



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Agaricus bisporus Ekstraktı Kullanılarak ZnO Nanopartiküllerinin Yeşil Sentezi: Yapısal Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

 Ravza BEKEM <sup>a</sup>,  Sefa DURMUS <sup>b,\*</sup>,  Aslihan DALMAZ <sup>c</sup>,  Gorkem DULGER <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Kimya Bölümü, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

<sup>b</sup> Kimya Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

<sup>c</sup> Doğal, Bitkisel Ürünler/Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

<sup>d</sup> Tıbbi Biyoloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: sefadurmus@duzce.edu.tr

DOI:10.29130/dubited.1082788

### ÖZ

Nanoteknolojinin ilginç yönlerini keşfetmek adına son yıllarda birbirinden farklı birçok çalışma yapılmaktadır. Nanomalzeme üretiminin hızlı gelişimi, çok çeşitli alanlarda metal oksit (ZnO) uygulamalarını da beraberinde getirmiştir. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP), ticari kullanım için mekanik veya kimyasal olarak elde edilebilir. Ancak, bu tekniklerin ortaya çıkardığı çevre sorunları bir hayli dikkat çekmiştir. Günümüzde, ZnO NP'nin yeşil sentezi, çevre sorunlarını azaltmayı amaçlayan araştırma alanında özellikle ilgi görmektedir. Bu yeşil yaklaşımda, bitki özü, mikroorganizma, mantar ve alg gibi doğal bazlı malzemeler, biyoaktif fitokimyasallardaki zenginleşmeleri nedeniyle biyo-indirgeyici ve biyo-stabilizatör olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, ZnO NP farklı çinko tuzları ile doğal bir ürün olan mantar ekstraktı (*Agaricus bisporus*) kullanılarak sentezlenmiştir. Elde edilen ZnO NP farklı çinko tuzları ile doğal bir ürün olan mantar ekstraktı (*Agaricus bisporus*) kullanılarak sentezlenmiştir. Elde edilen ZnO NP X-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), Taramalı elektron mikroskopu (SEM) analizi, Enerji dağılımlı X-ışını analizi (EDX) ile karakterize edildi. Son olarak ZnO NP'nin bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi ile ölçülerek sonuçlar kaydedildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Agaricus bisporus*, ZnO NP, Yeşil sentez, Antimikrobiyal aktivite

## Green Synthesis of ZnO Nanoparticles Using *Agaricus bisporus* Extract: Structural Characterization and Investigation of Their Biological Activities

### ABSTRACT

In recent years, many different studies have been carried out to explore the interesting aspects of nanotechnology. The rapid development of nanomaterial production has carried over zinc oxide (ZnO) applications in many fields. Zinc oxide nanoparticles (ZnO NP) can be obtained mechanically or chemically for commercial use. However, the environmental problems caused by these techniques have attracted a great deal of attention. Today, the green synthesis of ZnO NP is of particular interest in the field of research aimed at reducing environmental problems. In this green approach, natural-based materials such as herbal extract, microorganism, fungi and algae are used as bioreducers and biostabilizers due to their enrichment in bioactive phytochemicals. In

this study, ZnO NP were synthesized using different salts of zinc and a natural product, mushroom extract (*Agaricus bisporus*). The obtained ZnO NP were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Scanning electron microscope (SEM) analysis, Energy dispersive X-ray analysis (EDX). Finally, antimicrobial activities of ZnO NP against bacteria and yeasts were measured by well diffusion method and the results were recorded.

*Keywords: Agaricus bisporus, ZnO NP, Green synthesis, Antimicrobial activity*

## I. GİRİŞ

Nano, gözle görülemeyecek boyutlarda yapılan teknolojik çalışmaları kapsayan ve metrenin milyarda birine karşılık gelen bir ölçü birimidir. Nanoteknoloji ise küçük boyuttaki malzemelerin işlenmesi anlamındadır. Nanoteknoloji teorik kavram olarak fizikçi Richard Feynman tarafından tanımlanmıştır [1]. Nanoteknoloji kavramını ise ilk kez Norio Taniguchi kullanmıştır (1974). Ancak bu terimin yaygınlaşması uzun yıllar almıştır. Nanoteknolojiyi farklı kılan unsur, malzemelerin nanoboyutta oldukları zaman büyük ölçekli dünyadan farklı davranmalarındadır. Yani maddeler kuantum özelliklerinden dolayı nanoboyutta farklılık göstermektedir. Örneğin, külçe şeklindeki altın başka maddelerle reaksiyon vermezken, nanoboyuttaki altın ise tam tersi bir durum sergilemektedir [2].

Nanoteknolojinin kullanım alanları başlıca ilaç sanayi, tekstil, sağlık, gıda, otomotiv, boya gibi farklı sahalardan örneklendirilebilir. Boyutları 100 nm ve altında kalan tozlar olarak tanımlanan nanopartiküller, sahip oldukları üstün özelliklerle nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır [3]. Günlük hayatta nanoteknolojinin öneminin artması ve sıkça kullanılması nanoteknolojinin hızla gelişmesine yol açmıştır. Nanoteknolojinin hızla gelişmesi bu alanın özünü oluşturan nanopartikülleri ilgi odağı haline getirmiştir. Nanopartiküller sahip oldukları bu üstün özellikleri sayesinde enerji, fizik, kimya, biyoloji, biyoteknoloji, tıp, sanayi, teknoloji ve endüstri gibi birçok kullanım alanına sahip olmasının yanı sıra [4] sensör, elektronik, kataliz ve kozmetik uygulamaları içeren farklı alanlarda da kendini göstermektedir [5].

