vis spektrumları ölçülerek izlendi. UV-Vis spektrumu 200 nm ile 800 nm arasındaki optik absorbansın periyodik taramaları bir UV-Görünür çift ışınli spektrofotometre kullanılarak ölçüldü (T80+ UV/VIS Spektrometresi, PG Instruments Ltd).

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Analizleri

Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite analizleri, agar disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus haemolyticus* (ATCC 43252), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (NRRL B-3704), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315) bakterilerine ve *Candida albicans* (ATCC 10231) mayasına karşı test edildi.

3.4.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde Mueller-Hinton Agar (MHA) plakları bakteriler için; Saboraud Dekstroz Agar (SDA) plakları ise maya için kullanıldı. Bakterilerin canlandırılmasında Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyeri kullanılırken maya için RPMI-1640 besiyeri kullanıldı. On sekiz saatlik taze kültürlerden 100 µL alınarak ilgili besiyerine aktarıldı ve L-baget yardımı ile agar üzerine yayma işlemi gerçekleştirildi.

Deney aşamasında hazırlanan ekstrakt ve AgNP konsantrasyonları steril disklerle emdirildi. Farklı mikroorganizmaların ekim yapılan besiyerlerine yerleştirilen disklerle beraber 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Standart antibiyotiklerden olan penisilin ve nistatin sırasıyla bakteriler ve maya için kullanıldı. Deneysel üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve inhibisyon bölgesi çap değerlerinin ortalaması alınarak sonuçlar kaydedildi.

3.4.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerlerinin Belirlenmesi

Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri broth mikrodilüsyon yöntemi ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü’nün önerdiği şekilde belirlendi (CLSI, 2006). MİK değerlerinin belirlenmesi için, 96 kuyucuğa sahip U tabanlı mikrop plaklarda seri dilüsyon metodu uygulandı. Bakteri ve mayalar için sırasıyla MHB ve RPMI-1640 besiyerleri kullanıldı. Mikroorganizma süspansiyonlarının yoğunlukları %0,9’luk serum fizyolojik içinde 0,5 McFarland standardı kullanılarak ayarlandı. Ekim yapılan bakteri (24 saat) ve maya (48 saat) mikrop plakaları 37 °C’de inkübe edildi. MİK değeri, görünen üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon olarak kaydedildi.

3.5. Antibiyofilm Aktivitenin Belirlenmesi

Örneklerin antibiyofilm aktiviteleri, mikrop laka metodu ile çalışıldı (Merritt vd., 2006). Mikroorganizmaların üremesi için uygun ortam 24 saat 37 °C’de Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde (%5 glikoz ilaveli) inkübasyon ile sağlandı. 100 µL TSB ve örnekler, “F”

tabanlı plakaların 96 kuyucuğuna dağıtıldı. Ardından kuyucuklara uygun mikroorganizma kültürleri eklendi. İnkübasyonu 48 saat süreyle 37 °C’de gerçekleşti. İnkübasyonun ardından, planktonik hücreler kuyucuklardan uzaklaştırılarak steril distile su ile yıkandı. Her kuyuya 200 µL %0,1’lik kristal viyole eklemesi yapıldı ve ardından 15 dk beklendi. Tekrar yıkama işlemi boya uzaklaştırıldıktan sonra yapıldı. 620 nm’de mikropilaya okuyucuda absorbans değerleri alındı.

3.6. Antioksidan Aktivite Analizleri

3.6.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Belirleme Yöntemi

Ekstrakt ve AgNP’nin serbest radikal giderme aktivitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi modifiye edilerek belirlendi (Blois, 1958). Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) hazırlanan ekstrakt ve AgNP örnekleri DPPH çözeltisi ile 1:4 oranda karıştırıldı. 30 dakika karanlık ortamda, 25°C’de inkübasyona bırakıldıktan sonra köre karşı 517 nm’de absorbansları 3 tekrarlı olarak okutuldu. Örneklerin % inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı (3.1) ve standart olarak sentetik antioksidan olan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanıldı.

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

A₀: Örnek veya standart içermeyen DPPH radikal absorbansı

A₁: Örnek içeren DPPH radikal absorbansı.

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

Re vd. (1999) yöntemi kullanılarak 2,2’-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{•+}) katyon radikali giderme aktivite analizi yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) hazırlanan örnekler, ABTS reaktifi (7mM ABTS^{•+}, 2,45 mM potasyum persülfat) ile muamele edildi. Örnekler ile karıştırılan ABTS reaktifi, 6 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Ardından örneklerin absorbansları köre karşı

(etanol) 734 nm’de alındı. Deney üç tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Elde edilen absorbanans değerlerinin % ABTS^{•+} radikali giderme inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı (3.2) ve bu sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ile kıyaslanarak değerlendirildi.

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

A₀: Örnek veya standart içermeyen ABTS^{•+} radikal absorbanansı

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

3.6.3. FRAP Aktivitesi Belirleme Yöntemi

Demir iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) testi, Benzie ve Strain (1996) metodu modifiye edilerek gerçekleştirildi. 0,3 M sodyum asetat, 10 mM TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-S-triazine), 20 mM FeCl₃ 10:1:1 oranında karıştırılarak FRAP reaktifi hazırlandı ve 37 °C’de 15 dk inkübasyona bırakıldı. 25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan ekstrakt ve nanopartikül örnekleri FRAP reaktifi ile 1:30 oranda karıştırıldı ve 30 dk karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı. İnkübasyon sonrasında örnekler köre karşı 593 nm absorbansta ölçüldü. Deney üç tekrarlı olarak gerçekleşti.

3.6.4. Metal Şelatlama Aktivitesi Belirleme Yöntemi

Ekstrakt ve AgNP’lerin indirgeyici antioksidan kapasitesi metal şelatlama testi ile belirlendi (Dinis vd., 1994). Örnekler farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) hazırlandı. Hazırlanan örneklerin 100 µL’si üzerine ilk önce 400 µL etanol eklendi. Ardından karışıma 100 µL 2 mM Demir (II) klorür tetrahidrat (FeCl₂.4H₂O) ve 400 µL 5 mM ferrozin eklendi. Elde edilen çözelti vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Kör olarak aynı karışım ferrozin ve örneklerin yerine eşit miktarda distile su eklenerek hazırlandı. Örnekler köre karşı 562 nm’de okundu ve absorbanans değerleri alındı. Deney üç tekrar olarak gerçekleşti. Pozitif kontrol olarak Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) kullanıldı. Negatif kontrol, örnekler yerine aynı miktarda distile su eklenerek

hazırlandı ve örneklerin % inhibisyon değerleri aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı (3.3).

$$\text{Metal Şelatlama Kapasitesi (\%)} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.3)$$

A_{kontrol} : Örnek veya standart içermeyen absorbans değeri

$A_{\text{örnek}}$: Örnek içeren absorbans değeri.

3.7. Ames/Salmonella Testi ile Mutajenik Aktivitenin Belirlenmesi

Mutajenik aktivitenin belirlenmesi için Ames/Salmonella testi kullanıldı. Bu deney sistemi, *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşundan *in vitro* mutasyonların sonucunda geliştirilen histidin amino asidine gereksinimi olan mutant oksotrof suşların (his^-) test edilen madde ile karıştırılması sonucu yeniden histidin sentezleyebilme (his^+) özelliğini kazanması prensibine dayanmaktadır. Bu test sistemiyle ortama eklenecek olan nanopartikülün mutajenik aktivitesi hakkında bir sonuca varılabilecektir. *S. typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşları sırası ile çerçeve kayması ve baz çifti değişimi mutasyonlarını belirlemektedirler (Mortelmans ve Zeiger, 2000). Deneyler, plak inkorporasyon metodu ile gerçekleştirildi (Maron ve Ames, 1983). Çalışmanın güvenilirliği açısından suşların istenilen genetik özelliklere sahip olduğunun kanıtlanması gerekmektedir. Deneyden önce kullanılacak suşların mutasyonlara sahip olup olmadığı histidin gereksinimi, *rfa* mutasyonu, *uvrB* mutasyonu ve R faktörü testleri ile kontrol edildi.

Deneyde kullanılan *Salmonella* suşlarının öncelikle his^- olduklarının doğrulanması önemlidir. Histidin sentezleyebilme özelliğini kaybeden mutant suşlar, minimal glukoz agar (MGA) plaklarında üreyemez çünkü plaklar bu aminoasidi içermemektedir. Ancak histidin/biyotin (HB) agar plaklarında üreyebilmektedirler. Bu amaçla histidin gereksinimi testi kapsamında MGA ve HB plakları kullanıldı. Nutrient broth'da (NB, Oxoid No: 2) gecelik kültürleri (12-16 saat) üretilen örnekler plaklara çizgi ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 48-72 saat inkübasyona tabii tutuldu.

Test suşlarının *rfa* taşıyıp taşımadıkları kristal viyole boyası hassasiyet testi ile değerlendirildi. Gecelik *S. typhimurium* kültürlerinden nutrient agar (NA) plakalarına ekim yapıldı. 6 mm çapına sahip steril diskler kristal viyole çözeltisinden (%0,1) 10 µL emdirildi ve diskler plakaların ortalarına yerleştirildi. 37 °C’de 24 saat inkübasyonun sonucunda disk etrafında inhibisyon zonunun var olup olmadığı gözlemlendi.

Deneyde kullanılan *Salmonella* suşlarının *uvrB* taşıyıp taşımadıklarını belirlemek için UV hassasiyeti testi kullanıldı. Gecelik kültürden alınan suşlar NA plakalarına paralel çizgiler halinde ekildi ve ekim yapılan petrinin yarısı UV lambası altında ışınlar maruz bırakıldı. İşlem sonrasında 24 saat 37 °C’de inkübe edildi. Bu kontrol kapsamında UV ışınlarına maruz bırakılan petrinin bir tarafında ürememe gözlenmemesi beklenmektedir.

R faktörü de olarak bilinen ampisilin direnç faktörü içeren pKM101 varlığının kontrolü için de deneyde kullanılan suşlar histidin/biyotin/ampisilin (HBA) plakalarına ekildi. 37 °C’de 24 saat sonunda bu plakalarda üreyebilen suşlar, pKM101 plazmidini taşıyan suşlar olarak değerlendirilir.

Pozitif kontrol olarak 4-nitro-*o*-fenilendiamin (NPD) ve sodyum azid (SA) sırasıyla TA98 ve TA100 suşları için kullanıldı. Negatif kontrol olarak iki suş için de distile su kullanıldı. Kullanılan his⁻ özellikteki TA98 ve TA100 suşları uygun ortamda spontan olarak his⁺ hale geçebilmektedirler. Bu sınırlar TA98 ve TA100 suşları için 20-50 ve 75-200 revertant/plak’tır (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Çalışmada kullanılan tohum ekstraktının ve AgNP’lerin mutajenik aktiviteye sahip olup olmadığını belirleyebilmek için çalışılan konsantrasyonlar negatif kontrolle karşılaştırıldı. Mutajenik etkiden söz edebilmek için, test örneklerinin farklı konsantrasyonlarının uygulanması sonucu elde edilen geri dönen koloni sayısının negatif kontrol ile karşılaştırıldığında iki kat fazlası olması gerekmektedir.

3.8. Agaroz Jel Elektrofözezi Yöntemi ile DNA Kesme Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstrakt ve AgNP'nin DNA kesme aktiviteleri agaroz jel elektrofözezi yöntemi ile belirlendi. Örneklerin DNA kesme aktivitesi oksitleyici ajan olan hidrojen peroksit (H₂O₂) yokluğunda (hidrolitik) ve varlığında (oksidatif) araştırıldı. Örnekler 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanarak Tris-HCl tamponu (10 mM, pH=7,4) ile muamele edildi ve plazmid DNA'ya eklendi. 37 °C'de 3 saat inkübasyona tabii tutulan örnekler daha sonra 6X DNA loading dye ile karıştırılarak 1X TAE (40 mM Tris - 20 mM Asetik Asit - 1 mM EDTA, pH=8,0) tamponuyla hazırlanan %0,8'lik agaroz jele yüklendi. Yüklenen örnekler, 1 saat boyunca 60 V'ta 1X TAE tamponunda yürütüldü. Elde edilen bantlar UV ışığı altında jel görüntüleme sistemiyle (Vilber Lourmat TFX-20.M) görüntüledi.

3.9. Fotokatalitik Analiz

3.9.1. Metilen Mavi Boyasının UV Spektrumu ve Kalibrasyon Eğrisi

Metilen mavisi, UV-Vis görünür alan spektroskopisi yardımıyla 400-800 nm arasında spektrum ölçümü alınarak analiz edildi. Spektrum analizinde elde edilen maksimum λ değeri belirlendi. Metilen mavi boyasından seri dilüsyon ile konsantrasyonlar hazırlandı ve λ değeri ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Eğri çıkarıldıktan sonra $y=mx$ şeklindeki denklem AgNP'lerin metilen mavi boyası üzerindeki degradasyon etkisinin belirlenmesinde kullanıldı.

3.9.2. Metilen Mavi Boyasının AgNP'ler Tarafından Degradasyonu

Metilen mavi boyasının degradasyonu çalışması atmosferik basınç altında, 9 mL reaksiyon hacminde, 150 rpm'de karıştırılarak gerçekleştirildi. 8 mL metilen mavi boyasını (25 µg/mL), 1 mL H₂O₂ (%10) ile karıştırıldı ve 10 mg AgNP ortama bırakıldı. Farklı temas sürelerinde metilen mavi boyasının absorbansı ölçülerek kalibrasyon eğrisinde

degradasyonu belirlendi. Ayrıca H_2O_2 'nin metilen mavi boyası tek başına degrade edip etmediğini belirlemek için H_2O_2 ve metilen mavi boyası AgNP'siz ortamda denendi.



