

**BENİN TIBBİ BİTKİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL
ETKİLİ NANOPARTİKÜL SENTEZLEME
YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Yüksek Lisans Tezi**

Aminath Fidele YACOUBOU

Eskişehir, 2018

BAŞLIK SAYFASI
BENİN TIBBİ BİTKİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLİ NANOPARTİKÜL
SENTEZLEME YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Aminath Fidele YACOUBOU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
İleri Teknolojiler Anabilim Dalı/Biyoteknoloji Bilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Temmuz 2018

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1709F525 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Aminath Fidele YACOUBOU'nun "Benin Tıbbi Bitkilerinin Antimikrobiyal Etkili Nanopartikül Sentezleme Yeteneklerinin Araştırılması" başlıklı Tezi 09/07/2018 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek, Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği nin ilgili maddeleri uyarınca, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı/Biyoteknoloji Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Kıymet GÜVEN	
Üye : Doç. Dr. S. Feyza ERDOĞMUŞ	
Üye : Doç. Dr. M. Burçin MUTLU	

Prof. Dr. Ersin YÜCEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

BENİN TIBBİ BİTKİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLİ NANOPARTİKÜL SENTEZLEME YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amimath Fidele YACOUBOU

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Temmuz 2018

Danışman: Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

Nanopartikülün bitki kaynaklı sentezi, nanoteknoloji ve biyoteknolojiyi birbirine bağlayan yeşil kimya yaklaşımıdır. Günümüzde hemen hemen tüm antibiyotiklerin mikroorganizmalara karşı direnç kazanmış olduğu göz önüne alındığında, az gelişmiş ülkelerde enfeksiyöz hastalıklara karşı sıkça kullanılan tıbbi bitkiler önem arz etmektedir. Bu çalışmada, Benin’de geleneksel tedavide kullanılan altı şifalı bitkinin su, etanol ve metanol ekstraktları antimikrobiyal etkili gümüş nanopartikülleri (AgNP) sentezlemek amacıyla kullanılmıştır. İndirgeyici ajan ve stabilizatör olarak sentezlenen AgNP’lerin antimikrobiyal aktiviteleri hastane enfeksiyonu etmenleri olan bakterilere ve *Candida* türü mayalara karşı araştırılmıştır. Sentezlenen AgNP’lerin karakterizasyonu UV-vis spektroskopisi, X-ışını kırınımı (XRD), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Fourier dönüşümü kızıl-ötesi (FTIR) analizi ile gerçekleştirilmiştir. AgNP’ler, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve *Candida* türü mayalarda büyümeyi önemli ölçüde inhibe etmiştir. Ayrıca, bu bitkilerden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkisi hastane ortamından izole edilmiş metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* strainlerine karşı da araştırılmıştır. Bu çalışma, altı bitkinin de yapraklarından elde edilen su, etanol ve metanol ekstraktları ile uçucu yağlarının ve bunlardan sentezlenen AgNP’lerin geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ve optimizasyon çalışmaları ile enfeksiyonel hastalıkların tedavisinde alternatif çözümler sunabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanopartikül, Antimikrobiyal, Hastane enfeksiyon etmeni bakteriler, *Candida*

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL NANOPARTICLE SYNTHESIS CAPABILITIES OF BENIN MEDICINAL PLANTS

Aminath Fidele YACOUBOU

Department of Biotechnology

Anadolu University, Graduate School of Sciences, July 2018

Supervisor: Prof. Dr. K1ymet GÜVEN

Plant-derived synthesis of nanoparticles is a green chemistry approach that links nanotechnology and biotechnology. Considering that almost all antibiotics have gained resistance against microorganisms nowadays, medical plants frequently used against infectious diseases in underdeveloped countries are important. In this study, water, ethanol and methanol extracts of six medicinal plants used in traditional treatment in Benin were used to synthesize silver nanoparticles (AgNP). The antimicrobial activities of AgNPs synthesized as reducing agents and stabilizers were investigated against nosocomial bacteria and *Candida* species, which are nosocomial infectious agents. Characterization of the synthesized AgNPs was carried out by UV-vis spectroscopy, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared (FTIR) analysis. AgNP'ler, greatly inhibited growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria and *Candida* species. In addition, the antimicrobial effect of essential oils obtained from these plants were also investigated against strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from the hospital environment. This study has shown that essential oils and AgNPs synthesized from water, ethanol and methanol extracts from six leaves of plants have broad spectrum of antimicrobial activity and can offer alternative solutions in the treatment of infectious diseases with optimization studies.

Keywords: Silver nanoparticle, Antimicrobial, Nosocomial bacteria, *Candida*

ÖNSÖZ

Sayın Hocam, eğer ben üniversite hayatım boyunca başarılı olabildiysem, sizin bana ve diğer öğrencilerinize vermiş olduğunuz, kendine güvenme, tuttuğunu koparma ve yeterince hırs sayesinde bunları başarabildim. Yüksek lisans eğitimime ve tez çalışmama ilk başladığım andan itibaren bütün eğitimim boyunca hatta şimdiye kadar özveriyle bilgisini, sabrını ve insani ilgisini esirgemeyen, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek önerilerini göstermekten kaçınmayan, kendisi kıymetleri bilir olan tez danışmanım sayın Prof. Dr. Kıymet GÜVEN'e yeni çıkacağım bu yolda sonsuz desteği için teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Biyoteknoloji bölümündeki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Gümüş nanopartiküllerin fiziksel karakterizasyonu için her zaman bana yardım eden Fizik bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi M. Türkay AYDIN hocama sonsuz teşekkür borçluyum.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarından ötürü tüm mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tezi yapabilmem için, sadece çalışmam boyunca değil, tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi yanımda olan, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, beni bugünlere getiren ve desteğini her zaman hissettiğim sevgili aileme sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, zor günlerimde her zaman yanımda olan arkadaşım M. Andyl MOROU'ya çok teşekkür ederim.

Aminath Fidele YACOUBOU

09/07/2018

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm

.....

Aminath Fidele YACOUBOU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar/ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER VE GÖRSELLER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanopartikül Tarihçesi.....	3
1.2. Neden Gümüş Nanopartikül?	4
1.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Kullanım Alanları.....	5
1.4. Gümüş (Ag) Nanopartiküllerini Sentezlenme Metotları ve Yeşil Nanoteknoloji	6
1.5. Yeşil Sentezin Avantajları	9
1.6. Gümüş Nanopartiküllerin Etki Mekanizması	9
1.7. Gümüş Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu	10
1.8. Benin Tıbbi Bitkileri ve Kullanım Alanları	11
1.8.1. <i>Moringa oleifera</i> (Lam).....	12
1.8.2. <i>Caesalpinia bonduc</i> L.	13
1.8.3. <i>Momordica charantia</i>	14
1.8.4. <i>Pavetta corymbosa</i>	15
1.8.5. <i>Psidium guajava</i> L.	15

1.8.6. <i>Dialium guineense</i>	16
2. MATERYAL VE YÖNTEM	18
2.1. Bitki Örnekleri	18
2.2. Test Mikroorganizmaları	18
2.3. Yöntem	18
2.3.1. Bitkilerin identifikasyonu	18
2.3.2. Ekstrelerin elde edilmesi	21
2.3.2.1. Su ile ekstraksiyon (kaynatma)	21
2.3.2.2. Etanol ile ekstraksiyon.....	21
2.3.2.3. Metanol ile ekstraksiyon	21
2.3.2.4. Bitkilerden uçucu yağların elde edilmesi	21
2.4. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezlenmesi	22
2.5. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması ve Canlandırma İşlemi	22
2.6. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	22
2.6.1. Agar difüzyon yöntemi.....	22
2.6.2. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi	23
2.6.3. Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi	23
2.7. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	24
2.7.1. Ultra violet (uv-vis) spektra analizi.....	24
2.7.2. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) analizi	24
2.7.3. X-ışını kırınım (XRD) analizi	24
2.7.4. Fourier transform infra red spektroskopi (FT-IR) analizi.....	25
3. BULGULAR	26
3.1. Bitki Ekstrelerinden Gümüş Nanopartikül Sentezi	26
3.2. Uçucu Yağ Eldesi	28
3.2.1. <i>Moringa oleifera</i> uçucu yağı.....	29
3.2.2. <i>Caesalpinia bonduc</i> uçucu yağı	30
3.2.3. <i>Momordica charantia</i> uçucu yağı.....	30
3.2.4. <i>Pavetta corymbosa</i> uçucu yağı.....	31
3.2.5. <i>Psidium guajava</i> uçucu yağı	32

3.2.6. <i>Dialium guineense</i> uçucu yağı.....	33
3.2.7. Agar difüzyon yöntemi ile antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi ...	35
3.2.8. Agar difüzyon yöntemi ile antifungal aktivitenin belirlenmesi.....	45
3.2.9. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi	54
3.2.10. Agar difüzyon yöntemi ile uçucu yağların antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	60
3.2.11. Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerinin MRSA bakterilerinin üzerinde agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi.....	62
3.2.12. Nanopartiküllerin karakterizasyonu	64
3.2.12.1. Uv-vis spektro analizi.....	64
3.2.12.2. SEM mikroskopik analizi	66
3.2.12.3. X-ışını kırınım (XRD) analizi	68
3.2.12.4. Fourier transform infra red spektroskopi (FT-IR) analizi	72
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	79
KAYNAKÇA	92
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. <i>Moringa oleifera</i> bitkiden bulunan bileşikler	29
Tablo 3.2. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkiden bulunan bileşikler	30
Tablo 3.3. <i>Momordica charantia</i> bitkiden bulunan bileşikler	31
Tablo 3.4. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkiden bulunan bileşikler.....	32
Tablo 3.5. <i>Psidium guajava</i> bitkiden bulunan bileşikler.....	33
Tablo 3.6. <i>Dialium guineense</i> bitkiden bulunan bileşikler	34
Tablo 3.7. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	35
Tablo 3.8. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	37
Tablo 3.9. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	38
Tablo 3.10. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	40
Tablo 3.11. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	42
Tablo 3.12. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	43
Tablo 3.13. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test fungusları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	45
Tablo 3.14. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test fungusları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	46

Tablo 3.15. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	48
Tablo 3.16. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	49
Tablo 3.17. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	51
Tablo 3.18. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	52
Tablo 3.19. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	54
Tablo 3.20. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	55
Tablo 3.21. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	55
Tablo 3.22. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	56
Tablo 3.23. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	56
Tablo 3.24. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	57
Tablo 3.25. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	57

Tablo 3.26. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	58
Tablo 3.27. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	58
Tablo 3.28. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	59
Tablo 3.29. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	59
Tablo 3.30. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).	60
Tablo 3.31. Uçucu yağların test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).....	60
Tablo 3.32. Bitkilerinin uçucu yağların test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).....	61
Tablo 3.33. Bitkilerinin uçucu yağların MRSA bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).....	62
Tablo 3.34. Bitki ekstrelerin absorpsiyon zonları (mm).	64
Tablo 3.35. 1- <i>Moringa oleifera</i> , 2- <i>Caesalpinia bonduc</i> , 3- <i>Momordica charantia</i> , 4- <i>Pavetta corymbosa</i> , 5- <i>Psidium guajava</i> , 6- <i>Dialium guineense</i> bitkilerine ait su ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.	76
Tablo 3.36. 1- <i>Moringa oleifera</i> , 2- <i>Caesalpinia bonduc</i> , 3- <i>Momordica charantia</i> , 4- <i>Pavetta corymbosa</i> , 5- <i>Psidium guajava</i> , 6- <i>Dialium guineense</i> bitkilerine ait etanol ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.....	77
Tablo 3.37. 1- <i>Moringa oleifera</i> , 2- <i>Caesalpinia bonduc</i> , 3- <i>Momordica charantia</i> , 4- <i>Pavetta corymbosa</i> , 5- <i>Psidium guajava</i> , 6- <i>Dialium guineense</i> bitkilerine ait metanol ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.....	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	36
Çizelge 3.2. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	38
Çizelge 3.3. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	39
Çizelge 3.4. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	41
Çizelge 3.5. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	43
Çizelge 3.6. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	44
Çizelge 3.7. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	46
Çizelge 3.8. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	47
Çizelge 3.9. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	49
Çizelge 3.10. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).	50

- Çizelge 3.11.** *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm). 52
- Çizelge 3.12.** *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm). 53

ŞEKİLLER VE GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Metal nanoparçacık çeşitleri ve biyoteknolojideki uygulamaları.....	4
Şekil 1.2. Gümüş nanopartiküllerin sentezinde çeşitli yaklaşımlar.....	8
Şekil 1.3. Bitki özü kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezleme protokolü.....	8
Şekil 1.4. Gümüş nanopartiküllerin bitki kaynaklı sentezi: karakteristik özellikleri ve terapötik uygulamaları	11
Şekil 1.5. Benin'in Batı Afrika'daki Yeri.....	12
Şekil 2.1. Bitki identifikasyon sertifikası	19
Şekil 3.1. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).....	26
Şekil 3.2. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).....	27
Şekil 3.3. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).....	27
Şekil 3.4. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).	27
Şekil 3.5. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş anopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüşnitrat).....	28
Şekil 3.6. <i>Dialium guajava</i> bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).....	28
Şekil 3.7. <i>Psidium guajava</i> uçucu yağı.....	28
Şekil 3.8. <i>Moringa oleifera</i> bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) <i>K. pneumoniae</i> , (b) <i>E. aerogenes</i> bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol).....	36

- Şekil 3.9.** *Caesalpinia bonduc* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol) *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etki zonları..... 37
- Şekil 3.10.** *Momordica charantia* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *E.coli* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃). 39
- Şekil 3.11.** *Pavetta corymbosa* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *E.aerogenes* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol/AgNO₃). 40
- Şekil 3.12.** *Psidium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *A. baumannii* bakterisi üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃). 42
- Şekil 3.13.** *Dialium guineense* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartikülleri (a) *A.baumannii*, (b) *E.aerogenes* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7/8: AgNO₃-Kloramfenikol). 44
- Şekil 3.14.** *Caesalpinia bonduc* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. albicans* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃). 47
- Şekil 3.15.** *Momordica charantia* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. glabrata* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Ketokonaz..... 48
- Şekil 3.16.** *Pavetta corymbosa* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. albicans* ve (b) *C. parapsilosis* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃). 50

- Şekil 3.17.** *Psidium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *C. parapsilosis* üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Ketokonazol)..... 51
- Şekil 3.18.** *Dialium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. zeylanoides* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: (a)- AgNO₃, (8b)-Ketokonazol). 53
- Şekil 3.19.** Uçucu yağların (a) *S. aureus* ve (b) *E. coli* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: *Moringa oleifera*, 2: *Caesalpinia bonduc*, 3: *Momordica charantia*, 4: *Pavetta corymbosa*, 5: *Psidium guajava*, 6: *Dialium guineense*, 7: Kloramfenikol..... 61
- Şekil 3.20.** Bitkilerden elde edilen uçucu yağları (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. albicans* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: *Moringa oleifera*, 2: *Caesalpinia bonduc*, 3: *Momordica charantia*, 4: *Pavetta corymbosa*, 5: *Psidium guajava*, 6: *Dialium guineense*, 7: Ketokonazol..... 62
- Şekil 3.21.** *Moringa oleifera* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerinin absorpsiyon zonu. 64
- Şekil 3.22.** *Caesalpinia bonduc* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerinin absorpsiyon zonu. 65
- Şekil 3.24.** *Pavetta corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu. 65
- Şekil 3.25.** *Psidium guajava* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu. 66
- Şekil 3.26.** *Dialium guineense* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu. 66
- Şekil 3.27.** *Moringa oleifera* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü. 67
- Şekil 3.28.** *Caesalpinia corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü. 67
- Şekil 3.33.** *Moringa oleifera* bitkisinin 1S) su, 1E) etanol ve 1M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü. 69

Şekil 3.34. <i>Caesalpinia bonduc</i> bitkisinin 2S) su, 2E) etanol ve 2M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.	69
Şekil 3.35. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin 3S) su, 3E) etanol ve 3M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.	70
Şekil 3.36. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin 4S) su, 4E) etanol ve 4M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.	70
Şekil 3.37. <i>Psidium guajava</i> bitkisinin 5S) su, 5E) etanol ve 5M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.	71
Şekil 3.38. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin 6S) su, 6E) etanol ve 6M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.	71
Şekil 3.41. <i>Momordica charantia</i> bitkisinin 3S) su, 3E) etanol ve 4M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.	73
Şekil 3.42. <i>Pavetta corymbosa</i> bitkisinin 4S) su, 4E) etanol ve 4M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.	74
Şekil 3.44. <i>Dialium guineense</i> bitkisinin 6S) su, 6E) etanol ve 6M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.	75

KISALTMALAR DİZİNİ

AgNO ₃	: Gümüş nitrat
AgNP	: Silver Nanoparticle/ Gümüş (Ag) Nanopartikül
BİBAM	: Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	: Multi-dirençli Staphylococcus aureus
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
UV-VIS	: Morötesi-Görünür Bölge Spektroskopisi
XRD	: X-Işını Kırınımı
µL	: Mikrolitre
mm	: milimetre
ml	: mililitre

1. GİRİŞ

Günümüzde bulaşıcı hastalıklar gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi, az gelişmiş ülkelerde de halk sağlığını tehdit etmektedir. Bu problem yüzünden, dünya çapında yılda 17 milyondan fazla ölüm meydana gelmekte ve bu ölümlerin yarısından fazlası Afrika kıtasında gerçekleşmektedir. Bulaşıcı hastalıklar, sıklıkları ve ciddiyetleri nedeniyle halk sağlığında bir endişe kaynağı olup özellikle bebekler, çocuklar ve yaşlılar olmak üzere tüm yaş gruplarını etkilemektedir (Gagnon, 2007; Agbankpé vd., 2014). Afrika'da, hastaların yaklaşık % 80'i, ilaçların yokluğunda, köy doktorları tarafından tedavi edilmektedir (Pousset, 1989; Agbankpé vd., 2014). Benin'de nüfusun % 80'i gelişmekte olan ülkeler gibi daha sağlıklı olmak için geleneksel tıbbı başvurmaktadır (Gbogbo vd., 2013). Bu nedenle, tıbbi bitkiler, tıbbi ürün moleküllerinin en önemli kaynağı olmaya devam etmektedir.

Eski çağlardan beri insanlar hastalıklarını iyileştirmek için şifalı bitkiler kullanmaktadır. Aslında bunların terapötik özellikleri, ikincil metabolitler olarak adlandırılan yüzlerce, hatta binlerce biyoaktif doğal bileşiğin varlığından kaynaklanmaktadır. Günümüzde, antibiyotiklere karşı mikrobiyal direnç gelişimi araştırmacıları bitki dünyasına, özellikle de tıbbi ve geleneksel bitkilere, etkili doğal molekülleri bulma ve olumsuz etkilerden uzaklaşmaya yöneltmektedir.

Nano malzemelerin sentezi ve uygulamalarını içeren nanoteknoloji, çeşitli alanlarda önemli uygulamalarla hızla büyüyen bir alandır (Das vd., 2014). Günümüzde nanopartiküller üzerinde çok sayıda araştırmalar yapılmaktadır. Çeşitli inorganik nanopartiküller arasında, gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal araştırmanın yapıldığı alanda büyük ilgi görmüştür ve yüksek yüzey/hacim oranı yüzünden daha etkili oldukları açıklanmıştır (Das vd., 2014). Nanopartiküller metal veya ametal malzemelerden sentezlenmektedir. Ancak nanopartiküllerin biyolojik olarak uygulanması söz konusu olduğunda gümüş ve altın en çok tercih edilen metallerdir (Philips vd., 2006).

Biyolojik bilimler ve biyoteknoloji alanlarında gümüş nanopartiküller (AgNP), çözelti içindeki gümüş bileşiklerinin indirgenmesi (Wang vd., 2005), gümüş bileşiklerinin termal dekompozisyonu (Navaladian vd., 2007) mikrodalga yardımcı sentezi (Sreeram vd., 2008) ve lazer aracılı sentez (Zamiri vd., 2011) gibi çeşitli yöntemlerle sentezlenmektedir. Kimyasal sentez yöntemleri bazı toksik kimyasalların varlığına neden olmakta, özellikle biyolojik uygulamalarda zararlı etkisi olabilecek yüzey indirgeyici ve/veya yükseltgeyici ajanların oluşumuna neden olabilmektedir. Ancak

biyolojik bilimler ve biyoteknolojide, gümüş nanopartiküllerin güvenli ve uyumlu bir şekilde sentezlenmesi için toksik kimyasallar kullanmayan biyogenetik yolun geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Biyolojik organizmalar, bitki ekstreleri (bitki özleri/özütleri) veya bitki biyokütlesi kullanımı, nanopartiküllerin üretimi için kimyasal ve fiziksel yöntemlere alternatif olabilmektedir (Garima vd., 2011). Gümüş Nanopartikül (AgNP)'lerin biyolojik sentezinde, *Verticillium* sp. (Sastry vd., 2003), *Aspergillus fumigatus* (Bhainsa ve D'souza 2006), *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* (Sondi, ve Salopek-Sondi., 2002), *Aspergillus flavus* (Vigneshwaran vd., 2007), *Bacillus subtilis* (Saifuddin vd., 2009), *Fusarium oxysporum* (Nelson vd., 2005), *Penicillium* sp, (Hemanth vd., 2010) gibi pek çok mikroorganizma kullanılmıştır. Ancak bitki ekstreleri kullanılarak nanoparçacık sentezi, nanopartikül üretiminin en çok kabul gören yeşil (çevre dostu) yöntemi olup özellikle bitkilerin geniş dağılımı, kullanımı, kolaylığı ve güvenliği nedeniyle birçok avantaja sahiptir. Bu amaçla kullanılan bitkiler polifenoller, antioksidanlar, şekerler, taninler, asitler gibi çeşitli metabolitlerin bir kaynağıdır (Elumalai vd., 2010). *Oryza sativa* (Ankamwar vd., 2005), *Ocimum sanctum* (Tulsi) yaprakları (Garma vd., 2011), *Tithonia diversifolia* yaprakları (Tran, Vu, ve Nguyen, 2013), *Crataegus douglasii* meyve ekstraktları (Ghaffari-moghaddam ve Hadi-dabanlou, 2014), *Psidium guajava* L. yaprakları (Sriram ve Pandidurai 2014) *Rosmarinus officinalis* yaprakları (Ghaedi vd., 2015), *Sesbania grandiflora* yaprakları (Ajitha vd., 2016), gibi şifalı bitkiler kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi üzerine çeşitli deneyler gerçekleştirilmiştir.

Benin, zengin bitki örtüsüne sahip bir batı Afrika ülkesidir. Bitki örtüsünü oluşturan tıbbi bitkiler arasında *Artemisia* cinsi, *Leguminosae- Caesalpinioideae*, *Cucurbitaceae*, *Moringaceae*, *Rubiaceae*, ve *Myrtaceae* üyeleri alternatif tıpta kullanılmaktadır. En tanınmış terapötik tedavi amaçlı kullanılan bitki türleri *Caesalpinia bonduc*, *Dialium guineense*, *Momordica charantia*, *Moringa oleifera*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* olup sindirim bozuklukları, yanık, diyare vb. tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Gbogbo vd., 2013; Agbankpé vd., 2014). Ancak bu bitkilerden elde edilen nanopartiküllerin, özellikle çoklu antibiyotik direncine sahip hastane enfeksiyonu etmeni *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Enterobacter* türleri) ve *Candida* türleri üzerinde büyümeyi inhibisyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; Benin’de geleneksel tedavide kullanılan *Caesalpinia bonduc*, *Dialium guineense*, *Momordica charantia*, *Moringa oleifera*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* bitki yapraklarının su, etanol ve metanol ham ekstraktları ile bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ve uçucu yağlarının enfeksiyon etmeni çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal özelliklerini araştırmak ve nanopartikül karakterizasyonunu gerçekleştirmektir.

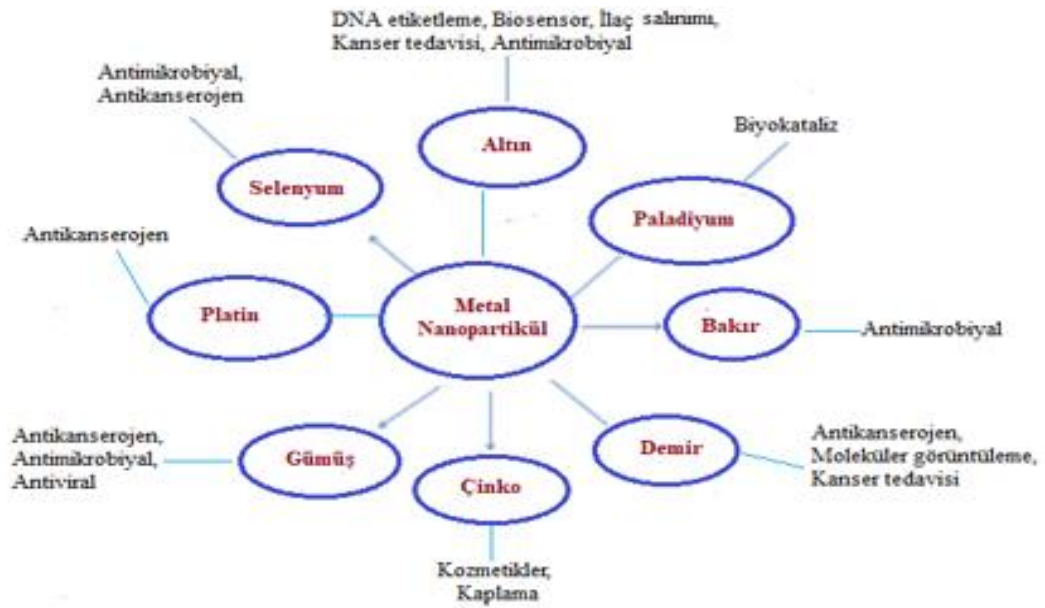
1.1. Nanopartikül Tarihçesi

“Nanoteknoloji” terim olarak ilk kez 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından, “ileri düzey duyarlılıkla mevcut teknolojilerin küçültülmesine dayalı bir teknoloji” olarak tanımlanmıştır (Ramsden, 2005). 1981 yılında, nanometre düzeyinde atom ve moleküllerin incelemesinde kullanılan Taramalı Tünelleme Mikroskobu (Scanning Tunneling Microscope (STM) ve 1985 yılında Atomik Kuvvet Mikroskobunun (AFM) geliştirilmesiyle nanoteknoloji hızla gelişmeye başlamıştır (Drexler, 1986). Nanopartiküllerin çok küçük boyutları ve yüksek yüzey/hacim oranlarına sahip olması nedeniyle, maddelerde bulunan nanopartiküllerin fiziko-kimyasal özellikleri ham metallerden oldukça farklıdır. Bu nedenle, elektronik, fotonik, kataliz, kimyasal algılama, görüntüleme, çevresel iyileştirme, ilaçlar ve biyolojik izleme bilgi depolama alanlarında potansiyel uygulamalar bulunmaktadır.

Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO 2008), nanometal terimini, “nanometre cinsinden dış boyutlara veya bir iç yapıya ya da nanometre yüzey yapısına (yaklaşık 1 nm ila 100 nm aralığında) sahip bir malzeme” olarak tanımlamaktadır. Avrupa Komisyonu'nun (2011) tavsiyelerine göre, nanomateryal kazara ya da özellikle hazırlanmış bir nötr nanomateryal yani birleşik olmayan bir halde, yada bir agrega ya da bir aglomera olarak parçacıklar ihtiva eder. Parçacıkların % 50 ya da daha fazlası için, bir veya daha fazla harici boyutlar 1 nm-100 nm boyut aralığında olmalıdır. Nano ölçekli parçacıkların kısaltılmış biçimi olan nanopartiküller (NP), en az bir boyutu 1 nm ila 100 nm arasında olan atomik ya da moleküler agregatlardır (Ministry of Ecology and Development [MED], 2006). Çok çeşitli nanopartikül bulunmaktadır; karbon nanopartikülleri, metal oksitler, kuantum noktaları, organik polimerler, biyolojik açıdan ilham kaynağı olan metal nanopartiküller.

1.2. Neden Gümüş Nanopartikül?

Nanopartiküller eşsiz optik, elektriksel ve termal özelliklere sahip olup, günümüzde ilaç, teşhis, görüntüleme, algılama, genetik, yapay implantlar ve doku mühendisliği gibi birçok alanda vazgeçilmez bir role sahiptirler (Şekil 1.1). Metalik nanopartiküller, hacimsel oranlarına göre geniş yüzey alanına sahip olduklarından dikkat çekici antibakteriyel özellikler göstermektedir. Bu nedenle metal iyonuna, antibiyotiklere ve dirençli suşların gelişimine karşı artan mikrobiyal direnci talep eden araştırmacılar için umut vericidir (Khalil vd., 2013; Ahmed vd., 2016).



Şekil 1.1. Metal nanoparçacık çeşitleri ve biyoteknolojideki uygulamaları

Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci ile ortaya çıkan sorunlarla karşı karşıya kalan bilim insanları bu soruna çözüm bulmak için arayışlara girmiştir. 1970'lerin sonunda, R.O. Becker ve ark., ortopedik hastalıkların tedavisi sırasında mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için gümüş parçacıklarını kullanmış ve daha hızlı kemik iyileşmesi sağlamıştır (Baruwati vd., 2009).

Metal nanopartiküller günümüzde elektronik, malzeme bilimi, nanotıp gibi yeni teknolojilerde geniş kullanım alanına sahip olmakta ve bilim adamlarının ilgisini çekmektedir (Bar vd., 2009). Gümüş; antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikleri ile geniş spektrumlu bir antimikrobiyal madde olarak yüzyıllardır pek çok alanda güvenle kullanılmaktadır. Bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonlarının da antimikrobiyal özellikte oldukları bilinmektedir (Şekil 1.1). Gümüş nanopartiküller,

kimyasal kararlılıkları, iyi iletkenlik özellikleri, katalitik ve en önemlisi antibakteriyel, anti-viral, antifungal gibi benzersiz özelliklerinden dolayı nanoteknoloji alanında önemli bir üründür (Klaus-Joerger, 2001; Ahmad vd., 2003). Bu yüzden bakterilere, virüslere ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı en iyi etkinliği gümüş göstermektedir (Duncan, 2011; Beykaya ve Çağlar, 2016).

Antimikrobiyal özelliği ile dikkat çeken gümüş nanopartiküllerin üretiminde hem çeşitli mikroorganizma türleri hem çeşitli bitki türleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Gümüş, antimikrobiyal madde olarak birçok önemli avantaja sahiptir. Bu avantajlar; gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması, gümüşte bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması ve daha önce belirtildiği üzere düşük derişimde toksik olmamasıdır (Rai vd., 2012).

1.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Kullanım Alanları

Gümüş tuzları ve türevleri eski zamanlardan beri yanık, yara ve enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (Castellano vd., 2007). Literatürde, 1800’lü yıllarda gümüşün göz damlası olarak kullanıldığı, daha sonra penisilinin bulunmasıyla beraber kullanımın azaldığı ancak, 1960’lı yıllarda % 0.5’lik gümüş nitrat çözeltisinin yanık tedavisinde tekrar yaygın olarak kullanılmaya başlandığı bildirilmektedir (Rai vd., 2012).

1968 yılında gümüş nitrat sülfonamidle kombine edilerek gümüş sülfadiazin krem elde edilmiştir. Bu krem pek çok mikroorganizmaya karşı etkili olması nedeniyle yanık tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Literatürde gümüş sülfadiazinin *E. coli*, *S. aureus*, *Klesiella* sp. ve *Pseudomonas* sp. gibi bakterilere karşı etkin olduğu ayrıca antifungal ve antiviral etkinliklere de sahip olduğu bildirilmektedir (Rai vd., 2012).

Gümüş biyomedikal uygulamalarda pansumanlara, kremlere, antiseptik spreylere ve dokulara ilave edilerek antiseptik özellik sağlamak ve hücre zarını parçalayarak enzimatik faaliyetlerini bozmakta böylece mikroorganizmalara karşı bakterisidal etki göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin sentezi, geniş uygulama alanları nedeni ile bilim insanlarının ilgisini çekmektedir. Bu gümüş nanopartiküller ayrıca kanser teşhisi ve tedavisinde de başarıyla kullanılmaktadır (Baruwati, Polshettiwar ve Varma, 2009; Popescu, Velea ve Lorinczi, 2010). Ayrıca, etkili ve geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteleri sebebiyle istenmeyen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak ve kontaminasyonu önlemek amacıyla da kullanılmaktadır (Rai vd., 2009).

Günümüzde, birçok endüstriyel üründe, giyimde, maskelerde, ev tipi su filtrelerinde, antibakteriyel sprelerde, kozmetik, deterjan ve diyet takviyelerinde, kesme tahtaları, ayakkabı, cep telefonları, dizüstü bilgisayar klavyeleri ve çocuk oyuncakları gibi ürünlerde gümüş malzemelerin özel ve benzersiz özellikleri kullanılmaktadır (Jeeva vd., 2014). Ayrıca, AgNP'ler yaygın olarak cerrahi aletler, yara sargıları, bağ protezi ve kalp kapakçıkları, elektronikler ve biyosensörlere dahil edilmektedir (Mohammadlou vd., 2016).

Nanopartiküller tıbbi ve farmasötik alanlarda yaygın olarak kullanılmalarının yanı sıra kozmetik ürünleri (şampuanlar, sabunlar, ve diş macunu) gibi tüketim maddelerinde de kullanılmaktadır (Kim ve Song 2010, Arokiyaraj vd., 2017).

1.4. Gümüş (Ag) Nanopartiküllerini Sentezlenme Metotları ve Yeşil Nanoteknoloji

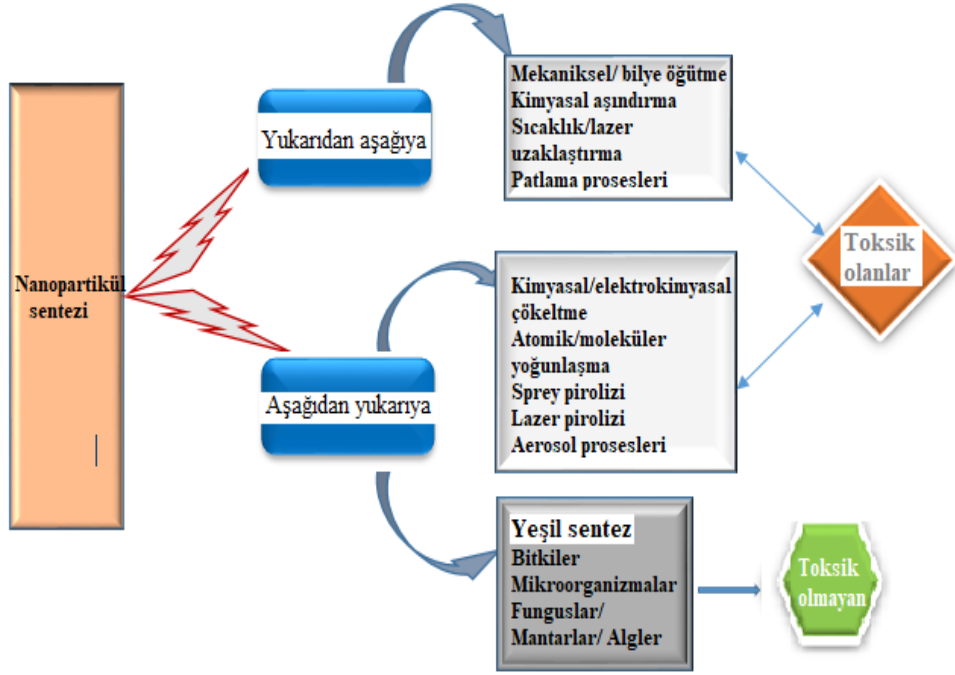
Nanomalzemelerin sentezindeki başlıca zorluklar parçacık büyüklüğü dağılımı, şekli, morfolojisi, kimyasal bileşimi ve kristal yapısı gibi özelliklerinin kontrolüdür. Gümüş nanopartiküller çeşitli biyolojik risklerden, sorumlu toksik ve tehlikeli kimyasalların kullanımını içeren oldukça pahalı ve potansiyel olarak çevreye zararlı çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntemlerle gümüş tuzlarından hazırlanmaktadır (Sahni ve Pudake, 2014).

