Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi
Afyon Kocatepe University – Journal of Science and Engineering
https://dergipark.org.tr/tr/pub/akufemubid

Araştırma Makalesi / Research Article
e-ISSN: 2149-3367
DOI: https://doi.org/10.35414/akufemubid.1537301
AKÜ FEMÜBİD **25** (2025) 061201 (1291-1300)
AKU J. Sci. Eng. **25** (2025) 061201 (1291-1300)

ZnO-NP'lerin *Thymbra spicata* L. Kullanılarak Fito-Fabrikasyonu; Antibakteriyel, Antibiyofilm ve Antikanser Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Makale Bilgisi / Article Info
Alındı/Received: 23.08.2024
Kabul/Accepted: 17.05.2025
Yayımlandı/Published: xx.xx.xxxx

Phyto-Fabrication of ZnO-NPs using *Thymbra spicata* L.; Evaluation of Antibacterial, Antibiofilm and Anticancer Properties

Yusuf CEYLAN[1*], Nesrin KORKMAZ[2], Fatma Nur KAÇAN[3], Ali AYDIN[4]

[1] *Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın, Türkiye*
[2] *Yozgat Bozok Üniversitesi, Kenevir Araştırmaları Enstitüsü, Temel Bilimler ve Sağlık Bölümü, Yozgat, Türkiye*
[3] *Yozgat Bozok Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İleri Malzemeler ve Nanoteknoloji Bölümü, Yozgat, Türkiye*
[4] *Yozgat Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Yozgat, Türkiye*

© 2025 The Authors | Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 (CC BY-NC) International License

Öz

Bu çalışmamızda *Thymbra spicata* L. bitkisi özütü kullanılarak ZnO-NP'ler yeşil sentez methodu ile sentezlenmiştir. *T. spicata* hem güzel kokusuyla hem de birçok olumlu etkisiyle bilinmektedir. Bu bitkinin içerdiği fitokimyasallar sentez de indirgeyici bir ajan olarak görev almış olup, hazırlanan ZnO-NP'lerin karakterizasyonu XRD analizleri, EDX ve STEM görüntüsü ile sağlanmıştır. Karakterizasyon sonucunda XRD analizinde ZnO-NP'lerine atfedilen 32,81°, 35,43°, 37,42°, 44,51°, 55,62°, 63,86°, 65,42°, 68,92°, 70,13°, 73,52°, 76,77° pikler gözlemlenmiştir. STEM görüntü analizlerinde ZnO-NP'leri genelde küresel şekillere sahip oldukları ve ortalama 38 nm olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca EDX analizi ile Zn %36,3, O %23,8 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada yeşil sentezle elde edilmiş olan ZnO-NP'lerin antibakteriyel, anti biyofilm ve antikanser gibi biyolojik aktiviteleri çalışılmıştır. ZnO-NP'lerin tüm bakteri suşlarına karşı antibakteriyel sonuç verdiği belirlenirken, *S. gordonii* NCTC 7870 suşuna karşı 16 µg/mL konsantrasyonda MİK değeri belirlenmiştir. Biyofilm inhibisyonu ile ilgili yapılan çalışma sonucunda *P. aeruginosa* AGME ATCC 27853 suşuna karşı 8,55 µg/mL gibi çok düşük bir konsantrasyonda anti biyofilm sonucu elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Nanoteknoloji; ZnO-NP; Yeşil sentez; Kekik; Antikanser; Antimikrobiyal.*

Abstract

Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) were synthesized through a green synthesis method using the extract of *Thymbra spicata* L. in this study. The *T. spicata* plant is well known for its pleasant aroma and numerous beneficial effects. The phytochemicals present in this plant act as reducing agents during the synthesis. The characterization of the synthesized ZnO-NPs was performed using XRD analysis, EDX, and STEM imaging. The XRD analysis revealed peaks at 32.81°, 35.43°, 37.42°, 44.51°, 55.62°, 63.86°, 65.42°, 68.92°, 70.13°, 73.52°, and 76.77°, which are attributed to ZnO-NPs. STEM image analysis showed that the ZnO-NPs were predominantly spherical in shape with an average size of 38 nm. Additionally, with EDX analysis, Zn changes to 36.3% and O changes to 23.8%. The biological activities of the ZnO-NPs synthesized through green synthesis, including antibacterial, antibiofilm, and anticancer properties, were investigated in this study. The ZnO-NPs exhibited antibacterial activity against all tested bacterial strains, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 16 µg/mL determined against *S. gordonii* NCTC 7870. Furthermore, antibiofilm activity was observed at a very low concentration of 8.55 µg/mL against P. aeruginosa AGME ATCC 27853.

Keywords: *Nanotechnology; ZnO-NP; Green synthesis; Thyme; Anticancer; Antimicrobial.*

1. Giriş

Nanoteknoloji, boyut olarak yaklaşık 1-100 nm arasındaki nanopartiküllerin yapısını, sentezini, sentez stratejisini, karakterizasyonu ve manipülasyonu ile ilgilenen ve birçok bilim alanı ile ilişki içerisinde olan önemli bir araştırma alanıdır. Bu boyut aralığındaki malzemeler, nanoteknoloji, mühendislik, biyoloji, fizik, kimya ve tıp disiplinlerinin ötesine geçen geniş çaplı araştırma alanlarını kaplayan yeni bir multidisipliner yaklaşım oluşturmuştur (Kaviya vd. 2011, Korbekandi vd. 2012). Nanopartiküller organik ve inorganik olarak iki sınıf altında incelenmektedir. Organik ve inorganik NP'lerin sentezi için farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır (Bruunsgaard 2005, Suresh vd. 2018). NP'lerin sentezi için önemli olan üç koşul bulunmaktadır. Bunlar; çevre dostu ve ekonomik bir çözücü, iyi bir indirgeyici madde (metal) ve stabilizasyon için zararsız nitelikte malzemelerin seçilmesidir. Metal oksit NP'lerin kullanımı, ileri derecede küçük boyut, yüksek yüzey alanı, yüksek hacim oranı, kuvvetli manyetik özellikler ve yüksek biyouyumluluk göstermesi gibi benzersiz özelliklere sahip olmalarından dolayı büyük ilgi odağı haline gelmiştir (Dagdeviren vd. 2013). Bu sebeple, NP'lerin üretimi konusunda ekonomik olarak uygulanabilirliği, çevresel olarak sürdürülebilirliği ve toplum tarafından tercih edilirliği hususlarına dikkat edilmektedir. Mevcut çeşitli metal oksit NP'lerden, ZnO-

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Yusuf Ceylan e-posta/e-mail: yceylan@bartin.edu.tr