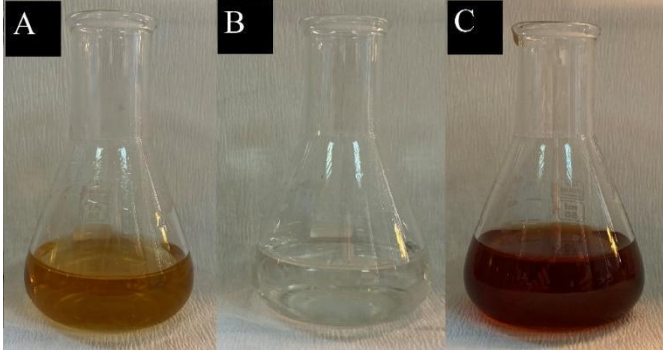
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.1.1. Morfolojik Gözlem

Gümüş nanopartiküllerin oluştuğu, ekstraktın sarı renginin bordo-kahverengine dönüşmesiyle anlaşıldı. Renk değişiminin nedeni, ekstrakt çözeltisine ilave edilen renksiz AgNO₃ çözeltisindeki Ag⁺ iyonlarının *S. bicolor* var. *technicum* tarafından indirgenerek AgNP'ye dönüşmesidir (Şekil 13).



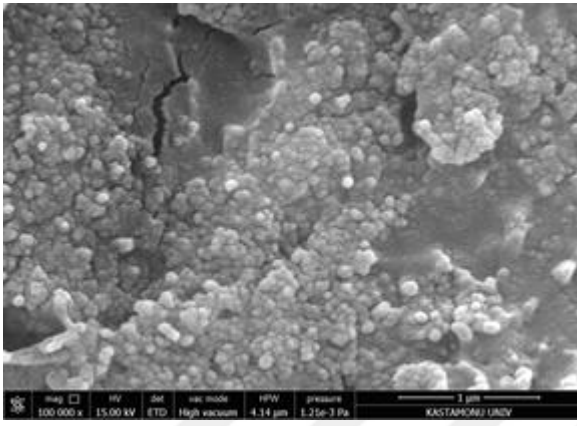
Şekil 13. AgNP'lerin morfolojik gözlemi, A. *S. bicolor* var. *technicum* su ekstraktı, B. AgNO₃, C. AgNP.

4.1.2. SEM Analizinin Değerlendirilmesi

AgNP'lerin morfolojisi SEM karakterizasyon analizi ile belirlendi (Şekil 14). SEM çalışmaları, neredeyse aynı şekil ve boyutlarda AgNP'lerin varlığını doğruladı. Sentezlenen tüm AgNP'lerin şekli küresel bulundu.

AgNP'lerin boyutu ve şekli, sentez için kullanılan ekstraktlara bağlıdır (Nadagouda vd., 2014). SEM görüntülerinde bazı büyük parçaların ortaya çıkması, daha küçük parçacıkların üst üste binerek kümelenmesinden kaynaklı olabilir. Nanopartiküllerin

aglomerasyonu ve kümelenmesi ile farklı boyutlarda partiküller oluşturabildiği, morfolojik düzensizlik gösterebildiği bildirilmiştir (Vijayamari vd., 2017). Chakravarty vd. (2022), siyah erik (*Syzygium cumini*) kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin, küresel nanopartiküller olduklarını SEM analizi ile belirlemişlerdir. Hemlata vd. (2020), *Cucumis prophetarum* ile sentezlemiş oldukları nanopartiküllerin morfolojik analizini SEM testi ile incelemiş; düzensiz şekilde granüle edilmiş, elipsoidal ve kümelenmiş nanopartiküllerin varlığını tespit etmişlerdir.



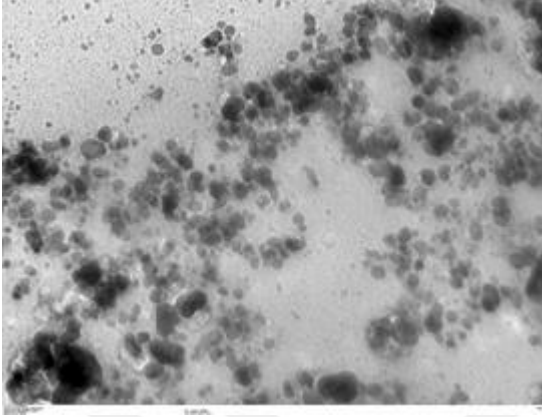
Şekil 14. AgNP'lerin SEM görüntüsü.

4.1.3. TEM Analizinin Değerlendirilmesi

Partikül boyutu ile şekil olarak neredeyse küresel olan AgNP'lerin TEM görüntüsü 51 ila 56 nm arasında değişmektedir (Şekil 15). TEM görüntüleri, küçük partikül agregatlarının, kapatıcı bir organik ajan görevi gören ince bir organik tabaka ile kaplandığını ortaya çıkardı. Bu aynı zamanda nanopartiküllerin biyo-indirgenmiş sulu çözelti içinde, makroskopik ölçekte bile çok iyi bir dağılım gösterdiğini açıklamaktadır (Kouvaris vd., 2012).

Mahapatra vd. (2022), boynuzlu ekşi tırfıl (*Oxalis corniculata*) kullanarak sentezlemiş oldukları gümüş nanopartiküllerinin dağılım ve boyutunu TEM analizi ile incelemişlerdir. Sentezlemiş oldukları nanopartiküllerin 40 nm boyuta ve küresel yapıya sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yassin vd. (2022) Mercanköşk (*Origanum majorana*) ile

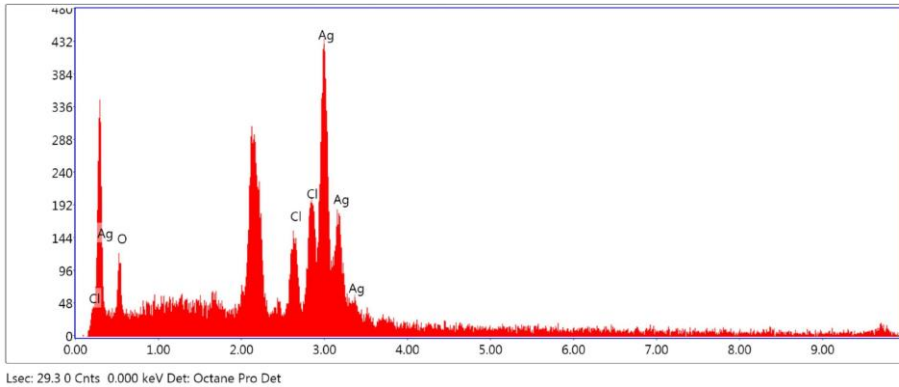
sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin boyut ve morfolojisini TEM ile analiz etmişlerdir. Ortalama boyut çaplarının 10-60 nm arasında olduğunu rapor etmişlerdir.



Şekil 15. AgNP'lerin TEM görüntüsü.

4.1.4. EDS Analizinin Değerlendirilmesi

Katı maddelerin element bileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri de enerji dağılım X-Ray spektroskopisi (EDS) analizleridir (Hodoroaba, 2020). EDS analizinde gümüş iyonları yaklaşık 2,983 KeV'de güçlü sinyaller ürettiğinden dolayı gümüş nanopartiküllerinin oluştuğunun kanıtı olarak kullanılır (Kumar vd., 2014). Sentezlemiş olduğumuz AgNP'ler tipik olarak 3 KeV'de absorpsiyon piki gösterdi (Şekil 16). Diğer zayıf element sinyallerine muhtemel nedeni olarak *S. bicolor* var. *technicum* su ekstraktında bulunan enzim veya proteinler gösterilebilir.



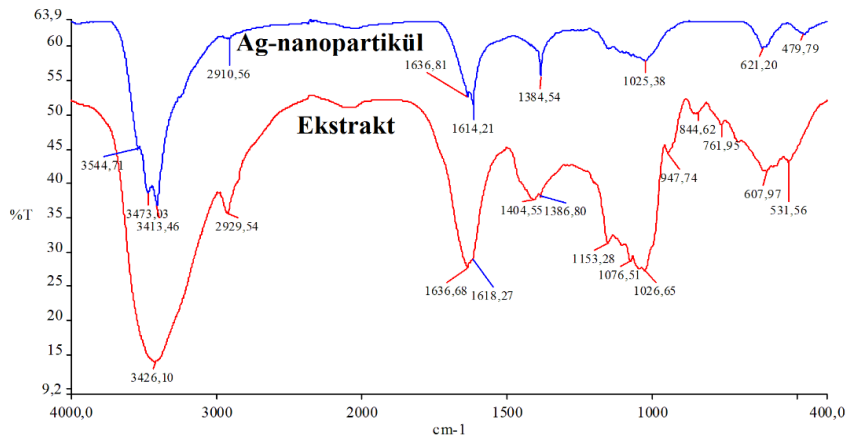
Şekil 16. AgNP EDS analizi.

4.1.5. FT-IR Analizinin Değerlendirilmesi

Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi biyomoleküller ile metal nanopartiküller arasında bulunan fonksiyonel grupların ilişkisini anlamlandırmak için kullanılan bir yöntem olarak kabul edilmektedir. FT-IR analizleri ile alınan ölçümler gümüş nanopartiküllerinin kaplanmasından, etkin stabilizasyonundan ve indirgenmesinden sorumlu olan biyomolekülleri tanımlamak için gerçekleştirilir.

Ekstrakt ve AgNP'lerin FT-IR (KBr disk) spektrumları, 4000-400 cm^{-1} aralığında, 1 cm^{-1} çözünürlükte, 16 tarama ile Perkin Elmer BX II FT spektrometresinde kaydedildi. FT-IR spektroskopisi, hem ekstrakt hem de indirgenen gümüş nanopartiküllerinin fonksiyonel grup analizi için kullanıldı.

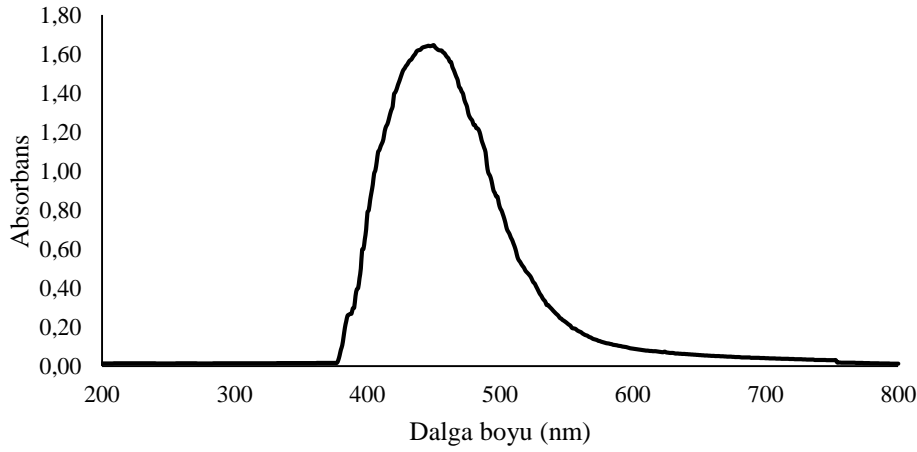
Ekstraktın FT-IR spektrumu incelendiğinde 3426 cm^{-1} 'de gözlenen geniş pik, ekstraktta bulunan polifenoller, siyanidinler, flavonoid ve fenolik asitlerin karakteristik OH, COOH ve aromatik-H titreşimlerine ait olduğunu göstermektedir. Yine 2929 cm^{-1} 'de gözlenen pikler ekstrakttaki alifatik-H titreşimlerine aittir. Sırasıyla 1636 ve 1618 cm^{-1} 'de gözlenen titreşimler C=O ve C=C'ye, 1386 cm^{-1} 'de ve 1153-1076-1026 cm^{-1} 'deki titreşimlerde C-O ve C-O-C'ye aittir (Şekil 17).



Şekil 17. Ekstrakt ve AgNP'lerin FT-IR spektrumu analizi.

4.1.6. UV-Vis Spektroskopi Analizinin Değerlendirilmesi

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş AgNP'ler 200-800 nm dalga boyu aralığında ölçüldü. UV-Vis spektrofotometre analizinde 450 nm'de maksimum absorptans piki elde edildi (Şekil 18). Sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektroskopisi analizlerinin literatür ile uyumlu olduğu gözlemlendi (Gan ve Li, 2012).



Şekil 18. AgNP UV-Vis spektrum analizi.

AgNP'lerin oluşturulması aşamasında, ekstrakta AgNO_3 ilavesi sonrasında çözeltinin orijinal sarı renkten bordo-kahverengine değişimi, bir redoks reaksiyonunun varlığını doğrulamaktadır (Şekil 13). Ekstraktaki fonksiyonel grupların Ag^+ iyonları tarafından yükseltgenirken, Ag^+ iyonlarında, Ag^0 'a indirgenmesi redoks reaksiyonu sonucunda gerçekleşir. İndirgeyici ajan, bitkilerin doğal bileşenleri olan flavonoidler, fenolikler, aminler gibi hareket kabiliyetine sahip organik yapılu bileşiklerdir ancak gerçek mekanizma hala tam olarak anlaşılamamıştır. Gümüş nanopartiküllerinin yüzey plazmon rezonansı (SPR) tarafından uyarılmasıyla renk değişikliklerinin gözlemlendiği bilinmektedir. UV-Vis spektrofotometresindeki SPR bandının lokasyonu nanopartiküllerin büyüklüğüne, şekline, ortam ile partikül arasındaki yük aktarımının derecesine, ortam ile olan etkileşimine ve lokal kırılma indisine duyarlıdır (Kumar vd., 2014).

