



Synthesis of Gold Nanoparticles from Hawthorn (*Crataegus monogyna*) Fruit Extract and Evaluation of Antimicrobial Activities

Ayşe Baran¹, Abdulkerim Hatipoğlu², Mehmet Fırat Baran^{3*}, Necmettin Aktepe⁴

^{1*} Artuklu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Mardin, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-2317-0489), ayse.gorgec43@gmail.com

² Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Mardin, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-1487-1953),

abdulkerimhatipoglu@artuklu.edu.tr

³Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Mardin, Türkiye, (ORCID: 0000-0001-8133-6670), m.firatbaran@gmail.com

⁴ Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Mardin, Türkiye, (ORCID: 0000-0003-2192-9049), necmettinaktepe@gmail.com

(International Conference on Design, Research and Development- 15 – 18 Aralık 2021)

(DOI: 10.31590/ejosat.1040122)

ATIF/REFERENCE: Baran, A., Hatipoğlu, A., Baran, M.F. & Aktepe, N. (2021). Alıç (*Crataegus monogyna*) Meyve Özütünden Altın Nanopartiküllerin Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32), 974-978.

Abstract

Researchers are of great interest in the synthesis of nanostructures of biological origin due to their unique properties. The advantages of the biological method are that it is environmentally friendly, fast and easy to synthesize. In this study, gold nanoparticles (AuNPs) were synthesized using Hawthorn-*Crataegus monogyna* (CM) fruit extract. Characterization of AuNPs from fruit extract were performed by Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM), UV-visible Spectrophotometer (UV-vis.), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), X-Ray Diffraction Diffractometry (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM), Zeta-size and potential analysis. Antimicrobial activities of synthesized AuNPs were evaluated on gram positive and gram negative bacteria and fungal strains using minimum inhibition technique. According to the findings of the study, it was determined that AuNPs synthesized from the CM plant showed strong antimicrobial activity.

Keywords: Antimicrobial activity, AuNPs, FE-SEM, TEM, XRD.

Alıç (*Crataegus monogyna*) Meyve Özütünden Altın Nanopartiküllerin Sentezi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Öz

Araştırmacılar, eşsiz özelliklerinden dolayı biyolojik kaynaklı nano yapıların sentezine büyük ilgi duymaktadırlar. Biyolojik yöntemin avantajları çevre dostu, hızlı ve kolay bir sentez olmasıdır. Bu çalışmada altın nanoparçacıklar (AuNP'ler), Alıç-*Crataegus monogyna* (CM) meyve özütünden yararlanılarak sentezlenmiştir. Meyve özütünden elde edilen AuNP'lerin karakterizasyonu, Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM), UV-görünür Spektrofotometre (UV-vis.), Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X- Işınımı Kırınımı Diffraktometresi (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Zeta-boyut ve potansiyeli analizleri ile yapılmıştır. Sentezlenen altın nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile mantar suşu üzerinde minimum inhibisyon tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın bulgularına göre CM bitkisinden sentezlenen AuNP'lerin güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, AuNP'ler, FE-SEM, TEM, XRD.

* Corresponding Author: ayse.gorgec43@gmail.com

1. Giriş

Nanoteknoloji, malzeme uygulamalarını ifade etmektedir. Nanomalzemeler elektronik, optik, biyoteknoloji, tıp, farmakoloji ve mühendislik gibi alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Talebpour ve Ghahghaei, 2020). Nanopartiküller, farklı uygulama aşamalarında karalılıkları, yüzey adsorpsiyon kapasiteleri ve biyolojik uygulamaları gibi özelliklerinden dolayı önem taşımaktadırlar (Aktepe ve Baran, 2021a). Metal nanopartiküller kimyasal ve biyolojik olmak üzere genellikle iki yolla sentezlenmektedirler. Fazla enerji kullanımının olmaması, düşük maliyetli ve çabuk olmasından dolayı biyolojik yöntem araştırmacılar tarafından daha çok tercih edilmektedir (Baran ve ark., 2021; Aktepe, 2021; Aktepe ve Baran, 2021b; Hatipoğlu, 2021a). Nanopartikül sentezinde en çok kullanılan metaller; altın, gümüş, çinko, paladyum, titanyum, demir ve bakırdır (Baran, 2018).

