

Gümüş ve Bakır Nanoparçacıkların Üzüm Çekirdeği Ekstresiyle Yeşil Sentez Yöntemiyle Üretimi ve Karakterizasyonu

Zeki KARA^{1*}, Basma Humam Ezzaldeen EZZALDEEN², Metin DOĞAN³, Ahmet AVCI⁴

¹Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Konya; ORCID: 0000-0003-1096-8288

²Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Konya; ORCID: 0000-0001-9490-5676

³Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya; ORCID: 0000-0003-3434-1711

⁴KTO Karatay Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimler Fak., Mekatronik Mühendisliği, Konya; ORCID: 0000-0003-3471-4768

ÖZ

Nanoteknoloji, bilimlerin hızla gelişen çok disiplinli bir alanı haline gelmiştir. Global ölçekte nüfus artışı ve buna bağlı gıda talebindeki hızlı artışa bağlı olarak tarımsal üretim artışının uyum sağlamasında nanoteknolojiden yararlanma çabaları hız kazanmıştır. Bu amaçla, nano ürünler tarımsal verimlilik ve ürün kalitesinin artırılmasında, biyotik ve abiyotik streslerle başa çıkmada giderek daha yoğun kullanılmaktadır. Bu çalışmamızda iki üzüm çeşidinin (Ekşi Kara ve Gök Üzüm) çekirdek ekstraktlarıyla enkapsüle edilmiş Ag nanoparçacıklar (AgNP'ler) ve Cu nanoparçacıklar (CuNP'ler) yeşil sentez yöntemiyle üretilmiştir. AgNP'lerin sentezinde gümüş nitrat (AgNO_3), CuNP'lerin sentezinde bakır klorür ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) kullanılarak dört farklı nanomalzeme sentezlenmiştir. AgNP'ler ve CuNP'lerin FTIR (Fourier transforms infrared spectroscopy) analizinde, solüsyon içerisine yüklenen her iki AgNP'ler ve CuNP'l'erin ve ayrıca adsorbe edilen üzüm çekirdeği ekstraktlarıyla başarılı bir şekilde nanopartikül (NP) iskelet yapısına dâhil olduğu ve yüzey etkileşimi ile farklı fonksiyonel grupların ortaya çıkmasıyla doğrulanmıştır. XRD analizinde, AgNP'lerin ve CuNP'lerin kristal yapıları ve spektrumların oluşturduğu gözlenmiştir. Zirve noktaları tetragonal kristal yapıya atfedilerek üzüm çekirdeği ekstresi bileşeni ve AgNP'ler ve CuNP'ler arasındaki kompleks oluşumunun güçlü bir kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Nanopartiküllerin morfolojik yapılarının belirlenmesi TEM (Transmission electron microscopy) ile karakterize edilmiştir. TEM analizinde, NP'lerin küre veya küreye yakın şekillerde oldukları ve boyutlarının 10-20 nm aralığında olduğu belirlenmiştir. Üretilen AgNP'ler ve Cu NP'lerin bitki gelişinde, biyomedikal, tıbbi ve farmakolojik sahalarda kullanımına uygun olacağı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Üzüm çekirdeği ekstresi, yeşil sentez, gümüş nanoparçacıklar, bakır nanoparçacıklar

Production and Characterization of Silver and Copper Nanoparticles with Grape Seed Extract by Green Synthesis Method

ABSTRACT

Nanotechnology has become a rapidly developing multidisciplinary field of sciences. Efforts to benefit from nanotechnology have accelerated in adapting the increase in agricultural production to the rapid increase in population growth and the resulting food demand on a global scale. For this purpose, nanoproducts are increasingly used to increase agricultural productivity and product quality and to cope with environmental, biotic and abiotic stresses. In this study, Ag nanoparticles (AgNPs) and Cu nanoparticles (CuNPs) encapsulated with seed extracts of two grape varieties (Ekşi Kara and Gök Üzüm) were produced by the green synthesis method. Four different nanomaterials were synthesized by using silver nitrate (AgNO_3) in the synthesis of AgNPs and copper chloride ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) in the synthesis of CuNPs. In the FTIR (Fourier transforms infrared spectroscopy) analysis of AgNPs and CuNPs, both loaded into the solution, as well as adsorbed grape seed extracts, were successfully incorporated into the nanoparticle (NPs) skeleton structure, and different functional groups emerged through surface interaction. It was confirmed by the release. In XRD analysis, it was observed that AgNPs and CuNPs formed crystal structures and spectra. The peaks were attributed to the tetragonal crystal structure and were considered as strong evidence of complex formation between the grape seed extract component in AgNPs and CuNPs. Determination of the morphological structures of NPs were characterized by TEM (Transmission electron microscopy). In the TEM analysis, it was determined that the NPs were spherical or spherical in shape and their sizes were in the range of 10-20 nm. It can be said that the produced AgNPs and CuNPs will be suitable for use in plant growth, biomedical, medical and pharmacological fields.

Keywords: Grape seed extract, green synthesis, silver nanoparticles, copper nanoparticles

GİRİŞ

Nanopartiküller, doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan, boyutları 1-100 nm arasında

değişen, hazırlama yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül olarak adlandırılan ve etkin maddenin partikül içinde çözündürüldüğü, hapsedildiği ve/veya

*Sorumlu yazar / Corresponding author: zkara@selcuk.edu.tr

yüze absorbe edildiği ya da bağlandığı matris sistemlerdir [1, 2]. Nanoteknolojideki tanımı ise bitki, bakteri, mantar, maya, alg, virüs vb. canlı organizmalarla, kimyasallar kullanılarak NP'leri sentezlemektir. Yeşil kimyaya ve diğer biyolojik proseslere karşı artan ilgi bilim insanlarını basit, uygun fiyatlı, biyomedikal ve farmakolojik uygulamalara uyumlu ayrıca geniş bir yelpazede ticari üretime elverişli olma gibi birçok avantaja sahip çevre dostu bir NP'lerin sentezine yönlendirmiştir [3].