NP'leri elektronik, sensör, kozmetik, çevre koruma, biyolojik ve tıbbi endüstrilerdeki çeşitli uygulamaları nedeniyle birçok araştırmada kullanılmıştır (Rasmussen vd. 2010). ZnO-NP'ler ile yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında, ZnO-NP'lerin düşük konsantrasyonlarda bile yüksek düzeyde antibakteriyel ve antikanser aktivite sergiledikleri gözlemlenmiştir (Dönmez 2020). ZnO-NP'lerin, düşük toksisite ve yüksek UV absorpsiyon özelliklerine sahip olması biyomedikal çalışma alanında da tercih edilmesini sağlamaktadır. ZnO-NP'ler çok yüksek foto katalitik aktiviteye sahiptirler. Yüksek yüzey/hacim oranları ve anti biyolojik aktiviteleri sayesinde gıda endüstrisinde de yaygınca kullanılmaktadırlar (Hasanuzzaman vd. 2023). Yeşil sentez yönteminde bitkilerde elde edilen özüt, indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır. Özellikle bitkilerin yeşil bölgelerindeki farklı fitokimyasalların bulunması, NP'lerin sentezinde bitkilerin yaygın olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Bitki özütü ile sentez, diğer sentez yollarına göre maliyeti düşük, çevre dostu, sürdürülebilir ve toksik madde içermeyen bir süreçtir (Alshamsi vd. 2018, Baran 2017, Gopala Krishna vd. 2016, Jadoun vd. 2021, Kiper 2007, Nagajyothi vd. 2013, Vanaja vd. 2013, Velsankar vd. 2020, Yavuz vd. 2021). *Thymbra spicata* L. başta Asya, Afrika ve Kuzey Amerika olmak üzere yaklaşık 150 türe sahiptir. Ülkemizde *T. spicata* bitkisi, başta Hatay olmak üzere, Gaziantep, Kilis ve ülkemizin Akdeniz iklim kuşağındaki illerde doğal yetişerek genelde baharat olarak kullanılmaktadır. Lamiaceae (Labiatae) familyasından olan *T. spicata* halk arasında, kalp çarpıntısını giderdiği, hazmı kolaylaştırıp, iştahı açtığı için kullanılmaktadır. Ayrıca yaraların iyileşmesinde ve yara bölgesinin tedavisinde antiseptik olarak kullanıldığı da bilinmektedir (Benli ve Yiğit 2005, Gopala Krishna vd. 2016). Ülkemizde bol miktarda bulunan ve şifalı bitki olarak bilinen bitkinin antimikrobiyal etkiye sahip olması nedeni ile insanlar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır (Erci vd. 2018).

Bu çalışmada kolay sentezlenebilen, yenilenebilir, sürdürülebilir, ekonomik, çevre dostu, toksik kimyasallar kullanılmayan ve patlama riski bulunmayan bir yöntem olan yeşil sentez yöntemi kullanılarak ZnO-NP'leri yüksek verimle sentezlendi. Günümüze kadar birçok farklı çalışmalarda çeşitli bitki özütleri kullanılarak ZnO-NP'lerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Literatürde *Thymbra* cinsinin *T. spicata* türü kullanılarak AgNP ve ZnO sentezi yapılmıştır (Erci 2018, Güneş 2021, Nartop 2019; Vidya vd. 2013). Çalışmamızda ZnO-NP'lerin sentezinde indirgeyici ajan olarak *T. spicata* bitkisinin içerdiği fitokimyasallar indirgeyici ajan olarak kullanılarak NP'lerin, sentezi, karakterizasyonu, antibakteriyel, antifungal, anti biyofilm ve antikanser özellikleri belirlenmiştir. *T. spicata* bitki içerisinde p-simen, γ-terpinen, α-pinen, α-phellandrene, α-terpinen, camphene, β-Pinene, 3-carene, Myrcene, Cymene, Limonene, mirsen, fi-karyofillen, D-limonene, caryophyllene, trans-Caryophyllene, terpinen-4-ol, Isoborneol, caryophyllene oxide, 1-Octen-3-ol, caryophyllene oxide, spathulenol, sabinene hydrate, thymol, carvacrol vb. bileşikler bulunmaktadır (Koçer, 2021). Bitki özütleri çıkartılırken kullanılan çözücünün türüne göre (su, etanol, metanol, hekzan vb.) farklı fitokimyasal içerikli özütler elde edilmektedir. Bu fitokimyasallar nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ajan olarak davranabilmektedirler. Fakat yeşil sentez yönteminde bitki özütü içerisinde hangi bileşiğin indirgeyici ajan olarak davrandığı bilinmemektedir. *T. spicata* bitkisinin ülkemizde bol miktarda bulunması, kolay tedarik edilebilir olması ve antimikrobiyal özelliğinin bilinmesinden dolayı çalışmamızda tercih edilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Thymbra spicata Bitkisinin Toplanması ve Özütün Hazırlanması

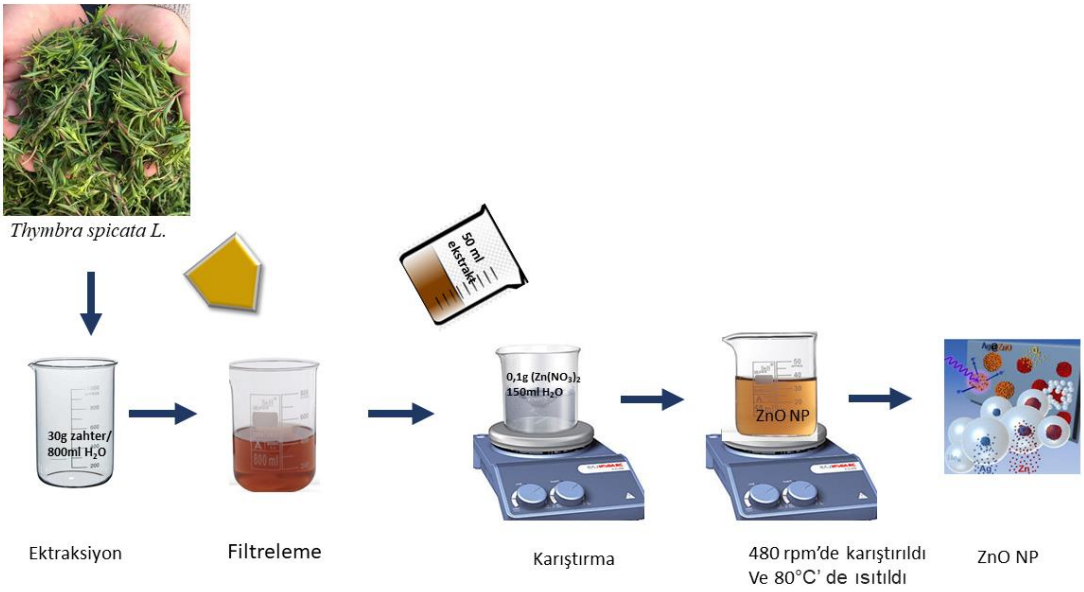
T. spicata bitkisi Kilis ilinin Resul Osman Dağı'ndan toplanmıştır. Toplanan bitki saf su ile yıkandıktan sonra kurutulmaya bırakılmıştır. Kuruyan bitki ufalanarak küçük parçacıklar haline getirilmiş ve 10 g bitki tartılarak üzerine 500 mL saf su ilave edilmiştir. Karışım 60℃'de on iki saat boyunca bekletilmiştir. Oluşan özüt süzülüp ve sentez reaksiyonunda kullanılmak üzere +4℃'de muhafaza edilmiştir (Korkmaz 2019, Şahin, 2021).

2.2 ZnO-NP'lerinin Sentezi

1 mM ve 50 mL çinko nitrat ($ZnNO_3)_2$ çözeltisi hazırlanmış ve 200 mL *T. spicata* bitkisi özütü ilave edilerek 80°C'de 6-7 saat arası 480 rpm hızla karıştırılmıştır (Şekil 1). Süre sonunda karışım renginin koyulaştığı gözlemlenmiştir. Çözelti dibinde gözle görülür partiküller meydana gelene kadar reaksiyon devam ettirilmiştir. Karışım iki defa 3800 rpm'de beşer dk olmak üzere santrifüj edilmiştir. Çözeltinin üst fazı dekante edilerek, dipte kalan çözelti yaklaşık olarak 70°C-110°C arası sıcaklıkta inkübe edilerek kurutulmuştur. Etüvde kurutulmuş olan çözelti ertesi günü 600°C kül fırında yaklaşık 4 saat kalsine edilmiştir (Agarwal vd. 2017, Khatami vd. 2018, Mandal 2016, Meulenkamp 1998). Elde ettiğimiz NP'ler hem karakterizasyon hem de biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere ependorf tüplere alınmştır.