Nanopartiküller yukarıdan-aşağı (top-down) ve aşağıdan-yukarı (bottom-up) olmak üzere iki farklı şekilde sentezlenmektedir. Yukarıdan-aşağı yaklaşımında öğütme, uygun dökme malzeme, termal lazer ablasyon, püskürtme gibi farklı teknikler kullanılarak boyut küçültme yoluyla daha ince ve küçük parçacıklar elde edilirken, aşağıdan-yukarı yaklaşımında nanopartiküller sentezlenmektedir [6]. Nanopartiküllerin eldesinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin sentez işlemlerinde fiziksel metotlar kullanılırken yüksek sıcaklık ve basıncın yanı sıra pahalı ekipmanlar gerektirmekte olup, kimyasal metotlar tercih edildiğinde ise, toksik kimyasallar kullanılmakta bunun sonucu olarak da doğaya geri dönüşümü olmayan zararlar vermektedir.

Yeşil sentez ise nanopartiküllerin kolay, çevre dostu ve düşük maliyetli olarak elde edilmesi için kullanılan pratik bir yöntemdir. Yeşil sentez yönteminde nanopartikül elde edilirken mantarlar, bitkiler, bakteriler, bal veya mayalar kullanılmaktadır. Bu bileşenler metal tuzlarını metal nanopartiküllere indirgeme yeteneğine sahiptir. Çevre dostu, güvenilir, sürdürülebilir ve sentez prosedürlerinin oluşturulması yoluyla istenmeyen veya zararlı yan ürünlerin üretilmesini önlemek için “yeşil sentez” yöntemi daha avantajlıdır.

Mantarlar çeşitli hücre içi enzimlerin mevcudiyeti nedeniyle metal ve metal oksit nanoparçacıklarının hazırlanması için daha iyi biyolojik ajanlar olarak hareket etmektedirler [7]. Yeşil sentez yönteminde indirgeyici ajan olarak kullanılan mantarlar bakterilere kıyasla daha büyük miktarlarda nanopartikül sentezleyebilir. Çünkü mantarlar yüksek verimlilikte nanopartikül üretimi yapan daha büyük miktarlarda protein salgılamaktadırlar. Literatür taramaları doğrultusunda mantarlardan nanopartikül eldesinde daha çok Reishi mantarı, İstiridyeye mantarı gibi yenilebilir mantarın kullanıldığı görülmüştür. Literatür taramaları doğrultusunda nanopartikül eldesinde kullanılan mantarlar çeşitlilik göstermektedir. Aygün ve ark. (2020) tarafından biyokimyasal uygulamalar için gümüş

nanoparçacıkların Reishi mantarı kullanılarak yeşil sentezi ve karakterizasyonunu içeren bir çalışmayı rapor etmiştir [8]. Owaid (2019), yenilebilir bir mantar olan istiridye mantarı kullanarak gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi ve biyoaktiviteleri üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir [9]. Sen ve ark. (2013) ise bir başka çalışmada yenilebilir bir mantar glukani kullanarak altın nanopartiküllerin yeşil sentezi ve katalitik aktivitesi konulu bir çalışma sunmuştur [10].

Bu çalışmada, çinkonun farklı tuzlarından yararlanarak ZnO NP'lerinin yeşil sentezi yerel mantar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ZnO NP'in yapıları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ve X-Işını Kırınım (XRD) yöntemi kullanılarak karakterize edilmiştir. ZnO NP's'in morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile tanımlanmış olup elementel bileşimleri ise, enerji dağılımlı X-Işını Analizi (EDX) ile belirlenmiştir. Ayrıca ZnO NP'in antimikrobiyal aktiviteleri incelenerek kuyu difüzyon yöntemi ile insan patojenlerine karşı *in vitro* olarak taranmıştır.

## **II. MATERYAL ve METOT**

### **A. MATERYAL**

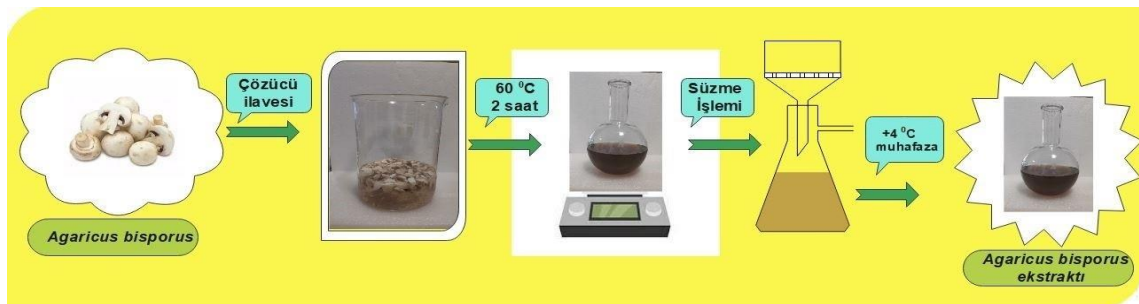
Çalışmada kullanılan kimyasalların tamamı ek bir saflaştırma işlemi gerçekleştirilmeden kullanılmıştır. Çinko asetat dihidrat ( $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ , Merck), çinko sülfat heptahidrat ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , Merck), çinko nitrat heksahidrat ( $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ , Fisher Chemical) ve çinko klorür ( $ZnCl_2$ , Merck) çeşitli firmalardan temin edildi. Bu çalışmada, indirgeyici ajan olarak kullanılan kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) Düzce ilindeki yerel marketlerden alındı.

Sentezlenen ZnO nanopartiküllerin, kristal faz bileşimleri [Bruker D8 Discover difraktometre ve Cu  $K\alpha$  radyasyon kaynağı kullanılarak] X-ışını kırınımı ile belirlendi. ZnO nanopartiküllerinin boyutları, morfolojileri ve elementel bileşimleri, FEI Quanta FEG 250 kullanılarak gerçekleştirilen taramalı elektron mikroskobu/enerji dağılımlı X ışını analizi ile doğrulandı. Numunelerin kızılötesi spektrumları ise, 4000-400  $cm^{-1}$  aralığında Perkin Elmer Spectra Two UATR marka cihaz kullanılarak belirlendi. Kalsinasyon işlemi için Nabertherm marka B180 model kül fırını kullanıldı. Ayrıca deneyler sırasında Water Story marka Dream Plus I Finesta model deiyonize su cihazı kullanıldı.

