

T.C
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



AROMATİK BİTKİLERDEN OLAN MERCANKÖŞKÜN,
ANTİMİKROBİTAL ÖZELLİKLERİNİN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL
SENTEZİ İÇİN UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ece BEKTAŞ

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı
Beslenme ve Diyetetik Programı

EYLÜL, 2019

T.C
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**AROMATİK BİTKİLERDEN OLAN MERCANKÖŞKÜN,
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL
SENTEZİ İÇİN UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ece BEKTAŞ

Y1716.050002

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı

Beslenme ve Diyetetik Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Serap ANDAÇ ÖZTÜRK

Eş Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Erdem Tezcan

EYLÜL, 2019

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ



YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Enstitümüz Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme ve Diyetetik Tezli Yüksek Lisans Programı Y1716.050002 numaralı öğrencisi Ece BEKTAŞ'ın "AROMATİK BİTKİLERDEN OLAN MERCANKÖŞKÜN, ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ İÇİN UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 27.08.2019 tarih ve 2019/10 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Tezli Yüksek Lisans tezi 23.09.2019 tarihinde kabul edilmiştir.

	<u>Unvan</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>Üniversite</u>	<u>İmza</u>
ASIL ÜYELER				
Danışman	Dr. Öğr. Üyesi	Serap ANDAÇ ÖZTÜRK	Istanbul Aydın Üniversitesi	
Eş Danışman	Dr. Öğr. Üyesi	Erdem TEZCAN	Istanbul Gedik Üniversitesi	
1. Üye	Dr. Öğr. Üyesi	Indrani KALAKN	Istanbul Aydın Üniversitesi	
2. Üye	Dr. Öğr. Üyesi	İkbal Süheyla ALTAY	Istanbul Aydın Üniversitesi	
3. Üye	Dr. Öğr. Üyesi	Gökçen GARİPOĞLU	Bahçeşehir Üniversitesi	
YEDEK ÜYELER				
1. Üye	Dr. Öğr. Üyesi	Elif Merve KAHRAMAN	Istanbul Aydın Üniversitesi	
2. Üye	Dr. Öğr. Üyesi	Nazlı BATAR	Istanbul Kültür Üniversitesi	

ONAY

Prof. Dr. Ragıp Kutay KARACA
Enstitü Müdürü

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Aromatik Bitkilerden Olan Mercanköşkün, Antimikrobita1 Özelliklerinin Ve Gümüş Nanopartikül Sentezi İçin Uygunluğunun Araştırılması**” adlı tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyografya’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (23/09/2019)

Dyt. Ece BEKTAŞ

ÖNSÖZ

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek, tez konumun belirlenmesinde, çalışmamın planlanmasında ve sonuçlandırılmasında bana yol gösteren, kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile her türlü bilimsel, manevi desteğini, güler yüzünü ve sonsuz anlayışını benden esirgemeyen, yaşadığım her sorunda kendisine çekinmeden ulaşabildiğim, yardımcı olmak için elinden gelenden fazlasını sunan, mesleki hayatımda kendisinden edindiğim bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Serap ANDAÇ ÖZTÜRK'e,

Çalışmamda kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yol gösteren, çalışmam süresince bana laboratuvarını açan sayın eş danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Erdem TEZCAN'a,

Çalışmamın istatistiksel analizi kısmında bana yardımcı olan, zaman ayıran Fatih Tarlak'a,

Tez sürecimde benden zamanını, desteğini, yardımlarını esirgemeyen ve beni her zaman destekleyen sevgili Eralp Serdaroğlu'na,

Hayatımın her döneminde olduğu gibi çalışmam süresince de benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen, hayattaki en büyük şansım olan biricik aileme

Sonsuz teşekkür ederim.

Eylül 2019

Dyt. Ece BEKTAS

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖNSÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiv
ÖZET.....	xvi
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Mercanköşk.....	3
2.2 Mercanköşkün Fitokimyasal Yapısı.....	3
2.2.1 Esansiyel Yağlar.....	3
2.2.2 Fenolik Bileşikler.....	4
2.3 Mercanköşkün Antimikrobiyal ve Antiinflamatuvar Özelliği.....	4
2.4 Gümüş Nanopartiküller	8
3. YÖNTEM	11
3.1 Mercanköşk Bitkisinin Temin Edilmesi.....	11
3.2 Mercanköşkün Su, Aseton ve Etanol Ekstrelerinin Hazırlanması.....	11
3.2.1 Soğuk Ekstre Hazırlanması.....	11
3.2.2 Reflux Yöntemiyle Sıcak Ekstre Hazırlanması.....	11
3.2.3 Soxhlet Yöntemiyle Sıcak Ekstre Hazırlanması.....	11
3.3 Mantar ve Bakterilerin Temini.....	12
3.4 Çalışma Kültürlerinin Hazırlanması.....	13
3.4.1 Candida Albicans.....	13
3.4.2 Esherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginas, Basillus subtilis.....	13
3.5 Disk İnhibisyon Yöntemi.....	13
3.6 Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi ve Parçacık Boyutu Analizi.....	13
3.7 Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Analizi.....	14
3.8 İstatiksel Analiz.....	14
4. SONUÇ.....	15
4.1 Mercanköşkün Sıcak ve Soğuk Su, Etanol ve Aseton Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkisinin Değerlendirilmesi.....	15
4.2 Mercanköşkten Gümüş Nanopartikül Oluşumu ve Parçacık Boyutunun Değerlendirilmesi.....	16
4.3 Gümüş Nanopartikül Oluşturulan Ekstrelerin Antimikrobiyal Etkisinin Değerlendirilmesi.....	18
5. TARTIŞMA.....	23
6. KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ.....	35

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleikasit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
NFkβ	: Nükleer Faktör kapa β
IL 1β	: Interleukin 1 β
IL 6	: Interleukin 6
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör- α
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
MK1	: Mercanköşk 1 örneği
MK2	: Mercanköşk 2 örneği
MK3	: Mercanköşk 3 örneği
MK4	: Mercanköşk 4 örneği

ÇİZELGE LİSTESİ

SAYFA

Çizelge 3.1: Gümüş nanopartikül parçacık boyutu analizi ve antimikrobiyal analiz için hazırlanan numune örnekleri.....	14
Çizelge 4.1: Gümüş nanopartikül parçacık boyutu analiz sonuçları	17
Çizelge 4.2: Gümüş nanopartikül parçacık boyutuüzeyssel dağılımı	18
Çizelge 4.3: Gümüş nanopartikül içeren mercanköşk ekstralarının antimikrobiyal etkisi.....	20

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Şekil 2.1: Esansiyel yağ bileşenlerinin bakteri hücresi üzerine etki mekanizması.....	5
Şekil 2.2: Bitki ekstresi kullanılarak gümüş nanopartikül sentez yöntemi	10
Şekil 3.1: Soxhlet yöntemi düzeneği.....	12
Şekil 4.1: Mercanköşk ekstresinin E.coli ve S. aureus üzerine etkisi.....	15
Şekil 4.2: Gümüş nanopartikül sentezinde çözeltilerde elde edilen renk değişimi ve çökelti oluşumu.....	17
Şekil 4.3: Partikül büyüklüğü dağılım grafikleri.....	19
Şekil 4.4: MK3'ün S.aureus, E.coli ve P. aeruginas'a etkisi.....	21

AROMATİK BİTKİLERDEN OLAN MERCANKÖŞKÜN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL SENTEZİ İÇİN UYGUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Son yıllarda sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesi için aromatik bitkilerin kullanımında ciddi bir artış meydana gelmiştir. Aromatik bitkilerden olan mercanköşkün içerdiği esansiyel yağlar ve fenolik bileşikler farmakolojik aktivitesinin artmasını sağlamaktadır. Bu çalışmanın amacı mercanköşk bitkisinin antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasıdır. Ayrıca günümüz teknolojisinde sıkça karşılaştığımız nanoyapılardan olan gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması ve kullanım alanları ile ilgili ileri çalışmalara kaynak oluşturmayı hedeflenmektedir. Mercanköşk bitkisi tıbbi aromatik bitki üretimi yapan bir kuruluştan özel olarak temin edilmiştir. Mercanköşk bitkisinin soxhlet yöntemi ile sıcak soğuk ekstraksiyonlarının su, etanol ve aseton ekstratları elde edilmiştir. Elde edilen ekstratların *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkisi disk inhibisyonu yöntemi ile incelenmiştir ancak herhangi bir etki saptanmamıştır. İkinci aşamada ise elde edilen ekstratlar tannik asit ve kafein gibi doğal antimikrobiyallerle tekrar güçlendirilip deney tekrarlanmıştır ancak herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Mercanköşkün sıcak su ekstresine gümüş nitrat ve gerekli durumda indirgeyiciler ilave edilerek gümüş nanopartiküller oluşturulup, parçacık boyutu analizine gönderilmiştir. Analizi yapılan gümüş nanopartikül oluşturulan ekstratların antimikrobiyal etkisine aynı yöntem ile aynı bakteriler ve mantar üzerinde bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre indirgeyici kullanılmayan mercanköşk ekstresi içeren 2 numune de *E.coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* inhibe etmiştir. Numunelerden gümüş nitrat içeriği yüksek olan MK2 numunesinin oluşturduğu zon çapları diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak daha büyüktür ($p \leq 0.05$). Sonuç olarak mercanköşk bitki ekstresinden elde edilen gümüş nanopartiküller *E.coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyel etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : *mercanköşk, antimikrobiyal, gümüş nanopartikül.*

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF MARJORAM FROM AROMATIC PLANTS AND ITS SUITABILITY FOR SILVER NANOPARTICLE SYNTHESIS

ABSTRACT

In recent years there has been a significant increase in the use of aromatic plants for health protection and prevention of diseases. Essential oils and phenolic compounds of marjoram, which is one of the aromatic plants, increase its pharmacological activity. The first aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of marjoram. In addition, because the nanostructures that we frequently encounter in today's technology which is silver nanoparticles; it is aimed to investigate antibacterial effect of silver nanoparticles, obtained from the marjoram, and to provide a source for future studies. Marjoram plant was obtained from an organization that produces medical aromatic plants. Both hot and cold water, ethanol and acetone extractions of marjoram plant were obtained by soxhlet method. The antimicrobial effect of the extracts on *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* was investigated by disc inhibition method but no effect was detected. In the second stage, the extracts were re-strengthened with natural antimicrobials such as tannic acid and caffeine after that the test were repeated but no changes were observed. Silver nanoparticles were formed by adding silver nitrate and reducing agents to the hot water extract of marjoram and sent to particle size analysis. The antimicrobial effect of the silver nanoparticle extracted was revolutioned by the same method on the same condition. According to the results, two samples containing marjoram extract without reductant inhibited *E.coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*. The zone diameters of the MK2 sample, with a high content of silver nitrate, are statistically significantly larger than the others ($p \leq 0.05$). As a result, silver nanoparticles obtained from marjoram plant extract showed antibacterial effect against *E.coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

Keywords : *marjoram, antimicrobial, silver nanoparticle.*

1. GİRİŞ

Son yıllarda sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesi için doğal bitkilerin kullanımında ciddi bir artış görölmektedir. Aromatik bitkiler içerdikleri aktif bileşenler ile karakterizedir. Kullanılan antimikrobiyal ilaçların etkisini arttırabildikleri gibi yeni ilaçların üretimi için de kaynak olarak gösterilmektedirler (Silva ve Fernandes, 2010). Akdeniz bölgesine özgü olarak bilinen mercanköşk de bu aromatik bitkilerden biridir (Bina ve Rahimi, 2017).