2.3 ZnO-NP'lerin Karekterizasyonu

ZnO-NP'lerin morfolojisi ve partikül büyüklüğünü belirlemek için STEM ve EDX (Tescan Maıa3 XMU) kullanılmış, kristalografik yapı ve elementel bileşim ise XRD analizi (Brand namePanalytical, Model-Empyrean Advance, made in Netherlands) ile hesaplanmıştır.



Şekil 1. ZnO-NP sentezinin şematik olarak gösterimi.

2.4 Biyolojik Çalışmalar

2.4.1 Antikanser Özelliğinin Belirlenmesi

Kanser Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

Hücre hatları, %10 Fetal Sığır Serumu (FBS) ve %2 Penisilin-Streptomisin (PenStrep) içeren DMEM veya RPMI1640 besi ortamında, %5 CO_2 ve 37°C koşullarında inkübe edilmiştir. Hücreler, her bir kuyuya 10.000 hücre ekilerek 16 saatlik ön inkübasyonun ardından test molekülleri eklenmiş ve 24 saat sonra ölçümler yapılmıştır.

Hücre Çoğalması ve NCI-60 Hayatta Kalma Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin (ZnO-NP'ler) hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerini ve NCI-60 yaşam parametre değerlerini belirlemek amacıyla MTT [3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid] testi uygulanmıştır. ZnO-NP, Beas2B (normal akciğer hücresi), FL (normal epitel hücreler), HC (normal insan kondrosit hücresi) A549 (insan akciğer karsinoması), Calu-1 (insan akciğer epidermadoid karsinoması), MG-63 ve Saos2 (insan kemiği osteosarkom hücre hatları), SW1353 (insan kemik kondrosarkom hücre hattı) hücre hatları 24 saat inkübe edildikten sonra bu test protokolü uygulanmıştır.

Sonuçlar, % hücre inhibisyonu olarak raporlanmış ve DMSO ile muamele edilen hücrelerin optik yoğunluğu %100 kabul edilmiştir. İnhibisyon oranı, "[1-(A test maddesi / A çözücü kontrol) × 100" formülü ile hesaplanmış, test maddelerinin IC_{50} değerleri artan konsantrasyonlarla (1,96, 3,91, 7,81, 15,63, 31,25, 62,5 ve 125 µg/mL) MTT yöntemiyle ölçülmüştür. Kontrol olarak 5-florourasil (5FU) kullanılmış ve NCI-60 yaşam parametreleri (GI_{50}, TGI, LC_{50}) belirlenmiştir.

Hücre proliferasyonu:

GI_{50}: Hücre büyümesini %50 oranında azaltan konsantrasyon ([(Ti-Tz)/(C-Tz)]x100 = 50),

TGI: Hücre büyümesini %100 oranında durduran konsantrasyon (Ti = Tz),

LC_{50}: Ortamdaki hücrelerin %50'sini öldüren konsantrasyon ([(Ti-Tz)/Tz]x100 = -50).

(Tz; sıfır noktası, C; kontrol büyümesi, Ti; test maddesinin neden olduğu inhibisyon).

[(Ti-Tz)/(C-Tz)]x100, eğer Ti ≥ Tz (sitostatik etki) ya da [(Ti-Tz)/Tz]x100, eğer Ti < Tz (sitotoksik ya da sitosidal etki)

2.4.1 Antikanser Özelliğinin Belirlenmesi

Sentezlenen ZnO-NP'lerin antibakteriyel (*Enterococcus faecalis* VRE ATCC 19433, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* MSSA ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 46300, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* AGME ATCC 27853, *Streptococcus gordonii* NCTC 7870) ve antifungal (*Candida albicans* ATCC 10231) özelliğinin belirlenmesi minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) testi yapılmıştır. On iki saatlik bakteri suşları Mueller-Hinton sıvı kültürleri kullanılarak 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Sabouraud dekstroz agardaki 24 saatlik *C. albicans* suşu RPMI-%2 glikoz besi yeri kullanılarak $1,5x10^6$ hücre/mL'lik nihai bir konsantrasyona tripan

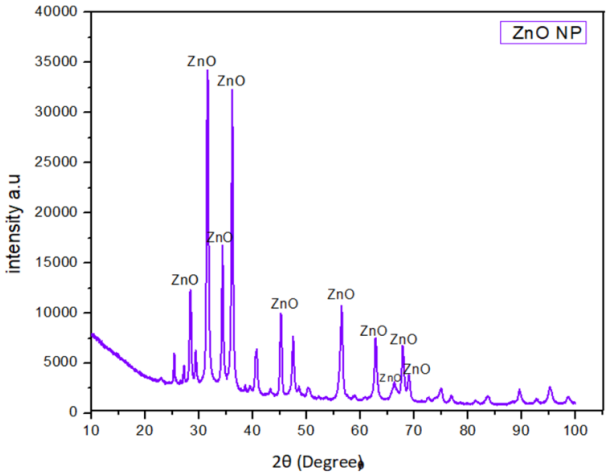
mavisi boyasıyla ayarlanmıştır. Test maddeleri besi yeri içeren mikro plaka kuyularına 4 ila 512 µg/mL konsantrasyon aralığında seri sulandırma ile uygulanmıştır. Mikroorganizmaların büyümesi, 35°C'de 24 saat inkübasyondan sonra görsel olarak belirlenmiştir. Görünür bir büyümenin (bulanıklık) olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak alınmıştır.

O'Toole ve Kolter 1998'de tanımladığı metoda göre biyofilm özellikleri belirlenmiştir (Karakaya 2021, O'Toole ve Kolter 1998). Yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan bakteriyel ve maya suşları 48 boyunca biyofilm oluşturmaları için inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir test maddesinin belirli bir aralıkta artan konsantrasyonları (4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 ve 512 µg/mL) biyofilm üzerine uygulanmıştır. İnkübasyonu takiben kuyucuklar distile su ile yıkanmış ve daha sonra %1'lik kristal viyole ile 15 dk süresince inkübe edilmiştir. Mikro plaka akan su ile yıkandıktan sonra ve kuyucuklara 400 µl %95 etanol saf su ilave edilerek plakların 630 nm'de ELISA okuyucusunda optik yoğunlukları ölçülmüştür.

