Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16(3), 936-948, 2026
Journal of the Institute of Science and Technology, 16(3), 936-948, 2026

ISSN: 2146-0574, eISSN: 2536-4618

Biyoloji / *Biology* **DOI: 10.21597/jist.1884121**

Araştırma Makalesi / *Research Article*

Geliş tarihi / *Received*: 08.02.2026 **Kabul tarihi / *Accepted*: 04.06.2026**

Atıf İçin: Çimentepe, M., Hord, B., Öztürk, G., Doğan, K., ve Yıldırım,M. (2026). *Carthamus tinctorius* L. Ekstresi ile Sentezlenen Çinko Oksit Nanopartiküllerin Antioksidan, Antikanser, Antibakteriyel ve Antibiyofilm Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 16(3), 936-948.

To Cite: Çimentepe, M., Hord, B., Öztürk, G., Doğan, K., & Yıldırım,M. (2026). Evaluation of Antioxidant, Anticancer, Antibacterial and Antibiofilm Activities of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized with *Carthamus tinctorius* L. Extract. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 16(3), 936-948.

Carthamus tinctorius L. Ekstresi ile Sentezlenen Çinko Oksit Nanopartiküllerin Antioksidan, Antikanser, Antibakteriyel ve Antibiyofilm Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Mehmet ÇİMENTEPE[1], Büşra HORD[2], Gökhan ÖZTÜRK[3], Kemal DOĞAN[4], Metin YILDIRIM[5]

Öne Çıkanlar:
- Aspir
- Nanopartikül
- Biyolojik aktivite

Anahtar Kelimeler:
- *Carthamus tinctorius* L.,
- Çinko nanopartikül,
- Antioksidan,
- Antikanser,
- Antimikrobiyal

ÖZET:

Bu çalışmada, *Carthamus tinctorius* L. su ekstresi kullanılarak kolay ve çevre dostu bir yöntemle çinko oksit nanopartiküller (A@ZnO) sentezlenmiştir. Taramalı elektron mikroskop (SEM) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) teknikleri kullanılarak elde edilen nanopartiküllerin yapısal ve kimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Karakterize edilen A@ZnO nanopartiküllerinin, antioksidan, antikanser, antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitesi/kapasitesi incelenmiştir. FTIR spektrumları, çinko oksit iyonlarının indirgenmesinde rol oynayan fonksiyonel grupları belirlemiştir. SEM analizi, A@ZnO nanopartiküllerinin küresel bir morfolojiye sahip olduğunu ve yüksek pürüzlülük gösterdiğini ortaya koymuştur. Farklı konsantrasyonlardaki A@ZnO nanopartiküllerin serbest radikal temizleme potansiyeli, 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS)) testinde 1 mg/mL'de %97.9 ± 1 oranında antioksidan inhibisyon ve 0.386 mg/mL konsantrasyonda IC_{50} değeri göstermiştir. Antikanser aktivite testinde, A@ZnO'nin A549 ve HEp-2 kanser hücresine 500 µg/mL konsantrasyonda %2.1 ± 0.21 ve %6.6 ± 1.1 oranlarında hücre canlılığı görülmüştür. Her iki kanser hücresinde görülen IC_{50} değerleri sırası ile 187.3 ± 7.1 µg/mL ve 185.4 ± 7.3 µg/mL olarak tespit edilmiştir. A@ZnO nanopartikülleri MSSA ve MRSA suşlarına karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri 128 µg/mL ve 32 µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca MRSA suşuna karşı doza bağımlı bir şekilde antibiyofilm aktivitesi gözlenmiştir. Elde edilen bulgular aspir su ekstresi kullanılarak gerçekleştirilen A@ZnO nanopartiküllerin, sergiledikleri antioksidan**,** antikanser, antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteler sayesinde biyomedikal alanlarda kullanılabilecek önemli bir potansiyel ortaya koymaktadır.

