



Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Melissa officinalis* leaves and its effect on powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) in vineyard

Ramazan Orhan^{1*}, İnanç Özgen², Şahimerdan Türkölmez³, Ercan Aydoğmuş¹, Mehmet Deniz Turan⁴, Buket Erzen¹, İsmail Rastgeldi³

¹Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Fırat University, 23119, Elazığ, Türkiye

²Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Fırat University, 23119, Elazığ, Türkiye

³Gap Agricultural Research Institute, 63040, Şanlıurfa, Türkiye

⁴Department of Metallurgical and Materials Engineering, Faculty of Engineering, Fırat University, 23119, Elazığ, Türkiye

Highlights:

- Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Melissa officinalis* leaves.
- Effect of nanosulfur against vineyard powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) disease
- Comparison of nanosulfur with conventional sulfur

Keywords:

- Green synthesis
- Nanosulfur
- Melissa leaf
- Powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.)

Article Info:

Research Article

Received: 01.11.2024

Accepted: 17.06.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1577441

Acknowledgement:

This work was supported by the Scientific and Technical Research Council of Türkiye (TÜBİTAK) 1002 Rapid Support Program under protocol number 222O198. We would like to thank TÜBİTAK.

Correspondence:

Author: Ramazan Orhan
e-mail: rorhan@firat.edu.tr
phone: +90 537 822 56 17

Graphical/Tabular Abstract

Due to their small size, large surface area and high reactivity, it is very important that nanoparticles used in fungicides, bactericides, and nanofertilizers are produced using sustainable and eco-friendly methods. Among these methods, the green synthesis method is the most suitable because of its simplicity, ease of use, environmental friendliness, excellent biocompatibility, and low biotoxicity. As shown in Figure A, nanosulfur was synthesized by green synthesis method using melissa leaf (*Melissa officinalis* L.). The effective formation of synthesized SNPs was examined by UV-Visible spectroscopy, XRD, FTIR, FE-SEM, EDX, TEM, particle size analysis, and zeta potential analyses. The average particle size was determined to be between 21.4 and 126.8 nm. The synthesized nanosulfur was then applied to grapevines in the vineyard to determine its effect against grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) disease and to compare it with powder sulfur. It was found that nanosulfur application was 79.21% effective and powder sulfur application was 68.28% effective in preventing grapevine powdery mildew disease.



Figure A. Green synthesis of sulfur nanoparticles using melissa leaf and its application in the vineyard

Purpose: The aim is to synthesize sulfur nanoparticles using a green synthesis method and to determine the effects of synthesized nanosulfur and traditional powdered sulfur against powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) disease in grape vineyards.

Theory and Methods: Method; It is a green synthesis method that is simple, convenient, and environmentally friendly, and its application was made according to the Agricultural Struggle Technical Instruction.

Results: Characterization tests of the synthesized SNPs were performed. The average particle size was determined to be between 21.4 and 126.8 nm. As a result of its application in the vineyard, nanosulfur was found to be 79.21% effective against powdery mildew disease, whereas powdered sulfur was 68.28% effective.

Conclusion: It has been proven that nano-sized sulfur can be produced by green synthesis method using melissa leaf extract, and an environmentally friendly product can be developed as an alternative to other chemical fungicides used to treat powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) in vineyards.



Melissa officinalis yaprakları kullanılarak kükürt nanopartiküllerinin yeşil sentezi ve üzüm bağlarında külleme (*Erysiphe necator* Schw.) üzerindeki etkisi

Ramazan Orhan^{1*}, İnanç Özgen², Şahimerdan Türkölmez³, Ercan Aydoğmuş¹, Mehmet Deniz Turan⁴, Buket Erzen¹, İsmail Rastgeldi³

¹Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

³GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü, 63040, Şanlıurfa, Türkiye

⁴Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

ÖNEÇIKANLAR

- Çevre dostu bir metot olan yeşil sentez metoduyla kükürt nanopartiküllerin (SNP'ler) sentezi
- Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının karakterizasyon testleri
- Bağ küllemesi (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığı ile mücadele

Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi

Geliş: 01.11.2025

Kabul: 17.06.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1577441

Anahtar Kelimeler:

Yeşil sentez,
nanokükürt,
melisa yaprağı,
bağ küllemesi

ÖZ

Tüm dünyada ve ülkemiz bağcılığında önemli ölçüde ürün ve kalite kayıplarına yol açan fungal hastalıklardan birisi de *Erysiphe necator* Schw. tarafından oluşturulan küllemedir. Hastalık, sıcak ve kuru hava koşullarında salkım kalitesini ve verimini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu hastalığın mücadelesinde genellikle toz kükürt kullanılmakta ancak çoğu zaman kükürtün kullanımından dolayı bitkide fitotoksitesite oluşmaktadır. Günümüzde nanopartiküller farklı fizikokimyasal özelliklerinden dolayı oldukça ilgi çekmektedir. Nanoparçacıklar küçük boyutu, geniş yüzey alanı ve yüksek reaktiviteye sahip olmaları nedeniyle fungusit, bakterisit ve nanogübrelerde kullanılmaktadır. Nanomalzemelerin sürdürülebilir ve çevre dostu bir yöntemle üretilmesi önemlidir. Bu yöntemler arasında, basitliği, kullanımı, çevre dostu, mükemmel biyouyumluluğu ve düşük biyotoksitesitesi nedeniyle yeşil sentez yöntemi en uygun yöntemdir. Mevcut çalışmada polifenol içeriği yüksek ve kolay temin edilen bir bitki olan melisa yaprağı (*Melissa officinalis* L.) kullanılarak nanokükürt sentezlenmiştir. Sentezlenen SNP'lerin etkin oluşumu UV-Görünür spektroskopisi, XRD, FTIR, FE-SEM, EDX, TEM, partikül boyut analizi ve zeta potansiyeli analizleri ile incelenmiştir. Ortalama parçacık boyutunun 21,4 ile 126,8 nm arasında olduğu belirlenmiştir. Sentezlenen nanokükürt üzüm bağındaki asmalara uygulanarak bağ küllemesi (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığına karşı etkisi belirlendikten sonra toz kükürt ile karşılaştırılmıştır. Nanokükürt uygulamasının %79,21, toz kükürt uygulamasının ise bağ küllemesi hastalığını önlemede %68,28 etkili olduğu tespit edilmiştir.

Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Melissa officinalis* leaves and its effect on powdery mildew (*Erysiphe necator* schw.) in vineyard

HIGHLIGHTS

- Synthesis of sulfur nanoparticles (SNPs) by green synthesis method, an environmentally friendly method
- Characterization tests of synthesized nanosulfur particles
- Combating powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) disease

Article Info

Research Article

Received: 01.11.2024

Accepted: 17.06.2025

DOI:

10.17341/gazimmfd.1577441

Keywords:

Green synthesis,
nanosulfur, melissa leaf,
powdery mildew

ABSTRACT

One of the fungal diseases that causes significant product and quality losses in viticulture all over the world and in our country is powdery mildew caused by *Erysiphe necator* Schw.. The disease negatively affects grape cluster quality and yield under hot and dry weather conditions. Powdered sulfur is generally used in the fight against this disease, but most of the time, phytotoxicity occurs in the plant due to the use of sulfur. Nowadays, nanoparticles have attracted considerable attention because of their different physicochemical properties. Nanoparticles are used in fungicides, bactericides, and nanofertilizers because of their small size, large surface area, and high reactivity. It is quite important to produce nanomaterials using sustainable and eco-friendly methods. Among these methods, the green synthesis method is the most suitable because of its simplicity, ease of use, environmental friendliness, excellent biocompatibility, and low biotoxicity. In the current study, nanosulfur was synthesized using melissa leaf (*Melissa officinalis* L.), which is known for its high polyphenol content and easy availability. The effective formation of synthesized SNPs was examined by UV-Visible spectroscopy, XRD, FTIR, FE-SEM, EDX, TEM, particle size analysis, and zeta potential analyses. The average particle size was determined to be between 21.4 and 126.8 nm. The synthesized nanosulfur was applied to grapevines in the vineyard to determine its effect against grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) disease and then compared with powdered sulfur. It was determined that nanosulfur application was 79.21% effective and powdered sulfur application was 68.28% effective in preventing grapevine powdery mildew disease.