3. Bulgular

3.1 XRD Analizi

Sentezlenen ZnO-NP'lerin X-ışını kırınım deseni Şekil 2'de XRD ile gösterilmiştir. 32,81°, 35,43°, 37,42°, 44,51°, 55,62°, 63,86°, 65,42°, 68,92°, 70,13°, 73,52°, 76,77°'de gözlemlenen yansımalar [100], [002], [101], [102], [110], [103], [200], [112], [201], [004], [202]'e endekslenmektedir. *T. spicata* özütü ile sentezlenen ZnO-NP'lerinin doğada kristal olduğunu göstermektedir. ZnO düzlemleri ZnO-NP'lerin ortalama kristal boyutu, Debye-Scherrer denklemi ($D=0.9\lambda/\beta\cos\theta$) ile hesaplanmıştır; burada D kristal boyutunu, λ X-ışını dalga boyunu, β zirvenin tam genişliğini ve θ Bragg açısını ifade etmektedir (Karam ve Abdulrahman 2022, Matei vd. 2008, Vaizoğullar 2018). Elde edilen ZnO-NP'lerin boyutunun yansımanın genişliğinden yaklaşık 38 nm olduğu bulunmuştur. Literatürde Thymus cinsin *T. vulgaris* türünden de Abdulrahman ve Karam tarafından (2022) ZnO-NP sentezlenmiş XRD analizlerinde elde edilen 2θ değerleriyle benzer sonuçlar elde edilmiştir (Karam ve Abdulrahman 2022).



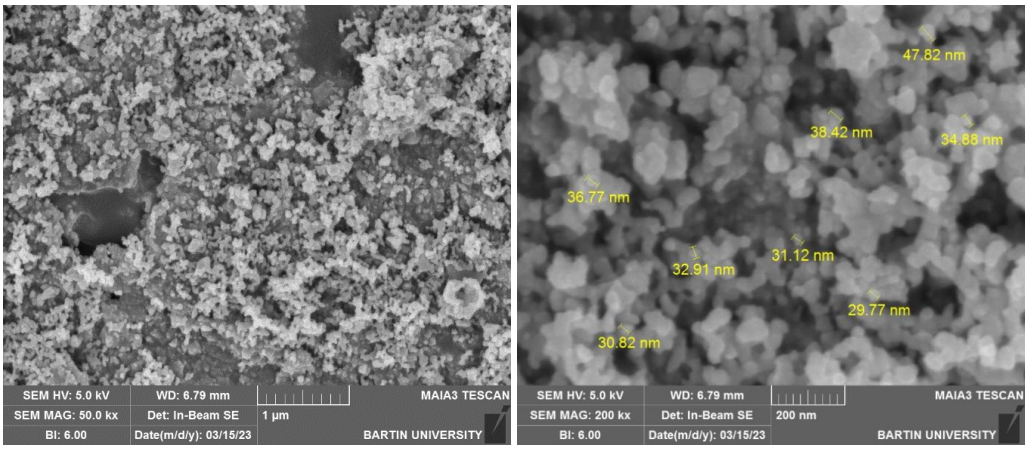
Şekil 2. Elde edilen ZnO-NP'lerin X-ışını kırınım (XRD) modeli.

3.2 STEM Analiz

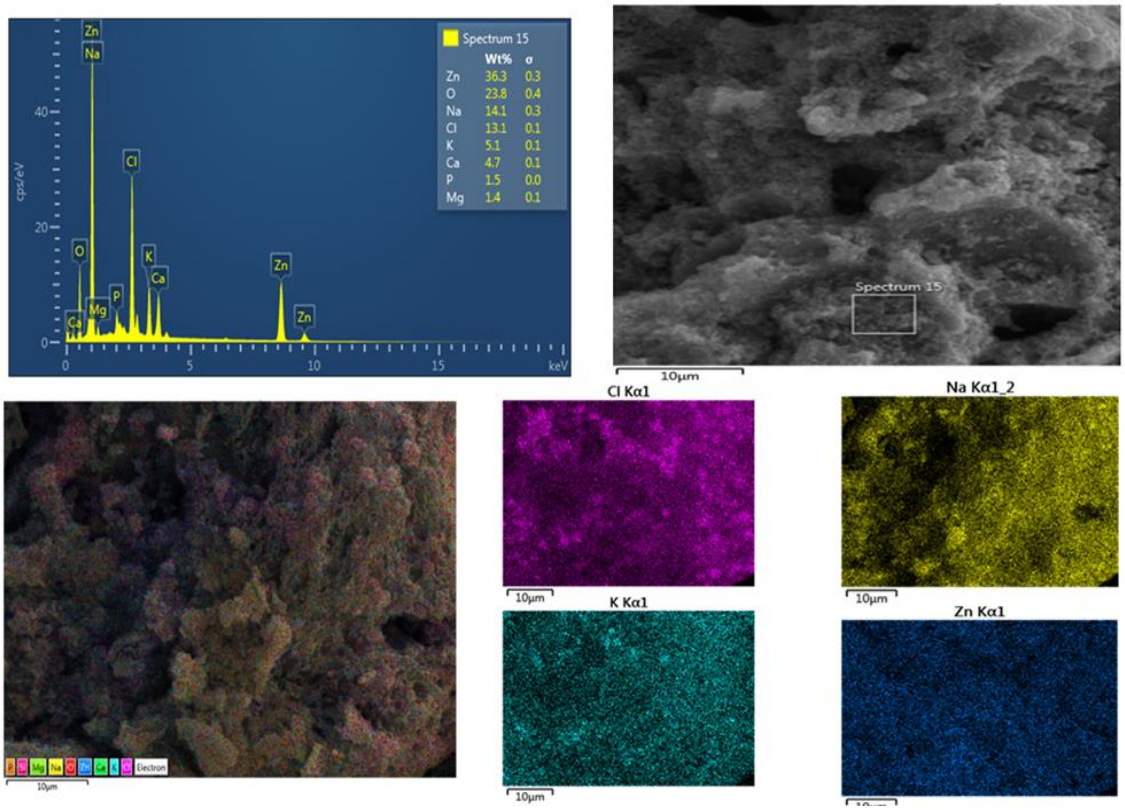
Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ZnO-NP'lerin taramalı elektron mikroskobundan alınan görüntüleri, NP'lerin partikül büyüklüğünü ve oluşan şeklini belirlemek için incelenmiştir. ZnO-NP'lerin, 500k büyütmeyle alınan SEM görüntülerinden; 29 nm ile 47 nm arasında değişen farklı büyüklüklerde ve şekillerde olduğu görülmektedir (Şekil 3) (Hong vd. 2006, Jiang vd. 2018).

3.3 EDX Analizi

Enerji Dağıtıcı X-ışını Analizi numune içerisinde bulunan elementlerin % dağılımı veren bir analizdir. Bu çalışmada yapılan EDX analizi ile ZnO-NP'lerin oluşumu doğrulanmıştır. Şekil 4'te görüldüğü gibi Zn %36,3, O %23,8 olarak bulunmuştur. Diğer elementler bitki özütünden kaynaklı safsızlıklardır. Literatürde de yeşil sentez ile elde edilen ZnO-NP'leri ve bitki kaynaklı safsızlıkların olduğu da görülmektedir (Faisal vd. 2021).