AuNP'ler ile gümüş nanopartiküllerin hem anti-mikrobiyal hem de anti-kanser ajan olarak kullanılabilirdiği birçok araştırma sonucunda ortaya konulmuştur. Ayrıca biyolojik yollarla elde edilen AuNP'lerin biyoyumlu bir yapı sergilediği görülmektedir (Aktepe ve ark., 2021).

Bu çalışmada Alıç-*Crataegus monogyna* (CM) meyvesinden düşük maliyetli, çevre dostu ve kolay bir şekilde AuNP'ler sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve antibakteriyel aktiviteleri ortaya konulmuştur.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM) JOEL 1010, Perkin Elmer One UV-visible Spektrofotometre (UV-Vis.), Perkin Elmer Spektrum One Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR), RadB-DMAX II bilgisayar kontrollü Enerji Dağılımlı X-Işını Diffraktometresi (XRD), EVO 40 LEQ Taramalı Elektron Mikroskobu ve Elektron Dağılımlı X ışınları (SEM-EDX), Malvern marka zeta sizer ve zeta boyut cihazları kullanılarak elde edilen AuNP'lerin yapısı ortaya konulmuştur. Sentezlenen altın nanopartikülleri çöktürmek için 6000 devirli OHAUS FC 5706 model santrifüj cihazı kullanılmıştır.

Altın nanopartikül sentezi için Sigma Aldrich markalı Hidrojen tetrakloroaurikası katı bileşik formu, antimikrobiyal aktivite için ise ticari olarak temin edilen vankomisin, kolistin ve flukonazol antibiyotikleri kullanılmıştır.

2.2. Bitki Özütü ve Çözelti Hazırlama

Mardin Artuklu Üniversitesi kampüs alanından toplanan CM meyveleri çalışma için kullanılmıştır. Yıkanan meyveler oda koşullarında kurutulmuştur. Kurutulmuş olan meyvelerden 500 g tartılıp üzerine 1000 mL saf su eklenmiş ve bir beher içerisinde kaynatılmıştır. Kaynama başladığı andan itibaren yaklaşık 10 dakika kadar beklenmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Önce kaba süzgeç kağıdı, ardından Whatman 0.1 mm süzgeç kağıdı ile süzme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen özüt sentez aşamasında kullanılmak üzere + 4 °C' de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

HAuCl₄.3H₂O katı bileşik formundan 10 mM (milimolar) konsantrasyonunda altın çözeltisi hazırlanmıştır.

2.3. AuNP'lerin Sentezi ve Karakterizasyonu

50 mL CM meyve özütü alınıp üzerine 10 mM 50 mL HAuCl₄.3H₂O çözeltisi 250 mL cam erlen mayer içinde 30 °C' de bir manyetik ısıtıcı karıştırıcı yardımıyla reaksiyona bırakılmıştır. 100 devirde 5 dakika sonra renk değişimi gözlenmiştir. Renk değişimine bağlı olarak numune alınıp AuNP'lerin oluşumunu tespit etmek için UV görünür spektroskopisinde dalga boyu ölçümleri yapılmıştır.

Renk değişiminde meyve özütünde bulunan fitokimyasalların altını indirgemesiyle oluştuğu görülmüştür. İndirmeye katılan biyoaktif bileşenlerin fonksiyonel grupları için FT-IR cihazında hem meyve özütünün hem de reaksiyon sonrasında oluşan koyu renkli çözeltinin FT-IR desenleri karşılaştırılmış ve indirgemenin sorumlu grubun tespiti yapılmıştır. Sentezlenen AuNP'leri çöktürmek için yüksek devirli santrifüj cihazı kullanılmıştır. Çöktürme işleminden sonra altta kalan katı kısım 48 saat ve 60 °C'de kurutulmuştur. Daha sonra öğütülerek karakterizasyon işleminde kullanılmıştır. Sırasıyla FE-SEM, SEM, ZETA, XRD ve EDX analizleri yapılarak yapısı ortaya konulmuştur.