### **B. METOT**

#### **B.1. Mantar Ekstraktının Hazırlanması**

Düzce ilindeki yerel marketlerden temin edilen mantar (*Agaricus bisporus*), organik safsızlıklardan temizlenene kadar birkaç kez deiyonize su ile yıkandı. 100 g mantar, steril bıçakla küçük parçalara ayrıldıktan sonra 1000 mL'lik behere alındı ve üzerine 500 mL deiyonize su ilave edilerek 60 °C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda ısıtılarak karıştırıldı. Daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve oluşan açık kahve renkli çözelti Whatmann filtre kâğıdı ile süzülde. Elde edilen mantar ekstraktı koyu renkli şişede toplandı ve nanopartikül eldesinde kullanılmak üzere 4 °C'de muhafaza edildi (Şekil 1).



**Şekil 1.** *Agaricus bisporus* ekstraktının hazırlanması.

## B.2. ZnO-NP'lerin Yeşil Sentezi

ZnO NP sentezi için, 60 °C'ye ısıtılan mantar ekstraktı (50 mL) üzerine 5 g  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  ilave edildi. Çözelti, renk değişimi görülene kadar 80 °C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda ısıtılarak karıştırıldı. Elde edilen ürün 100 °C'de 24 saat etüvde kurumaya bırakıldı ve daha sonra 500 °C'de 2 saat süre ile kalsinasyon işlemine tabi tutuldu. Oluşan beyaz renkli ZnO NP oda sıcaklığında muhafaza edildi (Şekil 2). Aynı deneysel prosedür  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  ve  $ZnCl_2$  tuzları için de uygulandı.



Şekil 2. ZnO NP'nin sentezi.

## C. TEST MİROORGANİZMALARI

Çalışmada kullanılan izolatlar, Düzce Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteler kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterileri ile *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Debaryomyces hansenii* ve *Cryptococcus neoformans* funguslarına karşı değerlendirildi.