1. Giriş (Introduction)

Kükürt (S), Dünya kabuğunda en bol bulunan on dördüncü element olup, bitkinin büyümesinde vazgeçilmez bir rol oynayan ve bitkilerin birçok biyotik ve abiyotik strese verdiği tepkileri düzenleyen bir makro besin maddesi olarak kabul edilir [1]. Kükürt gibi mineral besin maddelerinin yeterli miktarda uygulanması, bitki toleransını artırabilir ve bitki stresinin hafifletilmesine katkıda bulunabilir [2]. Kükürdün etkin rolü, glutatyon, fitoşelatinler, glukozinolatlar ve vitaminler gibi birçok savunma bileşiğinin yanı sıra sistein ve metionin gibi birçok amino asitte bulunmasına atfedilebilir [3]. Modern bilimin ve ileri teknolojilerin olağanüstü gelişimi ile elementel kükürt, nanokükürt, polimerik kükürt, kükürt kompozitleri ve plazmonik nanoyapılar dâhil olmak üzere çeşitli kükürt malzemeler tıp, askeriye, tekstil endüstrisi ve tarım gibi birçok önemli alanlarda kapsamlı bir şekilde uygulama alanı bulmuştur [4]. Özellikle, tarımsal alanlarda mineral besin katkı maddesi ve antifungal toksik madde olarak yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. Bununla birlikte, maliyeti minimuma indirmek ve hedef patojenlerin direncini kısıtlamak için uygulanan miktarın azaltılması esas olarak arzu edilir [5]. Bu bağlamda, nano ölçekteki kükürt, bitki büyümesini artırmak ve stresli koşulları azaltmak amacıyla nanoparçacıklar (SNP'ler) olarak uygun miktarlarda kullanılabilir. Günümüzde nanoparçacıklar, kütleli emsallerinden belirgin şekilde farklı fizikokimyasal özellikleri nedeniyle özel ilgi görmektedir [6]. Nanokükürt, nanomalzemeler ailesinin bir üyesi olarak boyut etkilerinin özelliklerinden dolayı üretilmektedir. Özellikle, sıfır boyutlu kükürt nanomalzemeler, kolay sentez, çok yönlü işlevsellikler ve enerji depolama, fotoelektrik dönüşüm, foto/elektro-kataliz, algılama, biyo-görüntüleme, biyotıp, antifungal/antibakteriyel faaliyetler, kirleticilerin ayrıştırılması, bitki büyüme düzenleyicileri gibi önemli alanlardaki mükemmel uygulamaları nedeniyle çok ilgi görmektedir [7-9]. Nanoteknolojinin yaşam döngüsü üzerindeki etkisini dikkate almak için nanomalzemelerin sürdürülebilir ve çevre dostu bir şekilde üretilmesi önemlidir. Araştırmacılar tarafından nanoparçacıkların sentezi için farklı yöntemler kullanılarak önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu yöntemler arasında bitki özleri ile nanoparçacıkların sentezlendiği yeşil sentez yöntemi [10, 11], basit, kullanışlı, çevre dostu, mükemmel biyoyoumluluk ve ultra düşük biyotoksikite ile büyük ölçekli nanokükürt parçacıklarının (SNP) hazırlanması için en uygun yöntemdir. Bu yöntemle nanokükürt parçacıkları, kapatma, stabilize etme ve dağıtma ajanları olarak doğal bitki (*Catharanthus roseus*, *F. benghalensis*, *Melia azedarach* yaprakları, fesleğen yaprakları vb.) özleri kullanılarak sentezlenmektedir [12-15]. Bitki özünde bulunan fenolik ve diğer kimyasal bileşikler, indirgeyici ve kapatıcı ajanlar olarak nanomalzemelerin oluşumunu da kolaylaştırmaktadır [16]. Rosmarinic asit birçok bitkide bulunan bir polifenoldür. Özellikle kekik otu (*Thymus vulgaris* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), melisa yaprağı (*Melissa officinalis* L.), adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ve merzengüş (*Origanum majorana* L.) bitkilerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Yeşil sentez metodu ile metal iyonlarının indirgenmesinde de bitkinin polifenol içeriği etkilidir. Bu nedenle mevcut çalışmada, polifenol içeriği yüksek ve kolay temin edilen bir bitki olan melisa bitkisinin yaprağı (*Melissa officinalis* L.) tercih edilmiştir.

Günümüzde üzüm düzenli olarak dünya çapında ilk beş meyve ürünü arasında yer almaktadır ve üretimi son beş yılda artmaya devam etmektedir [17]. Üretilen üzüm, yağ, kuru üzüm, meyve suyu, sofralık üzüm ve şarap dâhil olmak üzere çok çeşitli ticari ürün olarak kullanılmaktadır. 2021 ile 2028 yılları arasında, yalnızca küresel şarap pazarının yıllık %4,3 bileşik büyüme oranı yaşayacağı ve 2021'de 340,23 milyar \$ olan piyasa değerinden 456,76 milyar \$'a yükseleceği tahmin edilmektedir [18]. Dünyada 2018 yılında toplam asma alanı 7,2 milyon ha ulaşmıştır [19]. Türkiye ise bağ alanı açısından yaklaşık

417 bin ha ve %6'lık pay ile İspanya (%16), Çin (%11), Fransa (%11) ve İtalya'dan (%9) sonra 5. sırada yer almaktadır. Türkiye'nin ardından, ABD (%5) ve Arjantin (%3) gelmektedir. Türkiye bağcılık için en uygun iklim kuşağında bulunmakta, bağ alanı ve üretim miktarı ile de dünyadaki önemli bağcılık merkezleri arasında yer almaktadır. Bağcılıkta verim ve kalite üzerinde birçok faktör yanında hastalıklar da etkili olmaktadır. Tüm dünyada ve ülkemiz bağcılığında önemli ölçüde ürün ve kalite kayıplarına yol açan fungal hastalıklardan birisi de *Erysiphe necator* (Schw.)'nin neden olduğu küllemedir. Bu hastalık, asmaların tüm yeşil dokularını enfekte edebilen ve zorunlu bir biyotrof olan *Erysiphe necator* Schw. [syn. *Uncinula necator* (Schw.) Burr.] fungusu tarafından meydana gelir [20]. Bu patojen bitkilerin tüm yeşil dokularını enfekte edebilir ve enfekteli yaprakların, gövdelerin, tomurcukların, çiçeklerin ve genç meyvelerin yüzeyinde kolayca tanınabilir bir semptom olarak beyaz-grimsi bir tozun görünmesine neden olur. Enfekte yapraklarda fotosentez azalır ve sıklıkla erken yaşlanma ve dökülme görülür. Meyvelerin erken enfeksiyonu çatlamaya yol açar bu da verimi önemli ölçüde azaltır ve olgun meyvede artan asitliğe ve antosiyanin ve şeker içeriğinin azalmasına neden olur [21].

Yetiştirilen üzüm çeşitlerinin büyük bir kısmı külleme hastalığına karşı duyarlıdır; bu nedenle, yetiştiriciler hastalığı kontrol altına almak amacıyla özellikle hastalık yoğunluğunun arttığı dönemlerde 7-10 günlük aralıklarla fungisit uygulamak zorundadırlar. Elementel kükürt, bağlarda külleme hastalığıyla mücadelede etkili bir fungisit olarak ilk kez 1848 yılında önerilmiş olup, etkinliği ve düşük maliyeti nedeniyle günümüzde hâlâ yaygın olarak kullanılmaktadır [22]. Çoklu etki mekanizması sayesinde külleme hastalığını kontrol etmedeki etkinliğini sürdürmesine rağmen, kükürdün bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Bu dezavantajlar arasında yüksek sıcaklıklarda fitotoksikite, koruyucu olarak sık uygulama gerekliliği, şarapta istenmeyen tat bozukluklarına yol açma potansiyeli ve çevre üzerinde istenmeyen etkiler oluşturma riski yer almaktadır [23].

Türkiye'de hastalığın kontrolü için Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre [24] uygulama yapılmaktadır. Ancak hastalığın asmada neden olduğu zarar ve ürün kayıpları konusunda üreticilerden her yıl çok sayıda şikâyetler alınmaktadır. Araştırmacılar ve uygulayıcılardan gelen, bağ küllemesi hastalığına karşı mevcut mücadele programının hastalığın yönetiminde yetersiz kaldığı görüşü üzerine bağ küllemesi hastalığının Zirai Mücadele Teknik Talimatında ve Standart İlaç Deneme Metodunda yer alan mücadele zamanlarında düzeltmeye gidilmesi ve farklı coğrafik bölgelerde çalışma yapılması bildirilmiştir [25]. Bu çalışmada, önce çevre dostu bir metod olan yeşil sentez metoduyla kükürt nanopartikülleri (SNP'ler) sentezlenmiştir. Daha sonra Şanlıurfa ili GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne bağlı bağda bağ küllemesi (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığına karşı hem sentezlenen nanokükürt hem de karşılaştırma yapmak için toz kükürt uygulaması yapılmış ve sonuçları değerlendirilmiştir.

2. Deneysel Method (Experimental method)

2.1. Kimyasallar (Chemicals)

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan alındığı haliyle kullanılmıştır. Sodyum tiyosülfat pentahidrat Kimyalab Şirketi'nden (Türkiye) ve Sitrik asit Tekkim Şirketi'nden (Türkiye) satın alınmıştır.

2.2. *Melissa officinalis* Sulu Ekstresinin Hazırlanması (Preparation of *Melissa officinalis* Aqueous Extract)

Kurutulmuş melisa yaprakları (*Melissa officinalis* L.) bir baharat öğütücüsü kullanılarak ince toz haline getirilmiştir. 10 gr öğütülmüş

toz Melissa yaprağı alınarak 500 mL'lik bir erlenmayer de 400 mL deiyonize su ile önce 60°C sıcaklıkta 600 rpm karıştırma hızında 1 saat daha sonra aynı karıştırma hızında 24 saat ortam sıcaklığında (25°C) karıştırılmıştır (Şekil 3). Elde edilen ekstrakt Whatman No.1 filtre kâğıdı ile süzülerek toplanmış ve +4°C sıcaklığında saklanmıştır. Elde edilen bu süzöntü, yaprak ekstraktı olarak nanokükürt sentezinde kullanılmıştır.