4.2. Antimikrobiyal Aktivite

4.2.1. Agar Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

S. bicolor var. *technicum* tohum ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi, gram pozitif, gram negatif bakterilere ve mayaya karşı araştırıldı. Ekstrakt ve AgNP'ler steril disklere emdirilerek meydana gelen inhibisyon zon çapları ölçüldü (mm) ve değerler Tablo 1'de verildi. Disk difüzyon yönteminde bakteriler için pozitif kontrol olarak penisilin, maya için ise nistatin kullanıldı.

Elde edilen sonuçlarda ekstrakt için en yüksek zon çapı gram pozitif bakteri olan *B. subtilis* (ATCC 6633) bakterisine karşı 11 mm; AgNP için ise gram negatif *E. coli* (NRL B-3704)'e karşı 12 mm bulundu (Tablo 1). AgNP'lerin bakteri hücre zarlarını delebildiği bilinmektedir; gram pozitif bakterilere kıyasla gram negatif bakteriler daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdikleri daha öncelerde rapor edilmiştir (Tippayawat vd., 2016).

Nanopartiküllerin yüzey alanı arttıkça, yüzey enerjisi de artar bu dolayısıyla etkinliklerinin daha da arttığı bildirilmiştir (Srikar vd., 2016). Bu sebeple düşük konsantrasyonlarda bile, daha büyük bir yüzey alanı-hacim oranına sahip olan nanopartiküller önemli antibakteriyel aktivite sergiler.

Gümüş nanopartiküllerin güçlü antibakteriyel aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir. Bir metal olan gümüş, eski zamanlarda farklı uygarlıklarda yaygın bir şekilde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmıştır (Okafor vd., 2013). Gümüş, geniş spektrumlu bir antimikrobiyal olarak gram negatif ile pozitif bakteriler, mayalar ve virüsler gibi birçok mikrobiyal organizmaya karşı etkinlik gösterir.

Tablo 1.

Ekstrakt ve AgNP'nin inhibisyon zon çapları (mm)

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	AgNP	Penisilin	Nistatin
<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	9	10	16	-
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	11	8	15	-
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	8	10	13	-
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	10	10	14	-
<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	8	12	12	-
<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	9	11	8	-
<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	9	10	16	-
<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	9	9	-	14

Gopinath vd. (2012), *Tribulus terrestris* bitkisi ile yeşil sentez yöntemi kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin özellikle gram negatif olan *E. coli* bakterisine karşı, 10,75 mm'lik bir maksimum inhibisyon zonu gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Gram pozitif bakterilerde böyle bir inhibisyon zonu elde edememelerinin sebebinin, hücre duvarının sert yapısını oluşturan kalın bir peptidoglikan tabakası olması olabileceğini belirtmişlerdir. Muhtemelen gram pozitif bakterilerin hücre duvarının, hücre duvarı daha ince bir peptidoglikan tabakası oluşturan gram negatif bakterilerin aksine, sert bir yapı oluşturan kalın bir peptidoglikan tabakasından oluşması nedeniyle AgNP'lerin zor nüfuz etmesine neden olur. Yüksek bakterisit aktivite, kesinlikle Ag⁺ (bakterisidal ajan) iyonlarının rezervuarı olarak hareket eden gümüş nanopartiküllerden salınan gümüş katyonlara atfedilir. Nanopartiküllerden gelen bu iyonların, negatif yüklü bakteri hücre duvarına bağlanıp onu parçalara ayırarak hücre ölümüne ve protein denatürasyonuna yol açtığı tahmin edilmektedir.

4.2.2. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Ekstrakt ve AgNP'lerin antimikrobiyal etkisi broth mikrodilüsyon yöntemi ile gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile *C. albicans* mayasına karşı broth mikrodilüsyon

yöntemi ile araştırıldı. Mikrodilüsyon yönteminde sırasıyla bakteri ve mayalar için pozitif kontrol olarak streptomisin ve nistatin kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, ekstrakt için en yüksek MİK değerinin *B. subtilis*'e (0,62 µg/mL); AgNP için ise *E. coli* bakterisine (0,31 µg/mL) ait olduğunu göstermektedir (Tablo 2).

Tablo 2.

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

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	AgNP	Streptomisin	Nistatin
<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	1,25	2,50	5,00	-
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	0,62	2,50	5,00	-
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	2,50	2,50	5,00	-
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	2,50	1,25	1,25	-
<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	2,50	0,31	5,00	-
<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	1,25	2,50	2,50	-
<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	2,50	2,50	5,00	-
<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	2,50	1,25	-	2,50

Tippawat vd. (2016) yaptıkları araştırmada *Aloe vera* ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin patojenik gram pozitif *Salmonella epidermis* ve gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı bakterisidal etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında, çok daha düşük konsantrasyonlarda gram negatif bakteriye karşı yüksek aktivite gösterirken yüksek konsantrasyonlarda gram pozitif bakteriye karşı etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bunun nedeninin yaygın olarak porinler olarak bilinen mevcut beta varil proteinlerinin yanı sıra, gram negatif bakterilerdeki daha ince peptidoglikan tabakası olduğu düşünülmektedir (Jain vd., 2021).

Gümüş nanopartiküller, bakterilerle temasında geniş bir yüzey alanı oluşturmaktadır. Nanopartiküller, hücre zarına bağlanmasıyla mikroorganizmalara nüfus etmektedir (Feng vd., 2000). Sülfür grupları barındıran bakterilerde, gümüş nanopartiküller fosfor içeren bileşikler (DNA) ile etkileşerek fonksiyonunu inhibe edebilme özelliğine sahiptir (Matsumura vd., 2003). Ayrıca gümüş nanopartiküller bakteri mitokondrisinde solunum

mekanizmasında hasar oluşturarak hücre ölümüne sebep olabilir (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004); düşük pH'a sahip bir ortamda, bakteriyel ortamda Ag^+ 'nın devamlı serbest bırakılması ile de serbest radikallerin oluşumuna neden olabilir. Bu da oksidatif strese bağlı bakteri ölümünü arttırabilir (Morones vd., 2005).

4.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirilmesi

Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin antibiyofilm aktiviteleri gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile *C. albicans* mayasına karşı araştırıldı. Ekstrakt ve AgNP'nin biyofilm giderim yüzdesi bulguları Tablo 3'te verildi. En yüksek biyofilm yüzdesi ekstraktta %64,12±0,80 oranla *B. subtilis*'e karşı AgNP için ise %53,87±0,15 oranla *C. albicans* mayasına ve %53,34±0,32 oranla *P. aeruginosa* bakterisine karşı elde edildi. En düşük biyofilm yüzdesi ise, ekstraktta %27,12±0,15 oranla *C. albicans*'a karşı AgNP'de ise %32,18±0,54 oranla *S. haemolyticus*'a karşı bulundu.

Tablo 3.

Ekstrakt ve AgNP'nin antibiyofilm aktivitesi (%)

Mikroorganizmalar	Ekstrakt ($\mu\text{g/mL}$)	AgNP ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. haemolyticus</i> (ATCC 43252)	42,12±0,10	32,18±0,54
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538P)	36,12±0,10	38,72±0,15
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	64,12±0,80	45,45±0,61
<i>A. baumannii</i> (ATCC 19606)	46,43±0,20	44,12±0,26
<i>E. coli</i> (NRRL B-3704)	42,75 ±0,22	48,12±0,42
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	30,78±1,20	53,34±0,32
<i>P. vulgaris</i> (ATCC 13315)	38,12±1,12	41,03±0,16
<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	27,12±0,15	53,87±0,15

Bakteriyel biyofilmlerin aracılık ettiği kronik enfeksiyonlar genellikle geleneksel antibiyotik tedavilerine oldukça dirençlidir. Bu kısmen, bakteri hücrelerini ekzopolisakaritler, DNA, dış zar vezikülleri ve diğer hücre kaynaklı içeriği içeren bir matris içinde saran ve koruyan biyofilmden kaynaklanmaktadır (Schooling ve Beveridge, 2006;

Flemming ve Wingender, 2010; Toyofuku vd., 2012). AgNP'lerin gerek gram negatif gerekse gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğu bilinmektedir (Markowska vd., 2013). Antibakteriyel etki sentez yöntemine, partikül boyutuna, gümüş salınımına ve bakteri suşlarının tipine bağlı olduğundan farklı çalışmalar rapor edilmiştir (Xiu vd., 2012; Logaranjan vd., 2016; Regiel-Futyra vd., 2017). AgNP'ler sadece mikroorganizmaları öldürmekle kalmaz, aynı zamanda biyofilmlerin parçalanmasında da önemli bir rol oynar (Chapman, 2010).

Biyolojik yollarla sentezlendiğinde gümüş nanopartiküllerinin *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi birincil biyofilm oluşumuna sahip mikroorganizmalara karşı güçlü antibiyofilm aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Ramalingam vd., 2014). Shafreen vd. (2017), gümüş nanopartiküller için *Escherichia coli* tarafından oluşturulan bir biyofilme karşı 300 ng/mL'lik bir inhibitör konsantrasyon bildirmişlerdir.

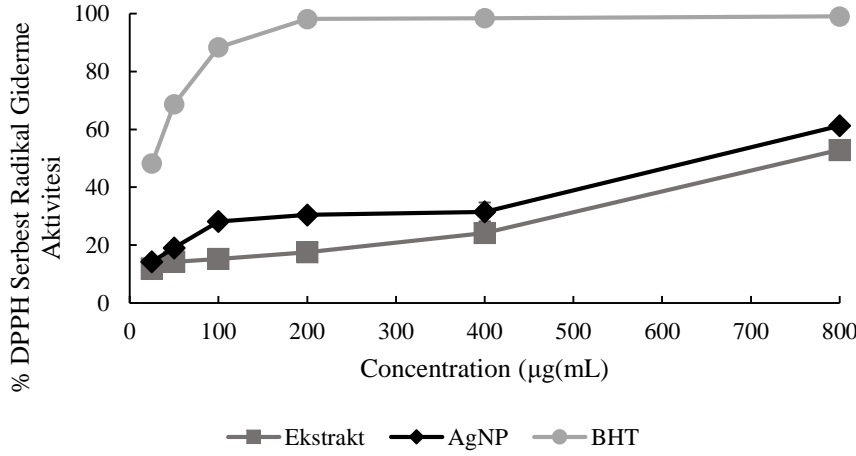
4.4. Antioksidan Aktivite

4.4.1. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Ekstrakt ve AgNP'lerin antioksidan aktivitesi DPPH serbest radikal giderme yöntemi ile araştırıldı. DPPH analizinin temelinde, DPPH bir hidrojen atomunun transferi yatmaktadır. Bununla birlikte mor renkli DPPH radikali nötralleşerek indirgenir, absorbansı düşer ve sarı renge dönüşür (Ricci vd., 2019). Bu renk dönüşümünün absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de izlenebilmektedir. Bu esasa dayanarak hesaplanan inhibisyon yüzdesinde konsantrasyona bağlı artış beklenmektedir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde AgNP'nin ekstrakta oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Hem ekstrakt hem de AgNP'de konsantrasyona bağlı artış gözlemlendi (Şekil 19). En yüksek konsantrasyon olan 800 µg/mL'de

hesaplanan inhibisyon değeri ekstrakt ve AgNP için sırasıyla %52,89±0,84 ve %61,28±3,26 olarak bulundu (Tablo 4).



Şekil 19. Ekstrakt ve AgNP % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi grafiği.

Bitkiler etkileyici antioksidan yeteneklere sahiptir. Bitkilerin antioksidan yeteneğini arttırmamanın bir alternatifi, onları metalik tuzlarla birleştirmektir. Bitki yaprakları çinko, demir, gümüş, altın, bakır ve titanyum ile bağlandığında antioksidan işlevlerinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir (Taghavi Fardood ve Ramazani, 2016). Çeşitli çalışmalar, şifalı bitkiler tarafından yeşil sentezlenen gümüş nanoparçacıkların antioksidan özelliklerinin tüm metalik nanoparçacıklar arasında en fazla olduğunu göstermiştir (Wang vd., 2021).

DPPH, gümüş nanopartiküllerden hidrojen veya elektronlar alarak indirgenir ve bu mekanizma spektrofotometrede gözlemlenebilir. Bitki ekstraktlarında bulunan bileşiklerin serbest radikal süpürme kapasitesinin ölçümünde sıklıkla kullanılan yöntemin aynısı gümüş nanopartiküller için de geçerlidir (Upadhyay vd., 2014). Gümüş, platin, selenyum ve altın nanopartikülleri tarafından geliştirilmiş DPPH süpürme aktivitesine ilişkin benzer eğilimler, önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Watanabe vd., 2009).

Tablo 4.