Fiziksel metotlar; fotokimyasal sentez, lazer ile eritme, faz transfer işlemleri, makro emülsiyon, mikro emülsiyon ve gama ışıması olup, kimyasal metotlar ise gümüş iyonunun indirgeyici ajan(lar) (askorbik asit, hidrazin, amonyum format, sodyum boroksit, trisodyum sitrat) tarafından indirgenmesi ve partiküllerin kümeleşmesini önlemek için koruyucu ajanlarla stabilize edilmesidir (Sahni ve Pudake, 2014).

Buna karşın maya, küf, bakteri, meyve, bitki ekstraktları gibi çeşitli biyolojik sistemler kullanılarak ta AgNP'lerini elde etmek mümkündür. Bitki ekstraktlarının metal iyonlarını indirgeme özellikleri 1900'li yıllardan beri bilinmekle birlikte indirgeme ajanlarının doğal mekanizmaları halen tam olarak anlaşılamamıştır. Son 30 yıldır kabul gören uygulama ise yeşil bitki aksamının tamamı yada bitki dokusunun metal tuzlarını indirgeme özelliğine dayandırılmaktadır (Beattie ve Haverkamp, 2011; Gan ve Li, 2012; Iravani, 2011; Kumar ve Yadav, 2009; Park vd., 2011). Günümüzde kimyasal ve fiziksel nanopartikül teknolojilerine alternatif olarak, çevre dostu, toksik madde içeriği az, mayalar, mikrofunguslar, bakteriler, meyve ve bitki özleri gibi çeşitli biyolojik sistemleri kullanarak (Ashokkumar vd., 2015, Shahverdi vd., 2007), bu canlı hücrelerden

nanopartikül üretimi esnasına dayanan “Yeşil Nanoteknoloji” terimi ortaya çıkmıştır. Bu terim, atık ürünler problemini azaltan, insan sağlığına zararı olmayan, kolay uygulanabilir yöntemleri, nanoteknoloji bilimi kapsamında araştıran çalışma yöntemleri olarak ifade edilmektedir (Duncan, 2011; Beykaya ve Çağlar, 2016). Yeşil nanoteknoloji kapsamında özellikle yeşil bitki ekstraktları ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu anlamda birçok canlı kullanılmakla birlikte yeşil bitki ekstraktlarına *Aloe vera*, *Azadirachta indica* (ihlamur), *Camellia sinensis* (çay), *Jatropha curcas* (hint fıstığı), *Acalypha indica* (hint ısırganı) örnek verilebilir (Kumar vd., 2013). Ayrıca *Caesalpinia gilliesii* (Hook) (Mahmoud vd., 2017), *Momordica charantia* (Supraja vd., 2017), *Psidium guajava* (Geetha, 2017), *Syngonium podophyllum* (Yasir vd., 2018), *Kalipatti sapota* (Manilkara zapota) (Vishwasrao, Momin, ve Ananthanarayan, 2018) bitkileri de yeşil nanoteknoloji kapsamında kullanılmaktadır.

Literatürlerde bu sentez yöntemleri, top-down ‘yukarıdan aşağıya’ bottom-up ‘aşağıdan yukarıya’ olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. AgNP'lerin sentezleri için mevcut yukarıdan aşağı ve aşağıdan yukarıya teknikleri Şekil 2'de özetlenmiştir. Fiziksel, kimyasal ve yeşil (biyolojik) teknikleri içeren AgNP'lerin sentezi için birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Tüm metotlarda, indirgenen ajanlar kullanılarak gümüş iyonlarının gümüş elementlere indirgenmesinin ardından nükleasyon ve büyüme süreçleri ile stabilize edilmiş nanopartiküller oluşturulmaktadır (Chen ve Yeh, 2002; Sen vd., 2003; Kharissova vd., 2003; Mohammadlou, Maghsoudi, ve Jafarizadeh-Malmiri, 2016). Nanopartiküllerin sentezi için uygulanan çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler ile, istenen özelliklere sahip parçacıklar elde etmek mümkündür (Sharma vd., 2009; Geoprincy vd., 2013).



Şekil 1.2. Gümüş nanopartiküllerin sentezinde çeşitli yaklaşımlar.

AgNP'lerin mikroorganizmalar ve bitki özleri ile yeşil sentezi, günümüzde çok dikkat çeken ve uygulanan alternatif bir sentezleme tekniğidir (Mohammadlou, Maghsoudi, ve Jafarizadeh-Malmiri, 2016). Bitkisel materyal yardımıyla gümüş nanopartikül sentezinin akış şeması şekil 3'te verilmektedir (Ahmed vd., 2016).



Şekil 1.3. Bitki özü kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezleme protokolü

1.5. Yeşil Sentezin Avantajları

Bitkisel kaynaklardan sentezlenen nanopartiküller hem çok hızlı ve stabil hem de daha ekonomik olarak elde edilebilmektedir (Ahmed vd., 2016). Ayrıca bitki ekstraktı veya mikroorganizma kullanılarak yapılan yeşil sentezlerde, canlı hücrelerin metal iyonlarını indirgeyerek toksik metallerin toksisitelerinin azaldığı bildirilmiştir (Saifuddin, 2008). Bu avantajları maddeler halinde sıralarsak (Health and Safety Executive [HSE]):

- Atık probleminin olmaması,
- Atomların yüksek oranda tasarrufu,
- Daha az tehlikeli kimyasal sentezlerin tasarlanması,
- Daha güvenli kimyasalların tasarlanması,
- Çözücüler ve daha güvenli reaksiyon koşullarının kullanılması,
- Enerji verimliliğini artırılması,
- Yenilenebilir hammaddeler kullanılması,
- Kimyasal türevlerinin kullanımının azalması,
- Stokiyometrik reaktiflerin değil, katalizörlerin kullanılması,
- Kullanımdan sonra parçalanan kimyasalların tasarlanması,
- Gereksiz kirliliği önlemek için sürekli analiz edilebilmesi,
- Kaza riskini sınırlandırması.

1.6. Gümüş Nanopartiküllerin Etki Mekanizması

Gümüşün mikroorganizmalar üzerinde etki mekanizması halen çok net açıklanamamaktadır. Metalik gümüşün, gümüş iyonlarının ve gümüş nanopartiküllerinin bakteri hücresinde meydana getirdiği morfolojik ve yapısal değişiklikler incelenerek mekanizma daha net anlaşılmaya çalışılmaktadır. Bir teoriye göre; gümüşün bakteri hücre duvarına ve hücre zarına bağlandığı, tiol (-SH) gruplarındaki proteinlerle etkileşime girerek onları etkisiz hale getirdiği ve zar geçirgenliğini düşürerek hidrojen katyonu ile yer değiştirdiği böylece bakteri hücrelerinin ölümüne neden olduğu bildirilmektedir (Duncan, 2011; Beykaya ve Çağlar, 2016). Birçok çalışmada gümüş nanopartiküllerin, bakteriyel hücrenin negatif yüklü membranını sabitleyip parçalayarak protein denatürasyonuna ve son olarak hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (Prabhu ve Poulouse, 2012). Gümüş nanoparçacık kompozitlerinin katalitik mekanizması ve DNA gibi fosfor ve kükürt içeren bileşiklerle etkileşerek hücreye verilen hasar da incelenmiştir

(Sharma ve Lin, 2009). Ayrıca, gümüş nanopartiküllerin, dış zarın dengesizleştiği ve plazma membranının bozulması ile hücre içi ATP'nin azalmasına neden olduğu da gösterilmiştir (Lok vd., 2006). Başka bir mekanizma, oksijenin gümüş ile birleşerek hücre duvarında sülfhidril grupları ile bağlanmasını ve solunumun bloke edilerek hücre ölümüne neden olduğunu göstermiştir (Sharma, Yngard, ve Lin, 2009). Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkiye neden olduğu kesin mekanizma açıkça bilinmemektedir ve tartışma konusu olmaktadır. Bununla birlikte, bakteri öldürücü etkiye neden olan çeşitli teoriler bulunmaktadır. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkiye neden olduğu teorilerinden biri de hücrenin yüzeyinde "kuyu" oluşumu ve hücre yüzeyinde bir nanopartikül birikiminin olmasıdır (Sondi ve Salopek-sondi, 2004). Gümüş ile temas eden bakteri hücreleri, hücrede birkaç işlevi engelleyen ve onlara zarar veren gümüş iyonlarını alır. Gümüş nanopartiküllerin DNA'nın sülfür ve fosforu ile etkileşimi, bakterilerde DNA replikasyonunda problemlere yol açıp hücre yıkımına yol açacak DNA'yı yok edebilir (Morones vd., 2005).

Gümüş nanopartiküller tarafından serbest radikallerin oluşumu, hücrelerin öldüğü başka bir mekanizma olarak ta düşünülebilir. Elektron spin rezonans spektroskopisinde, bakterilerle temas halindeki gümüş nanopartiküllerin hücre zarına zarar verme kabiliyetine sahip serbest radikal oluşturduğunu öne süren çalışmalar vardır (Prabhu ve Poulouse, 2012; Kim vd., 2007) Buna ilaveten, nanopartiküllerin gümüş iyonlarını serbest bırakarak bu iyonların birçok hayati enzimin tiyol gruplarıyla etkileşime girmesi ile inaktivasyon gerçekleştirdikleri kaydedilmiştir (Matsumura vd., 2003; Kusturica, Tomas ve Sabo, 2015).

Gümüş nanopartiküllerin bakterisit özellikleri, antimikrobiyal aktivite sağlayan partiküllerden gümüş iyonlarının salınmasına bağlıdır (Amarendra, 2010). Ayrıca, antibakteriyel etki gücü nanopartikülün büyüklüğü ile ilişkilidir. Daha küçük parçacıklar eşdeğer gümüş kütle içeriği nedeniyle daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Guidelli, Zanicelli ve Baffa, 2011).

1.7. Gümüş Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Biyolojik olarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin terapötik uygulamalar için özelliklerinin belirlenmesinde; UV-Vis (Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon) spektrofotometresi, TEM (geçirimli elektron mikroskobu), SEM (taramalı elektron mikroskobu), EDX (enerji dağılım spektrometresi) Analizi, XRD (X ışınları kırınımı) ve

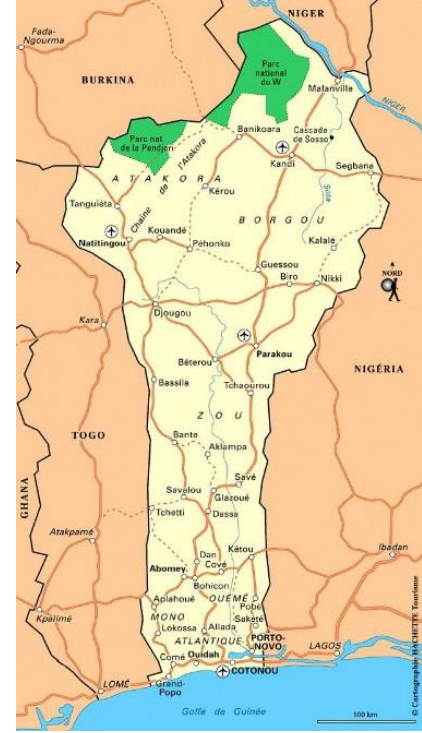
FTIR (Fourier dönüşümlü kızılötesi) spektrofotometresi gibi cihazlarla analizler yapılmaktadır (Şekil 4).



Şekil 1.4. Gümüş nanopartiküllerin bitki kaynaklı sentezi: karakteristik özellikleri ve terapötik uygulamaları

1.8. Benin Tıbbi Bitkileri ve Kullanım Alanları

Batı Afrika, Sahra altı Afrika'nın tüm batı bölümünü kapsayan bir arazidir. Seçilen çalışma çerçevesi olan Benin (Şekil 1.5) batı Afrika'da Ekvator ile Yengeç dönencesi arasındaki tropik bölgede yer almaktadır. Kuzeyde, Nijer Cumhuriyeti'nden ayıran Nijer Nehri ile sınırlandırılmıştır; Kuzeybatısında Burkina Faso, batısında Togo, doğusunda Nijerya ve Güneyinde Atlantik Okyanusu bulunmaktadır. Benin yüzey alanı 112.622 km²'dir. Kuzeyden güneye 700 kilometre, genişliği ise 125 km'den (sahil boyunca) 325 km'ye (enlem Tanguiéta-Ségbana'da) değişmektedir. Nisan 2018 yılında Benin nüfusu 11.722.919 olarak hesaplanmıştır (Economist Intelligence Unit, Algeria Country Report, 2018, CIA, IMF Ekim-2017). İntertropik bir bölgede bulunan ülkenin iklimi, genellikle sıcak ve nemli, mevsimsel ve coğrafi varyasyonlar enlem, rölyef ve sezonların değişimi ile bağlantılıdır. Her zaman yüksek olan nem seviyesi % 65 ile % 95 arasındadır. Ortalama sıcaklık 22 ile 34 ° C arasında, Nisan ve Mayıs, muson yağmurunu getirmeden önce altı ay boyunca en sıcak aylardır (Economist Intelligence Unit, Algeria Country Report, 2018, CIA, IMF Ekim-2017).



Şekil 1.5. Benin'in Batı Afrika'daki Yeri

1.8.1. *Moringa oleifera* (Lam)

Moringa oleifera Lam. bitkisi yaygın olarak drumstick bitkisi, bayır turpu, mucize bitkisi veya annenin en iyi arkadaşı olarak adlandırılan, 13 tür ağaç ve çalı türünü içeren, monojenerik bir aile *Moringaceae*'nin (İsitua, 2013) en iyi bilinen, yaygın olarak yetiştirilen türlerinden birisidir. Hindistan, Sri Lanka, kuzey-doğu ve güney-batı Afrika, Madagaskar ve Arabistan'ın Himalaya alt bölgelerine dağılmıştır (Fahey, 2005). *M. oleifera* tropik iklime en iyi uyan ve farklı toprak türlerini tolere eden, kuraklığa dayanıklı bir bitkidir (Fahey, 2005). Bitkinin büyük bir kısmı, ağacın hemen hemen her bölümü, yaprak, kök, kabuk, meyve çiçekleri, olgunlaşmamış bakla ve tohumları besin değeri yüksek gıda olarak kullanılmaktadır (Anwar vd., 2007; Chuang vd., 2007). Ek olarak, bitkinin antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Lockett vd., 2000; Anwar vd., 2007), bu da insan hastalıklarının tedavisinde geniş kullanımının nedenini açıklamaktadır. Genellikle tropik ve subtropikal bölgelerde bulunurlar. Moringa preparatlarının bilimsel literatürde antibiyotik, antitrypanosomal, hipotansif, antispazmodik, antiülser, antiinflamatuvar, hipokolesterolemik ve hipoglisemik aktivitelerin yanı sıra flokülasyon, sedimantasyon ve antibiyotik ile su arıtımında ve hatta

Schistosoma cercaria titresinde azalma gibi önemli etkinliğe sahip olduğu öne sürülmüştür (Mekonnen vd., 1999; İsitua, 2013).

Hindistan'da *Moringa oleifera*'nın yaprak kloroform ekstresinin antimikrobiyal etkileri, (Devendra, 2011) tarafından bildirilmiştir. *Escherichia coli* (inhibisyon zon çapı = $08.8 \pm 1.0\text{mm}$), *Pseudomonas aeruginosa* (inhibisyon zon çapı = $9.5 \pm 0.5\text{mm}$), *Staphylococcus aureus* (inhibisyon zon çapı = $6.2 \pm 0.7\text{mm}$), *Streptococcus pyogenes* (inhibisyon zon çapı = $7.0 \pm 0.5\text{mm}$) gibi çeşitli patojenlere karşı değişen çapta inhibisyon zonu oluşturma özelliği olduğu gösterilmiştir.

Irak'ta yapılan başka bir çalışmada, *Moringa oleifera*'nin yaprak ekstresi ile gümüş iyonları kullanılarak nanopartiküller oluşturulmuştur. Hem bitkinin antimikrobiyal aktivitesi hem de gümüş nanopartikülün oluşturulduktan sonra antimikrobiyal aktivitesine bakılmış ve sonuç olarak sadece gümüş nanopartikülün inhibisyon etkisi bulunmuştur. Denenen tüm bakterilerden en yüksek inhibisyon zonu (20 mm) *Klebsiella pneumoniae* türünde belirlenmiştir (Al-Kalifawi, 2016).

1.8.2. *Caesalpinia bonduc* L.

Caesalpinia bonduc L., dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygın olarak bulunan önemli bir tıbbi bitkidir (Anonymous, 1956; Kapoor, 1990). Bitkinin farklı kısımları çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılır (Nandkarni, 1976; Jethmalani vd., 1966; Jain vd., 1992), örn. doğumları kolaylaştırmak, yanıkları tedavi etmek ve ayrıca oyunlar, düğünler ve Benin'de fal bakmak gibi kültürel uygulamalarda kullanımı oldukça yaygındır (Assogbadjo vd., 2011). Bitkinin farklı kısımlarının çeşitli farmakolojik aktiviteleri olduğu bulunmuş ve (Simin vd. 2001, Kannur vd., 2006, Datté vd., 2004, Rastogi vd., 1996) çeşitli türleri, deri döküntüleri ve mide ağrısına alternatif bir çözüm olarak gösterilmiştir (Kerharo ve Adams, 1974). *Caesalpinia bonduc* L. Benin'in güneyinde ticarileşmiş yedi tıbbi bitkiden biridir (Vodouhê vd., 2008). Sert tohumlar kavrulur, öğütülür ve daha sonra diyabet için diüretik ve sıtmanın tedavisi dahil tıbbi tedaviler için kaynatılır (Chakrabarti vd., 2005).

Pakistan'da *Caesalpinia bonduc* tohumlarının metanol ve triterpenoid ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri, (Moon vd., 2010) tarafından bildirilmiştir. *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* and *S. Sonnei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus roseus*, *M. luteus*, *Proteus bulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S.*

epidermidis ve *S. albus* bakterileri üzerinde deneyler yapılmış ve bu bitki ekstralarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Arif vd (2009) Hindistan’da *Caesalpinia bonduc* tohumlarının in vitro ve in vivo antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde çalışmıştır. Tohumlardan elde edilen ekstralar, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve ampisilin dirençli *Pseudomonas aeruginosa*’ya karşı antimikrobiyal göstermiştir.

Hindistan’da yapılan başka bir çalışmada, *Caesalpinia bonduc* yapraklarının fitokimyasal özellikleri ve etanol ekstresinin disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Antimikrobiyal etki *Escherichia coli*’ye karşı en yüksek oranda bulunurken, *Staphylococcus aureus*’a karşı ise en az etkili olduğu gözlenmiştir. Enfeksiyöz funguslardan ise *Epidermofyton floccosum* var. *nigricans* üzerine en etkili iken, *Candida glabrata* üzerine daha az etki gözlenmiştir (Subramani ve Kamaraj, 2014).

1.8.3. *Momordica charantia*

M. charantia, birçok araştırmacının ilgisini çeken bitkilerden biridir (Welihinda, vd., 1986, Fachinan vd., 2017). Cucurbitaceae familyasının bir üyesi olan *Momordica charantia* L. (acı kavun), uzun zamandır gıda ve ilaç olarak kullanılmaktadır (El Batran vd. 2006). *M. charantia* ayrıca acı kavun veya Afrika salatalığı olarak da adlandırılır ve Hindistan, Malaya, Çin, tropikal Afrika, Orta Doğu, Amerika (Kirtikar ve Basu, 1993) ve Tayland gibi tropikal bölgelerde yetişir, bir de antidiyabetik özellikleri ve antihiperglisemik, antitümör, anti-inflamatuar ve sitotoksik aktiviteleri için yaygın olarak Akdeniz geleneksel tıbbında kullanılmaktadır (Aljohi, Matou-Nasri, ve Ahmed, 2016; Fachinan vd., 2017). *M. charantia*’nın antioksidan, anti-diyabet, antiinflatuvar, anti-bakteriyel ve anti-kanser etkileri bildirilmiştir (Grover ve Yadav, 2004; Budrat ve Shotipruk, 2009). *M. charantia*’nın meyveleri ve tohumları anti-HIV, anti-ülser, anti-inflamatuar, anti-lösemik, antimikrobiyal ve antitümör gibi tıbbi özelliklere sahiptir (Taylor, 2002). Ayrıca antimikrobiyal olarak ta çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bildirilmiştir (Asan ve Karakoca, 2013).

Togo da yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* ‘nın antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır (Gbogbo vd., 2013). Bitki su ekstratı kolon kromatografi kullanarak ayrıştırılmış ve farklı ekstraların test mikroorganizmalarının inhibisyonlarını tetiklediğini gösterilmiştir.

Hindistan’da yapılan başka bir çalışma (Subramani ve Kamaraj, 2014), *Momordica charantia*’nın yaprak ekstresinden oda sıcaklığında gümüş nanopartiküller sentezlenerek disk difüzyon metodu ile antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ortalama 20-50 nm boyutlarında ve küresel olduğu belirtilmiştir. Gümüş nanopartiküllerin inhibitör etkisi, farklı AgNP konsantrasyonlarında patojen bakterilere karşı test edilmiştir ve *S. aureus* ve *B. subtilis*’e karşı orta derecede inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir.

1.8.4. *Pavetta corymbosa*

Pavetta corymbosa, Benin geleneksel tıp uygulamalarında bulaşıcı hastalıklar için ilaç olarak kullanılan bir tıbbi bitkidir. *Pavetta corymbosa* (Rubiaceae), kuru ormanda bulunan, Senegal’den Kamerun’a uzanan çim savan küçük bir ağaçtır. Bütün bitki cüzzam tedavisi için, anti-enflamatuar ajan olarak kök kaynatma ve çeşitli bakteriyel enfeksiyonlar için yaprakları kullanılır (Vasudevan, 1997; Aliyu vd., 2008).

Nijerya’ da yapılan bir çalışmada *Pavetta corymbosa* yapraklarının lipofilik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi (Aliyu et al., 2008) bildirilmiştir. Standart ve dirençli türler üzerindeki antimikrobiyal aktivite disk difüzyon ve sıvı-mikro-dilüsyon teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve lipofilik ekstrakt, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus faecalis*’e karşı, 0.624 mg/ml’lik minimum inhibitör konsantrasyonunda (MİK) önemli antimikrobiyal aktivite göstermiştir; *Candida albicans* ve *Candida krusei* gibi maya türlerine karşı ise 1.25 mg/ml’lik bir MİK değerine sahiptir.

Benin’de *Pavetta corymbosa* yapraklarından elde edilen etanol ekstresinin in vitro antibakteriyel aktivitesi *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecalis*’e karşı, Anago vd (2011) tarafından incelenmiştir. En yüksek MİK değerleri 1,25 mg/ml ile *E. faecalis*’e ve 2,5 mg/ml ile *S. aureus*’a karşı elde edilmiştir.

1.8.5. *Psidium guajava* L.

Psidium guajava L. (Myrtaceae, Subfamily: Myrtoideae) (Ravi ve Divyashree, 2014) tropikal ve subtropikal ülkelerde bulunur. Orta ve Latin Amerika’ya özgüdür ve yüksek kil içeriği, düşük drenaj kapasitesi veya asit ve salinli topraklar haricinde çok çeşitli topraklara iyi uyum sağlar (Salazar vd., 2006; Oluwaniyi ve Adegoke, 2016). 15 ila 30 °C arasındaki sıcaklıklara sahip birçok ülkede yetiştirilebilir. Bitki, tüm dünyada

bilinir. Meyve bahçelerinde ve bahçelerde yaygın olarak bulunan ve guava olarak bilinen bir meyve üretir (Dakappa-Shruthi vd., 2013; Gupta vd., 2011). *P. guajava*, doğada geniş bir kabul görmesi ve yüksek endüstriyel potansiyele sahip olması nedeniyle yüksek ekonomik değeri olan yenilebilir meyveler üretir. Yüksek besin değeri her türlü diyeteye uyarlanabilir. Gıda olarak kullanılmasına ek olarak, guava ağacının parçaları, özellikle yaprakları, hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Bu bitki, tek başına ya da dünya çapında yerel insanlar tarafından diğer tıbbi öneme sahip bitkiler ile kombinasyon halinde kullanıldığında terapötik bileşenleri yaygın olarak sağlar (Gutiérrez vd., 2008; Sanda vd., 2011). Etno-geleneksel tıpta, *P. guajava*'nın kök, kabuk ve yapraklarının özleri, gastroenterit, kusma, ishal, dizanteri, yara, ülser, öksürük ve hiperglisemi gibi çok çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır (Gutiérrez, Mitchell, ve Solis 2008).

Benin'de kullanılan *Psidium guajava* gövde kabuk etanol ekstresinin *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı in vitro antibakteriyel aktivitesi, Anago vd (2011) tarafından incelenmiştir. Ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyonu mikroplaka seyreltme metodu ile belirlenmiştir. En düşük MİK değerleri *S. aureus* için 0,313 mg/ml ve *E. faecalis* için 1,25 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Nijerya'da yapılan bir çalışmada, *Psidium guajava*'nın kök kabuğunun su ve metanolik ekstrelerini elde edilerek antimikrobiyal aktiviteleri metisiline dirençli sekiz *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatu üzerinde araştırılmış ve antibakteriyel aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Esimone vd., 2012).

1.8.6. *Dialium guineense*

Dialium guineense, Caesalpiniaceae familyasına ait tropikal bir meyve ağacıdır. 30 m yüksekliğe kadar, yoğun yapraklı bir taç ile bir ağaç ama genellikle küçük siyah kadifemsi meyve ile çalılıktır. Kamerun, Orta Afrika Cumhuriyeti, Çad, Benin, Burkina Fasso, Fildişi Sahili, Gana, Gine, Liberya, Mali, Senegal, Sierra Leone ve Togo gibi Batı Afrika ülkelerinin yağmur ormanlarında meydana gelen odunsu bir bitkidir. Bitkinin yaprakları diyabet, ateş ve öksürük gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Vadivu et al., 2008). Herdem yeşil ağaçlardır. Güneydoğu Nijerya'da bazı kadınlar arasında laktasyonu iyileştirmek ve genital enfeksiyonu kontrol etmek için bitkinin meyveleri çiğnenmektedir (Nwosu, 2000). Yapraklar ve kök kabuğu ishal, şiddetli öksürük, bronşit, yara, mide ağrısı, sıtma ateşi, sarılık, anti ülser ve hemoroid gibi enfeksiyonların tedavisi için kullanılır (Bero vd., 2009). Meyvesi tatlı ekşi, lezzetli ve

kırmızı bir meyvedir. Meyveler mineraller, şekerler ve tartarik, sitrik, malik ve askorbik asitler bakımından zengindirler (Ewedje ve Tandjiekpon, 2011). *D. guineense* kabuk ve yaprak ekstresinin fitokimyasal analizleri flavonoidler, alkaloidler, tanenin ve saponin varlığını ortaya çıkarmıştır. Ağaç kabuğu kanser, baş ağrısı ve ağrılar gibi farklı hastalıkların tedavisi için folklorik olarak kullanılmaktadır (Orji, Alo ve Anyim , 2012).

Dialium guineense'nin yaprak ve gövde kabuğu ekstrelerinde belirlenen fitokimyasallar tanenler, alkaloidler, flavonoidler, saponinler, steroidler ve kardiyak glikozitlerdir (Ogu ve Amiebenomo, 2012). Bazı araştırmacılar, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelleri, alkaloidler, tanenler, flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi bazı fitokimyasalların içeriğine ve zenginliğine bağlamıştır (Hill, 1952; Aliyu vd., 2008).

Nijerya'da yapılan bir çalışmada (Ogu vd., 2013), *Dialium guineense* yaprak metanol ekstresinin in vitro antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Agar difüzyon yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum* klinik izolatları test edilmiş, en fazla Gram pozitif bakterilerin, ardından funguslar ve en az da Gram negatif bakterilerin inhibe edildiği bildirilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Örnekleri

Araştırma için altı farklı bitki materyali; *Moringa oleifera*, *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* ve *Dialium guineense* olarak belirlenmiştir. *Moringa oleifera*, *Psidium guajava*, *Dialium guineense* bitkileri ağustos ayında Adjarra Ormanı bölgesinde (Porto-Novo/Benin) toplanmıştır. *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa* bitkileri ise Adjarra Pazarı'ndan satın alınmıştır.

2.2. Test Mikroorganizmaları

Yapılan çalışmada hem bitki ekstreleri hem de uçucu yağları için, antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerin gözlenmesi amacıyla, *Staphylococcus aureus* (NRLL B-767), *Acinetobacter baumannii* wild type, *Klebsiella pneumoniae* (NRLL B-4420), , *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterobacter aerogenes* (NRLL B-3567), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)ve 6 maya *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *C. crusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* türü kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalar Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir.

Metisilin dirençli 49 adet *Staphylococcus aureus* (MRSA) straini ise Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

2.3. Yöntem

2.3.1. Bitkilerin identifikasyonu

Bitki materyalleri herbaryum örneği haline getirilmiş (Şekil 2.1-2.6) ve Abomey Calavi Üniversitesi (Benin) öğretim üyesi Prof. Dr. Aristide C. Adomou tarafından, Benin'de bulunan ulusal herbaryum örnekleri ile karşılaştırılarak identifiye edilmiştir. Her bir bitki örneği için herbaryum numarası verilmiş olup, bir kopyaları Benin'de herbaryumda muhafaza edilmektedir.



Université d'Abomey-Calavi
Faculté des Sciences et Techniques



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE VEGETALE
LABORATOIRE DE BOTANIQUE ET ECOLOGIE VEGETALE

HERBIER NATIONAL DU BENIN

CERTIFICAT D'IDENTIFICATION

Le Superviseur de terrain de l'Herbier National du Bénin, soussigné, certifie que les plantes récoltées par Madame YACOUBOU Aminath Fidèle dans le cadre de ses travaux de recherche au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université d'Anadolou, sont identifiées sous :

N° Identification	Nom scientifique	Famille
AA 6684/HNB	<i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.	Leguminosae- Caesalpinioideae
AA 6685/HNB	<i>Dialium guineense</i> Willd.	Leguminosae- Caesalpinioideae
AA 6686/HNB	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae
AA 6687/HNB	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Moringaceae
AA 6688/HNB	<i>Pavetta corymbosa</i> (DC.) F.N.Williams	Rubiaceae
AA 6689/HNB	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae

En foi de quoi, le présent certificat lui est délivré pour servir et valoir ce que de droit.

Abomey-Calavi, le 23 Août 2017

Le Superviseur de terrain,



Professeur Aristide C. ADOMOU-

Chef de Département de Biologie Végétale

Campus Universitaire d'Abomey-Calavi, 01 BP : 4521 Cotonou. Tél : 93 62 38 73 / 93 56 40 54

Şekil 2.1. Bitki identifikasyon sertifikası



a)



b)



c)



d)



e)



f)

Şekil 2.2: Çalışmada kullanılan bitkiler: a) *Moringaceae moringa oleifera* Lam: No AA 6687/HNB, b) *Caesalpinia Bonduc* (L.) ROXB. No AA 6684/HNB, c) *Momordica charantia* (L.) : No AA 6686/HNB, d) *Pavetta Corymbosa* (Dc) F.N.Williams : No AA 6688/HNB, e) *Psidium guajava* L. No AA 6689/HNB, f) *Dialium guineense* Willd.: No AA 6685/HNB.

2.3.2. Ekstrelerin elde edilmesi

Bitki örnekleri ekstraksiyon öncesinde iki defa saf suyla yıkanarak yabancı maddelerden arındırılmış ve örnekler kuruduktan sonra, blender ile parçalanarak toz haline getirilmiştir.

2.3.2.1. Su ile ekstraksiyon (kaynatma)

50 gram bitki örneği ağzı kapaklı erlenlere koyularak üzerine 1000 ml distile su ilave edilmiştir. 100 °C de 20 dakika kaynatıldıktan sonra, oda sıcaklığında 20-30 dakika soğutulmuş ve ardından 3 kez Whatman kağıdı (No:1) ile filtre edilmiştir. Çözücü (su) hacim olarak 10 kat azalana kadar evaporatör yardımı ile uçurulmuş ve +4 °C de muhafaza edilmiştir (Mittal et al., 2015).

2.3.2.2. Etanol ile ekstraksiyon

5 gram kuru ve ezilmiş bitki örneği ağzı kapaklı Duran şişeye alınmış ve üzerine 100 ml % 70'lik etanol ilave edilmiştir. Manyetik bir karıştırıcı kullanılarak 48 saat boyunca homojenize edilen ekstre, yukarıda belirtildiği şekilde Whatman kağıdı (No:1) filtre kâğıdından süzölmüştür. Çözücü evaporatör yardımı ile 10 kat azalana kadar uçurulduktan sonra, +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

2.3.2.3. Metanol ile ekstraksiyon

Ağzı kapaklı Duran şişedeki 5 gram bitki örneği üzerine 100 ml metanol ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde 48 saat boyunca çalkalanmıştır. Ekstre süzöldükten sonra, toplanan filtrat evaporatör yardımı ile 10 ml kalana kadar uçurulmuş ve +4 °C de muhafaza edilm.

2.3.2.4. Bitkilerden uçucu yağların elde edilmesi

Bitki örneklerinden uçucu yağların eldesi Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nde (BİBAM) su destilasyonu (Hydrodistillation-HD) yöntemi ile Clevenger aparatı yardımıyla gerçekleştirilmiştir (Linskens ve Jackson, 1997b, Kiliç, 2008). Uçucu yağ eldesi için toz halindeki bitki örneklerinden 50g tartılmış ve üzerine 1000 mL distille su ilave edilmiştir. Soğutucu ile bağlantılı bir cam balon içerisinde su ve bitki materyali 3 saat süre ile kaynatılmış ve su buharı ile birlikte hareket eden yağ molekülleri soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmıştır.

2.4. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

Gümüş nanopartiküllerin sentezinde Prasad ve Elumalai'nin yöntemi (2011) kullanılmıştır. Gümüş nitrat çözeltisi, 1 mM konsantrasyonunda hazırlanmış ve kullanım süresince karanlıkta saklanmıştır.

1: 9 oranı ile ekstre – çözelti karışımı hazırlanmıştır. Bu amaçla her bir ekstreden 1mL bir deney tüpü içerisine aktarılmış, üzerine 1 mM'lık Gümüş Nitrat (AgNO_3) çözeltisinden 9 mL ilave edilerek 2 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra bir döner çalkalayıcıda sabit çalkalama altında (120 rpm) 5-10 dakika boyunca 100°C 'de ısıtılmıştır. Sarı-kahverengi bir renk oluşumundan sonra ışıktan uzakta bir dolapta saklanmıştır.

