

TC

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nasturtium officinale R. Br. BİTKİSİNİN YAPRAK EKSTRAKTI
KULLANILARAK, ÇİNKO (Zn) NANOPARTİKÜLÜNÜN (NP)
BİYOSENTEZİ VE NANOPARTİKÜLÜN MCF-7 MEME KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK ETKİSİ

Tezi Hazırlayan

Kevser GÜNAY

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Haziran 2021

NEVŞEHİR

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerimi, becerilerini, deneyimlerini, yardımlarını, tavsiyelerini esirgemeyen, bana her konuda destek olan, beni yönlendiren bilimsel katkılarını benimle paylaşan büyük onur ve saygı duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Zeliha Leblebici' ye,

Tez dönemim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli arkadaşım Mustafa Gültekin'e,

Tez yazımda ve düzenlenmesinde, laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Ü. Fatih Doğan Koca'ya,

Bu tez çalışmasını destekleyen Nevşehir Hacıbektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: ABAP-20F41 ve GAP20F1)

TÜBİTAK 2237-A Bilimsel Eğitim Etkinlikleri Programı tarafından desteklenen Sucul Ekosistemlerde Araştırma Yöntemleri etkinliği'ne,

Ayrıca eğitimim boyunca hayatımın her aşamasında her anında yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, hayatımın en güzel destekçileri olan, bugünlere gelmemdeki maddi manevi en büyük paya sahip olan annem ve babama, bana her konuda desteklerini esirgemeyen kardeşlerime en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Kevser Günay

Haziran 2021

***Nasturtium officinale* R. Br. BİTKİSİNİN YAPRAK EKSTRAKTI
KULLANILARAK, ÇİNKO (Zn) NANOPARTİKÜLÜNÜN (NP) BİYOSENTEZİ
VE NANOPARTİKÜLÜN MCF-7 MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE
SİTOTOKSİK ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

KEVSER GÜNAY

Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Haziran 2021

ÖZET

Nanoteknoloji alanında kullanılan nano yapıları malzemelerin birçok kullanım alanı ve eşsiz özellikleri bulunmaktadır. Nanopartiküller birçok alanda kullanılmakla birlikte en yaygın kullanımı olan Zn tabanlı nanopartiküllerdir. Yapılan çalışmada, *Nasturtium officinale* bitki özütü ile ZnO nanopartikülü biyolojik teknik ve biyosentezi ile karakterizasyonu yapılmıştır. Sentezlenmiş olan ZnO NP'nin karakterizasyonu amacı ile UV-Vis, ZETA, SEM, XRD ve FT-IR ile gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon sonucunda ZnO NP'nin ışık emme noktasının 346 nm, yüzey yükünün -14 mV, ortalama boyutunun 90 nm civarında olduğu kaydedilmiştir.

Dünyadaki kadınlar arasında en başta ve en yaygın olarak görülen meme kanseri, meme dokusunda bulunan hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşmaktadır. Bu çalışmada sentezlenmiş ZnO NP'lerin *Nasturtium officinale* özütü kullanılarak MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerine in vitro sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. MCF-7 hücreleri artan konsantrasyonlarda ZnO NP'lerle 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Sentezlenmiş ZnO NP'lerin MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri -4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile yapılmıştır. ZnO NP'lerin kontrol grubuna kıyasla meme kanseri hücrelerindeki hücre ölümlerinin artışına sebep artan konsantrasyonlara bağlıdır. IC50 değeri 0,04937 µl olarak belirlenmiştir. Bu çalışmamızda, *Nasturtium officinale* ekstraktının ZnO NP'lerin biyosentezi ve karakterizasyonu için kullanılabileceğini ve biyolojik olarak sentezlenen ZnO NP'lerin meme kanseri tedavisinde umut vaat eden bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Nasturtium officinale* (Su teresi) , Zn Nanopartikülleri, Yeşil Sentez, MCF-7, Sitotoksik Etki

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Sayfa Adeti:92



***Nasturtium officinale* R. Br. BIOSYNTHESIS OF ZINC (Zn) NANOPARTICLE (NP) AND CYTOTOXIC EFFECT OF NANOPARTICLE ON MCF-7 BREAST CANCER CELLS USING LEAF EXTRACT OF THE PLANT**

(M. Sc. Thesis)

Kevser GÜNAY

NEVSEHIR HACIBEKTAS VELI UNIVERSITY SCIENCE INSTITUTE

June, 2021

ABSTRACT

Nano-structured materials used in the field of nanotechnology have many uses and unique properties. Although nanoparticles are used in many areas, the most common use is Zn based nanoparticles. In our study, biosynthesis and characterization of *Nasturtium officinale* plant extract and ZnO nanoparticle were synthesized by biological technique. Characterization of synthesized ZnO NP was carried out with UV-Vis, ZETA potential, SEM, XRD, FT-IR, and TGA. As a result of the characterization, it has been reported that the light absorption point of ZnO NP is 346 nm, the surface charge is -14 mV and the average dimension is around 90 nm.

Breast cancer, which is the first and most common among women in the world, occurs as a result of uncontrolled proliferation of cells in the breast tissue. In this study, in vitro cytotoxic effects of synthesized ZnO NPs on MCF-7 breast cancer cell line were evaluated using *Nasturtium officinale* extract. MCF-7 cells were treated with increasing concentrations of ZnO NPs for 24 hours. Cytotoxic effects of synthesized ZnO NPs on MCF-7 breast cancer cell line were determined by MTT test. ZnO is dependent on increasing concentrations of NPs leading to increased cell death in breast cancer cells compared to the control group. The IC₅₀ value is 0,04937 µl set at. This study shows that *Nasturtium officinale* extract can be used for the biosynthesis and characterization of ZnO NPs, and that biologically synthesized ZnO NPs have promising potential in the treatment of breast cancer.

Keywords: *Nasturtium officinale*, Zinc Nanoparticles, Biosynthesis, MCF-7, Cytotoxic effect

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Page Number:92



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	5
GENEL BİLGİLER	5
2.1. <i>Nasturtium officinale</i>	5
2.1.1. <i>Nasturtium officinale</i> 'nin Sistematikteki Yeri ve Özellikleri.....	5
Tablo 1.....	6
2.1.2. Genel Morfolojik Özellikleri	6
2.1.3. Üreme Biyolojisi.....	7
2.1.4. Su Teresi Yetiştiriciliği.....	7
2.1.5. Kullanım Alanları	8
2.1.6. Ekolojik Önemi.....	9
2.1.7. Su Teresinin Faydaları	9
2. 2. Nanopartiküller ve Nanoteknoloji	9
Tablo 2.....	12

2.3.Nanopartiküllerin Kullanım Alanları	12
2.4.Nanopartiküllerin Sınıflandırılması.....	15
2.4.2.Süperparamanyetik NP'ler.....	16
2.4.3.Fullerenler:Buckyballar ve Karbon Nanotüpler	17
2.4.4.Dendrimerler	17
2.4.5.Kuantum Dotlar	18
2.4.6.Sıvı Kristaller.....	18
2.5.Nanopartikül Sentezinde Kullanılan Yaklaşımlar	18
2.5.1.Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı (Bottom-up).....	19
2.5.2.Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı (Top-down).....	20
2.6.Nanomateriyallerin Sentezinde Kullanılan Bazı Metotlar.....	20
2.6.1.Elektrokimyasal Sentez	20
2.6.2.Ters Misel/Mikroemülsiyon Metodu.....	21
2.6.3.Hidrotermal Sentez	21
2.6.4.Metal Buhar Sentezi.....	21
2.6.5.Sonakimyasal Depozisyon.....	21
2.6.6.Kimyasal İndirgenme.....	22
2.7.Biyolojik Sentezde Kullanılan Biyolojik Ajanlar	22
2.7.1.Mikroorganizmalar	22
2.7.2.Algler	23
2.7.3.Mantar ve Likenler	23
2.7.4.Bitkiler	23
2.8.Zn, ZnO Nanopartikülleri ve Özellikleri	23
2.9.ZnO Nanoyapılarının Kullanım Alanları.....	25
2.9.1.Elektronik Sektörü	25
2.9.2.Kimya Sektörü	26

2.10. NP Biosentezi (Yeşil Sentez)	26
2.11. NP'lerin Bitkiler Aracılığı ile Sentezi	28
2.11.1.Bitki Ekstraktlarıyla NP Sentezini Etkileyen Faktörler	28
2.11.2.NP Sentezinde İndirgeyici Ajan Olarak Doğal Ürünler	29
2.11.3.Bitki Materyalinin Seçimi, Toplanması ve Tanımlanması	29
2.12.Biyolojik Sentez Sonrası NP ayrıştırılması	29
2.12.1.Ultrasantrifügasyon ve Liyofilizasyon	29
2.12.2.Manyetik Ayırma Yöntemleri.....	29
2.12.3.Membran Filtrasyonu.....	29
2.12.4.Kalsinasyon.....	29
2.13.Biyolojik Sentez Sonrası NP'lerin Karakterizasyonu	30
2.13.1.UV-Görünür Absorpsiyon Tekniği.....	30
2.13.2 Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	30
2.13.3 X-ışını Kırınımı (XRD) Tekniği.....	30
2.13.4 EDX tekniği / Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi	30
2.13.5 TEM tekniği veya Transmisyon Elektron Mikroskobu	30
2.13.6 SEM tekniği veya Taramalı Elektron Mikroskobu.....	30
2.14. Sitotoksite	30
BÖLÜM 3	32
MATERYAL VE METOT	32
3.1. <i>Nasturtium officinale</i>	32
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar, Malzemeler ve Cihazlar	33
3.3. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bitki Ekstraktının Hazırlanması	33
3.4. <i>Nasturtium officinale</i> Yaprak Özütü ile Zn Nanopartiküllerinin Sentezi.....	34
3.4.1. ZnO NP Biosentezi	34
3.4.2. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	34

3.5. ZnO NP 'lerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi, Hücre Kültürü ve MTT Testi Solüsyonu Hazırlanması.....	37
Tablo 3.....	38
3.6. MTT Testi.....	38
BÖLÜM 4	39
DENEYSEL BULGULAR	39
4.1. Zn NP Biyosentezi.....	39
4.2. Zn Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	39
4.2.1. Yüzey Yüğü Ölçümü	39
4.2.2. Fourier Dönüşümlü Kıızılötesi Spektroskopu Analizu	40
4.2.3. X-Işınları Toz Difraksiyon Analizu.....	41
4.2.4. Taramalı Elektron Mikroskopu Analizu.....	42
4.2.5. UV-vis Görünür Bölge Spektroskopu Analizu.....	42
4.3. MCF-7 Hücrelerinde Zn NP' lerin Sitotoksik Etkisi	43
Tablo 4.....	43
BÖLÜM 5	45
TARTIŞMA VE SONUÇ	45
ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	72

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Su Teresi (*N. officinale*)'nin Sistematiği.....21

Tablo 2. Nanoteknolojinin olaylarının kronolojik özeti27

Tablo 3. Sentezlenen nanopartiküllerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal malzemeler.....53

Tablo 4. Uygulanan Dilüsyonların Hücre Canlılığı Üzerindeki % İnhibisyon Değerleri ve Standart Hata Değerleri.....60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Nasturtium officinale</i> (su teresi).....	20
Şekil 2.2. Su teresinin genel görünüşü 1-Yaprakları 2- Salkım şeklinde çiçekler 3- Meyve ve tohumlar.....	22
Şekil 2.3. Florida'da bir su teresi yetiştiricilik ünitesi.....	23
Şekil 2.4. Nanoteknolojinin kullanıldığı boyut aralığı.....	25
Şekil 2.5. Nanopartiküler yapı örnekleri.....	26
Şekil 2.6. Orijinlerine göre nano boyuttaki materyaller.....	26
Şekil 2.7. Nanomateryallerin uygulama alanlarından bazıları.....	28
Şekil 2.8. Nanoteknolojinin bağlantılı olduğu alanlar.....	30
Şekil 2.9. NP 'lerin çeşitli sınıfları (A) lipozomlardaki NP'ler (B) SPION NP 'ler (C) nanotüp NP' ler (D) dendrimerler (E) değişen optik özelliklere sahip QD 'lar.....	31
Şekil 2.10. Karbon bazlı nanomateryaller.....	32
Şekil 2.11. Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan yaklaşımlar.....	34
Şekil 2.12. NP sentez mekanizmalarının temel şablonu.....	35
Şekil 2.13. Partikül büyüklüğüne reaksiyon hızının etkisi.....	38
Şekil 2.14. Hekzagonal ZnO yapısı.....	40
Şekil 2.15. Biyolojik olarak yönlendirilen NP sentezinin mekanizması.....	43
Şekil 2.16. Bitki aracılı biyosentez için örnek deney.....	44
Şekil 3.1. <i>Nasturtium officinale</i> 'nin genel görünüşü.....	48
Şekil 3.2. ZnO Sentez Süreci a- <i>Nasturtium officinale</i> özütü b- ZnO NP Solüsyonu (6 saat sonra) c- Toz halinde ZnO NP.....	50
Şekil 3.3. (a) X-ışını kırınımının bir kristal düzlemde meydana gelişi (b) X-ışınlarının kırınımında aldığı yolların uzunlukları arasındaki farkı göstermektedir.....	51

Şekil 3.4. SEM cihazının işlem şeması.....	52
Şekil 4.1. ZnO NP'nin Yüzey Yükü.....	57
Şekil 4.2. ZnO NP solüsyonunun FT-IR analizi.....	58
Şekil 4.3. ZnO NP'nin XRD Analizi.....	58
Şekil 4.4. Zn NP' nin SEM Analizi.....	59
Şekil 4.5. Biyosentez ZnO NP'nin UV analizi.....	60
Şekil 4.6. MCF-7 Hücreleri İçin 24 Saatlik İnkübasyon Sonrası MTT Analiz Sonucu.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

µg : Mikrogram

µm : Mikrometre

cm : Santimetre

nm : Nanometer

mV : Milivolt

rpm : Dakikada devir sayısı

RNA : Ribonükleik Asit

DNA : Deoksiribonükleik Asit

FBS : Fötal Dana Serum (Fetal Bovine Serum)

FT-IR : Fourier Dönüşümü Kızılötesi

SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu

UV-Vis : Ultraviyole görünür bölge spektroskopisi

SPR : Yüzey plazmon rezonans

TEM : Transmisyon Elektron Mikroskobu

XRD : X Işını Kırınımı

EDX : Enerji Dağılımlı X- ışını Spektroskopisi

Zn- ZnO : Çinko - Çinko oksit

NP : Nanopartikül

CNT : Karbon nanotüp

QD : Kuantum DOT

MCF-7 : Meme Kanseri Hücresi

MTT : Tetrazolium Tuzu

DMSO : Dimetil Sülfoksit

IC50 : Ortalama Öldürücü Konsantrasyon

PBS : Fosfat Tamponu

PVD : Fiziksel Buhar Depozisyonu

CVS : Kimyasal Buhar Depozisyonu



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Sağlık için son derece önemli olan *Nasturtium officinale* (Su teresi) sulak ortamlarda yetişmektedir. Brassicaceae familyasına ait *Nasturtium officinale* çok yıllık, düşük kalorili, çok besleyici ve omega-3 yağ asitlerince zengin bir su bitkisidir. Asya ve Avrupa'ya özgü olan bu bitki ekonomik açıdan değerlidir[1]. *Nasturtium officinale* hızlı büyüyen, sığ ve sulak alanda yetişen, yaprakları 8 cm genişliğinde ve 10 cm uzunluğundadır. Beyaz çiçekli, dört yapraklı, keskin kokulu olan su teresine 'Çin teresi' de denilmektedir[2]. Sulak ortamlarda yetişen *Nasturtium officinale* sağlık için oldukça kıymetli bir bitkidir.

Gıda olarak salatalarda tüketilen bitki, tıbbi ve kozmetik sanayinde de kullanılmaktadır [3]. Bunun yanı sıra pek çok medikal kullanımının da olduğu bildirilmektedir [4,5-6]. Su teresinin yapraklarının iskorbit hastalığının, tüberkülozun, şeker hastalarının tedavisinde, astım, bronşit, egzema, guatr, kellik, hepatit tedavisinde, nezle ve gripte balgam söktürücü, dişte diş ağrısı giderici, midede kuvvetlendirici olarak kullanıldığı bildirilmiştir [4].

Su teresinin farmakolojik potansiyeli ve kimyasal bileşimi açısından oldukça zengindir. İçeriğindeki C vitamini, provitamin A, iyot, folik asit, protein, demir ve ağırlıklı olarak kalsiyum ve kükürt bileşikleri karakteristik kokusunu etkiler [7]. Magnezyum, fosfor, potasyum ve kalsiyum yönünden zengin olması nedeniyle kemik sağlığı için önemlidir. Su teresi kanser hücrelerinin gelişimini engellerken, böbrek ve sindirim sağlığını korur. Ayrıca uyuz tedavisinde de kullanılan bu bitki tüberkülozu ve vücuttaki toksinleri de temizler[8]. Ayrıca ülser, astım, sarılık, ağrı, bronşit, iskorbüt, idrar yolu ve ateşe karşı iyileştirici olarak bilinmektedir[9,10]. Fazla tüketildiğinde mide rahatsızlıklarına yol açmaktadır. -15 dereceye kadar dayanıklı olan su teresi Temmuz, Haziran ve Mayıs aylarında çiçek açtığı görülmektedir [11].

Nasturtium officinale antioksidan içeriğinden dolayı kalp sağlığı ve farklı kanser çeşitlerinin riskini azaltmaktadır. Su teresinin etanolik ekstraktının meme kanseri hücrelerinin inhibisyonu üzerinde önemli bir etkisi de bulunmaktadır. Muhteşem bir

fonksiyonel besin olduğu için kanserin önlenmesinde kullanılır[9]. Su teresi, suların daha kaliteli duruma getirilmesinde ve suların artırılmasında da etkilidir.

Nanopartiküller her geçen gün hayatımızın bir parçası olmak konusunda oldukça ilerlemeler göstermektedir. İnsan ve çevre için önemi artmaktadır. İnsanların yaşam kalitesini artırmaya yönelik olarak günümüzde teknoloji alanında kaydedilen gelişmeler giderek artmaktadır ve özellikle nanopartiküllerin üretimi konusu, özellikle dikkatleri üzerine toplamıştır. Nanopartiküller (NP) 100 nm'den daha küçük boyutta ve yüksek yüzey enerjisine sahip olan parçacıklardır[12,13]. Nano kelimesi Yunanca kökenli olup 'cüce' anlamına gelir. Ölçüsü Nanometredir ve metrenin milyarda biri olarak bilinmektedir. Tahminen 10 atomluk bir genişliktedir. Multidisipliner bir bilim dalı olan nanoteknoloji, nanometre boyutlardaki materyaller ile çalışır. Dünya nüfusu arttıkça insanların ihtiyaçları da artmaktadır. En başta endüstri olmak üzere elektronik, kozmetik ve medikal uygulama alanlarıdır[14]. Endüstri kullanımında çok fazla yayılım göstermektedir. Eczacılık, tıp, sanayi, havacılık, uzay, cam, seramik vb. daha birçok kullanım alanları da vardır.

Nanopartiküllerin sentezi için fiziksel metot, kimyasal metot ve biyolojik metot olmak üzere üç temel teknik kullanılmıştır. Geleceğin akıllı teknolojisi olarak görülen nanopartiküller, uzun yıllar boyunca fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmiştir. Metal nanopartiküllerin sentezlenmesinde önemli olan metal iyonlarının indirgenmesinde kullanılan indirgeyici ve stabilize ajanların geliştirilmesidir. Fiziksel ve kimyasal sentez yönteminde oldukça toksik ve tehlikeli kimyasallar indirgeyici ve stabilizör ajan olarak kullanılmakta çevre ve hücre için toksisite riski taşımaktadır. Dolayısıyla bu yöntemler insan için yararlı ve uygulanabilir değildir. Ancak gelişen teknoloji ile birlikte günümüzde daha ucuz, güvenli, kontrol edilebilir ve toksik olmayan malzeme ihtiyacı doğmuştur. Bu arayış içerisinde nanopartiküllerin biyolojik ajanlar ile sentezi üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır[15]. Günümüzde kullanımı hız kazanan nanopatiküller yeni aygıtların üretilmesinde daha az maliyetlidir.

Toksikolojik etki gösteren NP'lerin toksisitesi çeşitli faktörlere dayandırılmaktadır. Bunlar, konsantrasyon, doğası, canlıların bağışıklık sistemi, maruz kalma süresi, partikülün uygulama şeklidir.

Yeşil sentez yönteminde, bu ajanlar kullanılan biyolojik organizmalarda doğal olarak bulunmaktadır. Fakat toksik olmayan ve çevresel etki olarak faydalı, biyolojik olarak geliştirilmiş biyo-uyumluluk özelliğine sahip maddeler veya biyomoleküller kullanılmaktadır. Ayrıca fiziksel ve kimyasal yöntemlerin karmaşık ve çok pahalı olması, toksik madde kullanımı gerektirmesi gibi sebeplerden dolayı en kabul edilebilir yöntem çevre dostu ve toksik olmayan yeşil sentez yöntemi olarak sunulmuştur[16].

Nanopartikül sentezinde bitki özütlerinin kullanılması, hücre kültürü oluşturulması, devamının sağlanması gibi ayrıntılı bir sürece ihtiyaç duymaması, daha yüksek miktarda sentez sağlanabilmesi ve işlem süresinin daha kısa olması gibi özellikleri ile diğer biyolojik yöntem sentezlerine karşı avantaj oluşturmaktadır. Bitki özütlerinin kullanılması kolay ve pratik olmaktadır. Bitki yaprak özütü kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin yüksek miktarda üretim için uygun olduğu, sentezlenen metal veya metal oksit nanopartiküllerinin indirgeyici ajana bağlı olarak oldukça stabil olduğu olduğu belirlenmiştir[17,18].

Bitki özütlerinin içeriğinde bulunan organik indirgeyici ajanların kombinasyonları farklı olduğu için farklı bitki özütleri nanopartiküllerin karakterizasyonunu etkilemektedir[15]. Fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri fazladan emek ve zaman gerektirirken, biyolojik sentez yüksek miktarda nanopartikül sentezi için kolay bir yöntem olup yüksek basınç, sıcaklık ve yüksek enerji gerektirmemektedir[19,20]. Bitki özütleri ile nanopartiküllerin sentezinde işlem süresinin daha kısa olması[17] ve toksik madde kullanılmaması gibi özellikleri fazla miktarda üretim için avantaj oluşturmaktadır[21]. Diğer sentez yöntemlerine kıyasla nano malzemelerin bitkisel sentezi kolay, hızlı ve normal reaksiyon koşulları gerektirmektedir[22].

Günümüzdeki en önemli sağlık sorunlarından biri kanserdir. Türkiye’de en sık görülen ölüm sebeplerinde biri olmaktadır[27]. Ölümlerde meme kanseri ikinci, akciğer kanseri ise ilk sırada yer aldığı bilinmektedir. Farklılık gösterdiği noktalar yaş ve cinsiyettir. Çoğunlukla kadınlarda meme kanseri görülmektedir.

Kanser tedavisinde nanoteknolojiye bağlı olarak kullanılan uygulamalar çok düşük yan etkiler ve yüksek özgünlükleri ile son yıllarda oldukça yoğun ilgi çekmektedir. Özellikle tıbbi bitkilerden sentezlenerek elde edilen nanopartiküller antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri nedeniyle dikkatleri üzerine toplamaktadırlar. Son zamanlarda yapılan

çalışmalarda, yeşil sentez gümüş nanopartiküllerinin farklı kanser türlerinde hücre canlılığını azaltma ve apoptoz artırma yetenekleri bildirilmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmalar daha çok kanser hücrelerine karşı yüksek aktiviteye sahip ancak normal hücrelerde düşük toksisite gösteren yeni nanopartiküllerin sentezi için antikanser özellikli doğal bileşiklerin sečilmesine odaklanmıştır[23,24].

Çalışmamızda kullanacağımız Su teresi çok yoğun yayılış özelliği gösteren, uzun yıllardan beri insanlar tarafından bilinen, Brassicaceae ailesine ait ve bahçe teresine akraba bir türdür. Gıda olarak salatalarda tüketilen bitki, tıbbi ve kozmetik sanayinde de kullanılmaktadır [3]. Metal nanopartiküllerin bitki özütleri ile sentezinin kolay, ucuz ve güvenilir olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda ağır metalleri akümüle etme yeteneği bilinen *Nasturtium officinale* bitkisinin yaprak özütü ile Zn nanopartikülünü sentezleyebilme yeteneği, sentezlenen Zn Nanopartiküllerinin ortalama boyutlarının ne ölçüde olacağı sorusuna ve Zn Nanopartikülünün MCF-7 meme kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etkilerine cevap aranacaktır[25,26].