Şekil 3. Elektron mikroskobu çalışması: STEM analizi



Şekil 4. ZnO-NP'lerin EDX spektrumları

Çizelge 1. A549, Calu-1, Beas2B, Saos2, MG-63, SW1353, FL ve HC hücrelerine karşı ZnO-NP'lerin GI_{50}, TGI, LC_{50} ve IC_{50} değerleri

Hücre Hatları	ZnO-NP (µg/mL)				5FU (µg/mL)			
	GI_{50}	TGI	LC_{50}	IC_{50}	GI_{50}	TGI	LC_{50}	IC_{50}
A549	1,11	2,88	>1000	3,45	1,47	43,61	244,18	49,10
Calu-1	1,91	18,38	>1000	22,0	1,41	51,37	224,33	50,12
Beas2B	1,60	5,97	862,9	5,97	1,25	42,55	291,32	40,85
Saos2	2,63	43,49	>1000	43,49	1,32	50,08	318,27	52,13
MG-63	1,81	18,26	>1000	18,26	1,29	45,11	317,16	46,15
SW1353	2,02	28,07	>1000	28,07	1,23	52,23	348,30	56,04
FL	2,67	51,43	>1000	51,43	1,47	48,91	317,02	50,26
HC	2,10	27,99	>1000	27,99	1,17	47,28	256,67	49,55

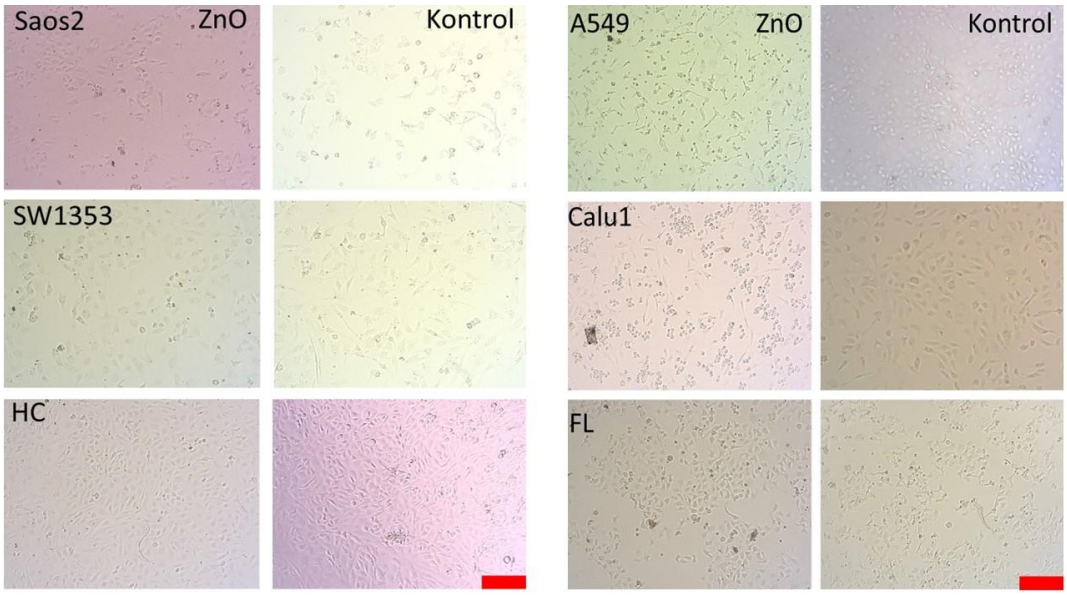
3.4 Biyolojik Aktivitelerin İncelenmesi

3.4.1 Antikanser Aktivitesi

Günümüzde kemoterapi amacı ile birçok antikanser ilaç geliştirilmiş olmasına rağmen istenilen düzeyde tedavi sonu elde edilemediği için bugün bile kanser tedavisinde kullanılabilecek antikanser ilaçları geliştirmek için yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Alheety vd. 2023, Ökten vd. 2020). Bu bağlamda MTT testi ile ZnO-NP'lerin hücre proliferasyonu üzeri etkisi incelenmiş olup (Şekil 5), elde edilen absorbans verileri kullanılarak GI_{50}, TGI ve LC_{50} parametreleri ile IC_{50} inhibisyon değerleri ile belirlenmiştir (Çizelge 1). IC_{50} inhibisyon değerleri incelendiğinde ZnO-NP ait değerler, kontrol olarak kullanılan 5FU değerlerine kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda antiproliferatif etki gösterdikleri belirlenmiştir. ZnO-NP'lerine ait LC_{50} değerlerinin yüksek, GI_{50} değerinin ise düşük olması göz önüne alındığında kanser tedavisinde kullanılabilecek toksik olmayan bir molekül olduğunu da göstermektedir.

ZnO-NP'lerin Calu-1 ve FL hücre hatları üzerine olan etkisi IC_{50}, GI_{50} ve LC_{50} değerleri sonucunda kıyaslandığında sırasıyla 22,0 µg/mL, 1,91 µg/mL, >1000 µg/mL ve 51,43 µg/mL, 2,67 µg/mL, >1000 µg/mL olduğu görülmüştür. ZnO-NP'lerin SW1353 ve HC hücre hatlarına olan etkisi (IC_{50}, GI_{50} ve LC_{50}) incelendiğinde ise sırası ile 28,07 µg/mL, 2,02 µg/mL, >1000 µg/mL ve 27,99 µg/mL, 2,10 µg/mL, >1000 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. Kanser hücreleri ve normal hücreler ile yapılan bu kıyaslamalar sonucunda antiproliferatif konsantrasyonların kanser hatlarında daha düşük olması ve bu konsantrasyonlarda normal hücrelere olumsuz etki göstermemesi ZnO-NP'lerin kanser

tedavisinde kullanılabilecek toksik olmayan bir molekül olduğunu göstermektedir. Kontrol ilacının aynı hücre hatlarına olan etkisi incelendiğinde ise (Calu-1 hücre hattı, 50,12 µg/mL, 1,41 µg/mL, 224,33 µg/mL; FL hücre hattı, 50,26 µg/mL, 1,47 µg/mL, 317,02 µg/mL; SW1353 hücre hattı, 56,04 µg/mL, 1,23 µg/mL, 348,3 µg/mL; HC hücre hattı için 49,55 µg/mL, 1,17 µg/mL, 256,67 µg/mL) etki değerlerinin (IC_{50}, GI_{50}) ZnO-NP değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca LC_{50} değerleri kıyaslandığında ise kontrol ilacın daha düşük değerde ve toksik etkiye sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 5. ZnO-NP kanser hücre hattı morfolojisi üzerindeki etkileri. Testler log fazında eksponansiyel büyüme gösteren kanser hücre hatları kullanılarak yapılmış olup inkübasyon süresi 24 saat olarak sınırlandırılmıştır. Ölçek 100 µm.

4.2 Anti-bakteriyel ve Anti-biyofilm Aktivitesi

Bu çalışmada *E. faecalis* VRE ATCC 19433, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* MSSA ATCC 29213, *S. aureus* MRSA ATCC 46300, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* AGME ATCC 27853, *S. gordonii* NCTC 7870, ve *C. albicans* ATCC 10231 suşları kullanılmıştır. Bileşiklerin bakteri suşlarına karşı minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) değerleri mikro-kuyu dilüsyon yöntemine göre belirlenmiştir.

ZnO-NP, *S. gordonii* bakterilerine karşı en düşük konsantrasyonda (16 µg/mL) etki göstermiştir. *E. faecalis* ATCC 29212 bakteri suşuna ve *C. albicans* fungusuna karşı ise en yüksek konsantrasyonda (512 µg/mL) etki gösterirken, diğer suşlara karşı ise 128 µg/mL konsantrasyonda etki görülmüştür (Çizelge 2). Tüm suşlara karşı kontrol olarak uygulanan maddelerin ZnO-NP'ye karşı daha düşük konsantrasyonlarda etki gösterdikleri görülmüştür. Gur ve ark. tarafından *T. spicata* bitkisini kullanarak hazırladığı ZnO-NP'lerin antimikrobiyal, antioksidan analizi (DPPH), DNA hasarını önleyici etkisine bakılmıştır. *T. spicata* bitkisinden elde edilen özütle *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* ve *C. albicans* suşları kullanılmış hem antibakteriyel hem de antifungal testi uygulanmıştır. *B. cereus* ve *S. aureus* suşları haricinde tüm suşlara karşı ZnO-NP'lerin aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Gur vd. 2022). Diğer bir çalışmada ise enginar yaprağı özütü kullanılarak yapılan ZnO-NP'lerin antibakteriyel analizinde *E. coli, E. faecalis, P. aeruginosa* ve *S. aureus* suşlarına karşı 128 µg/mL konsantrasyonda etki gösterdiği görülmüştür (Erdoğan vd. 2019). Çalışma sonucu elde edilen sonuçların, çalışmamız ile birbiri ile uyum gösterdikleri belirlenmiştir.