2.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Metodu ile AuNP'lerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) ATCC 29213, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC25922 suşları ve *Candida albicans* (*C. albicans*) *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC27833 suşları İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Gram (+) (*S. aureus* ve *B. subtilis*) ile Gram (-) (*P. aeruginosa* ve *E. coli*) bakterilerin nütrient agar besiyerine ekimleri yapılmıştır. Maya *C. albicans* da Sabouraud Dextrose Agar besiyerine ekilerek 36 °C sıcaklıkta 24 saat etüvde üremeye bırakılmıştır. Ekimi yapılan suşların üreme kontrolünün ardından, her mikroorganizmadan steril koşullarda katı formdaki plaklardan üremiş mikroorganizmaların Mc Farland standardı 0.5 (Eren ve Baran, 2019) ile süspansiyonları (1.5×10⁸ unitede bulunan koloni (cfu) mL⁻¹) hazırlanmıştır.

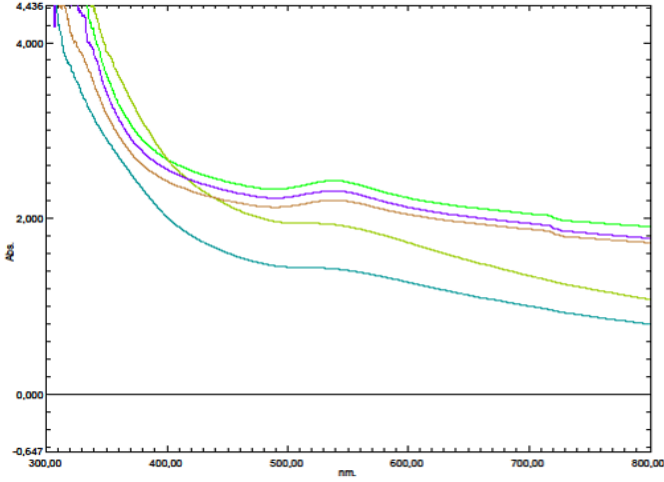
Mikro plakalara bakteriler için 96'lık Muller Hinton sıvı besiyeri, maya için RPMI (Roswell Park Memorial Institute) sıvı besiyeri ve 10 µg/mL⁻¹ konsantrasyona sahip Biyo-uyumlu AuNP'lerin çözeltisi eklenmiştir. Birinci kuyucuk ve takibindeki diğer kuyucuklara bir seri mikro-dilüsyon işlemi yapılmıştır. Sonrasında mikroorganizmaların her biri için hazırlanan süspansiyondan dilüsyon yapılan her bir kuyucuğa eklenmiştir.

Biyo-uyumlu AuNP'lerin etkilerini kıyaslamak için Gram pozitif suşlar için vankomisin, Gram negatifler için kolistin ve son olarak *C. albicans* için de flukonazol standart antibiyotikleri kullanılmıştır. Aynı Mikro plakalar 37 °C' de 24 saat üremeye bırakılmıştır. Süre sonunda üremenin başladığı kuyucuktan bir önceki kuyucuğun konsantrasyonu Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu olarak tespit edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. UV-görünür Spektroskopik Analiz

CM meyve özütünden 10 mL, sentezlenmiş olan AuNP'lerden ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi) 10 mM karıştırıldıktan 5 dakika sonra sarıdan koyu mor renge dönüşümü gözlenmiştir. UV görünür spektroskopisinde alınan absorpsiyon değerinin 540 nm civarında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Başka diğer çalışmalarda da benzer absorpsiyon değerleri bildirilmiştir (Usman ve ark., 2019; Velmurugan ve ark., 2014).