2.5. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması ve Canlandırma İşlemi

Çalışmada hastane enfeksiyonu etmeni mikroorganizma gruplarından temsilciler test edilmiştir. *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. bakterileri nutrient agar üzerinde ve *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *C. crusei*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* mayaları sabourod dekstroza agar üzerinde tek koloni düşürme yöntemi ile canlandırılmıştır. 37°C 'de, 20-24 saat inkübasyon sonrası tek koloni oluşumu ve saflık kontrolünden geçen kültürler sonraki aşamalarda kullanılmak üzere $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

2.6. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

2.6.1. Agar difüzyon yöntemi

Bitki ekstrelerinin ve gümüş nanopartikül karışımlarının antimikrobiyal aktivitesi kuyucuk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Ebrahimabadi vd., 2010). Katı besiyerlerinde tazelenen kültürden öze ile Mueller Hinton Broth (MBH) besiyerine ekim yapılmış ve 37°C 'de bir gecelik inkübasyon sonucunda oluşan kültürlerden 10^8 kob/mL (0.5 McFarland bulanıklık tüpüne karşılık gelen bulanıklık) olacak şekilde dilüsyon hazırlanmıştır. 20 ml Müller Hinton agar içeren petrilerin yüzeyine bakteri dilüsyonundan steril pipet yardımıyla 100 µl pipetlenmiş ve steril drigalski spatülü ile besiyeri üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Kuruması için 30 dk kapakları yarı açık şekilde steril kabinde bekletilen petriler üzerinde 6 mm çaplı kuyucuklar açılarak, her birine

antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmek istenen bitkinin metanol, etanol ve su ekstrelerinden, gümüş nanopartikül karışımlarından ve pozitif kontrol olarak antibiyotik solüsyonundan (kloramfenikol veya ketokonazol [1 mg/ml]) negatif kontrol olarak ise etanol, metanol ve gümüş nitrat çözeltisinden 50 µl ilave edilmiştir. 37°C’de bir gecelik inkübasyon sonunda disklerin çevresinde meydana gelen inhibisyon zonları mm bölmeli cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Bütün deneyler 2 paralel olarak yapılmış ve sonuçlar ortalama değer olarak kaydedilmiştir.

2.6.2. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

Bitki ekstrelerinin ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test edilen organizmanın gelişimini inhibe eden en düşük konsantrasyon değerinin (MİK) belirlenmesi amacıyla mikro-tüp seyreltme tekniği (Sheena, 2003; Krishnaraj, 2010) uygulanmıştır.

Her bir mikroorganizma kültürü Müller Hinton Broth içinde, 37 °C’de bir gecelik çalkalamalı inkübasyon (150 rpm) ile geliştirilmiş ve 15 ml çift kuvvetli Müller Hinton Broth içeren tüplerde yaklaşık 10^8 kob/ml konsantrasyona (0.5 McFarland ile) ayarlanmıştır. Bitki ekstrelerinin dilüsyonları 1:1 oranında steril distile su ile hazırlanmış ve 1:2 dilüsyon serileri olacak şekilde 11 dilüsyon yapılmıştır. Daha sonra, Steril 96 kuyucuklu mikro plakalara kör olarak 100 µL ’ lik steril distile su ve 1’inci den başlamak üzere 11 kuyucuğa her bitki stok solüsyonu için 1:2 dilüsyonlardan (12,5 mg/mL’ den başlayarak 0,0122070313 mg/mL konsantrasyona kadar) 100 µL aktarılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa mikroorganizma süspansiyonundan 100 µl ilave edilmiştir. Referans antibiyotik (Kloramfenikol ve ketokonazol) dilüsyonları (1 mg/mL’ den başlayarak 0,96 mg/mL konsantrasyona kadar) ile de aynı şekilde işlem yapılmıştır. Plaklar 37°C’ de 24 saat inkübe edilmiş ve bulanıklığın (büyümenin) görülmediği en düşük konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir.

2.6.3. Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi

Moringa oleifera, *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* ve *Dialium guineense* bitki yapraklarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkinlikleri modifiye difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Ebrahimabadi vd., 2010). Mueller Hinton Broth (MBH) besiyerinde 37 °C’de bir gecelik inkübasyon sonucunda oluşan sıvı kültürlerden 10^8 kob/mL (0.5 McFarland bulanıklık tüpüne

karşılık gelen bulanıklık) olacak şekilde dilüsyon hazırlanmıştır. 20 ml Müller Hinton agar içeren petrilerin yüzeyine bakteri dilüsyonundan steril pipet yardımıyla 100 µl pipetlenmiş ve steril drigalski ile besiyeri üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Kuruması için 30 dk kapakları yarı açık şekilde steril kabinde bekletilen petriler üzerinde, her birine bitki uçucu yağlarından 10 µl damlatarak ilave edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol antibiyotik solüsyonu (1 mg/ml) negatif kontrol olarak ta gümüş nitrat çözeltisi kullanılmıştır. 37 °C’de bir gecelik inkübasyon sonunda damlacıkların bulunduğu yerde meydana gelen inhibisyon zonları mm bölmeli cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir.

2.7. Gümüş Nanopartikülerin Karakterizasyonu

2.7.1. Ultra violet (uv-vis) spektra analizi

Saf Ag⁺ iyonlarının indirgenip indirgenmediği UV-Vis spektrum analizi ile tespit edilmiştir. 2-3 ml’lik bitkisel ekstre ve bitkisel ekstrenin gümüş nitrat karışımı tek kullanımlık küvetlere alınmış ve UV-Vis spektrofotometrede (Biotek/Epoch2) 300-700 nm arasında maksimum absorban spektrumu tespit edilmiştir.

2.7.2. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) analizi

Gümüş nanopartikül içerdiği varsayılan ekstre-gümüş nitrat karışımları oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış ve toz haldeki numuneden karbon bantlar üzerine alınarak altın kaplama gerçekleştirilmiştir. Örnekler daha sonra Fen Fakültesi’nde bulunan Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) (FESEM, ZEISS Ultraplus) ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

2.7.3. X-ışını kırınım (XRD) analizi

X-ışını kırınımı ölçümleri için reaksiyon karışımları iki gece boyunca 60 °C’de kurutulmuş ve toz halindeki örneklerin X ışını kırınımı (X-RD) profilleri (XRD, D8 Advance, Bruker InstrumentCo., Ltd. Germany) bakır radyasyonu (Cu-Ka radiation = 1.5406 Å at a scan speed of 0,5°/min) ile kaydedilmiştir.

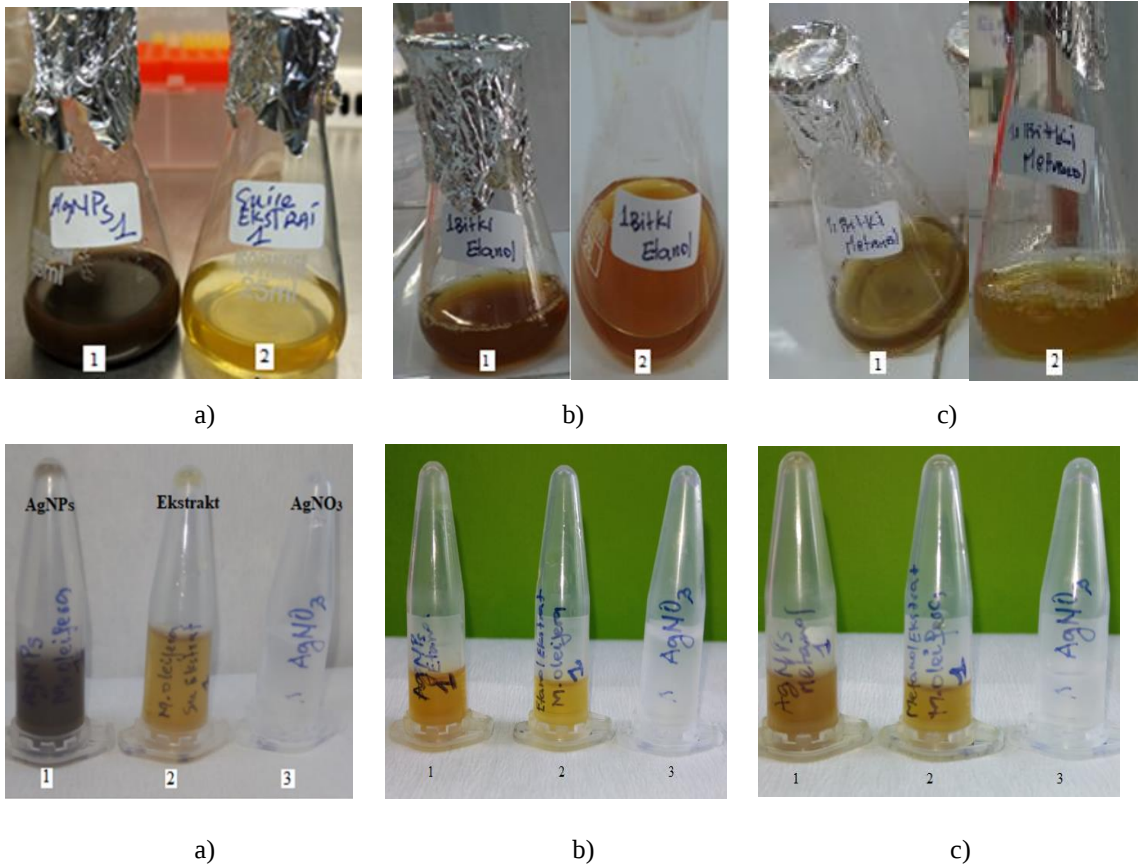
2.7.4. Fourier transform infra red spektroskopi (FT-IR) analizi

Yukarıdaki şekilde kurutularak hazırlanan örneklerden, potasyum bromür (KBr) ile karıştırılarak diskler hazırlanmış ve 400-4000 cm^{-1} aralığında transmitans modunda (PerkinElmer, Spektrum 400) FT-IR spektrumları kaydedilmiştir.

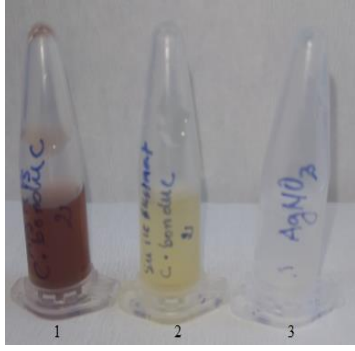
3. BULGULAR

3.1. Bitki Ekstrelerinden Gümüş Nanopartikül Sentezi

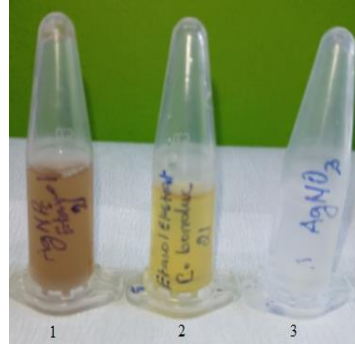
Moringa oleifera, *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* ve *Dialium guineense* bitki ekstralarının AgNO_3 indirgenmesiyle gümüş nanopartiküller (AgNP) elde edilmiştir. Karışımın 5 dakikalık bir süre boyunca ısıtılmasından sonra reaksiyon karışımının renk değişimi ile gözlenmiştir. Bitki ekstresi negatif kontrol olarak sarı renkliyken, gümüş nitrat ilavesi ile oluşan nanopartiküller koyu kahve, gri-siyah renk oluşturmuştur (Şekil 3.1-6).



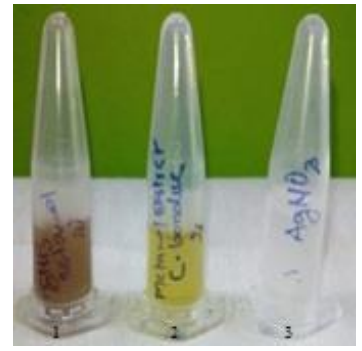
Şekil 3.1. *Moringa oleifera* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).



a)

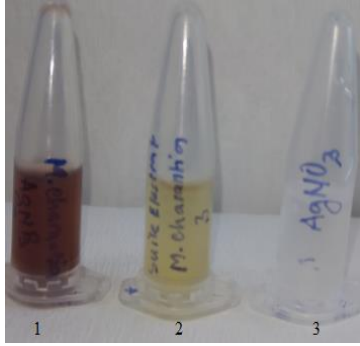


b)

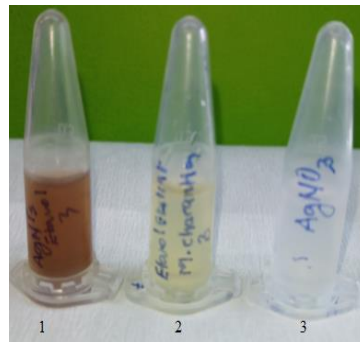


c)

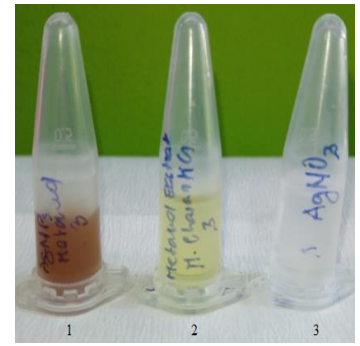
Şekil 3.2. *Caesalpinia bonuc* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).



a)

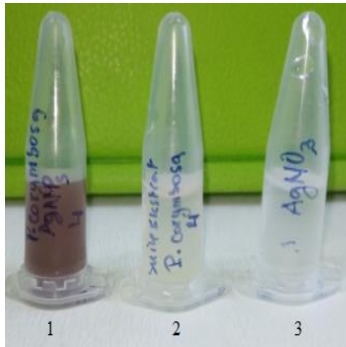


b)

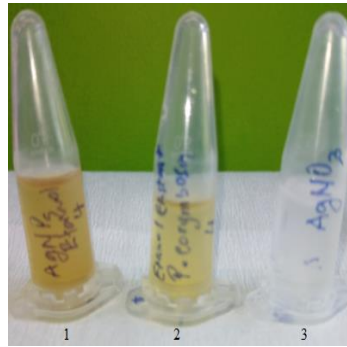


c)

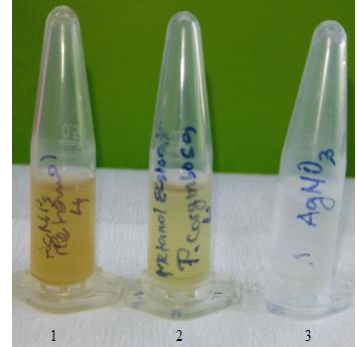
Şekil 3.3. *Momordica charantia* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).



a)

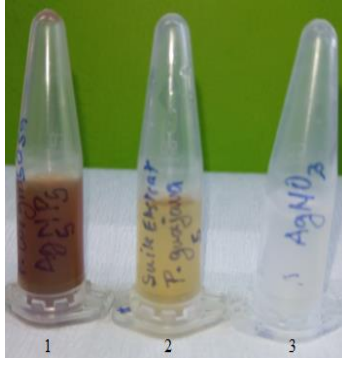


b)

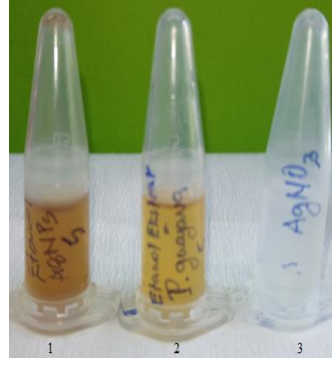


c)

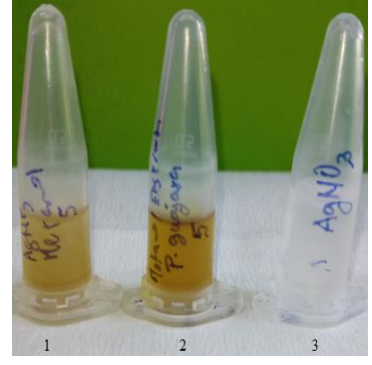
Şekil 3.4. *Pavetta corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).



a)

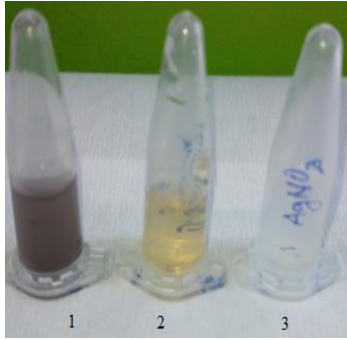


b)

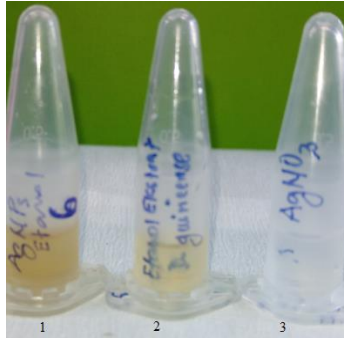


c)

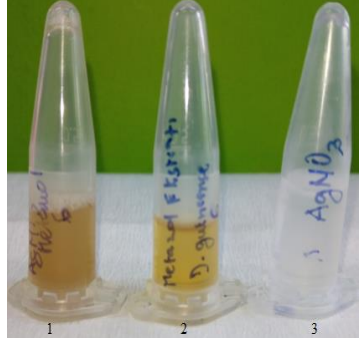
Şekil 3.5. *Psidium guajava* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş anopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).



a)



b)



c)

Şekil 3.6. *Dialium guajava* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküller (1:ekstre+gümüş nanopartikül, 2: ekstre, 3:gümüş nitrat).

3.2. Uçucu Yağ Eldesi

Uçucu yağ verimleri çok düşük olduğundan (% 0,04 yaklaşık 0,02 ml) hekzan ile alınmıştır. Sadece *Psidium guajava*'nın uçucu yağı hekzansız alınmış, verimi % 0,6 = 0,3 ml olarak hesaplanmıştır. *Dialium guajava* bitkisinin yaprak örneklerinden 225 g tartılarak ikinci kez uçucu yağ ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve yaklaşık 0.7 ml uçucu yağ elde etmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. *Psidium guajava* uçucu yağı.

Uçucu yağlar elde edikten sonra her bir bitkinin (*Caesalpinia bonduc*, *Dialium guineense*, *Momordica charantia*, *Moringa oleifera*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava*), uçucu yağ bileşenleri Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile tanımlanmış, bağıl yüzdeleri ise Gaz Kromatografisi yöntemi ile belirlenmiştir.

3.2.1. *Moringa oleifera* uçucu yağı

M. oleifera yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam olarak 31 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 4 tanesi yüksek oranlarda belirlenmiştir. Toplamda % 87,8 'i olmak üzere temsil eden bu kimyasal sınıfta, Beta-bisabolene (% 19,9), ar-curcumene (% 11,6), beta-sesquiphellandren (% 8,5) ve beta-caryophyllene (% 7,8) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. *Moringa oleifera* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	RI	Bileşik	%
1	1503	alpha-copaene	1,3
2	1561	isoitalicene	1,4
3	1578	trans-alpha-bergamotene	1,2
4	1590	alpha-cedrene	1,0
5	1594	trans-beta-bergamotene	1,1
6	1617	beta-caryophyllene	7,8
7	1663	(Z)-beta-santalene	1,1
8	1668	(Z)-beta-farnesene	1,5
9	1693	alpha-acoradiene	3,7
10	1697	beta-acoradiene	1,0
11	1701	gamma-curcumene	2,9
12	1731	alpha-zingiberene	1,1
13	1739	beta-bisabolene	19,9
14	1744	(Z)-gamma-bisabolene	1,7
15	1752	beta-curcumene	4,2
16	1770	gamma-bisabolene	3,3
17	1775	delta-cadinene	1,0
18	1782	gamma-cadinene	1,8
19	1784	beta-sesquiphellandrene	8,5
20	1788	ar-curcumene	11,6
21	1866	neryl acetone	0,8
22	1963	trans-beta- ionone	0,5
23	2024	caryophyllene oxide	1,1
24	2040	(E)-nerolidol	0,5
25	2130	hexahydro-farnesylacetone	0,5
26	2166	beta-bisabolol	1,6
27	2481	ethyl oleate	0,7
28	2501	methyl linoleate	0,5
29	2602	ethyl linoleate	0,6
30	2612	phytol	2,3
31	2695	tetradecanoic acid	1,6
TOPLAM			87,8

3.2.2. *Caesalpinia bonduc* uçucu yağı

C. bonduc yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam olarak 27 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 5 tanesi yüksek oranlardadır. Toplamda % 85,7 'i olmak üzere temsil eden bu kimyasal sınıfta, Beta-bisabolene (% 19,4), ar-curcumene (% 12,7), beta-caryophyllene (% 7,2) ve beta-sesquiphellandrene (% 6,5) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. *Caesalpinia bonduc* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	RI	Bileşik	%
1	1503	alpha-copaene	1,1
2	1561	italicene	1,2
3	1578	trans-alpha-bergamotene	1,1
4	1590	alpha-cedrene	0,8
5	1594	trans-beta-bergamotene	1,0
6	1617	beta-caryophyllene	7,2
7	1663	(Z)-beta-santalene	1,1
8	1668	(Z)-beta-farnesene	1,6
9	1693	alpha-acoradiene	3,8
10	1701	gamma-curcumene	3,1
11	1731	alpha-zingiberene	1,2
12	1739	beta-bisabolene	19,4
13	1744	(Z)-gamma-bisabolene	2,1
14	1752	beta-curcumene	6,1
15	1770	gamma-bisabolene	3,9
16	1775	delta-cadinene	0,9
17	1782	gamma-cadinene	0,5
18	1784	beta-sesquiphellandrene	6,7
19	1788	ar-curcumene	12,7
20	1866	(Z)-geranyl acetone (=neryl acetone)	0,8
21	1963	trans-beta- ionone	0,5
22	2024	caryophyllene oxide	0,8
23	2130	hexahydro-farnesylacetone	2,6
24	2166	beta-bisabolol	1,5
25	2382	farnesyl-acetone	0,5
26	2612	phytol	1,2
27	2657	linoleic acid	2,3
TOPLAM			85,7

3.2.3. *Momordica charantia* uçucu yağı

M. charantia yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam olarak 23 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 5 tanesi yüksek oranlardadır. Toplamda % 84,8 'i olmak üzere temsil eden bu kimyasal sınıfta, Beta-bisabolene (% 19,9), ar-curcumene (%15,0), beta-sesquiphellandrene (% 6,9), farnesylacetone (% 5,9) ve beta-caryophyllene (% 5,2) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. *Momordica charantia* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	RI	Bileşik	%
1	1503	alpha-copaene	0,8
2	1561	isoitalicene	0,8
3	1578	trans-alpha-bergamotene	0,9
4	1590	alpha-cedrene	0,6
5	1594	trans-beta-bergamotene	0,9
6	1617	beta-caryophyllene	5,2
7	1663	(Z)-beta-santalene	0,9
8	1668	(Z)-beta-farnesene	1,6
9	1693	alpha-acoradiene	3,0
10	1697	beta-acoradiene	0,7
11	1701	gamma-curcumene	3,0
12	1731	alpha-zingiberene	0,9
13	1739	beta-bisabolene	19,9
14	1744	(Z)-gamma-bisabolene	1,9
15	1752	beta-curcumene	4,1
16	1770	gamma-bisabolene	3,4
17	1775	delta-cadinene	0,9
18	1782	gamma-cadinene	0,5
19	1784	beta-sesquiphellandrene	6,9
20	1788	ar-curcumene	15,0
21	2130	hexahydro-farnesylacetone	4,3
22	2166	beta-bisabolol	2,7
23	2383	farnesylacetone	5,9
TOPLAM			84,8

3.2.4. *Pavetta corymbosa* uçucu yağı

P. corymbosa yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam 23 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 4 tanesi yüksek oranlarda gösterilmiştir. Toplamda % 79,7 'i olmak üzere temsil eden bu kimyasal sınıfta, Beta-bisabolene (% 18,6), ar-curcumene (% 14,5), beta-caryophyllene (% 8,0), beta-sesquiphellandrene (% 6,4) ve farnesylacetone (% 5,9) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. *Pavetta corymbosa* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	RI	Bileşik	%
1	1503	alpha-copaene	1,1
2	1561	isoitalicene	1,2
3	1578	trans-alpha bergamotene	1,0
4	1590	alpha-cedrene	1,1
5	1617	beta-caryophyllene	8,0
6	1663	(Z)-beta-santalene	1,1
7	1668	(Z)-beta-farnesene	1,5
8	1693	alpha-acoradiene	4,0
9	1697	beta-acoradiene	0,9
10	1701	gamma-curcumene	3,0
11	1731	alpha-zingiberene	1,0
12	1739	beta-bisabolene	18,6
13	1744	(Z)-gamma-bisabolene	1,8
14	1752	beta-curcumene	4,2
15	1770	gamma-bisabolene	3,5
16	1775	delta-cadinene	1,0
17	1782	gamma-cadinene	0,5
18	1784	beta-sesquiphellandrene	6,4
19	1788	ar-curcumene	14,5
20	1873	alpha-ionone	0,5
21	2040	(E)-nerolidol	0,7
22	2569	methyl linolenate	0,8
23	2612	phytol	3,3
TOPLAM			79,7

3.2.5. *Psidium guajava* uçucu yağı

P. guajava yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam olarak 23 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 4 tanesi yüksek oranlardadır. Toplamda % 79,2 'sini temsil eden bu kimyasal sınıfta da, Beta-bisabolene (% 15,3), beta-bisabolol (% 13,6), ar-curcumene (% 8,9), ve beta-sesquiphellandrene (% 5,6) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. *Psidium guajava* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	RI	Bileşik	%
1	1214	eucalyptol	0,5
2	1546	benzaldehyde	1,2
3	1561	isoitalicene	0,5
4	1617	beta-caryophyllene	3,6
5	1663	(Z)-beta-santalene	0,6
6	1668	(Z)-beta-farnesene	0,9
7	1693	alpha-acoradiene	2,2
8	1697	beta-acoradiene	0,5
9	1701	gamma-curcumene	2,2
10	1731	alpha-zingiberene	1,0
11	1739	beta-bisabolene	15,3
12	1744	(Z)-gamma-bisabolene	1,1
13	1752	beta-curcumene	4,3
14	1770	gamma-bisabolene	3,3
15	1775	delta-cadinene	0,8
16	1782	gamma-cadinene	0,6
17	1784	beta-sesquiphellandrene	5,6
18	1788	ar-curcumene	8,9
19	2024	caryophyllene oxide	1,1
20	2040	E)-nerolidol	2,5
21	2166	51.497 ?	2,4
22	2172	beta-bisabolol	13,6
23	2218	52.851 ?	1,5
24	2229	epi-alpha-bisabolol	1,4
25	2232	alpha-bisabolol	2,5
26	2317	gossonorol	1,1
TOPLAM			79,2

3.2.6. *Dialium guineense* uçucu yağı

D. guineense yapraklarından elde edilen uçucu yağda, toplam olarak 33 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 4 tanesi yüksek oranlarda göstermiştir. Toplamda % 71,2'i olmak üzere temsil eden bu kimyasal sınıfta da, farnesyl acetone (%11,3), ar-curcumene (% 5,9), phytol ve Beta-bisabolene (% 5,6), hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. *Dialium guineense* bitkiden bulunan bileşikler

Sıra No	I	Bileşik	%
1	1503	alpha-copaene	0,9
2	1561	isoitalicene	0,8
3	1578	trans-alpha bergamotene	0,7
4	1590	alpha-cedrene	0,6
5	1594	trans-beta-bergamotene	0,6
6	1617	beta-caryophyllene	4,0
7	1663	(Z)-beta-santalene	0,5
8	1668	(Z)-beta-farnesene	0,7
9	1692	39.064 ?	2,0
10	1739	beta-bisabolene	5,6
11	1784	beta-sesquiphellandrene	1,3
12	1788	ar-curcumene	5,9
13	1841	beta-damascenone	1,2
14	1865	neryl acetone	4,8
15	1873	alpha ionone	2,0
16	1962	(E)-beta-ionone	0,8
17	1964	46.461 ?	1,4
18	2000	47.402 ?	1,2
19	2004	47.513 ?	3,0
20	2024	caryophyllene oxide	0,6
21	2040	(E)-nerolidol	0,5
22	2130	hexahydro-farnesylacetone	1,4
23	2166	beta-bisabolol	1,7
24	2217	methyl hexadecanoate(=methyl palmitate)	1,3
25	2253	Ethyl hexadecanoate (=ethyl palmitate)	3,9
26	2383	farnesyl acetone	11,3
27	2458	ethyl octadecanoate (= ethyl stearate)	0,6
28	2479	dodecanoic acid (lauric acid)	1,1
29	2482	ethyl octadec-9-enoate (= ethyl oleate)	1,0
30	2501	ethyl linoleate	1,4
31	2602	ethyl linolenate	1,6
32	2612	phytol	5,6
33	2695	myristic acid (=tetradecanoic acid)	1,2
			71,2

3.2.7. Agar difüzyon yöntemi ile antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi

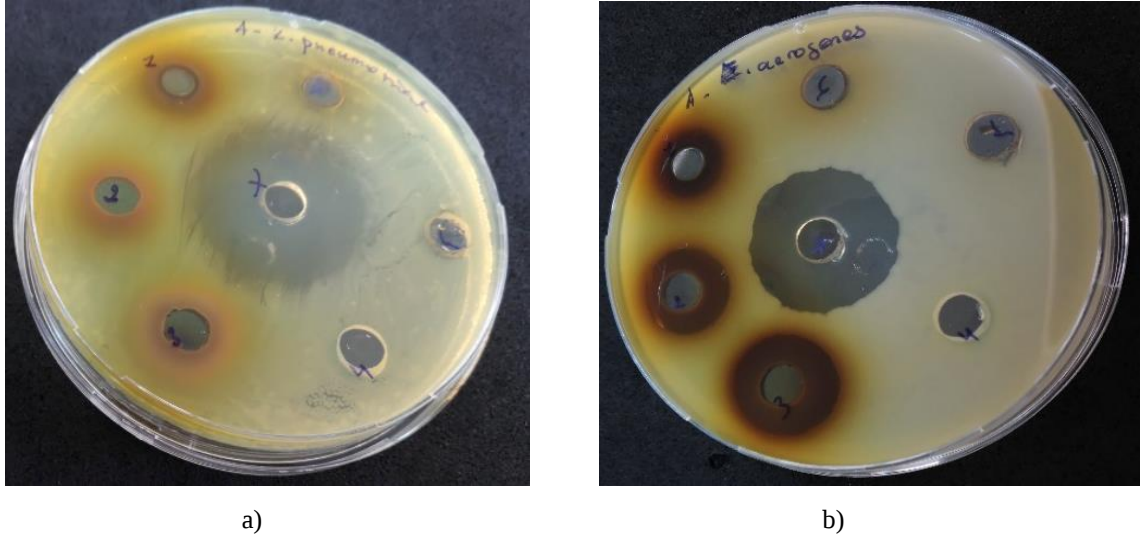
Moringa oleifera, *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa* ve *Psidium guajava* ve *Dialium guineense* yaprakları ile hazırlanmış su, etanol ve metanol ekstreleri ile bunlardan oluşturulan gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acitenobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter aerogenes* üzerinde belirlenmiş ve elde edilen veriler ilgili tablolarda ve çizelgelerde gösterilmiştir. Mueller Hinton agar besiyeri içerisinde bitki su, etanol ve metanol ekstreleri ile bunlardan oluşturulan gümüş nanopartiküllerin oluşturduğu aktiviteye bağlı olarak gözlenen inhibisyon zon çapları antimikrobiyal etki ile doğru orantılıdır.

Moringa oleifera bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller *Klebsiella pneumoniae* dışında test edilen bütün bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3.8, Çizelge 3.1, Şekil 3.8a). Bütün ekstrelere ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *S. aureus* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (24 mm) etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller ile elde edilmiştir. *Moringa oleifera* metanol ekstresi özellikle *E.aerogenes* suşuna karşı yüksek antimikrobiyal etki (22 mm) ile elde edilmiştir (Şekil 3.8b) . Buna karşın etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller daha küçük çaplı inhibisyon zonu oluşturmuşlardır (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

Inhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	15	-	15	-	15
Etanol	-	18	-	20	-	17
Metanol	-	19	-	21	14	22
Su AgNP'ler	-	-	-	-	-	-
Etanol AgNP'ler	12	24	-	-	11	10
Metanol AgNP'ler	-	19	-	12	10	11
AgNO ₃	13	13	15	14	15	-
Kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

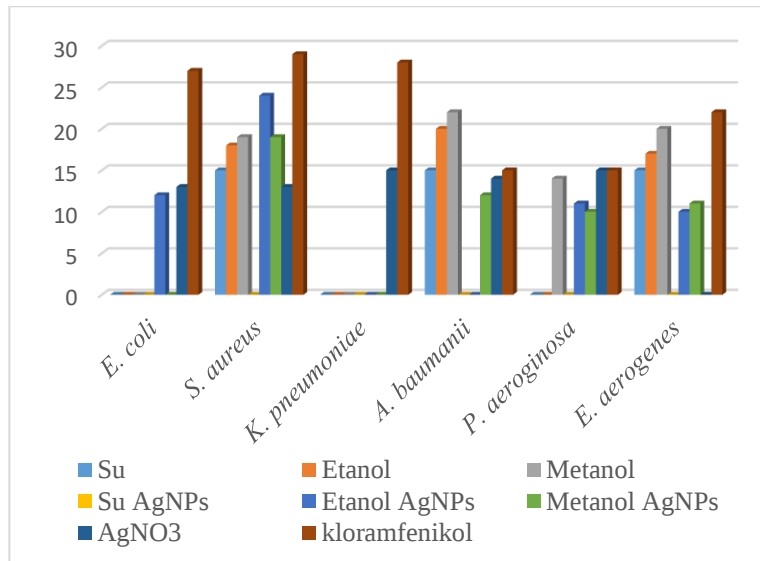
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.8. *Moringa oleifera* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *K. pneumoniae*, (b) *E. aerogenes* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol)

Çizelge 3.1’ de görüldüğü üzere *E.coli*’ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite etanol AgNP’ler ile 12 mm inhibisyon zonu olarak kaydedilmiştir. *A. baumannii*, *E. aerogenes* ve *P. aerogenes*’e karşı ise sadece metanol ekstresi sırasıyla 22 mm, 15 mm ve 14 mm inhibisyon zonları ile antimikrobiyal etki göstermiştir.

Çizelge 3.1. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

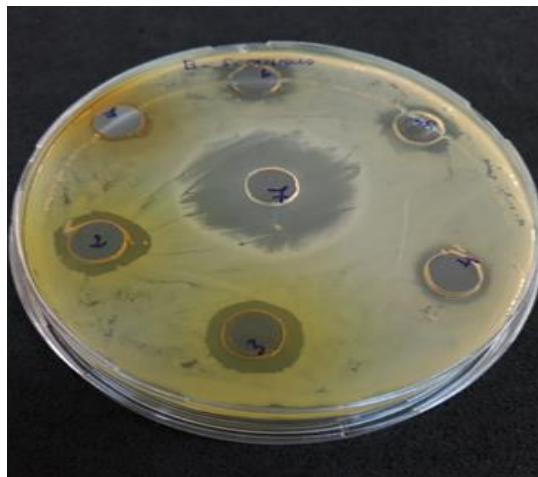


Caesalpinia bonduc yapraklarının su, etanol ve metanol ekstreleri ile gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testlerinde, metanol ekstresi *S.aureus* suşuna karşı 19 mm zon çapı oluşturmaya rağmen, bundan sentezlenen metanol-AgNP'leri inhibisyon zon çapı 17 mm olarak ölçülmüştür. *E.coli* üzerinde hiç bir ekstre antimikrobiyal etki göstermezken, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* üzerinde sadece metanol, *P. aeruginosa* ve *E. aerogenes* içinse etanol ve metanol ekstreleri antimikrobiyal etki göstermiştir. *P. aeruginosa*'ya karşı su ekstresi inhibisyon zonu oluşturmamış ancak, bu ekstreden sentezlenen su-AgNP ile 11 mm'lik inhibisyon zonu elde edilmiştir (Tablo 3.8, Şekil 3.9).