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. *Nasturtium officinale*

2.1.1. *Nasturtium officinale*'nin Sistematikteki Yeri ve Özellikleri

Önemli tatlı su makrohidrofitlerinden biri olan *Nasturtium officinale* ekonomik ve ekolojik olarak büyük bir öneme sahiptir. Tıbbi bir bitki olan su teresi besin olarak insanlar tarafından uzun yıllardır tüketilmektedir. Ana yurdu olarak Asya ve Avrupa olarak bilinmektedir [5,29]. Su teresi sürekli akan, temiz ve soğuk tatlı sularda yaşayan makrohidrofit bir su bitkisidir. Tüberküloz, hepatit, grip, astım, guatr, şeker hastalığı, balgam söktürücü gibi birçok hastalığın tedavisinde su teresinin yaprakları kullanılmaktadır [4]. Önemli su bitkilerinden su teresi içerikleri bakımından da oldukça zengindir. Atık suların arıtılmasında da su teresinin kullanıldığı bilinmektedir [30,31]. Tatlı su bitkisi *Nasturtium officinale*, yarı batık hidrofit, rizomlu ve çok yıllık *Nasturtium* cinsine bağlıdır [32]. Su teresi toprağın pH'ına göre değişiklik göstermektedir. Bazı koşullar altında iyi gelişmemektedir [34]. Soğuğa dayanıklı bir bitkidir. Su bitkilerinin faydaları olduğu kadar zararları da vardır. Bu su bitkilerinin atık su kaynaklarından dolayı aşırı çoğalması nedeniyle tarım ve insanların yaşamı için zararları olmaktadır. Su teresinin görüntüsü Şekil 2.1'de bulunmaktadır.



Şekil 2.1. *Nasturtium officinale* (su teresi) [11]

Su teresinin farklı mekanizmaları sayesinde değişik çalışma yöntemlerinde kullanılmaktadır. Günümüzde kanser tedavilerinde de kullanılmaktadır. Dünya genelinde kanser hastalıkları artış göstermektedir. Bunun sebebi ile farklı çalışma ve araştırma yöntemleri gelişmeye devam etmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda su teresinin tam mekanizması öğrenilememesine rağmen akciğerde kanser başlangıcını, akciğer kanserinin engellenmesinde, mide kanserinin, pankreas kanserinin ve meme kanserinin de engellediğini bu bitkinin içerisinde bulunan isothiocyantların sağladığı bilinmektedir [33]. Su teresinin sistematığı Tablo 1 'de görülmektedir.

Tablo 1. Su Teresi'nin Sistematığı [28]

Alem	Plantae
Alt Alem	Embryophyta
Bölüm	Spermatophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt Sınıf	Dilleniidae
Takım	Capparales
Aile	Brassicaceae – Cruciferae
Cins	Nasturtium
Tür	<i>Nasturtium officinale</i> R.Br

2.1.2.Genel Morfolojik Özellikleri

N. officinale serbest köklü, emers ve çok yıllık bir su bitkisi olduğu bilinmektedir. En önemli özellikleri çok yıllık ve su açısından zengin bir bitkidir. Yaprakları sulu ve yumuşaktır. Yapraklarında tüy olmayan suda dip çamurunun içinde sürüklenen gövdeleri bulunmaktadır [4,34]. Su teresi, farklı zamanlarda tohum verir ya da büyüme gelişimi gösterir. Ayrıca çiçeklenme ve yayılım gösterme evreleri de farklı zamanlarda gerçekleşmektedir. Temmuz ve Ekim aylarında tohumlar olgunlaşmaktadır. Çiçekleri hermafrodit yapılıdır [11].

Bazen yeşilimsi beyaz bazen morumsu renkte dört tane çanak ve ters yumurta şeklinde de dört adet taç yaprağı bulunur. İki bölmeli dişi organ çiçeğin merkezinde bulunmaktadır [4]. İki daire üzerinde toplam 6 erkek organ bulunan su teresinin 2 erkek organ iç kısımda, 4 erkek organ dış dairede bulunmaktadır (Şekil 2.2)[35].



Şekil 2.2. Su teresinin genel görünüşü [36]

1-Yaprakları 2- Salkım şeklinde çiçekler 3- Meyve ve tohumlar

2.1.3.Üreme Biyolojisi

Bu tür su bitkilerinde üreme vejetatif ve eşeyli üreme olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Su bitkilerinde eşeyli üreme olduğunu çiçeğin bulunması durumundan bilmekteyiz. Aynı veya aynı bireylerin birleşen hücrelerinin sonucu meydana gelen yeni canlının ortaya çıkmasıdır. Çiçeklerde üreme organı bulunmaktadır. Su bitkilerinde en çok görülen üreme türü vejetatif üreme hızlı bir şekilde çoğalmaktadır [37,38-39]. Kopan parçalarının toprağa dikilmesiyle vejetatif üreyebilmekte olan su teresi tohumlarıyla da eşeyli üreyebilmektedir [40,41].

2.1.4.Su Teresi Yetiştiriciliği

Nasturtium officinale sulu yerlerde, nemli alanlarda ve dere kıyılarında yetişmektedir. Su ve toprağın birleşim kısmında daha çok yayılım göstermektedir. Genelde ıslak topraklarda görülür [11]. Lee ve Newman(1997) su teresinin ileri geldiği su bitkilerinin üretimi ticari olarak büyük önem kazanmıştır. Birçok kişi kendi imkanları ile ihtiyaçlarının yettiği kadar su teresi üretimini yapmaktadır [5]. Bu üretim hızla attığı için

ileriki zamanlarda ise ticareti gerçekleşmektedir. Florida'da su teresi yetiştiriciliği yapan insanları Şekil 2.3'de görmek mümkündür.



Şekil 2.3. Florida'da bir su teresi yetiştiricilik ünitesi [5].

Su teresi her yerde yetişebilen bir bitki olduğu için filizini saksılarda bile yetiştirmek mümkündür. Bu da bol su vererek gerçekleşmektedir. Tohumlarını toprağı serptikten sonra iki günde filizlenmektedir. Hasada yaprakları çıktıktan sonra başlar. Su teresini açık alanda yerin 7,5 cm derinliğine dikilir. Mevsimin ilkbahar ayının başından havalrın ısınmasına kadar iki haftada bir ekimi yapılmaktadır. Soğuk havalarda ekime devam edilmektedir. Kışın ılık bölgelerde de ekime devam edilmektedir. Boyu 7,5 cm 'ye geldiğinde makas yardımıyla hasadı yapılmaktadır. Su teresinin yaprakları fazla büyüyünce tadı acı olmaktadır. Mümkün olduğunca taze yapraklı olanlar hasat edilir [42].

2.1.5.Kullanım Alanları

En yaygın tüketildiği alan gıda olarak salatalarda tüketilen bitki, tıbbi ve kozmetik sanayinde de kullanılmaktadır [3]. İnsanların kişisel bakım ihtiyaçlarını karşılamak için de kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra pek çok medikal kullanımının da olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ilaçlarda da kullanılmaktadır [4,5-6]. İnsanların yaşam kalitesini oldukça arttırmaktadır. Ayrıca insan sağlığı açısından da faydaları oldukça fazla olduğu bilinmektedir.

Su teresinin farmakolojik potansiyeli ve kimyasal bileşimi açısından oldukça zengindir. İçeriğindeki C vitamini, provitamin A, iyot, folik asit, protein, demir ve ağırlıklı olarak kalsiyum ve kükürt bileşikleri karakteristik kokusunu etkiler [7]. Kanseri hücrelerinin gelişimini engellemekte, böbrek ve sindirim sağlığını korumakta, tüberkülozu, vücuttaki

toksinleri temizlemekte olan su teresi uyuz tedavisinde kullanılan bir bitkidir [8]. Fazla tüketildiğinde mide rahatsızlıklarına yol açmaktadır.

Nasturtium officinale antioksidan içeriğinden dolayı kalp sağlığı ve farklı kanser çeşitlerinin riskini azaltmaktadır. Antioksidan içeriği sayesinde insanların sağlığı açısından yaşam kalitesini arttırmaktadır. Muhteşem bir fonksiyonel besin olduğu için kanserin önlenmesinde kullanılır [9]. Su teresi, suların daha kaliteli duruma getirilmesinde ve suların arıtılmasında da etkisi olmaktadır. Brezilya 'da çok tüketilmekte olan su teresi farelerde yapılan çalışmalarından idrar söktürücü etkisine sahip olduğu öğrenilmektedir. Bazı bölgelerde kansere karşı olarak kaynatılıp içilmektedir [4].

2.1.6.Ekolojik Önemi

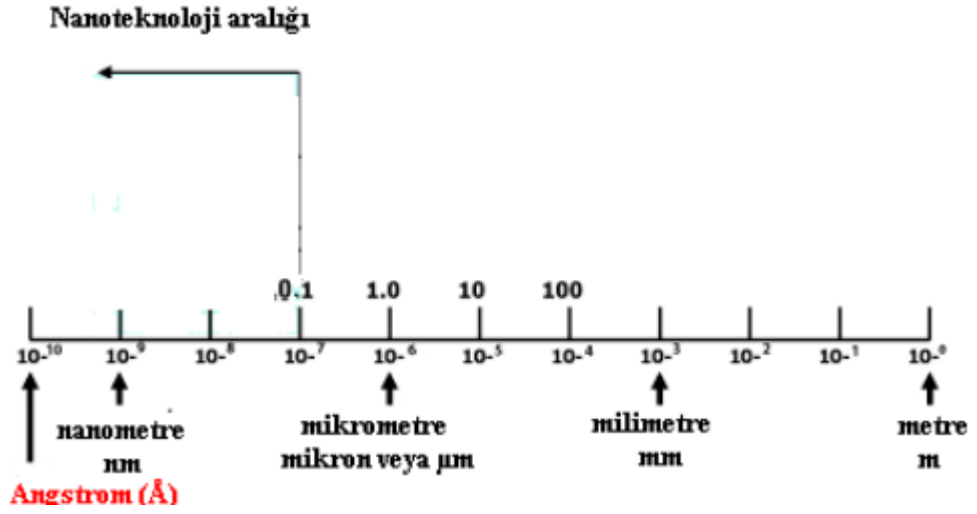
Su teresi çok iyi bir besin kaynağı olarak bilinmektedir. Bu yüzden tüketimi çok kolay olmasından dolayı insanların yaşamsal faaliyetlerini kolaylaştırmaktadır. Su, kalitesinin artırılmasında ve atık su arıtılmasında kullanılmaktadır. Özellikle kış ayında yayılımı gözlenmektedir. Sulu bir yapısı olduğundan dolayı içeriğindeki su oranı fazladır. Soğuğa karşı dayanıklı bir su bitkisidir [43]. Su canlılarının yuva, korunma ve barınak yerlerini su teresi oluşturmaktadır [37,39]. Su teresinin farmakolojik potansiyeli ve kimyasal bileşimi açısından oldukça zengindir.

2.1.7. Su Teresinin Faydaları

K vitamininin günlük ihtiyacını karşılamaktadır. İçeriğindeki antioksidanlar sayesinde kalp, kanser ve şeker hastalıklarının riskini önleyebilmektedir. Yüksek tansiyon ve kolesterolü düşürmeye su teresinin etkisi büyüktür. Su teresi sağlıklı kemikler için kalsiyum, fosfor, magnezyum ve potasyum içeriği açısından oldukça zengindir [43].

2. 2.Nanopartiküller ve Nanoteknoloji

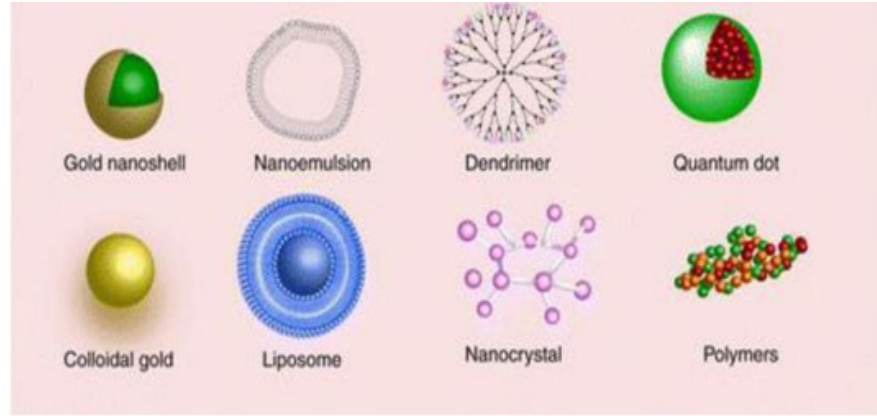
Teknolojinin sürekli gelişmesi insan faaliyetlerinde de büyük gelişimler göstermektedir. Nanoteknoloji insan hayatında önemli gelişmeler göstermektedir. Günümüzde nanopartiküllerin kullanımı hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Nanometre, Yunanca'da 'cüce' olarak bilinen 'nano' kelimesinden gelmektedir. Herhangi bir birimin milyarda birini ölçebildiği için ölçü birimi olarak kullanılmaktadır. Boyutu 100 nm(nanometre) 'nin altında olan malzemelere 'nanopartikül' denilmektedir [44].



Şekil 2.4. Nanoteknolojinin kullanıldığı boyut aralığı [45].

Hüresel elemanlar nano ölçeklerdedir. Nanopartiküller 1 ile 100 nm aralığındadır. Günalan, nano yapıdaki materyalleri ‘modern tıbbın bir harikası’ olarak tanımlamıştır [46]. Nanoteknolojinin günümüzdeki gelişimleri farklı bilim dallarında da kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin sentezi için fiziksel metot, kimyasal metot ve biyolojik metot olmak üzere üç temel teknik kullanılmıştır. Geleceğin teknolojisi olarak görülen nanopartiküller, uzun yıllar boyunca fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmiştir. Nanoteknolojik ürünlerin sağlam, dayanıklı ve hafif olması nanoteknolojinin popüler olmasını sağlamıştır. Şekil 2.4’da nanoteknolojinin kullanıldığı boyut aralığı görülmektedir.

Küresel materyal ve atomik yapı arasında bulunan ara partikül olarak bilinen NP’ler diğer adıyla da metal oksit moleküller olarak bilinmektedir [47]. NP ve kuantum noktacıklar mükemmel manyetik, kimyasal ve optik özellikler göstermesi çok küçük olmalarından kaynaklanmaktadır [49]. Nanopartiküllerin yapı örnekleri şekil 2.5 görselinde görülmektedir.



Şekil 2.5. Nanopartiküler yapı örnekleri [50]

Orijinlerine göre 3 ana gruba ayrılmakta olan nanopartiküller, birinci olarak erozyon, volkanik ve maden kaynaklı olan doğal nanopartiküller, ikinci ise insanların yaptıklarıyla oluşan egzoz gazları ve kömür yanması, üçüncüsü de endüstriyel amaçlı nanopartiküldür [51]. Endüstriyel nanopartiküller, metal bazlı, karbon bazlı materyaller, kompozitler ve dendrimerlerdir [52]. Orijinlerine göre nano boyuttaki materyaller Şekil 2.6 'de görülmektedir.



Şekil 2.6. Orijinlerine göre nano boyuttaki materyaller [53]

Tablo 2. Nanoteknolojinin olaylarının kronolojik özeti [56]

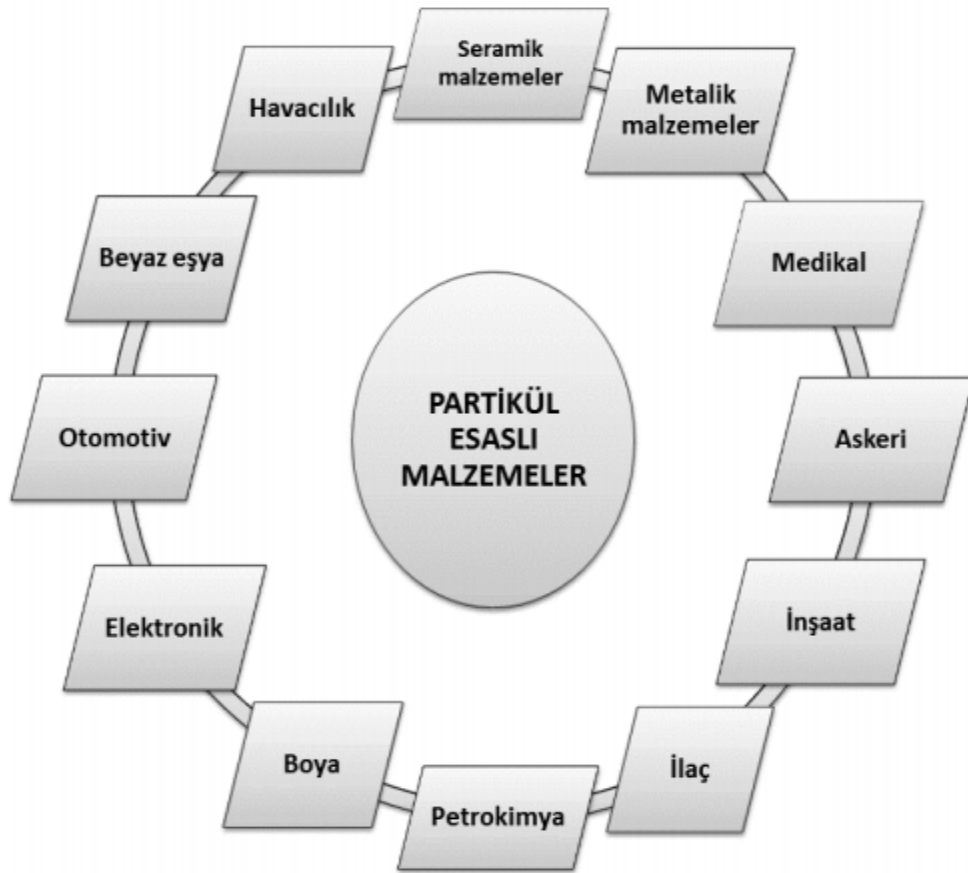
2000 yıl önce	Yunanlılar ve Romalılar sülfat bazlı nanokristaller kullanıyorlardı saç boyasının çok faydalı takviyeleri olarak.
1000 yıl önce	Farklı boyutlardaki bazı nanopartiküllerle birlikte, altın yapım sürecinde farklı renkler üretmek için kullanıldı.
1959	Modern nanoteknoloji kavramı ilk kez gün ışığına Richard Feynman tarafından çıktı.
1974	Taniguchi ilk kez "Nanoteknoloji" terimini kullanıyor.
1981	Taramalı Tünel Açma Mikroskopunun Geliştirilmesi
1985	C 60 (Buckyball), Üniversite Bilim Adamları tarafından keşfedildi.
1986	K. Eric Drexler'in "Yaratılış Motorları" nanoteknoloji üzerine ilk kitabı oldu
1991	Sumio Iijima ilk olarak Karbon (C) nanotüpleri icat etti.
1999	Nano tıp hakkındaki ilk kitap "Nanomedicine" yazılmıştır.
2000	"Ulusal Nanoteknoloji Girişimi'nin kurulması

Nanoteknolojinin yıllara ve olaylara göre kronolojik sıralanması Tablo 2'de görülmektedir.

2.3.Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Nanoteknoloji, duyarlı sistemlerin ileri düzeyde küçülerek teknolojilerin oluşturulmasına imkan sağlamıştır. Bu yüzden, temiz, güvenli, çok uzun süreler dayanan akıllı ürünler oluşturmuştur. Bunlar da ulaşımda, tıpta, biyoteknolojide, tarımda, evde, iletişimde ve endüstride kullanılması sağlanmıştır. Nanomalzemeler nanoboyutlarda sentezlenmesiyle tıp ve biyoteknoloji alanlarında kullanılmaya başlanmıştır. Nanotüpler, nanokristaller, nanopartikeller, nanoteller ve nanoçubuklar nanoboyuttakilere örnek verilebilmektedir [48]. Nanoteknolojinin gelişmesiyle farklı nano yapılar da gelişmiştir. Nano bazlı yapılar hastalıkların teşhisi ve tedavisi gibi tıbbi alanlarda kullanılmaktadır. Nanoteknoloji sayesinde bütün dünyadaki insanlar nano yapıları cihazlar kullanabilmektedir. Nanoteknoloji hayatımızın birçok alanında kolaylık sağlamaktadır. Nano yapıları materyaller nanoteknolojinin temel yapısı olarak bilinmektedir.

İnsanların yaşam kalitesini artırmaya yönelik olarak günümüzde teknoloji alanında kaydedilen gelişmeler giderek artmaktadır ve nanopartiküllerin üretimi konusu, özellikle dikkatleri üzerine toplamıştır. Nanopartiküller (NP) 100 nm'den daha küçük boyutta ve yüksek yüzey enerjisine sahip olan parçacıklardır [12, 13]. Sahip oldukları eşsiz özellikleri ile medikal, elektronik ve kozmetik uygulamalar başta olmak üzere birçok endüstride kullanılmaktadırlar [14]. Nanomateryallerin bazı uygulama alanlarını Şekil 2.7'da görülmektedir.



Şekil 2.7. Nanomateryallerin uygulama alanlarından bazıları [54]

Ürünlerin kullanım alanları şekline, yapısına, içeriğine ve boyutuna göre değişmektedir [55]. Hayatımızdaki kullanım alanları gün geçtikçe oldukça genişlemektedir. Yüksek aktiviteli katalizör, aktif madde ve aşınmaya karşı maddelerde direnç sağlamıştır. Optik uygulamalarda veri depolama hücrelerinde ve nano boyut seviyesinin kontrolünde kullanılmaktadır [57]. Nanopartiküller solunum yoluyla direk akciğerlere girmesinden dolayı akciğer kanserine yol açmaktadır.

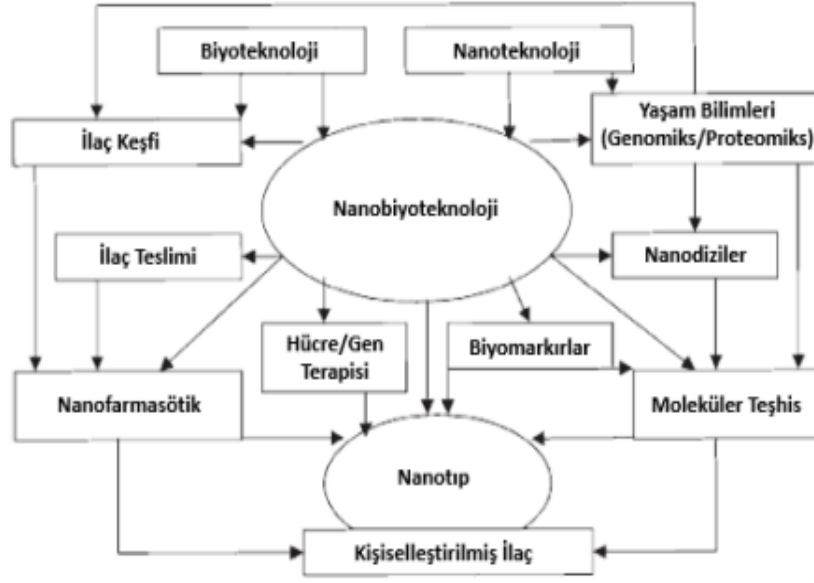
Nano boyuttaki malzemelerin insan vücuduna akıllı taşıyıcı sistemler sayesinde ulaştırılmıştır. Mikro elektromekanik sistemlerde motorlar üretilmesi sağlanmıştır. Biyoçipler üretilmeye başlamıştır. Tarım ve gıda sektörlerinde virüs ve patojenlerin bilinmesinde biyoanalitik nanosensörlerin üretimine olanak sağlanmıştır [58]. Hafıza kartları, televizyon, elektronik cihazlar, bataryalar, iletişim sistemi, kaplamalar, alaşımlar, sensörler, lazerler, arıtma sistemleri, tekstil, boyalar, inşaat malzemeleri, tıpta görüntüleme cihazları gibi alanlarda kullanımları bulunmaktadır.

Nanoteknoloji malzemelerin ağırlığını azaltarak havacılık ve uzay araçlarının üretiminde maliyetini düşürmektedir [59]. Nanotıp, insan vücudunu moleküler boyutta izleme, tedavi etme, gibi imkânlar sağlamıştır. Alanına göre ilaç veren makineler, teşhis ve tedavi amaçlı nanorobotlar gelişmiştir [60,61]. Fosil yakıt endüstrisinde verimliliği arttırarak çevrenin daha temiz olmasını sağlamaktadır [59].

Tarımda bitkiler için zirai ilaç kullanımı azaltılmasında, ıslah çalışmalarında, hastalık teşhisinde ve bitki hastalıklarını önlemede kullanılmaktadır [62].

Nanoteknolojinin günümüzdeki amaçları; nanometre imalatını ve analizini yapmak, nano boyuttaki cihazların gelişimi, kimyasal özelliklere sahip sistemlerin gelişmesi ve az malzemeli enerji kullanımı amaçları arasındadır [63].

Nanopartiküllerin gündelik hayatımızda da kullanımları söz konusudur. Bunlar, dış macunları, rujlar, deterjanlar, güneş koruyucular, şampuanlar, camlar, seramikler, mürekkepler, kağıtlar ve boyalardır [64, 65]. Şekil 2.8'de nanoteknolojinin bağlantılı olduğu alanlar vardır.