2.3. Kükürt Nanopartiküllerinin (SNPs) Yeşil Sentezi (Green Synthesis of Sulfur Nanoparticles (SNPs))

SNP sentezi için, ilk olarak 0,078 M sodyum tiyosülfat pentahidrat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi, 50 mL deiyonize su kullanılarak hazırlanmıştır. Ardından, hazırlanan çözeltiye 20 mL melisa yaprağı özütü ilave edilerek, 600 rpm hızında 10 dk boyunca sürekli karıştırılmıştır. Daha sonra, karışıma %20 (ağırlıkça) sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) çözeltisinden 25 mL eklenmiş ve karışım 600 rpm hızında 1 saat süreyle karıştırılmıştır. Elde edilen karışımdan katı nanokükürt parçacıklarının ayrılması amacıyla, 4000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüjleme işlemi uygulanmıştır. Santrifüj sonucunda elde edilen çökelti, 60 °C'de 24 saat boyunca etüve kurutulmuş ve ardından üzüm bağındaki asmalara uygulanmak ve karakterizasyon testlerinde kullanılmak üzere numune kaplarında muhafaza edilmiştir. Şekil 1, yeşil sentez yöntemiyle nanokükürt sentezinde bitki özütü olarak kullanılan melisa yaprağının başlangıç aşamasından son nanomalzeme üretim aşamasına kadar geçen işlem basamaklarını göstermektedir [26].

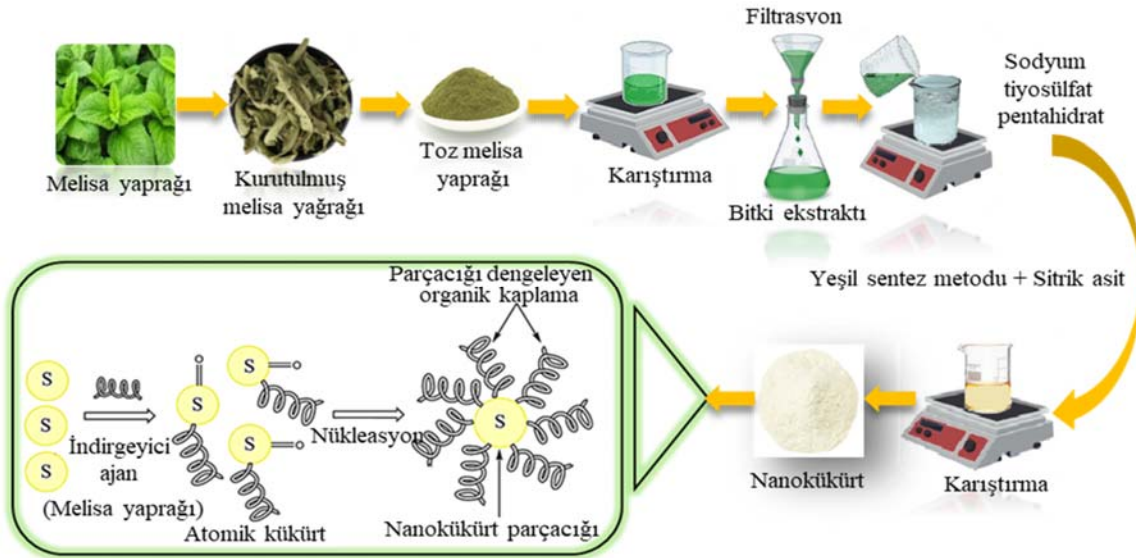
Bitki ve ağaçların kabuk, yaprak, meyve, tohum, çiçek ve polen gibi tüm kısımlarında bol miktarda bulunan polifenolik bileşiklerin, reaktif oksijen türlerini (ROS) sınırlamada etkili indirgeyici maddeler olduğu iyi bilinmektedir [27]. Melisa yaprakları da önemli miktarda polifenolik bileşik içerir [28]. Bu proteinler/fitokimyasallar ve sitrik asitler tiyosülfat çözeltileriyle karıştırıldığında, [Tiyosülfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) kökünde farklı işlevlere sahip iki kükürt atomu bulunur ve iyon şeması (O-S-S^{2-})'dir. Bu kükürtler arasında ortadaki kükürt +6 değerine ve ikinci kükürt -2 değerine sahiptir], fitokimyasallar tarafından S^{6+} 'nın S^0 'a anında indirgenmesi ve sitrik asit tarafından S^{2-} 'nin S^0 'a oksidasyonu orantısızlaştırma süreciyle aynı anda gerçekleşir.

2.4. Sentezlenen SNP'lerin karakterizasyonu (Characterization of Synthesized SNPs)

Mevcut çalışmada 200-800 nm arasında değişen dalga boyu aralığında Shimadzu UV-1800 marka UV-Vis spektroskopisi kullanılarak absorpsiyon ölçümü yapılmış ve sentezlenen nanokükürt parçacıkları karakterize edilmiştir. Nanomalzemelerin atomik ve kristal yapısı hakkında bilgi almak için XRD (Rigaku D/Max-2200) analizi yararlı bir ölçüm tekniğidir. Bu amaçla sentezlenen nanokükürt parçacıklarının oluşumunu doğrulamak, kristal yapısını, kristal düzlemlerini analiz etmek ve kristal nanoparçacıkların boyutunu hesaplamak için X-Işınları Difraksiyonu (XRD) analizi yapılmıştır. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının, kapatılmasından ve stabilizasyonundan sorumlu melisa yaprağı ekstraktında bulunan olası biyomolekülleri belirlemek ve farklı kimyasal fonksiyonel grupları analiz etmek için 400-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında Shimadzu S11025C (QATR-S) cihazı kullanılarak Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi yapılmıştır. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının şekli, boyutu, morfolojisi ve dağılımı Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM) (Hitachi Regulus 8230) analizi ile kükürt nanopartiküllerin varlığı ve elementel bileşimi Enerji Dağılım X-Işın Spektroskopisi (EDX) analizi ile belirlenmiştir. Nanomalzemenin nano ölçekte parçacık boyutunu ve yüksek çözünürlükle kristal yapısını incelemek için ise nanokükürt parçacıklarının ortalama nanopartikül boyutunu ve boyut dağılımını tahmin etmek üzere Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) (Hitachi HT-7800) analizi yapılmıştır. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının boyutu, parçacık boyutu analiz cihazı (NICOMP 380 ZLS, Santa Barbara, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. Aynı cihazda nanokükürt parçacıklarının stabilitesini belirlemek için zeta potansiyel ölçümü yapılmıştır. Zeta potansiyel ölçümü için zeta hücresine seyreltilmiş nanokükürt parçacık süspansiyonu kullanılmıştır.

2.5. Sentezlenen SNP'lerin uygulanması (Application of Synthesized SNPs)

Bağlarda külleme (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığına karşı nanokükürt parçacıklarının etkisini belirlemek ve toz kükürtle karşılaştırmak amacıyla Şanlıurfa ilinde GAP Tarımsal Araştırma



Şekil 1. Melisa yaprağı kullanarak yeşil sentez yöntemi ile nanokükürt parçacıklarının sentezinin şematik gösterimi
(Schematic representation of the synthesis of nanosulfur particles by green synthesis method using melissa leaf)

Enstitüsü Müdürlüğüne bağlı üzüm bağında Tarımsal Mücadele Teknik Talimatına uygun olarak nanokükürt parçacıkları uygulanmıştır [29]. Denemelerde etkin madde nanokükürt formülasyonu kullanılmıştır. İlaçlama, deneme alanının tamamında düzgün dağılıma veya hassas bölgesel ilaçlamaya (kısmi dal, tek dal vb.) uygun sırt pülverizatörü ile yapılmıştır (Şekil 2).

2.5.1. Deneme Deseni ve Tertibi (Trial Design and Arrangement)

Deneme deseni olarak sentezlenen nanokükürdün tek dozu (100 gr/100 L su), herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol dozu ve standart toz kükürdün önerilen dozu olan 400 gr/100 L su, 3 tekerrürlü olarak uygulanmıştır.

Uygulama Programı: Zirai Mücadele Teknik Talimatına göre,

1. **İlaçlama:** Çiçekten önce sürgünler 10-15 cm olduğu dönemde,

2. **İlaçlama:** Çiçek taç yapraklarının döküldüğü ve korukların saçma tanesi iriliğinde olduğu dönemde yapılmıştır.

Kontrol: Kontrolde hiçbir uygulama yapılmayacaktır.



Şekil 2. Bağda yapılan ilaçlama (Spraying in the vineyard)

2.5.2. Sayım ve Değerlendirmeler (Counting and Evaluations)

Üzüm asmalarındaki külleme hastalığının değerlendirilmesi ise yaprak enfeksiyonlarının görüldüğü yaprak sayımlarına göre yapılmıştır [30]. Yapraklar için değerlendirme skalası Tablo 1'de verilmiştir.