Tablo 3.8. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	10	-	-	-	-
Etanol	-	14	-	-	14	10
Metanol	-	19	11	09	14	12
Su AgNP'ler	14	14	11	11	11	-
Etanol AgNP'ler	15	16	-	12	14	-
Metanol AgNP'ler	15	17	-	13	13	11,5
AgNO ₃	13	13	15	14	15	-
kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

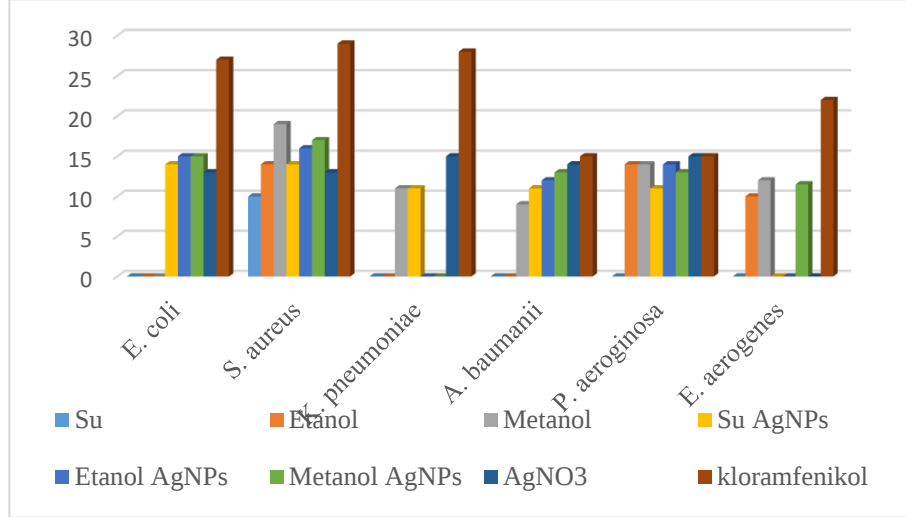
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.9. *Caesalpinia bonduc* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol) *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etki zonları.

Genel olarak ekstre-AgNP bileşenleri sadece ekstreten daha yüksek bir antimikrobiyal etki göstermiş olup, *E.coli*’ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi etanol-AgNP ve metanol-AgNP oluşturmuştur. *K.pneumoniae* sadece su-AgNP, *E. aerogenes* ise sadece metanol-AgNP’ler tarafından inhibe edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

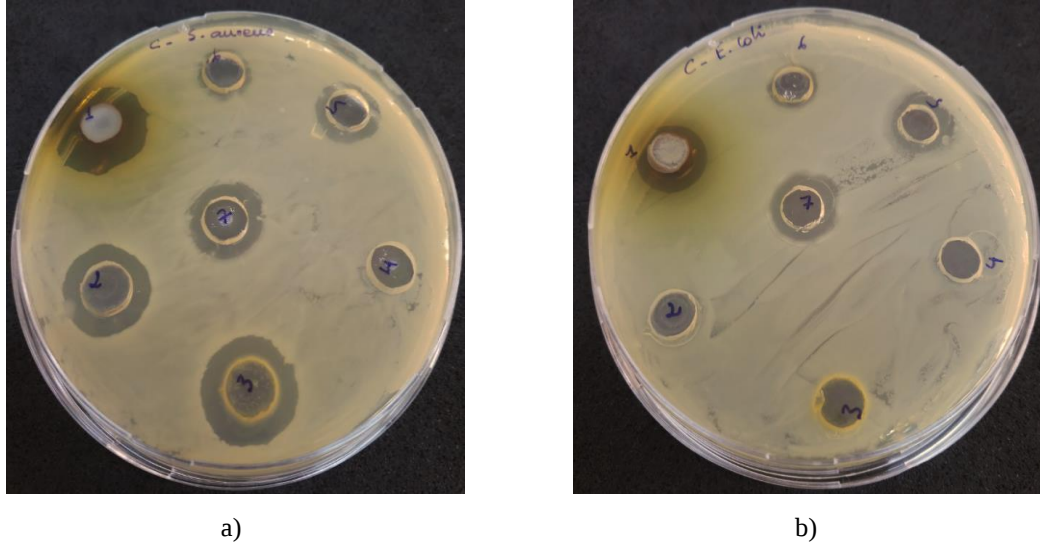


Momordica charantia’ya ait yaprak örnekleriyle elde edilen su, etanol ve metanol ekstrelerinden sadece su ekstresi test edilen tüm bakterilerde inhibisyon zonu oluşturmuş, en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *S.aureus* suşuna karşı 19 mm zon çapı ile göstermiştir (Tablo 3.9, Şekil 3.10a).

Tablo 3.9. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	14	19	14	16	13	17
Etanol	-	16	-	-	-	16
Metanol	-	18	-	-	-	17
Su AgNP’ler	-	-	11	09	13	09
Etanol AgNP’ler	14	16	12	11	12	11
Metanol AgNP’ler	12	11	-	14	15	12,5
AgNO ₃	14	13,5	14	13	15	-
kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

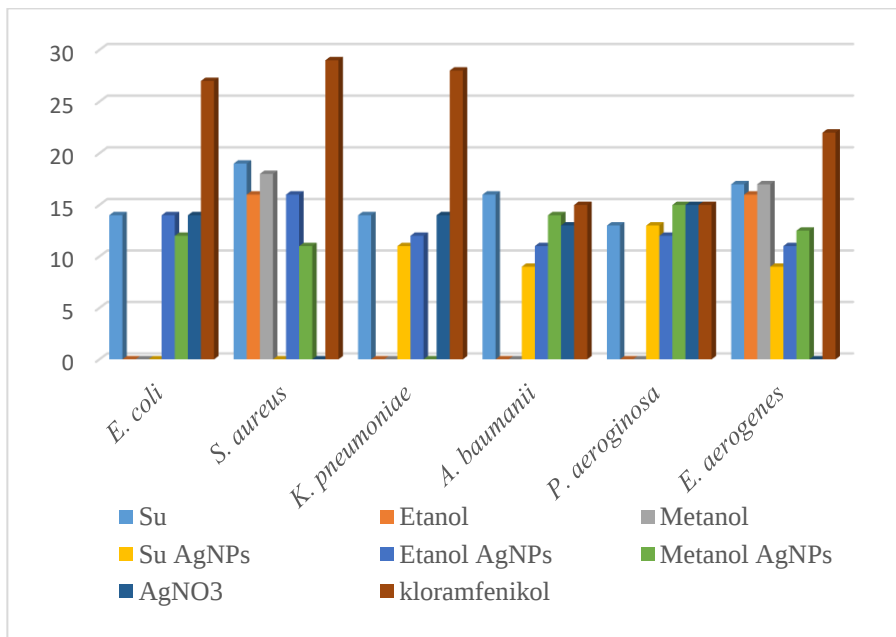
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.10. *Momordica charantia* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *E.coli* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃).

Momordica charantia yapraklarından su ile elde edilen ekstraktların gümüş nitrat ile muamelesiyle sentezlenen su-AgNP'ler *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmazken, diğer bakteriler üzerinde daha küçük çaplı inhibisyon zonları gözlenmiştir (Tablo 3.9). Etanol-AgNP'ler test edilen tüm bakterilere, metanol-AgNP'ler ise *K.pneumoniae* dışındaki bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

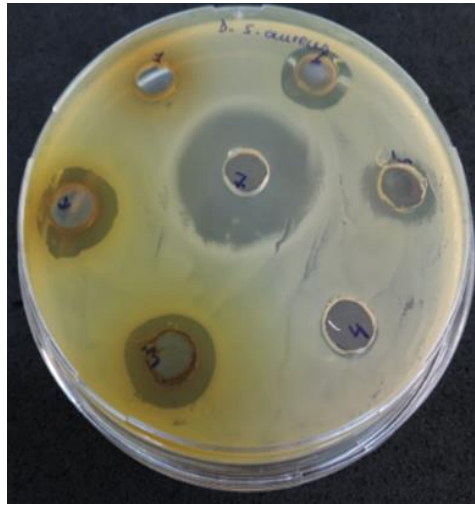


Pavetta corymbosa yapraklarının su ektresi test edilen hiçbir bakteri üzerinde antimikrobiyal etki göstermezken, bundan sentezlenen su-AgNP'ler *E. coli* ve *E. aerogenes* dışındaki bakterilerde değişen oranda etkili olmuştur. Özellikle *P. aeruginosa* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapı standart antibiyotik olan kloramfenikole eşdeğer (15 mm) bulunmuştur (Tablo 3.10).

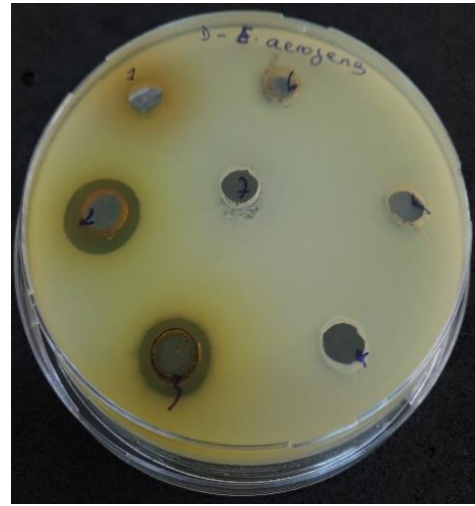
Tablo 3.10. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

Test materyali (50µl)	İnhibisyon zonları (nm)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	-	-	-	-	-
Etanol	12	17	14	14	14	15
Metanol	11	15	14	15	12	12
Su AgNP'ler	-	11	11	09	15	-
Etanol AgNP'ler	-	12	-	10	-	-
Metanol AgNP'ler	-	15	-	11	14	11
AgNO ₃	14	13.5	14	13	15	-
kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

(-): inhibisyon zonu yok



a)

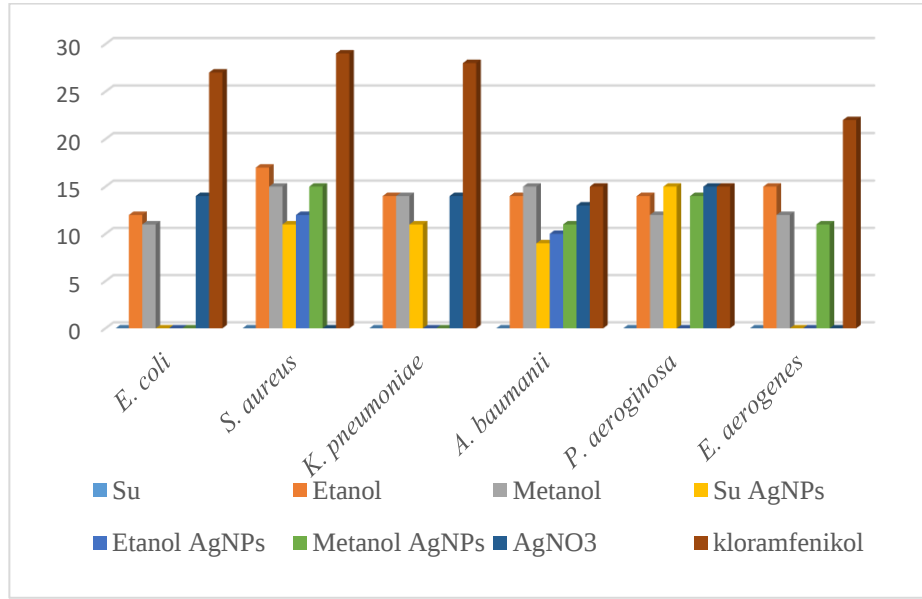


b)

Şekil 3.11. *Pavetta corymbosa* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *E. aerogenes* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Kloramfenikol/AgNO₃).

Çizelge 3.4 de görüldüğü üzere *E.aerogenes* (Şekil 3.11b), *K.pneumoniae* ve *E.coli*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite etanol ile yapılan ekstraktın sırasıyla 15 mm, 14 mm,ve 12 mm inhibisyon zonu ile, *A.baumanii*'ye karşı ise metanol ile yapılan ekstraktın 15 mm ve *P. aerogenes*'e karşı ise, Su-AgNP'ler ile yapılan ekstraktların 14 mm inhibisyon zonları ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.4. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

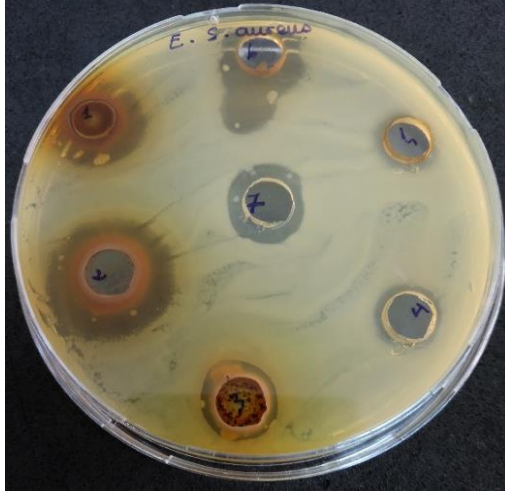


Psidium guajava bitkisinden hazırlanan su, etanol ve metanol ekstraktları *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* üzerinde etkili değilken, etanol ekstresi *S. aureus*, *A. baumanii* ve *E. aerogenes* üzerinde yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir (sırasıyla 21, 17 ve 15 mm zon çapı). Buna karşın bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstraktlara ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *S. aureus* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (21 mm) etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller ile elde edilmiştir (Tablo 3.11, Şekil 3.12a).

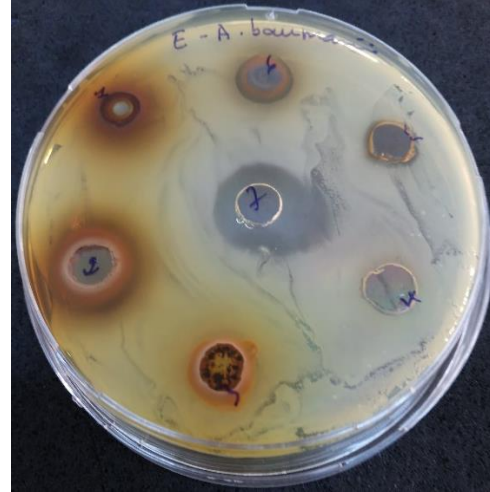
Tablo 3.11. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	17	-	-	-	12
Etanol	-	21	-	17	-	15
Metanol	-	13	-	-	-	12
Su AgNP'ler	14	11	11	12	12	09
Etanol AgNP'ler	-	10	-	13	11	12
Metanol AgNP'ler	-	13	-	11	11	10
AgNO ₃	14	13.5	13	12	14	-
Kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

(-): inhibisyon zonu yok



a)

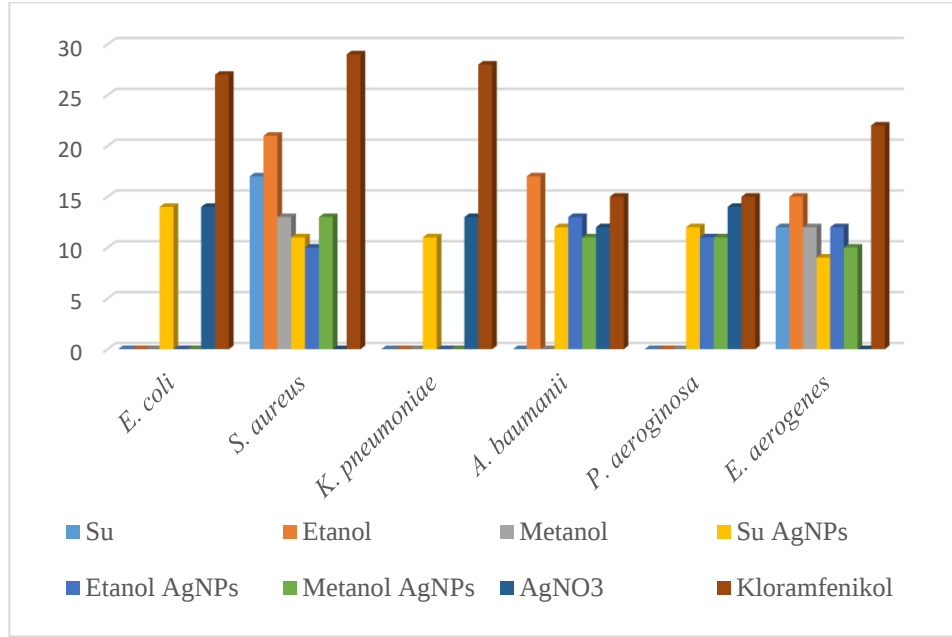


b)

Şekil 3.12. *Psidium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *S. aureus*, (b) *A. baumannii* bakterisi üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃).

Çizelge 3.5 de görüldüğü üzere *A. baumannii* (Şekil 3.12b) ve *E. aerogenes*'e, karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite etanol ile yapılan ekstrenin sırasıyla 17 mm ve 15 mm inhibisyon zonu ile, *E. coli*, *P. aerogenes* ve *K. pneumoniae*'ye karşı ise su-AgNP'ler ile yapılan ekstraktların 14 mm, 12 mm ve 11 mm inhibisyon zonları ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

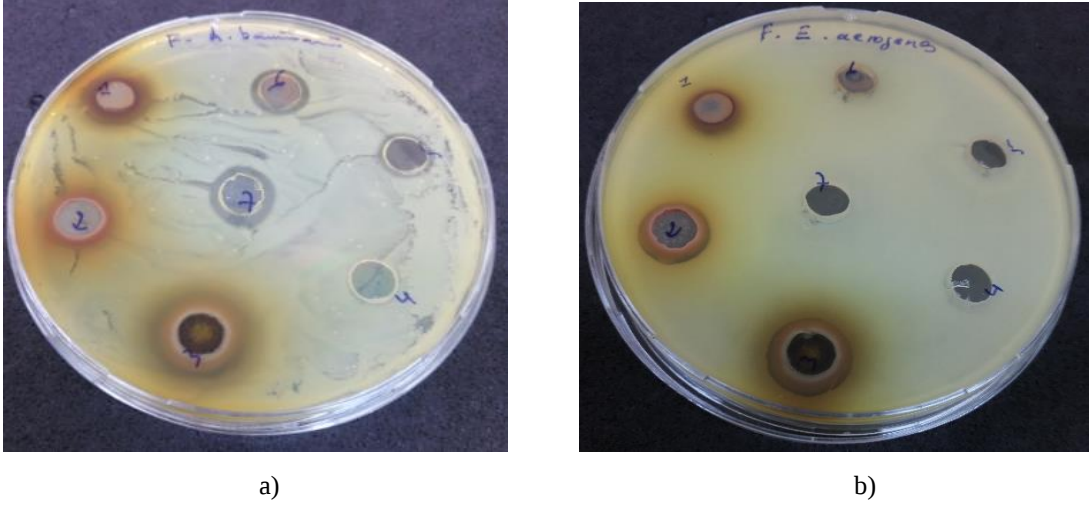


Dialium guineense bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrelere ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *A. baumannii* olup, en yüksek antimikrobiyal etki kloramfenikolden bile daha etkili olan metanol ekstresi ile elde edilmiş (Şekil 3.13a) ve inhibisyon zon çapı 16 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	14	-	-	14	11	11
Etanol	-	-	-	12	24	12
Metanol	-	-	-	16	20	14
Su AgNP'ler	13	13	12	08	12	-
Etanol AgNP'ler	-	-	10	11	-	-
Metanol AgNP'ler	13	19	-	13	12	08
AgNO ₃	14	13	13	13	14	-
kloramfenikol	27	29	28	15	15	22

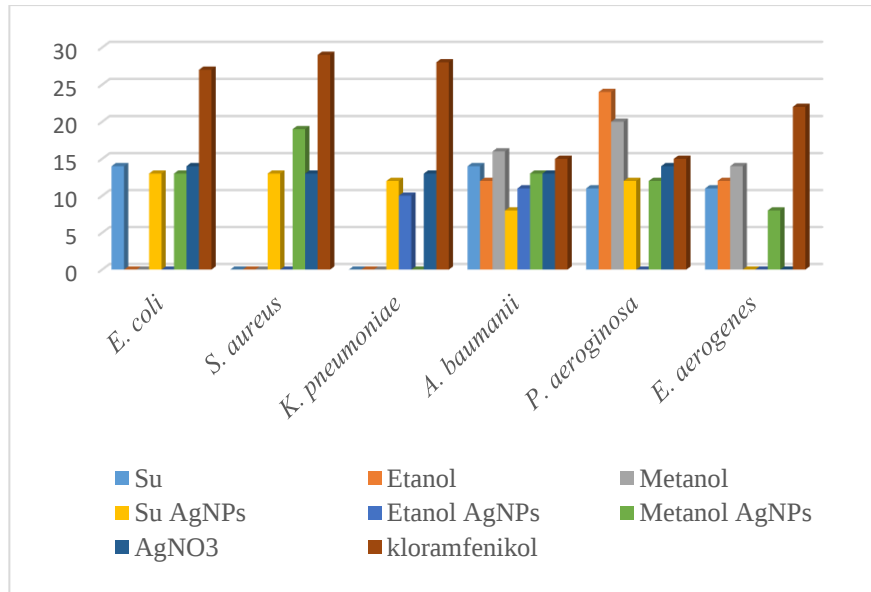
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.13. *Dialium guineense* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartikülleri (a) *A.baumannii*, (b) *E.aerogenes* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7/8: $AgNO_3$ -Kloramfenikol).

Çizelge 3.6 da görüldüğü üzere, metanol-AgNP'ler en yüksek antimikrobiyal etkiyi *S. aureus* üzerinde (19 mm inhibisyon zon çapı) göstermiştir. *P. aeruginosa* için ise, en yüksek antimikrobiyal etki kloramfenikolden bile daha etkili olan metanol ekstresi ile elde edilmiş ve inhibisyon zon çapı 24 mm olarak belirlenmiştir. *E. aerogenes* üzerinde su-AgNP ve etanol-AgNP'ler hiç bir etki göstermezken, metanol-AgNP'ler çok küçük bile olmasına rağmen etki göstermiştir (Şekil .13b).

Çizelge 3.6. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 μ l) test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).



3.2.8. Agar difüzyon yöntemi ile antifungal aktivitenin belirlenmesi

Antifungal aktivite testleri *Candida* türleri; *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* ile gerçekleştirilmiştir.

Moringa oleifera bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrele ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya türü *C. zeylanoides* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (19 mm) etanol-AgNP ile elde edilmiştir (Tablo 3.13).

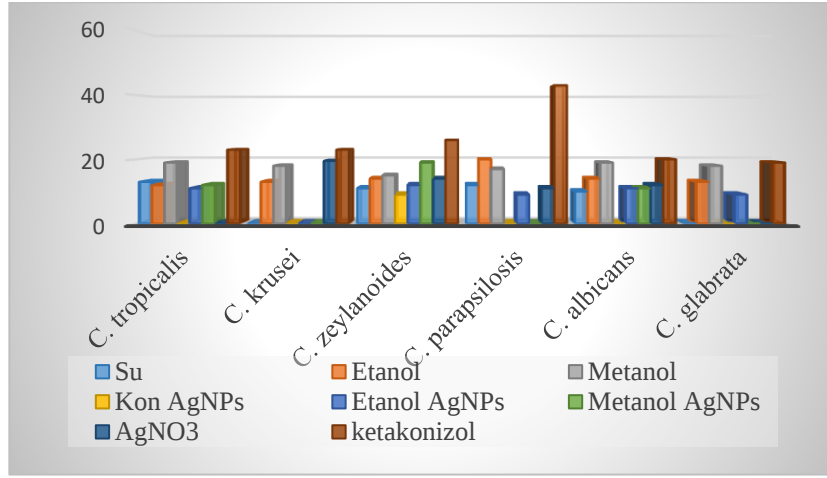
Tablo 3.13. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test fungusları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	13	-	11	12	10	-
Etanol	12	13	14	20	14	13
Metanol	19	18	15	17	19	18
Su AgNP'ler	-	-	09	-	-	-
Etanol AgNP'ler	11	-	12	09	11	09
Metanol AgNP'ler	12	-	19	-	11	-
AgNO ₃	-	19.5	14	11	12	-
Ketokonazol	23	23	26	43	20	19

(-): inhibisyon zonu yok

Çizelge 3.7 de görüldüğü üzere *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. krusei*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi sırasıyla 19 mm, 19 mm 18 mm ve 18 mm inhibisyon zonu ile metanol ekstresi göstermiştir. Metanol-AgNP'ler ise en yüksek antimikrobiyal etkiyi *C. zeylanoides*'e karşı 19 mm inhibisyon zonu ile göstermiştir.

Çizelge 3.7. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

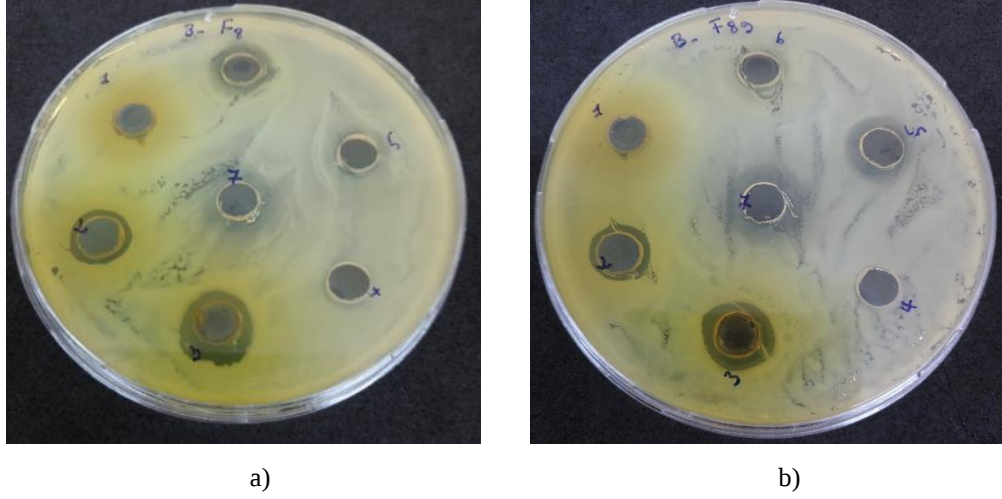


Caesalpinia bonduc bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrelere ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. parapsilosis* (Şekil 14a) olup, bu mayaya karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi (14 mm) metanol-gümüş nanopartiküller ile göstermiştir (Tablo 3.14). Buna karşın metanol-AgNP'lerin en yüksek inhibisyon değeri 20 mm zon çapı ile *C. zeylanoides* üzerinde gözlenmiştir.

Tablo 3.14. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test fungusları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	-	09	-	-
Etanol	-	11	-	11	11	10
Metanol	-	13	12	13	14	10
Su AgNP'ler	-	-	-	08	-	-
Etanol AgNP'ler	-	-	14	11	10	-
Metanol AgNP'ler	13	-	20	14	12	-
AgNO ₃	-	19.5	14	11	12	-
Ketokonazol	23	23	26	43	20	19

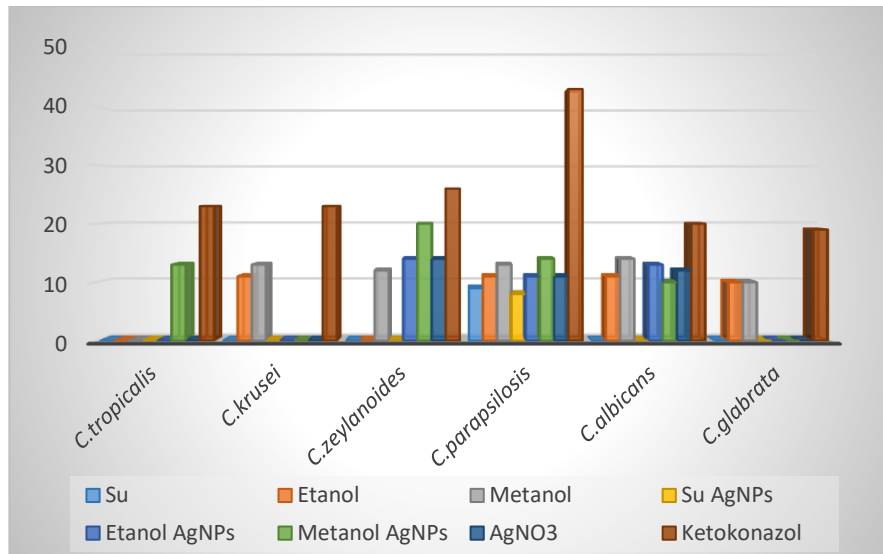
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.14. *Caesalpinia bonduc* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. albicans* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO_3).

Çizelge 3.8 de görüldüğü üzere *Caesalpinia bonduc* yapraklarından elde edilen su ekstresi ve su-AgNP'ler, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *C. albicans* ve *C. glabrata* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmazken, *C. parapsilosis* üzerinde küçük çaplı inhibisyon zonları gözlenmiştir (Tablo 3.8). Etanol-AgNP ve metanol-AgNP test edilen *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*, ve *C. albicans* (Şekil 3.14b) mayalarına karşı antimikrobiyal etki göstermiştir.

Çizelge 3.8. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 μl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

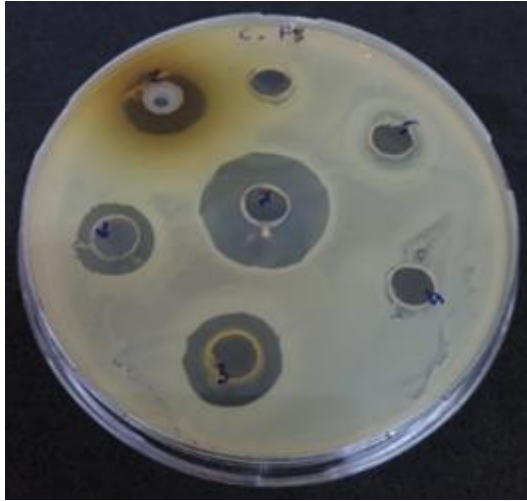


Momordica charantia bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrelere ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. albicans* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (19 mm zon çapı) su ekstresi ile *C. krusei* üzerinde elde edilmiştir (Tablo 3.15).

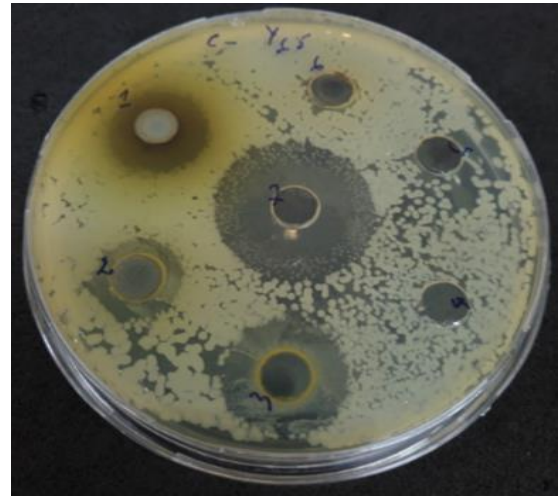
Tablo 3.15. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	17	19	15	15	18	17
Etanol	-	15	14	14	14	13.5
Metanol	-	14	16	15.5	15	17
Su AgNP'ler	-	-	-	-	11	-
Etanol AgNP'ler	13	12	15	14	11	-
Metanol AgNP'ler	13	11	15	09	13	-
AgNO ₃	0	20	13	13	11	-
Ketokonazol	23	23	26.5	44	24	21

(-): inhibisyon zonu yok



a)

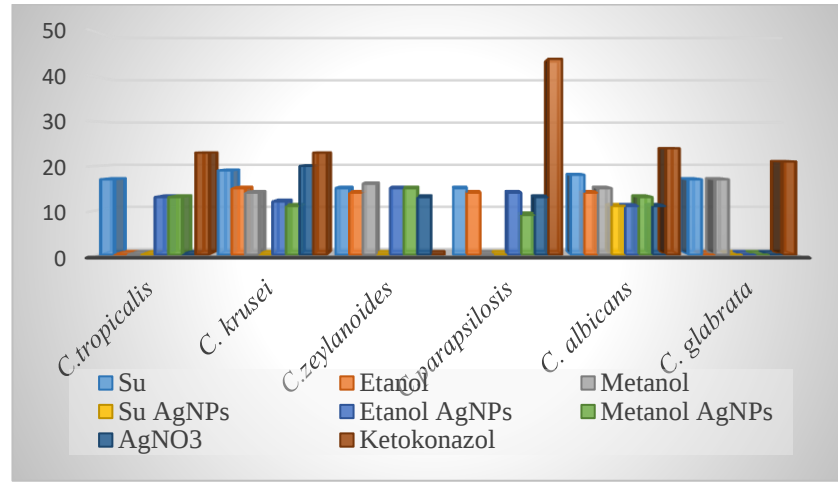


b)

Şekil 3.15. *Momordica charantia* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. glabrata* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Ketokonazol)

Çizelge 3.9 da görüldüğü üzere, *Momordica charantia* yapraklarından su ile elde edilen ekstraktların gümüş nitrat ile muamelesiyle sentezlenen su-AgNP'ler üzerinde *C. albicans* dışında mayalar üzerinde inhibisyon zonu gözlenmemiştir (Tablo 3.9). Etanol-AgNP'ler metanol-AgNP'ler ise test edilen *C. glabrata* hariç (Şekil 3.15a-b) tüm mayalara karşı antimikrobiyal etki göstermiştir.

Çizelge 3.9. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

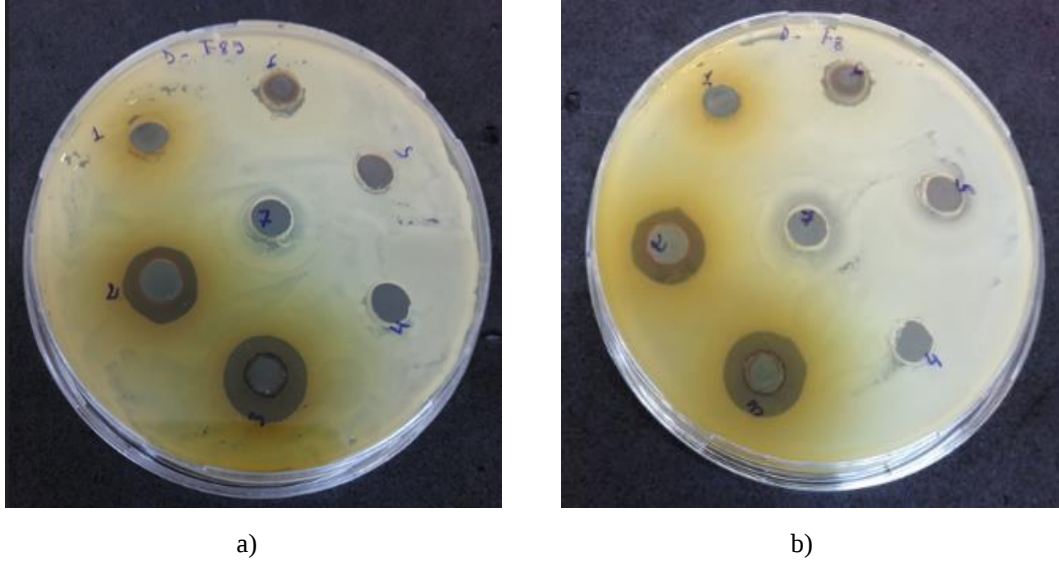


Pavetta corymbosa bitkisinden hazırlanan ekstraktlar ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstraktlara (su ekstreti dışında) ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. albicans* (Şekil 3.16a) olup, en yüksek antimikrobiyal etki (17 mm) *C. glabrata* etanol ekstraktları ile elde edilmiştir (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	09	-	-	-
Etanol	-	12	16	14	14	15.5
Metanol	12	-	15.5	15.5	15	17
Su AgNP'ler	-	13	11	-	10	-
Etanol AgNP'ler	-	-	-	15	08	-
Metanol AgNP'ler	-	-	-	12	09	-
AgNO ₃	-	20	13	13	10	-
Ketokonazol	23	23	26.5	44	24	21

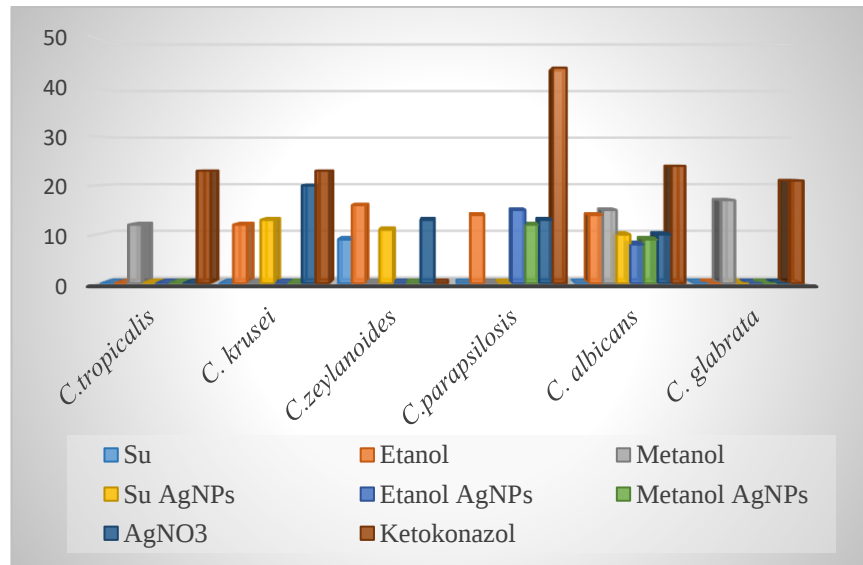
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.16. *Pavetta corymbosa* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. albicans* ve (b) *C. parapsilosis* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: AgNO₃).