Evaluation of Antioxidant, Anticancer, Antibacterial and Antibiofilm Activities of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized with *Carthamus tinctorius* L. Extract

Highlights:
- Safflower
- Nanoparicle
- Biological activity

Keywords:
- *Carthamus tinctorius* L.,
- Zinc nanoparticle,
- Antioxidant,
- Anticancer,
- Antimicrobial

ABSTRACT:

In this study, zinc oxide nanoparticles (A@ZnO) were synthesized using a simple and environmentally friendly method with the water extract of *Carthamus tinctorius* L. The structural and chemical characterization of the obtained nanoparticles was performed using scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared (FTIR) techniques. The antioxidant, anticancer, antibacterial, and antibiofilm potentials of the characterized A@ZnO nanoparticles were investigated. FTIR analysis revealed the presence of functional groups responsible for the reduction of zinc oxide ions. SEM observations demonstrated that the synthesized A@ZnO nanoparticles possess a predominantly spherical morphology with a highly rough surface. The free radical scavenging activity of A@ZnO nanoparticles exhibited strong concentration-dependent antioxidant potential, achieving 97.9 ± 1% inhibition at 1 mg/mL and an IC_{50} value of 0.386 mg/mL in the 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) assay. In anticancer activity assays, A@ZnO nanoparticles at a concentration of 500 µg/mL reduced cell viability to 2.1 ± 0.21% and 6.6 ± 1.1% in A549 and HEp-2 cancer cell lines, respectively. The corresponding IC_{50} values were determined to be 187.3 ± 7.1 µg/mL for A549 cells and 185.4 ± 7.3 µg/mL for HEp-2 cells. The minimum inhibitory concentration (MIC) of A@ZnO nanoparticles was found to be 128 µg/mL against MSSA and 32 µg/mL against MRSA strains. Furthermore, A@ZnO nanoparticles exhibited a pronounced dose-dependent antibiofilm activity against the MRSA strain. The findings reveal that A@ZnO nanoparticles produced using safflower water extract have significant potential for use in biomedical fields due to their exhibited antioxidant, anticancer, antibacterial, and antibiofilm activities.

[1]Mehmet Çimentepe (**Orcid ID:** 0000-0002-3563-2468), Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
[2] Büşra Hord (**Orcid ID:** 0009-0003-8587-1867), Harran Üniversitesi, Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Şanlıurfa, Türkiye
[3] Gökhan Öztürk (**Orcid ID:** 0000-0003-3305-4876) Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye,
[4]Kemal Doğan (**Orcid ID:** 0000-0002-9770-8069), Harran Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Şanlıurfa, Türkiye.
[5] Metin Yıldırım (**Orcid ID:** 0000-0003-1346-312X), Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

***Sorumlu Yazar/*Corresponding Author**: Metin YILDIRIM, e-mail: metinyildirim4@gmail.com

GİRİŞ

Metalik nanopartiküller, küçük boyutları ve yüksek yüzey-hacim oranları nedeniyle son derece dikkat çekici özellikler sunmaktadır. Bu özellikler, partiküllerin biyomedikal alandaki uygulamalarını daha verimli hale getirmektedir. Nanopartiküllerin yüzey alanının büyük olması, onların daha geniş bir etkileşim kapasitesine sahip olmasını sağlar. Ayrıca, küçük boyutları sayesinde, bu partiküller çevresel ortamlarda daha hızlı hareket edebilir ve dolayısıyla biyolojik sistemlerde etkili bir şekilde dağılım gösterebilir (Salem, 2023; Shehabeldine ve ark., 2023).