Yaprakta sayım ve değerlendirme: Sayım yapılacak her bir omcanın çevresindeki sürgünlerden, dipten 3. yaprakтан sonraki yapraklardan, tesadüfen alınan 25' er yaprakta, 4 omcadan alınan toplam 100 yaprakta yapılmıştır.

Sayım zamanı ve sayısı: Sayımlar, son ilaçlamadan sonra ilacın etki süresi ve hastalık etmeninin inkübasyon periyodu (5-6 gün) kadar süre geçtikten sonra ve kontrol parsellerinde hastalık oranı %20 ve üzerinde olduğunda yapılmıştır.

Değerlendirme: Salkımların değerlendirilmesinde sayım sonunda hasta ve sağlam olarak ayrılmış danelerin hastalık yüzdesi bulunarak ve Abbott formülüyle değerlendirilerek ilaçların yüzde etkileri

hesaplanmıştır. Yaprak değerlendirmesinde skalaya göre elde edilen değerlerden aşağıda verilen formüller ile Towsend-Heuberger formülüne (Eş. 1) göre yüzde hastalık şiddeti, Abbott formülü (Eş. 2) ile ilaçların % etkisi bulunmuştur (Tablo 3).

$$\text{Hastalık Şiddeti, \%} = \frac{\sum(n.V)}{Z.N} \times 100 \quad (1)$$

Burada n, farklı zarar grubuna giren yaprak sayım değerleri; V, gruplara ayrılmış zarar dereceleri (skala değerleri); N, kontrole tabi tutulan toplam yaprak sayısı; Z, sıfır grubu hariç, aynı zamanda en yüksek skala değerinin grup değeri.

$$\text{Etki, \%} = \frac{(A-B)}{A} \times 100 \quad (2)$$

Burada A, kontrolde hastalık şiddeti; B, uygulamada hastalık şiddeti.

Tablo 1. Bağ küllemesi hastalığında yaprak için değerlendirme skalası (Leaf evaluation scale for powdery mildew disease in grapevines)

Skala değeri	Hastalık tanımı
0	Yaprakta hiç leke yok
1	Yaprakta 1-2 leke mevcut
2	Yaprakta 3-10 leke mevcut
3	Yaprakta 10 adetten fazla leke mevcut

3. Sonuçlar ve Tartışmalar (Results and Discussions)

3.1. Sentezlenen SNP'lerin Karakterizasyonu

(Characterization of Synthesized SNPs)

Nanokükürt parçacıkları (SNP'ler), melisa yaprak (*Melissa officinalis*) ekstraktından yeşil sentez metodu ile hazırlanmıştır. Sentezlenen nanokükürt'ün stabilitesini ve oluşumunu tespit etmek için UV-Vis spektroskopisi, kristal yapısının belirlenmesi amacı ile XRD, fonksiyonel grupların analizi için FTIR, parçacık boyut dağılımının belirlenmesi için SEM ve TEM, elementel bileşim için EDX, boyutu ve stabilitesini belirlemek için parçacık boyutu analiz zeta potansiyel ölçümü yapılarak karakterize edilmiştir.

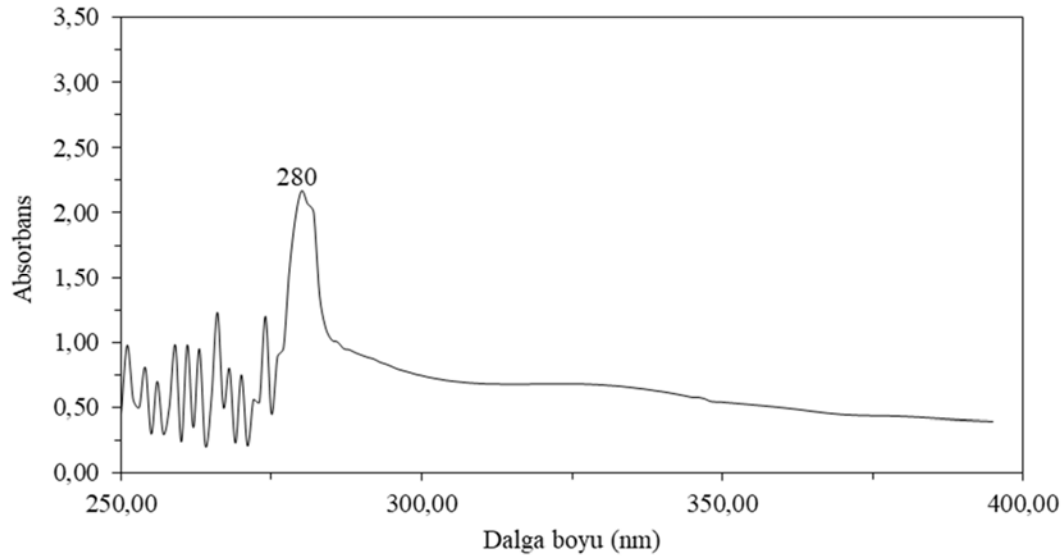
3.1.1. UV-Vis Spektroskopisi (UV-Vis Spectroscopy)

UV-vis spektroskopisi, UV-vis spektrum bölgesindeki absorpsiyonu ifade etmek için kullanılır. 200-800 nm'lik ışık frekansları, 2 nm ila 100 nm boyut aralığındaki farklı metal nanopartikülleri tasvir etmek için yaygın olarak kullanılır. Bu nedenle, SNP'lerin melisa yaprağı sentezini doğrulamak için UV-Vis spektrofotometre analizi yapılmıştır. Sentezlenen SNP'leri karakterize etmek için 200-800 nm aralığındaki dalga boyunun maksimum absorpsiyonu (λ_{maks}) ölçülmüştür. Şekil 3'de melisa yaprağı nanoparçacıklarının 280 nm'de maksimum absorpsiyon pik verdiği görülmektedir. α -kükürdün 260-280 aralığında maksimum optik absorpsiyon sergilediği iyi bilinmektedir [31]. Şekil 3'de 280 nm'de görülen pik, SNP'lerin başarılı bir şekilde oluşumunu göstermektedir. Tripathi vd. (2018) tarafından *F. Benghalensis* ve Ragab ve Saad-Allah (2020) tarafından *O. basilicum* yaprak ekstraktı kullanarak sentezledikleri SNP'ler sırasıyla 272 ve 274 nm'de maksimum absorpsiyon piki vermiştir [14, 32].

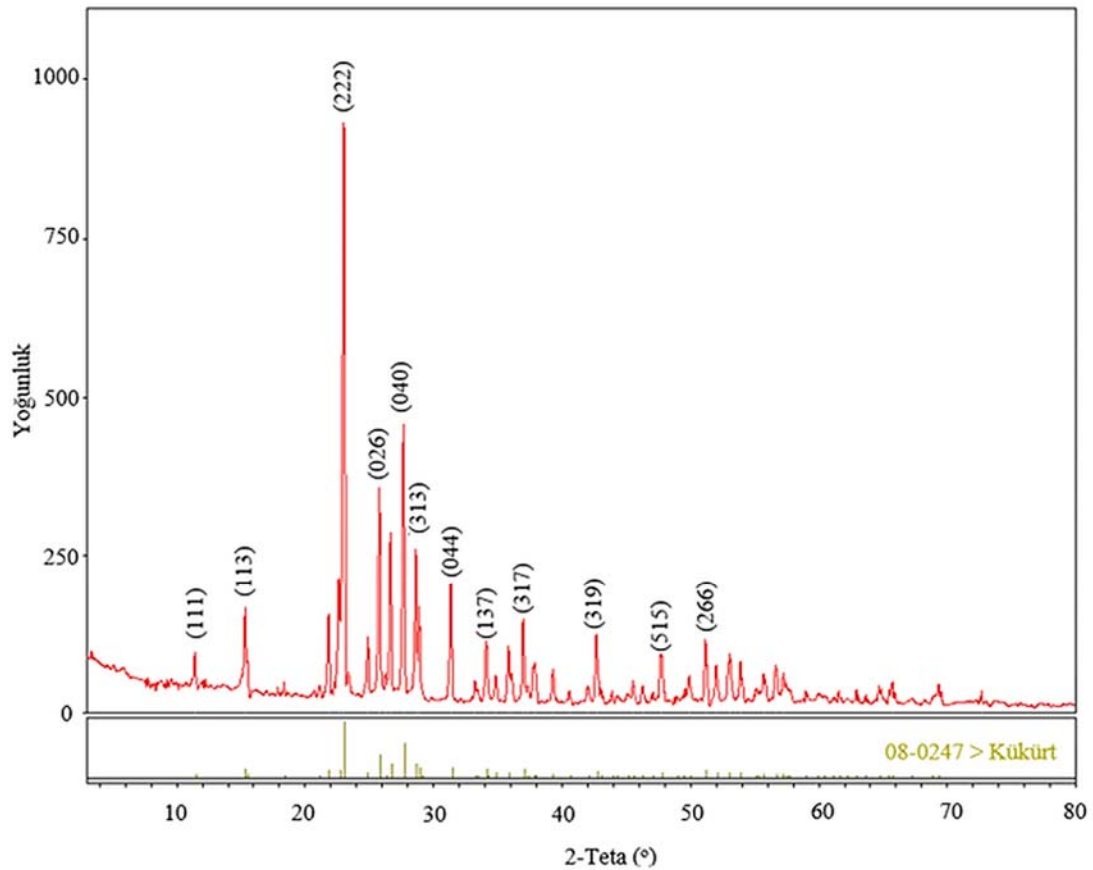
3.1.2. XRD Analizi (XRD Analysis)