T. spicata bitkisi içeriğinde birçok fenolik madde bulunan bir bitkidir (Koçer, 2021.). Fenolik maddeler yeşil sentez yolu ile elde edilen nanopartiküllerin eldesinde indirgeyici ajan olarak görev alır ve nanopartikül yüzeyine tutunabilirler (Khatami vd., 2018). Gedikoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen *T. spicata* öztülerinin test edilen tüm bakterilere (*Bacillus cereus* NRRL B3711, *Staphylococcus aureus* ATCC 9144, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) karşı antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür (Gedikoğlu vd., 2019). Çalışmada elde edilen nanopartiküllerin yüzeyine tutunan bitki özütü bileşenlerinin de ZnO-NP'lerin hem antibakteriyel hem de anti biyofilm özellik göstermesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinden dolayı bakterilerin hücre duvarı ve membran yapısını bozarak bakterilerin ölümüne neden oldukları bilinmektedir.

Nanopartiküllerin bakterilerin hücre duvarına ve membranına bağlanarak, sitoplazmanın küçülmesi, membranın ayrılması gibi yapısal problemlere neden olduğu bilinmektedir (Tang ve Zheng, 2018). Ayrıca bakteri hücresi ile etkileşime giren nanopartiküller, hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına ve sonuç olarak da bakterisidal aktiviteye neden olur. Hücrede artış gösteren ROS, DNA, protein, enzim ve lipit gibi hayati bileşenlerin fonksiyonuna zarar vermektedir (Ayodha vd, 2022).

Çizelge 2. ZnO nanopartiküllerinin minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC, µg/mL)

Mikroorganizma	ZnO	Kontrol*
C. albicans ATCC 1023	*512*	*64*
S. gordonii NCTC 7870	*16*	*8*
E. faecalis VRE ATCC 19433	*128*	*16*
E. faecalis ATCC 29212	*512*	*8*
P. aeruginosa AGME ATCC 27853	*128*	*16*
E. coli ATCC 25922	*128*	*8*
S. aureus ATCC 25923	*128*	*8*
S. aureus MRSA ATCC 46300	*128*	*16*
S. aureus MSSA ATCC 29213	*128*	*16*

*S/CF (sulbaktam/sefoperazon) ve FLZ (flukonazol), sırasıyla bakteri ve maya için pozitif kontroldür.

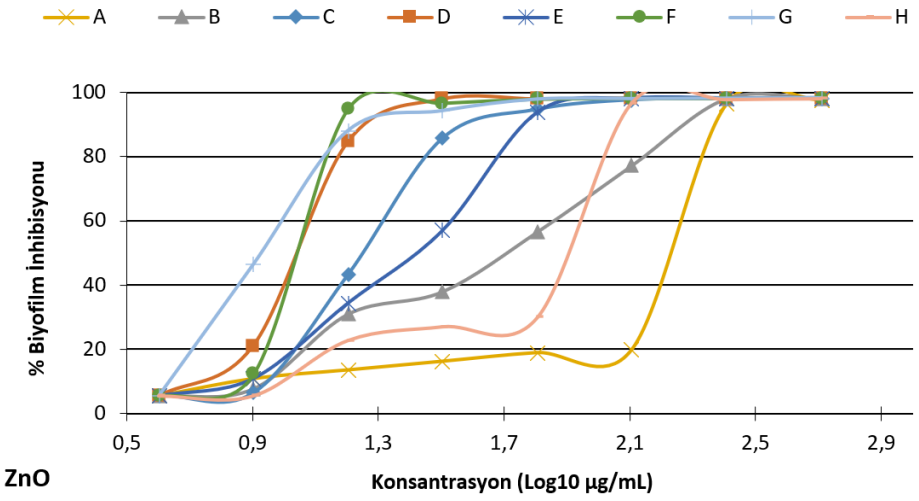
Çizelge 3. ZnO nanopartiküllerinin minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyonu (MBIC, µg/mL)

Mikroorganizma	ZnO
S. gordonii NCTC 7870	15,93
E. faecalis VRE ATCC 19433	28,82
E. faecalis ATCC 29212	92,45
P. aeruginosa AGME ATCC 27853	8,55
E. coli ATCC 25922	34,53
S. aureus ATCC 25923	10,82
S. aureus MRSA ATCC 46300	10,63
S. aureus MSSA ATCC 29213	18,72

ZnO-NP'lerin bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm tabakasını inhibe edici konsantrasyonlar incelendiğinde konsantrasyon artış gösterdiğinde biyofilm inhibisyonun da artış gösterdiği gözlemlenmiştir. En düşük konsantrasyonda en etkili biyofilm inhibisyonu sırasıyla *P. aeruginosa* AGME ATCC 27853, *S. aureus* MRSA ATCC 46300 ve *S. aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı 8,55, 10,63 ve 10,82 µg/mL konsantrasyonlarında gerçekleşirken, *E. faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı ise en düşük konsantrasyonda en etkili biyofilm inhibisyonu 92,45 µg/mL konsantrasyonda gerçekleşmiştir (Çizelge 3, Şekil 6).

Obeizi ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Eucalyptus globulus* bitki özütü kullanılarak sentezlenen ZnO-NP'lerin 100 µg/mL konsantrasyonda, *S. aureus ve P. aeruginosa* suşlarına karşı biyofilm inhibisyonu incelendiğinde sırası ile %85 ve %97 oranında gerçekleştiği görülmüştür (Obeizi vd. 2020). Çalışmamız sonucunda elde edilen sonuçlar ile kıyaslandığında, sonuçlarımızın, yaklaşık 100 µg/mL konsantrasyonda her iki bakteri suşları için %90 üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Withania somnifera yaprak özütleri kullanılarak sentezlenen ZnO-NP'lerin *E. faecalis, S. aureus, E. coli* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı yapılan anti biyofilm çalışmaları sonucunda artan konsantrasyonla (25, 50, 75 ve 100 µg/mL) birlikte biyofilm inhibisyonunda artış gösterdiği gözlemlenmiştir. 100 µg/mL konsantrasyonda *E. faecalis* ve *S. aureus* suşlarına karşı %100 oranında inhibisyon gerçekleşirken, *E. coli* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı sırası ile %85 ve %92 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir (Malaikozhundan vd. 2020). Artan konsantrasyonla birlikte biyofilm inhibisyonunun da artış göstermesi çalışmamız ile paralellik göstermektedir.