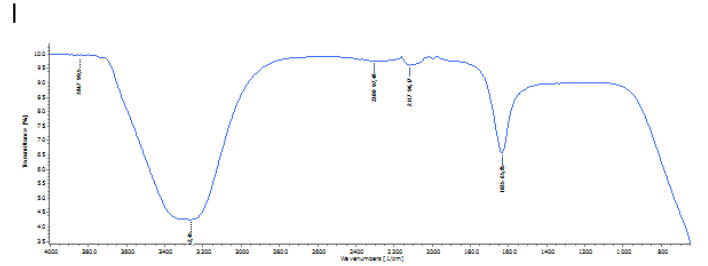
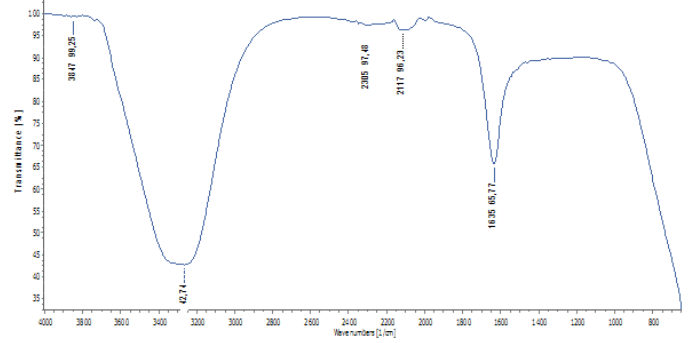


Şekil 1. *Crataegus monogyna* meyve özütü ile eldilen altın nanopartiküllerin UV-Vis spektroskopisi diyagramı

Figure 1. UV-Vis spectroscopy diagram of gold nanoparticles obtained with *Crataegus monogyna* fruit extract

3.2. FT-IR Analizi

CM meyve özütü FT-IR sonuçları ve altın tuzu ile reaksiyona bırakıldıktan sonra, alınan FT-IR diyagramı incelendiğinde indirgemede rol alan fonksiyonel grupların frekans kaymaları 3347 cm^{-1} , 1634 cm^{-1} ve 2110 cm^{-1} olarak ortaya çıkmıştır. Bu frekanslarda meydana gelen kaymalar sırası ile $-\text{OH}$ (hidroksil) gruplarının (Aktepe ve Baran, 2021a) N-H (amin) gruplarının (Atalar ve ark., 2021) ve $\text{C}\equiv\text{C}$ (alkin) gruplarının indirgemede rol alan fonksiyonel gruplar olduğu fikrini vermektedir (Şekil 2).

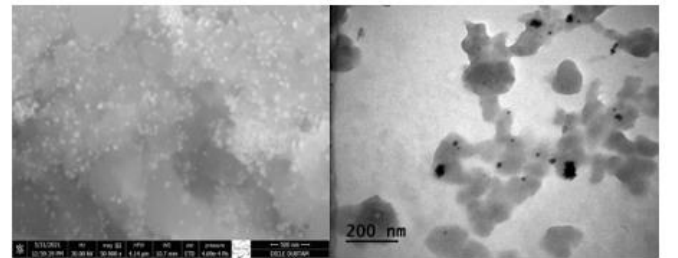
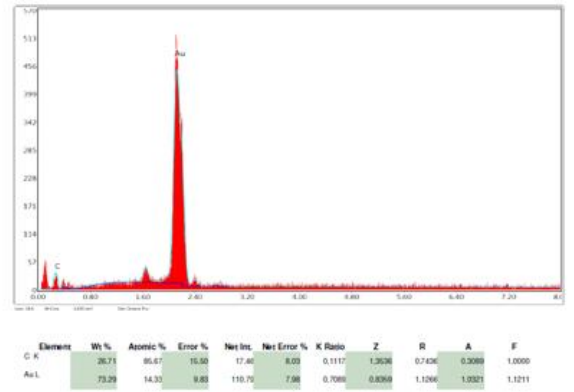


Şekil 2. *Crataegus monogyna* meyve özütü ile eldilen altın nanopartiküllerin FT-IR spektroskopisi diyagramı

Figure 2. FT-IR spectroscopy diagram of gold nanoparticles obtained with *Crataegus monogyna* fruit extract