Melissa officinalis yaprak ekstraktı ile sentezlenen SNP'lerin XRD analizi Şekil 4'de gösterilmektedir. Analiz sonuçları, kırınım tepe noktalarının konumu ve yoğunluğu temelinde kükürt

nanopartiküllerinin kristal yapısını göstermektedir. Şekil 4'de düzlemlerine atfedilir. Bu piklerin göze çarpan konumları ve



Şekil 3. Sentezlenen SNP'lerin UV-Vis spektrumu (UV-Vis spectrum of synthesized SNPs)



Şekil 4. Sentezlenen SNP'lerin XRD modeli (XRD pattern of synthesized SNPs)

sentezlenmiş SNP'lerin kristal doğasını gösteren birçok keskin pik gözlenmiştir. 11,43; 15,34; 23,02; 25,80; 27,68; 28,64; 31,36; 34,12; 36,98; 42,72; 47,70; 51,18°'deki 2θ pikleri sırasıyla 111, 113, 222, 026, 040, 313, 044, 137, 317, 319, 515, 266'daki kükürt kristal

yoğunlukları standart kükürt ile iyi bir uyum içindedir (Toz Kırınımı Ortak Komitesi standardı, JCPDS No. 08-0247). Kükürt nanoparçacıklarının XRD analizine ilişkin benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir [13, 32].

3.1.3. FTIR Analizi (FTIR Analysis)

Melisa yaprak ekstraktının FT-IR spektrumları Şekil 5 (a)'da gösterilmektedir. 3200-3500 cm^{-1} aralığında gözlenen güçlü bant alkoller/fenoller oluşan (-OH) grubuna ve amidlerin (-NH) gerilmesine atılır [12, 33]. 2930 cm^{-1} gözlenen pik bitkideki alifatik bileşiklerin (-CH), (-CH₂) ve (-CH₃) fonksiyonel gruplarının asimetrik ve simetrik gerilmesine atılır [34, 35]. 1634 cm^{-1} 'deki pik alkenlerdeki (C=C) grubunun mevcut olduğunu aynı zamanda karbonil fonksiyonel gruplarının (-C=O) gerilme titreşimlerine veya amid fonksiyonel gruplarına atanabilir [36, 37]. 1400 cm^{-1} 'deki pik alkandaki (C-H) bükülme fonksiyonel grubuna karşılık gelmektedir. 1243 cm^{-1} pik, lakton veya flavonlardaki (C-O) gerilme titreşiminin varlığını akla getirir. 1059 cm^{-1} 'de belirgin pik, ester fonksiyonel gruplarındaki (C-O) titreşimine ve ikincil sıklık alkollerdeki (C-O) gerilmesine atfedilebilir. Son olarak 875 cm^{-1} 'deki pik, aromatik bisiklik monoterenlerden (=C-H) grubunu temsil edebilir [38, 39]. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının FT-IR spektrumu Şekil 5 (b)'de gösterilmektedir. Melisa yaprağı ekstraktının 850, 1059 ve 1634 cm^{-1} dalga sayılarında gözlemlenen karakteristik pikler, nanokükürt parçacıklarının FT-IR spektrumunda da gözlenmiştir. 466 cm^{-1} 'de daha belirgin olarak görülen keskin pik ise nanokükürtün varlığını ispatlamaktadır [12].

3.1.4. FE-SEM ve EDS Analizi (SEM and EDS Analysis)

FE-SEM analizleri, melisa yaprağı ekstraktından sentezlenen kükürt nanopartiküllerin şeklini, boyutunu, morfolojisini ve dağılımını tanımlamak için yapılmıştır. Sentezlenen kükürt nanopartikülleri için FE-SEM görüntüleri Şekil 6'da görülmektedir. FE-SEM mikrofotografı aynı zamanda ortaya çıkan SNP'lerin çoklu dağılımını ve saflığını da ortaya koymaktadır. Melisa yaprağı kullanılarak sentezlenen nanokükürt parçacıklarının FE-SEM

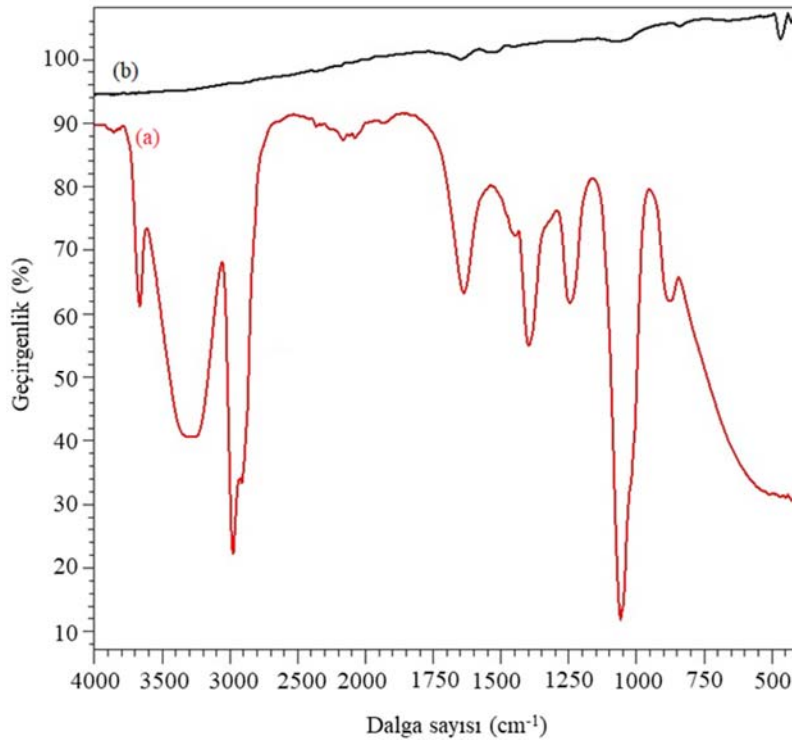
görüntülerinden, birkaç elipsoidal parçacıklar dışında genel olarak tüm parçacıkların küresel ve homojen dağıldığı görülmektedir. Sadece bazı parçacıklar düşük derecede toplanma göstermiştir bu durum küçük parçacıkların birikimi olarak yorumlanabilir. Parçacık boyutu ise 21,4-126,8 nm aralığındadır. Tripathi vd. (2018), *F. Benghalensis* ve Al Banna vd. (2020) *R. Officinalis* yaprak ekstraktından sentezledikleri SNP'lerin küresel bir şekle sahip olduğunu ifade etmişlerdir [14, 40]. Enerji dağıtıcı X-ışını spektroskopisi spektrumu ise Şekil 7' de verilmiştir. Şekildeki spektrum kükürdün varlığını açıkça göstermektedir. O ve C gibi diğer elementler de esas olarak yan ürün olan kimyasalların varlığına bağlı olarak gözlemlenmiştir.

3.1.5. TEM Analizi (TEM Analysis)

Melisa yaprağı kullanılarak sentezlenen kükürt nanopartiküllerinin TEM görüntüleri Şekil 8'de gösterilmektedir. Resimde düşük derecede toplanma ile genel olarak parçacıkların küresel şekillere sahip olmakla birlikte bazı parçacıkların kübik şekillere sahip olduğu görülmektedir. Kükürt nanopartiküllerinin boyutları 21,4 ile 126,8 nm arasında değişen ve ortalama çapı 23,88 nm olan bir boyut dağılımına sahiptir.

3.1.6. Parçacık Boyutu Analizi ve Zeta Potansiyeli Ölçümü (Particle Size Analysis and Zeta Potential Measurement)

Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının parçacık boyutu analiz cihazı kullanılarak yapılan analizi sonucunda Şekil 9'daki sonuçlar elde edilmiştir. Şekil 9'daki grafikten kümülatif dağılım analiz sonucunda boyut aralığı 21,4-126,8 nm ve ortalama çapı 38,1 nm olan nanokükürt parçacıkları elde edilmiştir. Literatürde farklı bitki ve yaprakları kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile yapılan çalışmalardan elde edilen nanoparçacıkların boyutlarının karşılaştırılması Tablo 2'de verilmiştir [26].