Şekil 6. Konsantrasyon değerleri log10 tabanında verilen ZnO-NP'lerin bakteri suşlarına karşı biyofim inhibisyonu sonuçları (**A**: *E. faecalis* ATCC 29212, **B**: *E. faecalis* VRE ATCC 19433, **C**: *S. gordonii* NCTC 7870, **D**: *S. aureus* MRSA ATCC 46300, **E**: *S. aureus* MSSA ATCC 29213, **F**: *S. aureus* ATCC 25923, **G**: *P. aeruginosa* AGME ATCC 27853, **H**: *E. coli* ATCC 25922)

ZnO-NP'ler kekik bitkisi özütü içeriğinde bulunan zengin biyoaktif maddelerden dolayı ile başarılı bir şekilde yeşil sentez yöntemiyle sentezlenerek, XRD, STEM ve EDX ile karakterize edilmiş, antikanser, antimikrobiyal ve anti biyofilm özellikleri incelenerek biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. ZnO-NP'lerin sentezinde yeşil sentez yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması ekonomik açıdan düşük maliyetli, çevre dostu, sürdürülebilir ve kolayca uygulanabilir özelliklerini ön plana çıkarmıştır. Yeşil sentezle elde edilen ZnO-NP'lerin ortalama boyutu 29-48 nm olup, 350-400 nm aralığında güçlü absorbsiyon göstermiştir. Kanser hücre hatlarına karşı ZnO-NP'lerin antiproliferatif etkilerinin kontrol ilaca göre daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca LC_{50} değerleri göz önüne alındığında ise ZnO-NP'lerin toksik etkilerinin daha düşük olduğu da görülmektedir. ZnO-NP için antibakteriyel değerlerinin 16-512 µg/mL değerleri arasında, antifungal değerin ise 512 µg/mL olduğu görülmüştür. Kontroller ile kıyaslandığında ZnO-NP'lerin iyi bir biyolojik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. ZnO-NP'lerin düşük konsantrasyonlarda yüksek biyofilm inhibisyon özellikleri gösterdikleri görülmüştür.

Elde ettiğimiz ZnO-NP'ler biyoteknoloji, gıda, malzeme ve imalat, optik, sağlık, tarım ve tıp gibi birçok sektörde kullanım potansiyeline sahiptir. ZnO-NP'lerin ekonomik yöntemler ile hazırlanarak ve klinik tedavilerde yeni ilaç üretme ya da taşıyıcı sistemlerde kullanımı ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılma potansiyelinin olduğu da bu çalışma ile gösterilmiştir.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar, etik standartlara uyduklarını beyan etmektedirler.

Yazarlık Katkı Beyanı

Yazar 1: Kaynaklar, Araştırma, Yazma – orijinal taslak Görselleştirme, Yazma – orijinal taslak

Yazar 2: Kaynaklar, Araştırma, Deneyleme, Fikir Sahibi, Doğrulama, Metodoloji, Görselleştirme, Yazma – orijinal taslak,

Yazar 3: Araştırma, Deneyleme, Görselleştirme

Yazar 4: Araştırma, Deneyleme, Görselleştirme, Yazma –orijinal taslak

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Verilerin Kullanılabilirliği

Çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler bu makaleye dahil edilmiştir.

Teşekkür

Bu araştırma için finansal destek TÜBİTAK 2209-A üniversite öğrencileri araştırma projeleri desteği tarafından desteklenmiştir (Proje No: 1919B012200897).

5. Kaynaklar

Agarwal, H., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, **3(4)**, 406–413. https://doi.org/10.1016/J.REFFIT.2017.03.002

Alheety, N. F., Mohammed, L. A., Majeed, A. H., Aydin, A., Ahmed, K. D., Alheety, M. A., Guma, M. A., & Dohare, S. 2023. Antiproliferative and antimicrobial studies of novel organic-inorganic nanohybrids of ethyl 2-((5-methoxy-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)thio)acetate (EMBIA) with TiO2 and ZnO. *Journal of Molecular Structure*, **1274**, 134489. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134489

Alshamsi, H., Al-Bedairy, M. A., & Alshamsi, H. A. H. 2018. Environmentally Friendly Preparation of Zinc Oxide, Study Catalytic Performance of Photodegradation by Sunlight for Rhodamine B Dye. Article in Eurasian *Journal of Analytical Chemistry*, **13(6)**, 72. https://doi.org/10.29333/ejac/101785

Ayodhya, D., Ambala, A., Balraj, G., Kumar, M. P., & Shyam, P. (2022). Green synthesis of CeO2 NPs using Manilkara zapota fruit peel extract for photocatalytic treatment of pollutants, antimicrobial, and antidiabetic activities. Results in Chemistry, **4**, 100441. https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100441

Benli, M., & Yiğit, N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (Thymus vulgaris) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **3(8)**, 1–8.

Bruunsgaard, H. 2005. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*, **78(4)**, 819–835. https://doi.org/10.1189/jlb.0505247

Dagdeviren, C., Hwang, S.-W., Su, Y., Kim, S., Cheng, H., Gur, O., Haney, R., Omenetto, F. G., Huang, Y., Rogers, J. A., Dagdeviren, C., Hwang, S., Kim, S., Haney, R., Rogers, J. A., Su, Y., Cheng, H., Huang, Y., Gur, O., & Omenetto, F. G. 2013. Transient, Biocompatible Electronics and Energy Harvesters Based on ZnO. *Nano Micro Small*, **9(20)**, 3398–3404. https://doi.org/10.1002/SMLL.201300146

Dönmez, S. 2020. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Zingiber Officinale Root Extract and Their Applications in Glucose Biosensor. *El-Cezeri*, **7(3)**, 1191–1200. https://doi.org/10.31202/ECJSE.729462

Erci, F. 2018. Yeşil sentez ile elde edilen metal nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antibiyoflim etkinliklerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 195.

Erci, F., Cakir-Koc, R., Isildak, I. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var.

spicata (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. Artificial Cells, *Nanomedicine and Biotechnology*, **46(sup1)**, 150–158. https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1415917

Erdoğan, Ö., Birtekocak, F., Oryaşin, E., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Paşa, S., & Çevik, Ö. 2019. Enginar Yaprağı Sulu Ekstraktı Kullanılarak Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Yeşil Sentezi, Karakterizasyonu, Anti-Bakteriyel ve Sitotoksik Etkileri. *Duzce Medical Journal*, **21(1)**, 19–26. https://doi.org/10.18678/DTFD.482351

Faisal, S., Jan, H., Shah, S. A., Shah, S., Khan, A., Akbar, M. T., ... & Syed, S. (2021). Green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous fruit extracts of Myristica fragrans: their characterizations and biological and environmental applications. ACS omega, **6(14),** 9709-9722. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00310

Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food science & nutrition*, ***7*(5)**, 1704-1714. https://doi.org/10.1002/fsn3.1007

Gopala Krishna, P., Paduvarahalli Ananthaswamy, P., Yadavalli, T., Bhangi Mutta, N., Sannaiah, A., & Shivanna, Y. 2016. ZnO nanopellets have selective anticancer activity. *Materials Science and Engineering: C*, **62**, 919–926. https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2016.02.039

Görgeç, A. 2017. Metalik nanopartiküllerin biyolojik sentezi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 64.

Güneş. Çimen C. 2021. Kekik Özütü Kullanarak Yeşil Sentezlenmiş Gümüş Nanopartikül Katkılı PCL/PLA Nanokompozit Fiber Üretimi, Karakterizasyonu ve Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstititüsü, Konya, 127.

Gur, T., Meydan, I., Seckin, H., Bekmezci, M., & Sen, F. 2022. Green synthesis, characterization and bioactivity of biogenic zinc oxide nanoparticles. *Environmental Research*, **204**, 111897. https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2021.111897

Hasanuzzaman, M., Mokammel, M., Islam, M. J., Hashmi, S. 2023. Co-doped (N and Fe) TiO2 photosensitising nanoparticles and their applications: a review. *Advanced in Materials and Processing Technologies*, **10(3)**, 1320-1343. https://doi.org/10.1080/2374068X.2023.2189634.