Mercanköşk ölkemizde gıda endüstrisinde, dezenfektanlarda, aroma maddelerinde, parfümlerde ve koku veren sabunlarda kullanılır. Geleneksel olarak, mercanköşk astım, hazımsızlık, baş ağrısı ve romatizma tedavisinde kullanılmıştır. Aynı zamanda dünya çapında da özellikle gecikmiş menstrual siklusu başlatmada ve gastrointestinal sistem hastalıklarında kullanılmaktadır (Erenler ve diğ, 2016).

Mercanköşk içeriğindeki fenolik bileşiklerden timol, eugenol ve karvon ise antimikrobiyal özellik göstermektedir (Damato ve diğ, 2018). Mercanköşkün hastalıkların tedavisinde kullanılmasını sağlayan antibakteriyal özelliğini test eden çalışmalar incelendiğinde gram-pozitif bakterilerin, gram-negatif bakterilere göre mercanköşke daha duyarlı oldukları bildirilmektedir (Hajlaoui ve diğ, 2016). Esansiyal yağlar ve fenolik bileşikler *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella poona*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* karşı inhibitör etki göstermektedir (Bina ve Rahimi, 2017). Bu bileşiklerin gıda güvenliğini yüksek oranda sağladığı ve gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır (Marques ve diğ, 2015).

Nanopartiküller daha küçük parçacık boyutları nedeniyle ana malzemeden farklı özellikler göstermektedir (Rajan ve diğ, 2015). Nanopartiküller üretilirken bitki ve bitki ekstreleri kullanılarak daha ucuz, yenilenebilir ve toksik olmayan üretim metotları denenmektedir (Nematollahi, 2015). Doğal yöntemler kullanılarak gümüş, altın, platin, paladyum vb. nanoparçacıkları sentezlemek için önemli denemeler

yapılmaktadır. Özellikle gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antibiyotik direnci geliştirmiş olan gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Sankar ve diğ., 2013). AgNP'lerin bakterilere etki mekanizmasına bakıldığında bakteri hücre duvarına ve hücre zarına bağlanarak hücre zarındaki proteinleri etkisiz hale getirdiği bu sayede bakteri hücrelerinin ölümüne yol açtığı belirtilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016).

Bu çalışmanın amacı, mercanköşkün aseton, su ve etanol ekstratlarının antimikrobiyal etkisinin analiz edilmesi, mercanköşk ekstresinden gümüş nanopartiküller elde ederek antimikrobiyal aktivitenin artırılması ve kullanım alanları ile ilgili ileriki çalışmalara kaynak oluşturmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mercanköşk

Mercanköşk (*Origanum majorana*), Ballıbabagiller (*Lamiaceae*) ailesinin çok yıllık bir bitkisidir (Britannica, 2018). Akdeniz bölgesine ait olan bu bitki; Asya, Kuzey Afrika ve Avrupada; İspanya, Macaristan, Portekiz, Almanya, Mısır, Polonya ve Fransa gibi birçok ülkede yetiştirilmektedir. Mercanköşk, tipik olarak 30- 60 cm yüksekliğe ulaşan gür otsu bir bitkidir. Yiyeceklerin yanında garnitür ya da sos olarak kullanılabilirdiği gibi farklı ülkelerde geleneksel tıp alanında da kullanılmaktadır (Bina ve Rahimi, 2016).

Lamiaceae familyasına ait *Origanum* cinsi, Türkiye'nin florasında bulunan 23 tür ve 6 melez ile temsil edilmektedir ve bunlardan 14'ü endemiktir. Ülkemizde gıda endüstrisinde, güçlü dezenfektan, aroma maddeleri, parfümlerde ve koku veren sabunlarda kullanılırlar. Geleneksel olarak, mercanköşk astım, hazımsızlık, baş ağrısı ve romatizmaya karşı bir çare olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda dünya çapında da özellikle gecikmiş menstrual siklusu başlatmada ve gastrointestinal sistem hastalıklarında kullanılmaktadır (Erenler ve diğ, 2016). Mercanköşk ülkemizde ayrıca Alanya Kekigi olarak da tanımlanmaktadır (Özkan ve diğ, 2010).

2.2. Mercanköşkün Fitokimyasal Yapısı

2.2.1 Esansiyel yağlar

Mercanköşk esansiyel yağı, kurutulmuş yaprakların ve bitkilerin çiçek açan üst kısımlarının buharla damıtılmasıyla elde edilir ve taze ottan %0,3-0,4 yağ ve kuru ottan %0,7-3,5 oranında elde edilir (Krishnakumar ve Potty, 2012). Mercanköşk yapraklarından elde edilen esansiyel yağların toksik olmadığı, duyarlılaştırıcı ya da tahriş edici bir özelliğinin olmadığı rapor edilmiştir, ancak yinede hamilelerin kullanımında dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Hajlaoui ve diğ, 2016). Aroması ve tadı, baharatlı, acımsı, keskin ve güzel kokulu olarak tarif edilmektedir (Krishnakumar ve Potty, 2012).

Ana esansiyal yağ terpinen-4-ol ve cis- sabinen hidrat olarak gösterilmektedir ve bunlara takiben terpinen, γ -terpinen, α terpineol , trans-sabinen hidrat, p-cymene , α terpinene, linalool, linalil asetat, trans ve cis kareol, anethol ve geraniol bulunmaktadır (Hajlaoui ve diğ, 2016, Bina ve Rahimi, 2017). Timol, karvakrol ve borneoli de mercanköşkün ana bileşenleri olarak tanımlanmaktadır (Sellamia ve diğ., 2009).

Mercanköşk esansiyel yağ asit içeriği ve kompozisyonu tür, büyüme evresi, bitki kökeni, iklim, kurutma koşulları, damıtma koşulları ve analiz edilen bitki kısmına göre farklılık göstermektedir (Sellamia ve diğ., 2009).

2.2.2 Fenolik bileşikler

Yapılan çalışmalarda mercanköşkte gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, dihidroksifenolik asit, siringik asit, vanillik asit, p-kumarik asit, ferulik ait, ürsolik asit, karnasol, karnosik asit, katekol asit, rosmarinik asit, sinamik asit, trans-2-dihidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit varlığı gösterilmiştir (Taamalli ve diğ., 2015; Bina ve Rahimi, 2017). Quercetin-3-*O*-glukozit, kaempferol-3-*O*-glukozit, narigenin-*O*-heksosit, kaempferol, quercetin, epikateşin, luteolin, hesperidin, eridiktol, apigenin ve naringenin de mercanköşkte bulunan flavonoidlerdir (Vallverdu ve diğ, 2015; Batour ve ark., 2015; Taamalli ve diğ, 2015). Fenolik bileşikleri ekstrakte etme aşamasında kullanılan ekstraktlardan en çok metanol ekstratında (4,33 g/ 100 g su) fenolik bileşik elde edilmiştir (Dhull ve diğ, 2016).

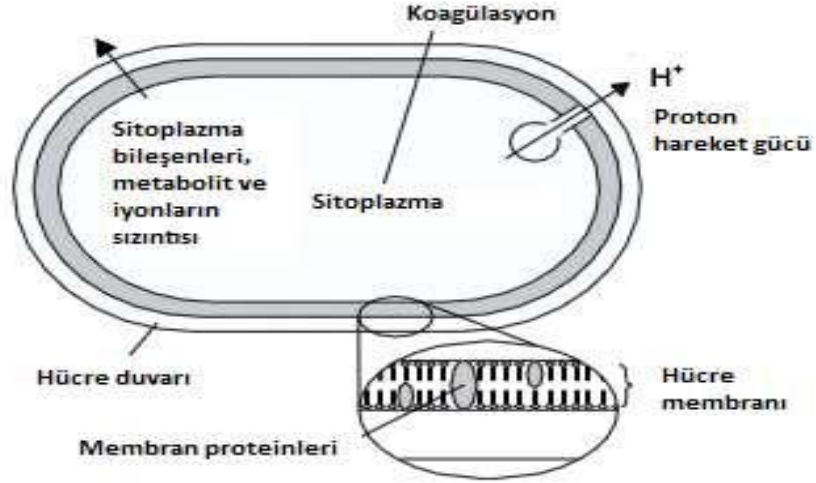
2.3. Mercanköşkün Antimikrobiyal ve Antioksidan Özellikleri

Esansiyel yağlar çeşitli biyolojik aktivitelere, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, antibakteriyel yağlar artan bir ilgi kazanmıştır ve gıda kaynaklı bakterileri, patojenik mikroorganizmaları özellikle de antibiyotik dirençlerini kontrol etmek için güvenli ve çevre dostu bir alternatiftir (Quedrhiri ve diğ., 2016).

Esansiyel yağların antimikrobiyal aktiviteleri ile ilişkili mekanizmaları tam olarak anlaşılmamış olsa da, bakteriyel hücre çeperinin degradasyonu, sitoplazmik membran proteinlerinin modifikasyonu, zar geçirgenliğinin değiştirilmesi ve inaktivasyonu, hücre içi adenzin trifosfatın (ATP) azaltılması, hücre içi içeriğin sızması, sitoplazmanın pıhtılaşması ve elektron akışının ve aktif taşınmanın

kesilmesi gibi çeşitli etki şekilleri önerilmiştir (Betancourt ve diğ, 2014; Radaelli ve diğ, 2016).

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkisinden sorumlu önemli özellikler arasında, hücre yapılarını bozan ve onları daha geçirgen hale getiren, lipidlerin bakteriyel hücre zarından tutulmasına izin veren hidrofobik bileşenler bulunur. Esansiyel yağlardan gelen kimyasal bileşikler, sitoplazmik zar proteinleri üzerinde de etkilidir. Siklik hidrokarbonlar, ATPazlar üzerinde hareket ederler, sitoplazmik zarda yer aldığı bilinen ve lipid molekülleri ile çevrelenmiş enzimlerdir. Ayrıca, lipid hidrokarbonlar lipid-protein etkileşimini bozabilir ve lipofilik bileşikler proteinin hidrofobik kısımları ile doğrudan etkileşime girebilir (Silva ve Fernandes, 2010) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Esansiyel yağ bileşenlerinin bakteri hücresi üzerine etki mekanizması
(Silva ve Fernandes, 2010)

Bazı fenolik bileşenler için belirli etki mekanizmaları bildirmiştir. Timol yapısı karvakrol ile benzerdir; farklılık fenolik halkadaki hidroksil grubunun konumundan kaynaklanmaktadır. Her iki bileşen de hücre membranını geçirgen hale getirir. Timol, potasyum ve ATP sızıntısına neden olarak hücre zarlarının geçirgenliğini artırır (Qedrihiri ve diğ, 2016). Karvakrol ise membran akışkanlığını ve geçirgenliğini artırarak, fosfolipit çift tabakanın konformasyonunu değiştirerek, zarın lipid fazında birikir. P-cymene, hücre zarında büyük miktarlarda birikir ve iyon kaçağının meydana gelebileceği alanlar yaratarak membran fosfolipitlerinin genişlemesine neden olur. Terpinen-4-ol'un, hücresel solunumunu inhibe ettiği ve hücre zarının yapısına zarar verdiği gösterilmiştir (Betancourt ve diğ., 2014).

Mercanköşkün aktif bileşenlerinin, antibakteriyal özelliği incelendiğinde; gram-pozitif bakterilerin, gram-negatif bakterilere göre bu bileşenlere daha duyarlı oldukları görülmektedir. Gram-negatif bakterilerin dış zarında bulunan lipopolisakkaritler onları aktif bileşenlere karşı doğal dirençli hale getirmektedir (Hajlaoui ve diğ., 2016). Mercanköşkün içeriğindeki esansiyel yağlar ve fenolik bileşikler *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella poona*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (Bina ve Rahimi, 2017; Damato ve diğ., 2018; Radaelli ve diğ., 2016; Quedrihiri ve diğ., 2016; Marques ve diğ., 2015; Pesavento ve diğ., 2015).