NP'lerin sentezi, doğal veya sentetik kaynaklı olabilir ve nano ölçekte benzersiz özellikler sergilerler. Önceki araştırmalarda çeşitli hazırlama yöntemlerini içeren iki temel yaklaşım vardır. İlk yaklaşım, katı maddelerin dış kuvvet/basınç uygulanarak küçük parçalara ayrılması anlamına gelen 'topdown' yaklaşımıdır. 'Aşağıdan yukarıya' olarak bilinen ikinci yaklaşım, atomların veya moleküllerin toplanması ve birleştirilmesine dayanır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımla mükemmel NP'ler sentezlenebilir. Bu yöntemde, uzaklaştırılması gereken atık maddeler yoktur ve boyutlarının daha iyi kontrol edilmesiyle daha küçük boyutta NP'ler elde edilebilir [4].

NP'lerin sentezinin biyolojik veya yeşil yöntemi, NP sentezlemenin çevre dostu bir yolunu sağladığı için kimyasal ve fiziksel yöntemlere bir alternatiftir. Ayrıca yeşil sentez pahalı, zararlı ve toksik kimyasallar gerektirmez. Çeşitli şekil, boyut, içerik ve fizikokimyasal özelliklere sahip metalik NP'ler sentezlenebilir. Son yıllarda biyolojik yöntemler aktif olarak kullanılmaktadır. Yeşil sentez, mantarlar, bakteriler, aktinobakteriler, mayalar, küfler ve algler gibi biyolojik organizmalar ile bitkiler ve bunların ürünleri kullanılarak yapılabilir. Proteinler, enzimler, fenolik bileşikler, aminler, alkaloidler gibi bitkilerdeki veya mikroorganizmalardaki moleküller ve pigmentler NP'lerin sentezinde indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır [2].

Li ve Wei [5], yeşil indirgeyici ajan olarak toksik olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilen kitosan kullanarak $AgNO_3$ tuzlarından AgNP'leri sentezlemiştir. AgNP'lerin yeşil sentezi, $AgNO_3$ 'ün kitosan çözeltisine karıştırılıp ısıtılmasıyla sağlanmıştır. Renkte, renksizden sarımsı kahverengiye bir değişiklik, AgNP'lerin ön onayını vermiştir. Pervane çiçeğinin (*Catharanthus roseus*) yaprak özleri ile $AgNO_3$ reaksiyonu ile AgNP'ler sentezlemiştir. AgNP'lerin oluşumu bu çalışmada da renkteki değişiklikle doğrulanmıştır. CuNP'ler indirgeyici ajan olarak manolya yaprağı özleri kullanılarak biyolojik olarak sentezlenmiş, 40-100 nm boyutunda kararlı NP'ler üretilerek, *Escherichia*

coli'ye karşı antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir [6].

Filippi ve Preziosa [7], Gümüş toksisitesini asma hücre kültürlerinde test etmişlerdir. Bunun için reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, kaspaz-3 benzeri aktivite ve ubiquitin-proteazom sistemi olarak değerlendirilen oksidatif stres ve programlanmış hücre ölümleri (PCD) incelenmiştir. Çalışmada Gümüşün, kaspaz-3 benzeri aktivite ve oksidatif stresin aracılık ettiği asma süspansiyon hücre kültürlerinde PCD'yi indükleyebileceği gösterilmiştir. Jalaluddin ve Jayanti [8], Aloe Vera yaprak ekstresi kullanarak AgNP'leri (~30.5 nm) sentezlemiştir. Aloe Vera yaprak ekstresini sulu $AgNO_3$ çözeltisine ilave edip gece boyunca oda sıcaklığında karanlıkta inkübe etmiştir. $AgNO_3$ 'ün Ag^+ iyonlarına tamamen indirgenmesi, rengin renksizden koloidal kahverengimsi sarıya değişmesiyle doğrulanmıştır.

Mali ve Dhaka [9], *C.paniculatus*'un yaprak ekstresinden basit ve iyi bir yöntemle sentezlenen CuNP'lerin karakterizasyonu çalışmalarında, CuNP'lerin sentezi sırasında stabilize edici ajanların morfolojik özellikleri ve rolü belirlemiştir. TEM ve SEM sonuçlarında, CuNP'ler küresel şekilli ve 2-10 nm boyutunda, tek dağılımlı olarak tanımlanmıştır. Mirzaei ve Ghabooli [10], *Botrytis cinerea* kullanılarak gümüş nanopartiküllerin hücre dışı biyosentezini gerçekleştirmişlerdir. UV-vis spektroskopisi 420 nm'de keskin bir pik göstererek mantar hücre filtratında AgN'lerin oluştuğunu tespit etmişlerdir. TEM ve FTIR analizlerinde AgN'lerin 5.1-13.95 nm, ortalama 8.55 nm çapında küresel olduğu belirlenmiştir. NP'ler mantar tarafından salgılanan proteinlerle kaplandıklarından oluşumlarından sonra üç ay stabil kalmışlardır. Keshari ve Saxena [11], *Catharanthus roseus* yaprak ekstreleri ve $AgNO_3$ kullanarak AgNP'leri sentezlemişler, NP'lerin oluşumu renk değişikliğiyle doğrulanmışlardır.

Geranium ekstresi kullanılarak kararlı kristal AgNP'ler sentezlenmiştir [12]. Carica papaya ekstresiyle hızlı AgNP'ler sentezlenerek birçok insan patojenine karşı yüksek derecede toksik olduğu gösterilmiştir [13]. Kararlı AgNP'lerin biyosentezi siyah çay yaprağı ekstresi [14], çam, ginkgo, Trabzon hurması, manolya, Eucalyptus yaprakları ve *Jatropha curcas* çekirdek ekstreleriyle de gerçekleştirilmiştir [2].