Ekstrakt ve AgNP'nin % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

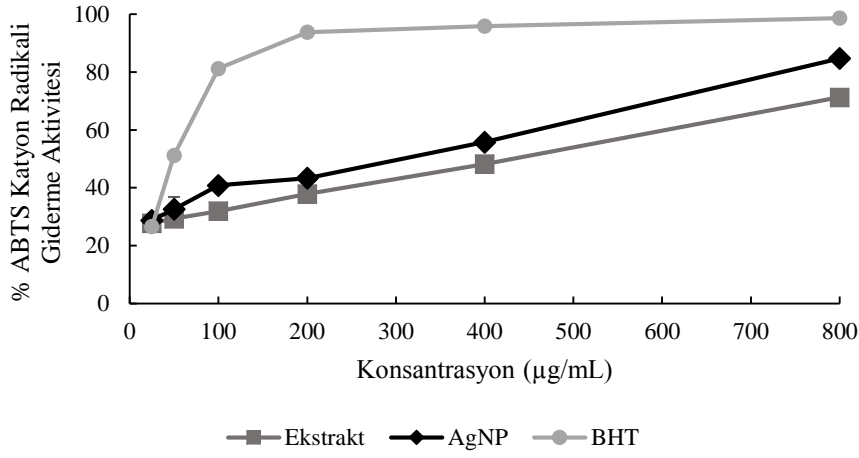
Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrakt	AgNP	BHT
25	12,00 \pm 1,20	14,22 \pm 0,51	48,22 \pm 0,94
50	14,22 \pm 0,51	19,06 \pm 0,10	68,69 \pm 1,30
100	15,22 \pm 1,39	28,17 \pm 0,76	88,38 \pm 1,51
200	17,56 \pm 1,71	30,44 \pm 0,54	98,15 \pm 2,47
400	24,22 \pm 0,19	31,50 \pm 0,17	98,38 \pm 1,30
800	52,89 \pm 0,84	61,28 \pm 3,26	99,02 \pm 0,94

Wang vd. (2021), *Zingiber officinale* yaprak su ekstraktlarının ve yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda *Z. officinale* ekstraktı, BHT ve gümüş nanopartiküllerin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 275, 203 ve 172 $\mu\text{g/mL}$ olduğunu gözlemlemişlerdir. Hem *Z. officinale* ekstraktının hem de gümüş nanopartiküllerin DPPH ile bağlantısında elektronların ve hidrojen iyonlarının 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikaline dönüştürülmesinden ve kontrollü bir DPPH kompleksi oluşturulmasından kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir.

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

Kararlı bir serbest radikal olan ABTS^{•+} çeşitli bileşiklerin antioksidan kapasitesini belirlemede kullanılır. Absorbansın düşmesiyle beraber inhibisyon oranlarında örneklerin konsantrasyona bağlı olarak artış göstermesi beklenmektedir.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında AgNP'lerin ekstrakta oranla önemli derecede ABTS^{•+} katyon radikali indirgeme aktivitesine sahip olduğu gözlemlendi. Ekstrakt ve AgNP'nin konsantrasyona bağlı bir artış gösterdiği izlendi (Şekil 20). En yüksek konsantrasyon olan 800 $\mu\text{g/mL}$ 'de ekstrakt ve AgNP'nin inhibisyon oranları sırasıyla %71,30 \pm 0,60 ve %84,72 \pm 0,65 olarak hesaplandı (Tablo 5).



Şekil 20. Ekstrakt ve AgNP % ABTS•+ katyon radikali giderme aktivitesi grafiği.

Tablo 5.

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

Konsantrasyon (µg/mL)	Ekstrakt	AgNP	BHT
25	27,79±0,29	28,80±0,14	26,64±1,65
50	29,37±0,14	32,62±4,23	51,24±1,09
100	31,95±0,14	40,83±0,66	81,21±1,65
200	37,87±0,22	43,36±0,54	93,80±4,23
400	48,19±1,65	55,78±1,09	95,87±3,98
800	71,30±0,60	84,72±0,65	98,68±2,98

Narayanan vd. (2021), *Ctenolepis garcini* ekstraktı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin antioksidan aktivitelerini ABTS•+ katyon giderme yöntemi ile belirlemişlerdir. Ekstrakt, gümüş nanopartikülleri ve kontrol olarak kullanılan askorbik asit için % inhibisyonları sırasıyla 64,15, 71,42 ve 36,15 olarak bildirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda ekstrakta oranla gümüş nanopartiküllerinin daha etkili ABTS•+ giderme aktivitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

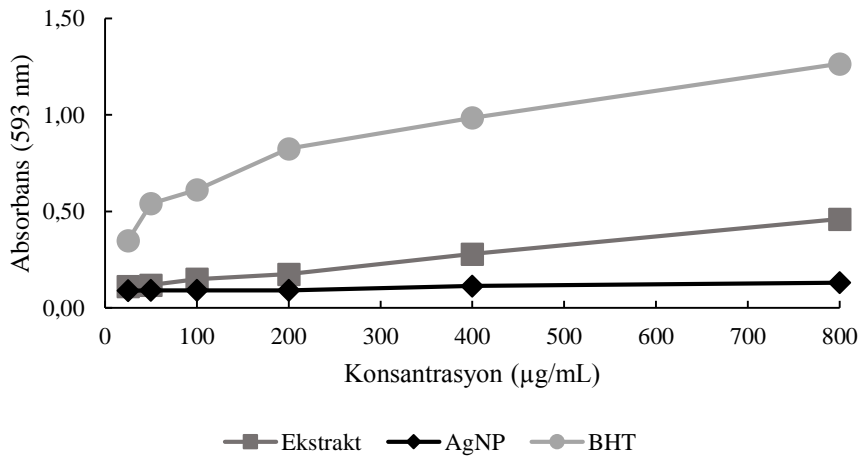
Fafal vd. (2017), çalışmalarında *Asphodelus aestivus* ekstraktı ile gümüş nanopartikülü sentezlemişler ve antioksidan aktivitesini ABTS testi ile belirlemişlerdir.

Ekstrakt ve gümüş nanopartikül için % inhibisyonlarını sırasıyla $39,62 \pm 0,02$ ve $79,94 \pm 0,02$ olarak gözlemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerinin, ekstrakta oranla daha güçlü ABTS^{•+} katyon giderme aktivitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

4.4.3. FRAP Aktivitesinin Değerlendirilmesi

FRAP yöntemi ile örneklerin demir indirgeme kabiliyetlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yöntem, Fe³⁺-TPTZ demir kompleksini Fe²⁺-TPTZ kompleksine indirgeme esasına dayanmaktadır (Długosz vd., 2020). Gümüşün, Ag⁺ biyoredüksiyonunda etkisi olan özütte bulunan fitokimyasal maddeler FRAP testi ile ortaya çıkarılabilir (Bedlovičová vd., 2020).

Ekstrakt ve yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş AgNP'lerinin FRAP yöntemi ile demir indirgeme aktivitesi araştırıldığında en yüksek konsantrasyon olan 800 µg/mL'de elde edilen absorbans değerleri ekstrakt için $0,46 \pm 0,01$ ve AgNP için $0,13 \pm 0,01$ olarak bulunmuştur (Tablo 6). Ekstrakt için konsantrasyona bağlı olarak absorbansta artış gözlenirse de nanopartikül için bu söz konusu değildir (Şekil 21).



Şekil 21. Ekstrakt ve AgNP FRAP aktivitesi grafiği.

Abdellatif vd. (2022), *Allium cepa* su ekstraktı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesine FRAP testi ile bakmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar ekstrakt ve gümüş nanopartikülü için sırasıyla $14,78 \pm 0,20$ ve $13,37 \pm 0,17$ mg Troloks eşdeğer kapasitesi değerindedir. Sentezledikleri nanopartiküllerin, ekstrakta oranla daha düşük FRAP aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tablo 6.

Ekstrakt ve AgNP'nin FRAP aktivitesi

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrakt	AgNP	BHT
25	$0,11 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,03$
50	$0,12 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,54 \pm 0,09$
100	$0,15 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,61 \pm 0,02$
200	$0,17 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,83 \pm 0,09$
400	$0,28 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,12$
800	$0,46 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	$1,27 \pm 0,13$

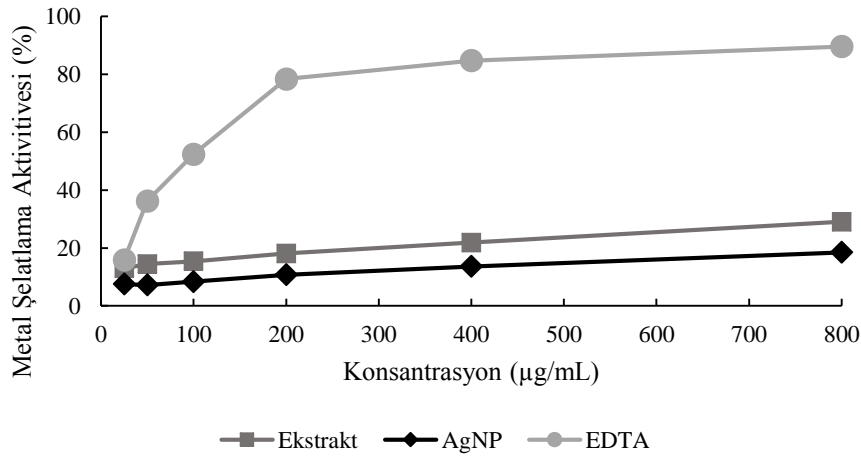
Essghaier vd. (2022), *Pistacia lentiscus* ve *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris* bitkilerini karıştırarak gümüş nanopartikülleri sentezlemişler ve antioksidan aktivitesini FRAP yöntemi ile araştırmışlardır. Ekstrakt ve gümüş nanopartiküllerini kıyasladıklarında, gümüş nanopartikülün FRAP aktivitesini önemli miktarda düşürdüğü sonucuna varmışlardır. Bunun sebebinin ise nanomateryallerdeki antioksidan aktivitenin stabilitesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

FRAP yöntemi ile elde ettiğimiz sonuçların literatür bilgisi ile uyumlu olduğu görüldü. Ekstraktın önemli FRAP aktivitesine sahip olmamasının yanı sıra AgNP'lerin antioksidan aktiviteyi bastırabildiği söylenebilir.

4.4.4. Metal Şelatlama Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Şelasyon mekanizması, metallerin organizmada yol açtığı toksik etkilerden korunmasının bir yoludur. Şelatlama sırasında kovalent bağ oluşturan metallerin stabil hale gelmesi ile zararları önemli miktarda azalır (Sobral-Souza vd., 2014). Organizmada metal birikmesinden kaynaklı problemler bu metallerin oksidatif strese sebep olmaları ile alakalıdır. Bitkiler doğal olarak ürettikleri antioksidanlar ve şelatlama maddeleri ile kendilerini metallerle karşı korumaktadırlar (Figueredo vd., 2016).

Çalışmada bitki ekstraktı ve AgNP'lerin antioksidan aktivitesini belirlemek için metal şelatlama yöntemi de kullanıldı. Ekstrakt ve AgNP'lerin metal şelatlama aktivitesi sonuçlarına bakıldığında hem ekstrakt hem de AgNP'de konsantrasyona bağlı artış gözlemlenir de bu artış çok düşük bir miktarda gerçekleşmiştir (Şekil 22). En yüksek konsantrasyon olan 800 µg/mL'de elde edilen % inhibisyon değerleri sırasıyla 29,05±3,77 ve 18,50±5,49 olarak bulundu (Tablo 7).



Şekil 22. Ekstrakt ve AgNP metal şelatlama aktivitesi (%) grafiği.

Kumar vd. (2019), *Holoptelea integrifolia* yaprak ekstraktları kullanarak gümüş nanopartikülleri sentezlemiş ve antioksidan aktivitesine DPPH, metal şelatlama ve nitrik oksit yöntemleri ile bakmışlardır. Metal şelatlama testi için standart olarak kullanılan EDTA

ile gümüş nanopartiküllerini karşılaştırdıklarında, gümüş nanopartiküllerinin düşük metal şelatlama aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tablo 7.

Ekstrakt ve AgNP'nin metal şelatlama aktivitesi

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ekstrakt	AgNP	EDTA
25	12,96 \pm 4,32	7,52 \pm 1,63	15,89 \pm 1,26
50	14,42 \pm 3,39	7,21 \pm 1,13	36,23 \pm 1,13
100	15,36 \pm 7,63	8,36 \pm 1,01	52,36 \pm 3,01
200	18,08 \pm 8,56	10,76 \pm 3,44	78,41 \pm 2,43
400	21,84 \pm 9,63	13,58 \pm 4,17	84,75 \pm 2,27
800	29,05 \pm 3,77	18,50 \pm 5,49	89,61 \pm 1,13

Metal şelatlama yönteminde, ikincil metabolitlerin gümüş metallerini kapatma mekanizması vardır, bu nedenle serbest değildirler, dolayısıyla düşük metal şelatlama özellikleri kabul edilebilir. Farklı biyolojik bileşenler, hücrelerde oksidatif stresin azaltılmasına yardımcı olan çeşitli antioksidan deneylerinde değişik antioksidan aktivitelere sahiptir (Iravani, 2011; Ingham, 2015).

Çalışmada bitki ekstraktının antioksidan özelliklerinin, kapatma mekanizması yoluyla yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen AgNP'ler tarafından hala korunduğunu doğrulamaktadır. AgNP'lerin kolloidal çözeltisi, ortalama ila iyi antioksidan özellikler gösterdi; muhtemelen çeşitli fitokimyasallar da dahil olmak üzere gümüş gibi sağlığa faydalı metallere sahip birincil bir antioksidan görevi gören bir serbest radikal temizleyici olarak hizmet edebilir.