Çinko oksit (ZnO) nanopartiküller, 1 ila 100 nm arasında değişen boyutlarıyla nanoteknolojinin pek çok alanında önemli işlevlere sahip olan malzemelerdir. Nanopartiküllerin çok fonksiyonlu yapısı, biyolojik sistemlere olan uyumları ve düşük toksisiteleri, onları özellikle biyomedikal alanlarda değerli kılmaktadır (Vieira ve ark., 2024). ZnO nanopartiküller, ilaç taşıma sistemleri geliştirmekten, gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal etki göstermeye kadar geniş bir uygulama yelpazesinde öne çıkmaktadır (Du ve ark., 2023; Li ve ark., 2023). Nanotıp alanında, bu partiküller kanser tedavisinde de büyük bir potansiyel taşımaktadır (Rajeshkumar ve ark., 2018; Saeed ve ark., 2023). Özellikle yapılan son araştırmalar, ZnO nanopartiküllerin kanser hücrelerinde DNA hasarı yoluyla apoptoz sürecini başlatabileceğini ortaya koymaktadır (Efati ve ark., 2023; Bai ve ark., 2017). Bu özellik, ZnO nanopartiküllerini kanser tedavisinde etkili bir araç haline getirmektedir. Bunun yanı sıra, ZnO nanopartiküllerin fotokatalitik özellikleri, kanser hücrelerini seçici olarak yok edebilmek amacıyla fotodinamik terapi uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu süreç, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimiyle kanser hücrelerini hedef alır (Yi ve ark., 2020; Liao ve ark., 2020). ZnO nanopartiküllerin antimikrobiyal etkinlikleri de oldukça dikkat çekicidir. Bu nanopartiküller, çeşitli patojenik bakterilerin büyümesini inhibe etme kapasitesine sahiptir ve bu nedenle biyomedikal uygulamalarda ve antibakteriyel malzeme üretiminde yaygın olarak tercih edilmektedir (Rata ve ark., 2023; Punitha ve ark., 2023). Yapılan araştırmalar, ZnO nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisinin, çinko iyonlarının bakteri zarlarına zarar vererek ve temel proteinleri etkileyerek bakteri hücrelerinin ölümüne yol açtığını göstermektedir (Vieira ve ark., 2023; Wen ve ark., 2023). Bunun yanı sıra, ZnO nanopartiküller güçlü antioksidan özellikler sergileyerek, oksidatif stresin bir sonucu olarak gelişen hastalıklarla mücadelede etkili bir rol oynayabilir. Bu partiküller, reaktif oksijen türlerini yakalama ve nötralize etme yetenekleriyle önemli bir koruma sağlar (Geremew ve ark., 2023). Özellikle kanser gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde bu özellikleri daha da değerli kılmakta ve bu alandaki kullanımını umut verici hale getirmektedir. Sonuç olarak, ZnO nanopartiküllerinin biyomedikal alanda ve nanoteknolojideki çok yönlü kullanımları, bu malzemelerin kanser tedavisi, antibakteriyel uygulamalar ve antioksidan koruma gibi birçok alanda önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Nanopartiküllerin sentezinde geleneksel yöntemler genellikle kimyasal, biyolojik ve fiziksel işlemlerle gerçekleştirilir. Ancak bu süreçler, uzun süreli kullanımlarında toksik ve çevresel olarak zararlı kimyasallar ile çözücüler içerebileceğinden, potansiyel tehditler ve yüksek toksisite riski taşır (Kishor ve ark., 2021). Bu nedenle, çevresel etkileri azaltmaya yönelik yeni yaklaşımlar, nanopartiküllerin üretimi için giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Özellikle, minimum toksik madde içeren ve çevresel açıdan sürdürülebilir biyolojik yöntemler, nanopartikül üretiminde tercih edilmeye başlanmıştır. Bakteri, mantar ve bitki gibi biyolojik ajanlar kullanılarak geliştirilen bu "yeşil" teknolojiler, nanopartikül sentezi için çevre dostu alternatifler sunmaktadır (Bapte ve ark., 2025).

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), Asteraceae familyasına ait, yağlı tohum bitkisi olarak bilinen ve geleneksel olarak sarı pigment üretimi için kullanılan bir bitkidir. Bu bitki, biyolojik açıdan önemli bir yere sahiptir ve çeşitli tıbbi özelliklere sahip bileşikler barındırmaktadır. Aspir, A ve E vitaminleri,

çoklu doymamış yağ asitleri, tekli doymamış oleik asit ve stearik asit gibi maddeler içerir (Kuşoğlu ve Kahraman, 2015). Bu bileşikler, bitkinin biyolojik aktivitelerini artıran unsurlardır. Ayrıca, Aspir, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan etkiler sunarak sağlık açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır. Aspir bitkisi, yüzyıllardır dünya çapında geleneksel tıpta çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle tıbbi geçmişi boyunca, göz damlası olarak kullanımı, miyopi gibi göz hastalıklarının tedavisinde başarıyla uygulanmıştır (Abuova ve ark., 2022; Delshad ve ark., 2018). Bu özellikler, Aspir bitkisinin tıbbi uygulamalardaki potansiyelini artırarak, çeşitli hastalıkların tedavisinde ve sağlık alanındaki diğer uygulamalarda faydalı bir kaynak olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada, aspir ekstresi kullanılarak sentezlenen ZnO nanopartiküller karakterize edilmiştir. Elde edilen nanopartikülün antioksidan, antikanser, antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, sentezlenen nanopartiküllerin birçok fonksiyonlu farmakolojik etkileri gösterilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Aspir Ekstresinin Hazırlanması