Nano tarımsal malzemeler yakın gelecekte ürün verimi ve gıda güvenliğini kesinlikle artıracaktır. Sürdürülebilir tarımda, NP'ler bitkisel üretim girdilerinin daha iyi yönetilmesi ve korunması için bir güvence sağlamaktadır. NP'lerin potansiyeli, tarım risklerini azaltan yeni bir yeşil devrimi teşvik

etmektedir. Bununla birlikte, farklı NP'lerin özellikleri, izin verilecek sınırları ve ekotoksitesitesi hakkındaki bilgilerimizde hala büyük boşluklar vardır [15, 16]. Bu nedenle, özellikle yeşil sentezle üretilen nano tarım girdilerinin üretilmesi, davranışı ve bunların canlı sistem ve ortamlarda etkileşimlerinin belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, 2 farklı üzüm çeşidi çekirdek ekstraktları ve AgNO₃ kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle iki tip AgNP'ler üretilmiş, boyut ve karakterleri incelenmiştir. Aynı üzüm ekstraktları ve Cu₂(OH)₃Cl kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle iki tip CuNP'ler üretilmiş, boyut ve karakterleri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada çekirdek ekstraktları kullanılan Ekşi Kara ve Gök Üzüm, Orta Torosların İç Anadolu Bölgesindeki bağ alanlarında yaygın olarak antik dönemlerden beri yetiştirilmekte olan, yöreye adaptasyonu mükemmel, sofralık, kurutmalık ve şıralık olarak değerlendirilen çeşitlerdir [17]. Üzüm örnekleri Konya ili Hadim ilçesi Yağcı Köyünde (37°05'13"00 K Enlem ve 32°62'08"65 D Boylam) üretici bağından temin edilmiş, çekirdekleri alınarak ekstraktları kullanılmıştır. AgNO₃ (Cas no 7761-88-8) ve Cu₂(OH)₃Cl (Cas no 7447-39-4) Nanokar Nanotechnology firmasından temin edilmiştir. AgNO₃ ve Cu₂(OH)₃Cl kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle AgNP'ler ve CuNP'ler sentezlenmiştir.

Gümüş nitrat

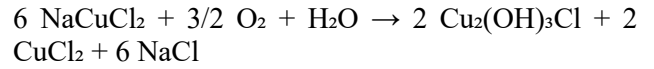
Nitrat, (kim. formülü: NO₃⁻), kimyada bir azot ve üç oksijen atomundan oluşan bir nitrik asit (kim. formülü: HNO₃) tuzu iyonudur. Organik kimyada, nitrik asit ve bazı alkollerin esterlerine nitrat adı verilir. Moleküler ağırlığı 62.0049'dur. Moleküler geometrisi düzlem üçgendir ve oksijen atomları arasındaki açı 120 derecedir.



Gümüş nitrat gümüş tuzudur. Kimyasal formülü AgNO₃ şeklindedir. Rengi ve kokusu yoktur. Ağır kristallik yapıdadır. Antibakteriyel özelliğe sahiptir. Suda kolay çözüldüğü için farklı gümüş bileşikleri elde etmede sıklıkla tercih edilir. Çalışma kapsamında AgNO₃ Nanokar Nanotechnology firmasından temin edilmiştir. %99.7 saflık derecesine sahiptir. Erime noktası 212°C, kaynama noktası 444°C'dir. pH değeri 5.4-6.4 arasındadır. Üzüm çekirdeği ekstresi ile enkapsüle AgNP'lerin üretiminde gümüş kaynağı olarak kullanılmıştır [18].

Bakır II klorür

Bakır II klorürün formülü Cu₂(OH)₃Cl olup tribazik bakır klorür (TBCC), bakır trihidroksil klorür ya da dibakırklorür trihidroksit olarak da adlandırılır. Maden yataklarında, metal korozyon ürünlerinde, sanayi ürünlerinde, sanat ve arkeolojik eserlerde ve bazı canlı sistemlerde bulunan yeşilimsi bir kristaldir. İlk başlarda endüstriyel ölçekte bir kimyasal ara ürün veya bir fungusit olarak kullanılmak için üretilmiştir. 1994 yılından itibaren hayvanlar için saflaştırılmış kristalize ürün halinde besin takviyesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Cu₂(OH)₃Cl tuz çözeltisi içindeki Cu(I)Cl'nin hava oksidasyonu ile hazırlanabilir. Cu(I)Cl çözeltisi genellikle CuCl₂ çözeltisinin çok fazla Cu metaliyle indirgenmesi sonucunda elde edilir. Cu(II) tamamen indirgeninceye kadar, derişik tuzlu su çözeltisi içindeki CuCl₂ çözeltisi Cu metaliyle temasta olur. Elde edilen Cu(I)Cl daha sonra 60-90°C'ye ısıtılır, oksidasyon uygulaması için hava verilerek hidrolize edilir. Oksidasyon reaksiyonu Cu metali veya Cu metali olmaksızın gerçekleştirilebilir. Çökelen ürün ayrıldıktan sonra CuCl₂ ve NaCl içeren ana çözelti işlemin başına geri döndürülür.



Bu işlemle elde edilen ürünün parçacık boyutu 1-5 µm olup tarımsal fungusit olarak kullanılabilir [19].

Metot

Üzüm çekirdeği ekstresinin hazırlanması

Çalışmanın bu bölümü Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü laboratuvarlarında yürütülmüştür. Denemede kullanılan Ekşi Kara (siyah taneli) ve Gök Üzüm (beyaz taneli) çeşitlerinin salkımları sıkılarak çekirdekleri ayrılmış, çeşme suyu ve saf suyla yıkanarak sıra ve posadan arındırılıp, gölgede kurutularak bez torbalar içerisinde deneme zamanına kadar ısıtmasız oda şartlarında muhafaza edilmiştir. Üzüm çekirdeklerinden ekstrakt elde etmek için öğütülerek toz haline getirilen üzüm çekirdeğinden 10 gramı 1000 ml'lik cam kavanoza alınarak de iyonize su içerisine koyup karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiş ve arkasından filtre edilerek muhafaza edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstresi kateşin monomerlerinin karışımlarını ifade eder. Değişik miktarlarda monomerleri, oligomerleri, daha yüksek oligomerleri ve bir flavan 3-ol molekülü kateşin polimerleri vardır. Bu biyoaktif bileşenler indirgeyici ajanlar ve hidrojen veren antioksidanlardır. İçsel özellikleri polifenolün doğasından kaynaklanmaktadır. Literatürde üzüm çekirdeği ekstresiyle AgNP'lerin üretimine yönelik tek bir çalışma [20] yapılmıştır.

Üzüm çeşitlerinin çekirdek ekstre kompozisyonları farklı olduğundan iki üzüm çeşidi çekirdeği ekstresi kullanılmıştır.