4.5. Mutajenik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin mutajenik aktivitesi Ames/*Salmonella* metodu ile *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına karşı incelendi. Her iki örneğin de farklı konsantrasyonları (5, 25, 50 ve 100 µg/mL) *S. typhimurium* TA 98 ve TA100 suşlarına karşı bakıldığında, ekstraktın 50 µg/mL'den itibaren her iki suş için de mutajenik aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Gümüş nanopartiküllerinin her iki suş için de mutajenik aktiviteye sahip olmadığı belirlendi (Tablo 8). Bu bulgu belirli mutajenik ajanlar üzerinde gelecekteki çalışmalar için dikkate alınması gereken belirli fizikokimyasal özelliklere sahip AgNP'lerin olası antimutajenik etkilerini ortaya koyduğunu düşünmekteyiz.

Tablo 8.

Ekstrakt ve AgNP'nin Ames/*Salmonella* testi ile mutajenik aktivitesi

Uygulama	Konsantrasyon (µg/mL)	His ⁺ Geri Dönen Koloni Sayısı/Plaka	
		TA98	TA100
		Ort±SS	Ort±SS
PK	NPD	800,00±17,35	
	SA	1232,67±62,07	
Ekstrakt	5	16,67±01,53	52,00±03,61
	25	71,33±12,34	111,33±31,94
	50	242,67±28,36	307,67±14,22
	100	404,33±17,01	528,33±45,62
AgNP	5	13,67±01,53	59,33±03,51
	25	12,33±01,53	46,00±09,64
	50	19,00±05,00	69,67±14,29
	100	18,33±03,06	66,67±05,13
NK	dH ₂ O	44,00±06,24	109,33±13,32
SK		28,33±02,31	85,33±11,37

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).

Ames testi, DNA mutajeni tarafından indüklenen mutasyon tipinin tanınmasına izin vererek, moleküldeki birincil değişikliklerin doğası hakkında bilgi sağlar (Maron ve Ames,

1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000). TA98 ve TA100'ün genotip özellikleri şöyledir; TA98, yakındaki tekrarlayan bir -C-G-C-G-C-G-C-G dizisinin okuma çerçevesini etkileyen çerçeve kayması mutasyonu indükler (Isono ve Yourno, 1974), TA100 lōsinin (GAG/CTC) bir prolin (GGG/CCC) tarafından ikame edilmesini indükler (Barnes, 1982). Yani esas olarak GC çiftlerinden birinde baz çifti ikame mutasyonlarına neden olan mutajenler tarafından yabancı tip duruma döndürölür.

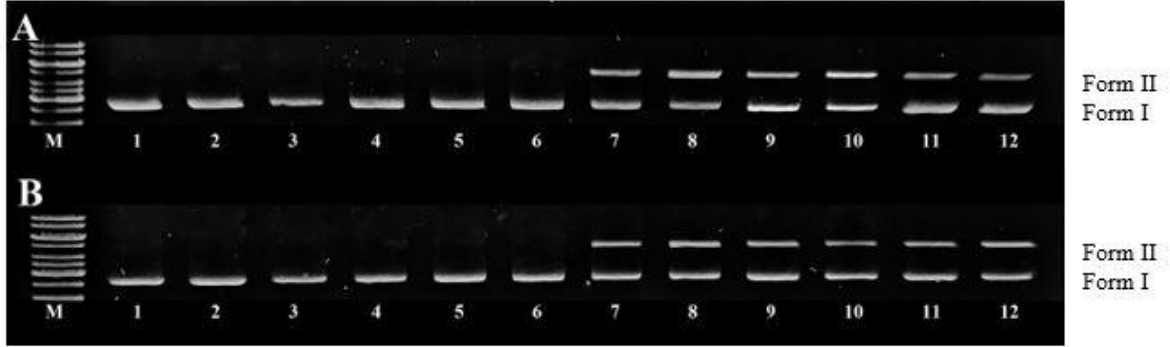
de Cássia Proença-Assunção vd. (2021), curcumin ile sentezlemiş oldukları gümüş nanopartiküllerinin mutajenik aktivitelerini Ames/*Salmonella* testi ile *S. typhimurium* TA97a, TA98, TA100 ve TA102 suşlarına karşı araştırmışlardır. Curcumin ile sentezlemiş oldukları gümüş nanopartiküllerinin denenen tüm suşlara karşı mutajenik aktivite göstermediğini belirlemişlerdir.

Saygi ve Usta (2021), *Rosa canina* tohumları ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin antimutajenik etkisine Ames/*Salmonella* testi ile TA98 ve TA100 suşlarına karşı bakmışlardır. Farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları gümüş nanopartiküllerinin geri dönen koloni sayısının artan konsantrasyona bağılı olarak azaldığını gözlemlemişlerdir. Sentezlemiş oldukları gümüş nanopartiküllerinin her iki suşa karşı olan etkisi ile güçlü antimutajenik ve antikanserojen etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

4.6. DNA Kesme Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Ekstrakt ve AgNP'nin DNA kesme aktiviteleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırıldı. Agaroz jel elektroforezi yöntemi, DNA hasarının tespiti için önemli bir yöntemdir. DNA'nın genom üzerindeki spesifik dizi bölgelerinden kesildiği ve bir kontrol modeliyle karşılaştırıldığı DNA tipleme ile gerçekleştirilir. Bu nedenle DNA kesme aktivitesini belirlemek için uygulanabilir. DNA kesme aktivitesi, pBR322 DNA'nın süper sarmal dairesel yapısının (Form I) halkasal forma (Form II) ve/veya lineer forma (Form III) dönüşümü ile kontrol edilir.

Agaroz jel elektroforez yönteminde DNA molekülleri, yüklerine, boyutlarına ve topolojilerine bağlı olarak jel dokusunda göç eder. DNA kesme aktivitesi, oksitleyici ajan yokluğunda (hidrolitik) ve oksitleyici ajan varlığında (oksidatif) değerlendirildi ve her iki örneğin de oksitleyici ajan olarak kullanılan H₂O₂ varlığında DNA'yı kestiği gözlemlendi (Şekil 23).



Şekil 23. Ekstrakt ve AgNP DNA kesme aktivitesi. A. Ekstrakt, B: AgNP, M: Marker, 1-6. Hidrolitik: 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. 7-12. Oksidatif: 7. DNA + H₂O₂ kontrol, 8. DNA + 50 µg/mL + H₂O₂, 9. DNA + 100 µg/mL + H₂O₂, 10. DNA + 200 µg/mL + H₂O₂, 11. DNA+ 400 µg/mL + H₂O₂, 12. DNA + 800 µg/mL + H₂O₂.

Genomik DNA'nın hasarına oksijen serbest radikalleri neden olabilir. Bu hücre ölümünü veya kontrolsüz hücre çoğalmasını teşvik eden kromatin kırıkları gibi kromozomal anormalliklere yol açabilir. Bu nedenle, NP'ler gibi sentetik materyaller tarafından DNA kesme aktivitesi üzerine yapılan çalışmalar, araştırmacıların büyük ilgi odağı olmuştur.

Son zamanlarda doğrudan veya dolaylı olarak DNA molekülünü hedef alan bileşikler hem kanser hem de antimikrobiyal ajanlarda büyük ilgi görmektedir. Bu nedenle yeni bileşiklerin sentezine olan ilgi her geçen gün artmaktadır.

Parvanak Boroujeni vd. (2018), bakır-gümüş-nikel biyometalik nanopartikülleri sentezlemiş ve nanopartiküllerin DNA ile etkileşimlerine agaroz jel elektroforezi ile

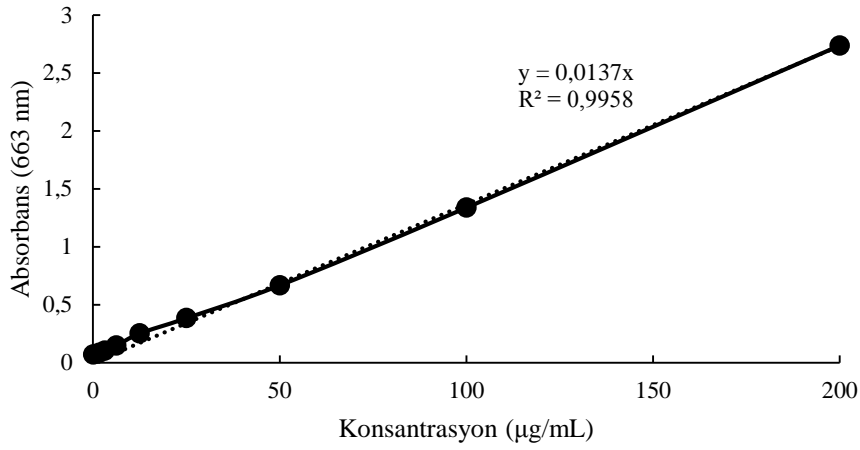
incelemişlerdir. pET-28 plazmid DNA ile yürüttükleri çalışmanın sonucunda, nanopartiküllerin DNA üzerinde bir kesme aktivitesine sebep olmadığını belirtmişlerdir.

Aygün vd. (2020), Reishi mantarı kullanarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikülleri sentezlemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerinin DNA kesme aktivitesini jel elektroforezi yöntemi plazmid pBR322 DNA kullanarak 30 ve 60 dakikalık farklı inkübasyon sürelerinde incelemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerinin DNA'yı 50 ve 100 g/mL konsantrasyonda 60 dakikalık inkübasyon sonucunda Form II yapısının görüldüğünü bildirmişlerdir. Sonuç olarak gümüş nanopartiküllerinin DNA'yı kestiğini görmüşlerdir.

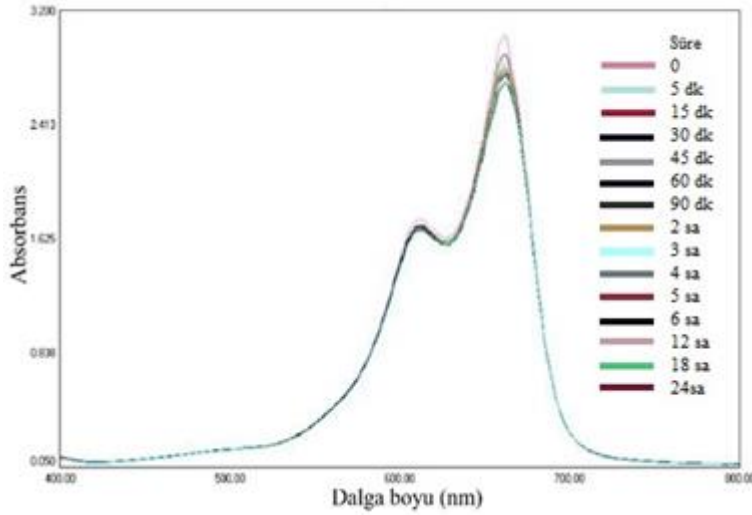
4.7. AgNP'lerin Metilen Mavi Boyası Üzerine Fotokatalitik Etkisinin Değerlendirilmesi

Çalışmada, biyolojik olarak sentezlenmiş AgNP'lerin metilen mavi boyasına karşı fotokatalitik aktivitesine sahip olup olmadığı araştırıldı. Metilen mavi boyasının 663 nm'de maksimum pik vermesi ile seri dilüsyon yöntemi kullanılarak boyanın kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 24). Metilen mavi boyası, AgNP'lerin eklenmesiyle sahip olduğu parlak mavi rengi zamanla kaybederek açık sarı-yeşil renge dönerek bariz renk değişikliğine uğradığı görüldü ve AgNP'lerin metilen mavi boyasının degrade edişi UV-Vis spektro ile izlendi. AgNP ile birlikte eklenen H₂O₂, metilen mavi boyasıyla ortama bırakıldığında boyada renk değişikliği veya absorbansta düşme gözlenmedi (Şekil 25) ancak ortamda AgNP'lerin varlığında metilen mavi boyasının absorbanсында zamana bağlı olarak düşüş görüldü (Şekil 26).

Elde edilen absorban değerlerinin metilen mavisi kalibrasyon eğrisi grafiği kullanılarak degradasyon yüzdeleri hesaplandı. Buna dayalı olarak metilen mavi boyasının degradasyonunun AgNP'ler tarafında maksimum yüzdesinin 24. saatte %83,78 olduğu bulundu (Tablo 9).

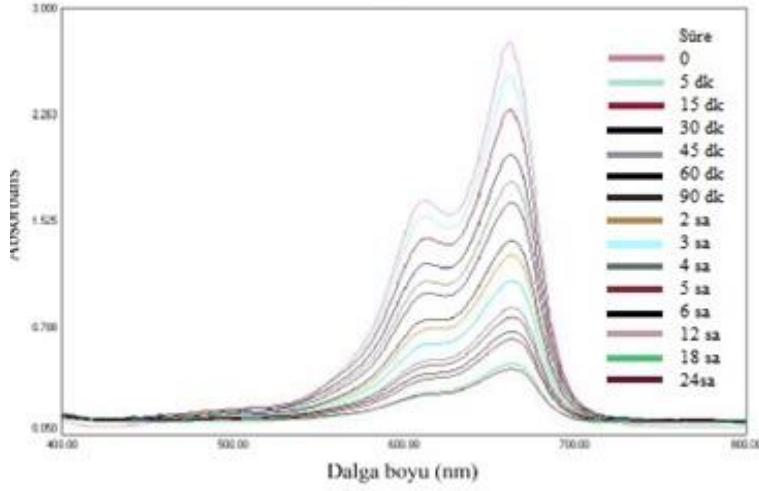


Şekil 24. Metilen mavisi kalibrasyon eğrisi grafiği.



Şekil 25. H₂O₂ metilen mavisi degradasyonu UV-Vis spektrumu.