3.3. FESEM, TEM ve EDX Analizi

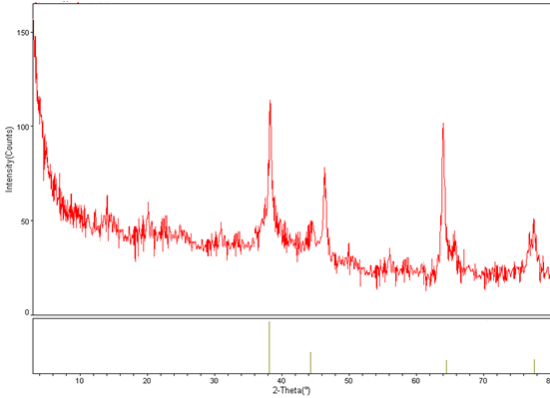
Biyoyumlu AuNP'lerin morfolojik yapıları ve element kompozisyonlarının belirlenmesinde FE-SEM ve SEM-EDX analizleri yapıldı. Sentezlenen AuNP'lerin FE-SEM görüntülerinde küresel morfolojide oldukları, EDX profilinde ise büyük oranda (% 73.29) güçlü altın varlığı tespit edilmiştir. (Francis ve ark., 2017; Jafarizad ve ark., 2019) (Şekil 3).



Şekil 3. *Crataegus monogyna* meyve özütü ile eldilen altın nanopartiküllerin FE-SEM, TEM, EDX spektroskopisi diyagramı

Figure 3. FE-SEM, TEM, EDX spectroscopy diagram of gold nanoparticles obtained with *Crataegus monogyna* fruit extract

3.4. XRD Analizi



Şekil 4. *Crataegus monogyna* meyve özütünden sentezlenen altın nanopartiküllerin XRD spektroskopi diyagramı

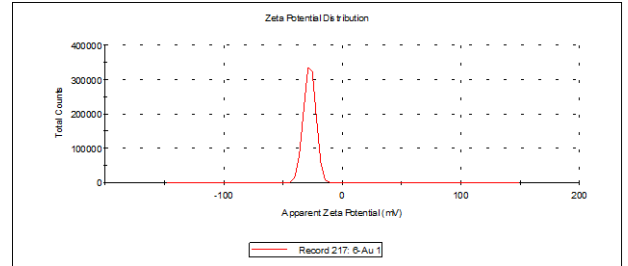
Figure 4. XRD spectroscopy diagram of gold nanoparticles synthesized from *Crataegus monogyna* fruit extract

2θ ' da XRD sonuçlarında 111° , 200° , 220° ve 311° ye ait pikler ile altın kristal yapısının küresel olduğu görülmüştür (Zayadi ve Bakar, 2020). Sırası ile 38.11, 46.48, 64.47 ve 77.592 değerlerine karşılık gelen pikler altının karakteristik pikleridir. Debye-Scherrer denkleminde göre hesaplanan partikül boyutu 19.31 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4). Farklı araştırmacıların yaptığı altın nanopartikül çalışmalarında benzer sonuçlar görülmektedir (Pandiyani ve ark., 2019; Rautray ve Rajanantini, 2020).

3.5. Zeta Potansiyeli

Biyoyumlu AuNP'lerin yüzey yüklerinin belirlenmesi için yapılan zeta potansiyeli analizlerinde AuNP'lerin yükünün belirlenmesinde kullanılan analiz tekniğidir (Baran A., 2021; Baran A. ve ark., 2021). Şekil 5'te görüldüğü gibi elde edilen AuNP'lerin zeta potansiyelleri -27.9 mV olarak ölçülmüştür.

AuNP'ler pozitif ve negatif yüke sahip olduklarında kümelenme ve topaklanma göstermektedir (Aktepe ve ark., 2021; Hatipoğlu, 2021b); Hatipoğlu, 2021c). Elde edilen -27.9 mV değeri AuNP'lerin sadece negatif yüke sahip olduklarını ve kararlı bir yapı sergilediklerini göstermektedir. Söz konusu negatif yüke sahip olması nanopartiküllerde kümelenmenin ve topaklanmanın olmadığını ortaya koymaktadır (Patil ve ark., 2018).