Şekil 5. *Melissa officinalis* yaprak ekstraktının (a) ve Sentezlenen SNP'lerin (b) FT-IR profili (FT-IR spectra of (a) *Melissa officinalis* leaf extract and (b) synthesized SNPs)

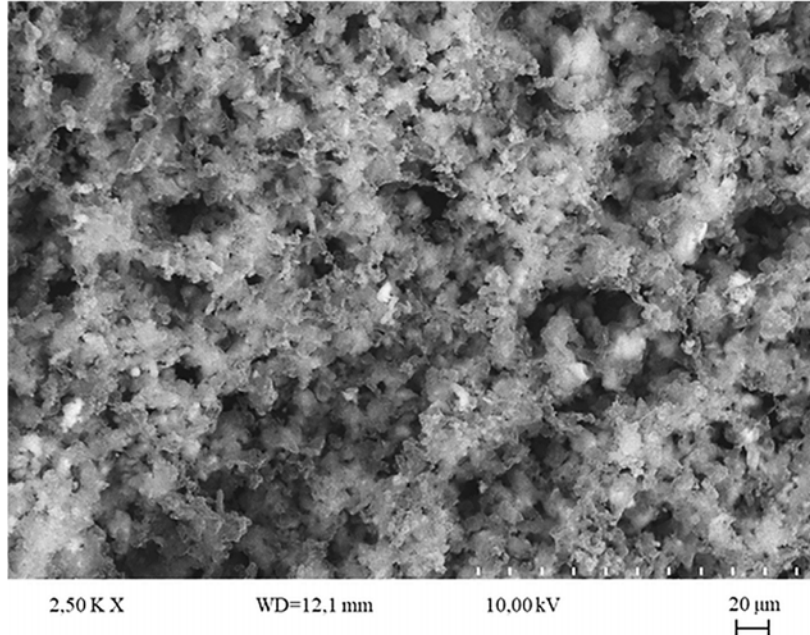
Nanokükürt parçacıklarının yüzey yükü ise aynı cihaz kullanılarak ölçülmüştür. Nanoparçacıklar, nanoparçacık yüzeyine zıt yüklü ince bir iyon tabakasını çeken bir yüzey yüküne sahiptir. Bu çalışmada sentezlenen nanokükürt parçacıklarının ortalama zeta potansiyel değeri $-37,46$ mV olarak bulunmuştur (Şekil 10). Bulunan bu değer sentezlenen nanokükürtün yüksek kararlılığa sahip olduğunu literatür bilgileriyle göstermektedir [41, 42].

3.2. Bağlarda Külleme Hastalığına Karşı Uygulama Sonuçları (Results of Application in Vineyards for Powdery Mildew Disease)

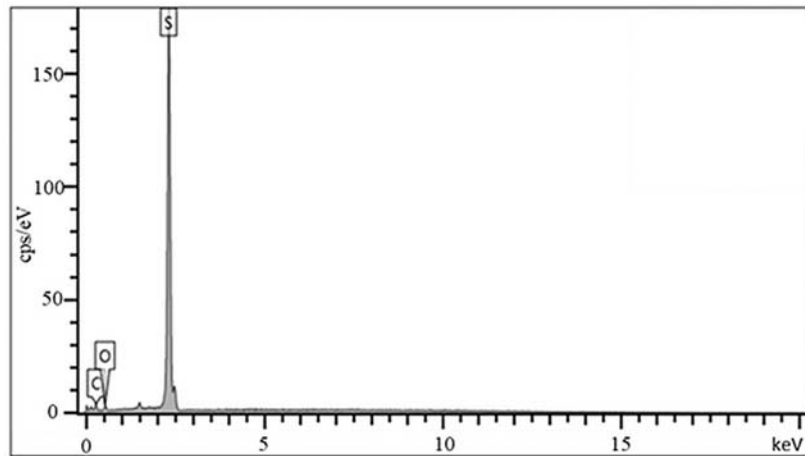
Yerel üzüm çeşidi Şire (*Vitis vinifera* L.) asmasında külleme (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığına karşı geleneksel olarak kullanılan toz kükürt ve sentezlediğimiz nanokükürt kullanılarak yapılan doz çalışmaları sonucunda yaprak değerlendirmesi yapılarak sonuçları belirlenmiştir. Kontrol parsellerinde hastalık oranı %20'e ulaştığında yaprak değerlendirilmesine geçilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde külleme hastalığına karşı olumlu bir sonuç gözlenmiştir. Şire asma yapraklarının görüntüsü Şekil 11'de

verilmiştir. Şire asma yaprağı değerlendirmesi Tablo 1'deki ölçek verileri kullanılarak yapılmış olup bulunan değerler Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 3'ten nanokükürtün külleme hastalığına etkisinin %79,21, toz kükürdün ise %68,28 olduğu bulunmuştur. Bu tespitler doğrultusunda nanokükürtün formülasyon doz uygulamasının (100 g/100 L su) külleme hastalığına karşı oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Uygulanan asma yapraklarında herhangi bir fitotoksisiteye rastlanmamıştır.

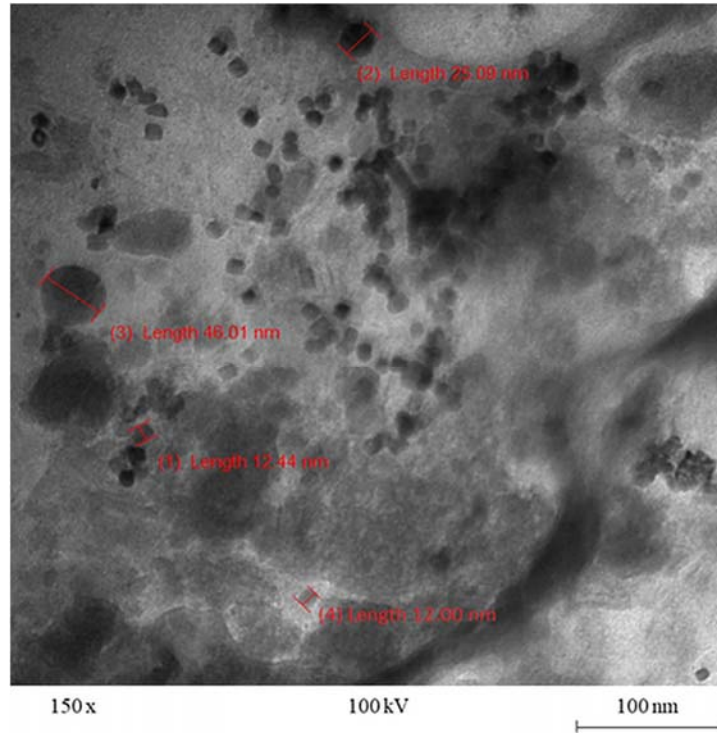
Bağda, hiçbir uygulama yapılmayan (kontrol) (a), toz kükürt uygulanmış(b) ve nanokükürt uygulanmış (c) asma yapraklarının görüntüleri Şekil 12'de verilmiştir. Şekil 12 a'da görüldüğü gibi, toz kükürt ve nanokükürt uygulamadığımız zaman üzüm yapraklarında külleme hastalığının olduğu açıkça görülmektedir. Ancak, Şekil 12 b ve c'de görüldüğü gibi, toz kükürt ve nanokükürt uygulamasından sonra yaprakta hastalık görülme derecesinin azaldığı ve bu azalmanın özellikle nanokükürt formülasyonu uygulaması sonucunda daha da fazla olduğu açıkça görülmektedir.



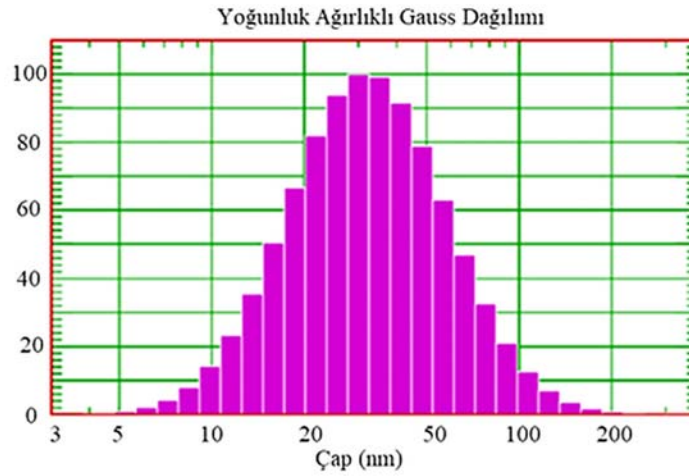
Şekil 6. Sentezlenen SNP'lerin FE-SEM mikrografı (FE-SEM image of synthesized SNPs)



Şekil 7. SNP'lerin EDS spektrumu (EDS spectrum of SNPs)



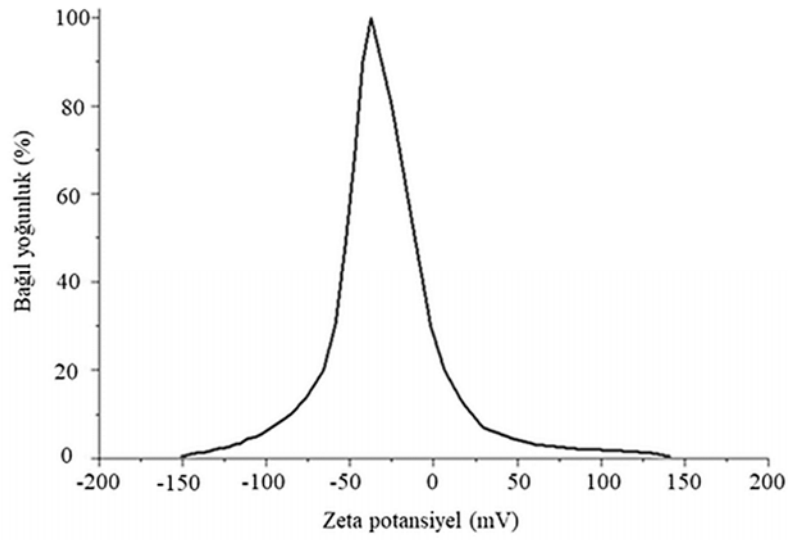
Şekil 8. Sentezlenen SNP'lerin TEM mikrografı (TEM micrograph of synthesized SNPs)