AgNO₃ çözeltisinin hazırlanması

0.1 M AgNO₃ çözeltisi elde etmek için, 250 ml saf suya 4.247 g AgNO₃ ilave edilerek 20 dakika manyetik karıştırıcıyla (200 devir/dakika) karıştırılmış, karışım güneş ışığından korunması için AgNO₃ çözeltisi hazırlandıktan sonra balon jöjeye doldurulup alüminyum folyo ile kaplanarak muhafaza edilmiştir.

Üzüm çekirdeği ekstresiyle enkapsüle gümüş nanopartikül (AgNP'lerin) sentezi

Çalışmanın bu bölümü Necmettin Erbakan Üniversitesi Havacılık ve Uzay Bilimleri Fakültesi Havacılık ve Uzay Mühendisliği laboratuvarlarında yürütülmüştür. Üzüm çekirdek ekstresi ve AgNO₃ kullanılarak enkapsüle gümüş nanopartikül (AgNP'ler) üretimi 'Yeşil sentez' yöntemiyle yapılmıştır. Üretim aşamaları sırası ile üzüm çekirdek ekstresi hazırlanması, AgNO₃ çözeltisinin hazırlanması, UV-Vis spektrometre analizi ile Gümüşün nanometre boyutlarına indirgenebildiği solüsyon oranlarının belirlenmesi ve Üzüm çekirdeği ekstresi, AgNO₃ çözeltisi, saf sudan oluşan çözeltide meydana gelen indirgenme reaksiyonları sonucu elde edilen kırmızımsı kahve renkli solüsyondan saf suyun etüvde buharlaştırılmasıyla Üzüm çekirdeği ekstresi ile AgNP'lerin üretimi süreçlerinden oluşmaktadır.

İçerisinde 5 ml de-iyonize su bulunan 100 ml'lik bir behere filtre edilmiş üzüm çekirdeği ekstresinden 3 ml konulmuş ve üzerine 0.1 M AgNO₃'tan 2 ml damla damla ilave edilmiştir. Bu karışım bir manyetik karıştırıcıda 200 devir/dakika 5 dakika süreyle karıştırılmış, arkasından karışımın bulunduğu beher Al folyo ile ışık görmeyecek şekilde sarılmış ve 24 saat oda sıcaklığında kimyasal reaksiyonun tamamlanması için bekletilmiştir. Daha sonra geniş bir kaba alınan solüsyon 200°C sıcaklıkta suyun uçup AgNP'ler kabın dibine çökelineye kadar kurutulup kabın dibinden kazınarak alınmış, FTIR, XRD, TEM analizleri ve sonraki uygulamalarda kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Üzüm çekirdeği ekstresiyle enkapsüle bakır nanopartikül (CuNP'lerin) sentezi

Çalışmanın bu bölümü Necmettin Erbakan Üniversitesi Havacılık ve Uzay Bilimleri Fakültesi Havacılık ve Uzay Mühendisliği laboratuvarlarında yürütülmüştür. Üzüm çekirdeği ekstresiyle enkapsüle CuNP'lerin sentezi Yeşil sentez yöntemiyle yapılmış ve bu maksatla yukarıda üretim süreci verilen iki üzüm çeşidinin çekirdek ekstreleri Cu₂(OH)₃Cl

kullanılmıştır. 0.1 M CuNO₃ çözeltisi elde etmek için, 250 ml saf suya 5.339 g Cu₂(OH)₃Cl ilave edilerek 20 dakika manyetik karıştırıcıda 200 devir/dakika karıştırılmıştır. AgNP'lerin üretiminde olduğu gibi içerisinde 5 ml de-iyonize su bulunan 100 ml'lik bir behere filtre edilmiş ekstreden 3 ml konulmuş ve üzerine 0.1 M Cu₂(OH)₃Cl'den 2 ml damla damla ilave edilmiştir. Bu karışım bir manyetik karıştırıcıda 200 devir/dakikada 10 dakika süreyle karıştırılmış, arkasından karışımın bulunduğu beher Al folyo ile ışık görmeyecek şekilde sarılmış ve 24 saat oda sıcaklığında kimyasal reaksiyonun tamamlanması için bekletilmiştir. Benzer şekilde 200 derece fırında su uçurularak kabın tabanına çöken CuNP'ler kazınarak alınmış, FTIR, XRD, TEM ve sonraki uygulamalar için muhafaza edilmiştir.

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

FTIR analizleri Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (Selçuk İLTEK) laboratuvarında yapılmıştır. FTIR, her dalga boyunun ayrı ayrı taranmasına gerek kalmadan hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde etmeyi sağlar. Bir materyalin örneklerine kızılötesi radyasyon (IR) uygulanmasıyla gerçekleştirilen FTIR analizi, materyal tarafından absorbe edilen kızılötesi bölgedeki dalga boylarının aralığını ölçer. İki farklı üzüm çekirdeği ekstresiyle üretilen AgNP'ler ve CuNP'ler materyallerinin fonksiyonel gruplarını saptamak için FTIR cihazı ile (Thermo Scientific-Nicolet iS20) analiz yapılmıştır. Analizler 400-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir.

X-ışını kırınım (XRD) analizi

XRD analizleri Selçuk İLTEK laboratuvarında yapılmıştır. XRD analizi, bir materyalin kristalografik yapısını belirlemek için malzeme biliminde kullanılan bir tekniktir. CuNP'ler ve AgNP'lerin kristal fazlarını tanımlamak ve böylece kimyasal bileşim bilgilerinin tespiti amacıyla XRD (PANalytical Empyrean) analizi yapılmıştır. Ölçüm sırasında tarama hızı 1°/dakikaya, tarama aralığı 0° ile 80° aralığına ve adım boyutu 0.05°'ye ayarlanmıştır.

Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) analizi

TEM analizleri Selçuk İLTEK laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmamızdan yeşil sentez yöntemiyle ürettiğimiz CuNP'ler ve AgNP'lerin morfolojisi ve parçacık boyutları TEM analiziyle incelenmiştir. TEM analizi için 200 mesh karbon kaplı Cu gridler kullanılmıştır. Nanopartikül çözeltilerinden grid üzerine bir damla bırakılıp, birkaç saniye sonra yüzeydeki çözeltinin fazlası bir süzgeç kâğıdına dikkatli bir şekilde emdirilerek kaplanan gridler oda

sıcaklığında bir gece kurutulmuş ve cihazdaki görüntüleri alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

FTIR Analizi

Bu yöntemle NP'lerin sentezinde stabilizatör olarak işlev gören biyo-organik bileşenler öne çıkmıştır. Numuneler 400-4000 cm^{-1} aralığındaki kızılötesi ışığına maruz bırakılarak analiz edilmiştir. FTIR analizlerinde üzüm çekirdeği ekstraktlarıyla sentezlenen Ekşi Kara AgNP'ler, Gök Üzüm AgNP'ler ve Ekşi Kara CuNP'ler, Gök Üzüm CuNP'ler oluşum sırasında metal tuzunun indirgenmesi ve NP'lerin yapısında kaplayıcı olarak rol oynayan fonksiyonel grupların varlığı belirlenmiştir (Şekil 3.1).

Ekşi Kara AgNP'lerin FTIR spektrumu karakteristik noktaları 2665.14 cm^{-1} 74 noktasında fenol grubu içeren üzüm çekirdek ekstresi bileşeninin benzer halkası olarak O-H deformasyonu ve C-O gerilme titreşim etkileşimini, 1275.21 cm^{-1} noktasında CH alkin gruplarının -C≡CH gerilme titreşimini, 960.52 cm^{-1} noktasında alifatik grupların NEC gerilme titreşimini, 793.50 cm^{-1} noktasında birincil aminlerin N-H düzlem dışı bükülme titreşimlerini, 723.29 cm^{-1} noktasında vinilidenlerin CH₂ düzlem dışı deformasyon titreşimini temsil etmiştir [21].

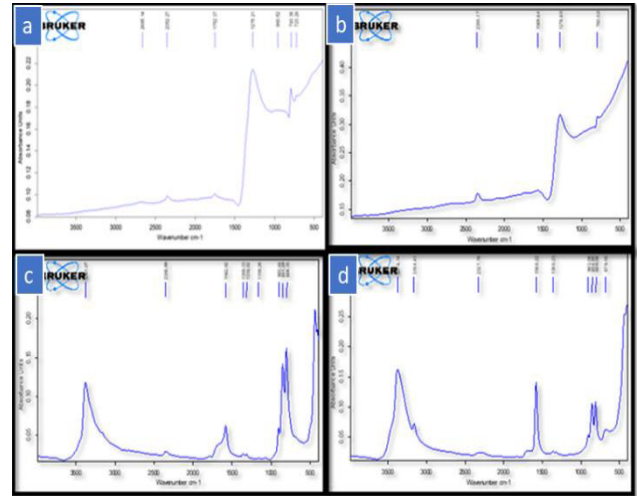
Gök Üzüm AgNP'lerin FTIR spektrumu, fenol ve alkol gruplarına atfedilen hidrojen bağlı gerilme titreşimleri için 2355.17 cm^{-1} 'de bir bant göstermiştir. 1278.80 cm^{-1} noktasında CH alkin gruplarının -C≡CH gerilme titreşimini, 793.50 cm^{-1} noktasında alifatik grupların NEC gerilme titreşimini temsil etmiştir [22].

Ekşi Kara CuNP'lerin FTIR spektroskopisinde karakteristik noktası 3381.07 cm^{-1} civarında gerçekleşen absorpsiyon bantları ile 1582.02 cm^{-1} , 804.35 cm^{-1} NP yapısında alken (C=C) aromatik grubu olduğu görülmüştür [23].

Gök üzüm CuNP'lerin FTIR spektroskopisinde karakteristik noktası 3378.14 cm^{-1} 'deki keskin pik, karboksilik asitlerin karakteristik O-H gerilme titreşim bantlarını ve C-H gerilmelerini temsil etmiştir. 1580.22 cm^{-1} , 809.08 cm^{-1} absorpsiyon piki birincil ve ikincil alkollerin C-O grubunun gerilme titreşimidir [24].

Gultekin ve Nadaroglu [23], benzer çalışmalarında incir (*Ficus carica*) ekstresiyle ürettikleri CuONP'lerin FTIR spektrumunda, 1650 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon bandının alken grubunun (C=C) aromatik bükülmesine atfedilebileceğini, 1060.0 cm^{-1} 'deki soğurma pikini birincil ve ikincil alkollerin (C-O) C-O grubunun

gerilme titreşimi olarak tanımlamıştır. Başka bir çalışmada karanfil ekstresiyle üretilen AgNP'lerin FTIR spektroskopisinde, karanfil ekstresinin AgNP'lerin yüzeyinde absorbe edilen, Ag⁺'dan indirgenmeleri ve topaklaşmanın önlenmesini sağlayan bir kapatma ve indirgeme maddesi olarak davrandığı belirlenmiştir [19]. Jamuna ve Banu [25], Soya (*Desmodium gangeticum*) ekstresiyle sentezlenen TiO₂NPs'in karakterizasyonuna yönelik UV-vis analizinde ürünün keskin bantlarla küresel yapıda olduğunu belirlemişlerdir. FTIR analizinde gerçekleşen absorpsiyon bantlarıyla NP yapısında, O-H, C=C ve C=H gibi fonksiyonel grupların olduğu gösterilmiştir. NP'lerin SEM analizinde yaklaşık 31 nm boyutunda ve yuvarlak yapıda olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. FTIR spektroskopileri a) Ekşi Kara AgNP'ler, b) Gök Üzüm AgNP'ler, c) Ekşi Kara CuNP'ler, d) Gök Üzüm CuNP'ler

Sankar ve Manikandan [26], kavun (*Carica papaya*) ekstresiyle CuONP'leri sentezleyip karakterizasyonunu belirlemiştir. FTIR analizinde CuNP'lerin yapısında N-H (amid), C-H (alken), C=O, C-O (anhidrit) gibi fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Bu analizde 473 cm^{-1} bantlarında Cu-O bağlandığı gözlenmiştir. Geetha ve Ashokkumar [27], AuNP'leri Gülle ağacı (*Couroupita guianensis*) ekstresiyle üreterek karakterizasyonu belirlemişler ve sitotoksik etkisine bakmışlardır. FTIR analizinde, AuNP'lerin fonksiyonel grupları belirlenmiştir. HL-60 cells hücrelerine karşı AuNP'lerin apoptozis ve sitotoksik olduğuna dair bulgular elde edilmiş ve bu sonuçlarla antikanser çalışmalarında kullanılmasını önerilmişlerdir.