Sentetik boya kullanımına günümüzde kağıt, tekstil, kozmetik, yapıştırıcılar, mürekkep, ilaç, gıda vb. alanlarda yaygın olarak rastlanmaktadır (Indana vd., 2016). Metilen mavi boyası, tekstil endüstrilerinin sınırlarından yoğun olarak salınır ve heterosiklik azo türevi olan bu boya su kütlelerinin yüzeyindeki oksijeni tüketerek su ortamlarını ve faunayı etkiler.



Şekil 26. AgNP metilen mavisi degradasyonu UV-Vis spektrumu.

Ekotoksik olmasının yanı sıra sentetik boyaların toksisitesinin insanlar üzerinde de tehlikeli olduğu bilinmektedir (Indana vd., 2016). Bu sebeple, bu zararlı etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla metilen mavi boyasının degradasyonu son derece önemlidir. Uygun boyut ve şekildeki AgNP'ler, boya degradasyonunda son derece iyi katalizörler olarak etki etmelerini sağlayan yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip olduğu bilinmektedir (Bonnia vd., 2016; Saha vd., 2017).

Joshi vd. (2018), *Punica granatum* su ekstraktı ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin fotokatalitik etkisini metilen mavi boyası ile analiz etmişlerdir. Nanopartiküllerin metilen mavisi boyasını 72 saatte %60'a kadar degrade ettiğini belirlemişlerdir

Tablo 9.

AgNP ve H₂O₂ metilen mavisi degradasyonu (%)

Süre	AgNP	H ₂ O ₂
0	0,00	0,00
5 dk	8,63	4,90
15 dk	17,74	5,57
30 dk	28,95	7,31
45 dk	35,99	8,35
60 dk	41,00	9,05
90 dk	50,81	9,05
2 sa	54,65	9,39
3 sa	61,10	9,76
4 sa	68,07	11,50
5 sa	70,47	12,78
6 sa	74,08	13,01
12 sa	76,15	15,02
18 sa	82,34	15,16
24 sa	83,78	15,69

Kadam vd. (2020), karnabahar atıkları ile yeşil sentez yöntemi ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerinin fotokatalitik aktivitesini metilen mavi boyasının indirgenmesiyle araştırmışlardır. Metilen mavisinin maksimum absorbans pikini 664 nm’de elde etmişler, güneş ışığına maruz bırakılan metilen mavi boyasında renk değişimi gözlemlememişlerdir. Gümüş nanopartiküllerinin ortama eklenmesiyle güneş ışığı altında metilen mavisinin koyu mavi renginin açık yeşile döndüğünü gözlemlemişlerdir. Maksimum indirgemeyi, %97,57 ile 150. dakikada elde etmişlerdir.

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, yeşil sentez yöntemiyle AgNP'lerin biyolojik sentezinin, nanopartiküllerin sürdürülebilir sentezi ve farklı biyoteknoloji alanlarında uygulanabilirliği için yararlı olabileceğini göstermektedir. Sorgum tohumlarının içeriğinde bulunduğu bilinen bileşiklerden bazıları prosiyanidinler, flavonoidler, polifenoller ve tanenlerdir (Zhang vd., 2019). İçeriğinde tanenlerin bulunması güçlü antioksidan ve radikal süpürme aktivitesine sebep olabilmektedir (Queiroz vd., 2018). Ancak çalışmada kullanılan Sorgum'un alt türü olan *S. bicolor* var. *technicum* (Körn.) Stapf ex Holland hakkında literatürde biyolojik aktiviteleri ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında *S. bicolor* var. *technicum* tohum ekstraktı AgNP'lerin sentezlenmesinde kullanıldı. Daha sonra hem ekstrakt ve hemde AgNP'ler karakterize edilerek biyolojik aktiviteleri araştırıldı.

AgNP'lerin karakterizasyonunda SEM, TEM, EDS, FT-IR ve UV-Vis Spektroskopisi analizleri kullanıldı. SEM görüntülerinde AgNP'lerin şekli küresel bulundu. TEM analizi, AgNP'lerin ortalama büyüklüklerinin 51 ila 56 nm aralığında olduğunu doğruladı. EDS analizinde AgNP'lerin literatüre uyumlu olarak 3 keV'de gümüş iyonu piki vererek sentezin başarılı olduğu görüldü. UV-Vis spektroskopisi analizleri, AgNP'lerin kahverengi-bordo renginin 450 nm'de maksimum absorbansa ulaştığını gösterdi. AgNP'lerin 400 ile 500 nm aralığında maksimum absorbans pikine ulaşması çalışmada sentezlenen AgNP'lerin literatür ile uyumlu olduğunu gösterdi.

Ekstrakt ve AgNP'lerin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik, DNA kesme ve fotokatalitik aktivite analizleri biyolojik aktivitelerini belirlemek amacı ile araştırıldı. Antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile incelendi. Çalışmalarımız, AgNP'lerin mikroorganizmalar üzerinde farklı antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini ortaya koydu. Ekstraktın en yüksek zon inhibisyon çapı ve MİK değeri gram pozitif bakterilere karşı alınırken AgNP'lerin en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gram negatif bakterilere karşı gösterdi. Bunun sebebi olarak AgNP'lerin hücre zarlarına hasar verebildiği ve gram negatif bakterilere karşı daha yüksek aktivite gösterdiği

düşünülmektedir. Antibiyofilm sonuçları ekstrakt için en yüksek biyofilm yüzdesinin *B. subtilis*'e karşı, AgNP için ise *C. albicans* mayasına ve *P. aeruginosa* bakterisine karşı gösterdiği görüldü. Antioksidan analizleri için DPPH, ABTS⁺⁺, FRAP ve metal şelatlama aktivitesinin belirlenmesi yöntemleri kullanıldı. Ekstrakt ve AgNP, DPPH ve ABTS yöntemlerinde güçlü radikal giderme aktivitesi gösterirken; FRAP ve metal şelatlama yöntemlerinde daha düşük seviyede demir iyonu indirgediği ve metal şelatlama aktivitesi gösterdiği belirlendi.

Ekstrakt ve AgNP'lerin mutajenik aktivitesi Ames/*Salmonella* testi ile araştırıldı. *S. typhimurium* bakterisine ait iki suş (TA98 ve TA100) kullanıldı. Ekstrakt her iki suş için de artan konsantrasyona bağlı mutajenik aktivite gösterirken, AgNP'lerde mutajenik aktivite görülmedi. DNA kesme aktivitesi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile araştırıldı. Her iki örneğin de oksitleyici ajan varlığında DNA'yı kestiği gözlemlendi. AgNP'lerin fotokatalitik aktivitesi metilen mavi boyasına karşı indirgeme gücüne bağlı araştırıldı. AgNP'lerin 24 saat sonunda metilen mavi boyasını % 83,78 oranda indirgediği görüldü.

Nanopartiküllerin biyolojik sentezinin çevre dostu olması ve toksik kimyasallar içermemesi gibi önemli avantajlara sahip olması, yeşil sentezin önemini arttırmaktadır. Gümüş nanopartikülleri bu yollarla sentezlendiklerinde çeşitli uygulamalarda kullanılabilir olması nedeniyle tercih edilmektedir. Çalışmada tohum ekstraktı ile AgNP'leri sentezlendiklerinde genel olarak biyolojik aktivitelerinin önemli derecede arttığını görmekteyiz. Gelecekte bu konuda yapılacak *in vivo* ve *in vitro* testlerle birlikte, nanomateryal olarak sağlık sektöründe kullanımının mümkün olabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdellatif, A. A., Mahmood, A., Alsharidah, M., Mohammed, H. A., Alenize, S. K., Bouazzaoui, A., Al Rugaie, O., Alnuqaydan, A. M., Ahmad, R., Vaali-Mohammad, M. A., Alfayez, M., Traiki, T. B., Al-Regaiey, K. A., Ali, A. T., Hassan, Y. A. H. and Abdulla, M. H. (2022). "Bioactivities of the green synthesized silver nanoparticles reduced using *Allium cepa* L aqueous extracts induced apoptosis in colorectal cancer cell lines". *Journal of Nanomaterials*, 2022.
- Ai, J., Biazar, E., Jafarpour, M., Montazeri, M., Majdi, A., Aminifard, S., Zafari, M., Akbari, H. R. and Rad, H. G. (2011). "Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs". *International Journal of Nanomedicine*, 6, 1117–1127.
- Ajiboye, T. O., Yakubu, M. T. and Oladiji, A. T. (2014). "Electrophilic and reactive oxygen species detoxification potentials of chalcone dimers is mediated by redox transcription factor Nrf-2". *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 28(1), 11-22.
- Althwab, S., Carr, T. P., Weller, C. L., Dweikat, I. M. and Schlegel, V. (2015). "Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system". *Food Research International*, 77, 349-359.
- Ames, B. N. (1971). "The detection of chemical mutagens with enteric bacteria". In *Chemical Mutagens* (pp. 267-282). Springer, Boston, MA.
- Anastas, P. and Eghbali, N. (2010). "Green chemistry: principles and practice". *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301-312.
- Ayas, O. (2015). Nanobilim ve nanoteknoloji yöntemleri ile tekstil yüzeylerine kazandırılan çoklu fonksiyonel özelliklerinin, karakterizasyon yöntemlerinin ve 164 kullanım alanlarının araştırılması üzerine bir çalışma. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Aygün, A., Özdemir, S., Gülcan, M., Cellat, K. and Şen, F. (2020). "Synthesis and characterization of Reishi mushroom-mediated green synthesis of silver nanoparticles for the biochemical applications". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 178, 112970.

- Azizi, S., Mohamad, R., Rahim, R. A., Mohammadinejad, R. and Ariff, A. B. (2017). "Hydrogel beads bio-nanocomposite based on Kappa-Carrageenan and green synthesized silver nanoparticles for biomedical applications". *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 423-431.
- Balkan, A. (2008). "Trakya Bölgesi'nde Yetiştirilen Süpürge Darısı *Sorghum bicolor* L. Moench var. *technicum* Körn. Genotiplerinin Bazı Agronomik Özellikler Yönünden Değerlendirilmesi". *Journal of Agricultural Sciences*, 14(02), 163-168.
- Barnes, W. (1982). "Base-sequence analysis of His⁺ revertants of the hisG46 missense mutation in *Salmonella typhimurium*". *Environmental Mutagenesis*, 4, 297.
- Bast, A., Haenen, G. R. and Doelman, C. J. (1991). "Oxidants and antioxidants: state of the art". *The American Journal of Medicine*, 91(3), S2-S13.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M. and Salayová, A. (2020). "A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles". *Molecules*, 25(14), 3191.
- Benzie, I. F. and Strain, J. J. (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay". *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bhagat, M., Anand, R., Datt, R., Gupta, V. and Arya, S. (2019). "Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Rosa brunonii* Lindl and their morphological, biological and photocatalytic characterizations". *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 29(3), 1039-1047.
- Blois, M. S. (1958). "Antioxidant determinations by the use of a free free radical". *Nature*, (181), 1199- 1200.
- Bolivar, F., Rodriguez, R. L., Greene, P. J., Betlach, M. C., Heyneker, H. L., Boyer, H. W., Crosa, J. H. and Falkow, S. (1977). "Construction and characterization of new cloning vehicle. II. A multipurpose cloning system". *Gene*, 2(2), 95-113.
- Bonnia, N. N., Kamaruddin, M. S., Nawawi, M. H., Ratim, S., Azlina, H. N. and Ali, E. S. (2016). "Green biosynthesis of silver nanoparticles using '*Polygonum Hydropiper*' and study its catalytic degradation of methylene blue". *Procedia Chemistry*, 19, 594-602.