Şekil 9. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının boyut dağılımı (Size distribution of synthesized nanosulfur particles)

Tablo 2. Farklı bitki türleri kullanılarak sentezlenen nanopartikül ve boyutları
(Nanoparticles synthesized using different plant species and their sizes)

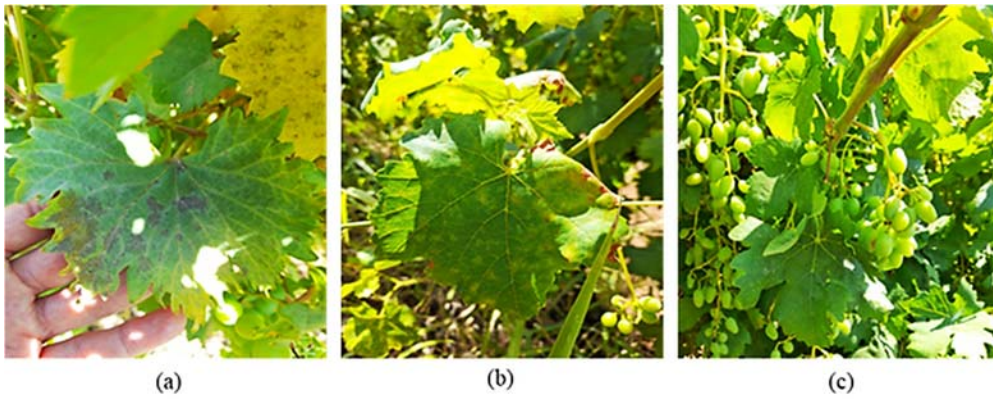
Tür	Nanoparçacık boyutu (nm)	Referans
Fesleğen yaprağı (<i>Ocimum basilicum L.</i>)	18,6-36,3	[32]
Biberiye yaprağı (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	5-80	[40]
Sarımsak (<i>Allium sativum L.</i>)	55,6-70,9	[43]
Bengal kauçuğu yaprağı (<i>F. benghalensis</i>)	2-15	[14]
<i>Acanthe Phylum Bracteatum</i> bitkisi	32,7- 50,7	[44]
Nar kabuğu (<i>Punica granatum L.</i>)	10-40	[5]
<i>Melia azedarach</i> yaprağı	5-80	[12]
Melissa yaprağı	21,4-126,8	Bu çalışma



Şekil 10. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının zeta potansiyel analizi (Zeta potential analysis of synthesized nanosulfur particles)



Şekil 11. Şire (*Vitis vinifera* L.) asmaşı yaprak görüntüsü
(Şire (*Vitis vinifera* L.) grapevine)



Şekil 12. Uygulama sonrası üzüm yaprağı resimleri a) kontrol, b) toz kükürt ve c) nanokükürt
(Grape leaf pictures after application a) control, b) powdered sulfur, and c) nanosulfur)

Tablo 3. Şire üzüm asması yapraklarında külleme hastalığının etkilerinin değerlendirilmesi
(Evaluation of the effects of powdery mildew disease on Şire grapevine leaves)

Kontrol	Nanokükürt	Toz kükürt	Kontrol	Nanokükürt	Toz kükürt	Kontrol	Nanokükürt	Toz kükürt
2	2	0	3	0	1	2	1	2
2	1	1	2	0	1	2	0	2
3	0	0	2	0	1	3	1	2
1	0	0	2	0	2	3	1	2
2	1	2	2	0	1	3	0	2
2	2	2	1	1	0	3	0	1
3	1	0	2	1	1	2	0	0
2	0	0	2	0	1	0	0	1
2	0	2	3	0	1	1	0	1
1	3	1	3	1	1	2	0	1
0	0	1	3	0	1	2	0	2
1	0	1	3	2	1	2	0	0
1	3	0	3	0	1	1	1	1
1	0	0	3	0	0	2	1	2
0	0	1	1	0	0	2	0	0
1	0	0	0	0	0	3	0	1
1	0	0	1	0	0	2	0	0
1	0	0	2	2	0	3	0	0
2	3	0	1	0	0	3	2	0
0	0	0	3	0	0	3	0	0
2	0	0	2	0	0	2	0	0
2	0	0	1	0	0	3	0	1
1	1	0	2	0	0	2	1	1
2	0	2	1	0	0	1	0	0
2	0	2	2	2	0	2	1	1
3	0	0	1	0	0	2	0	0
2	0	0	1	0	0	2	0	1
2	0	1	2	0	0	2	1	1
2	0	0	2	0	0	2	1	0
2	0	0	2	0	1	1	0	0
3	0	0	2	1	0	1	0	0
2	0	1	0	0	1	3	1	2
Hastalık Şiddeti (%) : 64						13,33	20,30	
Etki (%) : -						79,21	68,28	

4. Sonuçlar (Conclusions)

Bu çalışma kapsamında Melisa yaprağı (*Melissa officinalis*) kullanılarak yeşil sentez metodu ile nanokükürt parçacıkları sentezlenmiştir. Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının UV-Vis spektroskopisi, XRD, FTIR, FE-SEM, TEM, parçacık boyutu analizi ve zeta potansiyeli ölçümü gibi karakterizasyon testleri yapılarak nano boyutta üretilebileceği görülmüştür. Ayrıca, sentezlenen nanokükürt parçacıklarının, bağ külleme (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığına karşı etkisi ve toz kükürt ile karşılaştırılması, Şanlıurfa ili GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne bağlı üzüm bağında Ziraî Mücadele Teknik Talimatına göre uygulaması yapılarak belirlenmiştir.

Sentezlenen nanokükürt parçacıklarının yapılan parçacık boyutu analizi sonucuna göre boyut aralığının 21,4-126,8 nm ve ortalama çapının 38,1 nm olduğu bulunmuştur. Uygulama sonrası yaprak değerlendirmesine göre nanokükürtün belirlenen dozunun, üzüm külleme hastalığına karşı %79,21 oranında etkili olduğu, toz kükürt uygulamasında ise bu oranın %68,28 olduğu belirlenmiştir. Geleneksel toz kükürt ile nanokükürtün etkinliği arasında %11 gibi bir farklılığın olması hastalık şiddetinin önlenmesi açısından önemli bir fark olarak görülmüştür. Uygulanan asma yapraklarında herhangi bir fitotoksisiteye rastlanmamıştır.

Sonuç olarak yapılan bu çalışma, melisa yaprağı (*Melissa officinalis* L.) özütü kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile nano boyutta kükürt üretilebileceğini ve üzüm bağlarında bağ külleme (*Erysiphe necator* Schw.) hastalığı ile mücadelede diğer kimyasal ilaçlara alternatif olarak çevre dostu bir ürün olarak geliştirilebileceğini göstermiştir.

Ayrıca kükürtün farklı formülasyonlarının kullanıldığı kırmızı örümcek ve bağ yaprak uyuzu mücadelesinde alternatif bir mücadele yaklaşımı sunması açısından da elde edilen ürünün ziraî mücadele paydaşları tarafından kullanıma olanakları sunmuştur.

Teşekkür (Acknowledgement)

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1002 Hızlı Destek Programı tarafından 2220198 protokol numarası ile desteklenmiştir. TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar (References)

- Sheng H., Zeng J., Liu Y., Wang X., et al., Sulfur mediated alleviation of Mn toxicity in polish wheat, *Front. Plant Sci.*, 7, 1-13, 2016.
- Dixit G., Singh A.P., Kumar A., Dwivedi S., et al., Sulfur alleviates arsenic toxicity by reducing its accumulation and modulating proteome, amino acids and thiol metabolism in rice leaves, *Sci. Rep.*, 5, 1-16, 2015.
- Gill S.S., Tuteja N., Cadmium stress tolerance in crop plants: probing the role of sulfur, *Plant Signal. Behav.*, 6 (2), 215-222, 2011.
- Teng Y., Zhou Q., Gao P., Applications and challenges of elemental sulfur, nanosulfur, polymeric sulfur, sulfur composites, and plasmonic nanostructures, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 49 (24), 2314-2358, 2019.
- Salem N.M., Albanna L.S., Awwad A.M., Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Punica granatum* peels and the effects on the growth of tomato by foliar spray applications, *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.*, 6, 83-87, 2016.
- Goswami A., Roy I., Sengupta S., Debnath N., Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens, *Thin Solid Films*, 519 (3), 1252-1257, 2010.