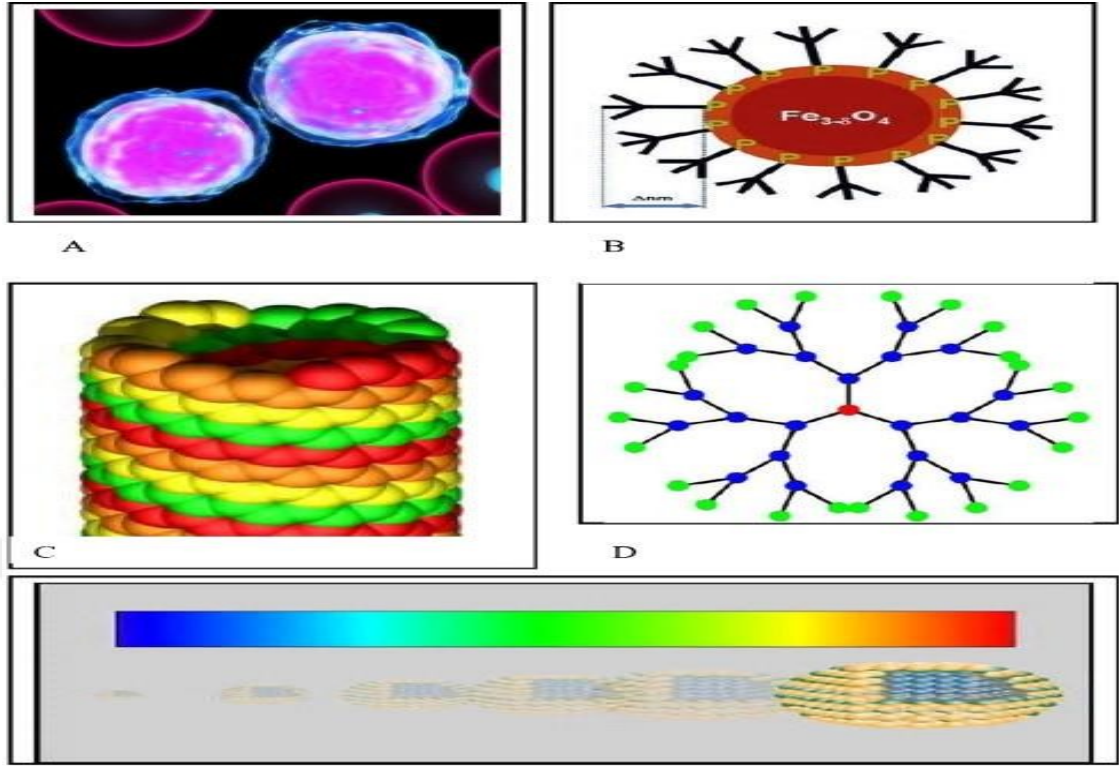
Şekil 2.8. Nanoteknolojinin bağlantılı olduğu alanlar [66].

Nanoteknoloji, daha birçok değişik alanlarda da kullanılmaktadır. Nanopartiküller geniş materyal çeşitlerine sahip olmasından dolayı birçok kullanım alanlarına olnak sağlamıştır. Nano bilim kapsamı altında fizik, biyoloji, kimya, manyetik ve uzay alanlarında da birçok uygulama ve kullanım alanları bulunmaktadır.

Nanoteknolojinin hayatımıza sağladığı birçok avantajlarının yanı sıra dezavantajları da bulunmaktadır. Kuantum etkisi, cihazın rijitliği, sürtünme ve aşınma, termal titreşimler ve atomik boyutta yapışma olarak bilinmektedir [67].

2.4.Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Birçok farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bulunmasından dolayı NP kütüphanesi kurulması sağlanmaktadır. Bunun sebebiyle sürekli yeni keşifler gelişmekte olduğundan nanoparçacık sınıflandırılması değişim göstermektedir. İlk olarak farklı birkaç sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar, 1-10 nm 'lik boyutlar olarak bilinen nano kümeler, 10-100 nm arasındaki kristalin olmayan nanomalzemelerinden kaynaklı nano tozlar, 100-1000 nm arasında bulunan tek kristalli nanomalzemelere de nano kristaller denilmektedir [68]. Şekil 2.9 'de NP sınıfları görülmektedir.



Şekil 2.9. NP 'lerin çeşitli sınıfları (A) lipozomlardaki NP 'ler (B) SPION NP 'ler (C) nanotüp NP' ler (D) dendrimerler (E) değişen optik özelliklere sahip QD 'lar [68]

2.4.1.Lipozomlar

1960'lı yıllarda lipozomlar ya da yağ vezikülleriyle ilgili yeni nano malzeme türlerini anlamaya çalışıldığı sırada ortaya çıkmıştır. Biyofizikte hücre zarı ve kanallarının özelliklerini anlamak için çok faydalı olduğu bilinmektedir. Proteinlerin salgısı, enerji dönüşümü, gen aktarımı ve sinyal iletimi olarak bilinir [69]. Lipozomların uygulama alanları, farmasötik sektöründe antikanser ve aşılardır. Lipozomlar, ilk olarak sentezlenmiş nanoparçacıklar ilaç taşımında kullanılmaktadır [70].

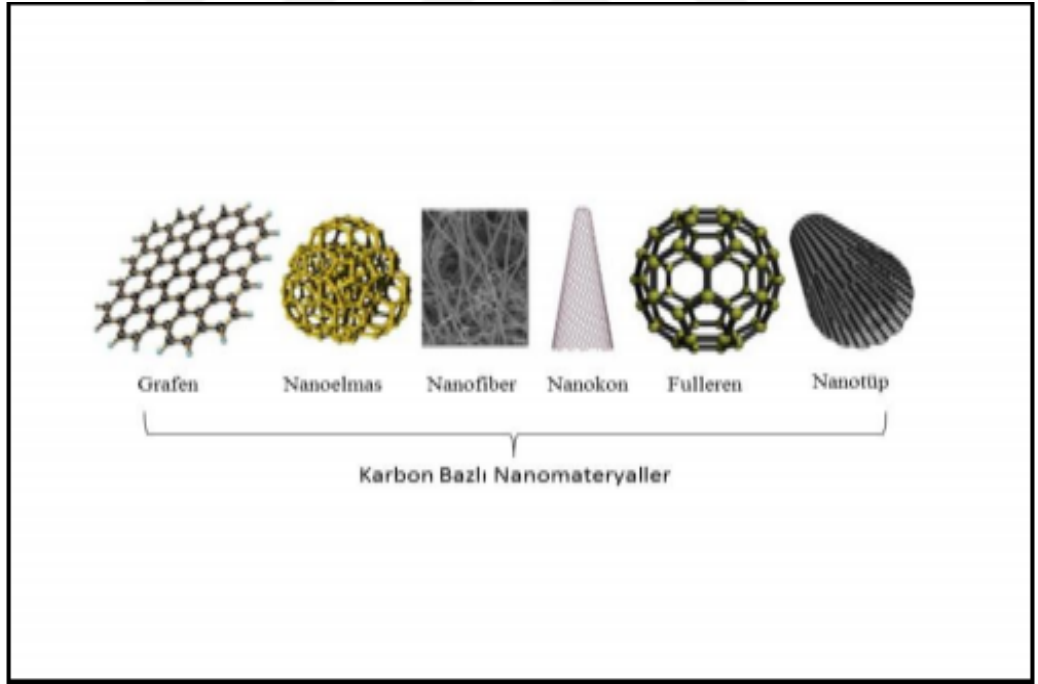
2.4.2.Süperparamanyetik NP'ler

Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (SPION), polisakkaritler, inorganik malzemeler (altın, silika) veya fosfolipitler, yağ asitleri, polimerler, peptidler gibi parçacıklar organik malzemeler ile kaplanmakta olan demir oksit çekirdeğine sahip inorganik bazlı parçacıklar sınıfına aittir [71]. Böyle özelliklerinden dolayı tümör tedavisinde ısı kaynağı, manyetik olan hücrelerin transfeksiyonunda kullanılabilen manyetik ayırıcılar, ilaç taşınma mekanizmalarında ve kontrast ayırıcı ajanlar gibi birçok uygulamalarda kullanımları bulunmaktadır [72,73].

2.4.3.Fullerenler:Buckyballar ve Karbon Nanotüpler

Karbon bazlı nanopartiküllerin iki ana sınıfı olarak fullerenler ve karbon nanotüpler bilinmektedir. Fullerenler, tüpler, elipsoitler ve içi boş küreler biçiminde bulunan ve bir tek karbondan yapılmış moleküller olduğu bilinmektedir. Fullerenlerin küresel biçimleri boru şeklindedir. Fullerenler elektriksel iletkenlikleri ile önemlidir. Diğer buckyballar ve karbon nanotüplerinde (CNT 'ler) olduğu gibi boru şeklindedir. Grafen yapraklardan oluşmakta olan çoğunlukla beşgen, altıgen ve heptagonal halkalarda grafit benzeri bir yapıya sahip olmaktadır [74,75].

Karbon nanotüpler ise boyutlarına göre iletkenlikleri değişim göstermektedir. Karbon nanotüpler mekanik dayanıklılığı açısından önemlidir. CNT 'ler nanoteknoloji ve malzeme bilimi konularında eşsiz özelliklere sahip olmaktadır. Vücut zırhı yapımında kullanıldığı da başka çalışmalarda var olduğu bilinmektedir [76]. Karbon bazlı nanomateryaller Şekil 2.10'da verilmektedir.



Şekil 2.10. Karbon bazlı nanomateryaller [77]

2.4.4.Dendrimerler

Dendrimerlerin çözeltide dairesel bir şekil alan yapıları vardır. Dendrimerler, radyal simetriye sahip, üniform büyüklükte ve yüksek derecede dallanmış yapılara sahiptir [69]. Sürekli olarak tekrar eden kovalent bağ oluşturma tepkimeleri ile çekirdekten çevreye

kadar tabaka halinde katlanmalar yapar. Dallanma noktasındaki büyümenin sonucu sonrasında her bir adımda artmakta olan dentrimerlerin yoğunluğudur [78]. Bu uygulamaların üretimi pahalı ve zor olduğundan dezavantaj oluşturmuştur. Ayrıcalıklı olarak yüksek kararlılıklarından dolayı reseptör ve antikorları işlevsel hale getirmiş, onları hedef göstererek ilaç taşınmasına da önemli bir ortam sağlamıştır [79].

2.4.5.Kuantum Dotlar

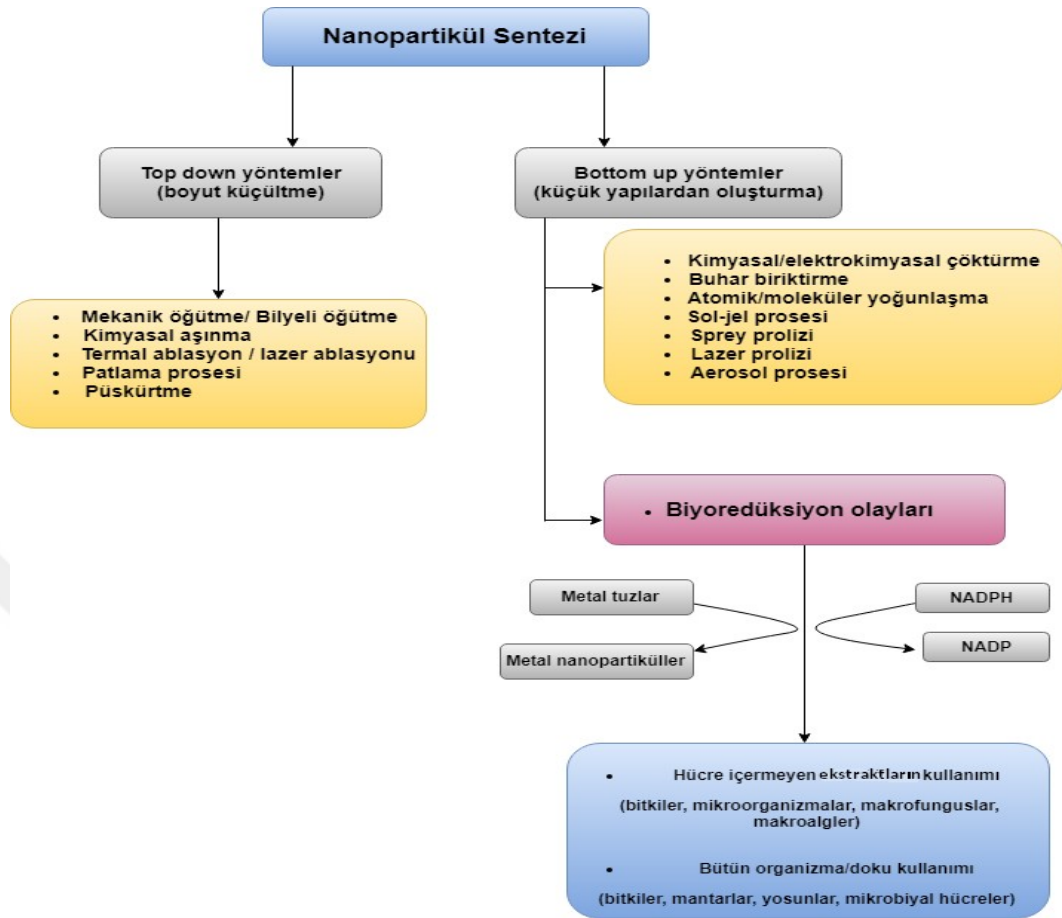
Kuantum dot (QD) diğer adıyla nanokristaller, boyutlarından kaynaklı spektrumun tüm renklerinde ışık yayan NP 'ler yarı iletken olarak bilinmektedir. Benzersiz özelliklere sahip olan QD 'lar, kızılötesi, görünür ışığın altında veya ultraviyole ışıkta ayarlanabilmektedir. QD 'lar floresan boyalarda ve hücresel görüntüleme tekniklerinde çok iyi olduğu bilinen araçların en değerlisidir [80].

2.4.6.Sıvı Kristaller

Sıvı kristaller, sıvı organik yapılardan oluşan farmasötiklerdir. Biyomolekülleri tekrarlamak için yağlar ya da proteinlerden doğal bir şekilde oluşmuştur. İltihaplanan bölgeyi direk hedef aldığı için ilaç taşınmasında güvenli bir yol olmaktadır.

2.5.Nanopartikül Sentezinde Kullanılan Yaklaşımlar

Sentez ve karakterizasyon tekniklerinin gelişmesi ile nanoteknoloji alanında çok fazla ilerleme sağlanmıştır. Nanopartiküller genel olarak kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler kullanılarak sentezlenmiştir. Genellikle NP 'lerin üretilmesinde aşağıdan yukarıya (Bottom up) ve yukarıdan aşağıya (Top down) olmak üzere iki yaklaşım vardır [81]. Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan yaklaşımlar Şekil 2.11'de görülmektedir. Nanopartiküller, şekillerine ve boyutlarına göre sentezlenmektedir ve sentezlenen nanomateryaller uygulama alanlarına göre nanopartiküllerin karakterizasyonuna bağlı olarak farklılıklar göstermektedir.



Şekil 2.11. Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan yaklaşımlar [15]

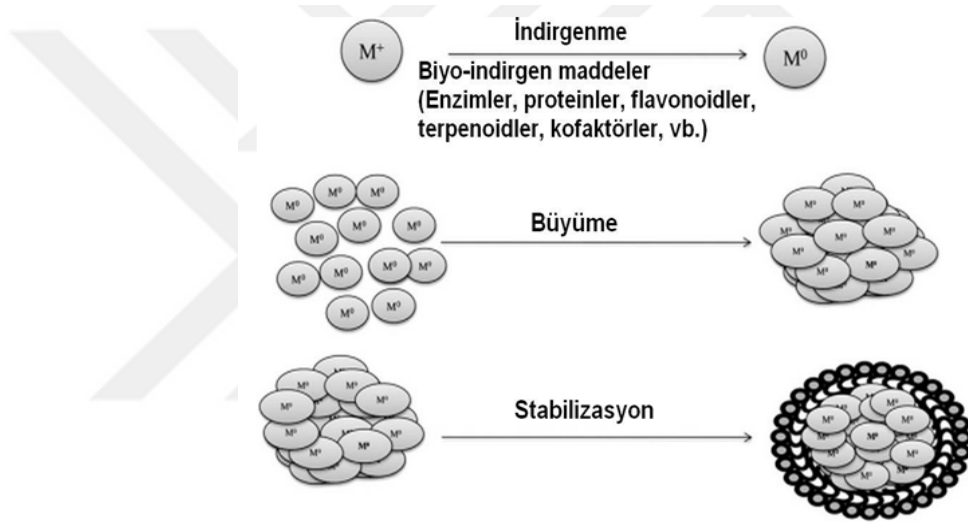
2.5.1. Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı (Bottom-up)

Bottom up yönteminde esas olarak atomlar ve moleküller yapıların kimyasal reaksiyon ile büyütülmesiyle inorganik ve organik yapıları partiküller oluşmaktadır [82]. Burada esas olarak nano yapılardaki malzemelerin birleşimi doğadaki kuvvetlerden ve DNA gibi yapıların kendi kendine birleşmesiyle karbon nanotüpler kontrol edilmektedir. Bu yöntemin uygulama sebebi, moleküler ya da atomik boyutların kimyasal reaksiyon ile büyüme işlemi yapılarak partikül oluşmasıdır.

İlk yöntem olarak bilinen gaz yoğunlaştırma metodu bottom up yaklaşımıyla çalışmakta olup bu da alaşım ve nano metal üretilmesinde kullanılmaktadır. Kimyasal / elektrokimyasal çöktürme, sol jel, kimyasal buhar kaplama, sprej piroliz ve kimyasal buhar yoğunlaştırma çok iyi bilinen yaklaşımlarındandır [83,84]. Günümüzde toksik etki oluşturmayan, çevreye yararlı ve çok ucuz biyolojik yöntem olarak ‘yeşil nanoteknoloji’ yer almaktadır [85]. Ayrıca bu yöntemler dışında zamanla elektrokimyasal sentez, ters misel, sonokimyasal çöktürme, hidrotermal sentez ve kimyasal indirgeme gelişmiştir.

2.5.2.Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı (Top-down)

Bu yöntemde hacimsel boyuttaki malzemelere dış etkenden kimyasal ve mekanik işlem görülerek enerji verildikten sonra malzemeler küçük parçalara yani nano boyuta kadar ayrılmaktadır [86]. Mekanik öğütme ve aşındırma bu yöntemde verilebilecek en iyi örneklerdir. Yaklaşımına kuru öğütme yöntemiyle buğdayın un haline dönüştürülmesiyle su tutma yeteneğinin artması da örnektir [87]. NP sentezinde yer alan büyüme, stabilizasyon ve indirgenme aşamaları metal NP 'ler ile stabilize edici ajanların absorpsiyon süreleri etkilenmekte olduğundan nanomalzemelerin stabilitesini, özelliklerini, uygulamalarını, sentetik rota tasarımı ve seçimini belirlemektedir (Şekil 2.12) [88].



Şekil 2.12 NP sentez mekanizmalarının temel şablonu [15]

2.6.Nanomateriyallerin Sentezinde Kullanılan Bazı Metotlar

2.6.1.Elektrokimyasal Sentez

Elektrokimyasal sentez metodu inorganik depozitleri oluşturmak için katı yüzeyler üstünde kullanılır. Son 10 yıldır periyodik cetvelin II-VI ve III-V grupları içinde olan elementlerin kendi aralarında oluşturdukları yarı iletken madde üretilmesinde kullanıldığı bilinir [89]. Bu metot toz halindeki metalik NP 'lerin sentezlenmesinde kullanılmaktadır. Reetz ve arkadaşları tarafından geliştirilen elektrokimyasal sentez metodudur.

Elektrokimyasal sentez metodu, elementel halde bulunan metalin, okside olması ve çözeltiliye geçen metal iyonların katotta indirgenmesi partiküllerin katot yüzeyindeki birikimi önler. Reetz ilk denemesinde bu metodla monodispers 4-8 nm boyutunda partiküller elde etmektedir [90]. Bir malzemeye elektrot şeklinde bağlanır ve elektrik

akımını vermektedir. Kaplama prosesi olarak bilinen bu metot, dekoratif uygulama ve korozyona dayanıklılık amacına dayalı olarak kullanılır. En çok kullanılan alanı yarı iletken üretmesidir. Elektrokimyasal sentezin maliyeti düşük, uygulama açık hava basıncında yapılır ve ayarlanabilen üretim hızına sahip olan avantajları bulunmaktadır.

2.6.2. Ters Misel/Mikroemülsiyon Metodu

Ters misel metodunda yüksek sıcaklığa, özel materyallere ve basınca gerek olmamakta, bu yöntemde tek reaksiyon ya da birden çok reaksiyon kolay bir şekilde gerçekleşmesi bilinmektedir. Bu metodla elde edilen tanecikler kolaylıkla kontrol altına alınabilmektedir [91,92]. Yüzeyin kararlı hale gelmesiyle oluşan nano boyutta su küreleri mikro emülsiyon sistemlerde gerçekleşmektedir.

2.6.3. Hidrotermal Sentez

Hidrotermal sentez metodunda; karışım ilk önce suyun kaynama noktasını geçecek düzeyde otoklav gibi kapalı sistemde ısıtılır. Daha sonra alınan numune yüksek basınçta buhar altında bırakılır ve sonuç olarak dar boyut şeklinde dağılımı kontrol edilir bileşim morfolojiye sahip tozlar elde edilir. Zirkon parçacıklar elde edilmiştir [93].

2.6.4. Metal Buhar Sentezi

Metal buhar sentezinde, başka bir kaynaktan elde edilen malzemenin kimyasal kompozisyonunun kontrol altında olduğu birikimi substrat üstünde bulunmaktadır. Metal buhar biriktirme aslında kaplama prosesi olarak bilinmektedir. Kaplama hızı hem değiştirilebilir hem de ayarlanabilir. Her türlü kaplama işlemi yapılmaktadır [94].

Fiziksel Buhar Depozisyonu (PVD) ve Kimyasal Buhar Depozisyonu (CVD) şeklinde olmasıyla metal buhar depozisyonu iki şekildedir. Çekirdeklenme, çökme ve biriktirme olmak üzere PVD üç şekildedir [94]. CVD kimyasal reaksiyon prosesi yöntemi ile mikron altı ölçekte partikül üretilmektedir [95, 96]. CVD metodu, ince film oluşturma nedeninden dolayı PVD 'den aşırı fazla karmaşıktır. Saf ve ince yapılı kaplamaları çok hızlı bir şekilde biriktiren yöntem olduğu bilinmektedir. Bu teknik, seramik ve yarı iletken kaplamalarda oldukça yaygındır [95].

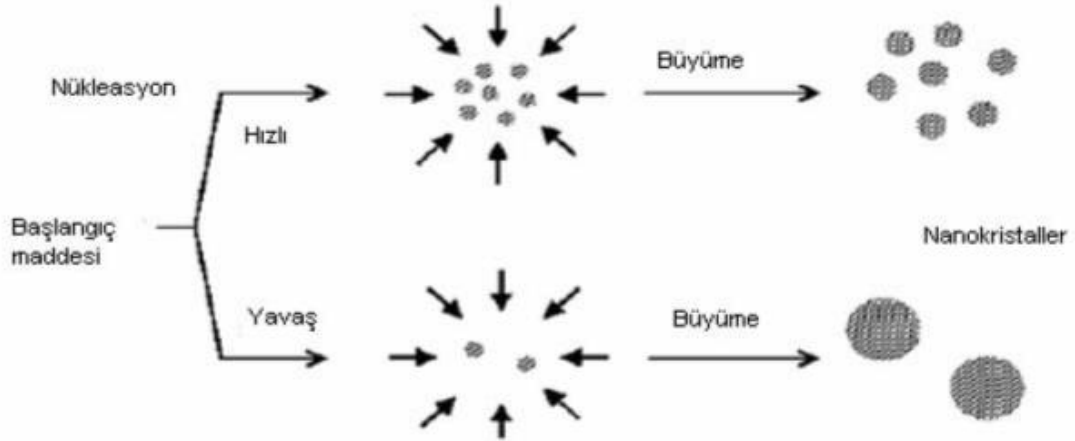
2.6.5. Sonokimyasal Depozisyon

Sonokimyasal depozisyon metodunda, moleküler olarak bir birleşme olmadan sıvı içerisindeki nano yapıların oluşturulması ultrasonik etki altında kimyasal yapıların çöktürülmesi, büyümesi ve şekillenmesi ile olmaktadır. Nanoyapılı türlerin birikimi

sıcaklığın etkisi altında sıvı filmi içerisinde oluşan kimyasallardır [97]. Sonikasyon bölümüne gönderilmeden önce gaz bölgesine geçmekte olan ürün sıcak ortamda genişmekte ve oluşan bu kabarcıklar ultrasonik ile hemen karışır ve şekil alır. Başlangıçtaki kimyasalı optimize etmek için düşük basınçlı buhar kullanılarak nano yapıları parçalar sonokimyasal olarak meydana gelir. Yaklaşık olarak sonokimyasal depozisyon, inert gaz atmosferinde 3 saat sürmektedir [98].

2.6.6. Kimyasal İndirgenme

Kimyasal indirgenme, metal iyonlarının reaktif indirgeyiciler ile metalik partiküle indirgenmesi olayına dayanmaktadır. Bu metot, hem organik çözücü hem de sulu kaplarda gerçekleşmektedir. Tepkime sonucunda ürün ile beraberinde aşırı doymuş çözelti oluşmaktadır. Kimyasal sistemi düşük enerji konfigürasyonundan uzaklaştıran çözelti aşırı doymuş olmasından kaynaklanmaktadır [99,100]. Kısa bir şekilde bu reaksiyonu anlatmak gerekirse, reaksiyon hızlı devam ederken çok sayıda küçük çekirdekler, reaksiyon eğer yavaş bir şekilde ilerliyorsa çekirdekler büyük ve az sayıda meydana gelmektedir (Şekil 2.13). Kristallenin parçacıklar hız ve kirlilik ile doğrudan bağlantılıdır. Çekirdeklenme, koloidal kararlılık, büyüme hızı, aşırı doymuşluk, işleme süresi ve geri kristallenme oluşan parçacığın morfolojisini etkilemektedir [99,100].