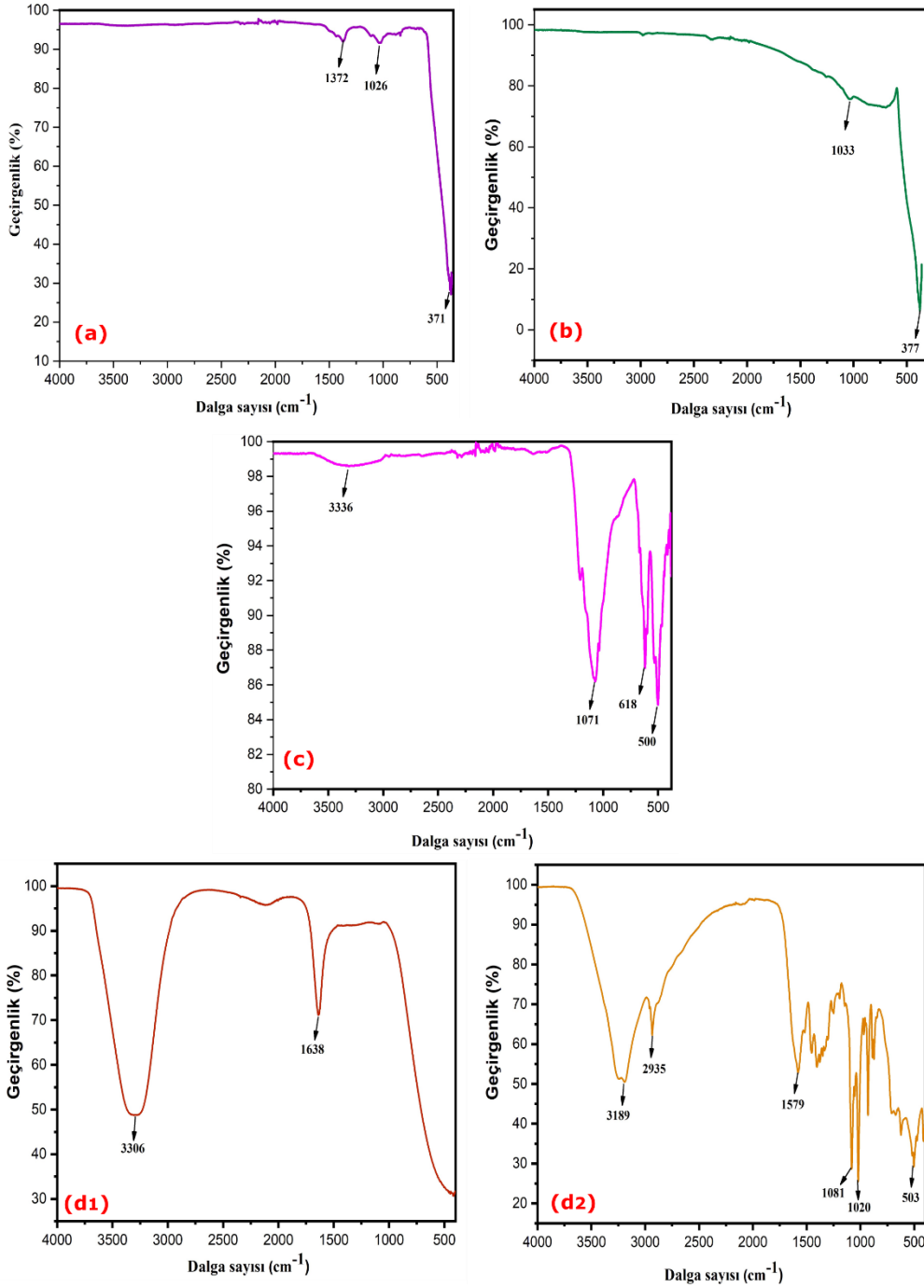
## D. KUYU DİFÜZYON YÖNTEMİ

Mantar ekstraktı ve ZnO NP'nin antimikrobiyal aktivite düzeylerini belirlemek için kuyu difüzyon yöntemi kullanıldı [11]. Mikroorganizmaların 24 saatlik genç kültürlerini hazırlamak amacı ile test bakterileri Nutrient Broth, test fungusları ise Malt Ekstakt Broth' a aşılandı ve bulanıklık 0.5 McFarland standardizasyonuna göre hazırlanarak 24-48 saat süresince bakteriler 35-37 °C'de, funguslar ise 25-27 °C'de inkübe edildi. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite düzeyini belirlemek için steril Mueller Hinton Agar besiyeri hazırlandı. Besiyeri 40-45 °C'ye soğutulduktan sonra daha önceden aktif hale getirilen ve standart yoğunluğu ayarlanmış olan mikroorganizmaların besiyerine inokülasyonu yapıldı. Besiyeri ile test mikroorganizmaların homojenizasyonu sağlandıktan sonra steril petri kaplarına döküldü. Soğuyan besiyerine steril delgeç ile 6 mm çapında kuyucuk açıldı. Besiyerinde açılan kuyucuğun içerisine steril agar konularak üzeri 100 µL ekstrakt ile dolduruldu. Bakterilerin bulunduğu petriler 24-48 saat süresince 35-37 °C'de, fungusların bulunduğu petriler ise 25-27 °C'de 24-48 saat boyunca inkübe edildi. Ertesi gün oluşan zonların çapları kumpas yardımı ile milimetrik olarak ölçüldü. Ampisilin, Amikasin (BIOANALYSE) antibiyotikleri bakteriler için, Nistatin (BIOANALYSE) antibiyotiği ise funguslar için mukayese antibiyotiği olarak kullanıldı [12]. Tüm çalışma üç tekrarlı olarak gerçekleştirilerek istatistiksel olarak hesaplamaları yapıldı.

### **III. BULGULAR VE TARTIŞMA**

#### **A. FT-IR ANALİZİ**

İndirgeme ve disperse ajanı olarak kullanılan *Agaricus bisporus*'un yapısındaki biyomoleküller aracılığı ile farklı çinko tuzlarından yola çıkılarak sentezleri gerçekleştirilen ZnO NP'nin yapılarını aydınlatmak için FT-IR spektroskopisinden yararlanılmıştır. Şekil 3, ZnO NP'nin ve *Agaricus bisporus* ekstraktının 370-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki FT-IR spektrumlarını göstermektedir. Elde edilen ZnO NP'nin FT-IR spektral sonuçlarının, XRD analiz verileriyle uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Bileşik a ve b'nin FT-IR spektrumlarında sırasıyla 371  $\text{cm}^{-1}$  ve 377  $\text{cm}^{-1}$ 'de ZnO NP'e ait Zn-O bağlarına ait bandlar gözlenirken, c bileşiğinde bu bandın 500  $\text{cm}^{-1}$ 'e kaydığı tespit edilmiştir. Ayrıca mantarın yapısında bulunan organik bileşiklerinden kaynaklandığı düşünülen C-O gerilmesine ait titreşim pikleri sırasıyla 1026, 1033 ve 1071  $\text{cm}^{-1}$ 'de kaydedilmiştir. Bileşik a ve b'nin FT-IR spektrumlarında *Agaricus bisporus*' un yapısında bulunan flavanoidler, terpenoidler ve polifenoller gibi -OH grubu açısından zengin bileşiklerin varlığının gözlenmemesinin nedeni, metal iyonu ile kompleks oluşumudur [13]. *Agaricus bisporus* destekli ZnO NP sentezi sırasında indirgeyici ajan ve stabilizatör olarak görev alan biyomolekülleri tespit edebilmek için mantar ekstraktının sulu ve susuz ortamdaki FT-IR spektrumları alınmıştır. Bileşik d2'nin FT-IR spektrumunda 3189  $\text{cm}^{-1}$  civarında gözlenen band, mantarın yapısında bulunan proteinlerden ve karbonhidratlardan kaynaklı -OH ve -NH fonksiyonel gruplarına karşılık gelmektedir. 2935  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenen titreşim ise, lipidlerin ve karbonhidratların yapısında var olan alifatik -CH gerilmesine ait olup, 1579  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki absorpsiyon bandı, protein yapısında bulunan amid gruplarına karşılık gelmektedir. Ayrıca polisakkaritlerdeki (C-O) karakteristik gerilme titreşimine ait band ise 1020  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir.