7. Rai M., Ingle A.P., Paralikar P., Sulfur and sulfur nanoparticles as potential antimicrobials: from traditional medicine to nanomedicine, *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.*, 14 (10), 969-978, 2016.
8. Shi Y., Zhang P., Yang D., Wang Z., Synthesis photoluminescence properties and sensing applications of luminescent sulfur nanodots, *Chem. Commun.*, 56 (75), 10982-10988, 2020.
9. Shankar S., Jaiswal L., Rhim J.W., New insight into sulfur nanoparticles: Synthesis and applications, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 51 (20), 2329-2356, 2021.
10. Güler S.C., Haste Z.Ö., Synthesis of ZnO nanoparticles green method using kombucha and sol-gel method and comparison of their photocatalytic activities, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 40 (1), 43–58, 2024.
11. Küçük N., Boran F., Güler S.C., Reduction of Graphene Oxide using purple cabbage extract and investigation of photocatalytic activity by oxidation, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 38 (3), 1331-1344, 2023.
12. Salem N. M., Albanna L.S., Awwad A. M., Ibrahim Q. M., Abdeen A. O., Green synthesis of nano-sized sulfur and its effect on plant growth, *J. Agric. Sci.*, 8 (1), 188-194, 2016.
13. Paralikar P., Rai M., Bio-inspired synthesis of sulphur nanoparticles using leaf extract of four medicinal plants with special reference to their antibacterial activity, *IET Nanobiotechnol.*, 12 (1), 25-31, 2018.
14. Tripathi R.M., Rao R.P., Tsuzuki T., Green synthesis of sulfur nanoparticles and evaluation of their catalytic detoxification of hexavalent chromium in water, *RSC Adv.*, 8 (63), 36345-36352, 2018.
15. Gehad A.R., Khalil M.S., Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Ocimum basilicum* leaves and its prospective effect on manganese-stressed *Helianthus annuus* (L.) seedlings, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110242, 2020.
16. Saxena A., Tripathi R., Zafar F., Singh P., Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of *Ficus benghalensis* leaf extract and characterization of their antibacterial activity, *Mater. Lett.*, 67 (15), 91-94, 2012.
17. USDA. Fresh Apples, Grapes, and Pears: World Markets and Trade; United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service: Washington, DC, USA, 1–13, 2023. Available online: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/fruit.pdf> (accessed on 18 January 2024)
18. Fortune. The global wine market is projected to grow from \$340.23 billion in 2021 to \$456.76 billion in 2028 at a CAGR of 4.30% in forecast period, 2021–2028. *Mark. Res. Rep.* 2022, FBI102836. Available online: <https://www.fortunebusinessinsights.com/toc/ wine-market-102836> (accessed on 18 January 2024).
19. Kokkinomagoulos E., Kandyli P., Sustainable Exploitation of By-Products of Vitivinicultural Origin in Winemaking, *Proceedings*, 67 (1), 5, 2020.
20. Gadoury D. M., Cadle-Davidson L., Wilcox W. F., Dry I. B., et al., Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph, *Mol. Plant Pathol.* 13 (1), 1–16, 2012.
21. Calonnec A., Cartolaro P., Poupot C., Dubourdiou D., Darriet P., Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grapes (*Vitis vinifera*) and wine, *Plant Pathol.*, 53 (4), 434-445. 2004. <https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.01016.x>
22. Russell P.E., A century of fungicide evolution, *J Agric Sci.*, 143 (1), 11-25, 2005.
23. Hinckley E.L.S., Matson P.A., Transformations, transport, and potential unintended consequences of high sulfur inputs to Napa Valley vineyards, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 108 (34), 14005-14010, 2011.
24. Anonymous, 2015a. Agricultural Struggle Technical Instructions, Ministry of Food, Agriculture and Livestock, General Directorate of Agricultural Research and Policies, No: 4, 261-274, Ankara, Türkiye.
25. Albayrak, S., Karabıçak, Y., Tuncer, S., Alaserhat, İ., Karadoğan, B., Kalkan, N. N., Kaya, Ö., Alici, H., Determination of efficiency of different spraying programs to powdery mildew (*Erysiphe necator* Schw.) in vineyard, *Plant Protection Bulletin*, 58 (4), 199–206, 2018.
26. Orhan R., Aydogmus E., Demir T., Turan M.D., Ozgen I., Nano Sulfur Production by The Green Synthesis Method, Karadeniz 14Th International Conference on Applied Sciences, Batumi- Georgia, 183-189, October 13 - 15, 2023.
27. Kasote D. M., Katyare S. S., Hegde M. V., Bae H., Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications, *Int. J. Biol. Sci.*, 11 (8), 982-991, 2015.
28. Sentkowska A., Biesaga M., Pyrzynska K., Polyphenolic Composition and Antioxidative Properties of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Extract Affected by Different Brewing Processes, *Int. J. Food Prop.*, 18 (9), 2009–2014, 2015.
29. Orhan R., Türkölmez S., Aydoğmus E., Turan M.D., Erzen B., Rastgeldi I., Özgen, I., Determination of the Effectiveness of Nanosulfur Produced by Green Synthesis Method In The Struggle Against of Powdery Mildew (*Erysiphe necator* Schw.) In Vineyard, 5th International Azerbaijan Congresses on Life, Engineering, Mathematical, and Applied Sciences, Azerbaijan, 30-31, January 24-26, 2024.
30. Anonymous, 2015b. Plant Diseases Standard Drug Testing Methods (Fruit-Vineyard Diseases). <http://www.tarim.gov.tr> (Access date: 22.05.2022).
31. Heatley N., Page E. J., Estimation of Elemental Sulfur by Ultraviolet Absorption, *Anal. Chem.*, 24 (11), 1854, 1952.
32. Ragab G. A., Saad-Allah K. M., Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Ocimum basilicum* leaves and its prospective effect on manganese-stressed *Helianthus annuus* (L.) seedlings, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 191, 110242, 2020.
33. Silva S. D., Feliciano R. P., Boas L. V., Bronze M. R., Application of FTIR-ATR to Moscatel dessert wines for prediction of total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacity, *Food Chemistry*, 150, 489–493, 2014.
34. Pirtarighat S., Ghannadnia M., Baghshahi S., Antimicrobial effects of green synthesized silver nanoparticles using *Melissa officinalis* grown under in vitro condition, *Nanomed. J.* 4 (3), 184-190, 2017.
35. Rai M., Shende S. S., Paralikar P., In Vivo Antifungal Efficacy of Copper and Sulfur Nanoparticles on Soft Rot of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.), *BioNanoScience*, 0123456789, 2023.
36. Anuradha G., Sundar B.S., Kumar J.S., Ramana M.V., Synthesis and characterization of silver nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. *Thyrisflorum*, *Eur. J. Acad. Essays*, 1 (5), 5–9, 2014.
37. Kumar B., Cumbal L., UV-Vis, FTIR and antioxidant study of *Persea americana* (Avocado) leaf and fruit : A comparison, (June). *Revista de la Facultad de Ciencias Quimicas*, No: 14, Enero - Abril, 13-20, ISSN:1390 – 1869, 2016.
38. Mamadalieva N.Z., Akramov D.K., Ovidi E., Tiezzi A., Nahar L., Azimova S.S., Sarker S.D., Aromatic Medicinal Plants of the Lamiaceae Family from Uzbekistan: Ethnopharmacology, Essential Oils Composition, and Biological Activities. *Medicines*, 4 (1), 8, 2017.
39. Sipos S., Moacă E.A., Pavel I.Z., Avram Ș., Crețu O.M., Coricovac D., Racoviceanu R.M., Ghiulai R., Pană R.D., Șoica C.M., Borcan F., Dehelean C.A., Crăniceanu Z., *Melissa officinalis* L. Aqueous Extract Exerts Antioxidant and Antiangiogenic Effects and Improves Physiological Skin Parameters, *Molecules*, 26, 2369, 2021.
40. Al Banna L. S., Salem N. M., Jaleel G. A., Awwad A. M., Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Rosmarinus officinalis* leaves extract and nematocidal activity against *Meloidogyne javanica*, *Chemistry International*, 6 (3), 137–143, 2020.
41. Wang L., Lu F., Liu Y., Wu Y., Wu Z., Photocatalytic degradation of organic dyes and antimicrobial activity of silver nanoparticles fast synthesized by flavonoids fraction of *Psidium guajava* L. Leaves, *J. Mol. Liq.*, 263, 187–192, 2018.
42. Subramanian K. S., Rajeswari R., Yuvaraj M., Pradeep D., Guna M., Yoganathan G., Synthesis and Characterization of Nano-Sulfur and Its Impact on Growth, Yield, and Quality of Sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53 (20), 2700-2709, 2022.
43. Khairan K., Zahratruriaz, Jalil Z., Green Synthesis of Sulphur Nanoparticles Using Aqueous Garlic Extract (*Allium sativum*), *Rasayan J. Chem.*, 12 (1), 50-57, 2019.
44. Kouzegaran V.J., Farhadi K., Green synthesis of Sulphur Nanoparticles assisted by a herbal surfactant in aqueous solutions, *Micro & Nano Lett.*, 12 (5), 329-334, 2017.