Çizelge 3.10 de görüldüğü üzere, etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktların gümüş nitrat ile muamelesiyle sentezlenen etanol-AgNP ve metanol-AgNP'ler *C. albicans* ve *C. parapsilosis* mayalar hariç, diğer mayalar üzerinde inhibisyon zonu oluşturmamıştır ve buna karşı en yüksek inhibisyon zonu metanol-AgNP üzerinde *C. parapsilosis* (15 mm) ile elde edilmiştir (Şekil 3.16b).

Çizelge 3.10. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).



Psidium guajava bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen sadece 3 maya üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3.17). Su ekstresi test edilen hiçbir bakteri üzerinde antimikrobiyal etki göstermezken, bundan sentezlenen su-AgNP ve etanol-AgNP’ler de hiç bir oranda etkili olmamıştır. Metanol-AgNP’lere karşı ise duyarlı tek maya türü *C. parapsilosis* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (17 mm) ile elde edilmiştir (Şekil 3.18).

Tablo 3.17. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	-	-	-	-
Etanol	-	-	13	-	13	-
Metanol	-	-	11	12	12	-
Su AgNP’ler	-	-	-	-	-	-
Etanol AgNP’ler	-	-	-	-	-	-
Metanol AgNP’ler	-	-	-	17	-	-
AgNO ₃	-	18	13.5	15	12	-
Ketokonazol	24.5	24	26	44	26	20

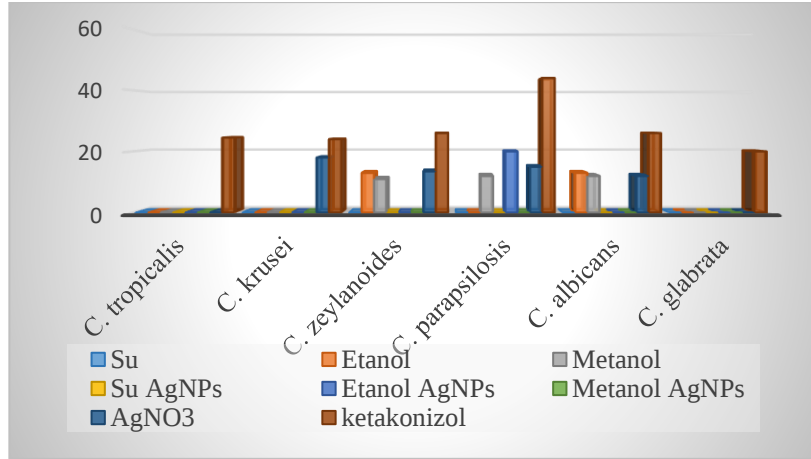
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.17. *Psidium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *C. parapsilosis* üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: Ketokonazol)

Çizelge 3.11 de görüldüğü üzere *C. zeylanoides* ve *C. albicans*'e karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite etanol ile yapılan ekstraktın her ikisi de 13 mm inhibisyon zonu ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.11. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

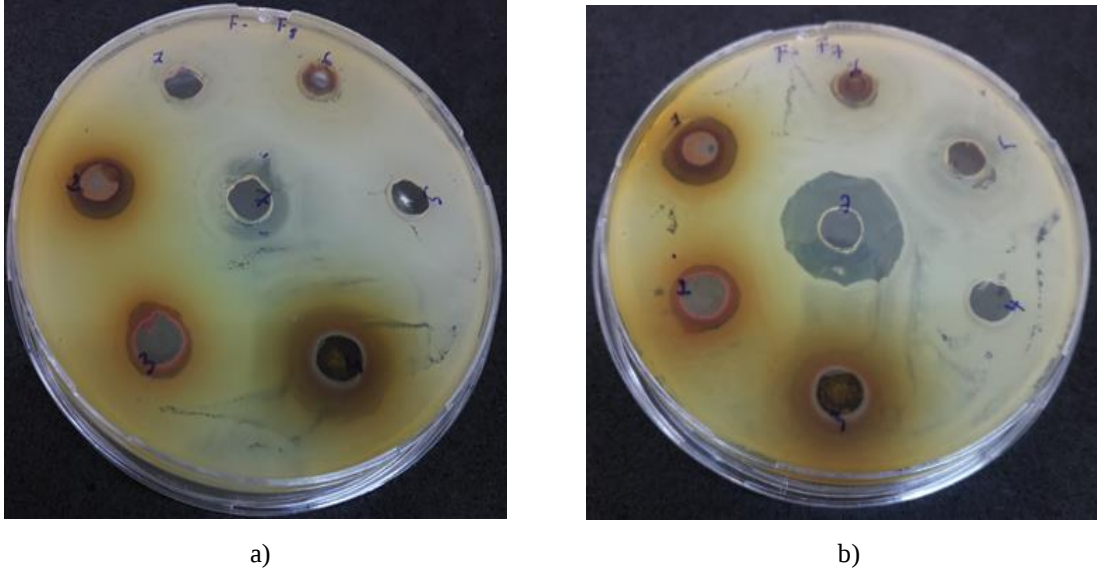


Dialium guineense bitkisinden hazırlanan ekstraktlar ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstraktlara ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. zeylanoides* (Şekil 3.18b) olup, en yüksek antimikrobiyal etki (18 mm) *C. parapsilosis* üzerinde su ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller (su-AgNP) ile elde edilmiştir (Şekil 3.18a) (Tablo 3.18).

Tablo 3.18. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstraktları ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Test materyali (50µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	14	-	12.5	-
Etanol	11	-	12	11.5	11	-
Metanol	-	14	13	10.5	12	13
Su AgNP'ler	-	-	09	18	-	-
Etanol AgNP'ler	-	-	14	-	-	-
Metanol AgNP'ler	15	-	12	09	09	-
AgNO ₃	-	18	13.5	15	12	-
Ketokonazol	24.5	24	26	44	26	20

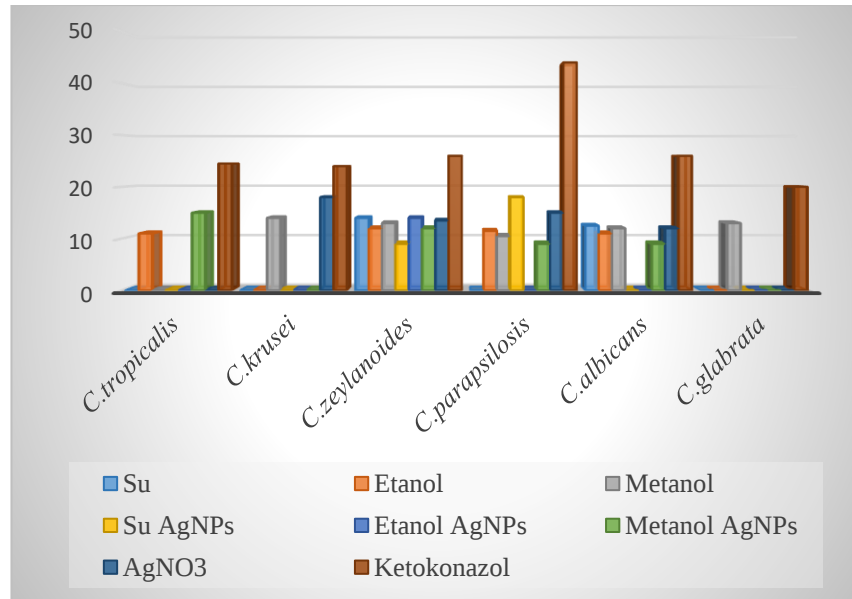
(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.18. *Dialium guajava* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. zeylanoides* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: su, 2: etanol, 3: metanol, 4: su AgNP, 5: etanol AgNP, 6: metanol AgNP, 7: (a)- AgNO₃, (8b)-Ketokonazol).

Çizelge 3.12 de görüldüğü üzere *C. zeylanoides* (Şekil 3.18b) ve *C. tropicalis*'e karşı ise en yüksek antimikrobiyal aktivite metanol ekstelerinden sentezlenen gümüş nanopartiküller sırasıyla 15mm ve 12 mm ile, *C. krusei* ve *C. glabrata*'ye karşı ise metanol ekstreler ile 14 mm ve 13 mm ve *C. albicans*'a karşı ise su ekstreler 12,5 mm ile inhibisyon zonları ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.12. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (50 µl) test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).



3.2.9. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi

Caesalpinia bonduc, *Dialium guineense*, *Momordica charantia*, *Moringa oleifera*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* su, etanol ve metanol ekstreleri ile bunlardan sentezlenen ekstre-gümüş nanopartiküllerden (AgNP) 1:2 oranıyla hazırlanan dilüsyon serileri, test mikroorganizmaları ile eşit oranlarda karıştırılarak inkübe edilmiş ve mikroorganizma gelişimini engelleyen yani bulanıklığın görüldüğü en düşük dilüsyon oranı minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.

Moringa oleifera bitkisinin su, etanol ve metanol ekstreleri dikkate alındığında özellikle metanol ekstresinin *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *E. aerogenes* bakterileri üzerindeki MİK değerlerinin kloromfenikolden anlamlı oranda düşük olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, etanol gümüş nanopartikülleri de *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde ketokonazolden daha düşük MİK değerine sahip olmuşlardır (Tablo 3. 19).

Tablo 3.19. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	500	500	500	500	250	500
Etanol	1000	250	500	250	250	500
Metanol	125	250	250	125	125	125
Su AgNP'ler	500	500	250	500	1000	1000
Etanol AgNP'ler	62,5	62,5	500	500	500	500
Metanol AgNP'ler	500	500	250	1000	1000	1000
AgNO ₃	1000	1000	500	500	1000	1000
kloramfenikol	250	500	125	500	500	250

Moringa oleifera bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrelerinin MİK değerleri test mayalarına göre değişmekle birlikte, özellikle etanol ekstresinin *C. glabrata* üzerindeki MİK değerinin (31,25 µg/ml) standart antibiyotik olan ketokonazolün MİK değerinden (125 µg/ml) daha düşük olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, metanol ekstresinin *C. albicans* üzerindeki MİK değeri (125 µg/ml) ketokonazolün MİK değerinden (250 µg/ml) daha düşüktür. Gümüş nanopartikül kompleksleri dikkate alındığında, *C. zeylanoides* üzerindeki etanol-AgNP MİK değeri (125 µg/ml) ketokonazolün MİK değerinden (250 µg/ml) daha düşük saptanmıştır (Tablo 3. 20).

Tablo 3.20. *Moringa oleifera* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	250	125	250	250	250	500
Etanol	1000	1000	500	250	500	31,25
Metanol	125	250	250	250	125	250
Su AgNP'ler	500	1000	-	-	-	1000
Etanol AgNP'ler	250	1000	125	1000	500	62,5
Metanol AgNP'ler	250	500	250	1000	1000	125
AgNO ₃	500	125	500	500	500	500
Ketokonazol	15,62	7,81	250	62,5	250	125

Caesalpinia bonduc bitkisinin etanol ve metanol ekstreleri dikkate alındığında özellikle metanol ekstresinin *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* üzerindeki MİK değerleri kloromfenikolden anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Etanol ekstresi-AgNP kompleksi özellikle *E. coli*, metanol-AgNP ise *S. aureus* üzerinde daha etkili olmuşlardır (Tablo 3.21).

Tablo 3.21. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Etanol	1000	500	125	500	250	500
Metanol	500	500	62,5	-	62,5	250
Su AgNP'ler	500	500	250	500	1000	1000
Etanol AgNP'ler	250	500	1000	500	500	1000
Metanol AgNP'ler	500	250	1000	500	1000	1000
AgNO ₃	1000	500	500	500	1000	1000
kloramfenikol	125	125	62,5	250	500	250

Caesalpinia bonduc bitkisi ektreleri ve bunlardan sentezlenen AgNP'lerin *Candida* türleri üzerinde, ketokonazole oranla yüksek MİK değerlerine sahip oldukları gözlenmiştir (Tablo 3. 22).

Tablo 3.22. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin su, etanol, metanol ektreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	1000	1000	1000	500	1000	1000
Etanol	1000	500	-	1000	1000	125
Metanol	500	250	250	250	500	500
Su AgNP'ler	500	-	500	500	500	500
Etanol AgNP'ler	250	-	500	250	500	-
Metanol AgNP'ler	500	1000	125	125	1000	-
AgNO ₃	500	125	500	500	500	250
Ketokonazol	15,62	15,62	500	125	500	62,5

Momordica charantia su ekstresi dikkate alındığında *E. aerogenes* üzerinde anlamlı bir MİK değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 3. 23).

Tablo 3.23. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ektreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	125	125	125	125	125	62,35
Etanol	-	500	-	-	-	250
Metanol	-	500	-	-	-	1000
Su AgNP'ler	500	500	125	500	500	500
Etanol AgNP'ler	1000	250	500	500	500	250
Metanol AgNP'ler	250	250	250	250	250	500
AgNO ₃	500	250	500	500	500	500
kloramfenikol	31,25	62,5	31,25	250	500	250

Momordica charantia bitkisinin su ektrelerin *C. albicans* ve *C. glabrata* üzerindeki MİK değerlerinin kloramfenikolden anlamlı oranda düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 3.24).

Tablo 3.24. *Momordica charantia* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	250	250	125	125	125	62,5
Etanol	-	500	500	250	500	250
Metanol	1000	500	250	500	1000	500
SU AgNP'ler	250	500	1000	1000	1000	500
Etanol AgNP'ler	250	500	500	1000	1000	500
Metanol AgNP'ler	250	500	500	500	500	500
AgNO ₃	500	250	500	500	500	500
Ketokonazol	62,5	31,25	500	125	500	500

Pavetta corymbosa bitkisinin etanol ve metanol ekstreleri dikkate alındığında özellikle etanol ekstresinin *S. aureus*, *A. baumannii* ve *E. aerogenes* üzerindeki MİK değerlerinin kloromfenikolden anlamlı oranda düşük olduğu, *S. aureus* için belirlenen MİK değerinin ise (15,62 µg/ml) kloramfenikolden daha düşük (31,25 µg/ml) olduğu gözlenmiştir (Tablo 3. 25).

Tablo 3.25. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	500	1000	1000	-	500
Etanol	250	15,62	125	62,5	250	125
Metanol	1000	62,5	500	500	500	250
Su AgNP'ler	1000	250	500	500	500	500
Etanol AgNP'ler	1000	125	1000	1000	1000	500
Metanol AgNP'ler	500	250	-	500	125	500
AgNO ₃	500	250	125	250	500	500
kloramfenikol	31,25	31,25	62,5	250	500	500

Benzer şekilde, *Pavetta corymbosa* etanol ekstresinin *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* ve *C. glabrata* üzerindeki MİK değerlerinin kloromfenikolden anlamlı oranda düşük olduğu gözlenmiştir. Metanol ekstresi ise *C. tropicalis* üzerinde ketokonazole eşdeğer antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3. 26).

Tablo 3.26. *Pavetta corymbosa* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	-	-	-	-
Etanol	250	15,62	62,5	62,5	62,5	31,25
Metanol	31,25	250	125	125	125	125
Su AgNP'ler	62,5	250	250	250	250	500
Etanol AgNP'ler	250	250	1000	62,5	500	500
Metanol AgNP'ler	125	250	1000	1000	1000	250
AgNO ₃	250	250	500	500	500	500
Ketokonazol	31,25	125	500	125	500	125

Psidium guajava bitkisinin su ekstresi *E. coli* üzerinde etkisiz iken, su-AgNP ile elde edilen MİK değeri (62,5 µg/ml) kloramfenikolden (125 µg/ml) daha düşük saptanmıştır. Benzer şekilde etanol-AgNP kompleksinin *E. aerogenes* üzerindeki MİK değeri (62,5 µg/ml) kloramfenikolden (500 µg/ml) çok daha düşük saptanmıştır (Tablo 3. 27).

Tablo 3.27. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	-	250	-	-	250	250
Etanol	-	125	-	250	250	250
Metanol	250	125	-	250	250	125
Su AgNP'ler	62,5	250	250	500	125	500
Etanol AgNP'ler	-	250	-	250	250	62,5
Metanol AgNP'ler	-	1000	-	500	500	1000
AgNO ₃	500	250	250	500	250	500
kloramfenikol	125	62,5	31,25	250	500	500

Psidium guajava su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* ve *C. glabrata* üzerinde oldukça yüksek antimikrobiyal etki göstermiş olup, özellikle etanol ekstresi MİK değerlerinin *C. krusei*, *C. albicans* ve *C. glabrata* için anlamlı oranda düşük olduğu gözlenmiştir. *P. guajava* en yüksek antimikrobiyal etkiyi *C. glabrata* üzerinde göstermiştir (Tablo 3. 28).

Tablo 3.28. *Psidium guajava* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	500	500	-	500	125
Etanol	500	62,5	125	-	125	7,81
Metanol	250	250	62,5	250	250	62,5
Su AgNP'ler	62,5	31,25	1000	1000	1000	125
Etanol AgNP'ler	62,5	62,5	1000	1000	1000	125
Metanol AgNP'ler	250	62,5	500	125	1000	250
AgNO ₃	500	250	500	500	1000	1000
Ketokonazol	62,5	125	250	31,25	500	250

(-): İnhibisyon yok

Dialium guineense bitkisi su, etanol ve metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller değişen oranlarda antimikrobiyal etki göstermiştir. Özellikle su ekstresinin *E. aerogenes*, etanol ekstresinin *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*, metanol-AgNP ise *K. pneumoniae* üzerinde kloromfenikolden anlamlı oranda düşük MİK değerine sahip olduğu gözlenmiştir. (Tablo 3. 29).

Tablo 3.29. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test bakterileri üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
Su	250	250	125	125	250	31,25
Etanol	-	125	125	125	62,5	125
Metanol	-	250	250	250	125	250
Su AgNP'ler	500	500	1000-500	1000	500	500
Etanol AgNP'ler	-	500	1000	-	250	500
Metanol AgNP'ler	500	125	31,25	125	125	500
AgNO ₃	500	250	250	250	250	500
kloramfenikol	250	125	250	250	500	500

Dialium guineense, metanol-AgNP ekstresinin *C. tropicalis*, *C. zeylanoides* ve *C. parapsilosis* üzerindeki MİK değerlerinin (sırasıyla 7,81; 15,62; 15,62 µg/ml) kloromfenikol ile elde edilen değerlerden anlamlı oranda düşük oldukları gözlenmiştir (Tablo 3. 30).

Tablo 3.30. *Dialium guineense* bitkisinin su, etanol, metanol ekstreleri ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin test fungusları üzerinde oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyonları (µg/ml).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (µg/ml)						
Test materyali	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Su	-	-	-	-	62,5	-
Etanol	500	500	500	-	500	-
Metanol	-	15,62	250	250	125	15,62
Su AgNP'ler	-	250	1000	1000	1000	-
Etanol AgNP'ler	250	125	-	500	-	250
Metanol AgNP'ler	7,81	-	15,62	15,62	-	62,5
AgNO ₃	500	250	500	500	1000	1000
Ketokonazol	31,25	125	250	62,5	500	500

(-): İnhibisyon yok

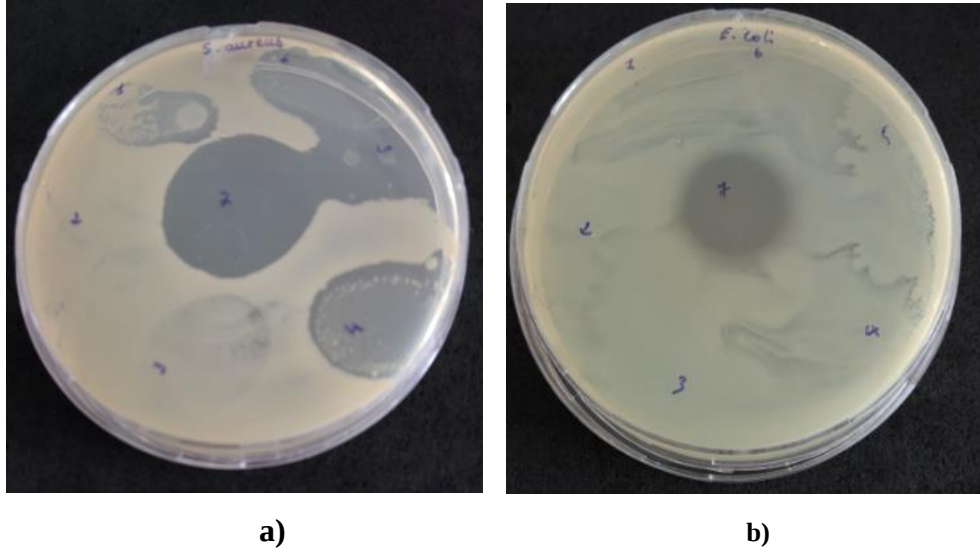
3.2.10. Agar difüzyon yöntemi ile uçucu yağların antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Tüm bitkilerinden hazırlanan uçucu yağlar sadece *S.aureus* bakterisi üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün uçucu yağlara duyarlı tek bakteri *S. aureus* (Şekil 3.19) olup, en yüksek antimikrobiyal etki (20 mm) *Pavetta corymbosa* bitkisinden elde edilmiştir. Buna karşın *E. coli* test edilen tüm uçucu yağlara dirençlidir (Tablo 3.31).

Tablo 3.31. Uçucu yağların test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Uçucu yağları (10µl)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>
<i>M. oleifera</i>	-	15	-	-	-	-
<i>C. bonduc</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Momordica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. corymbosa</i>	-	20	-	-	-	-
<i>Psidium</i>	-	19	-	-	-	-
<i>D. guineense</i>	-	15	-	-	-	-
Ref.antibiyotik	18	29	22	20	20	23

(-): İnhibisyon yok



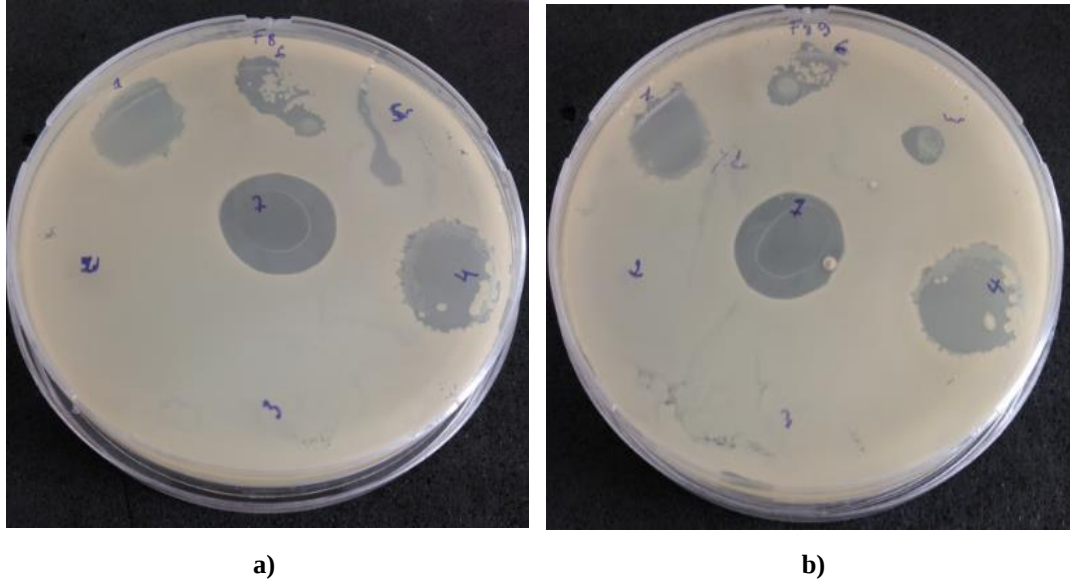
Şekil 3.19. Uçucu yağların (a) *S. aureus* ve (b) *E. coli* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: *Moringa oleifera*, 2: *Caesalpinia bonduc*, 3: *Momordica charantia*, 4: *Pavetta corymbosa*, 5: *Psidium guajava*, 6: *Dialium guineense*, 7: Kloramfenikol)

Uçucu yağların antimikrobiyal etkisi funguslar üzerinde de test edilmiş ve *C. tropicalis* ile *C. krusei* dışında test edilen bütün mayaların değişen seviyede duyarlılıkları tespit edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki *Pavetta corymbosa* uçucu yağı ile *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis* ve *C. albicans* üzerinde sırasıyla 18 mm, 17 mm ve 16 mm inhibisyon zon çapları ile kaydedilmiştir (Tablo 3.32; (Şekil 3.20a-b)).

Tablo 3.32. Bitkilerinin uçucu yağların test mayaları üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).

İnhibisyon zonları (mm)						
Uçucu yağları (10µl)	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
<i>M. oleifera</i>	-	-	12	17	14	16
<i>C. bonduc</i>	-	-	-	-	-	-
<i>M. charantia</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. corymbosa</i>	-	-	18	17	16	10
<i>P. guajava</i>	-	-	07	-	08	-
<i>D. guineense</i>	-	-	09	08	08	17
Ref.antibiyotik	39	28	19	20	19	21

(-): inhibisyon zonu yok



Şekil 3.20. Bitkilerden elde edilen uçucu yağları (a) *C. parapsilosis* ve (b) *C. albicans* mayaları üzerindeki antimikrobiyal etki zonları (1: *Moringa oleifera*, 2: *Caesalpinia bonduc*, 3: *Momordica charantia*, 4: *Pavetta corymbosa*, 5: *Psidium guajava*, 6: *Dialium guineense*, 7: Ketokonazol)

3.2.11. Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerinin MRSA bakterilerinin üzerinde agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Dialium guineense uçucu yağı ile bu bitkiden elde edilen su-AgNP, etanol-AgNP ve metanol-AgNP ekstraktları de MRSA bakterileri üzerinde test edilmiştir.

Uçucu yağların MRSA bakterilerin üzerinde etkili olduğu göstermişken, uçucu yağlar etkili gibi olmasalar da su-AgNP dışında, etanol ve metanol-AgNP'leri de MRSA bakterileri üzerinde etkili olmuştur.

Tablo 3.33. Bitkilerinin uçucu yağların MRSA bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).

İnhibisyon zon çapı (mm)						
MRSA	Su AgNP'ler	Etanol AgNP'ler	Metanol AgNP'ler	Uçucu yağ	AgNO ₃	Kloramfenikol
1	-	-	9	14	-	24
2	-	-	6	15	-	22
3	-	-	7	12	-	24
4	-	-	6	15,5	-	20
5	-	-	-	15	-	22
6	-	-	-	12	-	17
7	-	8	10	16	-	25
8	-	-	8	16	-	21
9	-	-	-	10	-	24
10	-	8	10	10	-	20

Tablo 3.34. (devam) Bitkilerinin uçucu yağların MRSA bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları (mm).

11	-	8	10	13	-	24
12	-	5	10	14	-	23
13	-	6	9	12	-	20
14	-	10	9	13	-	22
15	-	7	10	13	-	20
16	-	-	12	16	-	23
17	-	-	12	16	-	23
18	-	7	10	18	-	21
19	-	5	8	12	-	24
20	-	3	9	15	-	22
21	-	-	-	17	-	23
22	-	6	9	12	-	21
23	-	-	10	-	-	24
24	-	5	15	-	-	22
25	-	-	9	15	-	22
26	-	5	10	16	-	25
27	-	6	10	12	-	22
28	-	5	9	15	-	19
29	-	6	9	14	-	23
30	-	6	10	15	-	26
31	-	-	14	17	-	25
32	-	6	10	17	-	20
33	-	9	9	13	-	20
34	-	7	10	12	-	23
35	-	8	9	14	-	25
36	-	9	11	14	-	24
37	-	8	9	15	-	25
39	-	7	10	14	-	25
40	-	8	11	13	-	22
41	-	9	10	15	-	23
42	-	10	10	15	-	20
43	-	9	10	14	-	23
44	-	9	10	14	-	10
45	-	9	11	16	-	25
46	-	-	-	-	-	-
47	-	8	9	14	-	23
48	-	8	10	15	-	21

(-): inhibisyon zonu yok

3.2.12. Nanopartiküllerin karakterizasyonu

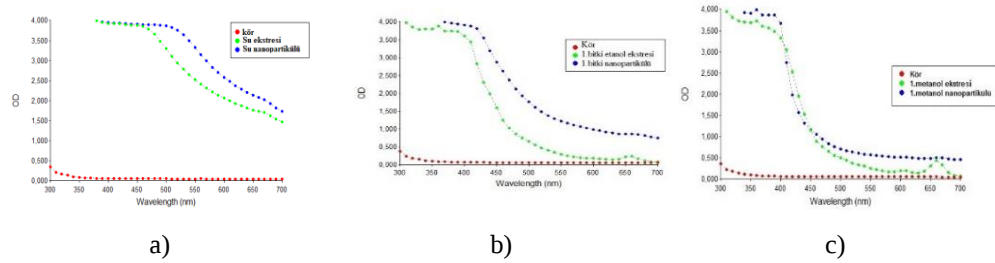
3.2.12.1. Uv-vis spektro analizi

Renk değiştiren nanopartikül çözeltileri UV-vis spektrofotometri ile analiz edilmiştir. Her bir bitki için belli nanometre (nm) 'de geniş bir absorpsiyon zirvesi gösterilmiş, ve böylece nanopartiküllerin oluşumunun AgNP olduğunu doğrulanmıştır. Bitkilerin gümüş nitrata reaksiyonu sırasında gümüş iyonlarının indirgenmesi UV-Vis spektroskopisi ile kolayca belirlenmiştir. Pozitif kontrol (distile su), negatif kontrol (bitki ekstretleri) ve gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon spektrumu, sırasıyla 340 nm -500 nm'de arasında iyi tanımlanmış bir absorpsiyon zonu göstermiştir (Tablo 3.34).

Tablo 3.35. Bitki ekstrelerin absorpsiyon zonları (nm).

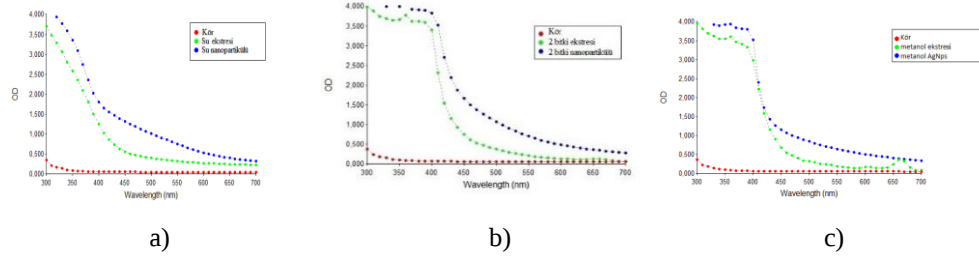
UV-vis absorpsiyon zonu (nm)			
Bitki ekstretleri	Su –AgNP	Etanol -AgNP	Metanol -AgNP
<i>Moringa oleifera</i>	500	430	400
<i>Caesalpinia bonduc</i>	410	405	400
<i>Momordica charantia</i>	500	460	420
<i>Pavetta corymbosa</i>	340	390	390
<i>Psidium guajava</i>	450	340	380
<i>Dialium guineense</i>	400	390	440

Moringa oleifera bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 500 nm, 430 nm ve 400 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.21).



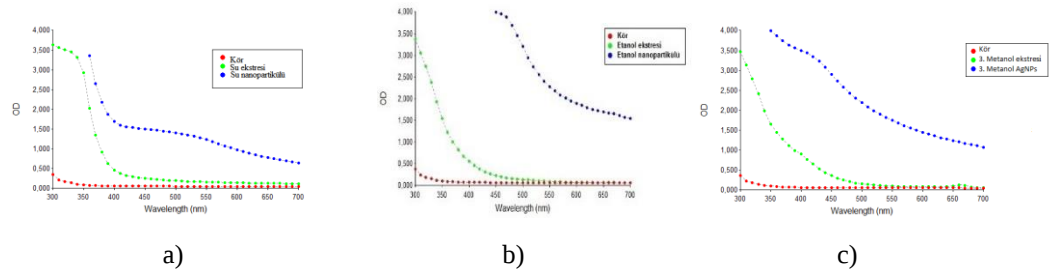
Şekil 3.21. *Moringa oleifera* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerinin absorpsiyon zonu.

Caesalpinia bonduc bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 410 nm, 405 nm ve 400 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.22).



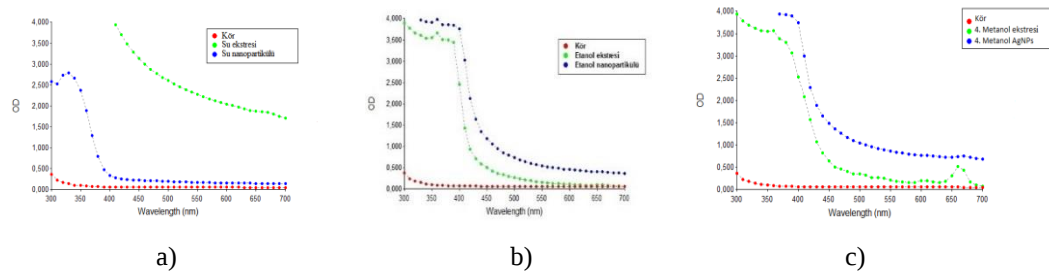
Şekil 3.22. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerinin absorpsiyon zonu.

Momordica charantia bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 500 nm, 460 nm ve 420 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.23).



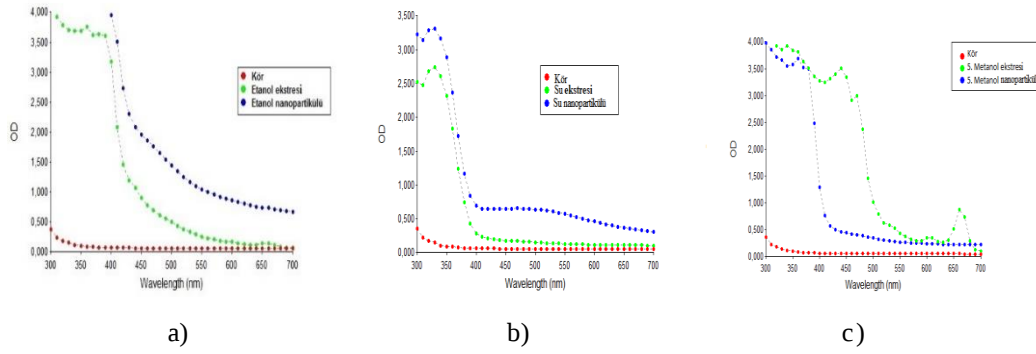
Şekil 3.23. *Momordica charantia* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu.

Pavetta corymbosa bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 390 nm, 340 nm ve 340 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.24).



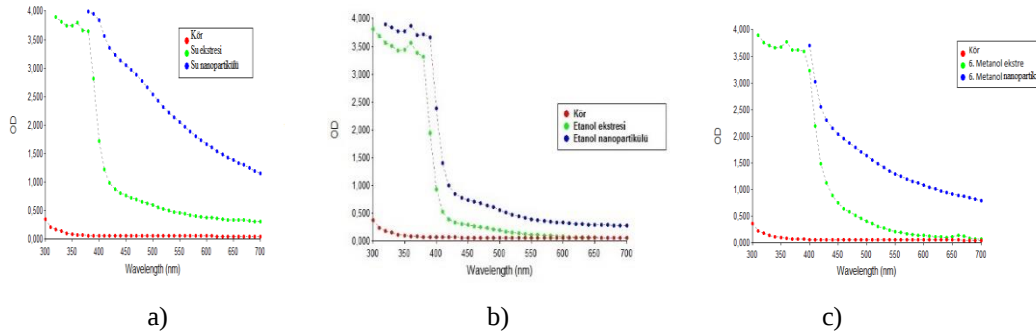
Şekil 3.24. *Pavetta corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu.