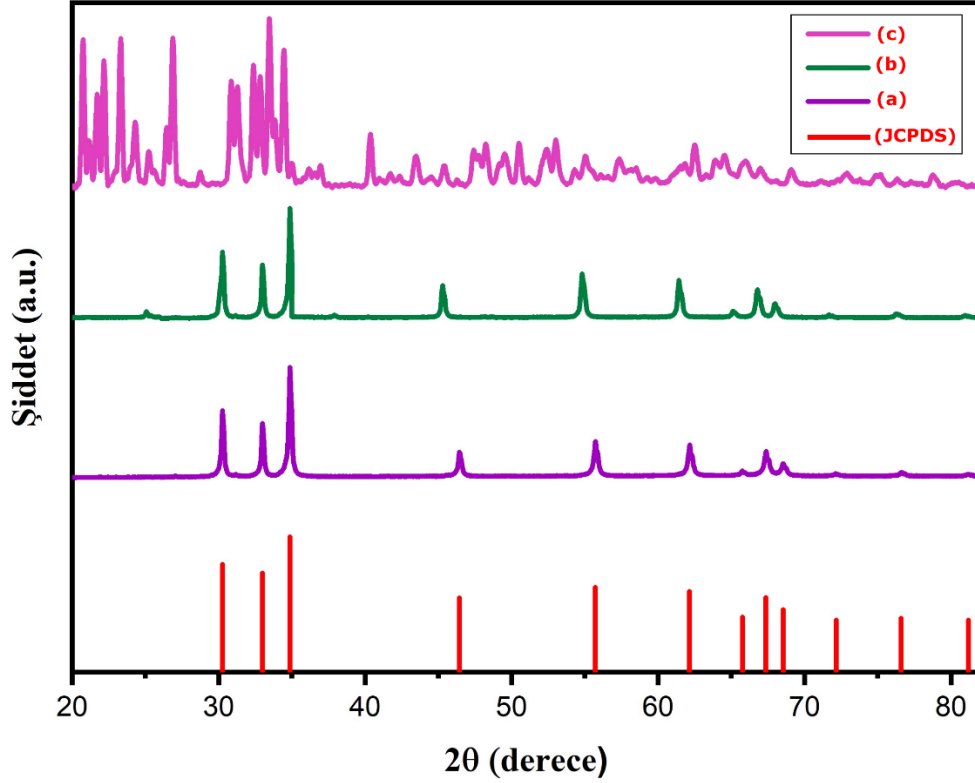


**Şekil 3.** (a)  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ , (b)  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ , (c)  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  tuzlarından elde edilen ZnO NP'nin, (d1) *Agaricus bisporus* sulu ekstraktının, (d2) *Agaricus bisporus* konsantre ekstraktının FT-IR spektrumları.

## B. XRD ANALİZİ

Farklı çinko tuzları kullanılarak yeşil sentezleri gerçekleştirilen ZnO NP'lerin içerdiği faz ve kristal yapılarını belirlemek için XRD analizleri yapılarak faz yapıları incelenmiştir. Şekil 4'te kalsine edilmiş ZnO NP'nin XRD analiz sonuçları gösterilmiştir. Bileşik a ve b'ye ait XRD analiz sonuçları incelendiğinde, ZnO NP'nin hekzagonal wurtzit kristal yapısında olduğu ve JCPDS 36-standart kart değerleriyle uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir. ZnO fazına ait 30.27°, 32.99°, 34.87°, 46.44°, 55.72°, 62.15°, 65.75°, 67.36°, 68.53°, 72.17°, 76.59° 2θ karakteristik difraksiyon piklerinin sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), (202) düzlemlerine karşılık geldiği

belirlenmiştir. ZnO NP'e ait örgü parametreleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bileşik a ve b'nin XRD analiz sonuçlarına göre, ZnO NP'e ait fazlar tespit edilmiş olup, safsızlık içeren herhangi bir faza rastlanmamıştır. Bileşik c'de ise a ve b bileşiklerine kıyasla, ZnO NP'lerin varlığına ilaveten gerek mantarın yapısında bulunan kimyasal bileşenler gerekse çıkış bileşiğinden kaynaklı çinkonun kükürtlü bileşiklerine ait fazlar barındırdığı tespit edilmiştir [14].



Şekil 4. (a)  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (b)  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  (c)  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  tuzlarından elde edilen ZnO NP'nin XRD deseni.

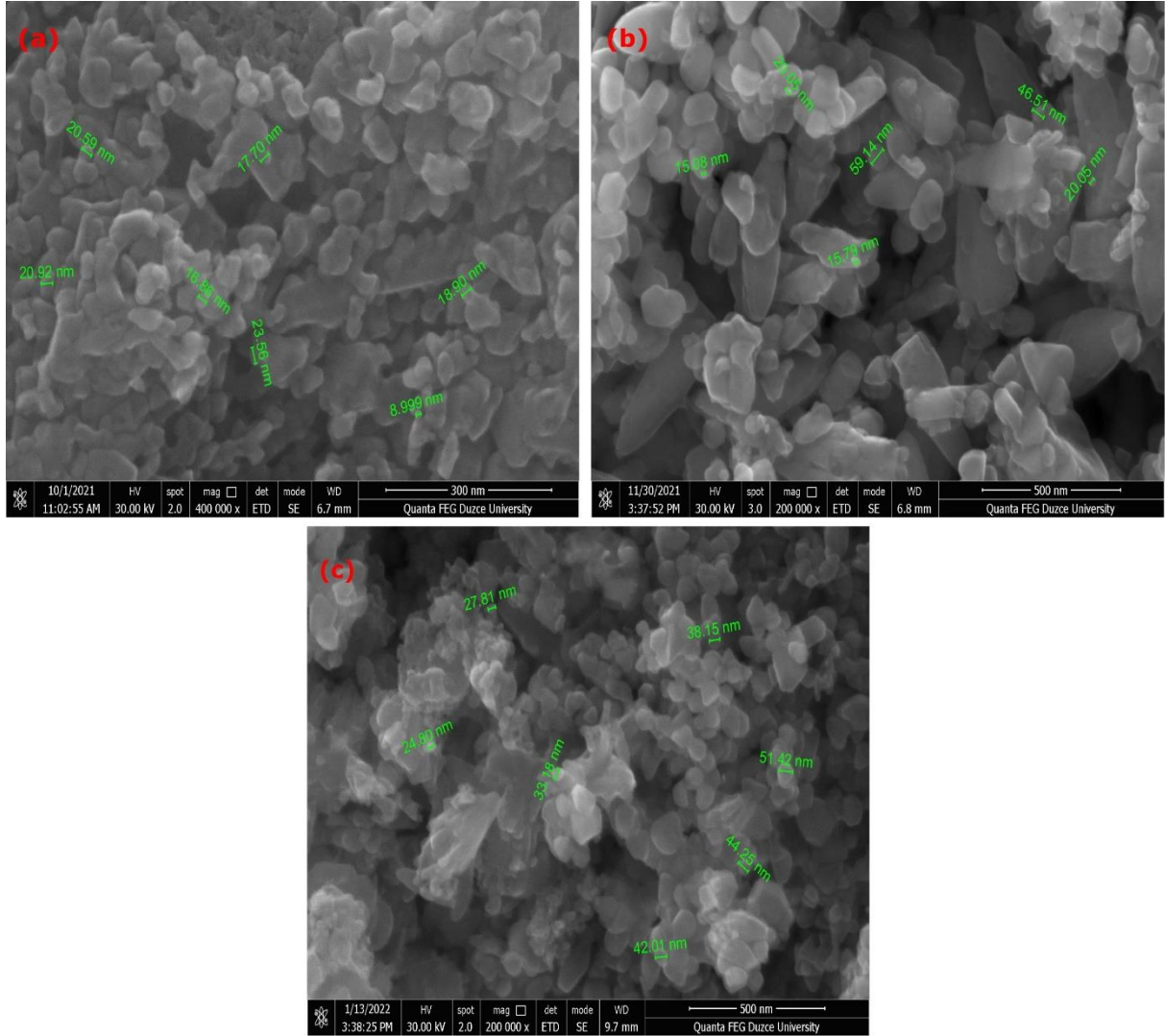
Tablo 1. XRD analizi sonucu, elde edilen nanopartiküllere ait örgü parametreleri