- Breen, A. P. and Murphy, J. A. (1995). "Reactions of oxyl radicals with DNA". *Free Radical Biology and Medicine*, 18(6), 1033-1077.
- Cabrera-Ramírez, A. H., Luzardo-Ocampo, I., Ramírez-Jiménez, A. K., Morales-Sánchez, E., Campos-Vega, R. and Gaytán-Martínez, M. (2020). "Effect of the nixtamalization process on the protein bioaccessibility of white and red sorghum flours during *in vitro* gastrointestinal digestion". *Food Research International*, 134, 109234.
- Campbell, N. A. and Reece, J. B. (2010). *Biyoloji* (Çev. Gündüz E., Demirsoy A., Türkan İ.). *Ankara: Palme*.
- Chakravarty, A., Ahmad, I., Singh, P., Sheikh, M. U. D., Aalam, G., Sagadevan, S. and Ikram, S. (2022). "Green synthesis of silver nanoparticles using fruits extracts of *Syzygium cumini* and their bioactivity". *Chemical Physics Letters*, 795, 139493.
- Chapman, J., Weir, E. and Regan, F. (2010). "Period four metal nanoparticles on the inhibition of biofouling". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78(2), 208-216.
- Chauhan, R. P., Gupta, C. and Prakash, D. (2012). "Methodological advancements in green nanotechnology and their applications in biological synthesis of herbal nanoparticles". *International Journal of Bioassays*, 1(7), 6-10.
- Cheng, F., Betts, J., Kelly, S. M. and Schaller, J. (2013). "Synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using aminocellulose as a combined reducing and capping reagent". *Green Chemistry*, 15: 989–998.
- Chung, I. M., Kim, E. H., Yeo, M. A., Kim, S. J., Seo, M. C. and Moon, H. I. (2011). "Antidiabetic effects of three Korean sorghum phenolic extracts in normal and streptozotocin-induced diabetic rats". *Food Research International*, 44(1), 127-132.
- 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*.
- Coşkunçay, S. (2017). Gümüş nanopartiküllerin atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*) yaprak özütü ile biyosentezi, biyolojik aktivite ve ilaç salınım özelliklerinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

- Cvjetko, P., Zovko, M., Štefanić, P. P., Biba, R., Tkalec, M., Domijan, A. M., Vrčec, I. V., Letofsky-Papst, I., Šikić, S. and Balen, B. (2018). “Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants”. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6), 5590-5602.
- Daniel, M. C. and Astruc, D. (2004). “Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology”. *Chemical Reviews*, 104(1), 293-346.
- de Cássia Proença-Assunção, J., Constantino, E., Farias-de-França, A. P., Nogueira, F. A. R., Consonni, S. R., Chaud, M. V., dos Santos, C. A. and Oshima-Franco, Y. (2021). “Mutagenicity of silver nanoparticles synthesized with curcumin (Cur-AgNPs)”. *Journal of Saudi Chemical Society*, 25(9), 101321.
- Decker, E. A. and Welch, B. (1990). “Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food”. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 38(3), 674-677.
- Devatha, C. P. and Thalla, A. K. (2018). “Green synthesis of nanomaterials”. Bhagyaraj SM, Oluwafemi OS, Kalarikkal N, Thomas S (ed.). *Synthesis of Inorganic Nanomaterials*. Sawstom: Woodhead Press.
- Dhand, V., Soumya, L., Bharadwaj, S., Chakra, S., Bhatt, D. and Sreedhar, B. (2016). “Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity”. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 36-43.
- Dinis, T. C., Madeira, V. M. and Almeida, L. M. (1994). “Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers”. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- Divya, K.S., Harshitha, B.S., Dilip Kumar, R. and Jyoti, B. C. (2019). “*In vitro* investigation of antioxidant potentiality of methanol and silver nanoparticles extract from *Trigonella foenum-graecum*”. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 8(3), 2213-2221.
- Długosz, O., Chwastowski, J. and Banach, M. (2020). “*Hawthorn berries* extract for the green synthesis of copper and silver nanoparticles”. *Chemical Papers*, 74(1), 239-252.

- Durán, N., Marcato, P. D., Durán, M., Yadav, A., Gade, A. and Rai, M. (2011). “Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants”. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(5), 1609-1624.
- Essghaier, B., Ben Khedher, G., Hannachi, H., Dridi, R., Zid, M. F. and Chaffei, C. (2022). “Green synthesis of silver nanoparticles using mixed leaves aqueous extract of wild olive and pistachio: Characterization, Antioxidant, Antimicrobial and effect on virulence factors of *Candida*”. *Archives of Microbiology*, 204(4), 1-13.
- Fafal, T., Taştan, P., Tüzün, B. S., Ozyazici, M. and Kivcak, B. (2017). “Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Asphodelus aestivus* Brot. aerial part extract”. *South African Journal of Botany*, 112, 346-353.
- Faraji, M., Yamini, Y. and Rezaee, M. (2010). “Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications”. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 7(1), 1-37.
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N. and Kim, J. O. (2000). “A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*”. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4), 662-668.
- Figueredo, F. G., Lima, L. F., Morais-Braga, M. F. B., Tintino, S. R., Farias, P. A., Matias, E. F., Costa, J. G. M., Menezes, I. R. A., Pereira, R. L. S. and Coutinho, H. D. (2016). “Cytoprotective effect of *Lygodium venustum* Sw.(Lygodiaceae) against mercurium chloride toxicity”. *Scientifica*, 2016.
- Flemming, H. C. and Wingender, J. (2010). “The biofilm matrix”. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633.
- Forster, R. (1986). “Mutagenicity Testing and Biomaterials”. In: Williams, D.F., (Ed.) *Techniques of Biocompatibility Testing* (Vol. 2). CRC Press, Baco Raton, Florida.137-149.
- Gan, P. P. and Li, S. F. Y. (2012). “Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications”. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(2), 169-206.

- Gardea-Torresdey, J. L., Gomez, E., Peralta-Videa, J. R., Parsons, J. G., Troiani, H. and Jose-Yacaman, M. (2003). "Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles". *Langmuir*, 19(4), 1357-1361.
- Genc, N. (2020). "Biosynthesis of silver nanoparticles using *Origanum onites* extract and investigation of their antioxidant activity". *Particulate Science and Technology*, 1-7.
- Gopinath, V., MubarakAli, D., Priyadarshini, S., Priyadharsshini, N. M., Thajuddin, N. and Velusamy, P. (2012). "Biosynthesis of silver nanoparticles from *Tribulus terrestris* and its antimicrobial activity: a novel biological approach". *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, 96, 69-74.
- Gün, İ. ve Ekinçi, F. Y. (2009). "Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam". *Gıda*, 34(3), 165-173.
- Hamsa, I.A., Hind, A.A. and Hayam, S.A. (2019). "Green synthesis of silver nanoparticles using *Cinnamomum zylanicum* and their synergistic effect against multi-drug resistance bacteria". *Journal of Nanotechnology Research*, 1(3), 95-107.
- Hardison, R. C. and Chu, T. M. (2005). "Working with molecular genetics".
- He, W., Zhou, Y. T., Wamer, W. G., Boudreau, M. D. and Yin, J. J. (2012). "Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles". *Biomaterials*, 33(30), 7547-7555.
- Hemlata, P. R. M., Singh, A. P. and Tejavath, K. K. (2020). "Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cucumis prophetarum* aqueous leaf extract and their antibacterial and antiproliferative activity against cancer cell lines". *American Chemical Society*, 5(10), 5520.
- Hodoroaba, V. D. (2020). "Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS)". In *Characterization of Nanoparticles* (pp. 397-417). Elsevier.
- Ijaz, F., Shahid, S., Khan, S. A., Ahmad, W. and Zaman, S. (2017). "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Abutilon indicum* leaf extract: Antimicrobial, antioxidant and photocatalytic dye degradation activities". *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(4), 743-753.
- Indana, M. K., Gangapuram, B. R., Dadigala, R., Bandi, R. and Guttena, V. (2016). "A novel green synthesis and characterization of silver nanoparticles using gum tragacanth and

- evaluation of their potential catalytic reduction activities with methylene blue and Congo red dyes”. *Journal of Analytical Science and Technology*, 7(1), 1-9.
- Ingham, B. (2015). “X-ray scattering characterisation of nanoparticles”. *Crystallography Reviews*, 21(4), 229-303.
- Iravani, S. (2011) “Green synthesis of metal nanoparticles using plants”. *Green Chemistry*, 13(10): 2638–2650.
- Isono, K. and Yourno, J. (1974). “Chemical carcinogens as frameshift mutagens: *Salmonella* DNA sequence sensitive to mutagenesis by polycyclic carcinogens”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(5), 1612-1617.
- Iyabo, O. O., Ibiyinka, O. and Deola, O. A. (2018). “Comparative study of nutritional, functional and antinutritional properties of white *Sorghum bicolor* (sorghum) and *Pennisetum glaucum* (pearl millet)”. *International Journal of Engineering Technologies and Management Research*, 5(3), 151-158.
- Jadhav, M. S., Kulkarni, S., Raikar, P., Barretto, D. A., Vootla, S. K. and Raikar, U. S. (2018). “Green biosynthesis of CuO and Ag–CuO nanoparticles from *Malus domestica* leaf extract and evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA cleavage activities”. *New Journal of Chemistry*, 42(1), 204-213.
- Jain, A. S., Pawar, P. S., Sarkar, A., Junnuthula, V. and Dyawanapelly, S. (2021). “Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications”. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11993.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A. and Danquah, M. K. (2018). “Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations”. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Joshi, S. J., Geetha, S. J., Al-Mamari, S. and Al-Azkawi, A. (2018). “Green synthesis of silver nanoparticles using pomegranate peel extracts and its application in photocatalytic degradation of methylene blue”. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 13(3).
- Kadam, J., Dhawal, P., Barve, S. and Kakodkar, S. (2020). “Green synthesis of silver nanoparticles using cauliflower waste and their multifaceted applications in

- photocatalytic degradation of methylene blue dye and Hg²⁺ biosensing”. *SN Applied Sciences*, 2(4), 1-16.
- 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.
- Khan, F., Shahid, A., Zhu, H., Wang, N., Javed, M. R., Ahmad, N., Xu, J., Alam, M. A. and Mehmood, M. A. (2022). “Prospects of algae-based green synthesis of nanoparticles for environmental applications”. *Chemosphere*, 293, 133571.
- Khan, T., Khan, M. A. and Nadhman, A. (2015). “Synthesis in plants and plant extracts of silver nanoparticles with potent antimicrobial properties: current status and future prospects”. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(23): 9923-9934.
- Kil, H. Y., Seong, E. S., Ghimire, B. K., Chung, I. M., Kwon, S. S., Goh, E. J., Heo, K., Kim, M. J., Lim, J. D., Lee, D. and Yu, C. Y. (2009). “Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract”. *Food Chemistry*, 115(4), 1234-1239.
- Kinnula, V. L. and Crapo, J. D. (2004). “Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors”. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(6), 718-744.
- Koca, F. D. and Duman, F. (2019). “Genotoxic and cytotoxic activity of green synthesized TiO₂ nanoparticles”. *Applied Nanoscience*, 9(5), 815-823.
- Kouvaris, P., Delimitis, A., Zaspalis, V., Papadopoulos, D., Tsipas, S. A. and Michailidis, N. (2012). “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles produced using *Arbutus unedo* leaf extract”. *Materials Letters*, 76, 18-20.
- Kumar, P. V., Pammi, S. V. N., Kollu, P., Satyanarayana, K. V. V. and Shameem, U. (2014). “Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Boerhaavia diffusa* plant extract and their antibacterial activity”. *Industrial Crops and Products*, 52, 562-566.
- Kumar, S. P., Darshit, P., Ankita, P., Palak, D., Ram, P., Pradip, P. and Kaliaperumal, S. (2011). “Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Nicotiana tobaccum* leaf extract and study of their antibacterial effect”. *African Journal of Biotechnology*, 10(41), 8122-8130.

- Kumar, V., Singh, S., Srivastava, B., Bhadouria, R. and Singh, R. (2019). “Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Holoptelea integrifolia* and preliminary investigation of its antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and antibacterial activities”. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103094.
- Lakshmanan, G., Sathiyaseelan, A., Kalaichelvan, P. T. and Murugesan, K. (2018). “Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using fruit extract of *Cleome viscosa* L.: Assessment of their antibacterial and anticancer activity”. *Karbala International Journal of Modern Science*, 4(1), 61–68.
- Lei, C., Zhu, X., Zhu, B., Jiang, C., Le, Y. and Yu, J. (2017). “Superb adsorption capacity of hierarchical calcined Ni/Mg/Al layered double hydroxides for Congo red and Cr (VI) ions”. *Journal of Hazardous Materials*, 321, 801-811.
- Liu, Z. D. and Hider, R. C. (2002). “Design of clinically useful iron (III)-selective chelators”. *Medicinal Research Reviews*, 22(1), 26-64.
- Loewe, L. (2008). “Genetic mutation”. *Nature Education*, 1(1), 113.
- Logaranjan, K., Raiza, A. J., Gopinath, S. C., Chen, Y. and Pandian, K. (2016). “Shape-and size-controlled synthesis of silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract and their antimicrobial activity”. *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 1-9.
- Logothetidis, S. (2012). “Nanotechnology: Principles and applications”. In *Nanostructured Materials and Their Applications* (pp. 1-22)”. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Lopes, D., Nunes, C., Martins, M. C. L., Sarmiento, B. and Reis, S. (2014). “Eradication of *Helicobacter pylori*: past, present and future”. *Journal of Controlled Release*, 189, 169-186.
- Luo, C., Shanmugam, V. and Yeh, C. (2015). “Nanoparticle biosynthesis using unicellular and subcellular supports”, *NPG Asia Mater.*, 7: 1–11.
- Luther, E. M., Koehler, Y., Diendorf, J., Epple, M. and Dringen, R. (2011). “Accumulation of silver nanoparticles by cultured primary brain astrocytes”. *Nanotechnology*, 22(37), 375101.
- Madadi, Z., Soltanieh, M., Bagheri Lotfabad, T. and Sohrabi Nazari, B. (2019). “Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles with *Glycyrrhiza glabra* and their photocatalytic activity”. *Asian Journal of Green Chemistry*, 4(3), 256-268.