Şekil 2.13. Partikül büyüklüğüne reaksiyon hızının etkisi [101]

2.7. Biyolojik Sentezde Kullanılan Biyolojik Ajanlar

2.7.1. Mikroorganizmalar

Nanopartiküllerin biyolojik sentezi, mikroorganizmalar sayesinde meydana gelen enzim ve protein gibi biyomoleküller tarafından gerçekleşmektedir [102]. Mikroorganizmalar,

metal iyonların durumunu değiştirerek akümüle edebilmekte, bunun sayesinde de partikül sentezi için potansiyelini oluşturmaktadır [103]. Daha önceki çalışmalarda, mikroorganizmalar sayesinde hücre içinde ve dışında nanopartiküller oluşmaktadır. Işık, besin, sıcaklık ve Ph gibi karmaşık ortamlarda bakteri kültürü hazırlanmaktadır [102].

2.7.2. Algler

Nanopartikül sentezinde kullanılan algler, ucuz, etkili ve çevre dostu olması nedeniyle tarım, ilaç, tıp ve kozmetik sektörlerinde etkili olmaktadır [104]. Deniz algleri, yağ protein, fenolik bileşik ve mineral bakımından oldukça zengindir. Metallerin indirgenmesi ve kaplanması, alglerin içinde hidroksil ve karboksil bulunması nanopartikül sentezi yapımı için kullanılmaktadır [105].

2.7.3. Mantar ve Likenler

Hücre duvarı içinde bulunan indirgeyici ajanları ve NP sentezini sağlayan mantarlar, enzim ve protein içeriğinden dolayı yüksektir [102]. Ayrıca saprofit mantarlar çok yüksek oranda üretim yapmaktadır [106]. Bakterilere göre mantarlar daha ekonomiktir. Nanopartikül kullanımında akümüle özelliğinin yüksek olması ve metal iyon toleransı birçok avantaj sağlamaktadır [107]. Bütün sentez boyunca protein ve enzimler, kaplayıcı ve indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır.

2.7.4. Bitkiler

NP sentezinde işlemin kısa olması bitki özütleri sayesinde sağlanmaktadır [108]. Bitkiler kullanıldığında toksik madde kullanılmamakta, yüksek sıcaklık ve basınçta herhangi bir maliyete gerek kalmamasından dolayı üretimde büyük avantaj sağlamamaktadır [21]. Bitkisel sentez yöntemi çok kolay ve hızlı bir şekilde gerçekteşiğinden diğer yöntemlere göre daha iyidir [22]. Ekonomik ve çevre dostu olduğundan kristallerin yapısı ve stabilitesi kontrol altına alınabilmektedir [15]. Bitkilerde, protein, amino asit, enzim, polisakkarit, fenolik bileşik ve organik asit gibi bileşikler sentez boyunca kaplayıcı ve indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır [25,109].

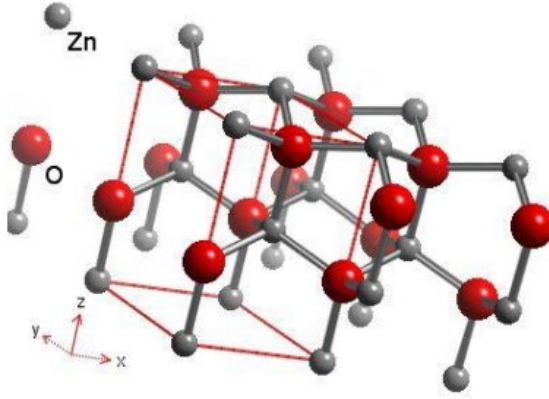
2.8. Zn, ZnO Nanopartikülleri ve Özellikleri

En ilgi çekici ve geleceği parlak bir metalik nanopartiküldür. Çinko, aktif özellikte ve gücü yüksek bir indirgeyici ajandır. Metalik nanopartiküllerden biri olan çinko, elementler arasında 23. sıradadır ve birçok endüstrilerde kullanılmaktadır. İnsan vücudunun kas, kemik ve deri gibi tüm dokularında bulunmaktadır. Diğer ağır metaller kadar zehirli olmadığından ilaç, kağıt, boya sanayisinde ve diş tedavisinde dolgu

yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca antibakteriyel özelliklerinden dolayı kendi kendini temizleyen cam ve boya endüstrilerinde ve güneş kreminde de kullanımları vardır [52,110]. Bunlar dışında genetik, tıp, biyoteknoloji, tarım ve bitki besleme gibi daha birçok kullanım alanları mevcuttur [111,112].

Çinko doğada mineral halde bulunmaktadır. Günlük hayatımızı kolaylaştıran kullanım alanları da bulunmaktadır. Bunlar, cam, plastik, seramik, kauçuk ve boyadır [113]. Topraktaki Zn konsantrasyonu diğer ana materyallerden çok fazladır [114]. Çinko, en çok üretilen nanopartiküllerdir. Çinko, yüksek kimyasal kararlılık ve elektrokimyasal eşleme katsayısına sahiptir. İçeriği açısından toksik etkisi fazladır. Bu yüzden ciddi bir sağlık sorunlarına sebep olmaktadır. Doğada bulunduğu mineralinin adı zinkittir [115]. Çinko bazı enzim sistemlerinde katalizör olarak yer almaktadır. Nişasta sentezi ve azot metabolizması Zn bulunduran enzimler için önemli olduğu bilinmektedir. Çinko, insan vücudunda az miktarda bulunduğundan nükleik asitlerin, minerallerin ve 300'ün üzerinde enzimin içeriğinde bulunmaktadır. Uyuşukluk, kusma, mide bulantısı ve ishal belirtileri çinko zehirlenmesi olarak bilinmektedir. Çinko demirin emilmesine etki göstermektedir [116,117].

Geleceğin malzemesi olarak ZnO gösterilmektedir. ZnO, çinko beyazı adıyla yaygınlık kazanmıştır. İnsan ve hayvan organları için çok önemlidir. Bağışıklık, oksidatif stres ve apoptotik etki olaylarında oldukça önemlidir [118]. ZnO antifungal madde olarak kullanılmakta ve nano yapıli partiküllerin kullanımında konsantrasyonları, şekli, yüzey alanı, boyutu yönlerinden etkilidir [119]. ZnO nano yapıli partiküllerin antibakteriyel aktivitesi, fiziko-kimyasal özelliği ve biyoyumluluğu yer almaktadır. Ayrıca son zamanlarda popüler olan çalışmalarda ZnO 'in toksik etkileri bulunmaktadır [120]. Çinkonun hekzagonal yapısının görüntüsü şekil 2.14 'de gösterilmektedir.



Şekil 2.14 Hekzagonal ZnO yapısı [121]

Suda çözünen özelliği nedeniyle bitkiler için uygun ve bitki metabolizması için de uygundur. RNA oluşumu, fosfat, karbonhidrat, protein ve membran geçirimsizliği açısından da etkilidir. Bitkileri hastalıklara karşı da korumaktadır. Bitkilerde çinko toksisitesi, hücre bölünmesine zarar verdiği için çekirdeğin hasarlı olmasına sebep olmaktadır [122]. Kök uzunluğunun ve klorofil miktarının azalmasına çinko'nun yüksek konsantrasyonu sebep olmaktadır [123]. Yüksek konsantrasyon bitkinin görünüşünü küçültmektedir, tohum ağırlığını ve sayısını azaltmakta fayda sağlamaktadır [124].

Bitkisel üretimde ve bitkilerin gelişmesinde büyük sorunlar ortaya çıkaran mikro element olarak bilinen çinko noksanlığı olarak bilinmektedir. Toprakta bulunan kireç, metal oksitler ve yüksek pH özelliklerinden dolayı çinko noksanlığı meydana gelmektedir. Çinko noksanlığı sebebiyle bitkilerdeki protein sentezi geriye gitmektedir [114]. ZnO NP' lerinin ucuz olması, UV ışınlarını bloke etmekte ve beyaz görünümü sayesinde avantajlıdır. ZnO nanopartikülleri, sadece kanser tedavilerinde değil birçok antimikrobiyal ürünlerin gelişiminde de kullanılmaktadır.

2.9.ZnO Nanoyapılarının Kullanım Alanları

ZnO nano yapılarının kullanım alanlarını, geniş bant aralığı, yüksek termal, mekanik ve kimyasal kararlılığı, düşük fiyat, elektriksel, piezoelektrik özelliği ve yüksek bağlanma enerjisi sağlamaktadır [125,126].

2.9.1.Elektronik Sektörü

ZnO nanopartiküllerin elektronik alanında uygulanması varistör yapımıdır. Başka bir kullanımı da biyosensörler için elektrot üretimidir. Biyosensör uygulamasında hızlı elektron transfer özelliği sayesinde ön plandadır. ZnO nanopartikülleri yüksek izoelektrik

özelliği sebebiyle düşük olan izoelektrik noktaya protein emilimi sağlamaktadır [127]. Boyaya duyarlı güneş pilleri üretiminde kullanılmaktadır [128].

2.9.2.Kimya Sektörü

ZnO nanopartikülleri boyalara eklendiğinde, dokumalara ve plastik türü malzemelerde eklendiğinde faydalı bir şekilde antibakteriyel ve mantar önleyici ajanlar olmaktadır [129]. Boya üretiminde ZnO kullanılması koku önleyici, antibakteriyel özellik ve UV emici özellikleri sağlamaktadır [130]. Kozmetik kullanımında, mantar ve bakteri gelişimini önlemekte ve UVA ve UVB ışınlarına karşı korumasından dolayı güneş kremlerinde kullanılmaktadır [129,131]. Tekstil ürünlerinde ise antimikrobiyal özelliktedir.

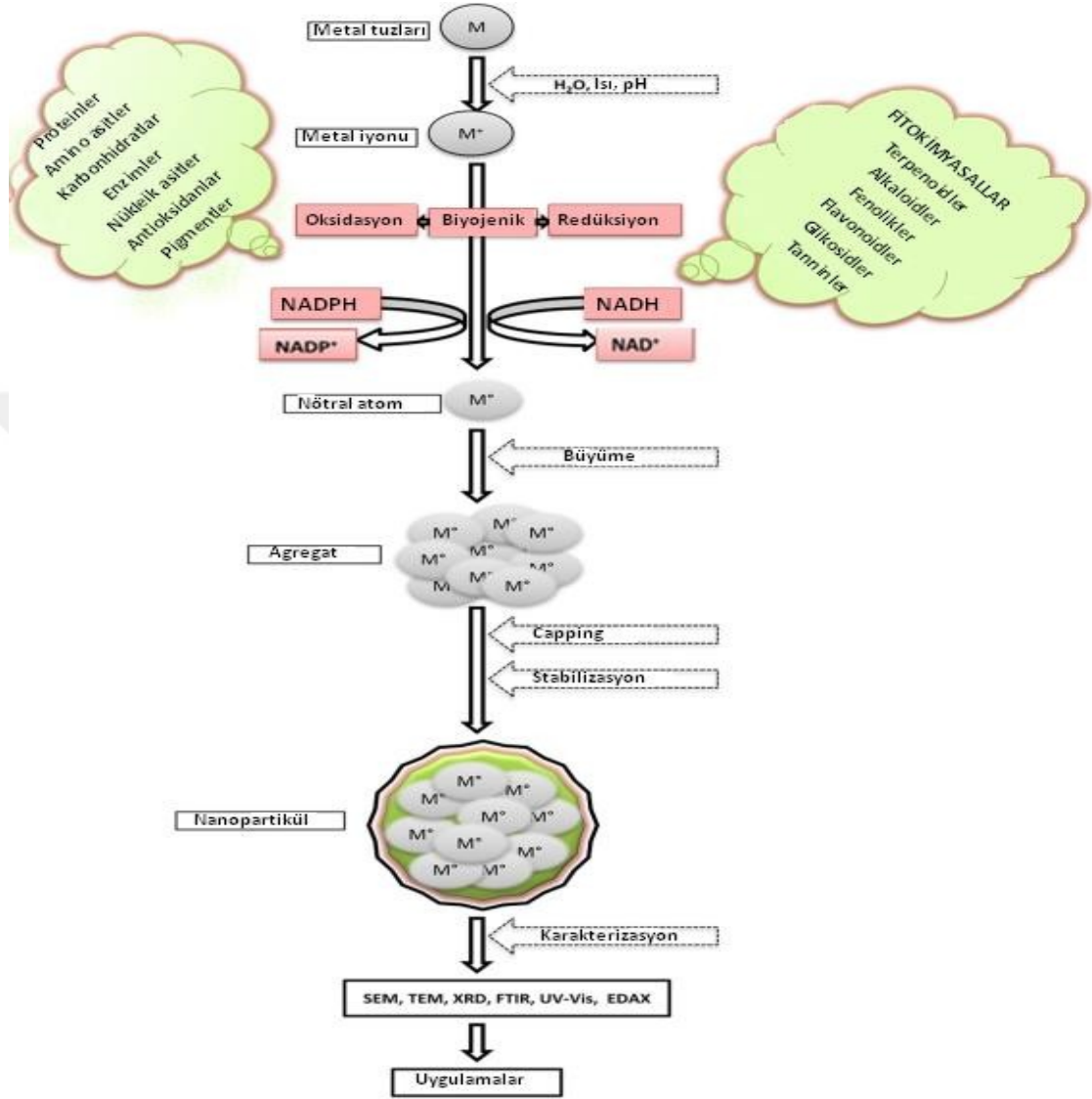
2.10. NP Biosentezi (Yeşil Sentez)

Nanopartikülleri sentezlemek için kullanılan yeşil sentez tekniği, diğer yöntemlere göre daha hızlı ve kolaydır. Yeşil sentez yöntemi, biosentez adıyla da bilinmektedir. Esas olarak, basit yapılardan karmaşık yapılar sentezlemektedir. Bu yöntem, kimyasal materyallerle ve canlı organizmalarla (mantarlar, bakteriler, bitkiler, algler) yapılan işlem sayesinde NP malzemeler elde etmektedir. Biosentez yöntemi diğer NP sentez yöntemlerine göre maliyeti çok az, çevreye uyum sağlayan ve toksik olmayan özelliklerinden dolayı ilgisi artmıştır [81,132]. Yeşil sentezin bu avantajlarından dolayı biyolojik yöntemle sentezlenen metal nanopartiküllerin kullanılması özellikle tıbbi uygulamalarda önemli olduğu bilinmektedir.

Son yıllarda çevre kirliliği gibi sorunların artması nedeniyle nanopartikül üretiminde çevre dostu olan yeşil sentez metodu ilgi odağı olmaktadır. Yeşil sentez metodunun yapıldığı birçok çalışmada sentezlenen nanopartiküllerde etkinlik sağlamıştır. Nanopartiküllerin yeşil sentezinde indirgeyici ajanlar olan bitki, mikroorganizma, mantar dengeleyici özelliklere sahiptir. Çevresel olması, güvenli olması ve %100 verim sağlaması yeşil sentez işleminin gerçekleştiğini göstermektedir.

NP' leri sentezlemek için, bitki dokusu ve meyveleri, bitkilerin tümü, bitki ekstraktları, mikroorganizmalar ve deniz alglerinin kullanıldığı bilinmektedir. Mikroorganizmalarda ve bitkilerde bulunan enzimler, fenolik bileşikler, proteinler, aminler ve alkaloidler NP sentezinde kullanılan indirgeme mekanizmasıdır [133,134-135]. Toksikite sorunu bitkiler tarafından tutulmasıyla azalması sağlanmıştır [136]. Bunların yanı sıra

kontaminasyondan bağımsız, büyüklük ve morfoloji açısından boyut olarak büyük NP'ler üretilmektedir [15,137]. NP sentez mekanizması şekil 2.15 'de gösterilmektedir.

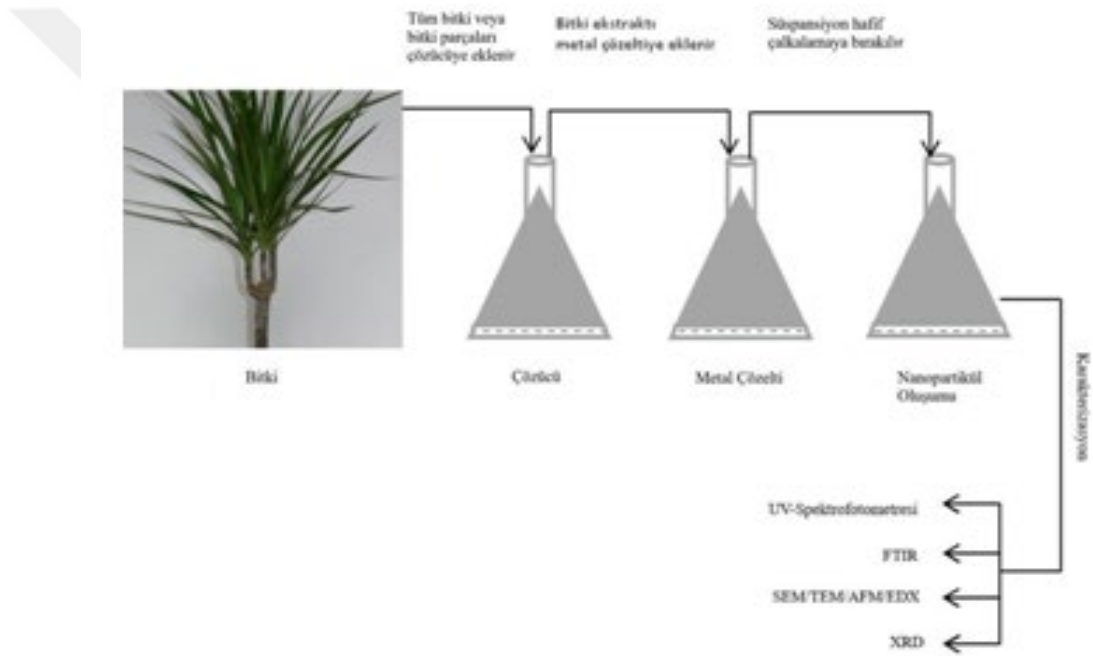


Şekil 2.15 Biyolojik olarak yönlendirilen NP sentezinin mekanizması [138]

Yeşil sentez yoluyla sentezlenen metal nanopartiküllerin üretim aşamasında sıcaklık, pH, çalkalayıcı, uygulama süresi, substrat ve redükleyici ajanlar gibi faktörler önemlidir. Ayrıca biyosentez tekniği ile sentezlenen nanopartiküllerin elde edilmesi süresi boyunca toksik kimyasalların kullanılmaması, nişasta ve proteinle etraflarının kaplı olmasının sebebiyle biyomedikal uygulamalarda kullanımı uygun olarak gerçekleşmektedir. Diğer bir adı da yeşil kimya olarak bilinmektedir.

2.11. NP'lerin Bitkiler Aracılığı ile Sentezi

Bitki, kökleriyle su ve inorganik bileşikleri emerek yapraklardaki besinleri, klorofili kullanarak fotosentez işlemini gerçekleştirmektedir [139]. Fiziksel veya kimyasal işlemlerle bitki ekstraktı (özütü), karışımdan sindirim, damıtma ve mekanik ayrılma olayıdır [140]. Bitki ekstraktı sayesinde hücre kültürü hazırlama ve mikrobik hücre büyümesi kolaylıkla gerçekleşmektedir. Bitki aracılığıyla yapılan biyosentezin avantajları; güvenli ve kolay kullanım, maliyeti az, tek seferde basit işlem, kararlı malzeme üretimi gerçekleşmekte ve çevre dostudur [141,142]. Bitki aracılı biyosentez için herhangi bir örnek deney şekil 2.16 'de görülmektedir.



Şekil 2.16 Bitki aracılı biyosentez için örnek deney [143]

2.11.1.Bitki Ekstraktlarıyla NP Sentezini Etkileyen Faktörler

İnkübasyon süresinin uzunluğu, pH, reaksiyonun sıcaklığı ve bitki konsantrasyonu nanopartikülün boyutunda, nükleasyon süresinde, şeklinde ve stabilitesinde değişim görülmektedir. Nanopartiküllerin boyutu, ortamın pH'ı ile kontrol altında tutulmaktadır. Sıcaklık, altın nanopartiküllerinin oluşumunda artış meydana getirmektedir. İnkübasyon süresi, reaksiyon süresi boyunca gereklidir. Bitki ekstrat konsantrasyonu ile sentez doğru orantılı olduğundan konsantrasyon arttıkça artış göstermektedir [21,144].

2.11.2.NP Sentezinde İndirgeyici Ajan Olarak Doğal Ürünler

İndirgeyici ajanlar olarak bitki türlerinde kumarinler, terpenoidler, flavonoidler, antrakinonlar ve ksantonlar bulunmaktadır. Sebze ve meyvelerde flavonoidler, şarap ve çay gibi içeceklerde fenolikler kullanılmaktadır. Nanopartikül sentezi için güçlü indirgeyiciler olduğundan potansiyeli yüksektir [145].

2.11.3.Bitki Materyalinin Seçimi, Toplanması ve Tanımlanması

Bitki türlerinin seçimi, toplanması ve tanımlanmasında farklı teknikler kullanılmaktadır. Spesifik sekonder metabolitler bitkinin spesifik kısımlarında bulunur. Bitkinin herhangi bölümünün yüksek metabolit seviyesinin içeriğini bilmek için ekstratların fitokimyasal aralığının olması gerekmektedir [145].

2.12.Biyolojik Sentez Sonrası NP ayrıştırılması

2.12.1.Ultrasantrifügasyon ve Liyofilizasyon

Nanopartiküllerin ayrılması için en çok kullanılan yöntemdir. Islak kimyasal tekniklerle hazırlanan nanopartiküller, farklı rpm ' lerde santrifüjlenir ve çöktürme sayesinde süpernatant ile alınma işlemi yapılır. NP'leri kuru toz olarak liyofilizatörde dondurup buharlaştırma yöntemi ile gerçekleştirilir [146,147].

2.12.2.Manyetik Ayırma Yöntemleri

Bu yöntem demir oksit nanopartikülleri için spesifik özelliktedir. Mıknatıs üzerine nanopartikülün dispersiyonu bulunan kaplarda materyalin türüne, mıknatısın yoğunluğuna ve nanopartiküllerin boyutuna göre değişim göstermektedir. Süpernant atılmasıyla nanopartiküller deiyonize su ile yıkanmaktadır. Son olarak kalan su buharlaştırılara kuru toz oluşumu gerçekleştirilir [148].

2.12.3.Membran Filtrasyonu

NP' lerin tutulması ile büyük boyuttaki partiküller oluşmaktadır. Ultrasantrifügasyon ve liyofilizatör teknikleriyle kuru toz elde edilmektedir [149].

2.12.4.Kalsinasyon

Kalsinasyon yöntemi, inorganik ve metalik nanopartiküller açısından uygun bir teknik olarak bilinmektedir. Bu yöntemle oluşan çökelti, filtrasyon yöntemi (NP' lerin ayrılması) ile toplanmaktadır. Klasik ayırma yöntemleri, nano yapıları parçacıkların boyutuna göre değişiklik göstermektedir [148].

2.13. Biyolojik Sentez Sonrası NP'lerin Karakterizasyonu

2.13.1. UV-Görünür Absorpsiyon Tekniği

Bağ elektronların uyarılması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Uyarılma enerjisinin ısıya dönüştüğü durum en yaygın çeşitlerinden biridir [150].

2.13.2 Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Kızıl ötesi ışının, yoğunluğa karşı dalga boyunu ve sayısını ölçmekte olan yöntem kimyasal bir tekniktir. FTIR, stabilizasyon için kullanılmakta olan biyomolekülleri tanımlamaktadır. Bitki ekstratları ile nanopartikül moleküllerinin yapısını FTIR belirlemektedir [151, 152].

2.13.3 X-ışını Kırınımı (XRD) Tekniği

Madde fazı ve kristal yapısı için X-ışını difraksiyonu (XRD) analizi yapılmaktadır. Kristal atomları XRD girişim efekti üretimi yapmaktadır. Bu efekt ise desenin kırınımı ve maddenin kimliği hakkında bilgi vermektedir [153].

2.13.4 EDX tekniği / Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi

Bu teknik, kalitatif ve kantitatif tekniği ile yüzeydeki komponentlerin analizini gerçekleştirmektedir. Taramalı elektron mikroskobu yöntemi ile birlikte çalışmaktadır. Katı ürün elektron bombardımanı altında kamasiyla X-ışını emisyonu ortaya çıktığında EDX ölçümünü yapmaktadır [150].

2.13.5 TEM tekniği veya Transmisyon Elektron Mikroskobu

Bu yöntemde, sabit elektron demeti kullanılmaktadır. TEM, kolonlar sayesinde vakum sistemini kumanda edebilmektedir. Bu sistemler; aydınlatma, mercekleme, büyütme, kimyasal analiz ve veri kayıt sistemleridir [154].

2.13.6 SEM tekniği veya Taramalı Elektron Mikroskobu

NP'lerin morfolojik özelliklerinin analizi SEM yöntemiyle gerçekleştirilmektedir. SEM, numune üst yüzeyini görüntülenmeyi, yüksek enerji bulunduran elektron demetleri sayesinde gerçekleştirilmektedir [155].