Carthamus tinctorius L. (Aspir) ticari olarak satın alınmıştır. Aspir'in toz haline getirilmiş 2 gramlık örneği, 150 mL hacminde bir beher içerisine yerleştirilmiş ve üzerine 50 mL deiyonize su eklenmiştir. Karışım, manyetik karıştırıcı kullanılarak 60 °C' de 30 dakika boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. Ardından, karışım oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuş ve süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için Whatman filtresi kullanılarak sıvı faz ayrılmıştır. Elde edilen sıvı ekstre, daha sonra kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edilmiştir (Lopez-Miranda ve ark., 2023).

ZnO Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

Çinko asetat dihidrat çözeltisi (0,1 M) , 50 mL deiyonize su eklenerek hazırlanmıştır. Çalışmada biyolojik bir indirgeme ajanı olarak Aspir ekstresi kullanılmıştır. Toplam 30 mL miktarında Aspir *e*kstresi, hazırlanan çinko asetat dihidrat çözeltisine eklenmiştir. Karışımın pH değeri 8'e sabitlenebilmesi amacıyla, 2 M NaOH çözeltisi damla damla ilave edilmiştir. Karışım, reaksiyon süresi boyunca 60°C ortam sıcaklığında tutulmuş ve homojen bir çözeltinin oluşabilmesi için 1080 rpm hızında sürekli karıştırılmıştır. Elde edilen ürün, dekantasyon yöntemiyle ayrılmış, kalıntılar distile su ile yıkanmış ve son olarak 70 °C' de etüvde bir gece boyunca kurutulmuştur. Bu işlem sonucunda toz formunda Aspir ekstresi yüklü ZnO (A@ZnO) nanopartikülleri elde edilmiştir (Maind ve ark., 2025).

Karakterizasyon

A@ZnO nanopartiküllerinin kimyasal bileşiminin analizi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) absorpsiyonu (ATR modu; IRTracer-100, Shimadzu, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, A@ZnO nanopartiküllerinin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) (EVO50, ZEISS, Almanya) kullanılarak elde edilmiştir.

Antioksidan Aktivite

ABTS Radikal Temizleme Aktivitesi Yöntemi

A@ZnO nanopartiküllerinin 2,2′-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal katyon temizleme aktivitesi, Amangeldinova ve ark. tarafından tanımlanan yönteme göre, küçük değişikliklerle belirlenmiştir (Amangeldinova ve ark., 2024). Yedi mM ABTS stok çözeltisi distile suda hazırlanmıştır. $ABTS^{+}$ radikal katyonunu oluşturmak için 2,45 mM potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) ile reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Karışım, radikal oluşumunun tamamlanmasını sağlamak için 12-16

saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta tutulmuştur. A@ZnO nanopartikülleri, 0.1–1 mg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonlarda etanol içerisinde hazırlanmıştır. Deney için, 0,5 mL numune çözeltisi 2,5 mL $ABTS^+$ çalışma çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışımlar vortekslenerek oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, absorbans 734 nm' de bir UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Referans antioksidan olarak Trolox (0,01–0,04 mg/mL) kullanılmıştır. ABTS radikalinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

Radikal Temizleme Aktivitesi (%)=(C-S)/C× 100 (1)

Burada C: kontrolün (örnek içermeyen $ABTS^+$ çözeltisi) absorbansını ve S: ise test örneğinin absorbansını ifade eder. Tüm ölçümler üçer kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar, ABTS radikallerinin %50 'sini temizlemek için gereken numune konsantrasyonunu temsil eden IC_{50} değerleri (mg/mL) olarak belirtilmiştir.