- Mahapatra, A. D., Patra, C., Pal, K., Mondal, J., Sinha, C. and Chattopadhyay, D. (2022). “Green synthesis of AgNPs from aqueous extract of *Oxalis corniculata* and its antibiofilm and antimicrobial activity”. *Journal of the Indian Chemical Society*, 100529.
- Markowska, K., Grudniak, A. M. and Wolska, K. I. (2013). “Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms”. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4).
- Maron, D. M. and Ames, B. N. (1983). “Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test”. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(3-4), 173-215.
- 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.
- Matteis, V. D. and Rinaldi, R. (2018). “Toxicity assessment in the nanoparticle era”. *Cellular and Molecular Toxicology of Nanoparticles*, 1-19.
- Merritt, J. H., Kadouri, D. E. and O'Toole, G. A. (2006). “Growing and analyzing static biofilms”. *Current Protocols in Microbiology*, (1), 1B-1.
- 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.
- Nadagouda, M. N., Iyanna, N., Lalley, J., Han, C., Dionysiou, D. D. and Varma, R. S. (2014). “Synthesis of silver and gold nanoparticles using antioxidants from blackberry, blueberry, pomegranate, and turmeric extracts”. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2(7), 1717-1723.
- Narayanan, K. B. and Sakthivel, N. (2010). “Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes”. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156(1-2), 1-13.
- Narayanan, M., Divya, S., Natarajan, D., Senthil-Nathan, S., Kandasamy, S., Chinnathambi, A., Alahmadi T. A. and Pugazhendhi, A. (2021). “Green synthesis of silver

- nanoparticles from aqueous extract of *Ctenolepis garcini* L. and assess their possible biological applications”. *Process Biochemistry*, 107, 91-99.
- Nxele, X., Klein, A. and Ndimba, B. K. (2017). “Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants”. *South African Journal of Botany*, 108, 261-266.
- Okafor, F., Janen, A., Kukhtareva, T., Edwards, V. and Curley, M. (2013). “Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity”. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(10), 5221-5238.
- Okuyama, K. and Lenggoro, I. W. (2003). “Preparation of nanoparticles via spray route”. *Chemical Engineering Science*, 58(3-6), 537-547.
- Padhi, B. S. (2012). “Pollution due to synthetic dyes toxicity and carcinogenicity studies and remediation”. *International Journal of Environmental Sciences*, 3(3), 940-955.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P. and Manavalan, R. (2011). “Nanoparticle: An overview of preparation and characterization”. *Journal of applied pharmaceutical science*, (Issue), 228-234.
- Parvanak Boroujeni, K., Farokhnia, A., Shahrokh, M. and Mobini, M. (2018). “Investigation of catalytic, anti-bacterial, anti-oxidant, and DNA cleavage properties of bimetallic and trimetallic magnetic nanoalloys base on copper”. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 48(11), 521-529.
- Patil, M. P. and Kim, G. D. (2017). “Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles”. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(1), 79-92.
- Pérez, A., Saucedo, O., Iglesias, J., Wencomo, H. B., Reyes, F., Oquendo, G. and Milián, I. (2010). “Characterization and potential of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grain”. *Pastos y Forrajes*, 33(1), 3-25.
- Perkampus, H. H. (2013). “*UV-VIS Spectroscopy and its Applications*”. *Springer Science and Business Media*.
- Ponarulselvam, S., Panneerselvam, C., Murugan, K., Aarthi, N., Kalimuthu, K. and Thangamani, S. (2012). “Synthesis of silver nanoparticles using leaves of

- Catharanthus roseus* Linn. G. Don and their antiplasmodial activities”. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(7), 574-580.
- Potočník, J. (2011). “Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU)”. *Official Journal of the European Union*, 275, 38-40.
- Prakash, M. J. and Kalyanasundharam, S. (2015). “Biosynthesis, characterisation, free radical scavenging activity and anti-bacterial effect of plant-mediated zinc oxide nanoparticles using *Pithecellobium dulce* and *Lagenaria siceraria* Leaf Extract”. *World Scientific News*, 18, 60-77.
- Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. (2005). “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Przybylska-Balcerek, A., Frankowski, J. and Stuper-Szablewska, K. (2019). “Bioactive compounds in sorghum”. *European Food Research and Technology*, 245(5), 1075-1080.
- Queiroz, V. A. V., da Silva Aguiar, A., de Menezes, C. B., de Carvalho, C. W. P., Paiva, C. L., Fonseca, P. C. and da Conceição, R. R. P. (2018). “A low calorie and nutritive sorghum powdered drink mix: Influence of tannin on the sensorial and functional properties”. *Journal of Cereal Science*, 79, 43-49.
- Rakgotho, T., Ndou, N., Mulaudzi, T., Iwuoha, E., Mayedwa, N. and Ajayi, R. F. (2022). “Green-Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles Mitigate Salt Stress in *Sorghum bicolor*”. *Agriculture*, 12(5), 597.
- Ramakrishna, B. S., Varghese, R., Jayakumar, S., Mathan, M. and Balasubramanian, K. A. (1997). “Circulating antioxidants in ulcerative colitis and their relationship to disease severity and activity”. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 12(7), 490-494.
- Ramalingam, V., Rajaram, R., PremKumar, C., Santhanam, P., Dhinesh, P., Vinothkumar, S. and Kaleshkumar, K. (2014). “Biosynthesis of silver nanoparticles from deep sea bacterium *Pseudomonas aeruginosa* JQ989348 for antimicrobial, antibiofilm, and cytotoxic activity”. *Journal of Basic Microbiology*, 54(9), 928-936.

- Rao, S., Santhakumar, A. B., Chinkwo, K. A., Wu, G., Johnson, S. K. and Blanchard, C. L. (2018). "Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains". *Journal of Cereal Science*, 84, 103-111.
- Rastogi, L. and Arunachalam, J. (2011). "Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential". *Materials Chemistry and Physics*, 129(1-2), 558-563.
- 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.
- Regiel-Futyr, A., Kus-Liśkiewicz, M., Sebastian, V., Irusta, S., Arruebo, M., Kyzioł, A. and Stochel, G. (2017). "Development of noncytotoxic silver–chitosan nanocomposites for efficient control of biofilm forming microbes". *The Royal Society of Chemistry*, 7(83), 52398-52413.
- Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R. S. and Rahiman, A. K. (2017). "Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts". *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89, 1067-1077.
- Ricci, A., Parpinello, G. P., Teslić, N., Kilmartin, P. A. and Versari, A. (2019). "Suitability of the Cyclic Voltammetry Measurements and DPPH Spectrophotometric Assay to Determine the Antioxidant Capacity of Food-Grade Oenological Tannins". *Molecules*, 24(16), 1-12.
- Sadeghi, B. and Gholamhoseinpoor, F. (2015). "A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature". *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 134, 310-315.
- Saha, J., Begum, A., Mukherjee, A. and Kumar, S. (2017). "A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye". *Sustainable Environment Research*, 27(5), 245-250.

- Sas, K., Robotka, H., Toldi, J. and Vécsei, L. (2007). "Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders". *Journal of The Neurological Sciences*, 257(1-2), 221-239.
- Sasidharan, S., Raj, S., Sonawane, S., Sonawane, S., Pinjari, D., Pandit, A. B. and Saudagar, P. (2019). "Nanomaterial synthesis: chemical and biological route and applications". *In Nanomaterials Synthesis (pp. 27-51). Elsevier.*
- Saygi, K. O. and Usta, C. (2021). "Rosa canina waste seed extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and the evaluation of its antimutagenic action in *Salmonella typhimurium*". *Materials Chemistry and Physics*, 266, 124537.
- Schooling, S. R. and Beveridge, T. J. (2006). "Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms". *Journal of Bacteriology*, 188(16), 5945-5957.
- Shafreen, R. B., Seema, S., Ahamed, A. P., Thajuddin, N. and Ali Alharbi, S. (2017). "Inhibitory effect of biosynthesized silver nanoparticles from extract of *Nitzschia palea* against curli-mediated biofilm of *Escherichia coli*". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(4), 1351-1361.
- Shah, A., Lutfullah, G., Ahmad, K., Khalil, A. T. and Maaza, M. (2018). "Daphne mucronata-mediated phytosynthesis of silver nanoparticles and their novel biological applications, compatibility and toxicity studies". *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11(3), 318-333.
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S. and Gambhir, I. S. (2008). "Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles". *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115-122.
- Singh, U. and Jialal, I. (2006). "Oxidative stress and atherosclerosis". *Pathophysiology*, 13(3), 129-142.
- Skalickova, S., Baron, M. and Sochor, J. (2017). "Nanoparticles biosynthesized by yeast: a review of their application". *Kvasny Prumysl*, 63(6), 290-292.
- Sobral-Souza, C. E., Leite, N. F., Cunha, F. A., Pinho, A. I., Albuquerque, R. S., Carneiro, J. N., Menezesi I. R. A., Costa, J. G. M., Franco, J. L. and Coutinho, H. D. (2014). "Cytoprotective effect against mercury chloride and bioinsecticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam". *Arabian Journal of Chemistry*, 7(1), 165-170.

- 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.
- Song, Y., Guan, R., Lyu, F., Kang, T., Wu, Y. and Chen, X. (2014). "In vitro cytotoxicity of silver nanoparticles and zinc oxide nanoparticles to human epithelial colorectal adenocarcinoma (Caco-2) cells". *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 769, 113-118.
- Sreedevi, A., Manasa, G. L., Divya, B., Shipa, C. and Sruthi, K. S. (2020). "Eco-friendly Synthesis of Silver Nanoparticles using seeds of *Sorghum bicolor*". *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(12), 5935-5938.
- Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K. and Upadhyay, S. N. (2016). "Green synthesis of silver nanoparticles: a review". *Green and Sustainable Chemistry*, 6(1), 34-56.
- Sriramulu, M. and Sumathi, S. (2017). "Photocatalytic, antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activity of silver nanoparticles synthesised using forest and edible mushroom". *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(4), 045012.
- Stubbe, J. and Kozarich, J. W. (1987). "Mechanisms of bleomycin-induced DNA degradation". *Chemical Reviews*, 87(5), 1107-1136.
- Sulieman, A. M. E., Issa, F. M. and Elkhalfa, E. A. (2007). "Quantitative determination of tannin content in some sorghum cultivars and evaluation of its antimicrobial activity". *Research Journal of Microbiology*, 2(3), 284-288.
- Taghavi Fardood, S. and Ramazani, A. (2016). "Green synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles using coffee powder extract". *Journal of Nanostructures*, 6(2), 167-171.
- Tanaka, K., Padermpole, K. and Hisanaga, T. (2000). "Photocatalytic degradation of commercial azo dyes". *Water Research*, 34(1), 327-333.
- Tippayawat, P., Phromviyo, N., Boueroy, P. and Chompoosor, A. (2016). "Green synthesis of silver nanoparticles in *Aloe vera* plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity". *PeerJ*, 4, e2589.

- Toyofuku, M., Roschitzki, B., Riedel, K. and Eberl, L. (2012). "Identification of proteins associated with the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm extracellular matrix". *Journal of Proteome Research*, 11(10), 4906-4915.
- Upadhyay, R., Chaurasia, J. K., Tiwari, K. N. and Singh, K. (2014). "Antioxidant property of aerial parts and root of *Phyllanthus fraternus* Webster, an important medicinal plant". *The Scientific World Journal*, 2014.
- Üstündaş, M., Yener, H. B. and Helvacı, Ş. Ş. (2018). "Parameters affecting lycopene extraction from tomato powder and its antioxidant activity". *Anadolu University Journal of Science and Technology A-Applied Sciences and Engineering*, 19(2), 454-467.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease". *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Veeraputhiran, V. (2013). "Bio-catalytic synthesis of silver nanoparticles". *International Journal of ChemTech Research*, 5(5), 255-2562.
- Venitt, S. and Parry, J. M. (1984). "Background to mutagenicity testing". *Mutagenicity Testing: A Practical Approach*, IRL Press, Ltd., Oxford, 1-24.
- Vijayamari, A., Sadayandi, K., Sagadevan, S. and Singh, P. (2017). "A study of optical, surface morphological and electrical properties of manganese oxide nanoparticles". *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 28(3), 2739-2746.
- Vinay, S. P., Nagaraju, G., Chandrappa, C. P. and Chandrasekhar, N. (2019). "*Rauvolfia tetraphylla* (Devil Pepper) mediated green synthesis of Ag nanoparticles: applications to anticancer, antioxidant and antimutagenic". *Journal of Cluster Science*, 30(6), 1545-1564.
- Wang, Y., Chinnathambi, A., Nasif, O. and Alharbi, S. A. (2021). "Green synthesis and chemical characterization of a novel anti-human pancreatic cancer supplement by silver nanoparticles containing *Zingiber officinale* leaf aqueous extract". *Arabian Journal of Chemistry*, 14(4), 103081.

- Watanabe, A., Kajita, M., Kim, J., Kanayama, A., Takahashi, K., Mashino, T. and Miyamoto, Y. (2009). "In vitro free radical scavenging activity of platinum nanoparticles". *Nanotechnology*, 20(45), 455105.
- Watson, D., Clark, L. A. and Carey, G. (1988). "Positive and negative affectivity and their relation to anxiety and depressive disorders". *Journal of Abnormal Psychology*, 97(3), 346.
- Xiu, Z. M., Zhang, Q. B., Puppala, H. L., Colvin, V. L. and Alvarez, P. J. (2012). "Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles". *Nano Letters*, 12(8), 4271-4275.
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., Al-Askar, A. A. and Al-Otibi, F. O. (2022). "Facile green synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Origanum majorana* with potential bioactivity against multidrug resistant bacterial strains". *Crystals*, 12(5), 603.
- Yavaşer, R. (2011). Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Yu, J., Yan, F., Lu, Q. and Liu, R. (2018). "Interaction between sorghum procyanidin tetramers and the catalytic region of glucosyltransferases-I from *Streptococcus mutans* UA159". *Food Research International*, 112, 152-159.
- Zhang, Y., Li, M., Gao, H., Wang, B., Tongcheng, X., Gao, B. and Yu, L. (2019). "Triacylglycerol, fatty acid, and phytochemical profiles in a new red sorghum variety (Ji Liang No. 1) and its antioxidant and anti-inflammatory properties". *Food Science and Nutrition*, 7(3), 949-958.
- Ziotti, A. B. S., Ottoni, C. A., Correa, C. N., de Almeida, O. J. G., de Souza, A. O. and Neto, M. C. L. (2021). "Differential physiological responses of a biogenic silver nanoparticle and its production matrix silver nitrate in *Sorghum bicolor*". *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14.