2.14. Sitotoksisite

Sitotoksisite, herhangi bir moleküler olaylara bağlı olarak hücrelerde ve yapılarında meydana gelen hasar olarak tanımlanmaktadır. Bu hasar moleküler olayların meydana gelmesinde makromoleküler sentezi engellemektedir. Sitotoksisite, hücrelerde bulunan maddelerin miktarına ve süresine bağlı olarak farklı derecelerde hasarlara yol açmaktadır.

Hücrelerin sitotoksik olayı sonucunda nekroz, apoptoz ve otofaji gibi ölümleri gerçekleşmektedir. Sitotoksikite testleri, in-vitro ortamında hücre kültürleri yardımı ile gerçekleştirilerek ve bunun sonucunda oluşabilecek toksik reaksiyonlar oluşmaktadır. Farklı sitotoksikite yöntemleri ve testleri vardır. Morfolojik yöntemler, hücrenin morfolojik değişimini ve toksik etkilerini belirlemektedir. Hücre sayılarının ölçülmesinde membran bütünlüğü testi yani biyokimyasal yöntem kullanılmaktadır [156]. Metabolik aktivite testleri, mitokondriyal aktiviteyi ölçmektedir. Sitotoksikite yöntemleri arasında yer alan MTT (2,5-difeniltetrazolyum-bromür, 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)) testi, kolorimetrik olarak canlı hücre sayısını belirlemek için yapılan yöntemdir. MTT testi, tripan mavisi ile boyama yapıp mikroskopta hücre sayımının belirlenmesi metodu zor olduğundan dijital ortamda sayımın yapılması daha çok kullanılmaktadır [157].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. *Nasturtium officinale*



Şekil.3.1. *Nasturtium officinale* 'nin genel görünüşü

Asya ve Avrupa ülkerinden köken alan *Nasturtium officinale* çok yararlı bir su bitkisidir. Karada ya da suda yaşayabilen tek yıllık, iki yıllık, çok yıllık otsu nadiren de çalı gibi olabilir. Soğuk ve temiz sularda yerleşim göstermektedir. Besin olarak tüketilen yararlı su bitkisi türlerindedir. Hızlı büyüyen su teresinin yaprakları 8-10 cm genişliğindedir [2, 3]. Su teresinin içinde bulunan antioksidan kanser gelişimini azaltmaktadır.

Nevşehir'in Gülşehir İlçesi, Eskiyaılacık, Kapadokya Havaalanı Yolu üzeri, Çakırcan Alabalık Tesisleri yanındaki sulak alandan (38°46'35.5"N 34°33'30.4"E) *Nasturtium officinale* bitkisi toplanmıştır. Toplanan örnekler Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda toz kalıntılarında arındırmak için birkaç kez distile su ile yıkanarak 10 gün süre ile kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan *Nasturtium officinale* yaprakları öğütüldükten sonra çalışmalarda kullanılmıştır.

3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar, Malzemeler ve Cihazlar

- ZnO, 99.9% Pure, APS: 70 nm
- Kurutma Kağıdı
- Eldiven
- Lam
- 50 ml'lik Tüp
- 15 ml'lik Tüp
- 400 ml'lik Beher
- pH metre
- Hassas Terazi /Bel
- Nofrost Buzdolabı /Beko B 9472
- Büyütme Kabini /Nüve
- Santrifüj /Karıştırıcı CombiSpin /Biosan
- Yüksek hızlı mini santrifüj /Fisherbrand
- Hücre Kültür Plakası

Deneyleerde kullandığımız bütün plastik malzeme ve sıvı sterilizasyonu 121°C, 1,5 atmosfer basıncında 20 dakika otoklavda, cam ve metal malzeme sterilizasyonu 180°C, 2 saat kuru hava sterilizatöründe, sıcaklıktan bozulabilecek sıvı solüsyonların sterilizasyonu da steril tek kullanımlık 0,22 mikron çaplı filtrelerden geçirilerek sağlanmıştır. Çalışmaların hepsi ışıktan korunarak aseptik koşullarda gerçekleştirilmiştir.

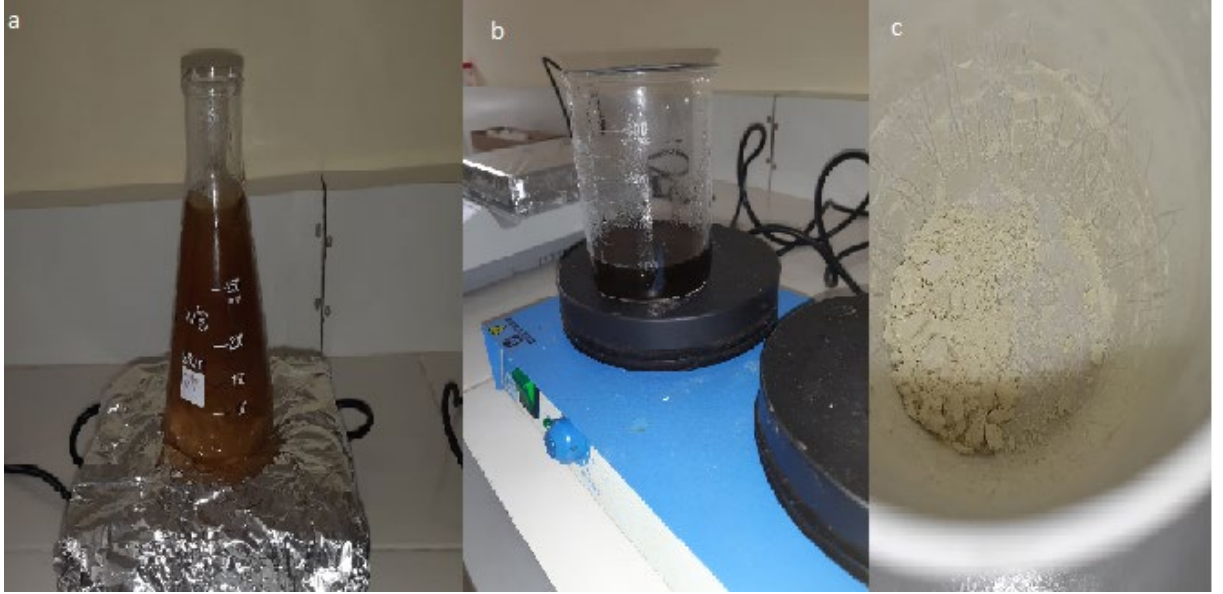
3.3. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Bu çalışmada *Nasturtium officinale* bitkisi kullanılmıştır. *Nasturtium officinale* bitkileri Nevşehir ili Gülşehir ilçesi sınırlarından geçen sulak alanlardan toplanmıştır. Toplanan örnekler Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiştir. Laboratuara getirilen bitki örnekleri üzerindeki toz kalıntılarından arındırmak için birkaç kez distile su ile yıkanmış ve 10 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan *N. officinale* yaprak örnekleri öğütüldükten sonra çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.

3.4. *Nasturtium officinale* Yaprak Özütü ile Zn Nanopartiküllerinin Sentezi

3.4.1. ZnO NP Biyosentezi

ZnO NP sentezi için *N. officinale* bitki özütü ile çinko nitrat ($Zn(NO_3)_2$) solüsyonu kullanılmıştır. 10 gr kurutulmuş bitki yaprağı 100 ml distile su içerisine atılıp 60 °C’de 1 saat süre ile ısıtılmış ve ardından oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğutulan solüsyon Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzölmüş ve buzdolabında saklanarak deneylerde kullanılmak üzere hazır hala getirilmiştir. Buzdolabından alınan bitki özütü, distile su ile 250 ml’ye tamamlanarak çalışmalarda kullanılmıştır. Daha sonra çözeltiye $Zn(NO_3)_2$ solüsyonu eklenerek 150 °C’ de 5-6 saat süre ile karıştırılmıştır. Reaksiyon sonunda solüsyon renginin koyulaştığı gözlenmiştir. Oda sıcaklığına getirilen solüsyon daha sonra 4500 rpm’de 15 dakika süre ile 2 defa santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen süpernatant 400 °C’de 2 saat boyunca yakılmıştır [158]. Yakma işleminin ardından elde edilen toz halindeki beyaz partiküller karakterizasyon çalışmaları için kullanılmıştır.

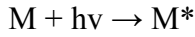


Şekil.3.2. ZnO Sentez Süreci a-*Nasturtium officinale* özütü b- ZnO NP Solüsyonu (6 saat sonra) c- Toz halinde ZnO NP

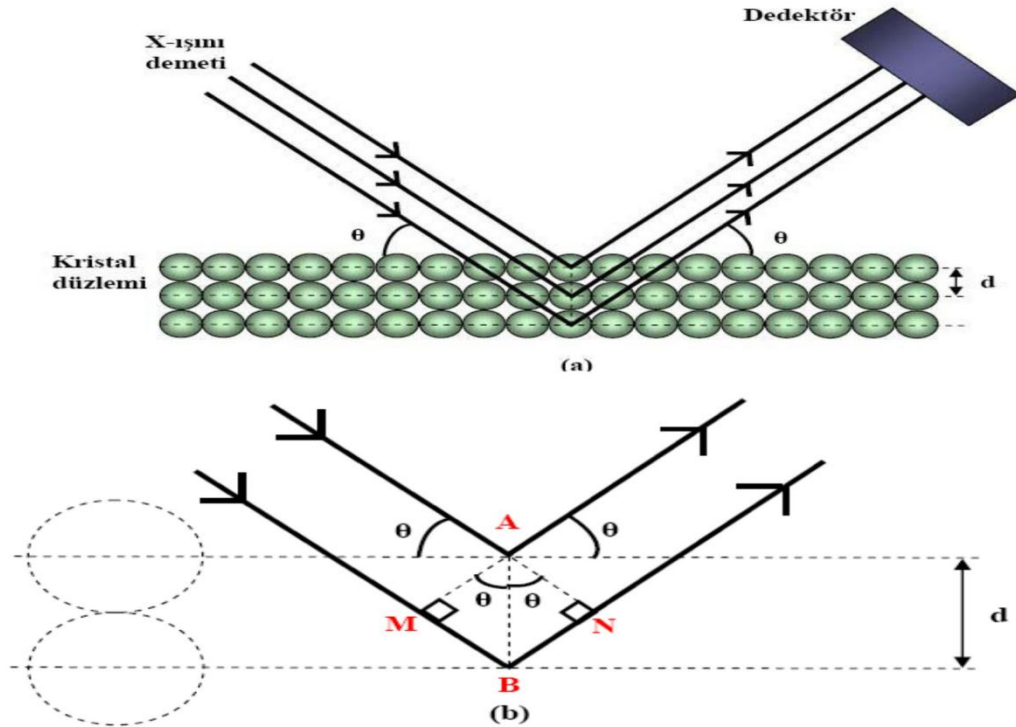
3.4.2. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

N. officinale yaprak özütü ile sentezlenen metal nanopartiküllerinin karakterizasyonu (SEM görüntü alma, SEM EDX analizi, SEM-Kaplama, Parçacık boyutu ölçümü) Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi’nde (ERNAM) yapılmıştır.

Ultraviyole ve görünür bölge spektroskopisi: Bu bölgede gerçekleşen bağ elektronlarının uyarılması meydana gelen absorpsiyon sayesinde gerçekleşmektedir. Ultraviyole veya görünür ışını absorplama işlemi moleküler bir M türü olaydır. Bu olay elektronik olarak uyarılmış M^* türünün M ile $h\nu$ arasında gerçekleşen reaksiyondur.



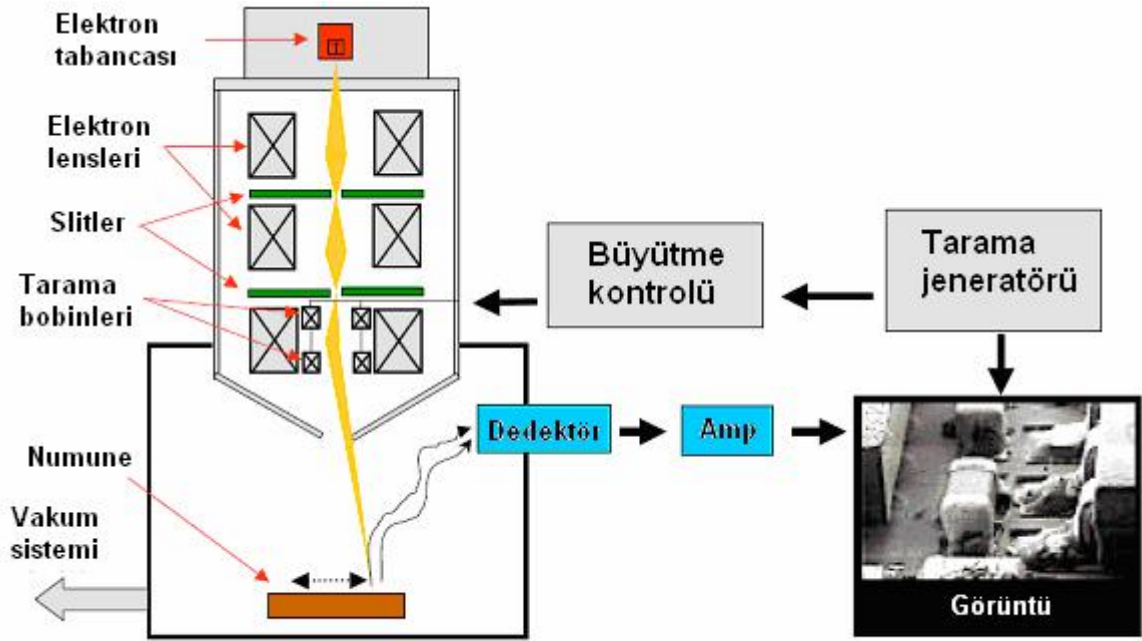
X- ışını kırınımı: Atom kristalleri arasındaki mesafeyi ve geometrik şekli XRD analizi ile gerçekleşmektedir. Bu yöntem pratik, çok yüksek hıza sahip ve daha uygundur. XRD yönteminin çok hızlı olması, fazla miktarlardaki x-ışını verilerini bilgisayara işleyebilmektedir. Birim hücre boyutlarındaki bir kristal düzleminin atom düzlemleri arasındaki uzaklığı gösteren tekniktir. Ayrıca x-ışınları düzenli bir ortamdaki kristalden saçılırsa, saçılma ile merkez arasındaki uzaklık x-ışınının aynı dalga boyundan saçılımları olumlu ya da olumsuz ışınlar geçiş yapmasına kırınım denilmektedir.



Şekil.3.3. (a) X-ışını kırınımının bir kristal düzlemde meydana gelişi (b) X-ışınlarının kırınımında aldığı yolların uzunlukları arasındaki farkı göstermektedir.

Taramalı elektron mikroskopisi: Yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanmış ve bu esnasa taratılırken elektron ve numune atomları arasında oluşan girişimler sonucunda oluşan etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve

sinyal güçlendiricilerden geçmesi sonucunda katot ışın tüplerinin ekrana yansması sonucunda SEM görüntüsü elde edilmiş olur. SEM, çok büyütülmüş materyal yüzeylerinin görüntüsünü vermektedir. Çok kolay olan SEM görüntüsü, çözünürlüğü birkaç nanometreye kadar yaklaştırır ve 10- 300.000 kata kadar da büyütmeyi sağlamaktadır. Bize yakın yüzey bileşimi hakkında da bilgi vermektedir. SEM cihazının akım gelişimi Şekil 3.4’de gösterilmektedir.



Şekil.3.4. SEM cihazının işlem şeması

Dinamik ışık saçılması: Sentezlenen NP ‘lerin boyut dağılımlarının ölçümü, deiyonize su ile seyreltilen Zn NP ‘ler sonikasyon işleminden sonra parçacık analizi ile belirlendi.

Yüzey yükü ölçümü: Solüsyondaki Zn NP ‘lerin yüzey durumu ZETA ile belirlendi. Yüklemeden önce numuneler deiyonize su ile yıkandı ve tek kullanımlık ZETA hücreleri etanol ile durulandı ve ölçüm gerçekleştirildi. Zeta potansiyeli , koloidal parçacıklar ve potansiyel ölçümler arasındaki etkileşimin büyüklüğünün çok iyi bir indeksidir, koloidal sistemlerin kararlılığını değerlendirmek için kullanılır. Bu yüzden sonuçlarımızın orta stabiliteye sahip olması gerekmektedir.

FT-IR analizi: Bu yöntem sentezlenmiş NP‘lerin stabilizör olarak işlev gören biyo-organik bileşenleri göstermektedir. Numuneler 400-4000 cm^{-1} aralığındaki kızılötesi ışığına maruz bırakılarak analiz gerçekleştirildi.

3.5. ZnO NP 'lerin Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi, Hücre Kültürü ve MTT Testi Solüsyonu Hazırlanması

Çalışmamızda Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan satın alınan insan meme kanser hücreleri (MCF7, ATCC HTB-22) kullanılmaktadır. Bu çalışmada, hücreler inverted tıp ışık mikroskobu altında kontrol edilerek yeterli miktarda pasajlanıp 75 cm²' lik flasklarda analize hazır hala (9. Pasajdaki MCF7) getirilmiştir. Flask yüzeyindeki yapışkan hücreler 2 kez fosfat tamponu (PBS) ile yıkandıktan sonra 1X Tripsin/EDTA solüsyonu ile kaldırılmış, besiyeri ile nötrallendikten sonra falkon tiplerine aktararak 1200 rpm' de 5 dakika santrifüjlenmektedir. Daha sonra süpermatan atılarak üzerine 1 ml besiyeri ilave edilerek sayıma hazır, süspansiyon hale getirilmiştir. Çalışmalar 0,22 µm filtreden geçirilerek aseptik koşullarda ışıktan korunarak laminar akış kabini içerisinde yürütülmüştür.

Hazırlanan süspansiyon hücre solüsyonununun 10 µl ' si tripan mavisiyle 1:1 oranında 10 saniye boyandıktan sonra sayımı otomatik hücre sayım cihazında yapılmıştır. Kuyucuk başına her bir plaka için 10⁴ hücre/ 200 µl besiyeri olacak şekilde hücreler besiyeri ile seyreltilerek (1 kuyu hücresiz besiyeri= kör olmak suretiyle) plakaya etkilemektedir. Yapılan analizler için en çok 250 µl sıvı solüsyon içerebilen tabanı düz 96 kuyucuklu, steril kapaklı tek kullanımlık plakalara ekimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra %5' lik CO₂ ortamında 37 °C' de bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon ardından hücre besiyeri, 1, 5, 10, 20, 50 ve 100 µg/ml ZnO NP solüsyonu içeren besiyeri ile yer değiştirilmiştir. Daha sonra 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Deneysel çalışmalarda inkübasyona bırakılan hücrelerin plaka tabanına yapışması beklenmiştir. 24 saatin sonunda ise hücrelere hazırlanan farklı konsantrasyonlarda (dilüsyonlarda) analizi yapılacak numuler eklenmiştir. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra her bir kuyuya ışıktan korunarak 20 µl stok MTT çözeltisinden (5 mg/ml PBS içinde çözülüp filtrelenen MTT solüsyonu) ilave edilmiştir ve 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hemen ardından hücrelerin besiyerleri tamamen çekilerek 100 µl DMSO ilave edilmiş, plaka 15 dakika karanlıkta çalkalandıktan ve formazan kristallerinin çözünmesi sağlandıktan sonra multi- mod plaka okuyucu da 540 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Tablo 3. Sentezlenen nanopartiküllerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan Kimyasal Malzemeler	Katalog Numarası
DMSO	Applichem A3672
Tripsin/EDTA	Biochrom AG L2143
PBS	Sigma P4417
FBS	Capricorn Scientific H1-11A
MTT	Sigma -Aldrich 298-93-1

3.6. MTT Testi

N. officinale yaprak özütü ile sentezlenen Zn nanopartiküllerin MCF-7 meme kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde; hücre canlılığının hesaplanması ve IC50 değerinin belirlenmesi Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nde (AÜBİBAM) gerçekleştirilmiştir.

MTT yöntemi ilk kez Mosmann tarafından 1983 yılında hücre proliferasyonu yöntemi olarak bulunmuştur, aynı yıllarda kanser hücrelerinde kemoterapötik ilaçların etkisini araştırmak için kullanılmıştır. Apoptozun ve canlılığın erken evresindeki hücrelerin mitokondrileri aracılığı ile MTT solüsyonunda bulunan tetrazolium halkası hücrelerdeki dehidrojenaz enzimlerince reaksiyona girip parçalanarak formazan kristallerinin oluşmasına neden olur. Yani, sağlam hücrelerin mitokondrisinde bulunmakta olan dehidrojenaz enzimi sayesinde tetrazolium halkası parçalanarak formazana dönüştürülmektedir. MTT testi, hücre canlılığını, hücre aktivasyonunu ve hücre büyümesini ölçen güvenilir bir test olarak bilinmektedir.

MTT testi, mitokondriyal dehidrojenaz enzimine bağlı olarak canlı hücrelerin sarı renkli 3-(4,5- dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromürün suda çözünmeyen mor renge dönüşmesine bağlıdır. Mitokondriyal aktiviteyle rengin yoğunluğu direk ilişkilidir. Canlı hücrelerde aktivite olduğu zaman formazan kristalleri oluşmaktadır. Çünkü ölü hücre formazan kristallerini oluşturamamaktadır. Kısaca, MTT boyasının sarı rengi canlı aktivitesi sonucunda çözücü eklenmesiyle mora dönüşmektedir. Daha sonra bu renk değişimi mikropilaka okuyucusunda okunarak optik yoğunluk olarak veri elde edilmektedir [159]. Bölünmeyen hücrelerin fakat aktif olan hücrelerin belirlenmesinde aktif olarak MTT testinin kullanıldığı bilinmektedir.

BÖLÜM 4

DENEYSEL BULGULAR

4.1. ZnO NP Biyosentezi

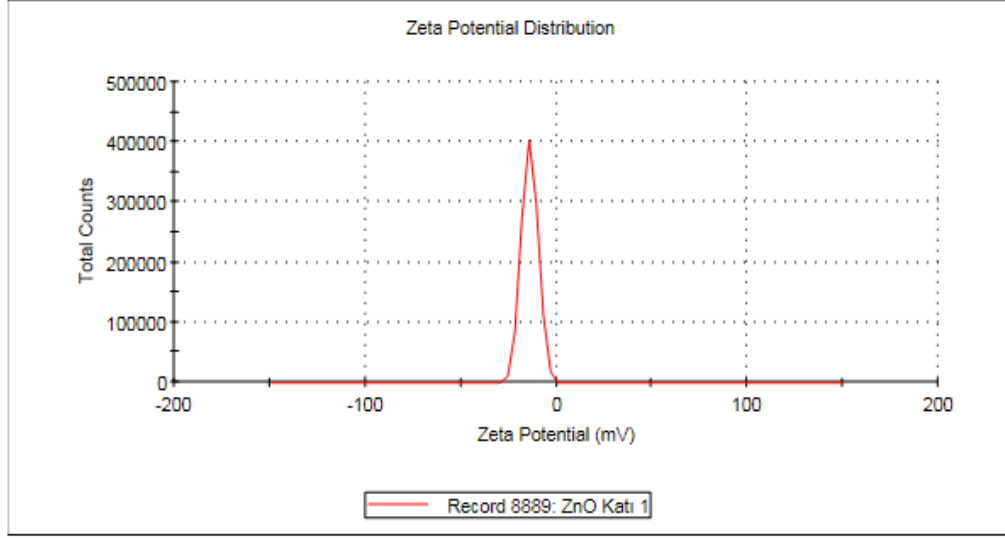
Çinko nanopartiküller *N. officinale* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlendi. Elde ettiğimiz bitki ekstraktı yeşil renkli, çinko nitrat solüsyonu renksizdir. 5 mM çinko nitrat solüsyonuna bitki ekstraktı eklendikten sonra ısıtma işlemi uygulanarak renk değişimi gözlemlendi. Çinko nanopartiküllerinin oluşumu sarı renkten koyu kahverengiye doğru renk değişimi göstermektedir.

4.2. ZnO Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

ZnO nanopartiküllerin boyut ve yüzey morfolojisinin görüntülenebilmesi için karakterizasyonu yapılabilecek şekilde hazır hale getirilmiştir. Bu işlemin ardından Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Yüzey Yükü Ölçümü (ZETA), X-Işını Analizi (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi (FT-IR) ve Enerji Dağılımlı X-ışını (EDX) analizi gerçekleştirildi.