Hong, R., Pan, T., Qian, J., Li, H. 2006. Synthesis and surface modification of ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, **119(2–3)**, 71–81. https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2006.03.003

Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., Meena, R. K. 2021. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. *Environmental Chemistry Letters*, **19(1)**, 355–374. https://doi.org/10.1007/s10311-020-01074-x

Jiang, J., Pi, J., & Cai, J. 2018. The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, **208**, 1062562. https://doi.org/10.1155/2018/1062562

Karakaya, F. 2021. Yeşil sentez yöntemiyle Ruscus aculeatus L. bitkisi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi ve antibiyofilm, antimikrobiyal, antikanser aktivitelerinin incelenmesi Yüksek Lisans Tezi. Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bartın, 98.

Karam, S. T., Abdulrahman, A. F. 2022. Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles by Using Thyme Plant Leaf Extract. *Photonics*, **9(8)**, 594. https://doi.org/10.3390/PHOTONICS9080594

Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., & Viswanathan, B. 2011. Green synthesis of silver nanoparticles using Polyalthia longifolia leaf extract along with D-sorbitol: Study of antibacterial activity. *Journal of Nanotechnology,* 1613475. https://doi.org/10.1155/2011/152970

Khatami, M., Varma, R. S., Zafarnia, N., Yaghoobi, H., Sarani, M., & Kumar, V. G. 2018. Applications of green synthesized Ag, ZnO and Ag/ZnO nanoparticles for making clinical antimicrobial wound-healing bandages. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **10**, 9–15. https://doi.org/10.1016/J.SCP.2018.08.001

Kiper, T. 2007. Yeni bazı benzimidazol türevi bileşiklerin sentez, yapı aydınlatılması ve biyolojik aktiviteleri üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 197.

Koçer, O. K. 2021. Hatay Yöresinde Yetişen *Thymbra spicata* L. (Zahter/Karabaş Kekiği) Bitkisinin Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **27**, 446–449. https://doi.org/10.31590/EJOSAT.963053

Korbekandi, H., Iravani, S., & Abbasi, S. 2012. Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using Lactobacillus casei subsp. casei. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **87(7)**, 932–937. https://doi.org/10.1002/JCTB.3702

Korkmaz, N. 2019. Saintpaulia Sulu Yaprak Özütü Kullanılarak Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel ve Antibiyofilm Aktivitesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **9(4)**, 2225–2234. https://doi.org/10.21597/JIST.561197

Malaikozhundan, B., Vinodhini, J., Mohamed, ·, Kalanjiam, A. R., Vinotha, V., Palanisamy, S., Sekar Vijayakumar, ·, Baskaralingam Vaseeharan, & Mariyappan, A. 2020. High synergistic antibacterial, antibiofilm, antidiabetic and antimetabolic activity of Withania somnifera leaf extract-assisted zinc oxide nanoparticle. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **43**, 1533–1547. https://doi.org/10.1007/s00449-020-02346-0

Mandal, B. K. 2016. Scopes of green synthesized metal and metal oxide nanomaterials in antimicrobial therapy. *Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy: Applications of Nanobiomaterials*, 313–341. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42864-4.00009-9

Matei, A., Cernica, I., Cadar, O., Roman, C., & Schiopu, V. (2008). Synthesis and characterization of ZnO-polymer nanocomposites. *International Journal of Material Forming*, **1(SUPPL. 1)**, 767–770. https://doi.org/10.1007/s12289-008-0288-5

Meulenkamp, E. A. 1998. Synthesis and growth of ZnO nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, **102(29)**, 5566–5572. https://doi.org/10.1021/jp980730h

Nagajyothi, P. C., Minh An, T. N., Sreekanth, T. V. M., Lee, J. Il, Joo, D. L., & Lee, K. D. 2013. Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles. *Materials Letters*, **108**, 160–163. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.06.095

Nartop, P. 2019. Yeşil Sentez Yolu ile Gümüş Nanopartiküllerin Elde Edilmesinde Bitkisel Ekstrelerin İndirgeyici Ajan Olarak Kullanılması. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, **8(1)**, 50–60. https://doi.org/10.1007/S40995-016-0065-0

Obeizi, Z., Benbouzid, H., Ouchenane, S., Yılmaz, D., Culha, M., & Bououdina, M. 2020. Biosynthesis of Zinc oxide nanoparticles from essential oil of Eucalyptus globulus with antimicrobial and anti-biofilm activities. *Materials Today Communications*, *25*, 101553. https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101553

Ökten, S., Aydın, A., Koçyiğit, Ü. M., Çakmak, O., Erkan, S., Andac, C. A., Taslimi, P., & Gülçin, İ. 2020. Quinoline-based promising anticancer and antibacterial agents, and some metabolic enzyme inhibitors. *Archiv Der Pharmazie*, **353,** e2000086. https://doi.org/10.1002/ardp.202000086

O'Toole, G. A., & Kolter, R. 1998. Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *Molecular Microbiology*, **30(2)**, 295–304. https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.1998.01062.X

Rasmussen, J. W., Martinez, E., Louka, P., & Wingett, D. G. 2010. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **7(9)**, 1063–1077. https://doi.org/10.1517/17425247.2010.502560

Şahin, B. 2021. Bartın iletim hattını kurutma sahip bazı bitki türlerinden yeşil sentez yöntemi ile elde edilen nanomalzemelerin biyolojik özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bartın, 181.

Suresh, J., Pradheesh, G., Alexramani, V., Sundrarajan, M., & Hong, S. I. 2018. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticle using insulin plant (Costus pictus D. Don) and investigation of its antimicrobial as well as anticancer activities. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, **9(1)**, 015008. https://doi.org/10.1088/2043-6254/AAA6F1

Tang, S., & Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. Advanced healthcare materials, **7(13)**, 1701503. https://doi.org/10.1002/adhm.201701503

Vaizoğullar, A. İ. 2018. ZnO/CuO Nanopartiküllerinin Sentezi Karakterizasyonu ve Fotokatalitik Aktivitesinin 2,6-Diklor Fenol Kullanılarak Belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **8(2)**, 192–201. https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.302604

Vanaja, M., Gnanajobitha, G., Paulkumar, K., Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., & Annadurai, G. 2013. Phytosynthesis of silver nanoparticles by Cissus quadrangularis: influence of physicochemical factors. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **3(1)**, 1–8. https://doi.org/10.1186/2193-8865-3-17

Velsankar, K., Preethi, R., Ram, P. S. J., Ramesh, M., & Sudhahar, S. 2020. Evaluations of biosynthesized Ag nanoparticles via Allium Sativum flower extract in biological applications. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, **10(9)**, 3675–3691. https://doi.org/10.1007/s13204-020-01463-2

Vidya, C., Hiremath, S., Chandraprabha M. N., Antonyraj M. L., Gopal, I. V., Jain, A., & Bansal, K. 2013. Green synthesis of ZnO nanoparticles by Calotropis gigantea. International *Journal of Current Engineering and Technology*, **1(1)**, 118–120.

Yavuz, İ., Şebnem Yılmaz, E. 2021. Biyolojik Sistemli Nanopartiküller. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, **2(1)**, 93–108. https://doi.org/10.5281/ZENODO.4843592