XRD Analizi

X ışını kırınımı, farklı fazlar, yapı ve kristal oryantasyonu hakkında bilgi veren analitik metot

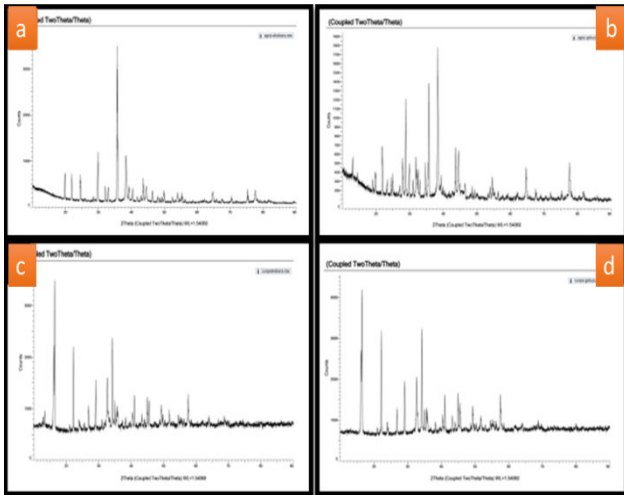
olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda NP'lerin kristal yapılarını belirlemek amacıyla XRD analizi kullanılmış ve analiz diyagramları Şekil 2'de sunulmuştur.

Ekşi Kara AgNP'lerin XRD haritasında 2 teta düzleminde 29.871°, 38.380°, 43.648° ve 81.727°'de gözlenen pikler sırası ile 111, 200, 220, 311 kristografik düzlemlerine karşılık gelmekte olup toz kırınımı standartları ortak komitesiyle (JCPDS NO 36-1451) uyumludur.

Gök Üzüm AgNP'lerin XRD haritasında 2 teta düzleminde 21.881°, 28.831°, 35.701°, 38.361°, 43.686°, 77.568° ve 81.701°'de gözlenen pikler sırası ile 100, 002, 101, 200, 102, 110, 103 ve 112 düzlemlerine karşılık gelmekte olup toz kırınımı standartları ortak komitesiyle (JCPDS NO 36-1451) uyumludur.

Ekşi Kara CuNP'lerin XRD haritasında 2 teta düzleminde 34.232°, 57.585° ve 68.786°'de gözlenen pikler sırası 210, 111, 220 düzlemine karşılık gelmekte olup toz kırınımı standartları ortak komitesiyle (JCPDS NO 36-1451) uyumludur.

Gök Üzüm CuNP'lerin XRD haritasında 2 teta düzleminde 34.206°, 57.559° ve 79.935°'de gözlenen pikler sırası ile 111, 200, 220, düzlemine karşılık gelmekte olup toz kırınımı standartları ortak komitesiyle (JCPDS NO 36-1451) uyumludur [18].



Şekil 2. XRD analiz diyagramları a) Ekşi Kara AgNP'ler, b) Gök Üzüm AgNP'ler, c) Ekşi Kara CuNP'ler, d) Gök Üzüm CuNP'ler

Ekşi Kara ve Gök Üzüm ekstraktlarıyla sentezlenen AgNP'lerin XRD modellerindeki keskin zirveler, özellikle 35.778°, 38.361° 2 teta değerleri, her iki üzüm çeşidi ekstresiyle sentezlenen AgNP'lerin yüksek kristallığe sahip olduğunu göstermektedir. Ekşi Kara ve Gök Üzüm ekstraktlarıyla sentezlenen CuNP'lerin XRD modelindeki keskin zirveler, yüksek kristallığe sahip 16.203°, 16.401° 2 teta

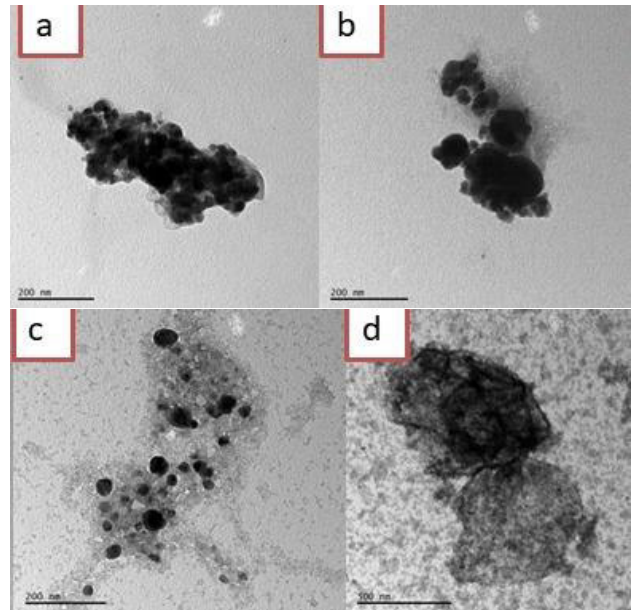
değerlerine karşılık gelen kırınım lar vermiştir. Bu, Ekşi Kara AgNP'ler ve Gök Üzüm AgNP'ler ile Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'lerin levhalarının yüzeyinde ve içinde var olduğu anlamına gelmektedir [28].

Daha önce yapılan benzer bir çalışmada [29] Küba kekiği (*Plectranthus amboinicus*) ekstresiyle ZnONP'lerin sentezi ve karakterizasyonuna yönelik XRD analizinde ürünün saf bir kristal yapıda olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Sankar ve Manikandan [26], kavun (*Carica papaya*) ekstresiyle CuONP'leri sentezleyip karakterizasyonuna yönelik XRD analizinde kristal yapı belirlemiştir.

TEM Analizi

Tarafımızdan sentezlenen Ekşi Kara AgNP'ler ve Gök Üzüm AgNP'lerde ve aynı zamanda Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'lerin boyutlarını incelemek için TEM analizleri yapılmış, elde edilen TEM görüntüleri Şekil 3'te verilmiştir. TEM görüntülerinin alınması için 200 mesh karbon kaplı Cu gridler kullanılmıştır. NP'lerin çözeltilerinden Cu grid üzerine bir damla bırakılıp, birkaç saniye sonra yüzeydeki çözeltinin fazlası bir süzgeç kağıdına dikkatli bir şekilde emdirilmiş, kaplanan gridler oda sıcaklığında bir gece kurutulmuş ve TEM analizi cihazında görüntüleri alınmıştır.