4.2.1. Yüzey Yükü Ölçümü

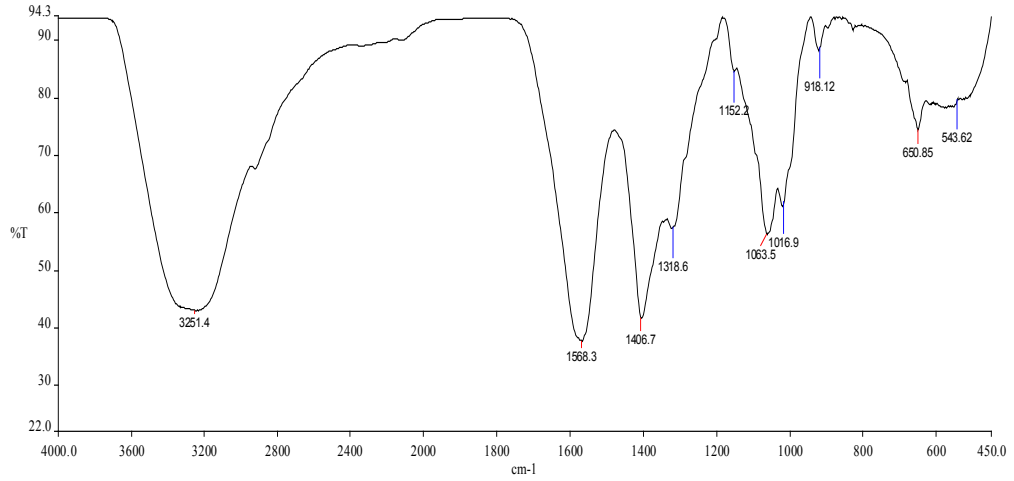
Nanopartiküllerin yüzey yükleri zeta analizleri ile belirlenmekte ve nanopartiküllerin kararlılığının yorumlanmasını sağlamaktadır. Nanopartiküllerin mutlak değer zeta potansiyelinin yüksek çıkması NP'lerin bir araya gelerek kümelenmesini önlemektedir. Bu sayede NP'lerin kararlılığı artmaktadır. *Nasturtium officinale* özütü ile biyosentezi gerçekleştirilen ZnO NP'nin yüzey yükü -14 mV'de belirlenmiştir (Şekil.4.1.). Mutlak değer bakımından yüzey yükü 25 mV'den daha yüksek yüke sahip NP'ler yüksek kararlı yapıya sahiptir [160]. Bu veriler ışığında *Nasturtium officinale* özütü tabanlı ZnO NP'nin orta derecede kararlı yapıya sahip olduğunu söylemek mümkündür.



Şekil 4.1. ZnO NP'nin Yüzey Yükü

4.2.2. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi

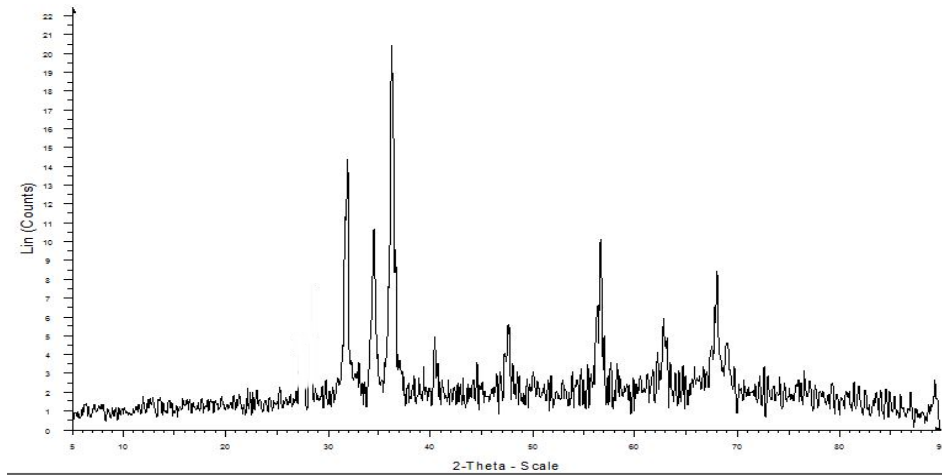
Nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynayan biyolojik fonksiyonel grupların varlığı FT-IR analizi ile belirlenmektedir. FT-IR haritasında elde edilen piklerin 3251.4, 1568.3, 1406.7, 1318.6, 1152.2, 1063.5, 1016.9 ve 918 dalga boylarında gözlenen piklerin sırası ile alkol (O-H), amin (N-H), alkol (O-H), aromatik amin (C-N), alifatik eter (C-O), alkol (C-O), alken (C=C) gruplarına karşılık gelmektedir. Ayrıca metal-oksijen titreşimi ile Zn-O varlığı 50 ve 543.62 cm^{-1} 'de gözlenen band titreşimi ile görülmektedir. *Nasturtium officinale* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin oluşum sırasında metal tuzunun indirgenmesinde ve nanopartiküllerin yapısında kaplayıcı olarak rol oynayan fonksiyonel grupların varlığı FT-IR analizi ile belirlenmiştir(Şekil.4.2.).



Şekil.4.2. ZnO NP solüsyonunun FT-IR analizi

4.2.3. X-ışınları Toz Difraksiyon Analizi

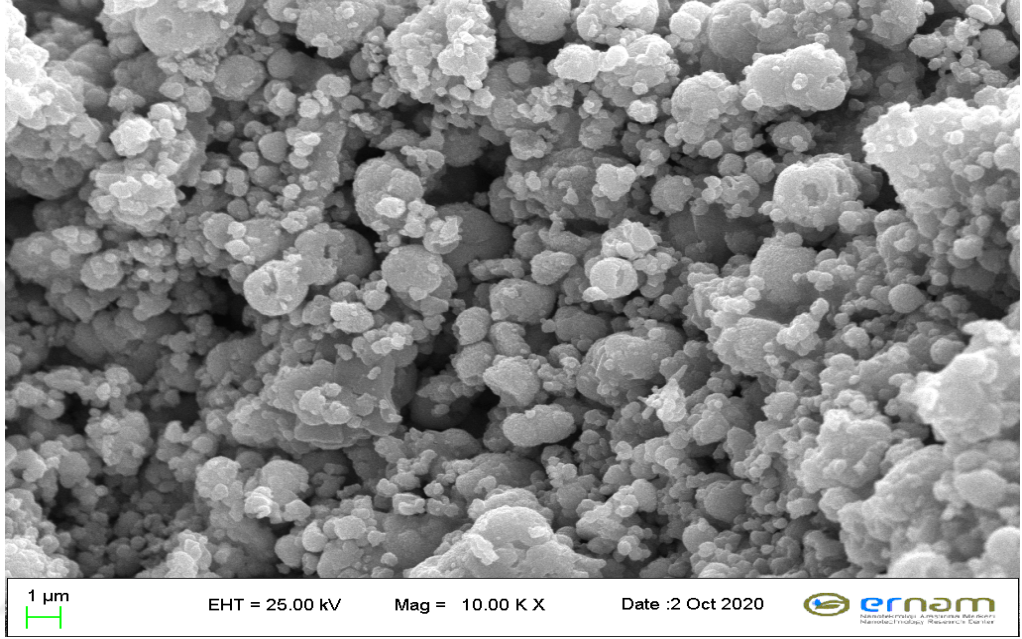
X ışını kırınımı, farklı fazlar, yapı ve kristal oryantasyonu hakkında bilgi veren analitik metod olarak kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin kristal yapılarını belirlemek amacıyla XRD analizi kullanılmıştır. XRD haritasında 2 teta düzleminde 31.7°, 34.3°, 36.2°, 40.2°, 47.6°, 56.5°, 62.9° ve 67.8°'de gözlenen pikler sırası ile (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (2 0 0), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3) ve (1 1 2) düzlemine karşılık gelmekte olup toz kırınımı standartları ortak komitesi (JCPDS NO 36-1451) ile uyumludur. ZnO NP'lerin XRD modelindeki keskin zirveler, yüksek kristallığe sahip (100), (101) düzlemlere karşılık gelen kırınimleri işaret etmektedir (Şekil.4.3.) [161].



Şekil.4.3. ZnO NP'nin XRD Analizi

4.2.4. Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi

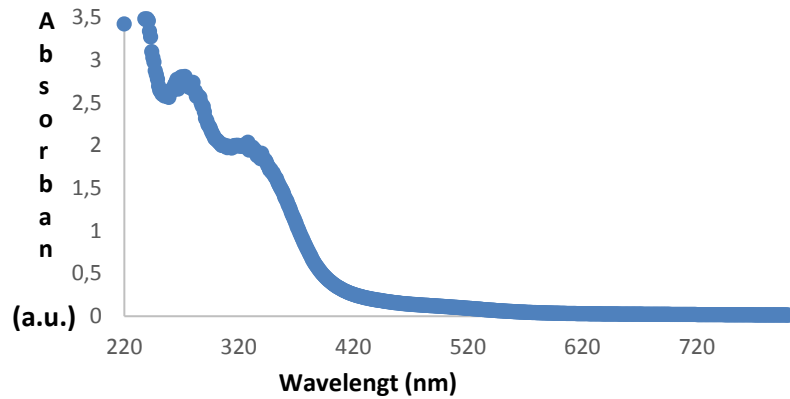
Nasturtium officinale özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin morfolojilerini belirlemek amacıyla SEM görüntüleri incelenmiştir. Elde edilen görüntülere göre ZnO NP'ler yuvarlağa yakın yapıda olup ortalama 90 nm boyutundadır. Ayrıca NP'lerin kümelenme eğiliminde oldukları görülmekte olup, bu veri DLS verimizi doğrular niteliktedir.



Şekil.4.4. Zn NP' nin SEM Analizi

4.2.5. UV-vis Görünür Bölge Spektroskopi Analizi

Biyosentezlenen ZnO NP'nin karakteristik ışık noktası 346 nm'de belirlenmiştir (Şekil 4.5). *Nasturtium officinale* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin UV analizi ile 346 nm'de gözlenen absorpsiyon bandı, iletim bandına elektron taşınmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil.4.5. Biyosentez ZnO NP'nin UV analizi

4.3. MCF-7 Hücrelerinde Zn NP'lerin Sitotoksik Etkisi

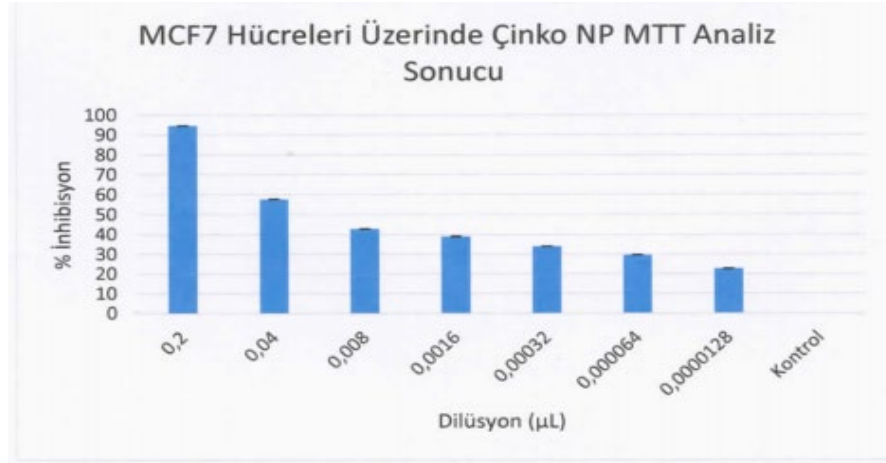
Çalışmamızda Zn nanopartiküllerin insan meme kanseri MCF-7 hücresi üzerine olan sitotoksik etkisinin belirlenmesinde 24 saatlik uygulama yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda in vitro sitotoksitesi MTT testi ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, deneyin ortalama \pm standart sapması olarak ifade edilmiştir (Tablo 4.). MTT testi kullanılarak, kontrol hücrelere göre muamele edilen hücrelerin canlılık oranlarının istatistiksel anlamlılığı belirlenmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 4. Uygulanan dilüsyonların hücre canlılığı üzerindeki % inhibisyon değerleri ve standart hata değerleri

Dilüsyonlar (μL)	İnhibisyon (%)	Standart hata (\pm)
$2 \times 10^{-1} \mu\text{L}$	94,591	0,002
$4 \times 10^{-2} \mu\text{L}$	57,739	0,010
$8 \times 10^{-3} \mu\text{L}$	42,765	0,004
$16 \times 10^{-4} \mu\text{L}$	38,930	0,003
$32 \times 10^{-5} \mu\text{L}$	33,945	0,012
$64 \times 10^{-6} \mu\text{L}$	29,546	0,005
$128 \times 10^{-7} \mu\text{L}$	22,664	0,017
0 (Kontrol)	0	0,019

Çalışmamızda kullandığımız *Nasturtium officinale* ekstraktı ile çinko nanopartiküllerin biyosentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirildi. Çok basit, çevre dostu ve oldukça uygun maliyetli olan bu yöntemin, Zn nanopartiküllerinin biyosentezinde kullanılması büyük avantaj sağlamıştır. *Nasturtium officinale* bitkisinin içerisinde bulunan antioksidanlar kanser hücrelerini azaltmaya sebep olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Zn nanopartiküllerinin insan meme kanseri MCF-7 hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığını azalttığını göstermektedir. İnkübasyonun 24 saatin sonunda $0,2 \mu\text{l}$ 'lik konsantrasyonun %94,6 oranında sitotoksik olduğu tespit edilmiş ve IC50 değeri ise $0,04937 \mu\text{l}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. MCF-7 Hücreleri İçin 24 Saatlik İnkübasyon Sonrası MTT Analiz Sonucu

Farklı konsantrasyonlarda Zn nanopartikülleri MCF-7 insan meme kanser hücreleri üzerinde in vitro sitotoksitesi MTT testi yapılarak gerçekleştirilmiştir. MCF-7 insan meme kanser hücreleri Zn NP'lerin farklı konsantrasyonlarında 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Bu testin sonucunda Zn nanopartiküllerin doza bağımlı olarak MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde, hücre canlılığını azalttığını göstermektedir. 24 saatlik inkübasyondan sonra 0,2 µl'lik konsantrasyonunda % 94,6 daha sitotoksik olarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda *Nasturtium officinale* bitkisi ile biyosentezlenen Zn nanopartiküllerinin meme kanseri hücre hattı MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksitesine bakılması amaçlanmıştır.

Zn(NO₃)₂ ve *Nasturtium officinale* özütü açık sarı renkten koyu kahverenge dönüşümü gerçekleştikten sonra ZnO NP oluşumu görsel olarak ifade edilmiştir. Azizi ve ark.(2014), *Sargassum muticum* özütü, Baskar ve ark.(2013), *Aspergillus terreus* özütü[107] ile yaptıkları çalışmalarda ZnO NP'lerin sentez işlemleri sırasındaki renk değişim aşamalarını göstermişlerdir [162].

Biyolojik ve kimyasal yöntemlerle sentezlenen Zn NP'lerinde, Gunalan ve ark. (2012), farklı tekniklerle elde ettikleri ürünlerin bakteriyal ve fungal aktiviteleri arasında karşılaştırma yapmıştır. Biyolojik teknik de *A. vera* ile sentezlenen ZnO 'nin, patojenlere karşı sentezlenen nanopartiküllerin kimyasal yöntemle göre çok fazla aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir [46]. Bitki ekstratları kullanılarak yeşil sentez ile sentezlenen ZnO nanopartikülleri ile ilgili çalışmalar oldukça fazla olduğu bilinmektedir. *Agathosma betulina* yaprakları Thema ve ark. (2015) tarafından, *Solanum nigrum* yaprakları Ramesh ve ark. (2015) tarafından, *Artocarpus gomezianus* meyveleri Suresh ve ark. (2015) tarafından, patates özütü Buazar ve ark. (2016) tarafından, *Laurus nobilis* yaprakları Vijayakumar ve ark. (2016) tarafından ZnO NP'lerinin sentezi yeşil sentez kullanımı ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bitki ekstratları nanopartiküllerin özelliklerini etkilemektedir.

ZnO nanopartikülleri üzerinde olan yükün türü ve şiddeti, zeta potansiyeli ölçümü ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda *Nasturtium officinale* özütü ile gerçekleştirilen ZnO NP'nin zeta potansiyeli yüzey yükü -14 mV olarak belirlenmiştir. Bu sayede ortaya çıkan ZnO NP'nin kısa süreli bir stabiliteye sahip özellikte olduğu saptanmıştır. *Mussaenda frondosa* bitkisinin yaprak, gövde ve kalloz kısımları ile sentezlenen ZnO NP'lerin yüzey yükleri sırası ile 11, -25.4, -17.7 mV'de belirlenmiştir [163]. Stevia özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin yüzey yükü -25 mV [164], *Ixora coccinea* yaprak özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin yüzey yükü -49 mV [165], *Solanum torvum* özütü ile sentezlenen ZnO

NP'nin özütü 2.61 mV'de [166], *Raphanus sativus* var. *longipinnatus* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin yüzey yükü -13.7 mV [167], urin ve bal ile sentezlenen ZnO NP'lerin yüzey yükleri sırasıyla -18.3 ve -20.8 mV'de belirlenmiştir [168]. Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan farklı türlere ait bitkilerin, aynı tür bitkinin farklı kısımlarının nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine etki ettiği açıktır. Nanopartiküllerin biyolojik sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı rol oynayan sekonder metabolitlerin kompozisyonu ve konsantrasyonu bitki türüne, aynı bitkinin farklı kısımlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir [169].

ZnO NP'nin etki çapı dinamik ışık saçılımı ile yaklaşık olarak 397 nm civarında olduğu bilinmektedir. ZnO NP'nin çapının büyük olması ve pH'ın 4,5 civarında olmasının ortaya çıkan agregasyonlardan dolayı olduğu saptanmıştır. Çalışmalarımıza benzer olarak Yuvakkumar ve ark.(2014) yaptığı çalışmada sentezledikleri ZnO NP'nin *Nephelepis lappaceum* kabuk özütünün kümelenmeden kaynaklandığı etkin çapını 450 nm bulmuşlardır [170].

FT-IR ile ZnO NP'nin yapısal analizi yapılmıştır. Bunun sonucunda 3251.4 cm⁻¹'de O-H (alkol), 1568.3'de N-H (amin), 1406.7'de O-H (alkol), 1318.6' de C-N (aromatik amin), 1152.2' de C-O (alifatik eter), 1063.5 ' de C-O (alkol), 1016.9 ' de C=C (Allen) band titreşimleri 918 dalga boylarında partikülün yapısında bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Zn-O varlığı 50 ve 543.62 cm⁻¹'de metal oksijen titreşimi ile band gözlenmektedir. ZnO NP'nin FT-IR analizini Rajiv ve ark. (2013), M-O (metal oksijen) 433,457 ve 470 cm⁻¹ dalga boylarında [171], Fu ve Fu (2015), 502 cm⁻¹'de Zn-O band titreşimlerini göstermiştir [172]. Baskar ve ark.(2013), 1052 cm⁻¹'de C-N, 1538 ve 1675 cm⁻¹'de alkil ve aromatik nitro bileşiklerini bildirmiştir [107]. Selim ve ark., (2020) *Deverra tortuosa* özütü ile sentezlediği ZnO Nanopartiküllerinin FT-IR analizi ile 442 cm⁻¹'de görülen pikin ZnO titreşimlerini işaret ettiğini bildirmiştir [173]. Yine aynı çalışmada 2352, 1630 ve 1445 cm⁻¹'de gözlenen bandlar protein ve enzimlerin karakteristiği olan amin gruplarının ve diğer fenolik grupların varlığını doğrulamışlardır. Naseer ve ark. (2020), *Cassia fistula* ve *Melia azadarach* özütleri ile sentezledikleri ZnO NP'lerin FT-IR analizinde ortaya çıkan sırasıyla 683–500 cm⁻¹ ve 698–505 cm⁻¹ dalga boylarındaki titreşimlerin ZnO oluşumunu işaret ettiğini bildirmişlerdir [174]. Çalışmamız daha önce yapılan benzer çalışmalarla uyum içerisindedir.

ZnO NP'nin XRD analizi 2 θ (teta) düzleminde 31.7°, 34.3°, 36.2°, 40.2°, 47.6°, 56.5°, 62.9° ve 67.8°de gözlenen kırınım pikleri sırası ile (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (2 0 0), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3) ve (1 1 2) düzlemlerini ifade etmektedir. Fu ve Fu (2015), yaptıkları çalışmalarda 34.420°, 36.145°, 47.987°, 56.502°, 63.101°, 67.958° ve 69.014° düzleminde gözlenen pikler sırası ile (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (1 1 2) ve (2 0 1) çizgilerine denk gelmektedir [172]. Çalışmamızda ZnO NP'lerin (1 0 0), (1 0 1) düzlemlere karşılık gelen kırınımları yüksek kristalliğe sahiptir.

Yuvakkumar ve ark, (2014) tarafından sentezlenen ZnO NP'lerin *Nephelium lappaceum* kabuk özütü ile karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. XRD yöntemi ile sentezlenen ZnO NP'nin ortalama boyutu 50.95 nm ve yapısı kristal olarak belirlenmiştir [170].

SEM görüntülerinin sonucunda 90 nm boyutuna sahip ZnO NP'nin yuvarlak bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Sentezledikleri ZnO NP'nin 12-25 nm boyutunda olması Shamsuzzaman ve ark. (2013) tarafından gözlemlenmiştir [175]. Rajiv ve ark.(2013), *Parthenium hysterophorus* özütü ile sentezledikleri ZnO NP'nin altıgen ve yuvarlak yapıda olduğunu tanımlamıştır [176]. *Nephelium lappaceum* kabuk özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin küçük kümeler halinde bulunduğunu Yuvakkumar ve ark.(2014) sayesinde tespit edilmiştir [172]. *Ocimum tenuiflorum* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin altıgen yapıda ve çaplarının 11 ile 25 nm aralığında [177], *Azadirachta indica* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin ortalama boyutlarının 40 nm [178], *Euphorbia hirta* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin 20-25 nm [179], *Ailanthus altissima* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin yuvarlak yapıda ve 5-40 nm aralığında [180], *Eucalyptus globules* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin 52-70 nm [181], *Averrhoa carrambola* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin plaka şeklinde morfolojiye sahip oldukları belirlenmiştir [182]. *Azadirachta indica* özütü ile sentezlenen Ag NP'lerin yuvarlak, üçgen ve kübik yapıda ve 20-50 nm [183], Cu NP'lerin 48-78 nm [184], TiO₂ NP'lerin 15-50 nm [185], Fe NP'lerin 100 nm [186] çapa sahip olduğu önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Nanopartiküllerin biyolojik sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak kullanılan biyomoleküllerin türü, kompozisyonu, konsantrasyonu sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve şekil gibi morfolojik özelliklerini etkilemektedir. Ayrıca literatür özetinde aynı bitki özütü ile sentezlenen farklı metalik NP'lerin farklı morfolojilere sahip olduğu gözlenmiş olup, indirgenen metalin sentezlenen NP üzerinde morfolojik etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca bitki özütü ile sentezlenen nanopartiküllerin fiziksel

özelliklerine bitkinin türü, ortam sıcaklığı, reaksiyon süresi, özüt miktarı ve metal iyon konsantrasyonu gibi faktörlerle müdahale edilebilmektedir [102].

Nanopartiküllerin yüzey plazmon resonans absorpsiyonu görünür UV bölgede ortaya çıkmaktadır. Nanopartiküllerin yüzey plazmon bantlarının boyutlarının küçüklüğünün sebebi iletim bandındaki serbest elektronlar dan kaynaklandığı bilinmektedir. ZnO NP'lerin ışığı emme absorpsiyonu 300-500 nm aralığındadır[19]. *Nasturtium officinale* özütü ile ZnO NP sentezinin görünür UV absorpsiyonu 346 nm'dir. Işık emme noktası karakteristik olarak ZnO nanopartikülü 366 nm' dir. Nagajyothi ve ark. (2013), *Coptis chinensis* özütü, Rajiv ve ark. (2013), *Parthenium hysterophorus* özütü ile sentezlenen ZnO NP'nin ışık emme noktası *C. chinensis* özütünün 344 nm, *P. hysterophorus* özütünün ise 370 nm dalga boyunda olduğunu gözlemlemişlerdir [176,187]. *Pongamia pinnata*, *Bergenia ciliata* ve karanfil özütleri ile sentezlenen ZnO NP'lerin karakteristik ışık noktaları sırasıyla 358, 340 ve 300 nm'de belirlenmiştir [188-190]. Nanopartiküllerin boyut ve şekil gibi morfolojik özellikleri biyoindirgeyici ajanın konsantrasyonu, türü ve ortam pH'ı, reaksiyon süresi gibi reaksiyon koşullarına bağlı olmakta, elde edilen NP'nin boyutunun azalması ile birlikte düşük dalga boyuna doğru kayma gözlenmektedir [189,190].

Farklı bitkiler ile sentezlenen çeşitli nanopartiküllerin karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Jamuna ve ark (2014), *Desmodium gangeticum* ekstraktı ile sentezlenen TiO₂ NP'lerinin karakterizasyonuna ve toksisitesine bakmışlardır. UV-vis analizinde ürünün keskin bantlarla küresel yapıda olduğu sonucuna varılmıştır. FT-IR analizinde gerçekleşen absorpsiyon bantları ile nanopartikül yapısında, O-H, C=C ve C=H gibi fonksiyonel grupların olduğu gösterilmiştir. Nanopartiküllerin SEM analizinde yaklaşık 31 nm boyutunda ve yuvarlak yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Buradaki nanopartikülün domuzdan elde edilen LLC-PK1 epitel hücrelerine karşı sitotoksositeye neden olmadığını belirtmişlerdir [14]. Başka bir çalışmada ise, Naika ve ark (2015), *Gloriosa superba* ekstraktı ile CuO NP'lerini sentezleyerek karakterizasyonuna bakmışlardır. Yaptıkları çalışmada UV- görünür bölge spektroskopisinde 380 nm' de yüzey plazmon absorpsiyon bant oluşumunda CuO NP'ler gözlemlenmiştir. SEM analizin küresel yapıda nanopartiküller olduğu bildirilmiştir [55].