Mercanköşkte bulunan fenolik bileşiklerden timol, eugenol ve karvon antifungal özellik göstermektedir ve bir mantar çeşidi tarafından üretilen ve immünotoksik, nörotoksik, hepatotoksik ve karsinojenik özellikleri olan fumonisin adlı mikotoksinin inhibisyonunu sağlarlar (Dambolena ve diğ., 2011). Fenolik bileşikler, mikotoksin sentezinin yolaklarını değiştirerek aflatoksin üretimini inhibe edebilir (Damato ve diğ., 2018). Terpin-4-ol, a-terpinol, a-pinen, p-cymene, γ -terpinen, β -caryophyllen ve sabinen mantar hücresi geçirgenliğini ve membran akışkanlığını artırır ve ortam asitlenmesini engellemektedirler. Ayrıca, terpenlerin, hücre lipid çift katmanlarını oluşturan yağ asit zincirleri arasına girerek, lipid paketlemesini bozduğu böylece zar özellikleri ve işlevlerinde değişikliklere neden olarak hücre geçirgenliğinde değişiklikler meydana getirdiği düşünülmektedir (Hajloui ve diğ., 2016).

Oral enfeksiyonlarda, *Candida albicans* lezyonlarda bol miktarda üremektedir. Kötü beslenme, geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı, immünsüpresan ilaçlar ve kötü protez gibi faktörler, bu doğal olarak oral florada bulunan mikroorganizmaların potansiyel patojenlere dönüşmesini destekleyebilir. Mercanköşk, *Candida albicans*ın germinasyon ve hiphal oluşumunu doğrudan önleyen hem fenolik bileşiklere hem de karvakrol ve timol varlığına bağlı olarak güçlü antiseptik ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Bhat ve diğ., 2018). Karvakrolün yapısında bulunan hidroksil grubun antifungal etkilerden sorumlu olduğu bulunmuştur. Antifungal etkilerinin, nistatin ve amfoterisin B'ye benzer olduğu bulunmuştur (Monahar ve diğ., 2001).

Vücudumuzda gerçekleşen birçok metabolik işlemler sonrasında oluşan süperoksit iyonu, hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen

türlerinin (ROS) oluşumunun, çeşitli nedenlerle deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı, protein karbonilasyonu ve lipid peroksidasyonunu indüklediği bildirilmiştir. Kanser, yaşlanma, parkinson, alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde ROS'ların etkisi bulunmaktadır (Hajlaoui ve diğ, 2016).

Doğal antioksidanlar, serbest radikallerin temizlenmesi ve hücreleri kanser gibi farklı hastalıklardan koruma yetenekleri bakımından kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Mercanköşkün sulu ve etanolik ekstratları incelendiğinde karsinogenez ve onkojenik mutasyonların önlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Abdel- Massih ve ark., 2010). Ayrıca mercanköşkün içerdiği birçok fenolik bileşik ve esansiyel yağların antioksidan özelliği olduğu belirtilmektedir (Hajlaoui ve diğ, 2016; Abdel-Massih ve diğ., 2010; Jin Jun ve diğ., 2001).

Mercanköşkün içerdiği fenolik bileşiklerin lipoksijenaz, siklooksijenaz, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve monooksijenaz aktiviteleri üzerinde inhibitör etkisi vardır. Aynı zamanda bu polifenollerin hücrelerin doğal antioksidan etkinliği olan glutasyonu da arttırdığı ve böylece hücreleri oksidatif strese karşı koruduğu belirtilmektedir (Wahby ve diğ., 2015). Mercanköşkün metanol özünden izole edilen bir bileşik olan T3b, güçlü antioksidan özellikler göstermiştir ve antikanser aktivitesine sahip olabileceği belirtilmiştir (Jin Jun ve diğ., 2001)

Esansiyel yağlar, radikal zincir reaksiyonlarını stabilize etmek ve sona erdirmek için serbest radikallerle reaksiyona giren redaktörleri içerir. Bununla birlikte, hem küçük hem de önemli bileşenlerin biyolojik aktivitesini hesaba katmak için dikkate alınması gerektiğinden, antioksidan aktivitenin esansiyel yağların veya fenolik bileşiklerin bir veya birkaç aktif bileşiğine atfedilmesi zordur (Hajlaoui ve diğ, 2016).

Esansiyel yağlar antimikrobiyal özellikleri sayesinde cilt ve mukoza enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Aghamohammadi ve Hosseinimehr, 2016). Kanser tedavisinde kullanılan radyoterapi ve kemoterapinin yan etkisi olan oral mukozit de bu enfeksiyonlardan biridir (Makrane ve diğ, 2018).

Çift- kör klinik bir çalışmada günde 3 kez 10 damla nane esansiyel yağı ile oral mukoziti olan kanser hastalarına ağız çalkalaması yaptırılmıştır. Sonuç olarak nane esansiyel yağı kemoterapinin neden olduğu oral mukozitlerin profilaktik tedavisi için etkili, güvenli ve iyi tolere edilen ürünlerden olarak belirtilmiştir (Askhtorab ve diğ, 2010). *Origanum vulgare* ile oral mukozit etmeni olan *Candida*nın klinik izolatları

üzerinde yapılan bir çalışmaya göre *Origanum vulgare*'in içerdiği karvakrol esansiyel yağı antifungal özellik göstererek *Candida*yı inhibe etmiştir (Bhat ve diğ., 2018).

2.4 Gümüş Nanopartikül

Nanoteknoloji, parçacık yapısının yaklaşık 1 ila 100 nm arasında olduğu ve bu yapıların sentezi, işlenmesi ve karakterizasyonu ile ilgilenen modern bir araştırma alanıdır (Ahmed ve diğ., 2016). Daha küçük partikül boyutu nedeniyle, nanopartiküller ana materyallerinden farklı özellikler gösterir ve özellikle biyomedikal bilim alanında çeşitli uygulamalar için tercih edilmektedir (Rajan ve diğ., 2015).

Nanoteknolojinin ilk evrelerinde toksik kimyasallar ve ağır hasar veren reaksiyon koşulları kullanılarak nanomalzemeler üretilmiştir. Bu nanoyapılar, toksikolojik etki göstererek çevreye zararlı salınım eğilimi göstermişlerdir. Bunun üstesinden gelmek için “yeşil” bir yaklaşımla sentezlenen temiz, toksik olmayan, biyo-uyumlu ve çevre dostu malzemelere ihtiyaç duyulmuştur (Sankar ve diğ., 2013). Yeşil sentezde, nanoteknoloji kapsamında özellikle yeşil bitki ekstraktları ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu alanda örnek verilebilecek olan yeşil bitki ekstraktları *Aloe vera*, *Azadirachta indica* (ıhlamur), *Camellia sinensis* (çay), *Jatropha curcas* (hint fıstığı), *Acalypha indica* (hint ısırganı)'dır (Kumar et al, 2013).

Doğal bitki kullanılarak gümüş, altın, platin, paladyum vb. nanoparçacıkları sentezlemek için önemli girişimlerde bulunulmuştur (Sankar ve diğ., 2013). Antibiyotiklere karşı gelişen mikrobiyal direnç nedeniyle metal nanopartiküllerin sahip olduğu antimikrobiyal etki umut vaatmektedir (Ahmed ve diğ., 2016). Nematollahi (2015) tarafından yapılan bir çalışmada nanomateryal üretimi için bitki ve bitkisel ürünlerin ucuz ve yenilenebilir kaynaklar olduğu ayrıca son yıllarda bitki ekstraktlarının kullanımının nanopartikül üretiminde fiziksel ve kimyasal metotlara karşı alternatif olduğu bildirilmektedir.

Metalik gümüş, gümüş iyonları ve AgNP'ler antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Mekanizma net anlaşılmamakla beraber gümüşün antimikrobiyal özelliğini açıklayan birkaç teori bulunmaktadır. Bunlardan birine göre gümüş bakteri hücre duvarına ve zarına bağlanarak, bakterinin yapısal proteinlerini etkisiz hale getirmekte ve zar geçirgenliğini azaltarak bakteri hücrelerinin ölümüne sebebiyet vermektedir (Duncan, 2011). Gümüş ve AgNP'ler uygulandıkları mikroorganizma hücresi etrafında

iyonların emilimi, hücre içerisinde birikimi, sitoplazma zarının büzülmesi veya sitoplazmanın hücre duvarı tarafından kendine çekilmesi şeklinde de etki göstermektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016).

AgNP'ler bütün bitki veya ekstreleri kullanılarak üretilmektedir, ancak nanopartikül oluşumu için gerekli olan indirgeyici ajan bitki ekstresinde daha yoğun olarak bulunmaktadır. Bitkilere dayanan nanopartikül sentezi yönteminde, hazırlanan sulu bitki ekstresine gümüş nitrat (AgNO_3) eklenmesi yer almaktadır. Bu işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilir ve tamamlanması birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişmektedir (Rajan ve diğ., 2015). (Şekil 2.2) (Ahmed, 2016).

AgNP'lerin üretiminde öne sürülen ana mekanizma, terpenoidler, flavonlar, ketonlar, aldehitler, aminler ve karboksilik asitler gibi fitokimyasalların aracılık ettiği indirgenmeye dayanmaktadır. Flavonlar, organik asitler ve kinonlar, gümüş (Ag^+) iyonlarının indirgenmesinde rol oynar (Prabhu ve Poulouse, 2012).

Feng ve diğ., (2000) tarafından yapılan bir çalışmada gümüş iyonlarının gram-pozitif *S. aureus* ve gram-negatif *E. coli* bakterileri üzerinde meydana getirdiği morfolojik değişimler incelenmiştir. Çalışmada iyon kaynağı olarak AgNO_3 kullanılmıştır. Gram-pozitif *S. aureus*'un tipik bir pozitif bakteri olarak sahip olduğu kalın hücre duvarı nedeniyle gümüş iyonlarına daha iyi direnç gösterebildiği görülmüştür. Yine çalışmada kendisini sadece serbest haldeyken kopyalayabilen DNA'nın hücre içerisinde daha yoğun forma dönüştüğü bu durumun DNA'nın kendisini kopyalama yeteneğini kaybettiği şeklinde yorumlanmıştır.

Bununla birlikte fiziko kimyasal özelliklerinin kaybolan AgNP'ler nanosize yapıları da bozulacağı için sitotoksik ve genotoksik etkiler yaratabilir. Ancak AgNP'lerin oluşumu sırasında doğal organik maddelerin kullanılması AgNP stabilizasyonunu arttıracığı için Ag^+ salınımını azaltıp toksisiteyi azaltmaktadır (Jorge de Souza ve diğ., 2019).

Toksikolojik etkileri kanıtlanmış olan AgNO_3 ' in mercanköşkün içerdiği fenolik bileşikler ile reaksiyona girmesi sonucunda oluşan AgNP' lerin yutulmaması gerekmektedir. Yutulması dahilinde ağız ve boğaz yanması, mukoza tahrişlerine neden olduğu ilgili yönetmeliklerde belirtilmiştir (T. C. Resmi Gazete, 11.07.1993, 21634).



Şekil 2.2 Bitki ekstresi kullanılarak gümüş nanopartikül sentezi yöntemi

(Ahmed, 2016).

3. YÖNTEM

3.1. Mercanköşk Bitkisinin Temin Edilmesi

Deneylerde kullanılan mercanköşk bitkisi İzmir bölgesinde sadece tıbbi bitkiler yetiştiren NatiVital firmasından temin edilmiştir.