Ekşi Kara AgNP'lerin TEM görüntülerinde NP'lerin küresel form oluşturduğu görülmüş, TEM analizi sonucuna göre ortalama agregat çapının 200 nm olduğu ve ortalama NP'lerin çapı 12 nm olarak belirlenmiştir.



Şekil 3. TEM analizi görüntüleri, a) Ekşi Kara AgNP'ler, b) Gök Üzüm AgNP'ler, c) Ekşi Kara CuNP'ler, d) Gök Üzüm CuNP'ler

Gök Üzüm AgNP'lerin TEM görüntülerinde NP'lerin küresel form oluşturduğu görülmüş, TEM analizi sonucuna göre ortalama agregat çapının 200 nm olduğu, tek bir partikülün ortalama çapının 20 nm'den küçük olduğu belirlenmiştir.

Ekşi Kara CuNP'lerin TEM görüntüleri incelendiğinde NP'lerin küresel form oluşturduğu görülmüş, TEM analizi sonucuna göre ortalama agregat çapının 500 nm olduğu ve ortalama NP'lerin çapı 20 nm olarak belirlenmiştir.

Gök Üzüm CuNP'lerin TEM görüntüleri incelendiğinde NP'lerin küresel form oluşturduğu görülmüş, TEM analizi sonucuna göre ortalama agregat çapının 200 nm olduğu ve ortalama NP'lerin çapı 10 nm olarak belirlenmiştir.

TEM görüntülerinden, image proplus 6 programı kullanılarak ortalama partikül çapları hesaplanmıştır. TEM analiz sonucunda gümüş ve bakır nanopartiküllerinin ortalama büyüklüğünün ≤ 20 nm olarak belirlenmiştir. Tanecik boyutunun homojen bir dağılım göstermiştir. Sentezlenen AgNP'lerin genellikle küresel şekillerde olduğu bununla birlikte üçgen ve tetragonal şekillerde olduğu tespit edilmiştir.

TEM sonuçları literatürdeki bazı çalışmalarla karşılaştırılmış ve elde edilen TEM sonuçlarının literatürle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Song vd. [30], yeşil sentez ile elde ettikleri AgNP'lerin TEM görüntülerini almışlar ve buna göre nispeten NP'lerin küresel bir yapıya sahip olduğunu ve parçacık boyutunun ortalama 32 nm çapında olduğunu belirlemişlerdir. Dubey vd. [31], yeşil sentezle ürettikleri AgNP'lerin TEM görüntülerine göre NP'lerin çoğunlukla üçgen ve küre, bazı NP'lerin de altıgen şekillerde olduğunu, NP'lerin boyutunun ise ortalama 10–40 nm aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Mousavi vd. [32], *Artemisia turcomanica* yaprak ekstresi kullanarak ürettikleri AgNP'lerin TEM görüntülerinden ortalama 21 nm çaplı, küresel yapıya sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Qidwai vd. [33], yeşil sentez yöntemiyle *Phoenix sylvestris* L. çekirdek ekstresi kullanılarak ürettikleri AgNP'lerin TEM görüntülerini analiz ederek 40–50 nm boyutunda ve küresel şekilli olduğunu belirlemişlerdir.

SONUÇ

Bu çalışmada Ekşi Kara ve Gök Üzüm olmak üzere iki farklı üzüm çekirdeği ekstresi ve AgNO₃ kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle Ekşi Kara AgNP'ler, Gök Üzüm AgNP'ler üretilmiştir. Aynı yöntemle iki üzüm çeşidinin çekirdek ekstreleri ve Cu₂(OH)₃Cl kullanılarak Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'ler üretilmiştir. 4 ay sonuna kadar

AgNP'lerin üretildiği dönemdeki kahve renkli renklerini korumuşlardır. Benzer şekilde CuNP'ler üretildiğinde mavimsi yeşil renk almış ve bu rengini 4 ay sonuna kadar korumuş, çökme olmamıştır.

FTIR analizinde solüsyon içerisine yüklenen Ekşi Kara AgNP'ler ve Gök Üzüm AgNP'ler ile Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'ler ve ayrıca absorbe edilen üzüm çekirdeği ekstresinin başarılı bir şekilde NP'lerin iskelet yapısına dâhil olduğu doğrulanmıştır. XRD analizinde üzüm çekirdeği ekstresiyle sentezlenen Ekşi Kara AgNP'ler ve Gök Üzüm AgNP'ler ile Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'lerin doğal kristal yapıda olduğu açıkça görülmüştür. Keskin zirve noktaları tetragonal kristal yapıya atfedilerek üzüm çekirdeği ekstresi bileşeni Ekşi Kara AgNP'ler ve Gök Üzüm AgNP'ler ile Ekşi Kara CuNP'ler ve Gök Üzüm CuNP'ler arasındaki kompleks oluşumlar kanıtlanmıştır. TEM analiz sonucunda AgNP'lerin ortalama büyüklüğünün kullanılan üzüm çeşidine göre değiştiği belirlenmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin genellikle küresel şekillerde olduğu bununla birlikte çok daha az olmak üzere üçgen ve tetragonal şekillerin de olduğu tespit edilmiştir. Farklı üzüm çekirdek ekstrelerinden özellikleri birbirine yakın ancak farklı boyutlarda AgNP'ler ve CuNP'lerin üretilmesi, çekirdek ekstre bileşen farklılıklarına atfedilmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda, boyutu 20 nm'den küçük AgNP'ler ve CuNP'lere ihtiyaç duyulduğunda Ekşi Kara ve Gök Üzüm çekirdek ekstreleri bu çalışmayla tespit edilen Yeşil Sentez protokolünü kullanılarak üretilen AgNP'ler ve Cu NP'lerin bitki gelişinde, biyomedikal, tıbbi ve farmakolojik sahalarda kullanımına uygun olacağı söylenebilir. Bu çalışmayla, üzüm çekirdeklerinin katma değeri yüksek, küçük boyutlu, sentez yöntemine bağlı olarak toksik olmayan AgNP'ler ve CuNP'lerin üretiminde değerlendirilmesine yönelik yeni bir kullanım alanı ortaya konulmuştur