Örgü parametreleri						Uzay grubu	Kristal sistemi	
a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$			
ZnO NP	3.3510	3.3510	5.2260	90	90	120	P6 <sub>3</sub> mc	Hekzagonal

### C. SEM ve EDX ANALİZİ

*Agaricus bisporus* ekstraktı kullanılarak yeşil sentezlenen ZnO NP'lerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 5'te görülmektedir. SEM görüntüleri, *Agaricus bisporus* ekstraktının çinkonun farklı tuzları kullanılarak sentezlenen ZnO NP'nin şekil ve boyutlarında farklılıklar meydana getirdiğini göstermektedir. Şekil 5 ZnO NP'nin hekzagonal morfolojiye sahip olduğunu göstermekte olup, XRD analiz sonuçları da bu yapının varlığını desteklemektedir. Sentezlenen ZnO NP'nin SEM görüntüleri incelendiğinde, partikül boyutlarının nanometrelere kadar küçüldüğü görülmektedir. Bu durum ise mantar ekstraktındaki terpenoidler, polifenoller gibi bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır. Ekstraktın yapısında var olan bileşikler sadece stabilize edici bir ajan olarak değil, aynı zamanda ZnO NP'leri ile etkileşime giren ve boyutunu önemli ölçüde azaltan güçlü bir indirgeyici ajan olarak da hareket etmektedirler. SEM görüntüleri incelendiğinde, en küçük parçacık boyutuna sahip olan bileşiğin 9-24 nm parçacık boyutuna sahip olan a bileşiği olduğu görülmektedir.

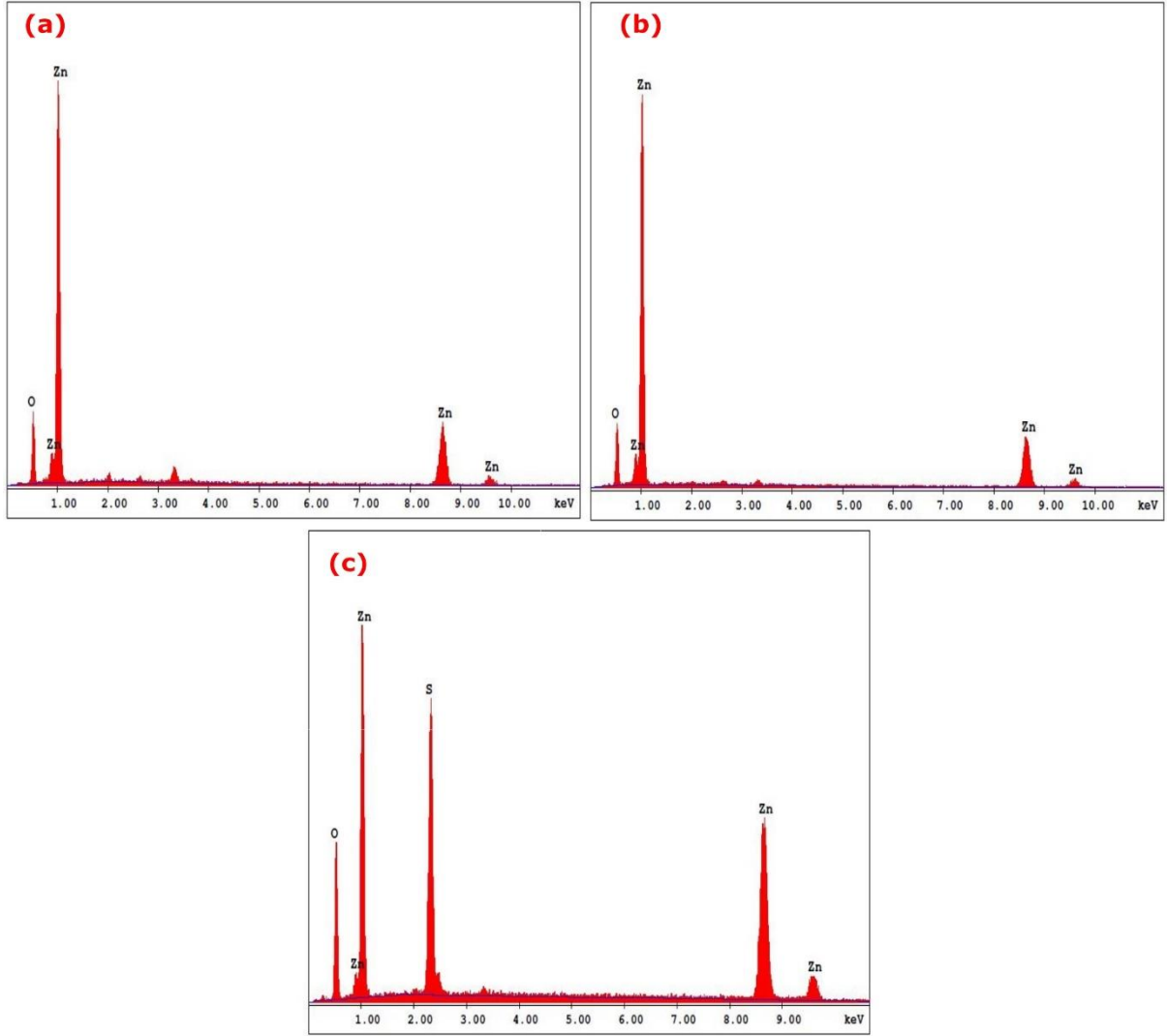
Bileşik a ile kıyaslandığında, b bileşiğinde parçacık boyutu 15-60 nm aralığında iken, c bileşiğinde ise 24-52 nm aralığındadır. Aynı zamanda a bileşiğinde partikül boyutları homojen bir dağılım gösterirken, b ve c bileşiklerinde nispeten daha heterojen bir dağılım görülmektedir. Ayrıca b ve c bileşiklerinde a bileşiğine kıyasla daha fazla agregasyon meydana geldiği gözlenmektedir.