Plectranthus amboinicus özütü ile ZnO NP'nin sentezi ve karakterizasyonu Fu ve Fu (2015) tarafından bakılmıştır. SEM analizine bakıldığında ortalama 88 nm boyutunda ve çubuk şekline benzer görüntüsüne ulaşılmıştır. Zn ve O bant gerilimini FT-IR analizi ile 502 cm^{-1} olarak bulunmuştur. Ürünün saf bir kristal yapıda olması da XRD analizi ile gerçekleşmiştir [175].

Carica papaya özütü ile CuO NP'nin sentezini ve karakterizasyonunu Sankar ve ark (2014) incelemiştir. FT-IR analizinde nanopartikülün yapısında N-H (amid), C-H (alken), C=O, C-O (anhidrit) gibi fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Bu analizde 473 cm^{-1} bantlarında Cu-O bağlandığı gözlemlenmiştir. Nanopartiküllerin kristal yapısını XRD analizi ile göstermiştir [191].

Nyctanthes arbor-tristis özütü ile sentezlenen TiO_2 NP'lerin karakterizasyonuna Sundrarajan ve Gowri (2011) bakmışlardır. TiO_2 NP'nin XRD analizi kristal yapısı yüksek saflıkta çıkmıştır. SEM analizine göre 100-150 nm boyutunda yuvarlak yapıya sahip olduğunu göstermişlerdir [192].

Başka bir çalışmada Sankar ve ark (2014), CuO NP'nin karakterizasyonunu ve antikanser aktivitesini *Ficus religiosa* özütü kullanarak incelemiştir. Görünür bölgede nanopartikülün UV-vis spektroskopisi 285 nm'de CuO NP'nin olduğu bulunmuştur. Dinamik ışık dağılım (DLS) analizi ile sentezlenen CuO NP'nin boyutu 577 nm olarak ve küresel şekilde tespit edilmiştir. Nanopartikülün yüzey yükünün son derece negatif olduğu, ZETA analizi ile -25.4 mV olarak belirtilmiştir. FT-IR analizi sayesinde de 3402 cm^{-1} amide(N-H), 1578 cm^{-1} 'de amide(CO), 1399 cm^{-1} 'de Cu-O varlığı belirtilmektedir. Sentezlenen CuO NP'nin insan akciğer A549 kanser hücrelerinin konsantrasyona bağlı olarak antikanser özelliğini incelemiştir [193].

Acalypha indica ekstraktı ile CuO NP'nin biyosentezi, karakterizasyonu ve sitotoksik etkisi Sivaraj ve ark (2014) tarafından gerçekleştirilmiştir. FT-IR analizi ile fonksiyonel gruplar (metal oksit (M-O), N-H, alkinler, fosfor grupları) belirlenmiştir. Bu çalışmada yapılan SEM analizi sonucuna göre küresel yapılu CuO NP 26-30 nm boyutunda bulunmuştur. Sentezlenen CuO NP'nin insan meme kanseri MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir [194].

Sathiya ve Alcilandeswari (2014), çalışmalarında farklı *Delonix elata* ekstraktı ile sentezlenen Ağ NP'nin karakterizasyonunu bulmuşlardır. SEM analizinde Ag NP'lerin şeklinin yuvarlak ve çaplarının 35-40 nm olduğunu saptanmışlardır. Ayrıca UV-vis spektroskopi analizinde SPR bantlarının keskinleştiğini ve mavi kayma gözlemlendiğini 432 nm'de olduğunu gözlemlenmişlerdir [195].

Achillea biebersteinii bitkisi ile sentezlenen Ag NP'nin boyutu 64 nm olduğunu Baharara ve ark (2015) tespit etmişlerdir. Ayrıca insan meme kanseri MCF-7 hücre hattını da apoptozise ettiğini bildirmişlerdir [196].

Gopinath ve ark (2013), sentezledikleri Su NP'nin boyutuna 20-50 nm olduğuna *Terminalia arjuna* özütü ile yuvarlak yapıda olduğunu göstermişlerdir. Bitkinin hücre ve polen kısımlarında Au NP maruziyeti altında hiç bir sitotoksik etki olmadığını göstermişlerdir [197].

Geetha ve ark (2013), Au NP'nin *Couroupita guianensis* ekstraktı ile karakterizasyonuna ve sitotoksik etkisine bakılmıştır. Karakteristik SPR bandında UV-vis analizi 543 nm çıkmıştır. Ayrıca FT-IR analizinde ise Au NP'nin fonksiyonel grupları da bildirilmiştir. HL-60 cells hücreleri üzerinde sentezlenen Au NP'nin kanser hücrelerinde apoptozis ve sitotoksik olduğuna dair bulgular elde edilmiş ve bu sonuçlar sayesinde antikanser çalışmalarında kullanılması gerektiğini göstermişlerdir [198].

Coptis chinensis ekstraktı ile sentezlenen ZnO NP'nin karakterizasyonunu ve sitotoksik etkisini Nagajyothi ve ark (2014) tarafından bakılmıştır. SEM analizinde şekilleri küresel, UV-vis analizinde ise 344 nm' de absorpsiyon gözlemlenmiştir. Sentezlenen ürünlerin FT-IR sonucunda ise aminle, alkinler ve aromatik gibi organik bileşikler ortaya çıkmıştır. Ayrıca sentezlenen ZnO NP'lerin sitotoksik etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir [187].

Çinko yüksek konsantrasyonlarda canlılarda toksisite göstermesi, enzimler için kofaktör olarak kullanılması ve nükleik asitlerin yapısına katılmasından dolayı önemli bir iz elementtir[199]. Ji ve ark.(2017), sentezlenen ZnO NP'nin *Argemone maxicana* özütü sayesinde *Catla catla* balığı kardiyak hücre dizilerinde toksik etki göstermektedir [200]. Bizim çalışmamızla uyum gösteren 24 saatlik konsantrasyon artışına bağlı şekilde (0, 3, 6, 9, 18 ve 36 mikrogram/ml) hücre canlılığında azalma olmaktadır. Ayrıca çalışmamıza benzer biyolojik teknikle sentezlenen ZnO NP'nin Zn iyonuna göre çok daha düşük

toksisiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Ji ve ark. hücre canlılığının artmasının nedenini nanopartikül sentezinde kullanılan bitki özütünde bulunan fonksiyonel gruplarına bağlamaktadır. Kimyasal teknik ile sentezlenen ZnO NP'nin fare embriyo fibroblastına karşı toksisitesini Yang ve ark.(2008) gözlemlemiş ve bunun sonucunda 24 saatlik sürede konsantrasyon artışına bağlı olarak hücre aktifliğini azalttığını belirtmiştir [201]. ZnO NP konsantrasyonuna bağlı olarak 20 mikrogram/ml %73.5 değerinde hücre canlılığını durdurduğunu göstermiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmamızda *Nasturtium officinale* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerin insan meme kanseri MCF-7 hücre hattında hücre canlılığını 0,2 mikrolitre konsantrasyonda 24 saat süre sonunda %94.6 inhibe ettiği belirlenmiştir. *Citrullus colocynthis* bitkisinin meyve ve tohum özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerini Azizi ve ark.(2017), fare embriyo fibroblastında sitotoksik etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir[199]. Prashanth ve ark.(2015), yaptığı çalışmada *Punica granatum* ve *Tamarindus indica* meyve özütleri ile sentezlenen ZnO NP'lerinin kanserli meme hücre dizisine karşı sitotoksik etkisine bakmışlardır[202, 203]. Bunun sonucunda kanserli göğüs hücresinde *T. indica* ile sentezlenen ZnO NP'ye göre *P. granatum* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerinin daha toksik olduğu saptanmıştır.

ZnO nanopartiküllerinin hücre ölümlerine neden olması serbest oksijen ve radikal gibi reaktif oksijen türlerini oluşturmasından kaynaklandığı bilinmektedir [204]. Meyer ve ark.(2011), insan dermal hücrelerinde ZnO NP'lerinin apoptozise neden olduğu bilinmektedir [205]. Bu sonuçlara göre nanopartiküllerin uygulandığı sentez tekniğine, morfolojisine, maruziyetine, hücresine veya konsantrasyonuna göre sitotoksitesi değişim göstermektedir. Biyolojik teknik ile gerçekleşen nanopartiküller bitkinin türüne, kısımlarına göre toksik etkisinde değişiklik gözlenmektedir.

Olex bitki özütünden sentezlenen Ag NP'lerin normal ve kanser hücreleri üzerindeki toksik etkisini Mukherjee ve ark (2014) tarafından belirlenmiştir [206]. Bu çalışmada Ag NP'ler A549: insan akciğer kanseri hücre çizgileri, B16: fare melanom hücre çizgisi ve MCF-7: insan meme kanseri hücreleri üzerinde antikanser varlığına bakılmıştır. Fakat, Ag NP'ler 30 μ M' da sıçan kardiyomyoblast normal hücrelerde (H_9C_2) hafif sitotoksik olduğu ortaya çıkmıştır. Biyolojik olarak insan ven endotel hücrelerinde (HUVEC) ve Çin hamsteri yumurtalık hücrelerine (CHO) karşı uyumlu olarak gözlemlenmiştir.

Biyosentez yöntemi ile elde edilen Ag NP'ler fare makrofajlarında Ahmad ve ark (2015) tarafından 3-8 nm'de küresel olarak bulunmuştur [207]. Farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. 80 µg/ ml' den düşük konsantrasyonlarda daha az toksik etki gösterdiği bilinmektedir. AshaRani ve ark (2009) tarafından yapılan akciğer fibroblastları çalışmasında benzer sonuçlar görülmüştür. Bu çalışmada sentezlenen NP'lerin konsantrasyon dozuna bağlı olarak sitotoksik etkisinin değiştiği gözlemlenmiştir [208].

Behboodi ve ark (2019), sentezlenen Ag NP'leri ile *Cichorium intybus* özütü kullanılarak insan meme kanseri MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisine bakılmıştır [209]. Başka bir çalışmada ise biyosentez ile hazırlanan Ag NP'lerin *Lonicera hypoglauca* ekstraktı kullanılarak Jang ve ark (2016) tarafından toksisitesine bakılmışlardır [210].

Yapılan çalışmalar insan meme kanseri dışında farklı kanser türlerinde de yapılmıştır. Rani ve ark (2009), sentezlenen Ag NP'lerin insan glioblastoma hücreleri üzerinde [211], Nagajyothi ve ark (2014), insan meme kanseri MCF-7 hücre hattında ve akciğer kanser A549 hücrelerinde antiproliferatif etkilerine bakılmıştır [187].

Dünyadaki kadınlar arasında en çok yaygın olarak görüldüğü bilinen kanser çeşidi olarak meme kanseri bilinmektedir. Ölümle sonuçlanan kanser türleri arasında ikinci sırada yer aldığı bilinmektedir. Meme kanserinden ölenler 2018 yılında 41,400 olarak hesaplanmıştır. Türkiye'de yaklaşık olarak her yıl 15,000 kadına meme kanseri teşhisi konulmaktadır (Türkiye Kanser Kontrol Planı Sağlık Bakanlığı, 2018) [212]. Tedavi seçenekleri yeterli olmadığından her geçen gün yeni tedavi seçenekleri uygulanmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız Zn nanopartikülleri üzerinde durulmuştur. Biyoyumlu anti- kanser ajanların gelişimi nanoteknolojinin kullanımı ile kanser tedavilerinde kullanılan alanlardan biri olmaktadır.

ÖNERİLER

Çalışmamız in vitro olan bir ortamda gerçekleştiği için insan meme kanseri hücrelerinde in vivo olarak da desteklenmesi gerekmektedir.

Biyolojik sentez ile sentezlediğimiz ZnO NP'lerin antikanser, fotokatalitik, antifungal ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca insan hayatı için kullanımlarında (dış macunu, gübre, kozmetik gibi) uygun olup olmadığı araştırılıp incelenmelidir.

Yapılan birçok çalışmada sentezlenen NP'lerinin toksisitesine bakıldığında yeterince bilgi bulunmamaktadır. Bu yüzden çevre sağlığı için önemli olan bu çalışmalar artmalıdır. Özellikle yapılan toksisite çalışmalarında dokular ve hücreler üzerinde yoğunluk sağlamalıdır.

Sentezlenen nanopartiküllerin kararlılıklarının; metal tuzu, bitki özütü, konsantrasyonu ve reaksiyon süresi gibi faktörler ile kontrol edilerek sentezlenen NP'lerin üzerindeki değişikliklere bakılmalıdır.

Nasturtium officinale özütünün indirgeyici ve antioksidan özelliğinden dolayı sadece meme kanserinde değil farklı kanser türlerinde de çalışmalarına bakılmalıdır. Çalışmamızda kullandığımız *Nasturtium officinale* bitkisinin yaprak kısımlarının fonksiyonel gruplarına bakılmıştır. Bu bitki NP sentezinde önemli bir role sahip olduğundan kök ve gövde kısımlarına da bakılmalıdır.

Geleceğin teknolojisi olarak bilinen nanopartiküller için yeşil sentez yönteminin daha çok araştırılması gerekmektedir.

Biyosentez yönteminin kolay, ucuz ve güvenilir olmasından dolayı nanopartikül sentezinde kullanılan bitki ekstraktlarının atık kısımlarının da değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Camponogara C, Silva CR, Brusco I, Piana M, Faccin H, de Carvalho LM ve ark. 2019. Nasturtium officinale R. Br. effectively reduces the skin inflammation induced by croton oil via glucocorticoid receptor-dependent and NF- κ B pathways without causing toxicological effects in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 229:190-204.
2. https://tr.wikipedia.org/wiki/Su_teresi
3. Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematigi. *Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Kitap Serisi*, 431s, İzmir.
4. Duke, J.A. 1992. Handbook of phytochemical constituents of grass herbs and other economic plants. Boca Raton, CRC Pres. FL. 33431, 654pp.
5. Lee, J.S., Newman, M.E. 1997. Aquaculture-an introduction. Agriscience and technology series. Interstate Publishers, Inc. 445-446, Illinois.
6. Riemer, D.N. 1993. Introduction to freshwater vegetation. Department of Soils and Crops Rutgers University.
7. Rose P, Faulkner K, Williamson G, Mithen R. 2000. 7-Methylsulfinylheptyl and 8- methylsulfinyloctyl isothiocyanates from watercress are potent inducers of phase II enzymes. *Carcinogenesis*. 21(11):1983-1988.
8. Haro G, Iksen I, Rumanti RM, Marbun N, Sari RP, Gultom RPJ. 2018. Evaluation of antioxidant activity and minerals value from watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Rasayan Journal of Chemistry*. 11:232-237.
9. Bahramikia S, Yazdanparast R. 2018. Effect of hydroalcoholic extracts of *Nasturtium officinale* leaves on lipid profile in high-fat diet rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 115(1):116-121.
10. Shahani S, Behzadfar F, Jahani D, Ghasemi M, Shaki F. 2017. Antioxidant and antiinflammatory effects of *Nasturtium officinale* involved in attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 27(2):107-114.
11. <https://kocaelibitkileri.com/nasturtium-officinale/>
12. Singh, V.P., Singh, S., Kumar, J., Prasad, S.M. 2015. "Investigating the roles of ascorbate-glutathione cycle and thiol metabolism in arsenate tolerance in ridged *Luffa* seedlings", *Protoplasma*, 252 (5), 1217-1229.

13. Wang, Z., Xu, L., Zhao, J., Wang, X., White, J.C., Xing, B. 2016. "CuO nanoparticle interaction with *Arabidopsis thaliana*: toxicity, parent-progeny transfer, and gene expression", *Environmental Science and Technology*, 50 (11), 6008-6016.
14. Jamuna, K.S., Banu, S., Brindha, P., Kurian, G.A. 2014. "Nano-scale preparation of Titanium dioxide by *Desmodium gangeticum* root aqueous extract", *Ceramics International*, 40 (8), 11933-11940.
15. Mittal, A.K., Chisti, Y., Banerjee, U.C. 2013. "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts", *Biotechnology Advances*, 31 (2), 346–356.
16. Kumar, R., Singh, V.P., Maurya, D., Pandey, K.A. 2015. "Bionanoparticles: A Green Nanochemical Approach" Department of Biotechnology, Institute of Engineering and Technology Bundelkhand University, PharmaTutor, 3(9), 28-35.
17. Ajitha, B., Reddy, Y.A.K., Reddy, P.S. 2014. "Biosynthesis of silver nanoparticles using *Momordica charantia* leaf broth: Evaluation of their innate antimicrobial and catalytic activities", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 146, 1-9.
18. Harshiny, M., Iswarya, C.N., Matheswaran, M. 2015. "Biogenic synthesis of iron nanoparticles using *Amaranthus dubius* leaf extract as a reducing agent", *Powder Technology*, 286, 744-749.
19. Nagarajan, S., Kuppusamy, K.A. 2013. "Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India", *Journal of Nanobiotechnology*, 11, 39-49.
20. Pourmortazavi, S.M., Taghdiri, M., Makari, V., Rahimi-Nasrabadi, M. 2015. "Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1249–1254.
21. Mittal, A.K., Bhaumik, J., Kumar, S., Banerjee, U.C. 2014. "Biosynthesis of silver nanoparticles: Elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential", *Journal of Colloid and Interface Science*, 415, 39–47.
22. Fenfen, L., Yixian, G., Jiale, H., Daohua, S., Qingbiao, L. 2014. "Roles of biomolecules in the biosynthesis of silver nanoparticles: case of *Gardenia jasminoides* Extract", *Biotechnology and Bioengineering*, 22 (6), 706-712.
23. Nikam, A., Pagar, T., Ghotekar, S., K Paga, K., 2019. "A review on plant extract mediated green synthesis of zirconia nanoparticles and their miscellaneous applications", *Journal of Chemical Reviews*, 1- 3, 154-163.

24. Souza, de T.A.J., Souza, L.R.R., Franchi, L.P. 2019. “Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity”, *Ecotoxicology and environmental safety*, 30, 691-700.
25. Makarov, V.V., Love, A.J., Sinitsyna, O.V., Makarova, A.S., Yaminsky, I.V., Taliansky, M.E., Kalinina, N.O. 2014. “Green nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants”, *Acta Nature*, 6 (1), 34-44.
26. Ozturk, F., Duman, F., Leblebici, Z., Temizgul, R. 2010. “Arsenic accumulation and biological responses of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) exposed to arsenite”, *Environmental and Experimental Botany*, 69 (2), 167–174.
27. Türkiye İstatistik Kurumu(TÜİK),2017. Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2016. Haber Bülteni,24572. Erişim Tarihi, 06.02.18. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24572>
28. SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., LEBLEBİCİ, E. 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematığı. *Ege Üniv. Fen Fak. Kitap Serisi*, İzmir 431s.
29. STERN, K.R., 1994. Introductory Plant Biology. Wm. C. Brown Publishers, England, 521s.
30. JI, C., WANG, C., and YU, S., 1990. ‘ Measurement of Cold Resistance of Aquatic Plants and Study on, its Characteristics.’ *Acta-Ecol.- Shengtai-Xuebao*. 10:249-254.
31. MIDLEN, A. and REDDING, T.A., 1998. Environmental managemant for Aquaculture. *Chapman Hall*. U.K. 223 s.
32. GÜNLÜ, A. ve KESİCİ, E., 2002. Su Teresi'nin (*Nasturtium officinale* R. Br.) Besinsel Değeri ile İlgili Bazı Kimyasal Bileşenlerin Mevsimsel Değişimi. *S. D. Ü. Fen Bil. Ens. Der.* 6(2): 69-79.
33. DING, J., MIMI, C.YU., JEAN, H.H., SIEV-HONG, L., FUNG-LUNG, C. 1998. Total Isothiocyanate Contentin Cooked Vegetables Frequently Consumed in Singapore. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Singapore Vol. 46, no.3, pp. 1055- 1058.
34. Simon, J.E., Chandwick, A.F., Craker, L.E., 1984. Herbs: An indexed bibliography. 1971-1980. The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temparete zone. *Archon books* 770pp., Hamden, CT.
35. Gluck, H., 1936. DIE Süswasser-flora mitteleuropas, Jena Verlag Von Gustov Fischer. 485s, Germany.

36. Wilhelm, O., 1999. Image of *Nasturtium officinale* (Criciferae). Thome Flora von Deutsland Österreich und der Schweiz in Wort und Bild für Schule und Haus. 1985, Gera. Germany.
37. ATAY, D. 1984. Bitkisel Su Ürünleri Üretim Tekniği. *Ankara Üniv. Ziraat Fak. Su Ürünler Bölümü*, Ankara 203s.
38. Güner, H., 1985. Hidrobotanik. *Ege Üniv. Fen Fak. Kitap serisi*. 91, 117s, Bornova. İzmir.
39. Kesici, E., 1991. *Nomaphila* sp. 'nin akvaryumda büyüme ve gelişmesine etki eden bazı faktörlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Akdeniz Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi*. 60s, Antalya.
40. Magness, J.R., Markle, G.M., Compton, C.C., 1971. Food and feed crops of the United States. *Interegional Research Project IR-4*, IR. Bul. 1. USA.
41. Stephens, J.M., 1994. Horticultural sciences department cooperative extension service, İnstitute of Food and Agricultural Sciences, *University of Florida*. USA.
42. <https://www.bilgio.net/su-teresi-nasil-yetistirilir-ekim-yeri-bakim-hasat-ve-depolama-yontemleri-nelerdir/>
43. <https://www.yeniakit.com.tr/haber/su-teresi-nedir-iste-su-teresinin-faydalari-776353.html>
44. Hoyt, V. W., Mason, E. (2008). Nanotechnology: emerging health issues. *Journal of Chemical Health and Safety*, 15(2), 10-15.
45. <http://www.horibalab.com/image.php?id=1314>
46. Gunalan, S., Sivaraj, R., Rajendran, V., 2012. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22 (6): 693-700.
47. Chaudhry, Q., et al., 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Additives and Contaminants*, 25, 241–258.
48. Buzea, C., et al., 2007. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity, *Biointerphases*, 2 (4), 17-71.4
49. Huber, D.L., 2005. Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small* 1:482- 501.
50. Hall J.B., Dobrovolskaia M.A., Patri A.K., McNeil S.E., 2007. Characterization of Nanoparticles for Therapeutics *Nanomedicine*. 2(6):789-803.

51. Monica, R. C., Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62(2), 161-165.
52. Lin, D., Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2), 243-250.
53. Davis, J. M., Long, T.C., Shatkin, J.A., Wang, A., Graham, J.A., Gwinn, M. ve Ranalli. B. (2010). Nanomaterial Case Studies: Nanoscale Titanium Dioxide in Water Treatment and in Topical Sunscreen. U.S. *Environmental Protection Agency*, EPA/600/R-09/057F, New York, s 204.
54. Shaw B.J., 2011. The Ecotoxicology of Engineered Nanoparticles to Freshwater Fish. PhD Dissertation (Doktora Tezi). University of Plymouth, Plymouth, UK.
55. Naika, H.R., Lingaraju, K., Manjunath, K., Kumar, D., Nagaraju, G., Suresh, D., Nagabhushana, H., 2015. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science*, 9 (1): 7-12.
56. Borisenko, V.E. and Tolochko, N.K., (2008). —Nanotechnologies: Stages of Development, Nauka i innovatsii (Minsk), 12: 66-68
57. Gürmen, S., ve Ebin, B., 2008. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri-1. *İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Metalurji Dergisi*, 150 (08), ISSN: 1300-4824, TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası, İstanbul.
58. Pekdemir, M.E., 2011. Manyetik Nanopartiküller Kullanılarak Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Spektrometrisi ile İmmunoassay Sisteminin Geliştirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi), *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı*, Tokat.
59. Coşkun,Ç.,2014.Nanoteknoloji Hakkında Herşey.<http://slideplayer.biz.tr/slide/1893911/> (01.12.17).
60. Tuncel, H., 2013. Nanoteknoloji ve Tıp Alanında Uygulamaları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, (590-598).
61. Saygı, O., ve Zan U., 2011. Nano Teknoloji ve Tıp Uygulamaları. <https://www.slideshare.net/HabipTaylan/nano-teknoloji-ve-tip-uygulamalar> (02.12.2017).
62. Yüksel, N.Y., 2011. Gıda Ve Tarım Sektöründe Nanoteknoloji. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 1303–8346 /2,

<http://www.tepge.gov.tr/dosyalar/yayinlar/724233160b1f421db5c87e2e45d37cec.pdf>
(14.12.2017).