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Doktora tez çalışması olarak planlanmıştır. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi ile Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü laboratuvar imkânlarıyla yürütülmekte olan doktora tez çalışmasının bir bölümüdür. Desteklerinden dolayı Selçuk Üniversitesi ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Akademisyen ve laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Gazioğlu Şensoy, R.İ., F. Balta, R. Cangi 2009. Bazı sofralık üzüm çeşitlerinin Van ekolojik koşullarındaki etkili sıcaklık toplamı değerlerinin belirlenmesi. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 13(3):49-59.
2. Gerami, Z. et al. 2022. The mechanisms involved in the synthesis of biogenic nanoparticles, in *Nano-enabled Agrochemicals in Agriculture*, Elsevier, pp:63-77.
3. Philip, D. 2009. Biosynthesis of Au, Ag and Au-Ag nanoparticles using edible mushroom extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 73(2):374-381.
4. Singh, K.P., S. Jahagirdar, B.K. Sarma 2021. *Emerging Trends in Plant Pathology*, Springer.
5. Li, W., et al. 2009. Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors. *Cell Stem Cell* 4(1):16-19.
6. Harikumar, P., A. Aravind 2016. Antibacterial activity of copper nanoparticles and copper nanocomposites against *Escherichia coli* bacteria. *Int. J. Sci.* 5(2):83-90.
7. Filippi, M. et al. 2019. Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain*, 142(7):1858-1875.
8. Jalaluddin, M. et al. 2019. Antimicrobial activity of *Curcuma longa* L. extract on periodontal pathogens. *Journal of Pharmacy&Bioallied Sciences* 11(Suppl 2):203.
9. Mali, S.C. et al. 2020. Green synthesis of copper nanoparticles using *Celastrus paniculatus* Willd. leaf extract and their photocatalytic and antifungal properties. *Biotechnology Reports* 27:e00518.
10. Mirzaei, S., A. Ghabooli, M. Mirzaei 2020. *Botrytis cinerea*, one of the most destructive plant pathogens, as a potent to produce silver nanoparticles. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 16(4):243-248.
11. Keshari, A. et al. 2021. Analyzing the phytochemistry and anti-oxidant property of fabricated silver nanoparticles using *Catharanthus roseus* leaf extract. *Research Journal of Biotechnology* 16:12.
12. Shankar, S.S., A. Ahmad, M. Sastry 2023-a. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology Progress* 19(6):1627-1631.
13. Balavijayalakshmi, J., V. Ramalakshmi 2017. *Carica papaya* peel mediated synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity against human pathogens. *Journal of Applied Research and Technology* 15(5):413-422.
14. Begum, N.A. et al. 2009. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of black tea leaf extracts. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 71(1):113-118.
15. He, X., H. Deng, H.-M. Hwang 2019. The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis* 27(1):1-21.
16. Li, M. et al. 2016. Brassinosteroid ameliorates zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress by improving antioxidant potential and redox homeostasis in tomato seedling. *Frontiers in Plant Science* 7:615.
17. Kara, Z., A. Sabır, Ö. Eker 2019. Ancient grape *Vitis vinifera* L. cv 'Ekşi Kara' in Anatolia. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences* 32(3):416-423.
18. Güneş Çimen, C., et al. 2022. Enhancement of PCL/PLA Electrospun nanocomposite fibers comprising silver nanoparticles encapsulated with *Thymus vulgaris* L. molecules for antibacterial and anticancer activities. In *ACS Biomaterials Science & Engineering*, pp:3717-3732.
19. Kamçı, H., T. Recep, H.U. Çelebioğlu 2022. Antibacterial activity of copper nanoparticles synthesized by using *Peumus boldus* leaf extract. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2022(36):139-142.
20. Kara, Z., et al. 2021. Silver nanoparticles synthesis by grape seeds (*Vitis vinifera* L.) extract and rooting effect on grape cuttings. *Erwerbs-Obstbau* 63(1):1-8.
21. Güneş Çimen, C. et al. 2022. Enhancement of PCL/PLA electrospun nanocomposite fibers comprising silver nanoparticles encapsulated with *Thymus vulgaris* L. molecules for antibacterial and anticancer activities. *ACS Biomaterials Science & Engineering* 8(9):3717-3732.
22. Nqunqa, S. et al. 2022. *Musa paradaisica* and *Vitis vinifera* functionalized Ag-NPs: electrochemical and optical detection of *Escherichia coli* in seawater. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology* 12(3):35-59.
23. Gultekin, D.D. et al. 2017. Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles using Cimin grape (*Vitis vinifera* cv.) extract. *International Journal of Secondary Metabolite* 4(3, Special Issue 1):77-84.
24. Murthy, H. et al. 2018. A review on green synthesis of Cu and CuO nanomaterials for multifunctional applications. *Mater. Sci. Res. India* 15(3):279-295.
25. Jamuna, K. et al. 2014. Nano-scale preparation of titanium dioxide by *Desmodium gangeticum* root

- aqueous extract. *Ceramics International* 40(8):11933-11940.
26. Sankar, R. et al. 2014. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 121:746-750.
27. Geetha, R., et al. 2013. Green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer activity. *Cancer Nanotechnology* 4(4):91-98.
28. Vardhana, J. et al. 2022. Biogenic synthesis of copper nanoparticles using *Vitis vinifera* L. seed extract, and its in-vitro biological applications. In *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* pp:1-4.
29. Agarwal, H., S.V. Kumar, S. Rajeshkumar 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles-An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies* 3(4):406-413.
30. Song, L., Ming-Pei et al. 2009. Piezoelectric nanogenerator using p-type ZnO nanowire arrays. *Nano Letters* 9(3):1223-1227.
31. Dubey, S.P., M. Lahtinen, M. Sillanpää 2010. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochemistry* 45(7):1065-1071.
32. Mousavi, B., F. Tafvizi, S. Zaker Bostanabad 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia turcomanica* leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* 46(sup1):499-510.
33. Qidwai, A. et al. 2018. Advances in biogenic nanoparticles and the mechanisms of antimicrobial effects. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 80(4).