3.2. Mercanköşkün Su, Etanol ve Aseton Ekstrelerinin Hazırlanması

3.2.1. Soğuk Ekstre Hazırlanması

Farklı 50 ml'lik 3 behere 2'şer gram kuru mercanköşk ve 40'ar ml su, etanol ve aseton çözücülerinden bir tanesi ilave edildi. Karışımların ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak 1 saat manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Ardından filtre kâğıdı ile süzülerek ekstreler farklı kaplara konularak etiketlendi.

3.2.2. Reflux Yöntemiyle Sıcak Ekstre Hazırlanması

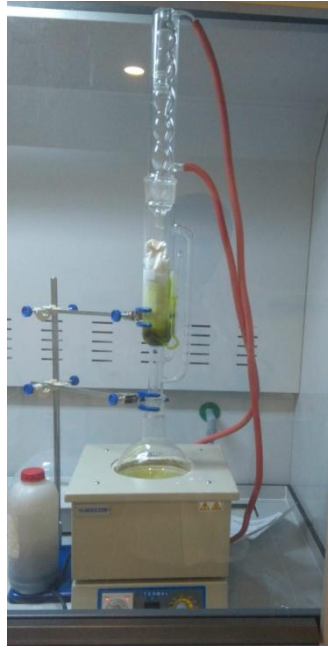
Reflux yöntemiyle sıcak su ekstresi hazırlanmıştır. Bunun için 1L'lik balon içerisine 500 ml distile su ve 25 gram mercanköşk ilave edildi. Daha sonra balon içerisine manyetik balık eklenip sistem manyetik karıştırıcılı balon ısıtıcıya konuldu. Balon üzerine geri soğutucu konulup su giriş çıkışları bağlandıktan sonra karıştırma ve ısıtma başlatıldı. Su kaynamaya başladıktan itibaren 1 saat daha sistem çalıştırıldı. 1 saatin sonunda balon içerisindeki karışım filtre yoluyla süzülerek süzülen kısım bir kaba konularak etiketlendi.

3.2.3. Soxhlet Yöntemiyle Sıcak Ekstre Hazırlanması

Soxhlet ekstraktörü, en eski ekstraksiyon sistemlerindedir ve hala sıklıkla tercih edilmektedir. Soxhlet ekstraktörü, bir solvent şişesi, orta çemberde bir sıvı akış borusu (sifon), soğutulmuş bir kondansör (yoğuşturucu) ve ısıtma sisteminden meydana gelmektedir. Bu yöntemde, ince öğütülmüş numune, gözenekli bir torbaya ya da kuvvetli bir filtre kâğıttan ya da Soxhlet aparatının yüksük haznesinde bulunan selülozdan yapılan “yüksük” içine yerleştirilir. Solvent bunun altındaki solvent

şişesinin içine konur. Solvent kaynama sıcaklığının üzerinde ısıtılır ve kaynayan solventten gelen buharlar yoğunlaşmanın olduğu kondansatöre hareket eder; yoğunlaşır, örneğe doğru damlar. Solvent örneği ıslatır ve daha sonra solvent seviyesi sifonun tepesine ulaşır ulaşmaz, solvent tüm örnek bölmesini boşaltarak, solvent şişesine geri damlamaya başlar. Böylece sıcak solvent birkaç kere örnek içerisinde sirküle olur (Azwanida, 2015, Büyüktücel, 2012).

Soxhlet yöntemiyle etanol ve aseton ekstraktları hazırlanmıştır. Bunun için Şekil 3.1'deki gibi Soxhlet sistemi kurulmuştur. Sistemin balon kısmına 500 ml çözücü (aseton veya etanol) konulmuş, Soxhlet kartuşu kısmına ise etanol sisteminde 17 g, aseton sisteminde 20 g mercan köşk bitkisi konulmuştur. Sistem, en az 3 saat olmak üzere Soxhlet aparatında renklenme bitene kadar çalıştırılmıştır. İşlem sonunda elde edilen aseton ve etanol ekstraktları, konsantre hal getirilmesi için damıtma yapılarak fazla aseton ve etanol uçurulmuş böylece çözelti hacmi 50 ml'ye düşürülmüştür. Elde edilen ekstraktlar bir kaba konularak etiketlenmiştir.



Şekil 3.1 Soxhlet yöntemi düzeneği.

3.3. Mantar ve Bakterilerin Temini

Candida albicans, *Escherichia-coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* pasajları İstanbul Aydın Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.4. Çalışma Kültürlerinin Hazırlanması

3.4.1 Candida albicans

Besi yeri için 30 gram malt ekstresi, 3 gram soya peptin ve 15 gram agar 1 litre distile su ile tamamlanmış ve ardından 1 saat süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. 50°C' ye kadar soğutulan besi yerine *Candida albicans* ilave edilip 3 dakika boyunca karıştırılmıştır. Ardından petri kaplarına dökülerek kurumaları için yatay konumda bekletilmiştir. Kuruyan petri kaplarına mercanköşk ekstreleri eklenmiştir ve 18 saat süreyle üreme için etüve yerleştirilmiştir.

3.4.2 Escherichia-coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa ve Bacillus subtilis

Besi yeri için 500 ml' lik distile suya 6,5 gram Nutrient Broth ve 5 gram Agar konularak hazırlanan sıvı besiyerleri 1 saat süreyle otoklav ile sterilize edilmiştir. Soğutulan besi yerlerine önceden üretilen bakteriler ekilmiştir ve petri kaplarına dökülerek kurumaları için yatay konumda bekletilmiştir.

3.5. Disk İnhibisyon Yöntemi

Disk difüzyonu, farklı mikroorganizmaların farklı farmasötik ürünlere duyarlılığını saptamak için kullanılan bir yöntemdir (Ce Busatta, 2008).

Petri kaplarına bakteri ve maya ekimiyle beraber besi yeri uygun sıcaklığa geldiğinde su, etanol ve aseton ekstrelerinden 2 ml pipet yardımı ile alınarak kaplara damlatma yöntemiyle ekilmiştir. Aynı işlem soğuk ve sıcak su ekstreleri ile %5 ve %1'lik tannik asitli ve %2,5'luk kafeinli; sıcak ve soğuk etanol ve aseton ekstreleri ile %2,5'luk kafeinli çözeltiler hazırlanarak tekrar edilmiştir. Zon değerlendirme yapılırken, yansıyan ışığın altında, koyu renk zeminin üzerinde, plağın tersinden değerlendirme yapılmıştır.

3.6. Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Parçacık Boyutu Analizi

Reflux yöntemiyle hazırlanan mercanköşk sıcak su ekstreleri ile 3 farklı numune hazırlanmış. Numune içerikleri Tablo 1'de belirtildiği şekildedir. Numunelerin analizi Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda yaptırılmıştır.

3.7. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesinin Analizi

Antimikrobiyal analiz için hazırlanan ekstre örnekleri Çizelge 3.1' deki gibidir.

Çizelge 3.1 Gümüş nanopartikül parçacık boyutu analizi ve antimikrobiyal analiz için hazırlanan numune örnekleri

Numune Adı	İçerik
Mercanköşk 1	500 ml mercanköşk sıcak su ekstresi 0,39 gram AgNO ₃ 25 gram trisodyum sitrat 0,5 gram askorbik asit
Mercanköşk 2	500 ml mercanköşk sıcak su ekstresi 0,39 gram AgNO ₃
Mercanköşk 3	500 ml mercanköşk sıcak su ekstresi 0,20 gram AgNO ₃
Mercanköşk 4	500 ml distile su 0,39 gram AgNO ₃ 25 gram trisodyum sitrat 0,5 gram askorbik asit

Daha önce belirtilen yöntemler ile hazırlanan bakteri besiyerlerine *S. aureus*, *E. coli.*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa*, küf besiyerine ise *Candida albicans* eklenmiştir. Petri kapları üçe bölünerek her bölme, ekstrelerden 10 mikrolitre damlatılmıştır. Ardından bakteri içeren petri kapları 18 saat süreyle 37 derece sıcaklıkta ve küf (*C. albicans*) içeren petri kapları ise 18 saat süre ile 30 derece sıcaklıkta bekletilmiştir.

3.8. İstatiksel Analiz

Deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Tek yönlü varyans analizi (one-way analysis of variance 'ANOVA') istatistiksel analiz programı olan Minitab 16 (Minitab, LLC., PA, USA) kullanılarak yapılmıştır. İstatiksel fark analizleri, post-hoc Turkey çoklu karşılaştırma tekniği (post hoc analysis using Tukey's multiple range test) kullanılarak elde edilmiştir. İstatiksel anlamlılık p-value ≤ 0.05 kriteri baz alınarak tanımlanmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak rapor edilmiştir.

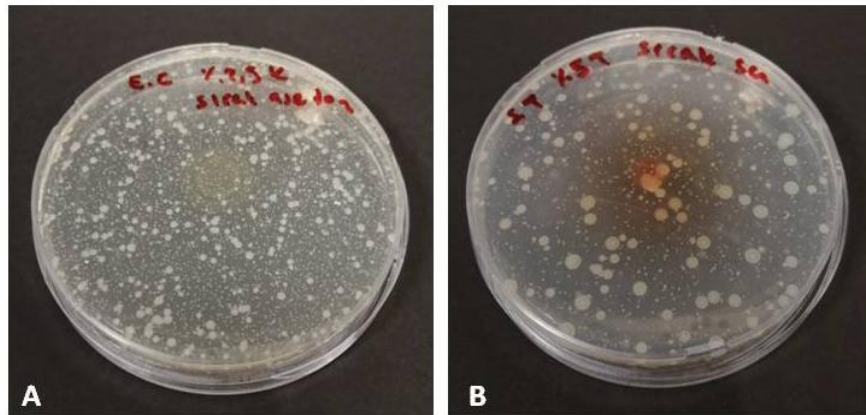
4. SONUÇ

4.1. Mercanköşkün sıcak ve soğuk su, etanol ve aseton ekstralarının antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi

Mercanköşkün antimikrobiyal aktivitesi disk inhibisyon yöntemi kullanılarak, 4 bakteri (*E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa*) ve 1 mantar (*Candida albicans*) içeren 5 mikroorganizmaya karşı test edilmiştir.

Reflux ve soxhlet yöntemiyle elde edilen sıcak su, aseton ve etanol ekstraları ile soğuk su, aseton ve etanol ekstraları damlatma yöntemi ile 5 mikroorganizmanın üretildiği petri kaplarına ayrı ayrı pipetlenmiştir. Etüvde 36 saat bekletmenin ardından petri kapları incelendiğinde inhibisyon zon çaplarının oluşmadığı gözlenmiştir.

2. aşamada mercanköşkün sıcak ve soğuk su ekstralarından %5 ve %1 tannik asit içeren ve %2,5 kafein içeren 25 ml'lik çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstradan 2 ml petri kaplarına damlatılmıştır ve etüvde bekletilmiştir. 36 saat sonunda incelenen petri kaplarında düzenli sınırları olan inhibisyon zonlarının oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Mercanköşk ekstralarının *E.coli* ve *S. aureus* üzerine etkisi. (A) %2,5 kafeinli mercanköşk sıcak aseton ekstralarının *E. coli*'ye etkisi. (B) %5 tannik asitli mercanköşk sıcak su ekstralarının *S. aureus*'a etkisi.