63. DAĞ, Ö., 2006. Kimyasal yöntemlerle nanomalzeme sentezi ve nanoteknoloji, *Kimya ve Sanayi*, 39, Sayfa numarası:20-22.
64. Kiss, B., Biro, T., Czifra, G., Toth, B. I., Kertesz, Z., Szikszai, Z., and Hunyadi, J. (2008). Investigation of micronized titanium dioxide penetration in human skin xenografts and its effect on cellular functions of human skinderived cells. *Experimental Dermatology*, 17(8), 659-667.
65. Remedios, C., Rosario, F., and Bastos, V. (2012). Environmental nanoparticles interactions with plants: morphological, physiological, and genotoxic aspects. *Journal of Botany*, 2012, 8.
66. Jain, K.K., 2011. Nanobiotechnology. Moo-Young, M., *Comprehensive Biotechnology. Elsevier Netherlands*, 599-614.
67. Mnyusiwalla, A., 2004. *Nanotechnology*, 14, p.92-97.
68. Nath, D. VE Banerjee, P., (2013). “ Green nanotechnology-a new hope for medical biology”, *Environmental toxicology and pharmacology*, 36:997-1014.
69. Graff, A. Benito, S.M. Verbert, C. ve Meier, W., (2004). “Polymer nanocontainers”, *Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives*: 168-184.
70. Salata, O.V., (2004). “Applications of nanoparticles in biology and medicine”, *Journal of nanobiotechnology*, 2:3.
71. Lu, A.H. Salabas, E.e.L. ve Schüth, F., (2007). “ Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application”, *Angewandte Chemie International Edition*, 46: 1222-1244.
72. Neuberger, T. Schöpf, B. Hofmann, H. Hofman, M. ve Von Rechenberg, B., (2005). “ Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system “, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293: 483-496.
73. Aptekar, J.W. Cassidy, M.C. Johnson, A.C. Barton, R.A. Lee, M. Ogier, A.C. Vo, C. Anahtar, M.N. Ren, Y. ve Bhatia, S.N., (2009). “ Silicon nanoparticles as hyperpolarized magnetic resonance imaging agents” , *ACSnano*, 3: 4003-4008.
74. Parasad, D.L. ve Jemmis, E.D., (2008). “ Stuffing improves the stability of fullerenelike boron clusters”, *Physical review letters*, 100: 165504.

75. Theodore, L. ve Kunz R., (2005). “ Nanobiotechnology: prime materials and manufacturing methods “ , Nanobiotechnology: Environmental Implications and Solutions. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ: 70-79.
76. Mintmire, J. Dunlap, B. ve White, C., (1992). “ Are fullerene tubules metallic?” , *Physical review letters*. 68: 631.
77. Zhang B.T., Zheng X., Li H.F., Lin J.M., 2013. Application of Carbon-based Nanomaterials in Sample Preparation: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 784: 1-17.
78. Tomalia, D.A., (2005). “ Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry” , *Progress in Polymer Science*, 30: 294-324.
79. Smith, D.K. ve Diederich, F., (2000). Supramolecular dendrimer chemistry: a journey through the branched architecture, ed. Dendrimers li. Springer, 183-227.
80. Murray, C.B. Kagan, A.C. ve Bawendi, M., (2000). “ Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies” , *Annual Review of materials Science*, 30: 545-610.
81. Sepeur, S., (2008). Nanotechnology: technical basics and applications: Vincentz Network GmbH & Co KG.
82. Mukherjee, P. Ahmad, A. Mandal, D. Senapati, S. Sainkar, S.R. Khan, M.I. Parishcha, R. Ajaykumar, P. Alam, M. ve Kumar, R., (2001). “ Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis “ , *Nano Letters*, 1: 515-519.
83. Wolfgang, L. 2007. Bottom-up Methods For Making Nanotechnology Products.
<http://www.azonano.com/details.asp?ArticleID=1079>
84. Zaki, A. 2007. Processing And Synthesis Techniques For The Preparation of Nanomaterials. <http://www.azonano.com/details.asp>
85. Bar, H., Bhui, D.K., Sahoo, G.P., Sarkar, P., De, S.P., Misra, A. 2009. Green synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex Of *Jatropha curcas*. *Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects*, b339,134-139.
86. Meyers, M.A. Mishra, A. ve Benson, D.J., (2006). “ Mechanical properties of nanocrystalline materials” , *Progress in materials science*, 51: 427-566.

87. Shibata, N. 2009. The Cell Wall Galactomannan Antigen From *Malassezia Furfur* And *Malassezia* Detection Has Diagnostic Potential. *Microbiology (Reading)*. 155, 3420-3429.
88. Sharma, V.K. Yngard, R.A. ve Lin, Y., (2009). “ Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities” , *Advances in colloid and interface science*, 145: 83-96.
89. Şişman, İ., Alanyalıoğlu, M., Demir, Ü., (2007). *J. Phys. Chem. C*, 111, p.2670-2674.
90. Reetz, M. T.; Helbig, W., (1994). “Size-selective synthesis of nanostructured transition-metal clusters”, *J. Am. Chem. Soc.*;116, p.7401-7402.
91. Connor, O., Kolesnichenko, C.J., Carpenter, V., Sangregori O, E., Zhou, C., Kumbhar, W., Sims, A. J., Agnoli, F., (2001). Fabrication and Properties of Magnetic Particles with Nanometer Dimensions, *Synthetic Metals*, ,122, p.547-557.
92. Agostiano, A., Catalano, M., Curri, M.L., Della Monica, M., Manna, L., Vasanelli, L., 2000. “Synthesis and Structure Characterizatio of CdS Nanoparticles Prepared in a Four-Components “Water-in-oil” Microemulsion”, *Micron*, ,31, p.253 – 258.
93. Li, C., Yamai, I., Murase, Y., And Kato, E., 1989. “Formation of acicular monoclinic zirconia particles under hydrothermal conditions”, *J. Am. Ceram. Soc.*, 72, p.1479–1480.
94. <http://www.msxlabs.org/forum/members/217152-dram3vlh.html>, 2006
95. <http://www.nt.ntnu.no>, Ağustos, 2005.
96. http://online.nanopolis.net/subject_details, Ağustos, 2005
97. Suslick, K. S., 1990. *Sonochemistry Science*,;247, p.1439–1445.
98. Suslick, K. S., Hyeon, T., Fang, M., And Cichowlas, A. A., 1995. “Sonochemical synthesis of nanostructured catalysts”, *Materials Science and Engineering A*, 204, p.186-204.
99. Nielsen, A.E., “Kinetics of Precipitation”, Pergamon Press, London, 1964.
100. Walton, A.G., 1979. “The Formation and Properties of Precipitates”, *Robert Krieger Publishing Company*, Huntington.
101. Nozik, A.J., Micic, O.I., 1998. “Colloidal quantum dots III-V semiconductors”, *MRS Bull*, 23, p.24-30.

102. Shah, M., Fawcett, D., Sharma S., Tripathy, S.K., Poinern, G.E.J., 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8 (11): 7278–7308.
103. Babitha, S., Korrapati, P.S., 2013. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using a probiotic from coal fly ash effluent. *Materials Research Bulletin* 48 (11): 4738–4742.
104. Hulkoti, N.I., Taranath, T.C., 2014. Biosynthesis of nanoparticles using microbes—A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 121 (1): 474–483
105. Mahdavi, M., Namvar, F., Ahmad, M.B., Mohamad, R., 2013. Green biosynthesis and characterization of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using seaweed (*Sargassum muticum*) aqueous extract. *Molecules*, 18 (5): 5954-5964.
106. Arun, G., Eyini, M., Gunasekaran, P., 2014. Green Synthesis of silver nanoparticles using the mushroom fungus *Schizophyllum commune* and its biomedical applications. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 19 (6): 1083-1090.
107. Baskar, G., Chandhuru, J., Fahad, K.S., Praveen, A.S., 2013. Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 3 (4): 142-146.
108. Ajitha, B., Reddy, Y.A.K., Reddy, P.S., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Momordica charantia* leaf broth: Evaluation of their innate antimicrobial and catalytic activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 146:1-9.
109. Raut, R.W., Mendhulkar, V.D., Kashid, S.B., 2014. Photosensitized synthesis of silver nanoparticles using *Withania somnifera* leaf powder and silver nitrate. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 132 (5): 45–55.
110. Kim, K.T., Klaine, S.J., Cho, J., Kim, S-H. ve Kim, S.D. (2010). Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction. *Science of the Total Environment*, 408, 2268-2272.
111. Rai, V., Acharya, S. ve Dey, N., (2012). Implications of nanobiosensors in Agriculture. *J. Biomat. Nanobiotech.* 3, 315-324
112. Tarafdar, J. C., Rathore, I. ve Thomas, E. (2015). Enhancing Nutrient Use Efficiency through Nano Technological Interventions. *Indian J. Fert.*, 11,46-51.

113. Marmara-Sieginer Galvaniz (2012). 16 Ekim 2012 tarihinde <http://www.galvaniz.com/galvainfo.html> adresinden erişildi.
114. Taşdemir, G. (2006). Değişik azot ve çinko dozlarının buğday bitkisinde büyüme ve verim üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
115. Demirci, B. (2006). İndiyum Katkılı ZnO İnce Filmlerinin Bazı Fiziksel Özellikleri. Yüksek lisans tezi. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
116. European Commission, Commission directive 2003/100/EC of 31 October 2003 amending annex to directive 2002/32/EC of the European parliament and of the council on undesirable substances in animal feed. OJ L285 1. 11. 2003, pp. 33-37.
117. World Health Organization, Environmental health criteria 221- Zinc , Geneva, WHO, 2001a.
118. Stefanidou, M., et al., Zinc: C. A (2006). multipurpose trace element, *Archives of Toxicology*, 80, 1–9.
119. Suarez, D.F., (2017). et al, Efficient antibacterial anospheres based on ZnO nanoparticles and doxycycline, *Journal of photochemistry and photobiology*, 177, 85-94.
120. Das, S., (2018). et al., A new insight into the interaction of ZnO with calf thymus DNA through surface defects, *Journal of photochemistry and photobiology*, 178, 339- 347.
121. Url-8, http://www.webelements.com/compounds/zinc/zinc_oxide.html alındığı tarih 13.11.2009.
122. Bobak, M., (1985) . “Ultrastructure changes of the nucleus and its components in meristematic root cells of the horse-bean after zinc intoxication”, *Plant Physiology*, 15,31–36.
123. Bekiaroglou, P., Karataglis, S., (2002). “The effect of lead and zinc on *Mentha spicata*”, *Journal of Agronomy Crop Science*, 188 (3), 201-205.
124. Khurana, N., Chatterjee, C., (2001). “Influence of variable zinc on yield, oil content and physiology of sunflower”, *Communications Soil Science and Plant Analysis*, 32, 3023-3030.
125. Romeo, R., Leinen, D., Dalchiele, E. A., Ramos-Barrado, J.R. and Martin, F., 2006. The effects of zinc acetate and zinc chloride precursors on the

preferred crystalline orientation of ZnO and Al-doped ZnO thin films obtained by spray Pyrolysis, *The Solid Films*, 5151, 1942-1949.

126. Ergin, B., Ketenci, E. and Atay, F., 2009. Characterization of ZnO films obtained by ultrasonic spray pyrolysis technique, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 5249-5254.

127. Kumar, S. and Chen, S., 2008. Nanostructured zinc oxide particles in chemically modified electrodes for biosensor applications, *Analytical Letters*, 41, 141-158.

128. Mende, L. and Driscoll, J., 2007. ZnO nanostructures, defects and devices, *Materials Today*, 10, 40-47.

129. Url.9,<http://www.americanelements.com/zmite%20product%20information.pdf> alındığı tarih 02.11.2009.

130. Çeliker, G., 2008. Boya ve kimya sektörü nanoteknoloji, Nanoteknolojide Ürüne Dönüştürülebilir Araştırma ve Ticarileştirme Konferansı, İstanbul.

131. Url-11, <http://www.nanophase.com/markets/details.aspx?MarketId=8> alındığı tarih 20.20.2009

132. Hernandez-Pinero, J.L. Terron-Rebolledo, M. Foroughbakhch, R. Moreno-Limon, S. Melendrez, M. Solis-Pomar, F. ve Perez-Tijerina, E., (2016). “ Effect of heating rate and plant species on the size and uniformity of silver.

133. Luangpipat, T. Beattie, I.R. Chisti, Y. ve Haverkamp, R.G., (2011). “ Gold nanoparticles produced in a microalga “ , *Journal of Nanoparticle Research*, 13: 6439-6445.

134. Rajesh, S. Raja, D.P. Rathi, J. ve Sahayaraj, K., (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ulva fasciata* (Delile) ethyl acetate extract and its activity against *Xanthomonas camopestris* pv. *malvacearum*” , *Journal of Biopesticides*, 5: 2012.

135. Singaravelu, G. Arockiamary, J. Kumar, V.G. ve Govindaraju, K., (2007). “ A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville” , *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 57: 97-101.

136. Padil, V.V.T., Waclawek S. And Cernik M., 2016. Green Synthesis: Nanoparticles and Nanofibres Based on Tree Gums For Environmental Applications. *Impact*, 23(4), 533-557.

137. Dahl, J.A. Maddux, B.L. ve Hutchison, J.E., (2007). “ Toward greener nanosynthesis” , *Chemical reviews*, 107: 2228-2269.
138. Hussain, I. Singh, N. Singh, A. Singh, H. ve Singh, S., (2016). “ Green synthesis of nanoparticles and its potential application “ , *Biotechnology letters*, 38: 545-560.
139. Oxfard English Dictionary Online, Definition of Plant, <https://en.oxford.dictionaries.com/definition/plant>, 11 Aralık 2017.
140. Collins English Dictionary Online, Definition of Extract, <https://www.collinsdictionary.com/dictionary/english/extract>, 12 Aralık 2017.
141. Iravani, S., (2011). “ Green synthesis of metal nanoparticles using plants “ , *Green Chemistry*, 13: 2638-2650.
142. Shankar, S.S. Rai, A. Ahmad, A. ve Sastry, M., (2004). “ Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth “ , *Journal of colloid and interface science*, 275: 496-502.
143. Vijayaraghavan, K. ve Ashokkumar, T., (2017). “ Plant-mediated biosynthesis of metallic nanoparticles: A review of literature, factors affecting synthesis, characterization techniques and applications” , *Journal of environmental chemical engineering*.
144. Song, J.Y. Kwon, E.-Y. ve Kim, B.S., (2010). “ Biological synthesis of platinum nanoparticles using Diopyros kaki leaf extract “ , *Bioprocess and biosystems engineering*, 33: 159.
145. Rai, M. ve Posten, C., (2013). *Green Biosynthesis of Nanoparticles: Mechanisms and Applications*: CABI.
146. Liu, J.-F. Yu, S.-J. Yin, Y.-G. ve Chao, J.-B., (2012). “ Methods for seperation, identification, characterization and quantification of silver nanoparticles “ , *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 33: 95-106.
147. Abdelwahed, W. Degobert, G. Stainmesse, S. ve Fessi, H., (2006). “ Freeze-drying of nanoparticles: formulation, process and storage considerations” , *Advanced drug delivery reviews*, 58: 1688-1713.
148. Pande, M. ve Bhaskarwar, A.N., (2016). *Nanoparticles: Preparation and Characterization*: Momentum Press.

149. Kowalczyk, B. Lagzi, I. ve Grzybowski, B.A., (2011). “ Nanoseparations: strategies for size and/or shape-selective purification of nanoparticles “, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16: 135-148.
150. Şişman, İ., (2006). CdS, CdSe ve CdTe Bileşik Yarıiletken İnce Filmlerinin Aynı Çözeltiden Elektrokimyasal Olarak Au(111) Elektrodu Üzerinde Büyütülmesi ve AFM, STM, XRD ve UV-vis Spektroskopisi ile Karakterizasyonu.
151. Siddiqui, M.H. Al-Whaibi, M.H. ve Mohammad, F., (2015). “ Nanotechnology and Plant Sciences” , *Springer International Publishing*, Cham., 303p.doi, 10: 978-973.
152. Upstone, S.L., (2006). Ultraviolet/ Visible Light Absorption Spectrophotometry in Clinical Chemistry, ed. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd.
153. Abdullaeva, Z., (2017). Synthesis of Nanoparticles and Nanomaterials: *Biological Approaches*: Springer.
154. Humphreys, J. Beanland, R. ve Goodhew, P.J., (2014). Electron microscopy and analysis: CRC Press.
155. McMullan, D., (1995). “ Scanning electron microscopy 1928- 1965 “ , *Scanning*, 17: 175-185.
156. İlbars N. Yeni Nesil Metal Desteksiz Seramikler ve Yapıştırılmasında Kullanılan Rezin Simanların Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi. Ankara: *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 1997:11, 14, 24-38.
157. Connolly DT., Knight MB., Harakas NK., Wittwer AJ., Feder J. Determination of the number of endothelial cells in culture using an acid phosphatase assay. *Anal Biochem* 1986; 152: 136-140.
158. Gunalan, S., Sivaraj, R., Rajendran, V. 2011. “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Aloe barbadensis miller* leaf extract: Structure and optical properties”, *Materials Research Bulluetin*, 46 (12), 2560-2566.
159. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65 (1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
160. Gorbe, M., Bhat, R., Aznar, E., Sancenon, F., Marcos, M.D., Herraiz, F.J., Prohens, J., Venkataraman, A., Martínez-Mañez, R., 2016. Rapid biosynthesis of

silver nanoparticles using pepino (*Solanum muricatum*) leaf extract and their cytotoxicity on HeLa cells. *Materials*, 9(5): 1-15.

161. <https://doi.org/10.1080/24701556.2021.1880437>

162. Azizi, S., Ahmad, M.B., Namvar, F., Mohamad, R., 2014. Green biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum* aqueous extract. *Materials Letters*: 116: 275-277.

163. Jayappa, M.D., Ramaiah, C.K., Kumar, M.A.P. et al. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from the leaf, stem and in vitro grown callus of *Mussaenda frondosa* L.: characterization and their applications. *Appl Nanosci* 10, 3057–3074 (2020). <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01382-2>

164. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.05.224>

165. Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Ixora Coccinea* Leaf Extract—A Green Approach, doi: [10.4236/ojsta.2016.51001](https://doi.org/10.4236/ojsta.2016.51001)

166. Ezealisiji, K.M., Siwe-Noundou, X., Maduelosi, B. *et al.* Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Solanum torvum* (L) leaf extract and evaluation of the toxicological profile of the ZnO nanoparticles–hydrogel composite in Wistar albino rats. *Int Nano Lett* , 99–107 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40089-018-0263-1>

167. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extracts of *Raphanus sativus* var. *Longipinnatus* and evaluation of their anticancer property in A549 cell lines doi: [10.1016/j.btre.2021.e00595](https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00595).

168. Natural fuels (Honey and Cow urine) assisted combustion synthesis of zinc oxide nanoparticles for antimicrobial activities. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.02.026>

169. [https://doi: 10.3390/app10103620](https://doi.org/10.3390/app10103620).

170. Yuvakkumar, R., Suresh, J., Nathanael, A.J., Sundrarajan, M., Hong, S.I., 2014. Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and its antibacterial applications. *Materials Science and Engineering C* 41: 17–27.

171. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.014>

172. Fu, L., Fu, Z., 2015. *Plectranthus amboinicus* leaf extract-assisted biosynthesis of ZnO nanoparticles and their photocatalytic activity. *Ceramics International*, 41 (2): 2492-2496.
173. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-60541-1>
174. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-65949-3>
175. Shamsuzzaman, Mashrai, A., Khanam, H., Aljawfi, R.N., 2013. Biological synthesis of ZnO nanoparticles using *C. albicans* and studying their catalytic performance in the synthesis of steroidal pyrazolines. *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (2): 1530-1536.
176. Rajiv, P., Rajeshwari, S., Vencatesh, R., 2013. Bio-Fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 112: 384-387.
177. Green Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Using *Ocimum Tenuiflorum* Leaves
178. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.03.176>
179. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.014>
180. A. M. Awwad, M. W. Amer, N. M. Salem and A. O. Abdeen. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) using *Ailanthus altissima* fruit extracts and antibacterial activity. *Chemistry International* 6(3) (2020) 151-159. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3559520>.
181. Ahmad, H.; Venugopal, K.; Rajagopal, K.; De Britto, S.; Nandini, B.; Pushpalatha, H.G.; Konappa, N.; Udayashankar, A.C.; Geetha, N.; Jogaiah, S. Green Synthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Eucalyptus globules* and Their Fungicidal Ability Against Pathogenic Fungi of Apple Orchards. *Biomolecules* 2020, 10, 425. <https://doi.org/10.3390/biom10030425>.
182. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100488>.
183. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.09.014>.
184. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.04.007>.
185. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.024>.

186. Green Synthesis and Characterization of Zero Valent Iron Nanoparticles from the Leaf Extract of *Azadirachta indica* (Neem). DOI: 10.5829/idosi.wjnst.2013.2.1.21132.
187. Nagajyothi, P.C., Sreekanth, T.V.M., Tettey, C.O., Jun, Y.I., Mook, S.H., 2014. Characterization, antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of ZnO nanoparticles using *Coptidis rhizoma*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24 (17): 4298–4303.
188. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2015.07.001>.
189. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01684-6>.
190. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.742>.
191. Sankar, R., Manikandan, P., Malarvizhi, V., Fathima, T., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V., 2014. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 121: 746-750.
192. Sundrarajan, M., Gowri, S., 2011. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles by *Nyctanthes arbor-tristis* leaves extract. *Chalcogenide Letters*, 8 (8): 447-451.
193. Sankar, R., Maheswari, R., Karthik, S., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V., 2014. Anticancer activity of *Ficus religiosa* engineered copper oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*, 44: 234-239.
194. Sivaraj, R., Rahman, P.K.S.M, Rajiv, P., Narendhran, S., Venckatesh, R., 2014. Biosynthesis and characterization of *Acalypha indica* mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 129: 255-258.
195. Sathiya, C.K., Akilandeswari, S., 2014. Fabrication and characterization of silver nanoparticles using *Delonix elata* leaf broth. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128: 337–341.
196. Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Mousavi, M., Mohamad, R., 2015. Silver nanoparticles biosynthesized using *Achillea biebersteinii* flower extract: apoptosis induction in MCF-7 cells via caspase activation and regulation of bax and Bcl-2 gene expression. *Molecules*, 20 (2): 2693-2706.

197. Gopinath, K., Venkatesh, K.S., Ilangovan, R., Sankaranarayanan, K., Arumugam, A., 2013. Green synthesis of gold nanoparticles from leaf extract of *Terminalia arjuna*, for the enhanced mitotic cell division and pollen germination activity. *Industrial Crops and Products*, 50: 737-742.
198. Geetha, R., Ashokkumar, T., Tamilselvan, S., Govindaraju, K., Sadiq, M., Singaravelu, G., 2013. Green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer activity. *Cancer Nano*, 4 (4-5): 91-98.
199. Broadley, M.R., White, P.J., Hammond, J.P., Zelko, I., Lux, A., 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*, 173 (4): 677-702.
200. Ji, W., Chen, Y., Hu, J., Li, F., 2017. In-vitro cytotoxicity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles towards cardiac cell lines of *Catla catla*. *Biomedical Research*, 28 (5): 2262-2266.
201. Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, D., Xi, Z., 2008. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *Journal of Applied Toxicology*, 29 (1): 69-78.
202. Azizi, S., Mohamad, R., Shahri, M.M., 2017. Green microwave-assisted combustion synthesis of zinc oxide nanoparticles with *Citrullus colocynthis* (L.) schrad: characterization and biomedical applications. *Molecules*, 22: 1-13.
203. Prashanth, G.K., Prashanth, P.A., Utpal, B., Manoj, G., Nagabhushana, B.M., Ananda, S., Krishnaiah, G.M., Sathyananda H.M., 2015. In vitro antibacterial and cytotoxicity studies of ZnO nanopowders prepared by combustion assisted facile green synthesis. *Karbala International Journal of Modern Science*, 1 (2): 67-77.
204. Jamdagni, P., Khatri, P., Rana, J.S., (baskıda). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. *Journal of King Saud University – Science*.
205. Meyer, K., Rajanahalli, P., Ahamed, M., Rowe, J.J., Hong, Y., 2011. ZnO nanoparticles induce apoptosis in human dermal fibroblasts via p53 and p38 pathways, *Toxicology in Vitro*, 25 (8), 1721–1726.
206. Mukherjee, S., Chowdhury, D., Kotcherlakota, R. ve Patra, S. 2014. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics*, 4(3), 316

207. Ahmad, A., Syed, F., Shah, A., Khan, Z., Tahir, K., Khan, A. U. . ve Yuan, Q. (2015). Silver and gold nanoparticles from *Sargentodoxa cuneata*: synthesis, characterization and antileishmanial activity. *RSC Advances*, 5(90), 73793-73806.
208. AshaRani, P. V., Mun, G. K., Hande, M. P. ve Valiyaveettil, S. 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanomaterials. In Proceedings of Technical Proceedings of the 2009 NSTI *Nanotechnology Conference and Expo NSTI-Nanotech* (pp. 383-386).
209. Behboodi S, Baghbani-Arani F, Abdalan S, Sadat Shandiz SA (2019). Green Engineered Biomolecule-Capped Silver Nanoparticles Fabricated from *Cichorium intybus* Extract: In Vitro Assessment on Apoptosis Properties Toward Human Breast Cancer (MCF-7) Cells. *Biol Trace Elem Res.*, 187(2), 392-402.
210. Jang SJ, Yang IJ, Tetey CO, Kim KM, Shin HM (2016). In-vitro anticancer activity of green synthesized silver nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.*, 68(1), 430-5.
211. Rani PVA, Mun GLK, Hande MP, Valiyaveettil S (2009). ‘Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells’. *ACS Nano.*, 3(2), 279-90.
212. Türkiye Kanser Kontrol Planı (2008). [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/yayinlar/raporlar/Ulusal_Kanser_Plani_2013_2018.\(Erişim Tarihi: 05/12/2019\)](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/yayinlar/raporlar/Ulusal_Kanser_Plani_2013_2018.(Erişim_Tarihi: 05/12/2019))