Psidium guajava bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 450 nm, 340 nm ve 380 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.25).



Şekil 3.25. *Psidium guajava* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu.

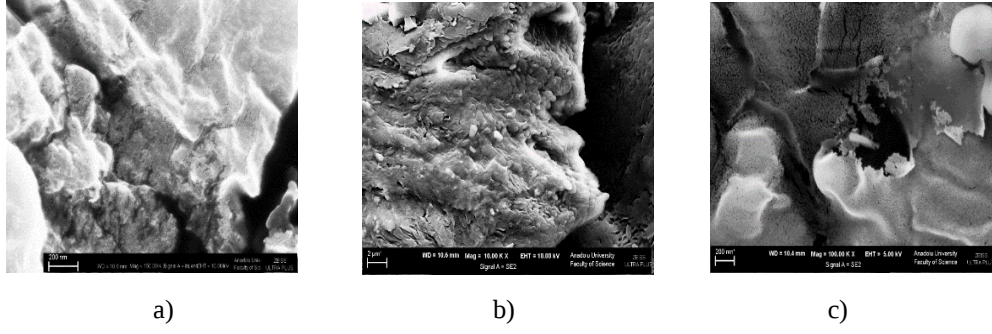
Dialium guineense bitkisinden elde edilen su, etanol ve metanol AgNP'ler sırasıyla yaklaşık 400 nm, 390 nm ve 440 nm'de UV-vis spektroskopisi analizi ile keskin bir plasmon rezonansı göstermiştir (Şekil 3.26).



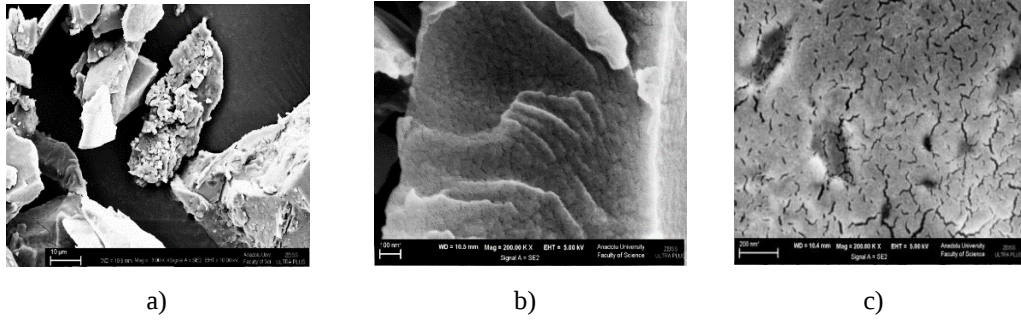
Şekil 3.26. *Dialium guineense* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon zonu.

3.2.12.2. SEM mikroskopik analizi

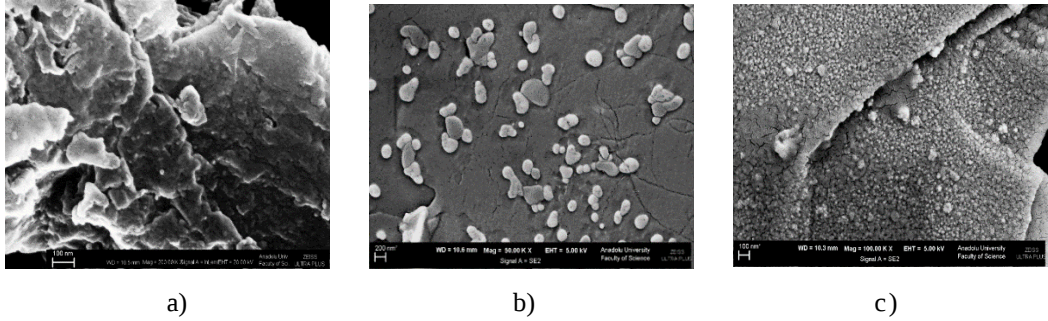
Hazırlanan ekstre-AgNP çözelti karışımlarından elde edilen peletlerin SEM ile görüntü analizi yapılmıştır (Şekil 3.27-3.32). Elde edilen nanopartiküllerin küresel oldukları belirlenmiştir.



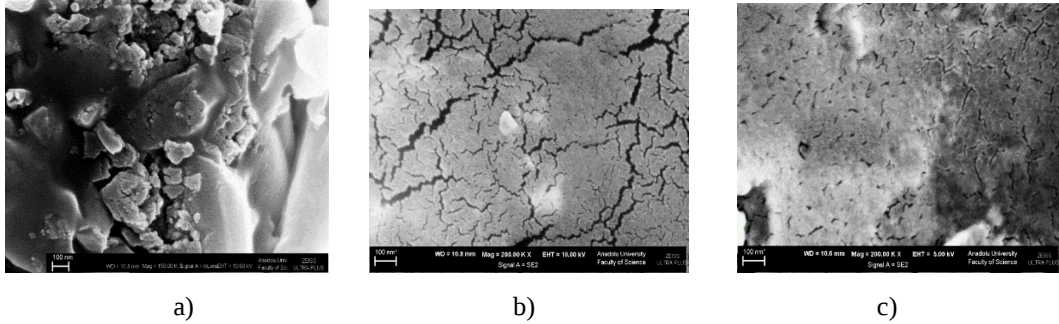
Şekil 3.27. *Moringa oleifera* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.



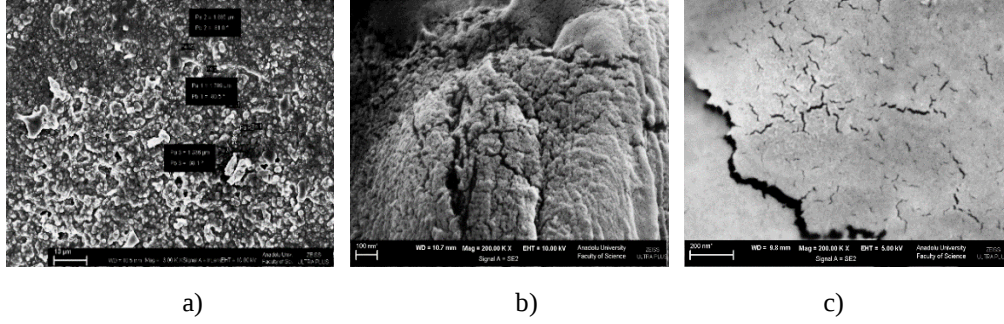
Şekil 3.28. *Caesalpinia corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.



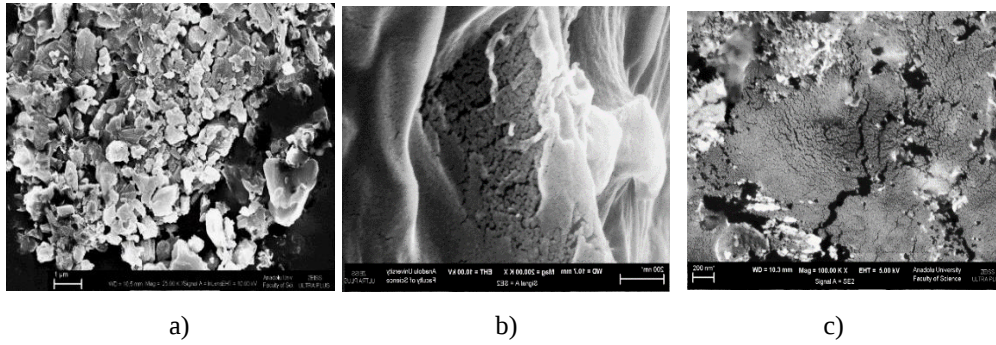
Şekil 3.29. *Momordica charantia* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.



Şekil 3.30. *Pavetta corymbosa* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.



Şekil 3.31. *Psidium guajava* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.

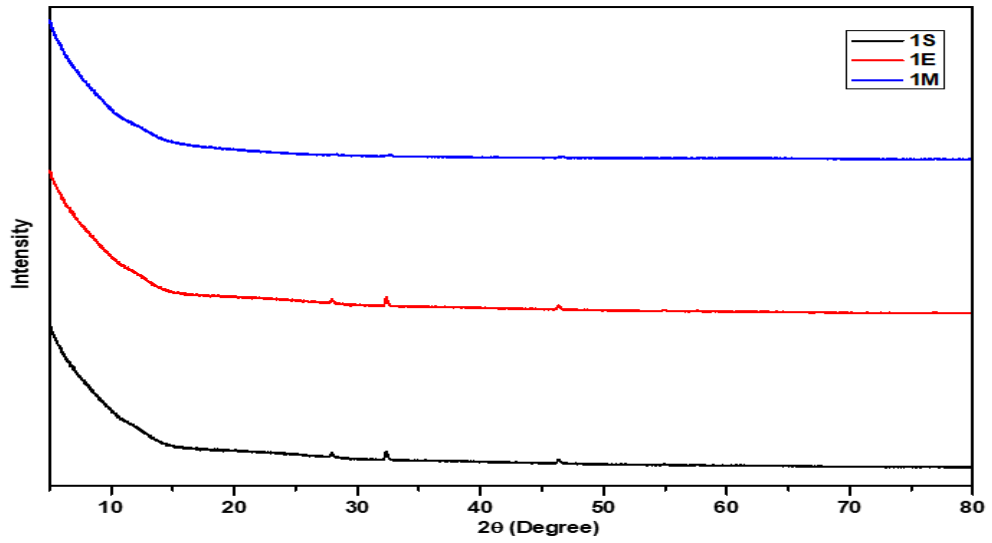


Şekil 3.32. *Dialium guineense* bitkisinin a) su, b) etanol ve c) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.

3.2.12.3. X-ışını kırınım (XRD) analizi

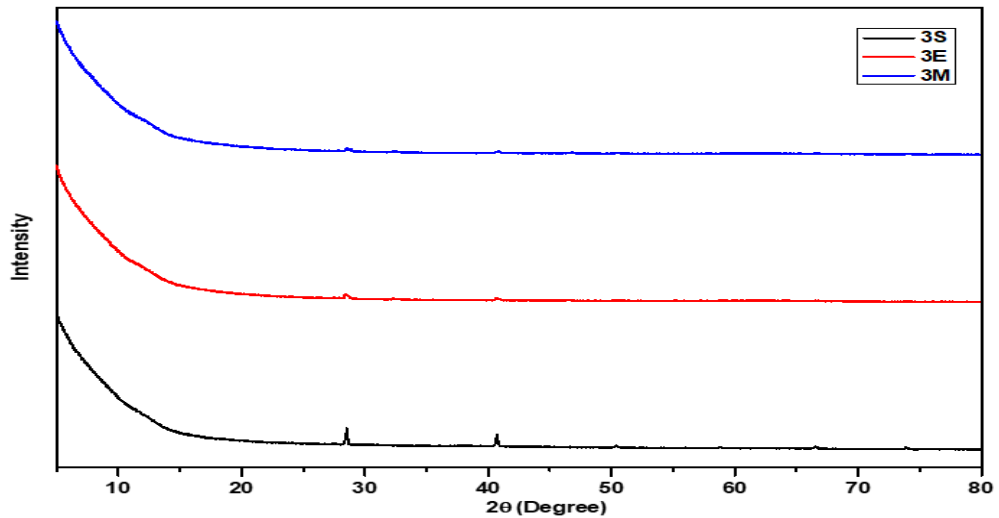
Bitki ekstrelerinden elde edilen nanopartiküllerin karakterizasyonu XRD analizleri ile de yapılmıştır (Şekil:3.33-3.38). XRD analizi verileri incelendiğinde, bitki özütü kullanılarak gümüş tuzunun indirgenmesiyle elde edilen AgNP'lerin doğada kristal yapıda olduğu gösterilmiştir. Genel olarak, gümüş iyonlarına ait karakteristik üç pik yaklaşık olarak 30° ve 60° arasında gözlenmiştir. Yapılan XRD analizlerinde gümüş iyonlarına ait pikler bu aralıklarda görülmüştür ve sentezlenen nanopartiküllerin gümüş nanopartikül olduğu sonucuna varılmıştır.

Moringa oleifera bitkisinden elde edilen çeşitli ekstrelerin (su, etanol ve metanol) nanopartiküllerinin XRD analizi yapılmıştır ve yaklaşık 34° , 47° ve 67° şiddetli pikler gözlenmiştir (Şekil 3.33).



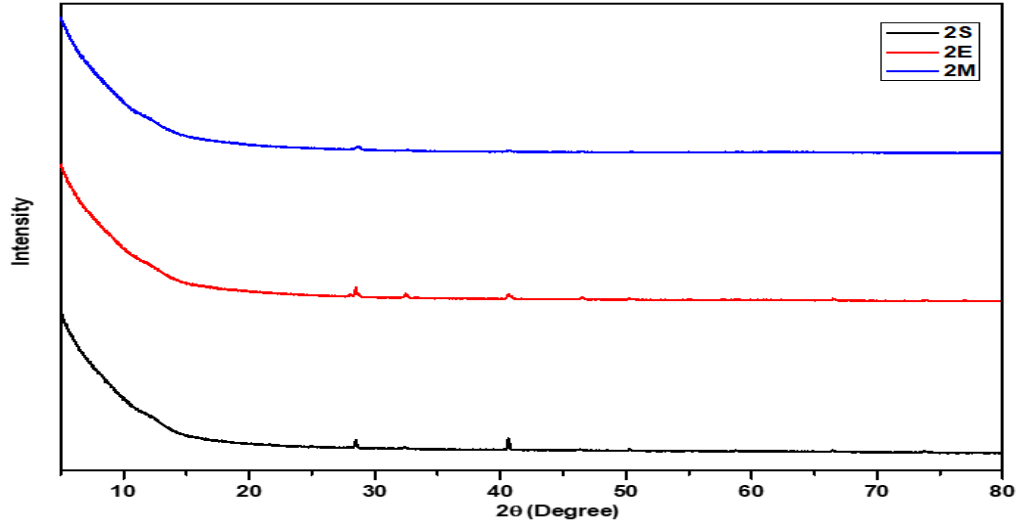
Şekil 3.33. *Moringa oleifera* bitkisinin 1S) su, 1E) etanol ve 1M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.

Şekil (3.34) 'da, *Caesalpinia bonduc* bitki ekstrelerinden sentezlenen su, etanol ve metanol Ag-NP'lerin XRD spektrumu gösterilmektedir. Tüm yansımalar yüz merkezli kübik simetriye sahip saf gümüş metale karşılık gelmektedir. Su-AgNP'leri için sırasıyla 33, 47, 68 ve 74°, etanol-AgNP'ler ise 33, 40, 43 et 67°, metanol-AgNP'ler ise 34, 44, et 68° ye karşılık gelen 2θ değerleri işaretlenmiştir. Piklerin şiddeti gümüş nanopartiküllerin yüksek kristallik derecesini yansıtmaktadır.



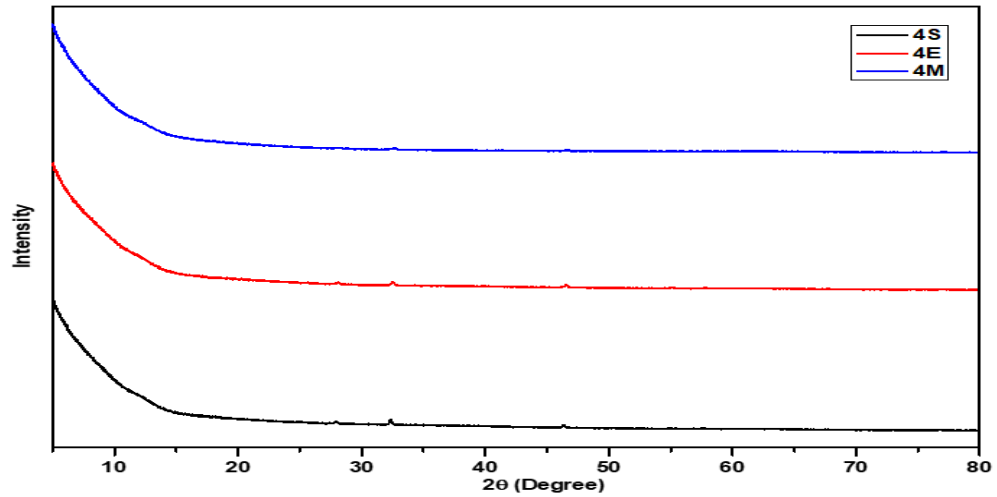
Şekil 3.34. *Caesalpinia bonduc* bitkisinin 2S) su, 2E) etanol ve 2M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.

Momordica charantia bitkilerinden sentezlenen su-AgNP'lerin (34, 42, 67 ve 74°), etanol-AgNP'lerin (34, 41, 68 ve 73°) ve metanol-AgNP ise sadece iki noktada pikleri (32, 40°) de dört kırınım tepesi, gözlenmiştir (Şekil 3.35).



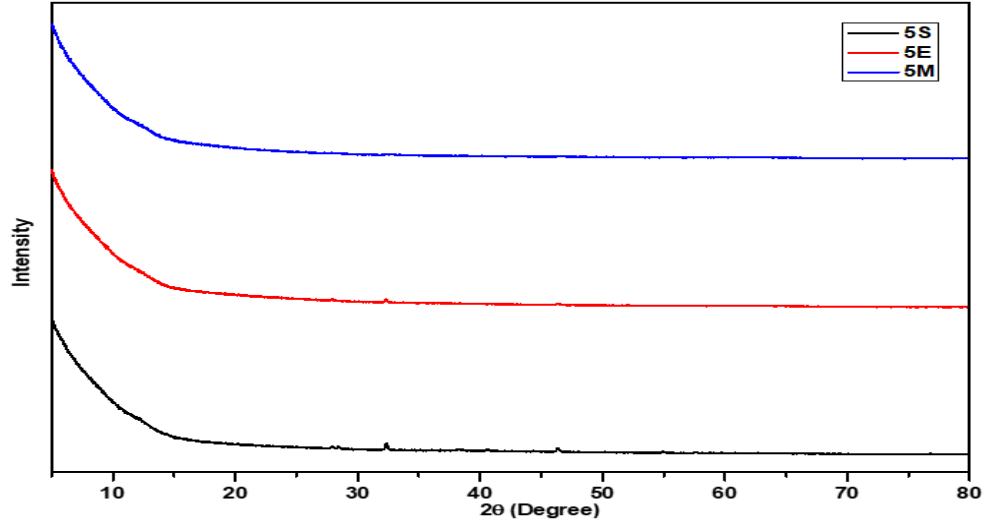
Şekil 3.35. *Momordica charantia* bitkisinin 3S) su, 3E) etanol ve 3M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.

Pavetta corymbosa bitkilerinden sentezlenen su-AgNP'lerin (32 ve 46), etanol-AgNP'lerin (32 ve 47°) ve metanol-AgNP (32 ve 41°)'de iki pik gözlenmiştir (Şekil 3.36).



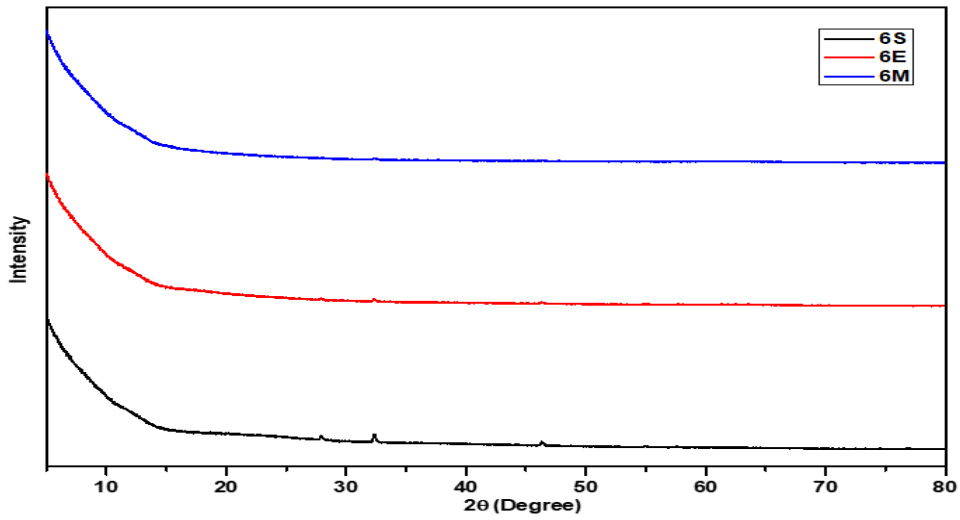
Şekil 3.36. *Pavetta corymbosa* bitkisinin 4S) su, 4E) etanol ve 4M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.

Psidium guajava bitkilerinden sentezlenen su-AgNP'lerin ve etanol-AgNP'lerin aynı noktada (32, ve 47°), da iki pik gözlenmiştir ve metanol-AgNP pikleri ise çok düşük şiddette gözlenmiştir (Şekil3.37).



Şekil 3.37. *Psidium guajava* bitkisinin 5S) su, 5E) etanol ve 5M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü

Momordica charantia bitkilerinden sentezlenen su-AgNP'lerin (33, 47 ve 58°), etanol-AgNP'lerin (33 ve 46°) 'da dört pik gözlenmiştir ancak sadece metanol-AgNP pikleri çok düşük şiddette gözlenmiştir (Şekil 3.38).

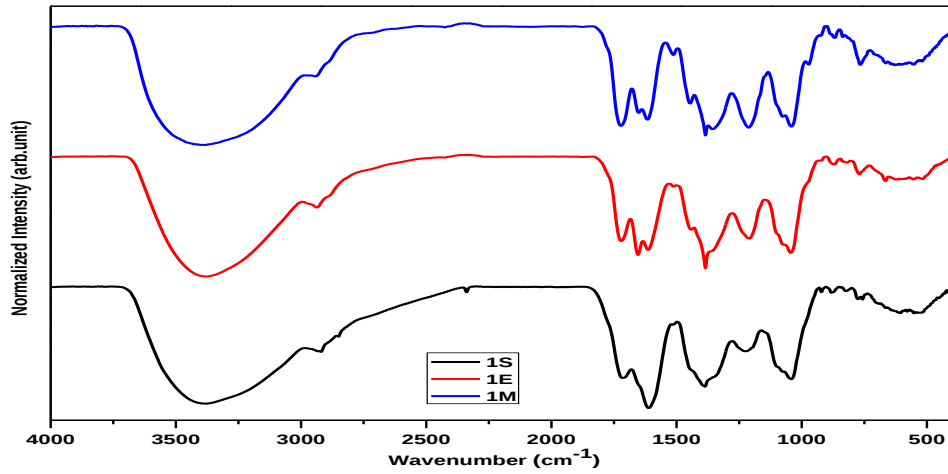


Şekil 3.38. *Dialium guineense* bitkisinin 6S) su, 6E) etanol ve 6M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin XRD görüntüsü.

3.2.12.4. Fourier transform infra red spektroskopi (FT-IR) analizi

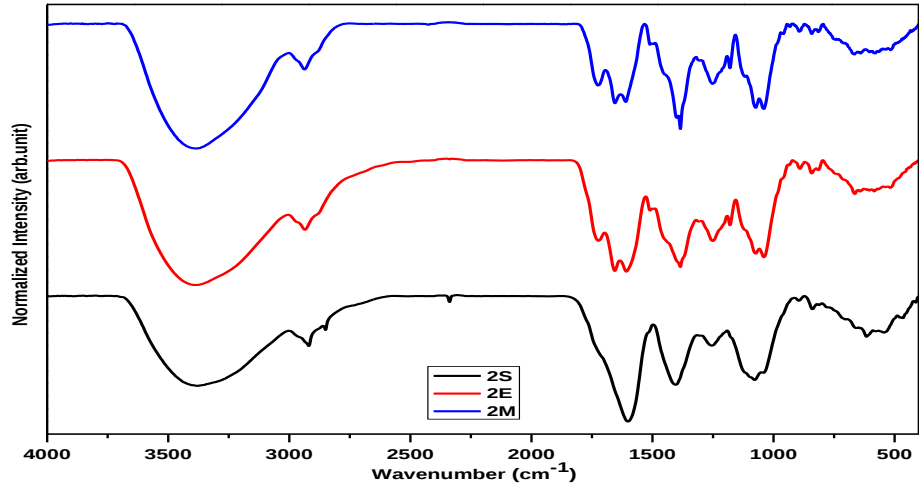
FTIR, Ag nanopartiküllerinin indirgenmesinden sorumlu fonksiyonel grupların belirlenmesi için hassas bir araçtır. Sentezlenen numuneler 60 °C de kurutulduktan sonra elde edilen AgNP ekstralarının FTIR spektrumları alınmıştır (Şekil 3.39-3.44).

Moringa oleifera bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrallerinden sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3383.28, 2920.41, 2850.45, 2338.51, 1717.42, 1611.83, 1386.13, 1221.88, 1041.58, ve 921,81 cm^{-1}), (3378.97, 2937.30, 1721.67, 1654.10, 1613.76, 1511.92, 1442.26, 1384.82, 1210.47, 1044.03, 869.28, 818.46 ve 665.36 cm^{-1}) ve (3400.34, 2426.63, 1722.72, 1651.36, 1616.45, 1512.75, 1446.07, 1384.61, 1356.97, 1212.40, 1076.36, 1041.45, 972.17, 867.79, 836.31 ve 766.71 cm^{-1})’de pik göstermiştir (Şekil 3.39).



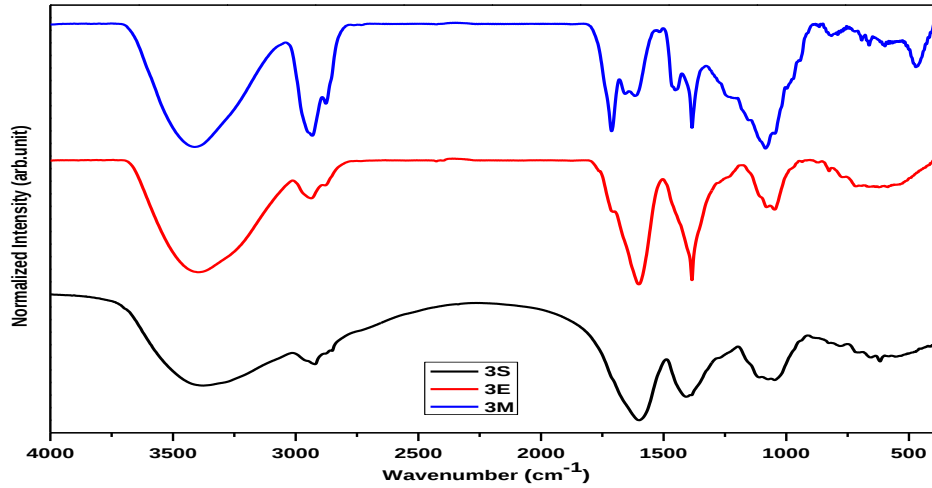
Şekil 3.39. *Moringa oleifera* bitkisinin 1S) su, 1E) etanol ve 1M) metanol ekstralleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

Caesalpinia bonduc bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrallerinden sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3360.01, 2918.98, 2850.32, 2338.06, 1602.41, 1404.80, 1249.65, 1076.87, 896.91, 840.49, 661.08, 615.22 ve 539.01 cm^{-1}), (3379.67, 2936.33, 160.07, 1512.71, 1400.98, 1255.89, 1179.51, 1124.42, 1076.84, 1041.51, 892.73, 842.52, 813.76, 664.43 ve 618.31 cm^{-1}) ve (3382.32, 2936.93, 2425.19, 1725.00, 1656.05, 1610.05, 1510.12, 1400.18, 1384.80, 1251.86, 1180.11, 1073.99, 1040.13, 959.25, 932.29, 894.17, 842.17, 815.10, 666.30, 639.92, 604.14, 579.24, 516.57 ve 430.22 cm^{-1})’de pik göstermiştir (Şekil 3.40).



Şekil 3.40. *Caesalpinia bonduca* bitkisinin 2S) su, 2E) etanol ve 2M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

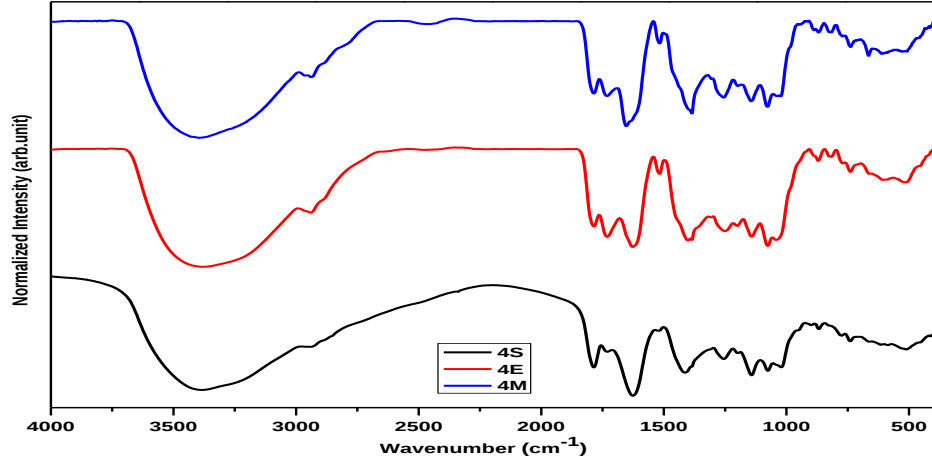
Momordica charantia bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrelerinden sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3376.48, 2920.68, 1599.20, 1408.58, 1047.70, 781.56, 652.88, 618.00 ve 556.25 cm^{-1}), (3398.98, 2936.88, 2426.50, 1601.09, 1384.71, 1080.75, 1047.57, 858.66, 825.44, 623.17 ve 586.41 cm^{-1}) ve (3411.43, 2932.45, 2876.84, 1712.00, 1657.13, 1657.31, 1517.51, 1452.53, 1384.22, 1084.22, 998.12, 865.93, 816.25 ve 790.15 cm^{-1})’de pik göstermiştir (Şekil 3.41).



Şekil 3.23. *Momordica charantia* bitkisinin 3S) su, 3E) etanol ve 4M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

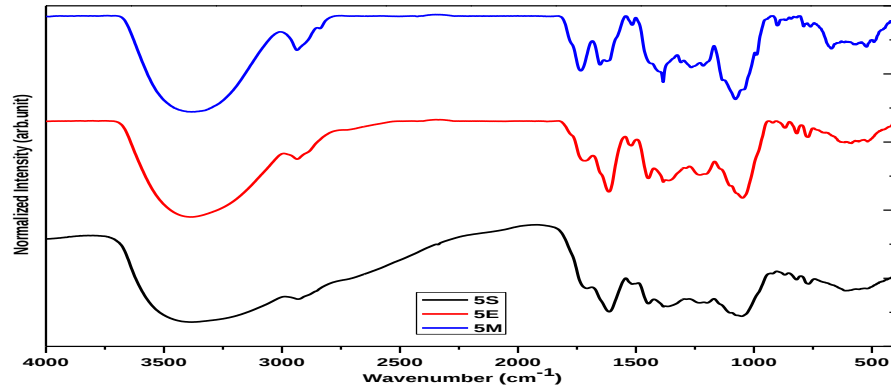
Pavetta corymbosa bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrelerinden sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3382.00, 1785.62, 1730.70, 1626.67, 1413.55, 1142.21, 1075.52, 1020.87, 900.49, 867.41, 774.30, 739.82 cm^{-1}), (3376.94, 1785.24, 1731.55, 1627.33, 117.14, 1401.98, 1385.56, 1142.03, 1076.29, 1042.10,

869.64, 816.88, 739.52 cm^{-1}) ve (3396.42, 1786.33, 1732.37, 1653.17, 185.74, 1198.07, 1144.18, 1077.27, 1023.07, 887.43, 868.94, 824.45, 737.89, 665.21 cm^{-1})’de pik göstermiştir (Şekil 3.42).



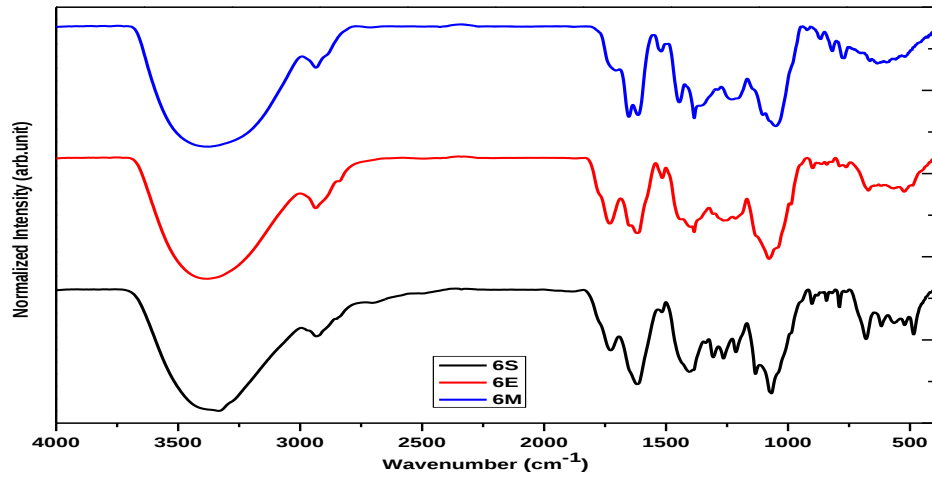
Şekil 3.24. *Pavetta corymbosa* bitkisinin 4S) su, 4E) etanol ve 4M) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

Psidium guajava bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarından sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3381.78, 1707.31, 1613.36, 115.46, 1447.16, 1383.77, 1198.68, 1051.50, 869.04, 819.39, 768.06 cm^{-1}), (3380.32, 2936.89, 1713.96, 1614.67, 1519.76, 1447.59, 1384.03, 1048.71, 920.24, 868.24, 818.38, 771.34, cm^{-1}) ve (3382.69, 2936.69, 2839.37, 1733.96, 1652.07, 1623.81, 1515.75, 1078.42, 988.68, 900.90, 864.94, 842.75, 818.08, 789.24, 760.04 cm^{-1})’de pik göstermiştir (Şekil 3.43).



Şekil 3.43. *Psidium guajava* bitkisinin 5S) su, 5E) etanol ve 6M) metanol ekstraktları ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

Dialium guineense bitkisinin su, etanol ve metanol ekstrelerinden sentezlenen nanopartiküllerin FTIR spektrumu sırasıyla (3334.35, 2934.10, 1727.24, 1618.86, 1517.38, 1404.74, 1133.44, 1067.83, 902.02, 842.20, 789.64, ve 680.49 cm^{-1}) (3385.70, 2936.16, 1731.30, 1617.62, 1515.49, 1078.08, 988.50, 898.94, 898.50, 863.48, 841.38, 788.78 cm^{-1}) ve (3375.20, 2936.68, 1705.88, 1652.47, 1614.63, 1520.26, 1445.79, 1103.04, 1050.15, 922.27, 866.68, 818.54, 770.46 cm^{-1}) 'de pik göstermiştir (Şekil 3.44).



Şekil 3.44. *Dialium guineense* bitkisinin 6S) su, 6E) etanol ve 6M) metanol ekstreleri ile oluşturulmuş gümüş nanopartiküllerin FTIR görüntüsü.