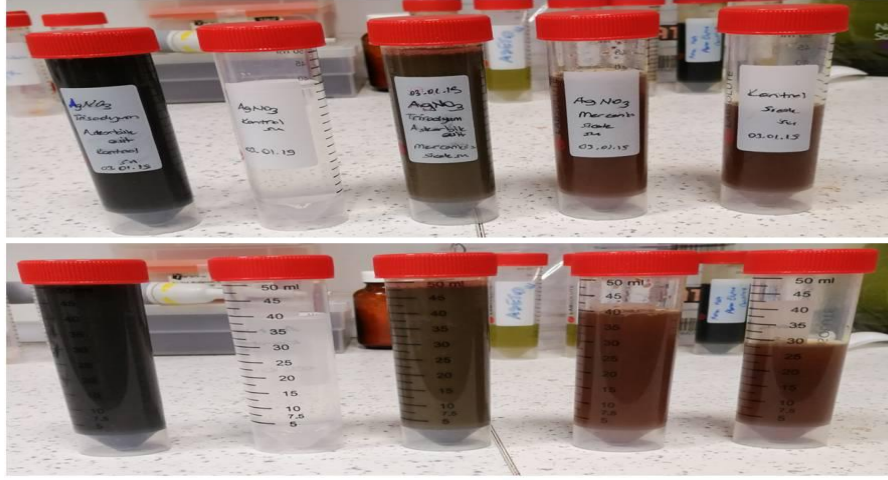
4.2. Mercanköşkten gümüş nanopartikül oluşumu ve parçacık boyutunun değerlendirilmesi

Bu çalışmada mercanköşkün kuru yapraklarının su ekstresinden gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir.

Mercanköşk 1 (MK1) örneğinde 500 ml sulu mercanköşk ekstresi, 0,39 gram AgNO_3 , 25 gram trisodyum sitrat ve 0,5 gram askorbik asit bulunmaktadır. Mercanköşk 2 (MK2) ve 3 (MK3) numaralı örneklerde ise sulu ekstreye sırasıyla 0,39 ve 0,20 gram AgNO_3 eklenmiştir. Mercanköşk 4 (MK4) örneğinde ise çözücü olarak MK1'den farklı olarak distile su kullanılmıştır. Mercanköşk 1 ve 4 numaralı örneklerde AgNO_3 'ü indirgeyici olarak askorbik asit kullanılmıştır. Sulu ekstre içeren her 3 çözeltide de gümüş nanopartikül oluşmuştur. MK2 ve MK3 örneklerinde trisodyum sitrat ve askorbik asit olmadan da mercanköşkün sıcak su ekstresi AgNO_3 'ü Ag^0 elemental gümüşe ve nanogümüşe indirgemıştır. Oluşumlar renklerinin koyu kahverengiye dönmesi ve dipte oluşan parçacık çökeltileri ile gözlenmiştir (Şekil 4.2).

Ortalama partikül boyutu değerlendirilirken Tablo 4.1 deki $d(0,1)$ (μm) (partiküllerin % 10' nun boyutu) incelendiğinde MK4 0,825 μm , MK2 1,386 μm , MK3 1,809 μm , MK1 2,92 μm ; $d(0,5)$ (μm) (partiküllerin %50'sinin boyutu) incelendiğinde MK4 2,652 μm , MK2 4,976 μm , MK3 7,486 μm , MK1 75,487 μm ; $d(0,9)$ (μm) (partiküllerin %90'nının boyutu) incelendiğinde MK4 6,453 μm , MK2 18,481 μm , MK3 41,215 μm , MK1 161,612 μm olarak bulunmuştur. Örnekler incelendiğinde en yüksek partikül boyutu trisodyum sitrat ve askorbik asidin indirgeyici olarak kullanıldığı MK1 örneğinde; en küçük partikül boyutu ise MK4 örneğinde gözlenmiştir.

Oluşan gümüş nanopartiküllerin çözelti içerisinde ne kadar eşit dağıldığını gösteren eşit dağılım değerlerine bakıldığında ise, MK3 örneği 1,7 ile en yüksek değere sahipken diğerleri sırayla MK2 0,989, MK1 0,741 ve MK4 örneği 0,666 değerlerindedir. Parçacık büyüklüğü dağılımı grafikleri incelendiğinde de MK3 örneğinin yani mercanköşk ekstresi ve 0.2 gram AgNO_3 içeren örneğin grafik eğrisinin dirseksiz ve parçacıkların benzer boyut aralığında dağıldığı görülmektedir.



Şekil 4.2 Gümüş nanopartikül sentezinde çözeltilerde elde edilen renk değişimi ve çökelti oluşumu.

Çizelge 4.1 Gümüş nanopartikül parçacık boyutu analizi sonuçları

Örnek	d (0.1) (µm)	d (0.5) (µm)	d (0.9) (µm)	Eşit Dağılım Değeri (Uniformit)	Spesifik Yüzey Alanı (m ² /g)	Spesifik Ağırlıklı Ortalama (µm)	Hacim Ağırlıklı Ortalama (µm)
MK1	2,92	75,487	161,612	0,741	0,769	7,798	74,825
MK2	1,386	4,976	18,481	0,989	1,9	3,16	7,566
MK3	1,809	7,486	41,215	1,7	1,41	4,249	16,394
MK4	0,825	2,652	6,453	0,666	3,81	1,573	3,189

Örneklerin çözelti içinde yayılımlarının genişliğini belirleyen spesifik yüzey alanları karşılaştırıldığında büyükten küçüğe değerler sırasıyla; MK4 3,81 m²/g; MK2 1,9 m²/g; MK3 1,41 m²/g; MK1 0,769 m²/g' dir. Yüzey alanı kontrol numunesinden sonra mercanköşk ekstresi ve 0,39 gram AgNO₃ içeren MK2'de yüksek bulunmuştur. Yüzey ağırlığı ortalaması değerlerinde en düşük değer MK4 örneğine aittir, onu sırasıyla MK2, MK3 ve MK1 örnekleri takip etmektedir. Hacim ağırlıklı ortalama değerlerinde örnekler arasındaki sıralama ise MK4, MK2, MK3 ve MK1 örneği şeklindedir.

Örnekler karşılaştırıldığında MK1 örneğinde çözücü olarak mercanköşk sulu ekstresi kullanılırken, MK4 örneğinde distile su kullanılmıştır. Bu fark göz önüne alındığında

mercanköşk sulu ekstresinin parçacık boyutunu, yüzey ağırlığı ve hacim ağırlıklı ortalama değerlerini arttırdığı görülmüştür.

Çizelge 4.2 Gümüş nanopartikül boyutunun yüzdesel dağılımı

%	Partikül Boyut (μm)			
	Mercanköşk 1	Mercanköşk 2	Mercanköşk 3	Mercanköşk 4
Dağılım				
0-10	$x < 2,884$	$x < 1,259$	$x < 1,66$	$x < 0,724$
10-20	$2,884 \leq x < 5,754$	$1,259 \leq x < 2,188$	$1,66 \leq x < 2,884$	$0,724 \leq x < 1,096$
20-30	$5,754 \leq x < 15,136$	$2,188 \leq x < 2,884$	$2,884 \leq x < 3,802$	$1,096 \leq x < 1,445$
30-40	$15,136 \leq x < 30,2$	$2,884 \leq x < 3,802$	$3,802 \leq x < 5,012$	$1,445 \leq x < 1,905$
40-50	$30,2 \leq x < 69,183$	$3,802 \leq x < 4,365$	$5,012 \leq x < 6,607$	$1,905 \leq x < 2,512$
50-60	$69,183 \leq x < 91,201$	$4,365 \leq x < 5,754$	$6,607 \leq x < 10$	$2,512 \leq x < 3,311$
60-70	$91,201 \leq x < 104,713$	$5,754 \leq x < 7,586$	$10 \leq x < 15,136$	$3,311 \leq x < 3,802$
70-80	$104,713 \leq x < 120,226$	$7,586 \leq x < 11,482$	$15,136 \leq x < 22,909$	$3,802 \leq x < 5,012$
80-90	$120,226 \leq x < 158,489$	$11,482 \leq x < 17,378$	$22,909 \leq x < 39,811$	$5,012 \leq x < 5,754$

MK1 ve MK2 örneklerinde eklenen AgNO_3 miktarı aynı iken MK1'de indirgeyici olarak trisodyum sitrat ve askorbik asit kullanılmışken; MK2' de hiç bir indirgeyici kullanılmamış ve AgNO_3 AgNP'lere indirgenmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde ise MK2' nin eşit dağılım değerinin ve spesifik yüzey alanı değerinin MK1' den istenilene uygun olarak daha büyük olduğu görülmüştür.

MK2 ve MK3 örnekleri mercanköşk sulu ekstresi ve AgNO_3 içermektedir ancak AgNO_3 miktarları birbirinden farklıdır. MK3' de AgNO_3 miktarı daha az, parçacık boyutu daha büyük ve eşit dağılım değerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

4.3. Nanopartikül oluşturulan ekstraların antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi

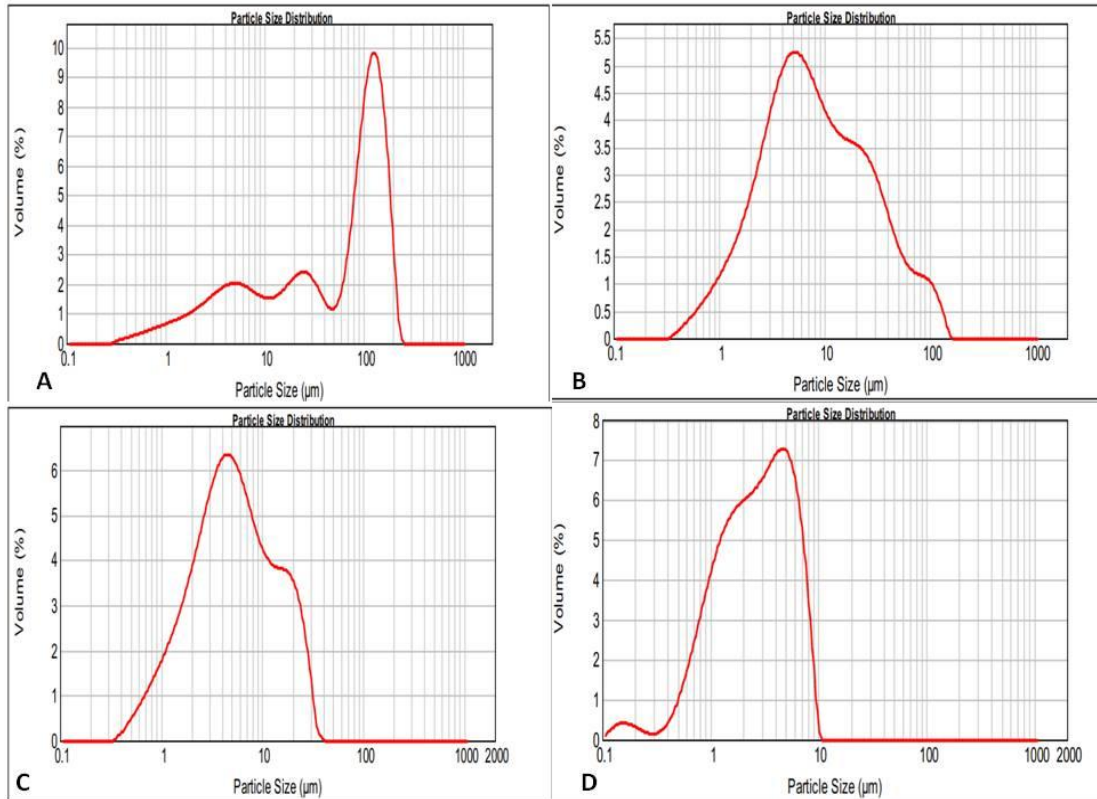
Mercanköşk sulu ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi disk inhibisyon yöntemi kullanılarak, 4 bakteri (*E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa*) ve 1 mantar (*Candida albicans*) içeren 4 mikroorganizmaya karşı test edilmiştir.