**Şekil 5.** (a)  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (b)  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  (c)  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  tuzlarından elde edilen ZnO NP'nin SEM görüntüleri.

DeneySEL çalışmalar neticesinde elde edilen ZnO NP'nin element kompozisyonunu belirlemek için EDX analizi yapılmıştır. Şekil 6, elde edilen ZnO NP'nin EDX analizlerini göstermektedir. ZnO NP'nin EDX analizlerine bakıldığında çinko ve oksijenin sırasıyla atom yüzdeleri a bileşiğinde %45.78 ve %54.22 iken, b bileşiğinde %45.83 ve %54.17, c bileşiğinde ise, %47.72 ve %32.94 olarak bulunmuştur. Atom yüzdelerine bakıldığında bu değerlerin stokiyometrik olduğu ve teorik değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir.





Şekil 6. (a)  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (b)  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  (c)  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  tuzlarından elde edilen ZnO NP'nin EDX spektrumları.

#### D. BİYOLOJİK AKTİVİTE TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

*Agaricus bisporus* ekstraktı ve yeşil sentezi gerçekleştirilen ZnO NP' nin antibakteriyel ve antifungal etkinlikleri değerlendirildi. Test bakterileri olarak *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*, test fungusları olarak da *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Debaryomyces hansenii* ve *Crptococcus neoformans* kullanıldı. Bu, standart prosedürler izlenerek kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etkileri referans ilaçlarla (Amfisin, Amikasin ve Nistatin) karşılaştırılmıştır ve test edilen tüm bileşikler, mikroorganizmalara karşı değişen inhibisyon bölgeleri göstermiştir. Sonuçlar, bileşik a'nın, diğer bileşiklere kıyasla, *Escherichia coli*'ye (18.6 mm), bileşik b'nin ise diğer bileşiklere kıyasla *Staphylococcus epidermidis*'e (21.0 mm) karşı antibiyotiklere yakın düzeyde aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Ek olarak a, b ve c bileşikleri *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Debaryomyces hansenii* mantar izolatlarına karşı maksimum veya maksimuma yakın inhibisyon zonu verirken, *Crptococcus neoformans* mantar izolatına karşı en az aktiviteyi göstermiştir. ZnO NP' lerin bakteriyel patojenlere karşı olan inhibisyon etkisi, *Agaricus bisporus*' ta bulunan ve ZnO NP' ler üzerinde potansiyel biyoaktif indirgeme ve stabilize edici moleküller olarak görev yapan heterojen fenolik bileşikler grubunun etkili rolünden kaynaklanmaktadır [15]. Ayrıca *Agaricus bisporus* ekstraktının antimikrobiyal aktivite sonucu incelendiğinde ise, bakteri ve mantar patojenlerine karşı mukayese antibiyotiklerine kıyasla olumlu sonuçlar verdiği görülmektedir.

**Tablo 2.** *Agaricus bisporus* ekstraktının ve a-c bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	Ekstrakt	İnhibisyon Zonları (mm)*			Mukayese Antibiyotikleri		
		a	b	c	AM 10	AK 30	NY 100
<i>Escherichia coli</i>	19.33±0.65	18.6±0.65	17.63±0.65	15.66±1.15	15.0	19.0	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15.4±0.69	14.4±1.21	11.66±1.15	16.33±0.57	14.0	20.0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	14.96±0.65	11.5±0.86	12.2±0.34	16.13±0.23	27.0	20.0	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15.43±0,51	15.66±0.57	21.0±1	15.2±0.34	23.0	18.0	-
<i>Candida albicans</i>	16.0±1	15.33±0.41	17.33±0.57	16.0±0	-	-	17.0
<i>Candida glabrata</i>	17.53±0.61	18.73±0.52	20.5±0.5	17.66±0.57	-	-	19.0
<i>Debaryomyces hansenii</i>	14.5±0.86	12.0±0	15.7±0.60	20.5±0.5	-	-	18.0
<i>Crptococcus neoformans</i>	7.33±0.57	9.0±0.57	7.0±0	9.16±0.28	-	-	13.0

AM10: Amfisilin 10 µg; AK30: Amikasin 30 µg; NY100: Nistatin 100 µg. Tüm bileşik dozları: 1 mg. (\*): Tablodaki değerler inhibisyon zonlarını göstermektedir.