Bitki ekstresi-AgNPlerin FTIR spektrumları 4000-400 cm^{-1} dalga boyları arasında alınmıştır. Sentezlenen numunelere ait bantlar, aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir (Tablo 3.35-3.37). Bu çalışmada numunelerin FT-IR spektrumlarında yaklaşık olarak 3500 cm^{-1} civarında O-H esneme titreşimi, 2900 cm^{-1} civarında yağ asitlerine ait C-H esneme titreşimlerine ait olduğu düşünülen pikler gözlenmiştir. 1450 cm^{-1} civarında gözlenen pikin aminlere ait C-N esneme titreşimi, 1645-1750 cm^{-1} civarında gözlenen piklerin ise proteinlere ait C=O esneme titreşimleri olduğu düşünülmektedir. 1417 cm^{-1} de gözlenen pik C-O esneme titreşimine, 1384 cm^{-1} de gözlenen pik aromatik amin C-N esneme titreşimi, 1070 cm^{-1} civarında gözlenen pik ikincil alkole ait karakteristik C-OH esneme titreşimi olarak işaretlenmiştir. 1000 cm^{-1} in altında gözlenen piklerin de aromatik fenollere ait karakteristik C-H düzlem dışı bükülme titreşimleri olduğu düşünülmektedir.

Tablo 3.36. 1-*Moringa oleifera*, 2- *Caesalpinia bonduc*, 3- *Momordica charantia*, 4- *Pavetta corymbosa*, 5- *Psidium guajava*, 6- *Dialium guineense* bitkilerine ait su ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.

Frekans (cm ⁻¹)						Fonksiyonel Gruplar
<i>M.</i> <i>oleifera</i>	<i>C.</i> <i>bonduc</i>	<i>M.</i> <i>charantia</i>	<i>P.</i> <i>corymbosa</i>	<i>P.</i> <i>guajava</i>	<i>D.</i> <i>guineense</i>	
3383	3360	3376	3382	3381	3334	O–H esneme titreşimler
Yaklaşık 2900 civarında						C–H esneme
1717			1785 1730	1707	1727	Aldehit C=O esneme
1611	1602		1626	1613	1615	Amin N-H
1417		1599		1515	1517	C–O esneme Amin N-H
1450	1453	1452	1450	1450	1445	C–N esneme titreşimidir
1386				1383	1306	Alkol O-H/ Aromatik ester/amin C- O/ C-N esneme
			1142	1198	1133	Amin C-N
1041	1076	1047	1075	1051	1067	C–OH esneme
921			900		902	Alken C=C/ C-H
	896 840		867	869 819	842	Alken C=C/ C-H Aromatik C-H eğilme
		781	774		789	Alken C=C/ C-H Aromatik C-H fenoller

Tablo 3.37. 1-*Moringa oleifera*, 2- *Caesalpinia bonduc*, 3- *Momordica charantia*, 4- *Pavetta corymbosa*, 5- *Psidium guajava*, 6- *Dialium guineense* bitkilerine ait etanol ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.

Frekans (cm ⁻¹)						
<i>M.</i> <i>oleifera</i>	<i>C.</i> <i>bonduc</i>	<i>M.</i> <i>charantia</i>	<i>P.</i> <i>corymbosa</i>	<i>P.</i> <i>guajava</i>	<i>D.</i> <i>guineense</i>	Fonksiyonel Gruplar
3378	3379	3398	3376	3380	3385	Alkol O–H esneme titreşimi
Yaklaşık 2900 civarında						C–H esneme
1721			1785 1731	1713	1731	Aldehit C=O esneme
1654 1613	1602	1601	1627 1617	1614	1617	Alken/keton C=C C–O esneme Amin N-H
1511				1519	1515	Nitro N-O
1442	1400		1401	1447		C–N esneme titreşimi
1384		1384	1385	1384		Alkan/aldehit C-H eğilme
	1179 1124		1142			Tersiyer alkol / Eter / sekonder ve primer alkol C- O
1044	1076 1041	1080 1047	1076 1042	1048	1078	C–OH esneme
				920	988	Alken C=C/ C-H Aromatik C-H fenoller
869 818	892 842 813	858 825	869 816	868 818	898 863 841	Alken C=C/ C-H Aromatik C-H eğilme Aromatik C-H fenoller

Tablo 3.38. 1-*Moringa oleifera*, 2- *Caesalpinia bonduc*, 3- *Momordica charantia*, 4- *Pavetta corymbosa*, 5- *Psidium guajava*, 6- *Dialium guineense* bitkilerine ait metanol ekstresi-AgNP'lerin FTIR Fonksiyonel Grupları.

Frekans (cm ⁻¹)						Fonksiyonel Gruplar
<i>M.</i> <i>oleifera</i>	<i>C.</i> <i>bonduc</i>	<i>M.</i> <i>charantia</i>	<i>P.</i> <i>corymbosa</i>	<i>P.</i> <i>guajava</i>	<i>D.</i> <i>guineense</i>	
3400	3382	3411	3396	3382	3375	alkol O-H esneme
Yaklaşık 2900 civarında						C-H esneme
1722	1725	1712	1786 1732	1733	1705	Aldehit C=O esneme
1651 1616	1656 1610	1657	1653	1652 1623	1652 1614	Alken/keton C=C C-O esneme Amin N-H
1512	1510	1517	1585	1515	1520	Amin N-H/ Nitro N-O
1446	1400	1452			1445	C-N esneme titreşimi
	1180		1198 1144		1103	Tersiyer alkol / Eter / sekonder ve primer alkol C- O
1076 1041	1073 1040	1084	1077 1023	1078	1050	C-OH esneme
972	959 932	998		988 900	922	Aromatik C-H fenoller Alken C=C
867 836	894 842 815	816 865	887 868 824	864 842 818	866 818	Alken C=C/ C-H Aromatik C-H fenoller
766		790	737	789 760	770	Alken C=C Aromatik C-H fenoller

4. TARTIşMA VE SONUÇ

Yıllar boyunca bitkiler, hayvan ve insan sağlığını korumak için değerli bir doğal ürün kaynağı olarak kullanılmıştır. Bitkilerin, önleyici ve iyileştirici tedavilere sahip çok önemli çeşitli kimyasal maddeler içerdiği bildirilmiştir (Nascimento vd., 2000). Gelişmiş ülkelerde bireylerin yaklaşık % 80'i, şıfalı bitkilerden elde edilen bileşiklere sahip geleneksel ilaçları kullanmaktadır (Igbinsosa vd., 2009). İlaç keşfine yönelik çeşitli yaklaşımların varlığına rağmen, bitkiler hala doğal ilaçların ana rezervuarı olmaya devam etmektedir (Mahomed ve Ojewole, 2006). Antimikrobiyal özelliklere sahip bitkilere olan ilgi, antimikrobiyal direncin bir sonucu olarak yeniden canlandırılmıştır. Bu direnç, ticari ilaçların ayırım gözetilmeden kullanılmasına ya da talimatlara göre antibiyotik reçetesinin kullanılmamasına bağlanabilir (Aliero ve Afolayan, 2006). Ayrıca, bazı antibiyotikler, daha önce nadir görülen hastalıkların ortaya çıkmasına neden olan mide bulantısı, kemik iliği depresyonu, trombositopenik purpura ve agranülositoz gibi istenmeyen yan etkilere sahiptir (Marchese ve Shito, 2001). Bu gelişmeler, bilim adamlarının şıfalı bitkilerden yeni ve alternatif mikrobiyal bileşikler arayışına ivme kazandırmıştır (Aliero ve Afolayan, 2006). Ayrıca, özellikle sınırlı kaynağa sahip olan topluluklarda geleneksel ilaçların yüksek maliyeti, bulaşıcı hastalıkların tedavisi için alternatif olarak bitkilerin kullanımının artmasına yol açmıştır. Bitki özleri ve antimikrobiyal özelliklere sahip fitokimyasallar, terapötik tedavilerde büyük önem taşımaktadır. Antimikrobiyal özellikleri, bitkinin sekonder metabolitinde sentezlenen bileşiklerden kaynaklanır. Bitkisel ekstraktların ve bitki ürünlerinin antimikrobiyal aktivite açısından taranması, bitkilerin potansiyel olarak yeni antibiyotik protiplerini temsil ettiğini göstermiştir (Afolayan, 2003).

Mevcut antibiyotiklere dirençli olan patojenik bakterilerin neden olduğu hastalıkların nasıl tedavi edileceği dünyanın karşı karşıya olduğu büyük zorluklardandır. Mikroorganizmaların mevcut antibiyotiklere veya ilaçlara karşı direnci gün geçtikçe artmaktadır. Mikroorganizmalar arasında artan antibiyotik direnci nedeniyle, enfeksiyöz mikroorganizmaları engellemek için alternatif bir tedavi ihtiyacı duyulmaktadır. Patojen mikroorganizmalarla savaşmaya yönelik yeni bir yaklaşım, doğal tıbbi bitkiler kullanılarak özel olarak sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin kullanılmasıdır. şıfalı bitkilerin bulaşıcı hastalıklar da dahil olmak üzere birçok hastalığı tedavi için yüzyıllardır kullanıldığı bilinmektedir ve bu da bitki içinde bulunan fito-indirgeycilere bağlıdır. Gümüş nanopartikülleri sentezlemek için burada bulunan fito-indirgeyciler veya ikincil

metabolitler kullanılabilir. Tıbbi bitkilerin sulu ekstralarının kullanımı ile gümüş nanopartiküllerin sentezi basit, etkili, çevre dostu, ucuz, güvenlidir ve sofistike enstrümantasyon gerektirmez. Ek olarak yaprak, kök, gövde veya meyve gibi bitkinin herhangi bir kısmı gümüş nanopartiküllerin sentezi için kullanılabilir. Bitkilerin farklı ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi çeşitli inhibisyon derecelerinde bakteri ve maya büyümesini inhibe etmektedir. Çoğu durumda, antimikrobiyal aktivite çalışmalarında sonuçları birbiriyle karşılaştırmak ve uyumluluk elde etmek genellikle zordur. Antimikrobiyal aktivite çalışmasında tam bir normalleşme tanımlanmadığı ve manipülasyon tekniklerinin araştırmacılardan araştırmacılara değişebileceğinden, bunun en bilinen ve en önemli nedeni ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda, kullanılan bitki ekstraları aynı aile tipinden elde edilmekle birlikte, bu çeşitlilikler, bitkilerin toplanma tarihi, bitkilerinin içinde bulundukları farklı iklim koşulları ve coğrafi bölgelerden üretilmesi, bu bölgenin özelliklerine ve genotipiğe bağlı olabilmektedir.

Benin dâhil dünyanın her yerinde pek çok familyaya mensup bitki türlerinden elde edilen ekstraların çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitelerini kapsayan çok sayıda çalışma yapılmıştır (Aliyu vd. 2008, Karou vd. 2011, Koffi G vd. 2013, Sourabie vd. 2016, Yao Patrick H vd. 2017). Ancak Benin’de özellikle gümüş nanopartikül oluşturarak antimikrobiyal etkinliklerin araştırmasına yönelik çalışmalar çok nadir hatta yok denecek kadar azdır. Bunun için çalışmamızda, özellikle Benin’de ve Batı Afrika’da yaygın enfeksiyonlara karşı geleneksel olarak kullanılan altı farklı tıbbi bitkiden (*Moringa oleifera*, *Caesalpinia bonduc*, *Momordica charantia*, *Pavetta corymbosa*, *Psidium guajava* ve *Dialium guineense*) nanopartikül sentezleyerek antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kullanılan bitkiler Benin de dahil olmak üzere tropikal ülkelerde çok yaygındır.

Çalışmamızda kullanılan bitkiler Benin’de yerel marketlerden ve doğadan toplanarak temin edilmiş ve identifikasyonları Abomey Calavi Üniversitesi’nde (Benin) yapılmıştır. Kurutulan örnekler Türkiye’ye getirilerek bitki öğütme değirmeninde küçük parçalara ayrılmıştır. Daha sonra, sulu, etanolik ve metanolik olmak üzere ekstraları hazırlanmıştır. Bu farklı ekstralara gümüş nitrat eklenerek nanopartiküller sentezlenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki ekstraları gümüş nitrat ile muamele edildiğinde gümüş (Ag^+) iyonlarının gümüş nanopartiküllere (Ag-NP) indirgenmesi, renk değişimi ile takip edilebilmiştir. Bitki ekstresi içeren negatif kontrol olarak sarı renkliyen, gümüş nitrat ilavesi ile oluşan nanopartiküllerin koyu kahve, gri-siyah renk

oluşturması reaksiyonu desteklemiştir (Şekil 3.1-6). Çözeltilerdeki renk değişimleri, yüzey plazmon rezonans (SPR) fenomene bağlıdır (Al-kalifawi, 2016). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Ag-NP'lerin sentezlenmesi için potansiyel bitkilerin belirlenmesi açısından bir temel teşkil etmektedir.

Al-kalifazi tarafından (2016) yapılan bir çalışmada *Moringa oleifera* yapraklarına AgNO₃ ilavesinden ve 60 °C de 1 saat karıştırmadan sonra kırmızı kahverengi renk oluşumuyla gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir. Moteira vd., (2014), *Psidium guajava* yaprakları kullanarak nanopartikül sentezleme çalışmasında, *P.guajava* bitkilerinin sulu ekstraktının, 1 mM gümüş nitrat çözeltisine eklendiği anda renk dönüşümü başladığını bildirmişlerdir. *Momordica charantia* bitkileri ile yapılan bir çalışmada (Krithiga ve Briget, 2015), gümüş nitrat ve bitki ekstraktı farklı molar oranlarda (1: 1, 1: 2 ve 1: 3) kullanılmıştır. 10 ml, 20 ml ve 30 ml *M. charantia* ekstresine 10 ml (1 mM) AgNO₃ sulu çözeltisi ilave edilerek gümüş nanopartiküller hazırlanmıştır. Çözelti, oda sıcaklığında ve 90 dakika boyunca sabit bir şekilde karıştırılarak daha sonra 60°C'de ısıtılmış ve reaksiyon karışımının renk değişimi ile gümüş nanopartiküllerin oluşmuştur. Başka bir çalışmada, *Caesalpinia gilliesii* (Emam vd., 2017) bitki ekstresi ile nanopartiküller sentezlenmiştir. Oda sıcaklığında, çözeltinin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan karışım da el ile çalkalanmış ve karanlıkta bırakılmıştır. Ancak bu çalışmada kaç dakika işleme tuttuklarından bahsetmemişlerdir.

Bizim ön çalışmamızda ise, bitki ekstrelerine AgNO₃ ekledikten sonra 1 gün karanlık bir ortamda bırakılmış ancak renk değişimi gözlenememiştir. Bu nedenle, sonraki işlemlerde karışım 5 dakikalık bir süre ısıtıldıktan sonra renk değişimi ile reaksiyon oluşumu gözlenmiştir ve bütün deneylere bu şekilde devam edilmiştir.

Bu araştırmada, 6 farklı bitki türünden hazırlanmış su, etanol ve metanol ekstreleri ile bunlardan oluşturulan gümüş nanopartiküllerin hastane enfeksiyonu etmeni patojen bakteriler *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter aerogenes* ile *Candida* türlerine karşı önemli düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Çalışmamızda, *M. oleifera* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller *Klebsiella pneumoniae* dışında test edilen bütün bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3.8, Çizelge 3.1). Bütün ekstrelerle ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *S. aureus*

olup, en yüksek antimikrobiyal etki (24 mm) etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller ile elde edilmiştir. Aynı zamanda *M. oleifera* metanol ekstresi özellikle *E. aerogenes* suşuna karşı yüksek antimikrobiyal etki (22 mm) göstermiştir (Şekil 3.8b). Buna karşın etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller daha küçük çaplı inhibisyon zonu oluşturmuşlardır (Tablo 3.8).

Esam Al-kalifawi (2016) aynı bitkinin su ekstresi-AgNPlerinin *S. aureus* üzerinde 18 mm çaplı inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmektedir. Aynı çalışmada, su ekstresinin test bakterileri üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı ve bu ekstreler kullanarak elde edilen diğer AgNP'lerin Gram-negatif bakteri olan *K. pneumoniae* üzerine en çok etki gösterdiği gözlemlenirken, bu sonucun bizim çalışmamızla uyumlu olmadığı görülmüştür. Buna karşın diğer çalışmalarda (Anwar vd. 2007, Leone vd. 2015), *M. oleifera* etil alkol, metil alkol, kloroform, ve eter ekstrelerinin bakteriler üzerine etkili olduğu bildirilmiştir.

Emam vd., (2017) *Caesalpinia gilliesii*'den elde edilen hidroalkolik ekstrenin çeşitli oranlarda inhibisyon zonları oluşturduğunu göstermiş, ancak bu ekstrelerden sentezlenen AgNP'lerin denenen tüm bakterilere karşı daha fazla etkili olduğu ve en fazla *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonu oluşturduğunu belirlemiştir. Bizim çalışmamızda ise başka bir tür olan *Caesalpinia bonduc* yapraklarının su, etanol ve metanol ekstreleri ile gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testlerinde, metanol ekstresi *S. aureus* suşuna karşı 19 mm zon çapı oluşturmaya rağmen, bundan sentezlenen metanol ekstresi-AgNP'lerinin oluşturduğu inhibisyon zon çapı 17 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 3.9). Ekstre-AgNP bileşenleri, *E. coli* hariç, sadece ekstreyle oranla daha yüksek bir antimikrobiyal etki göstermiş olup, *E.coli*'yi inhibe edenler etanol-AgNP ve metanol ekstresi-AgNP olmuştur. *K.pneumoniae* su ekstresi-AgNP, *E. aerogenes* ise metanol ekstresi-AgNP'ler tarafından inhibe edilmiştir. *Caesalpinia bonduc* ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmadığından çalışmamız bu bitki ile yapılan ilk çalışmadır.

Krithiga ve Briget (2015), *M. charantia* bitkisinden elde ettiği su ekstresinin ve bundan sentezlediği gümüş nanopartiküllerin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *E. coli* üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırmış ve *Staphylococcus aureus* ile *Bacillus subtilis*'te *E. coli*'ye kıyasla daha büyük zon çapları gözlenmiştir. Aynı zamanda ekstre-AgNP'lerin bitki ekstrelerinden daha büyük inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise aynı bitkiden elde edilen su, etanol ve metanol ekstrelerinden sadece su ekstresi test edilen tüm bakterilerde inhibisyon zonu oluşturmuş, en yüksek

antimikrobiyal aktiviteyi 19 mm zon çapı ile *S. aureus* suşuna karşı göstermiştir (Tablo 3.10, Şekil 3.10a). Fakat *M. charantia* yapraklarından su ile elde edilen ekstrelerin gümüş nitrat muamelesiyle sentezlenen su ekstresi-AgNP'ler *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmazken, diğer bakteriler üzerinde daha küçük çaplı inhibisyon zonları oluşturmuştur. Etanol ekstresi-AgNP'lerin test edilen tüm bakterilere, metanol ekstresi-AgNP'lerin ise *K. pneumoniae* dışındaki bakterilere karşı antimikrobiyal etki oluşturduğu tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada (Ajitha, Kumar, ve Reddy, 2015), *M. charantia* su ekstresi-AgNP'leri genel olarak, gram pozitif bakterilere oranla gram negatif bakterilere (*P. aeruginosa*) karşı daha büyük inhibisyon zon çapına (7 mm) sahip olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise su ekstresi-AgNP'ler *P. aeruginosa* suşuna karşı 13 mm çaplı inhibisyon zonu oluşturmuştur. (Prod vd., 2014), aynı bitki su ekstresinin *K. pneumoniae* üzerinde 10 mm çaplı inhibisyon zonu oluşturduğu bildirmiş olup, bizim çalışmamızda *K. pneumoniae* suşuna karşı yaklaşık aynı oranda (11 mm) antibakteriyal aktivite belirlenmiştir ve her iki çalışma sonuçlarının uyumlu olduğu düşünülmektedir.

Pavetta corymbosa yapraklarının su ekstresi test edilen hiçbir bakteri üzerinde antimikrobiyal etki göstermezken, bundan sentezlenen su ekstresi-AgNP'ler *E. coli* ve *E. aerogenes* dışındaki bakterilere değişen oranda etkili olmuştur. Özellikle *P. aeruginosa* üzerinde oluşturduğu inhibisyon zon çapı standart antibiyotik olan kloramfenikole eşdeğer (15 mm) bulunmuştur (Tablo 3.10). Bu bitki ile ilgili bir çalışma bulunamamıştır. Kloramfenikol yani referans antibiyotik ile *P. aeruginosa* suşunu aynı oranda etkili olması bu çalışmanın önemli bulgularından biridir.

Psidium guajava bitkisi kullanarak gümüş nanopartikül elde edilmesi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Moteriya vd. (2014) *Psidium guajava* su ekstresini kullanarak su ekstresi-AgNP sentezlemiş ve bakterilerin üzerinde antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Bunun için 6 farklı referans antibiyotik hem tek hem de su ekstresi-AgNP'leri ile karıştırılarak patojen bakteriler üzerinde test edilmiştir. Sonuç olarak, antibiyotikler tek başına iken çoğu bakteriye karşı inhibisyon zonu oluşturamamış ancak antibiyotik-su ekstresi-AgNP kombinasyonu test edildiği zaman bakterilerin oldukça duyarlı oldukları belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, (Geetha, 2017) aynı bitkiden elde edilen su ekstresi-AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri 5 bakteri üzerinde (*E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Acinetobacter*) araştırılmış ve tüm bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu saptanmıştır. Bizim araştırmamızda ise, *Psidium guajava* bitkisinden hazırlanan su, etanol ve metanol ekstreleri *E. coli*, *K.*

pneumoniae ve *P. aeruginosa* üzerinde etkili değilken, etanol ekstresi *S. aureus*, *A. baumannii* ve *E. aerogenes* üzerinde yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3.11). Buna karşın bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiş olup, Geetha'nın sonuçlarıyla uyumludur. Bütün ekstrele ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *S. aureus* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (21 mm) etanol ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller ile elde edilmiştir (Tablo 3.11).

Dialium guineense ekstrelerinin bakterilere etkili olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (Ogu vd. 2013, Elizabeth vd. 2016) ve sonuçlarının bizim araştırmamızla uyumlu olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, *D. guineense* bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün bakteriler üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Ama aynı bitki ile ekstre-nanopartikül sentezine ilişkin literatürde bildiğimiz kadarıyla hiç bir çalışma yoktur. Araştırmamızda bütün ekstrele ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek bakteri *A. baumannii* olmuştur. En yüksek antimikrobiyal etki ise kloramfenikolden bile daha etkili olan metanol ekstresi ile elde edilmiştir ve inhibisyon zon çapı 16 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 3.12). Bu çalışmanın en önemli bulgusudur.

Bu çalışmada kullanılan *P. corymbosa* ve *D. guineense* bitki ekstrelerinin ve bunlardan sentezlenen nanopartiküllerin bazı bakteriler üzerinde test edilen referans antibiyotik ile eşit veya daha yüksek inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir ve bunlara benzer sonuçlara literatürde rastlanmamıştır.

AgNP'lerin antimikrobiyal mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Özellikle, yüksek bakterisidal özellik, Ag^+ bakterisidal ajan için rezervuar görevi gören AgNP'lerden salınan gümüş katyonlara bağlıdır. Gümüş katyonların bakterilerle etkileşmesi, protein denatürasyonuna, plazma zarının parçalanmasına, hücre içi ATP'nin tükenmesine ve son olarak hücre ölümüne neden olabilmektedir (Lin vd. 2000, Lock vd. 2006). AgNP'ler hücre yüzeyinde “çukur” yaratma kabiliyetine sahiptir ve hücre üzerinde NP'ler birirmektedir (Sondi vd. 2004). AgNP'ler tarafından serbest radikal oluşumu, hücrelerin öldüğü başka bir mekanizma olarak düşünülebilir (Kim vd. 2007). Ayrıca, bu AgNP'lerin birçok hayati enzimin tiyol gruplarıyla etkileştiği ve bunları inaktive ettiği öne sürülmüştür (Matsumura vd. 2003). Gümüşün, proteinler gibi hücrenin sülfür veya fosfor içeren biyomolekülleriyle reaksiyona girme eğilimi daha yüksektir, DNA, hücre lizisi ile sonuçlanan bağlanma için tercihli bölgelerdir (Ruparelia vd. 2008). İnce hücre

duvarıyla gram negatif *E. coli*, gram pozitif bakterilere kıyasladığında hücre duvarı hasarına daha duyarlı gibi görünse de, Hajipour vd., (2012) *E. coli* ye karşı daha az antibakteriyel aktivite belirlemiştir.

Çalışmamızda, tüm bitki ekstraları test edilen Gram + veya Gram- bakteriler üzerinde antibakteriyel etki göstermiş olup, bulgular diğer çalışmalarla uyumludur (Khalil, 2014, Rao vd. 2016, Bose ve Chatterjee. 2016, Dama vd. 2016). *S. aureus* hem bitki ekstresi hem de bu ekstralardan sentezlenen AgNP'lere yüksek oranda hassasiyet göstermiştir. Bu sonuç, AgNP'lerin gram-negatif bakterilere oranla Gram-pozitif bakteriler üzerinde daha aktif olduklarını gösteren çeşitli çalışmaları desteklemektedir (Nakkala vd. 2014, Rao vd. 2016, Mahadevi ve Chitra. 2017). Gram pozitif ve Gram-negatif bakterilerin membran yapılarının kalınlık ve moleküler bileşimlerindeki varyasyonlar, AgNP'lere karşı olan duyarlılıklarındaki farklılığı açıklamaktadır. Büyük ihtimalle bakterisidal aktivite, gömülü AgNP'ler ile etkileşimlerin bir sonucu olarak bakteriyel hücre çeperinin yapısındaki değişikliklere neden olarak membran geçirgenliğini artırması ve dolayısıyla bakterinin ölümüne yol açması ile gerçekleşmektedir (Dibrov, 2002).

Antifungal aktivite testleri *Candida* türleri; *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *C. crusei*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata* ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, *Moringa oleifera* bitkisinden hazırlanan ekstralar ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstralara ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya türü *C. zeylanoides* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (19 mm) metanol ekstresi-AgNP ile elde edilmiştir (Tablo 3.13).

Caesalpinia bonduc bitkisinden hazırlanan ekstralar ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. *C. bonduc* ekstralarına ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya türü *C. parapsilosis* olup, bu mayaya karşı en yüksek antimikrobiyal etki (14 mm) metanol ekstresi-AgNP'ler ile elde edilmiştir (Tablo 3.14). Buna karşın metanol ekstresi-AgNP'lerin en yüksek inhibisyon değeri 20 mm zon çapı ile *C. zeylanoides* üzerinde gözlenmiştir.

Momordica charantia bitkisinden hazırlanan ekstralar ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstralara ve bunların gümüş nanopartiküllerine

duyarlı tek maya türü *C. albicans* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (19 mm zon çapı) su ekstresi ile *C. krusei* üzerinde elde edilmiştir (Tablo 3.15).

Pavetta corymbosa bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrelelere (su ekstresi dışında) ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. albicans* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (17 mm) *C. glabrata* etanol ekstreler ile elde edilmiştir (Tablo 3.16).

Psidium guajava bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller sadece test edilen 3 maya üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 3.17). Su ekstresi test edilen hiçbir bakteri üzerinde antimikrobiyal etki göstermezken, metanol ekstresi-AgNP'lere duyarlı tek maya türü *C. parapsilosis*'tir.

Dialium guineense bitkisinden hazırlanan ekstreler ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküller test edilen bütün mayalar üzerinde değişen seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Bütün ekstrelelere ve bunların gümüş nanopartiküllerine duyarlı tek maya *C. zeylanoides* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (18 mm) *C. parapsilosis* üzerinde su ekstresinden sentezlenen gümüş nanopartiküller (su ekstresi-AgNP) ile elde edilmiştir (Tablo 3.18).

Literatür taramasında, antibakteriyal aktive çalışmaları kadar yaygın olmasalar da bazı bitkilerinin antifungal aktivitelerinin belirlenmiş olduğu görülmüştür. Bu bitkiler arasında *M. oleifera*, *M. charantia*, *C. gilliesii* yer almaktadır (Kendre ve Sanjivani, 2014, Ajitha vd., 2015, Emam vd., 2017). Bu çalışmalar çoğunlukla *Aspergillus* türleri ve *C. albicans* üzerinde yapılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Antifungal aktivitenin, fungal hücre çeperinin sülfhidril gruplarının deaktive edilmesinden ve bunun ardından çözünmeyen bileşiklerin oluşmasından ve devamında hücre lizisine yol açan, membrana bağlı enzimlerin ve lipidlerin parçalanmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür (Jaidev vd. 2010).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında en yüksek antimikrobiyal etkili ekstreler etanol ve metanol ekstreleri ile bunlardan sentezlenen AgNP ekstreleri olarak belirlenmiştir. Birçok araştırmacı da, bitkilerden elde edilen su ekstrelerinin metanol, etanol gibi çözücüler kullanılarak elde edilen ekstrelerle kıyaslandığında, daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmektedir (Faydaoğlu & Sürücüoğlu, 2013). Organik çözücüler kullanılarak elde edilen ekstrelerin daha yüksek antimikrobiyal aktiveye sahip

olması, aromatik veya doyurulmuş organik bileşikleri daha yüksek miktarlarda içermelerinden kaynaklanabilir . Aynı zamanda etanol ve metanol ekstraktlarının etki dereceleri arasında çok büyük farklılıkların olmadığı bulunmuştur.

Tıbbi bitkiler doğal ürünler olduklarından, terapötik amaçlar için tüketildiklerinde çok az veya hiç yan etkileri bulunmamaktadır. Ayrıca, sentetik ilaçlara çoklu-ilaç direnç özelliği gösteren birçok patojenle mücadelede etkilidirler. Bununla birlikte, tıbbi bitkilerin çok fazla tüketilmesi, sürekli tüketenler adına olumsuz tıbbi koşullara neden olabilmektedir, bu nedenle tıbbi bitkileri tüketirken ihtiyatlar ve uluslararası standartlar kullanılmalıdır. Toksik içerikli bitkilerin tüketilmesi, toksik türlerle bitkilerin istenmeyen şekilde ikame edilmesi, ilaçların kasıtlı olarak ilavesi, preparat hazırlama sırasında zehirli maddelerle çevresel kirlenme, ve bitkilerin sentetik ilaçlarla kombinasyonu ile olumsuz koşullar artış gösterebilir (Abas, 2001).

Literatürde gümüş nanoparçacık üzerine birçok araştırma yapılmış, ancak bu araştırmalar çoğu zaman antimikrobiyal aktivitelere ve nanopartiküllerin özelliklerine dayalı kalmıştır. MİK değerlerini belirleme ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, bitki ekstraktlarının ve bunlardan sentezlenen gümüş nanopartiküllerin mikroorganizmalar üzerindeki MİK değerleri de belirlenmiştir. Sentezlenen bazı gümüş nanopartiküllerin referans antibiyotiklere yakın hatta daha yüksek etkinlik değerine sahip oldukları belirlenmiştir (bkz. *Psidium guajava* ve *Pavetta corymbosa*). Hem antimikrobiyal aktivite hem de MİK sonuçları yönünden bu sonuçlar Emam vd.,'nin (2017) sonuçları ile uyumludur.

Gümüş nanopartiküllerin bitkilerin çeşitli kısımları kullanılarak örneğin; yaprak ekstresi (Kaviya vd., 2011, Kumar vd., 2014, Ramasamy, 2016) meyve ekstresi (Ghaffari-moghaddam ve Hadi-dabanlou, 2014) ve tohum ekstresi (Sadeghi, Rostami, ve Momeni, 2015) ile sentezlendiği bilinmektedir. Bu çalışmada ise, toplama kolaylığı açısından sadece yapraklar kullanılmıştır.

UV-vis spektroskopisi Ag NP'lerin yapısal karakterizasyonu için değerli bir araçtır. Kapama (capping) ajanları, nano partiküllerin aşırı çoğalmasını ve toplanmasını inhibe etmek ve sonuçta nano partiküllerin yapısal özelliklerini kesin bir şekilde kontrol etmek için kolloidal sentezde sıklıkla kullanılır. Metal nanopartiküllerinin optik absorpsiyon spektrumlarının, kapaklama maddesinden dolayı, artan parçacık büyüklüğü ile birlikte daha uzun dalga boylarına geçiş yapan yüzey plazmon rezonansları (SPR'ler) tarafından kontrol edildiği iyi bilinmektedir (Brause vd., 2002; Rao ve Trivedi, 2006). Ayrıca,

AgNP'lerin absorbansının esas olarak boyut ve şekle bağlı olduğu iyi bilinmektedir (Mock vd., 2002,). Genel olarak, nanopartikülün simetrisi arttıkça Yüzey Plazmon Rezonans (Surface Plasmon Resonance [SPR]) doruklarının sayısı azalır (Sosa ve ark., 2003). *M. oleifera*, *C. bonduc*, *M. charantia*, *P. corymbosa*, *P. guajava* ve *D. guineense* tarafından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (su-NP, etanol-NP, metanol-NP) UV-vis spektrumları *M. oleifera* için sırasıyla 500 ,430, 400, *C. bonduc* için sırasıyla 410, 405, 400, *M. charantia* için sırasıyla 500 ,460, 420, *P. corymbosa* için sırasıyla 340, 390, 390, *P. guajava* için sırasıyla 450, 340, 380 ve *D. guineense* için sırasıyla 400, 390, 440 nm'de zirve yapmıştır (Tablo 3.34). Kimyasal indirgeme ile hazırlanan gümüş nanopartiküllerin karakteristik pikleri ile yüzey plazmon titreşimleri birbirine benzerdir (Petit vd. 1996, Kong vd. 2006).

Hazırlanan ekstre-AgNP çözelti karışımlarından elde edilen peletlerin SEM ile görüntü analizlerinde (Şekil 3.29-3.34), agregat (yığın) oluşturdıkları ve nanopartiküllerin küresel oldukları belirlenmiştir. Bu agregasyon, yaprak ekstraktlarındaki sekonder metabolitlerden kaynaklanabilir (Ajitha vd., 2016).

Literatürde benzer sonuçlar *M. oleifera* (Al-kalifawi, 2016), *M. charantia* (Prod vd., 2014; Supraja vd., 2017) ve *P. guajava* (Moteriya, Padalia, ve Chanda, 2014), (Geetha, 2017) için de bildirilmiştir.

AgNP'lerin büyüklükleri yaklaşık olarak 1-2 µm ölçülmüştür. Benzer çalışmalarda nanopartiküllerin büyüklüğü ortalama 25-30 nm olarak ölçülmüştür (Sadeghi, Rostami, ve Momeni, 2015).

Numunelerin kristal yapıları X-ışını kırınımı yöntemi (XRD) ile incelenmiştir. (Şekil 3.35-3.40). Spektrumlarda, yaklaşık 38° de gözlenen keskin pik gümüş nanopartikül kristal yapısına aittir. Gümüş nanopartiküllerin uygulamaları boyutlarına ve şekline bağlıdır (Anilkumar vd. 2007). Yaprak ekstreleri tarafından üretilen gümüş nanopartiküllerin şekli ve büyüklüğü, diğer bitkiler kullanılarak üretilen gümüş nanopartiküllerin aralığına daha yakın olan yapıda ve çoğunlukla küreseldir (Ahmad vd., 2003, Anilkumar vd. 2007). Çalışmamızda karakteristik pikler 32-34° arasında işaretlenmiştir (Şekil 3.35-3.40). Bazı numunelerde bu karakteristik piklerin gözlenememesinin nedeninin kristallerin çok küçük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 3.38-3.39). Karakteristik XRD piklerin gözlenemediği numunelerin kristal yapı oluşturduğu diğer analiz yöntemleri ile doğrulanmıştır.