B. subtilis ve *C. albicans* mikroorganizmalarında mercanköşk ekstresinin herhangi bir etkisi görülmemiştir. *E.coli* bakterisine karşı MK1 numunesinin etkisi bulunmazken MK2, MK3 ve MK4 numuneleri *E. coli* bakterisini inhibe etmiştir. Sırasıyla ortalama zon çapları 11,02; 10,92 ve 9,01 mm'dir. MK2 ve MK3

numunelerinin *E. coli* üzerindeki etkisi arasında fark bulunmazken, MK2 ve MK4; MK3 ve MK4 numunelerinin etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$).

P. aeruginas bakterisine ise 4 numune örneği etki göstererek inhibe etmiştir. Sırasıyla ortalama zon çapları 8,82; 17,98; 13,44 ve 11,02 mm'dir. Her numune örneğinin *P. aeruginasa* karşı oluşturduğu zon çapları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). En fazla inhibisyonu mercanköşk ve 0.39 gram $AgNO_3$ içeren MK2 numunesi oluştururken, en düşük etki MK1 örneğinde oluşmuştur.

S. aureus bakterisine de 4 numune örneği etki ederek bakteri oluşumunu inhibe etmiştir. Sırasıyla ortalama zon çapları 7,12; 23,71; 19,43 ve 19,49 mm'dir. MK3 ve MK4 numunelerinin oluşturduğu zon çapları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). En fazla inhibisyonu MK2 oluşturduken en düşük inhibisyon zonu MK1' de görülmüştür.



Şekil 4.3 Partikül büyüklüğü dağılımı grafikleri. A Mercanköşk 1, B Mercanköşk 2, C Mercanköşk 3, D Mercanköşk 4.

Çizelge 4.3 Gümüş nanopartikül içeren mercanköşk ekstralarının antimikrobiyal etkisi

Numune Adı	İnhibisyon Zonu (mm)				
	BS	EC	PA	SA	CA
<i>Mikroorganizma Adları</i>					
MK1	-	0,00 ± 0,00 ^{cC}	8,82 ± 0,57 ^{dA}	7,12 ± 0,66 ^{cB}	-
MK2	-	11,02 ± 0,88 ^{aC}	17,98 ± 0,75 ^{aB}	23,71 ± 0,57 ^{aA}	-
MK3	-	10,92 ± 0,33 ^{aC}	13,44 ± 0,57 ^{bB}	19,43 ± 0,72 ^{bA}	-
MK4	-	9,01 ± 0,60 ^{bB}	11,02 ± 0,73 ^{cB}	19,49 ± 1,16 ^{bA}	-

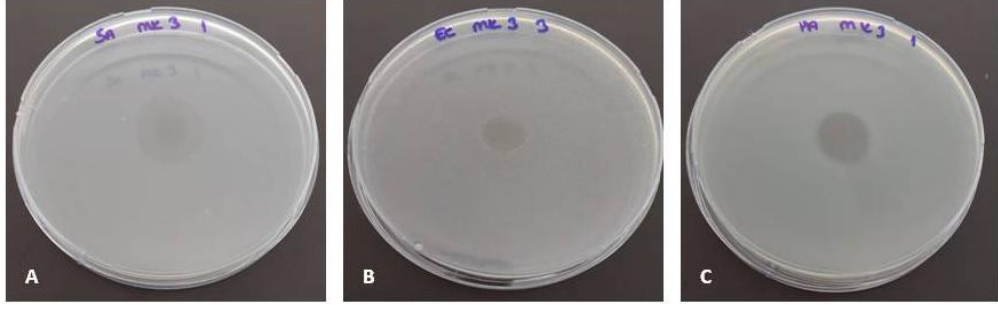
- Etki Görülmedi, BS: *Bacillus subtilis*, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, SA: *Staphylococcus aureus*, CA: *Candida albicans*.

^{a-d}: Farklı harfler aynı sütundaki anlamlı farkları ifade etmektedir.

^{A-C}: Farklı harfler aynı satırdaki anlamlı farkları ifade etmektedir.

MK1 numunesi (500 ml mercanköşk, 0,39 gram AgNO₃, 25 gram trisodyum sitrat, 0,5 gram askorbik asit) *E.coli* bakterisini inhibe edemezken, *P. aeruginas* ve *S. aureus* bakterilerini inhibe etmiştir. *P. aeruginas* için ortalama zor çapı 8,82 mm iken *S. aureus* için 7,12 mm'dir. MK1'in iki bakteri üzerinde oluşturduğu ihhibisyon zonlara arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ve *P. aeruginası* daha fazla inhibe etmiştir.

MK2 (500 ml mercanköşk, 0,39 gram AgNO₃) ve MK3 (500 ml mercanköşk, 0,2 gram AgNO₃) numuneleri en yüksek etkiyi *S. aureusa* (23,71 mm ve 19,43) karşı göstermiş olup ardından *P. aeruginas* (17,98 mm ve 13,44 mm) ve *E.coli* (11,02 mm ve 10,92 mm) bakterilerine etki etmişlerdir. MK2 ve MK3'ün 3 farklı bakteri üzerindeki inhibisyon etkileri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.4 MK3'ün *S.aureus* (A), *E.coli* (B) ve *P. aeruginas*'a (C) etkisi

MK4 (500 ml distile su, 0,39 gram $AgNO_3$, 25 gram trisodyum sitrat, 0,5 gram askorbik asit) numunesinin bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisine göre büyükten küçüğe doğru sıralanması şu şekildedir: *S. aureus* (19,49 mm), *P. aeruginas* (11,02 mm) ve *E. coli* (9,01 mm). MK4 numunesinin *S. aureus* ve *P. aeruginas* bakterilerine etkisi arasındaki ve *S. aureus* ve *E.coli* bakterilerine etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı belirlenirken *P. aeruginas* ve *E.coli* bakterilerine etkisi arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

5. TARTIŞMA

Mercanköşk bitkisi çeşitli esansiyel yağlar ve fenolik bileşikler içermektedir. Mercanköşk fenolik bileşenlerine kantitatif analiz ile bakıldığında, sinamik asidin (63,02 µg/ ml), ekstraktta mevcut ana biyoaktif bileşik olduğunu, ardından sırası ile askorbik asitin (9,11 µg/ ml), katekolün (1,76 µg/ ml) ve gallik asitin (0,89 µg / ml) geldiği gösterilmiştir (Dhull ve diğ, 2016). Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise mercanköşkün fenolik ve flavonoid bileşenleri test edildiğinde ana bileşenler klorojenik asit, galik asit, p-kumarik asit, hesperidin, ferulik asit, kafeik asit ve karnosik asit olarak belirtilmiştir (Méabed ve diğ, 2018). Esansiyel yağlardan olan terpinen-4-ol ve cis- sabinen mercanköşkte ana bileşen olarak bulunmaktadır (Bina ve Rahimi, 2017; Marquez ve diğ, 2015). Aynı zamanda timol ve karvakrolün de mercanköşkün bileşiminde yüksek oranda bulunduğu belirtilmiştir (Sellamia ve diğ., 2009).

Mercanköşkün içerdiği karvakrol ve timol bileşenlerinin antimikrobiyal özellikleri ile çok çalışılmıştır ve pozitif sonuçlar çoğunluktadır. Fenolik bileşenlerin serbest hidroksil grubu ve bu moleküllerin hidrofilik karakteri bakterilerin/ mantarların dış zar geçirgenliğini arttırarak ve iyonlar ile diğer bileşenlerin sitoplazmadan dışarı sızarak hücre bütünlüğünün yok olmasına neden olmaktadır (Betancourt ve diğ, 2014). Cox ve diğ. (2000), mercanköşk esansiyel yağlarının çoğunluğunu oluşturan terpinenin oksidatif solunum sistemini engellediğini ve sitoplazmik membran hasarına bağlı ölümcül bir etki gösterdiğini doğrulamaktadır.

Mercanköşk yağındaki karvakrol ve timolün *C.albicansa* etkisini inceleyen bir çalışmada en yüksek inhibisyonun 0,25 mg/ml' de olduğu ve doza bağlı olarak inhibisyon miktarında artış olduğu belirtilmiştir (Manohar ve diğ., 2001). Mercanköşkün antimikrobiyal özelliğini test eden bir çalışmada ise mercanköşkün sulu etanol ekstresinin *S. aureus* üzerinde inhibisyon etkisinin olduğu, *C. albicans*ın ise bu ekstreye dirençli olduğu bildirilmektedir (Kozlawska ve diğ, 2010). Bir başka çalışmada, mercanköşkün farklı suşlardaki bakteri ve mantarlara karşı duyarlılığı

disk difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve çıkan sonuçlara göre *S. aureus*, *E.coli* ve *C. albicans* mercanköşk esansiyel yağlarına karşı duyarlılığının yüksek olduğu bulunmuştur (Hajlaoui ve diğ, 2016).

S. aureus karşı keklik otu (yabani mercanköşk) ve mercanköşk esansiyel yağlarını karşılaştıran bir çalışmaya göre keklik otu esansiyel yağları mercanköşke göre daha geniş inhibisyon çapı oluşturmuştur. Bu nedenle bakteri inhibisyonunu arttırmak için kullanılan mercanköşk miktarının artırılması gerekmektedir (Marquez ve diğ, 2015). Oliveira ve diğ. (2009) mercanköşk ve keklik otu esansiyel yağlarının *S. aureus*'un klinik izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Busatta ve diğ. (2008) ve Freire ve diğ. (2011), mercanköşk esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesini analiz etmiş ve *S. aureus*'u inhibe ettiğini gözlemlemiştir.

Keklik otu, mercanköşk ve yabani kekiğin esansiyel yağlarının sinerjik etkisini araştıran bir çalışmada, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı oluşturulan karışımların antibakteriyel özelliğinin esansiyel yağların tek tek kullanımından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Kekik, mercanköşk ve yabani kekik esansiyel yağlarının sırasıyla %28, %30 ve %42' sinden oluşan optimal karışımının, *B. subtilis* ve *S. aureus*'a karşı en yüksek antibakteriyel etkiyi gösterdiği; *E. coli*'ye karşı optimum etkisinin ise %75 kekik ve %25 mercanköşk esansiyel yağları içeren bir karışım ile sağlanabilmiştir. Bu bulgular, bu tür doğal koruyucu maddelerin gıdalara veya kozmetiklere başarılı bir şekilde uygulanmasına katkıda bulunabilir (Qudrhiri ve diğ, 2016).

Bu bilgilerle çelişir şekilde farklı aromatik bitkilerin antioksidan ve antibakteriyel özelliğini karşılaştıran bir çalışmada mercanköşk bitkisinin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı hiçbir etki göstermediği belirtilmiştir (Chan ve diğ, 2012). Bir in vitro çalışmada mercanköşkün %5, %10, %30 ve %40'lık çözeltilerinde *S. aureus* karşı etkili bir inhibisyon zonunun oluşmadığı bildirilmiştir. (Freire ve diğ, 2011). Bu literatürlerle benzer şekilde çalışmamızda da mercanköşkün etanol, aseton ve su ekstreleri ve tannik asit-kafein ile desteklenmiş ekstreler ile de yapılan antimikrobiyal analizler sonucunda inhibisyon zonunun oluşmadığı gözlenmiştir. Mercanköşkün bir alkol grubu çözücü ile özütlenmesi, fenolik asit (kafeik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit), apigenin, luteolin, kersetin ve esansiyel yağ grubunun daha rahat açığa çıkmasını sağlamaktadır (Sellami ve diğ., 2009). Ancak esansiyel yağların sulu, etanollü ve asetonlu çözeltilerdeki düşük çözünürlükleri,

stabilizasyonlarının düşük olması ve uçucu hale gelmelerinden dolayı ekstre olarak kullanmamız nedeniyle antimikrobiyal özellik bulunamamış olabilir.