Şekil 5. *Crataegus monogyna* meyve özütü ile elde edilen altın nanopartiküllerin Zeta Potansiyeli spektroskopi diyagramı

Figure 5. Zeta Potential spectroscopy diagram of gold nanoparticles obtained with *Crataegus monogyna* fruit extract

3.7. Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Biyoyumlu AuNP'lerin aktivitelerini gıda patojenleri üzerinde değerlendirdiğimizde gram pozitif *S. aureus* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde sırası ile 0.056 ve 0.025 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarının etkili olduğu Tablo 1' de görülmektedir. Gram negatif bakterilerden olan *P. aeruginosa* ve *E. coli* üzerinde ise sırası ile 0.50 ve 0.25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonun etkili olduğu görülmektedir. AuNP'lerin etkili oldukları en düşük konsantrasyonun 0.112 $\mu\text{g/mL}$ ile *C. albicans* üzerinde gerçekleştiği görülmüştür. Altın tuzunun çözeltisi ve antibiyotikler ile elde edilen biyoyumlu AuNP'lerin etkilerini karşılaştırdığımızda bu grupların daha düşük konsantrasyonlarda etkili oldukları sonucuna varılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. *Crataegus monogyna* meyve özütü ile elde edilen altın nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri (mg/mL)

Table 1. Antimicrobial activities of gold nanoparticles obtained with *Crataegus monogyna* fruit (mg/mL)

Patojenler	AuNP'ler	AuCl ₄ .3H ₂ O	Antibiyotikler
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0.056	0.25	2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC11774	0.025	0.50	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	0.500	1.00	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC2785	0.250	5.00	1
<i>Candida albicans</i>	0.112	0.125	2

4. Sonuç ve Öneriler

Bilindiği gibi Dünya genelinde antibiyotik dirençliliği ciddi bir sorundur. Özellikle gıda patojenlerine yönelik antimikrobiyal ajan arayışında metalik nanopartiküllerin yeşil sentezinin mevcut e-ISSN: 2148-2683

soruna önemli ölçüde katkı sağlayacağı umut edilmektedir. Bu bağlamda söz konusu çalışmada, meyve atıklarının değerlendirilmesi amacıyla alıç meyvesinin atık olarak görülen kabuklarındaki biyoaktif bileşenlerden kolay, ekonomik ve çevre dostu yöntemle AuNP'lerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen AuNP'lerin küresel morfolojide ve güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür.