## IV. SONUÇ

Düzce ilindeki yerel marketlerden temin edilen mantar ekstraktı aracılığıyla çinkonun farklı tuzları (MX, X: (CH<sub>3</sub>COO)<sup>-</sup>, (SO<sub>4</sub>)<sup>2-</sup>, (NO<sub>3</sub>)<sup>-</sup> ve (Cl)<sup>-</sup> kullanılarak ZnO NP'nin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez esnasında madde miktarı, sıcaklık ve deney süreleri sabit tutularak elde edilen ZnO NP'in yapılarını aydınlatmak için FT-IR, XRD, SEM ve EDX verileri değerlendirilmiş ve analiz sonuçlarının literatür verileriyle uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Fakat ZnCl<sub>2</sub> ile yapılan çalışmada ZnO NP elde edilememiştir. Diğer üç metal tuzundan elde edilen analiz sonuçları genel bir değerlendirmeye tabi tutulduğunda ise, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O'dan elde edilen ZnO NP'in analizinde yapıda mantardan ve sülfat anyonundan kaynaklı olmak üzere kükürt tespit edilmiş ve yapıdan arındırılmamıştır. Bu tespit literatür verilerinde de görülmektedir. Fakat çinko nitrat ve çinko asetat tuzlarından elde edilen veriler oldukça kesin sonuçlar vermiştir. Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak ZnO NP elde edilmek istenildiğinde çinko asetat ve çinko nitrat tuzlarının kullanılması önerilmektedir. Farklı anyonların ortamın pH'ı üzerinde etkisinin olduğu görülmektedir. Ayrıca bu çinko tuzlarından elde edilen farklı nano-boyuttaki ZnO'in biyolojik aktiviteleri incelendiğinde ise, test bileşiklerinin antibiyotiklere kıyasla test mikroorganizmalarına karşı benzer şekilde etki ettiğini göstermektedir. *Agaricus bisporus* ekstraktı dahil olmak üzere çalışmadaki tüm bileşikler *Crptococcus neoformans* mantar izolatına karşı çok etki göstermezken, *Candida glabrata* mantar izolatına karşı antibiyotik ile neredeyse eşdeğer düzeyde antimikrobiyal etki göstermiştir.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2021.05.03.1237).

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] V. Yadav, "Nanotechnology, big things from a tiny world: A review," *Research India Publications*, vol. 3, no. 6, pp. 771-778, 2013.
- [2] W.H. Hunt, "Nanomaterials: nomenclature, novelty, and necessity," *The Minerals, Metals & Materials Society*, vol. 56, pp. 13-18, 2004.
- [3] D. Şanoğlu, "Alev sprey pirolizi yöntemiyle alümina nano toz sentezi," Yüksek lisans tezi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 2019.
- [4] A. Aygün, "Yeni nesil nanokompozitlerin/nanoilaçların hazırlanması ve antikanserojen-antimikrobiyal ilaç potansiyellerinin araştırılması," Yüksek lisans tezi, Biyokimya Bölümü, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya, Türkiye, 2019.
- [5] A. Baran, C. Keskin ve M.F. Baran, *Nanomalzeme Sentezi ve Güncel Kullanım Alanları*, 1. baskı, Ankara, Türkiye: İksad Yayınevi, 2020, böl. 3, ss. 47-61.
- [6] A. Gour, and N.K. Jain, "Advances in green synthesis of nanoparticles," *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, vol. 47, pp. 844-851, 2019.
- [7] J. Singh, T. Dutta, K. Kim, M. Rawat, P. Samddar, and P. Kumar, "'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation," *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 84, pp. 1-24, 2018.
- [8] A. Aygün, S. Özdemir, M. Gülcan, K. Cellat, and F. Şen, "Synthesis and characterization of Reishi mushroom-mediated green synthesis of silver nanoparticles for the biochemical applications," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 178, pp. 112970, 2020.
- [9] M.N. Owaid, "Green synthesis of silver nanoparticles by *Pleurotus* (oyster mushroom) and their bioactivity: Review," *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, vol. 12, pp. 100256, 2019.
- [10] I.K Sen, K. Maity, and S.S. Islam, "Green synthesis of gold nanoparticles using a glucan of an edible mushroom and study of catalytic activity," *Carbohydrate Polymers*, vol. 91, no. 2, pp. 518-528, 2013.
- [11] S. Gummuluri, V.T. Kavalipurapu, and A.V. Kaligotla, "Antimicrobial efficacy of Novel Ethanolic Extract of *Morinda Citrifolia* Against *Enterococcus Faecalis* by Agar Well Diffusion Method and Minimal Inhibitory Concentration-An *In vitro* Study," *Brazilian Dental Science*, vol. 22, no. 3, pp. 365-370, 2019.
- [12] CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Approved Standard, CLSI document M100*, 30th edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- [13] B.Y. Hussein, and A.M. Mohammed, "Green synthesis of ZnO nanoparticles in grape extract: Their application as anti-cancer and anti-bacterial," *Materials Today: Proceedings*, vol. 42, no. 3, pp. A18-A26, 2021.
- [14] Ö. Erdoğan, F. Birtekocak, E. Oryaşın, M. Abbak, G.M. Demirbolat, S. Paşa, and Ö. Çevik, "Enginar yaprağı sulu ekstraktı kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi,

karakterizasyonu, anti-bakteriyel ve sitotoksik etkileri,” *Duzce Medical Journal*, vol. 21, no. 1, pp. 19-26, 2019.

[15] M. Gąsecka, Z. Magdziak, M. Siwulski, and M. Mleczek, “Profile of phenolic and organic acids, antioxidant properties and ergosterol content in cultivated and wild growing species of *Agaricus*,” *European Food Research and Technology*, vol. 24, no. 2, pp. 259-268, 2018.