Araştırmanın ikinci aşamasında mercanköşkün antimikrobiyal aktivitesini arttırmak amacıyla, mercanköşk sulu ekstresinden gümüş nanopartiküller elde edilmiştir.

Bitki ekstraları, nanopartiküllerin sentezinde hem indirgeyici ajanlar hem de dengeleyici ajanlar olarak işlev görebilir. Bitki ekstralarının kaynağının nanopartiküllerin özelliklerini etkilediği bilinmektedir. Bunun nedeni; farklı ekstraların, farklı konsantrasyonlar ve organik indirgeyici ajanların kombinasyonlarını içermesidir (Mittal ve diğ., 2013). Nanopartiküller genellikle büyüklükleri, şekilleri, yüzey alanları ve dağılımları ile karakterize edilir. Bu özelliklerin homojenliği birçok uygulamada önemlidir (Jiang ve diğ., 2009).

Mercanköşk gibi Ballıbabagiller ailesinden olan ve içerikleri birbirine benzeyen keklik otunun (*Origanum vulgare*) sulu ekstresinden AgNP elde edilen bir çalışmada AgNP'lerin boyutu 203 nm olarak ölçülmüştür (Balaz ve diğ., 2017). Sankar ve diğ. (2013) *Origanum vulgare*den nanopartikül elde ettiği bir çalışmada AgNP'lerin boyutu 63- 85 nm olarak belirtilmiştir. Mercanköşk ile aynı aileye ait olan fesleğen türlerini de çözelti olarak kullanarak AgNP elde edildiğinde sırasıyla partikül boyutları 42 nm ve 15- 25 nm olarak gözlenmiştir (Subba Rao ve diğ., 2013; Patil ve diğ., 2012).

Bu çalışmada elde edilen AgNP'lerin boyutu kullanılan AgNO₃ miktarına ve kullanılan indirgeyicilere göre değişkenlik göstermiştir. İndirgeyici olarak trisodyum sitrat ve askorbik asit kullanılmayan ve AgNO₃ miktarı fazla olan MK2 örneğinde oluşan AgNP'nin boyutu 4,97 nm iken aynı koşullarda olup AgNO₃ miktarı az olan MK3 örneğinde 7,48 nm olarak ölçülmüştür. İndirgeyici kullanılan MK1 örneğinde 75,48 nm ve MK4 örneğinde 2.65 nm boyutundadır.

Gümüş iyonu çoğu mikroorganizma için oldukça toksiktir. AgNP'lerin antimikrobiyal etkisi, hücrenin içinde veya dışında oksidasyon yoluyla gümüş iyonlarının yavaşça salınmasından kaynaklanır. AgNP'lerin, mikroorganizmaların hücrelerin zarlarının geçirgenliğini etkilediği bilinmektedir (Li ve diğ., 2010). Aynı zamanda nanopartiküllerin hücre proteinlerini inaktive ettiği ve DNA replikasyonuna müdahale ettiği belirtilmiştir (Chaloupka ve diğ., 2010). Nanopartiküller bakteriyel fosfotirozin profilini modüle eder ve bu da sinyal iletimini etkiler ve

mikroorganizmaların büyümesini inhibe eder. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasından bağımsız olarak antibakteriyel etki doza bağımlıdır. AgNP'ler *E. coli* ile muamele edildiğinde bakteriyel zarfa birikir ve bu da hücrenin geçirgenliğine ve ölümünde artışa neden olur. Ayrıca *Aspergillus*, *Candida* ve *Saccharomyces* gibi cinsler de dahil olmak üzere geniş bir yaygın mantar spektrumuna karşı etkili bir fungusittirler (Ahmed ve diğ, 2016).

Bu çalışmada mercanköşk ekstreleri ile hazırlanan örneklerden elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal analizleri yapıldığında bakterilerden *E. coli*, *P. aeruginas* ve *S. aureusa* karşı inhibisyon zonları oluşmuştur ve oluşan inhibisyon zonları arasında örneklerin içeriklerine göre farklılıklar gözlenmiştir ($p \leq 0,05$). *B. subtilis* ve *C. albicansa* karşı ise elde edilen numuneler etki göstermemiştir.

Sonuçlar incelendiğinde inhibisyon zon çaplarının MK2 numunesinin uygulanması ile en geniş çapa ulaştığı görülmüştür. MK2 ve MK3 numulerinde indirgeyiciler bulunmayıp, sadece mercanköşk ekstresi ile elde edilen AgNP'ler *E.coli*, *P.aeruginas* ve *S. aureusu* diğer numunelerden elde edilen AgNP'lere göre daha anlamlı oranlarda inhibe etmişlerdir ($p \leq 0,05$). *E.coli* hariç diğer bakterilerde oluşan inhibisyon çapları arasındaki fark MK2 ve MK3 için anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Sonuçlar incelendiğinde indirgeyici olmadan elde edilen AgNP'lerin oluşumu sırasında kullanılan $AgNO_3$ miktarının artması ile bağlantılı olarak antibakteriyel özelliğinin arttığı görülmüştür.

Keklik otu ekstresi aracılı gümüş nanopartiküllerin 9 farklı insan patojenine karşı geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. *E. coli*, *A. hydrophila*, *S. paratyphi*, *S. disenteriae* ve *S. sonnei*'ye karşı 10 mm'den fazla inhibisyon zonu kaydedilmiştir. Bu gelişen antibakteriyel aktivitenin, standart ilaç kloramfenikol ile karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur (Sankar ve diğ, 2013). Mevcut çalışmada ise *E.coli*'ye karşı kaydedilen inhibisyon zonu MK2 için ortalama 11,02 mm, MK3 için ortalama 10,92 mm ve MK4 için 9,01 mm'dir. MK2 ve MK3 için bu antibakteriyel aktivite de kloramfenikol ile karşılaştırılabilir.

Patil ve ark. (2012), *Ocimum tenuiflorum*'un (kutsal fesleğen) yapraklarından elde edilen özütü kullanılarak sentezlenen gümüş nanoparçacıkların, 19 mm inhibisyon zonuyla, *B. substilus* suşuna karşı etkili bir antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiştir.

Thymus vulgaris (kekik) ve *Urtica dioica* (ısırgan)' nin methanollü ve sulu ekstrallerinden hazırlanan gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesini, tekli veya kombinasyon halinde, *E. coli* ve *S. aureus* izolatlarına karşı inceleyen bir çalışmanın sonuçlarına göre tüm bakteri izolatlarına karşı AgNP'lerin konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkisinin de arttığı saptanmıştır (Jadou ve Al-Shahwany, 2018). Yaptığımız çalışmada *E. coli* ve *S. aureusa* karşı mercanköşk ekstresinden elde edilen AgNP'lerin antibakteriyel özelliği incelediğimizde Jadou ve Al-Shahwany (2018)' nin çalışmasındaki gibi AgNP konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etki de artmıştır. MK2 500 ml' de 0,39 gram AgNO₃ içerip *E.coli* için 11,02 mm; *S. aureus* için 23.71 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. MK3 ise 500 ml' de 0.20 gram AgNO₃ içerip *E.coli* için 10.92 mm; *S.aureus* için 19.43 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Lamiaceae türleri arasında ve içinde özellikle kekik ve mercanköşk türleri arasında belirgin morfolojik, genetik ve kimyasal farklılıklar vardır (Lukas ve diğ, 2013). Örneğin, Türkiye'de iki adet *Origanum majorana* kemotipi tespit edilmiştir ve bunlar coğrafi olarak ayrıldığında; tatlı mercanköşk olarak bilinen tür, Türkiye'nin Ege bölgesinde yetiştirilir ve zayıf yağ verimi (%0,5-2,5) ile karakterize edilir. Ana bileşenleri cis-sabinen hidrat, terpinen-4-ol, linalooldür ve düşük oranda karvakrol içerir. Ancak, beyaz mercanköşk olarak bilinen tür, Akdeniz bölgesinin güneybatı kesiminde yetiştirilir ve zengin yağ verimi (%5-8) ve yüksek karvakrol içeriği (%78'den fazla) ile karakterize edilir. Bununla birlikte, ilgili araştırmalar sadece çok az sayıda (1-4 örnek) bitki örneği kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Cinbilgel ve Kurt, 2019). Bu nedenle bu çalışmada kullanılan mercanköşk ile literatürde antibakteriyel etkisi kanıtlanan çalışmalarda kullanılan mercanköşk arasında coğrafik ortamlardan kaynaklı farklılıklar bulunmaktadır.

Bitki özütlerinin elde edilmesi süresince kullanılan çok farklı ekstraksiyon yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler içerisinde seçilen soxholet ve reflux yöntemlerinde çözücü, sıcaklık ve süreden kaynaklanan farklılıklar bitki ekstrallerinin içeriğinin değişmesine ve biyoaktif bileşenlerin tam çözünmemesine ya da kaybolmasına neden olabilmektedir (Giacometti ve diğ, 2018).

Son yıllarda genel olarak nanopartiküllerin özellikle de gümüş nanopartiküllerin sentezi için birçok bitki araştırılmış, ancak nanopartikül sentezi için aromatik bitkilerle yapılan çalışmalar hala başlangıç aşamasındadır ve yeterince

kullanılmamaktadır. Bitki ekstresi kullanılarak elde edilen nanopartiküller boyut, şekil ve stabilite açısından kullanıma çok daha uygundur. Ayrıca kullanımı ucuz ve çevreye zararlı değildir. Bu çalışmada mercanköşk ekstresinden elde edilen AgNP'ler, indirgeyici olmadan daha küçük boyutta ve stabilitesi daha yüksek olarak bulunmuştur. Mercanköşk sulu ekstresinin içerdiği esansiyel yağların ve fenolik bileşenlerin AgNP oluşumu için yeterli olduğu görülmüştür. Bu çalışma mercanköşkün antimikrobiyal özelliğinin AgNP oluşumu ile farklı boyutta güçlendirilmiş ve E.coli, S. aureus ve P. aeruginosa karşı antibakteriyel özelliği saptanmıştır.