Kaynaklar

- Aktepe, N. (2021). Gümüş nano materyallerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktiviteleri. *DÜMF Mühendislik Dergisi*, 12(2), 347-354.
- Aktepe, N. & Baran, A. (2021a). Biosynthesis of AgNPs by extract from waste leaves of *Citrullus lanatus* sp. (watermelon); characterization, antibacterial and antifungal effects. *Progress in Nutrition*, 23(3), e2021243. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.11907>
- Aktepe, N. & Baran, A. (2021b). Fast and Low-Cost Biosynthesis of AgNPs with Almond Leaves: Medical Applications with Biocompatible Structures. *Progress in Nutrition*, 23(3), e2021271. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.11996>
- Aktepe, N., Baran, A., Atalar, M. N., Baran, M. F., Düz, M. Z., Yavuz, Ö., İrtegün Kandemir, S. & Kavak, D. E. (2021). Biosynthesis of Black Mulberry Leaf Extract and Silver NanoParticles (AgNPs): Characterization, Antimicrobial and Cytotoxic Activity Applications. *MAS Journal of Applied Sciences*, 8(8), 685–700. <https://doi.org/10.52520/masjaps.120>
- Atalar, M. N., Baran, A., Baran, M. F., Keskin, C., Aktepe, N., Yavuz, Ö. & İrtegün Kandemir, S. (2021). Economic fast synthesis of olive leaf extract and silver nanoparticles and biomedical applications. *Particulate Science and Technology*, 2021, 1–9. <https://doi.org/10.1080/02726351.2021.1977443>
- Baran, M. F., Keskin, C., Atalar, M. N. & Baran, A. (2021). Environmentally Friendly Rapid Synthesis of Gold Nanoparticles from *Artemisia absinthium* Plant Extract and Application of Antimicrobial Activities. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(1), 365–375. <https://doi.org/10.21597/jist.779169>
- Baran, A. (2021). Eco- friendly, rapid synthesis of silver nanomaterials and their use for biomedical applications. *Dicle University Journal of Engineering*, 12(2), 329–336. <https://doi.org/10.24012/dumf.880878>
- Baran, A., Baran, M. F., Keskin, C., Kandemir, S. I., Valiyeva, M., Mehraliyeva, S., Khalilov, R. & Eftekhari, A. (2021). Ecofriendly/Rapid Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Waste Parts of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and Evaluation of their Cytotoxic and Antibacterial Activities. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/2270472>
- Baran, M. F. (2018). Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using *Pistacia terebinthus* Leaf Extract: Antimicrobial Effect And Characterization. *International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 5(2), 67–75.
- Eren, A. & Baran, M. F. (2019). Synthesis, Characterization and Investigation of Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs). *Turkey Agricultural Research Journal*, 6(2), 165–173. <https://doi.org/10.19159/tutad.493006>
- Francis, S., Joseph, S., Koshy, E. P. & Mathew, B. (2017). Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles using *Mussaenda glabrata* leaf extract and their environmental applications to dye degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 17347–17357. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9329-2>
- Hatipoğlu, A. (2021a). *Abelmoschus esculentus* yaprağı kullanılarak gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi ve bazı gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkileri. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 22(2), 239–246. <https://doi.org/10.17474/artvinofd.971246>
- Hatipoğlu, A. (2021b). Green synthesis of gold nanoparticles from *Prunus cerasifera pissardii nigra* leaf and their antimicrobial activities on some food pathogens. *Progress in Nutrition*, 23(3), e2021241. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.11947>
- Hatipoğlu, A. (2021c). Rapid green synthesis of gold nanoparticles: synthesis, characterization, and antimicrobial activities. *Progress in Nutrition*, 23(3), e2021242. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.11988>
- Jafarizad, A., Safae, K., Vahid, B., Khataee, A. & Ekin, D. (2019). Synthesis and characterization of gold nanoparticles using *Hypericum perforatum* and *Nettle aqueous* extracts: A comparison with turkevich method. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 38(2), 508–517. <https://doi.org/10.1002/ep.12964>
- Pandiyan, N., Murugesan, B., Arumugam, M., Sonamuthu, J., Samayanan, S. & Mahalingam, S. (2019). Ionic liquid - A greener templating agent with *Justicia adhatoda* plant extract assisted green synthesis of morphologically improved Ag-Au/ZnO nanostructure and its antibacterial and anticancer activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 198, 111559. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111559>
- Patil, M. P., Singh, R. D., Koli, P. B., Patil, K. T., Jagdale, B. S., Tipare, A. R. & Kim, G.-D. (2018). Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using *Madhuca longifolia* flower extract as a green resource. *Microbial Pathogenesis*, 121, 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.040>
- Rautray, S. & Rajananthini, A. U. (2020). Therapeutic potential of green, synthesized gold nanoparticles. *BioPharm International*, 33(1), 30–38.
- Talebpour, F. & Ghahghaei, A. (2020). Effect of Green Synthesis of Gold Nanoparticles (AuNPs) from *Hibiscus sabdariffa* on the Aggregation of α -Lactalbumin. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(4), 2297–2306. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10023-9>
- Usman, A. I., Aziz, A. A. & Noqta, O. A. (2019). Green sonochemical synthesis of gold nanoparticles using palm oil leaves extracts. *Materials Today: Proceedings*, 7, 803–807. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.12.078>
- Velmurugan, P., Anbalagan, K., Manosathyadevan, M., Lee, K. J., Cho, MinJung-Hee Park, Sae-Gang Oh, K.-S. B., Oh, B.-T. & Lee, S. M. (2014). Green synthesis of silver and gold nanoparticles using *Zingiber officinale* root extract and antibacterial activity of silver nanoparticles against food pathogens. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(10), 1935–1943. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1169-6>
- Zayadi, R. A. & Bakar, F. A. (2020). Comparative study on stability, antioxidant and catalytic activities of bio-stabilized colloidal gold nanoparticles using microalgae and cyanobacteria. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4), 103843. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103843>