FTIR, metal partiküller ve biyomoleküller arasındaki fonksiyonel grupların katılımı anlamında önemli bir araç haline gelmiştir. Bu çalışmada, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin stabilize edilmesinden sorumlu olan olası biyomolekülleri tanımlamak için FTIR ölçümleri yapılmıştır. Proteinlerin, ya serbest amin grupları ya da proteinlerdeki sistein kalıntıları aracılığıyla gümüş nanopartiküllere bağlanabildiği bilinmektedir (Gole vd., 2001) ve yüzey bağlı proteinler sentez sırasında gümüş nanopartikülleri stabilize ederler. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrate (NADH) —'ye bağlı redüktazlar (Ahmad vd., 2003, Anilkumar vd. 2007) ve polisakkaritler (Sesuvium vd., 2010) sırasıyla nanopartiküllerin biyosentez ve stabilizasyonunda rol oynayan faktörler olarak bildirilmiştir. Tannik asitler gibi polifenoller, gümüş nanopartiküllerin sentezinde etkili indirgeyici ajan olan bitki türevli bileşiklerdir (Sivaraman vd. 2009; Sesuvium vd., 2010).

Önemli olan pikler amid I, II ve III'e karşılık gelip, aromatik halkalar, geminal metiller ve eter bağları yaygın olarak yaprak ekstrelerinde mevcuttur. Gözlenen pikler, flavanonların ve terpenoidlerin varlığını göstermektedir. Metal nanopartiküllerin yüzeyindeki adsorpsiyon, flavanonların ve terpenoidlerin bir özelliğidir (Shankar vd., 2004, Sesuvium vd. 2010), bu da muhtemelen yeterli konsantrasyonda başka güçlü ajanların yokluğunda karbonil gruplarıyla etkileşime girebilmektedir (Shankar vd., 2004, Sesuvium vd. 2010) . Ayrıca, terpenoidlerin, moleküllerdeki aldehit gruplarının karboksilik asitlere oksidasyonu ile metal iyonlarının azaltılmasında da rol oynayabilmeleri mümkündür (Shankar vd., 2004, Sesuvium vd. 2010). Amid I ve amid II bölgelerindeki piklerin varlığı, ya proteinlerin ya da enzimlerin karakteristikleridir ve bunlar metal nano partiküllerin sentezi ve stabilizasyonu için metal iyonlarının indirgenmesinden sorumludur. Benzer bir şekilde, *P. guajava* FT-IR spektrumunda 3722.74, 3599.29, 3315.74, 3009.05, 2305.01, 1844.01, 1491.02, 1311.64, 1039.67 ve 661.61 cm^{-1} kuvvetli pikler vermiştir (Moteriya vd , 2014). 3722.74, 3599.29 cm^{-1} 'deki yoğun bantlar, serbest alkollerin primer O-H gerilmesi olan karakteristik gruplardır. 3315.74 cm^{-1} tepe noktasının C-H: C=C (üçlü bağ) alkinlerin gerilmesine karşılık geldiği ortaya çıkmışlardır. 3009.05 cm^{-1} tepe noktası, C-H gerilme aromatik (terminal) grubuna karşılık gelmiştir. Aromatik aminler 1844.01'deki piklerdir. 1491.02 piki, aromatiklerin C-C'sinin (halkada) gerilmesine tahsis edilmiştir. 1311.64 cm^{-1} tepe noktası, N-O bileşiğinin simetrik gerilmesine karşılık gelmiştir. 1039.67 doruğu, alifatik aminlerin C-N'sinin gerilmesine bulunmuştur. 661.61 cm^{-1} tepesi, C-Br alkil halojenürlerin

gerilmesine karşılık gelmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızdaki FTIR ölçümü ile elde edilen sonuçlara tutarlıdır. FT-IR ölçümleri, indirgeme, ve stabilizasyonda yer alan gümüş parçacıkları üzerinde spesifik olarak bağlanan biyomolekülleri belirlemek için gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada numunelerin FT-IR spektrumlarında yaklaşık olarak 3500 cm^{-1} de O-H esneme titreşimidir. 2900 cm^{-1} civarında gözlenen pik yağ asitlerine ait C-H esneme titreşimidir (Philip vd., 2010). $1645\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen pikler proteinlere ait C=O esneme titreşimleridir. 1450 cm^{-1} civarında gözlenen pik aminlere ait C-N esneme titreşimidir (Zhao vd., 2004). 1417 cm^{-1} de gözlenen pik C-O esneme titreşimine, 1384 cm^{-1} de gözlenen pik aromatik amin C-N esneme titreşimine aittir. 1070 cm^{-1} civarında gözlenen pik ikincil alkole ait karakteristik C-OH esneme titreşimidir (Chang chien vd., 2007). 1000 cm^{-1} in altında gözlenen pikler aromatik fenollere ait karakteristik C-H düzlem dışı bükülme titreşimleridir (Ashokkumar vd., 2015). Bu sonuçlar, fenolik asit gibi bileşiklerin AgNP'lerin yüzeyinde adsorblanabileceğini dolayısıyla bu tür maddelerin yüzeyde tutulabileceği ve parçacık stabilizasyonunu sağlayacağını göstermektedir (Shankar vd., 2004; Singhal ve Bhavesh, 2011; Jeeva vd. 2014; Krithiga ve Briget, 2015).

Bu çalışmanın bir diğer amacı, farklı bitkilerden elde edilen uçucu yağların da antimikrobiyal etkisini ESKAPE bakterileri ve *Candida* türü mayalar ile hastaneden izole edilen 47 MRSA suşu üzerinde incelemektir. Fakat ne yazık ki, uçucu yağların eldesi sonrasında yağların verimi çok düşük olduğundan nanopartikül sentezi gerçekleştirme hedefine ulaşılamamıştır. Bununla birlikte, tüm bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ile bu bitkilerin su, etanol ve metanol ekstraktlarından sentezlenmiş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri kıyaslanmıştır. Çalışmamızda, elde edilen tüm uçucu yağlarda genelde ortalama 20-30 bileşik bulunmuştur ve bunların arasından 4 veya 5 tanesi yüksek oranlardadır. Toplamda da % 70-89 'sini temsil eden bu kimyasal sınıfta da, Beta-bisabolene (% 15,3), beta-bisabolol (% 13,6), ar-curcumene (% 8,9), beta-caryophyllene ve beta-sesquiphellandrene (% 5,6) hariç diğer tüm bileşikler % 5'in altında tanımlanmıştır. Moudachiron vd., (2016) Benin'deki dört tıbbi bitkiden (*Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* ve *Melaleuca quinquenervia*) elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal etkilerini incelemişler ve uçucu yağların veriminin çok düşük olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda yağ verimi çok düşük olup bunun

kısmen de olsa uçucu bileşiklerin kurutulması yada toz haline getirilmesi esnasında kaybolmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (T. Özek bireysel görüşme).

Bütün uçucu yağlara duyarlı tek bakteri *S. aureus* olup, en yüksek antimikrobiyal etki (20 mm) *Pavetta corymbosa* bitkisi ile elde edilmiştir. Buna karşın *E. coli* test edilen tüm uçucu yağlara dirençli bulunmuştur (Tablo 3.32). Uçucu yağların antimikrobiyal etkisi funguslar üzerinde ise test edilmiş ve *C. tropicalis* ile *C. krusei* dışında test edilen bütün mayaların değişen seviyede duyarlılıkları olduğu tespit edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki yine *Pavetta corymbosa* uçucu yağı ile *C. zeylanoides*, *C. parapsilosis* ve *C. albicans* üzerinde kaydedilmiştir (Tablo 3.32).

Son olarak *Dialium guineense* uçucu yağı ile bu bitkiden elde edilen su-AgNP, etanol-AgNP ve metanol-AgNP ekstreleri da toplam olarak 48 MRSA bakterileri üzerinde test edilmiştir. Uçucu yağların % 99 civarında MRSA' ların üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Uçucu yağlar etkili gibi olmasalar da su-AgNP dışında, etanol ve metanol-AgNP'leri de MRSA bakterileri üzerinde etkili olmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, altı farklı Benin bitkisinin yapraklarının su, etanol ve metanol ekstrelerinden sentezlenen gümüş nanopartiküller *P. corymbosa* ve *D. guineense* bitkilerinde ilk kez gerçekleştirilmiş olup, XRD, UV-vis spektroskopi, FT-IR ve SEM ile karakterize edilmiştir. SEM sonuçları, elde edilen nanopartiküllerin büyüklüğünün ve şeklinin, AgNP'lerin sentezi için kullanılan ekstre tiplerine kuvvetle bağlı olduğunu göstermiştir. FT-IR sonuçları fenolik asit gibi bileşiklerin AgNP' lerin yüzeyinde adsorblanabileceğini ve dolayısıyla parçacık stabilizasyonunun sağlanabileceğini göstermiştir. UV spektrumları da adsorpsiyon ile ilgili bilgi sağlamıştır ve FT-IR sonuçlarını desteklemiştir. XRD analiz sonuçları da AgNP' lerin kristal yapısı hakkında bilgi vermiştir.

Yapılan literatür çalışmaları sonunda bu çalışma, Benin tıbbi bitkilerinin gümüş nanopartiküllerinin biyosentezi ve karakterizasyonu üzerine, su, etanol ve metanol ekstreleri kullanılarak yapılan ilk çalışmadır. Yeşil kimya yaklaşımı ile sentezlenen bu AgNP'ler, Gram-pozitif, Gram-negatif bakterileri içeren ESKAPE bakterileri ve *Candida* türü mayalar üzerinde oldukça etkili antimikrobiyal aktivite göstermiştir ve alternatif antibiyotik kaynağı olma potansiyeline sahiptirler.

KAYNAKÇA

- Agbankpé, A. J., Dougnon, T. V, Bankole, H. S., Yèhouénou, B., Yedomonhan, H., and Dougnon, M. L. T. J. (2014). Etude ethnobotanique des légumes feuilles thérapeutiques utilisés dans le traitement des diarrhées au sud-Bénin (Afrique de l ' Ouest). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 1784–1795.
- Afolayan, A.J. (2003). Extracts from the shoots of *Arctotis artotoides* inhibit the growth of bacteria and fungi. *Pharm. Biol.*, 41: 22-25.
- Ahmad, A., Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, Kumar R, Sastry M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 28:313–8
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications : A green expertise. *Journal of Advanced Research*, 7(1), 17–28.
- Ajitha, B., Kumar, Y. A., & Reddy, P. S. (2015). Biology Biosynthesis of silver nanoparticles using *Momordica charantia* leaf broth: Evaluation of their innate antimicrobial and catalytic activities. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 146, 1–9.
- Ajitha, B., Kumar, Y. A., Rajesh, K. M., & Reddy, P. S. (2016). *Sesbania grandiflora* leaf extract assisted green synthesis of silver nanoparticles: Antimicrobial activity. *Materials Today: Proceedings*, 3(6), 1977–1984.
- Aliero A. A., Grierson, D.S., Afolayan, A.J., (2006). Antifungal activity of *Solanum pseudocapsium*. *Research Journal of Botany*, 1: 129-133.
- Aliyu, A. B., Musa, A. M., Abdullahi, M. S., Oyewale, A. O., & Gwarzo, U. S. (2008). Activity of Plant Extracts Used in Northern Nigerian Traditional Medicine Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa). *Nig. Journ. Pharm. Sci.*, 7(1), 1–8.
- Al-kalifawi, E. J. (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of Al-Rawag tree (*Moringa oleifera* Lamarck) Cultivated in Iraq and Efficacy the Antimicrobial activity ., 48, 39–48.

- Amarendra DD, K.G. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloid Surface A*, 369(3), 27-33.
- Anago E., Lagnika, L., Gbenou, J., Loko, F., Moudachirou, M. and Sanni, A. (2011). Antibacterial activity and phytochemical study of six medicinal plants used in Benin. *Pak J Biol Sci.*, 14(7), 449-55.
- Ankamwar B.D.C., Ahmad, A., Sastry, M. (2005). Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Emblics Officinalis Fruit extract and their Phase Transfer and Transmetallation in an Organic Solution. *J nanosci nanotechnol*, 5(10), 1665-1671.
- Anilkumar. S., Abyaneh, M.K., Gosavi, S.W., Kulkarni, S.K., Pasricha, R., Ahmad, A. and Khan, M.I. (2007). *Biotechnol. Lett.* 29, 439.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilan, A.H. (2007). *Moringa oleifera*: A Food plant with Multiple Medicinal uses. *Phytother. Res.* 21:17-25.
- Anonymous (1956). Wealth of India Delhi. Council of Scientific and Industrial Research Publications, p. 6-8.
- Arokiyaraj, S., Vincent, S., Saravanan, M., Oh, Y. K., and Kim, K. H. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using *Rheum palmatum* root extract and their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, 1401.
- Asan, M., Ozusaglam, and Karakoca, K. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of *Momordica charantia* from Turkey, *Full Length Research Paper*.
- Ashokkumar, S., Ravi V., Kathiravan, S., and Velmurugan, S. (2015). Synthesis of silver nanoparticles using *A. indicum* leaf extract and their antibacterial activity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 134, 34–39.
- Assogbadjo, A.E, Glèlè Kakaï, R., Adjallala F.H, Azihou, A.F, Vodouhê, G.F, Kyndt T, Codjia JTC. (2011). Ethnic differences in use value and use patterns of the threatened multipurpose scrambling shrub (*Caesalpinia bonduc* L.) in Benin. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 1549-1557.
- Baruwati B, Polshettiwar V, Varma RS. (2009). Glutathione promoted expeditious green synthesis of silver nanoparticles in water using microwaves. *Green Chem*;11:926–30.
- Beattie IR, Haverkamp RG. 2011. Silver and gold nanoparticles in plants: sites for the reduction to metal. *Metallomics* ;3:628–32

- Bero, J., Ganfen, H., Jonville, MC., Frederich M., Gbaguidi F, De MP. et al. (2009). In vitro antiparasitic activity of plants used in traditional medicine to treat malaria. *J Ethnopharmacol*, 122(3): 439 - 444.
- Beykaya, M., & Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak Gümüş -Nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma, an investigation on synthesis of silver-nanoparticles. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 16, 631–641.
- Bhainsa, K.C.1, D'Souza, S.F. (2006). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 47(2),160-4.
- Budrat, P., Shotipruk, A. (2009). Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica charantia*) by subcritical water extraction. *Purif. Technol.* 66: 125-129.
- Brause, R., Moeltgen, H., Kleinermanns, K., (2002). Characterization of laser ablated and chemically reduced silver colloids in aqueous solution by UV/vis spectroscopy and STM/SEM microscopy. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* 75, 711–716.
- Bose, D., & Chatterjee, S. (2016). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Nanoscience*, 6(6), 895–901.
- Castellano, J.J., Shafii, S.M., Ko, F., Donate, G., Wright, T.E., Mannari, R.J., Payne, W.G., Smith, D.J. et al. (2007) Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. *Int Wound J* 4, 14–22.
- Chakrabarti, S., Biswas, T.K., Seal, T., Rokeya, B., Ali, L., Azad Khan, A.K., Nahar N, Mosihuzzaman M, Mukherjee, B. (2005). Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* in chronic type 2 diabetic model in Long- Evans rats and evaluation of insulin secretagogue property of its fractions on isolated islets. *J. Ethnopharm.*, 97: 117-122.
- Chen, X. and Schluesener, H.J. (2008) Nano-silver: a nanoproduct in medical application. *Toxicol Lett* 176, 1–12.
- Chuang P, Lee C, Chou J, Murugan M, Shieh B, Chen H (2007). Antifungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresour. Technol.* 98: 232-236.

- Dakappa-Shruthi, S., Adhikari, R., Timilsina, S.S., Sajjekhan, S.S., (2013). A review on the medicinal plant *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). *J. Drug Deliv. Ther.* 3, 162–168.
- Dama, L. B., Mane, P. P., Pathan, A. V, Chandarki, M. S., Sonawane, S. R., Dama, S. B., & Chavan, S. R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Lawsonia inermis* and *Psidium guajava* and evaluation of their antibacterial activity, *6*(2), 89–95.
- Das, V. L., Thomas, R., Varghese, R. T., Soniya, E. V., Mathew, J., and Radhakrishnan, E. K. (2014). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. *3 Biotech*, *4*(2), 121–126.
- Datté, J.Y., Yapo, P.A., Kouame-Koffi, G.G., Kati-Coulibaly S, Amoikon KE, Offoumou AM. (2004). Leaf extract of *Caesalpinia bonduc* Roxb. (Caesalpiniaceae) induces an increase of contractile force in rat skeletal muscle in situ. *Phytomedicine* 11, 235-241.
- Dibrov, P., Dzioba, J., Gosink, K.K., Hase, C.C. (2002) Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag (+) in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob Agents Chemother* 46:2668–2670
- Duncan, T.V., (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *J Colloid Interface Sci*, 363(1), 1-24.
- Ebrahimabadi, A.H., Bidgoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F.J., Batooli, H., (2010). Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. *Food Control*, 21, 1173-1178
- El Batran, S., El-Gengaihi, S.E., El Shabrawya, O.A. (2006). Some toxicological studies of *Momordica charantia* L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharm*, 108: 236-242.
- Elizabeth, A., Tukur, M., and Racheal, M. (2016). Antimicrobial activity and phytochemical screening of the fruit pulp of *Dialium guineense* (Velvet Tamarind) on some microbial isolates.
- Elumalai, E.K, Hemachandran J, Vivivan, S., Thirumalai, T., David, E., (2010). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Euphorbia hirta* and their antibacterial activities. *J Phram Sci*, 2(9), 549-554.
- Emam, M., Raey, M. A., El Eisa, W. H., Haddad, A. E. E., Osman, S. M., El-ansari, M. A., and Rabie, A. M. (2017). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from

- Caesalpinia gilliesii* (Hook) leaves : antimicrobial activity and in vitro cytotoxic effect against BJ-1 and MCF-7 cells, 7(08), 226–233.
- Ewedje E.,B.,K. Tandjiekpon A. (2011) Velvet tamarind (*Dialium guineense*). Bioversity International, Rome, , SAFORGEN;05.
- Fachinan, R., Yessoufou, A., Nekoua, M. P., & Moutairou, K. (2017). Effectiveness of Antihyperglycemic Effect of *Momordica charantia*: Implication of T-Cell Cytokines. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- Fahey, J.W. (2005). *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic and prophylactic properties. Part 1. *Trees for Life journal* 1: 5-15.
- Gagnon, M. (2007). Rôle des probiotiques lors d'infections entériques d'origine bactérienne et virale : analyses in vitro et études in vivo chez des modèles murins. *PhD thèse, Université Laval, Québec*, 170.
- Gan, P. P., Li, S. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Rev Environ Sci Biotechnol*;11: 169–206.
- Garima Singhal , R.B., Kunal Kasariya , Ashish Ranjan Sharma , Rajendra Pal Singh, (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity. *J Nanopart Res*, 13: p. 2981-2988.
- Geetha, V. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles from *Psidium guajava* leaves and its antibacterial activity, 7, 5441–5443.
- Ghaffari-moghaddam, M., and Hadi-dabanlou, R. (2014). Journal of Industrial and Engineering Chemistry Plant mediated green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Crataegus douglasii* fruit extract. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(2), 739–744.
- Grover, J.K, Yadav, SP (2004). Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *J. Ethnopharmacol.* 93: 123-132.
- Gole, A., C. Dash, V. Ramakrishna, S.R. Sainkar, A.B. Mandal, M. Rao, M. Sastry, (2001) Pepsin–Gold Colloid Conjugates: Preparation, Characterization, and Enzymatic Activity *Langmuir*; 17 1674.
- Gupta, G.K., Chahal, J., Arora, D., (2011). *Psidium guajava* Linn: current research and future prospects. *J. Pharm. Res.* 4, 42–46.

- Gupta, K., Hazarika, S. N., Saikia, D., Namsa, N. D., & Mandal, M. (2014). One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. *Materials Letters*, 125, 67–70.
- Guidelli, E.J, Zaniquelli, R.M., D, Baffa O. (2011). Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Mol Biomol Spectrosc*, 82(1), 140-145.
- Gutiérrez, R.M.P., Mitchell, S., Solis, R.V., (2008). *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 117, 1–27.
- Health and Safety Executive (HSE), (2004). A review of the toxicity of particles that are intentionally produced for use in nanotechnology applications, seen from an occupational health perspective. p40.
- İginosa O. O., İgbinosa E. O., and Aliyegoro O. A. (2009). Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *jatropha curcas*. (Linn). *Academic journals*; 3 (2). 058-062.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem*;13:2638–50.
- Isita Cc,. (2013). Toxicological Assessment of Aqueous Extract of *Moringa Oleifera* and *Caulis Bambusae* Leaves in Rabbits. *Journal of Clinical Toxicology*.
- Ivan Sondi, and Branka Salopek-Sondi. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, *Journal of Colloid and Interface Science* 275 177–182
- Jaidev, L.R., Narasimha, G.,(2010). Fungal mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and antimicrobial activity, *Colloid Surf. B* 81 430–433.
- Jain S, Saraf S, Kharya MD, Renapurkar DM, Dixit VK. (1992). Antimalarial activity of *Caesalpinia crista nuts*. *Indian Journal of Natural Products* 8, 13.
- Jeeva, K., Thiyagarajan, M., Elangovan, V., Geetha, N. and Venkatachalam, P. (2014). *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens. *Industrial Crops and Products* 52: 714-720.
- Jethmalani M, Sabnis PB, Gaitonde BB. (1966). Anti-inflammatory activity of *Caesalpinia bonducella*. *The Indian Journal of Pharmacy* 28, 341.
- Kannur DM, Hukkeri VI, Akki KS. (2006). Adaptogenic activity of *Caesalpinia bonduc* seed extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 108, 327-331.

- Kapoor LD. (1990). *CRC Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants*. Boca Raton, Florida. 97-412.
- Karou, S. D., Tchacondo, T., Ouattara, L., Anani, K., Savadogo, A., Agbonon, A., Simpore, J. (2011). Antimicrobial, antiplasmodial, haemolytic and antioxidant activities of crude extracts from three selected Togolese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10), 808–813.
- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., & Srinivasan, K. (2011). Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(3), 594–598.
- Kerharo J, Adam J G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle, plantes médicinales et toxiques. *Paris*: Editions Vigot frères
- Kendre, P., ve Sanjivani, S. V. (2014). Synthesis of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* : formulation and evaluation against c.
- Khalil, Mostafa M, H ,Eman H., Ismail, K. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity, 1131–1139.
- Kharissova, O. V., Dias, H., Kharisov, B. I., Pérez, B. O. and Pérez, V. M. J. 2013. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology* 31(4): 240- 248.
- Kiliç, A. (2008). *Uçucu yağ elde etme yöntemleri*, 37–45.
- Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.H., Park, S.J., Lee, H.J. Jeong, D.H. and Cho, M.H. (2007) Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 3, 95–101.
- Kim, Y., Song, MY, Park, JD, Song, KS, Ryu, HR, Chung, YH, Chang, HK, Lee, JH, Oh, KH, Kelman, BJ, Hwang, IK, Yu, IJ, (2010). Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part. Fibre Toxicol.*, 7: p. 20.
- Klaus-Joerger T, Joerger R, Olsson E, Granqvist C. (2001). Bacteria as workers in the living factory: metal accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends Biotechnol*;19:15–20.
- Koffi Apeti Gbogbo, Amégninou Agban, Yawo Agbelessessi Woegan, Eyana Kpemissi Amana, Patrick Yao Hoekou, Komlan Batawila, Kossi Koumaglo, K. A. (2013). Evaluation de l'activité Antimicrobienne de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae)

- , *Psidium Amégningou Agban Yawo Agbelessessi Woegan Eyana Kpemissi Amana Komlan Batawila Kossi Koumaglo Koffi Akpagana*, 9(36), 411–421.
- Krithiga, J., & Briget Mary M. (2015). Pharmaceutica Synthesis of Agnps of *Momordica charantia* Leaf Extract , Characterization and Antimicrobial Activity, 6(10).
- Krishnaraj C, Jagan E, Rajasekar S, Selvakumar P, Kalaichelvan P, Mohan N. (2010). Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids Surf B Biointerfaces*; 76:50–6.
- Kudle, M. R., Kudle, K. R., Donda, M. R. and Pratap Rudra, M. P. (2013). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles formed using *Moringa oleifera* Lam gum. *Nanoscience and Nanotechnology*; 3(3): 45-48.
- Kuldeep, Hazarika, S. N., Saikia, D., Namsa, N. D., & Mandal, M. (2014). One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. *Materials Letters*, 125, 67–70.
- Kumar, V., Yadav, S. K. (2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J Chem Technol Biotechnol*;84:151–7.
- Kusturica, M., Tomas, A., & Sabo, A. (2015). Diposal of unused drugs: Knowledge and behaviour among people around the world. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 240, 77.
- Landsdown, A.B.G. (2002) Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care* 11, 125–138.
- Linskens, H. F., and Jackson., J.F. (1997b). Modern methods of plant analysis, Essential oils and waxes, Springer, Germany.
- Magudapathy P, Dhara S (2001). Electrical transport studies of Ag Nanoparticles in glassmatrix. 299, 142-146.
- Mahadevi, R. and Chitra, M.R. (2017). Green Biogenic Approach To Synthesis Of Silver Nanoparticles Using *Opuntia Ficus Indica* And Their Antibacterial Activity Against *European of Biomedical AND Pharmaceutical sciences*, 4(5), 549–552.
- Mahomed, I. M., Ojewole, J. A. (2006). Analgesic, antiinflammatory and antidiabetic properties of *Harpagophytum procumbens* DC (Pedaliaceae) secondary root aqueous extract. *Phytotherapie resarch.*, 18(12):982-9.
- Marchese, A. and G.C, Shito. (2001). Resistance patterns of lower respiratory tract pathogens in Europe. *Int. J. Antimicrob. Agent*, 16: 25-29.

- Matsumura, Y., Yoshikata, K. S. and Kunisaki, T. Tsuchido. (2003). Mode of bacterial action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate, *Appl. Environ. Microbiol.* 69 4278–4281.
- Mekonnen, Y., Yardley, V., Rock, P., Croft S. (1999). In vitro antitrypanosomal activity of *Moringa stenopetala* leaves and roots. *Phytother Res* 13: 538-539.
- M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A. Akbar Ashkarran, D.J. Aberasturi, I.R. Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak, M. Mahmoudi. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles, *Trends Biotechnol.* 30 499–511.
- Ministère de l'écologie et du développement (MED). (2006). *Nanotechnologies et Nanoparticules quels dangers quels risques*. p53.
- Mittal, A. K., Tripathy, D., Choudhary, A., Aili, P. K., Chatterjee, A., Singh, I. P., & Banerjee, U. C. (2015). Bio-synthesis of silver nanoparticles using *Potentilla fulgens* ex wall. hook and its therapeutic evaluation as anticancer and antimicrobial agent. *Materials Science and Engineering: C*, 53, 120–127.
- Mock, J.J., Barbic, M., Smith, D.R., Shultz, D.A., Shultz, S., (2002). Shape effect in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. *J. Chem. Phys.* 116,6755–6759.
- Mohammadlou, M., Maghsoudi, H. and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2016). A review on green silver nanoparticles based on plants : Synthesis , potential applications and eco-friendly approach, 23(2), 446–463.
- Moon, K., Khadabadi, S. S., Deokate, U. A., & Deore, S. L. (2010). *Caesalpinia bonducella F* - An Overview, 2(3).
- Moteriya, P., Padalia, H., & Chanda, S. (2014). Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Psidium guajava* L. leaf extract and antibacterial activity against some pathogenic microorganisms, 8(11), 1579–1585.
- Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A. and Ramirez, J.T. (2005) The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*; 16, 2346–2353.
- Nakkala, J. R., Mata, R., Gupta, A. K., and Sadras, S. R. (2014). European Journal of Medicinal Chemistry Biological activities of green silver nanoparticles synthesized with Acorous *Calamus rhizome* extract. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 85, 784–794.
- Natarajan K, S.S., Ramchandra M., (2010). Microbial production of silver nanoparticles. *Dig J Nanomat Bios.*, 5(1): 135-140.

- Nandkarni, A., K. 1976. *Indian Materia Medica*. Popular Prakashan, Bombay, p. 1.
- Nascimento, G.G.F., Juliana L., Paulo C.F., Giuliana L.S. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Braz. J. Microbiol.* 31: 247-256.
- Navaladian, S., Viswanathan, B., Viswanath, R.P, Varadarajan, T., K. (2007). Thermal decomposition as route for silver nanoparticles. *Nanoscale Res Lett* 2:44–48.
- Nelson, D., Oswaldo, L., A., Gabriel, I., H., D., Elisa, E. (2005). Mechanical aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, 3-8.
- Nwosu, M.O. (2000). Plant resources used by traditional woman as herbal cosmetics in south west Nigeria. *Arzte fur natur Fahr*, 41:111.
- Ogu, G. I., Ezeadila, J., and Ehiobu, J. M. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of *Dialium guineense* (Willd) leaf extract. *Pharmacy and Pharmacology Research*.
- Oluwaniyi, O. O., and Adegoke, H. I. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Thevetia peruviana* Juss and its antimicrobial activities. *Applied Nanoscience*, 6(6), 903–912.
- Orji JO, Alo MN, (2012). Anyim COEC: Antibacterial activities of crude leaf and bark extracts of ‘‘Icheku’’ *Dialium guineense* on bacterial isolates from bronchitis patients. *IOSR J Pharm Biol Sci*; 1, 21–25
- Palada, M.C. (1996). *Moringa oleifera*: A versatile true crop with horticultural potential in the subtropical United States. *Hortscience* 794-797.
- Park Y, Hong Y. N., Weyers A, Kim Y. S., Linhardt R. J. (2011). Polysaccharides and phytochemicals: anatural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. *IET Nanobiotechnol*;5:69–78.
- Petit. C., P. Lixon, M.P. Pileni, (1993). *J. Phys. Chem.* 97 12974.
- Philips R L, Miranda O R, You C C, Rotello V M and Bunz U H F, (2006). Rapid and efficient identification of bacteria using gold-nanoparticles-poly constructs, 2590-2594.
- Prabhu, S., and Poulose, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 32.
- Prasanna, B. M. (2007). Nanotechnology In Agriculture. ICAR National Fellow, Division Of Genetics, I.A.R.I., New Delhi-110012. *Publishing Associates*. 893-898.

- Prod, J. N., Resour, P., David, S. A., Ponvel, K. M., Fathima, M. A., Anita, S., Alwin, S. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Momordica charantia* leaf extract : Characterization and their antimicrobial activities, 4(6), 1–8.
- Rai, M. K., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012). Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 841–852.
- Ramasamy, K. A. J. V. V. (2016). Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Pedaliu murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*, 6(3), 399–408.
- Rao, C.R.K., Trivedi, D.C., (2006). Biphasic synthesis of fatty acids stabilized silver nanoparticles: role of experimental conditions on particle size. *Mater. Chem.Phys*; 99, 354–360.
- Rao, N. H., N., L., Pammi, S. V. N., Kollu, P., S., G. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using methanolic root extracts of *Diospyros paniculata* and their antimicrobial activities. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 553–557.
- Rastogi S, Shaw AK, Kulshreshtha DK. (1996). Characterisation of fatty acids of antifilarial triclyceride fraction from *Caesalpinia bonduc*. *Fitoterapia* 67, 63-64.
- Ravi, K., Divyashree, P., (2014). *Psidium guajava*: a review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. *Pharmacogn. Rev.* 8, 96.
- Sadeghi, B., Rostami, A., and Momeni, S. S. (2015). *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy* Facile green synthesis of silver nanoparticles using seed aqueous extract of *Pistacia atlantica* and its antibacterial activity, 134, 326–332.
- Sahni, G., & Pudake, R. N. (2014). Biosynthesis and Characterization of Silver Nano Particles Using Black Carrot Root Extract, 6: (17), 8–11.
- Saifuddin, N., Wong, C. and Yasumira, A. (2009). Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of bacteria with microwave irradiation. *Journal of Chemistry*; 6(1): 61-70.
- Salazar, D.M., Melgarejo, P., Martínez, R., Martínez, J.J., Hernández, F., Burguera, M., (2006). Phenological stages of the guava tree (*Psidium guajava* L.). *Sci. Hortic*; 108, 157–161.
- Sanda, K.A., Grema, H.A., Geidam, Y.A., Bukar-Kolo, Y.M., 2011. Pharmacological aspects of *Psidium guajava*: an update. *Inter. J. Pharmacol.* 7, 316–324.

- Sastry M, A.A., Islam NI, Kumar R. (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycetes. *Current Sc.*, 85: (2), 162-170.
- Sathyavathi R., M.B. Krishna, S.V. Rao, R. Saritha, D.N. Rao, (2010) *Adv. Sci. Lett.* 3 138 143.
- Sen, P., Ghosh, J., Abdullah, A. and Kumar, P. (2003). Preparation of Cu, Ag, Fe and Al nanoparticles by the exploding wire technique. *Journal of Chemical Sciences* 115(5-6): 499-508.
- Sesuvium, L., Nabikhan, A., Kandasamy, K., Raj, A., & Alikunhi, N. M. (2010). Biointerfaces Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 488–493.
- Shankar SS, Rai A, Ankamwar B, Singh A, Ahmad A, Sastry M (2004) Biological synthesis of triangular gold nanoprisms. *Nat Mater* 3:482–488.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles : Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145(1–2), 83–96.
- Simin K, Khaliq-Uz-Zaman SM, Ahmad VU. (2001). Antimicrobial activity of seed extracts and bondenolide from *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Phytotherapy Research*; 15, 437-440.
- Singhal, G., & Bhavesh, R. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity, 2981–2988.
- Sivaraman S.K., I. Elango, S. Kumar, V. Santhanam, (2009). *Curr. Sci.* 97 1055.
- Sreeram, K.J., Nidhin, M., Nair, B.U. (2008). Microwave assisted template synthesis of silver nanoparticles. *Bull Mater Sci*; 31:937–942
- Sondi I., B. And Salopek-Sondi. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, *J. Colloid Interface Sci.*; 275 177–182.
- Sourabie, T. S., Nikiema, J. B., Lega, I., and Guissou, O. G. N. I. P. (2016). Etude in vitro de l ' activité antibactérienne d ' extraits d ' une plante de la pharmacopée burkinabé : cas d ' *Argemone mexicana* L . (Papaveraceae).
- Supraja, N., Avinash, B., & Prasad, T. N. (2017). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from *Momordica charantia* Fruit Extract : Study of Antimicrobial Activities, 5: (1), 107–117.
- Taylor L (2002). Technical report for Bitter lemon (*Momordica charantia*), In: Herbal

- Secrets of the Rainforest, Sage Press, Austin, 2nd ed., 1-103.
- Vadivu, R., Krithika, A., Biphab, C., Dedeopya, P., Shoeb, and Lakshmi, K. S. (2008). Evaluation of haptoprotective activity of the fruits of *Coccina grandis* Linn. *International Journal of Health Research*.; 3, 163–168.
- Vasudevan, N.R. (1997). Indian Medicinal Plants: A compendium of 5000 species. Madras Orient Longman Ltd. 316-318.
- Vodouhê FG, Coulibaly O, Greene C, Sinsin B (2009). Estimating the Local Value of Non-Timber Forest Products to Pendjari Biosphere Reserve Dwellers in Benin. *Econ. Bot.*, 63: 3.
- V. Subramani, M. Kamaraj, B. R. and J. J. J. P. (2014). Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Caesalpinia bonduc* (linn) Roxb seeds. *Scholar science journals*; 4(3),92-95.
- Welihinda. J, Karunanayake. E. H., Sheriff. M. H. H. and Jayasinghe. K. S. A. (1986). Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 17, no. 3, 277–282,.
- Xie, J., Lee JY, Wang DIC, Ting, Y.P. (2007) Silver nanoplates: from biological to biomimetic synthesis. *Am Chem Soc Nano* 1:429–439.
- Yao Patrick H., Tchadjobo T., Apeti Koffi G., Amégninou A., Passimna P., Wouyo A., Simplice D., K., B. (2017). Activités antimicrobiennes de *Parquetina nigrescens* (Afzel) Bullock , une plante utilisée en médecine traditionnelle togolaise.
- Zamiri, R., Zakaria, A., Abbastabar, H., Darroudi, M., et al (2011). Laser-fabricated castor oil-capped silver nanoparticle. *Int J Nanomed* 6:565–568.
- Zhao S., Chen, S., Li, D., and Yang, X. (2004). *Math, Phys. E.* 23 92–96.