Çalışmamızda mercanköşk bitkisinin herhangi bir antimikrobiyal özelliği saptanmamıştır, bununla birlikte bu bitkiden elde edilen gümüş nanopartiküller E.coli, S. aureus ve P. aeruginosa karşı antibakteriyel etki göstermiştir. AgNP'lerin ucuz, etkili ve çevre koruyucu kullanım alanları yapılacak çalışmalar ile geliştirilebilir. Aromatik bitkilerinden olan mercanköşk ve elde edilen nanopartiküllerin kullanım alanları ile ilgili çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Massih, R. M., Fares, R., Bazzi, S., El-Chami, N., Baydoun, E.** (2010). The apoptotic and anti-proliferative activity of origanum majorana extracts on human leukemic cell line. *Leukemia Research*. 34, 1052–1056.
- Aghamohammadi, A. ve Hosseinimehr, S.** (2016). Natural products for management of oral mucositis induced by radiotherapy and chemotherapy. *Integrative Cancer Therapies*. 15, 60- 68.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B., Ikram, S.** (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*. 7, 17–28
- Alıcı, Ö., Akbaş, E., Alıcı, S.** (2008). Kanser hastalarında fırsatçı enfeksiyonlar. *Türk Onkoloji Dergisi*. 23(3), 153-162.
- Ashktorab T., Yazdani Z., Mojab F., Majd H., Madani H.** (2010). Preventive effects of an oral rinse peppermint essence on chemotherapy-induced oral mucosistis. *Koomesh*. 12, 8-13.
- Azwanida, N.N.** (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*. 4, 196
- Baláž, M., Balážová, L., Daneu, N., Dutková, E., Balážová, M., Bujňáková, Z., Shpotyuk, Y.** (2015). Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles and their stabilization by wet stirred media milling. *Nanoscale Res Lett*. 12, 83.
- Betancourt, L., Rodriguez, F., Phandanouvong, V., Ariza-Nieto, C., Hume, M., Nisbet, D., Afanador-Téllez, G., Van Kley, A.M., Nalian, A.** (2014). Effect of origanum chemotypes on broiler intestinal bacteria. *Poultry Science*. 93(10), 2526–2535.
- Beykaya, M. ve Çağlar, A.** (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (agnp) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe University Journal of Science and Engineering*. 16, 631- 641.
- Bhat, V., Sharma, S.M., Shetty, V., Shastry, C.S., Rao, C.V., Shenoy, S.** (2018). Characterization of herbal antifungal agent, origanum vulgare against oral *candida* spp. isolated from patients with candida-associated denture stomatitis: an in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 9, 3-10.
- Bina, F., Rahimi, R.** (2017). Sweet marjoram: a review of ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 22, 175-185.
- Busatta, C., Vidal, R.S., Popiolski, A.S., Mossi, A.J., Dariva, C., Rodrigues, M.R.A., Corazza, F.C., Corazza, M.L., Vladimir, O.J., Cansian, R.L.** (2008). Application of origanum majorana l. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiol*. 25, 207–211.
- Büyüktuncel, E.** (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri 1. hacettepe üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2, 209- 242.

- Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M.** (2010). Nanosilver as a new generation nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 28, 580–8.
- Cinbingel, İ. ve Kurt, Y.** (2019). Oregano and/or marjoram: Traditional oil production and ethnomedical utilization of origanum species in southern Turkey. *Journal of Herbal Medicine*. Available online, 100257.
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R.** (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88, 170–175.
- Daferera, D. J., Ziogas, B.N., Pollissiou, M. G.** (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop. Prot.* 22, 39–44.
- Damato, S., Serio, A., López, C., Paparella, A.** (2018). Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control.* 86, 126-137.
- Dambolena, J., Zygodlo, J., Rubinstein, H.** (2011). Antifumonis activity of natural phenolic compounds a structure-property-activity relationship study. *Int J Food Microbiol.* 145(1), 140-6.
- Dhull, S., Kaur, P., Purewal, S.** (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resource-Efficient Technologies.* 2, 168–174.
- Duncan, T.V.** (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science* 363, 1–24.
- Eman, M.H. Méabed, N.M. El- Sayed, I.B. Abou-Sreea, H.H.** (2018). Chemical analysis of aqueous extracts of *Origanum majorana* and *Foeniculum vulgare* and their efficacy on *Blastocystis* spp. cysts. *Phytomedicine* 43, 158– 163.
- Erenler, R., Sen, O., Aksit, H., Demirtaş, İ., Yağlıoğlu, A., Elmastas, M.** (2016). Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. *J Sci Food Agric.* 96, 822-836.
- Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., Kim, J.O.** (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res. Dec.* 52(4), 662-8.
- Freire, J.M., Cardoso, M.G., Batista, L.R., Andrade, M.A.,** (2011). Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume: chemical and antimicrobial characterization. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai.* 13 (2), 209–214.
- Giacometti, J., Bursać Kovačević, D., Putnik, P., Gabrić, D., Bilušić, T., Krešić, G., Stulić, V., Barba, F.J., Chemat, F., Barbosa-Cánovas, G., Režek Jambrak, A.** (2018). Extraction of bioactive compounds and essential oils from mediterranean herbs by conventional and green innovative techniques: A review. *Food Research International.* 113, 245-262.
- Hajlaoui, H., Mighri, H., Aouni, M., Gharsallah, N., Kadri, A.,** (2016). Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* essential oil, *Microbial Pathogenesis.* 95, 86-9
- Jadou, A., Al-Shahwany, A.W.** (2018). Biogenic synthesis and characterization of silver nanoparticles using some medical plants and evaluation of their

- antibacterial and toxicity potential. *Journal of AOAC International*. 101(6), 1905-1912.
- Jiang, J., Oberdörster, G., Biswas, P.** (2009). Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *J Nanopart Res.* 11, 77–89.
- Jin Jun, W., Han, B., Won Yu, K., Kim, M., Chang, I., Yun Kim, H., Yon Cho, H.** (2001). Antioxidant effects of *Origanum majorana* L. on superoxide anion radicals. *Food Chemistry* . 75, 439–444.
- Jorge de Souzaa, T. A, Souzac, L.R.R., Franchia, L.P.** (2019). Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 171, 691–700.
- Krishnakumar V., Potty S.** (2012). Marjoram. *Woodhead Publishing Limited*, 336-365.
- Li, W.R., Xie, X.B., Shi, Q.S., Zeng, H.Y., Ou-Yang, Y.S., Chen, Y.B.** (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 85, 1115–22.
- Lukas, B., Samuel, R., Mader, E., Baser, K.H.C.** (2013). Complex evolutionary relationships in *Origanum* section *Majorana* (Lamiaceae) *Bot. J. Linn. Soc.* 171, 667-686.
- Makrane, H., El Messaoudi, M., Melhaoui, A., El Mzibri, M., Benbacer, L., Aziz, M.** (2018). Cytotoxicity of the aqueous extract and organic fractions from *origanum majorana* on human breast cell line mda-mb-231 and human colon cell line ht-29 *Advances in Pharmacological Sciences.* 23, 1- 9.
- Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.W., Bagchi, D., et al.** (2001). Antifungal activities of *origanum* oil against *Candida albicans*. *Mol Cell Biochem* 228, 111-7.
- Marques, J., Martins Volcã, L., Funck, G., Kroning, I., Padilha da Silva, W., Fiorentini, A., Ribeiro, G.** (2015). Antimicrobial activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. against *Staphylococcus aureus* isolated from poultry meat. *Industrial Crops and Products.* 77, 444–450
- Meabed, E.M.H., El- Sayed, M.N., Aboud Sreea, A.I.B., Roby, M.H.H.** Chemical analysis of aqueous extracts of *Origanum majorana* and *Foeniculum vulgare* and their efficacy on *Blastocystis* spp . cyst.. *Phytomedicine.* 43, 158–163.
- Nematollahi, F.** (2015). Silver nanoparticles green synthesis using aqueous extract of *Salvia limbata* C.A. *International Journal of Biosciences.* 6, 30- 35.
- Oliveira, L.T.M., Diniz, M.F.M., Lima, E.O., Souza, E.L., Trajano, V.N., Santos, B.H.C.,** (2009). Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. essential oils in inhibiting the growth of bacterial strains isolated from the patients with conjunctivitis. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52, 45–50.
- Özkan, G.** (2010). Önemli Bir Çeşni Otu: Kekik. *Hasad Gıda.* 296(25), 16-19.
- Patil, R., Kokate, M., Kolekar, S.,** (2012). Bioinspired synthesis of highly stabilized silver nanoparticles using *Ocimum tenuiflorum* leaf extract and their antibacterial activity. *Spectrochim. Acta AMol. Biomol. Spectrosc.* 91, 234–238.
- Pesavento, G., Calonico, C., Bilia, A.R, Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., Mencarelli, L., Carmagnini, L., Di Martino, M.C, Lo Nostro, A.** (2015). Antibacterial activity of oregano, rosmarinus and thymus essential oils

- against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*. 24, 188-199.
- Peterson, D., Lalla, R.** (2010). Oral mucositis: the new paradigms. *Current Opinion in Oncology*. 22, 318–322.
- Prabhu, S. ve Poulouse, E.** (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*. 2, 32.
- Quedrhiri, W., Balouiri, M., Bouhdidg, S., Mojab, S., Ouazzani Chahdi, F., Taleb, M., Greche, H.** (2016). Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils: Optimization of their antibacterial effect. *Industrial Crops and Products*. 89, 1–9.
- Radaelli, M., da Silva, B.P., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., da Costa, L.A., Ethur, E.M.** (2016). Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *Braz J Microbiol*. 47(2), 424–430.
- Rajan, R., Chandran, K., Harper, S. L., Yun, S. Kalaichel, P. T..** (2015). Plant extract synthesized silver nanoparticles: An ongoing source of novel biocompatible materials. *Industrial Crops and Products*. 70, 356–373.
- Safarpour, M., Ghaedi, M., Asfaram, A., Yousefi-Nejad, M., Javadian, H., Zare Khafri, H., Bagherinasab, M.** (2018). Ultrasound-assisted extraction of antimicrobial compounds from *Thymus daenensis* and *Silybum marianum*: Antimicrobial activity with and without the presence of natural silver nanoparticles. *Ultrasonics- Sonochemistry*. 42, 76–83.
- Sankar, R., Karthik, A., Prabu, A., Karthik, S., Shivashangari, K.S., Ravikumar, V.** (2013). *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 108, 80–84.
- Sellamia, H., Maamourib, E., Chaheda, T., AidiWannesa, V., Kchouka, M., Marzouka, B.** (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*. 30, 395–402.
- Silva, N.C.C. ve Fernandes Júnior, A.** (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 16(3), 402-413.
- Subba Rao, Y., Kotakadi, V.S., Prasad, T.N.V.K.V., Reddy, A.V., Sai Gopal, D.V.R.** (2013). Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 103, 156–159.
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Abaza, L., Iswaldi, I., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M., Segura-Carretero, A.** (2015). LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis*. 26, 320
- Üstündağ, S.** (2013). Kemotrapi Alan Kanser Hastalarının Semptom Yönetiminde Kullandıkları Tamamlayıcı Tedavi Yaklaşımlarının Yaşam Kalitesine Etkisi. Hemşirelik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Danışman Doç. Dr. Ayten Demir Zencirci. Ankara.
- Wahby, M., Yacout, G., Kandeel, K., Awad, D.** (2015). Lps-induced oxidative inflammation and hyperlipidemia in male rats: the protective role of *Origanum majorana* extract. *Beni- Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 4, 291–298.

Vallverdu Queralt, A, Regueiro, J., Rinaldi Alvarenga, J.F., et al. (2015).
Characterization of the phenolic and antioxidant profiles of selected culinary
herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. *Food Sci
Technol (Campinas)*. 35, 1.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : ECE BEKTAŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 27/04/ 1994 İSTANBUL
E-posta : ecebektas27@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans:** 2017, İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Staj Deneyimi

Bahçelievler Medical Park 2016- Yaz Stajı - Pediatrik Kemik İliği Transplantasyonu Ünitesi'nde aktif rol alınmıştır.

İstanbul Florence Nightingale Hastanesi - Dönem İçi Stajı- Klinik Staj

Gaziosmanpaşa Şafak Hastanesi - Poliklinik Stajı

Kadıköy Florence Nightingale Hastanesi - Klinik, Poliklinik Stajı

Şişli Florence Nightingale Hastanesi - Klinik, Poliklinik Stajı - Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi'nde aktif rol alınmıştır.

İş Deneyimi

Fix Life Fizyoterapi ve Pilates Salonu (Şubat 2018- Eylül 2018)

Dr. Neslihan Aktaş Sağlıklı Yaşam Merkezi (Ekim 2018 - Mayıs 2019)

Özel Nes Tıp Merkezi (Haziran 2019- devam)

Bilimsel Ödüller

Sözel Bildiri İkincilik Ödülü. 8. Sağlıklı Yaşam Kongresi. 2019. İstanbul

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Aromatik Bitkilerden Mercanköşk: Antimikrobiyal Özelliğe Sahip Mi? Sözel Bildiri. 8. Sağlıklı Yaşam Kongresi. 2019. İstanbul.