Antikanser Aktivite

A549, insan akciğer adenokarsinom hücreleri (ATCC® CCL-185™) ve HEp-2, HeLa hücreleriyle kontamine larinks epidermoid karsinom (ATCC® CCL-23™), hücre hatları 37 °C' de %5 CO2'li ortamda kültür şişelerinde çoğaltılmıştır. Kullanılan kültür ortamı, pH' ı 7,2 ile 7,4 arasında olan Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) olup, %1 antibiyotik çözeltisi (100 IU penisilin ve 100 µg/mL streptomisin) ve %10 fetal sığır serumu (FBS) ile desteklenmiştir. Hücreler, takviyeli kültür ortamı kullanılarak 96 kuyucuklu mikroplakalara 1×10^4 hücre/kuyucuk yoğunluğunda ekilmiştir. Sonrasında, hücreler 37 °C ve %5 CO_2 ortamında 24 saat inkübe edilmiştir. Bu inkübasyonun ardından, kültür ortamı uzaklaştırılmış ve farklı konsantrasyonlarda (7,81, 15,6, 31,2, 62,5, 125, 250 ve 500 µg/mL) A@ZnO nanopartikülleri içeren solüsyonlar, kültür ortamına eklenmiştir. Kontrol grubu ise sadece kültür ortamı ile muamele edilmemiş hücreleri içeren kuyucuklardan oluşmuştur. Daha sonra, mikroplakalar aynı sıcaklık ve nem koşullarında 48 saat daha inkübe edilmiştir. Hücre canlılığı, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile değerlendirilmiştir. Bu testte, inkübasyon süresi sonrasında her kuyucuğa 100 µL fenol kırmızısı içermeyen DMEM ve 10 µL MTT çözeltisi (5 mg/mL) eklenmiş ve mikroplakalar, ışık geçirmeyen bir ortamda, %5 CO_2 ile 37 °C' de 2 saat daha inkübe edilmiştir. Ardından, çözeltinin içeriği atılmış ve her kuyucuğa 100 µL dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek çözünürlük sağlanmıştır. Son olarak, hücre canlılık oranı, spektrofotometrik ölçümlerle 570 nm' de alınan absorbans verileriyle değerlendirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2025). Tüm deneyler üçlü tekrar halinde gerçekleştirilmiş olup, hücre canlılık yüzdeleri ve IC_{50} değerleri, hem Hep2 hem de A549 hücre hatları için kontrol grubuna göre hesaplanmıştır.

Antimikrobiyal Aktivite

A@ZnO nanopartiküllerin metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) suşlarına karşı resazurin mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Yıldırım ve ark., 2025). A@ZnO nanopartiküllerin test edilen izolatlara karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), Mueller Hinton Broth (MHB) içerisinde iki katlı seri seyreltme yöntemiyle hazırlanmıştır. Bakteriyel süspansiyonlar, 0,5 McFarland standardına uygun olarak hazırlanmış ve ardından 1/100 oranında seyreltilmiştir. Her kuyucuğa 100 µL bakteri süspansiyonu eklenmiş ve böylece nihai bakteri yoğunluğu 10^5 CFU/mL olarak ayarlanmıştır. A@ZnO nanopartiküllerin son konsantrasyonları ise 2–1024 µg/mL arasında belirlenmiştir.

Antibakteriyel etkinliği karşılaştırmak için Aspir ekstresi de aynı yöntemle test edilmiştir. Pozitif kontrol için sadece bakteri içeren kuyucuklar, steril kontrol için ise sadece besiyeri içeren kuyucuklar kullanılmıştır. Vankomisin referans antibiyotik olarak seçilmiştir**.** Mikroplakalar, 37 °C' de 18-24 saat inkübe edildikten sonra, her kuyucuğa 20 µL steril (%0.01) resazurin çözeltisi eklenmiş ve 3 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kuyucuklar görsel olarak incelenmiştir. Bakteriyel üreme, resazurinin mavi renginin pembe veya mor renge dönüşmesiyle belirlenmiş, mavi rengin devam ettiği en düşük konsantrasyon ise MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri, mavi renk gösteren kuyucuklardan alınan örneklerin Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarına ekilmesiyle belirlenmiştir. İnkübasyon sonrasında bakteriyel üreme gözlemlenmeyen en düşük bileşik konsantrasyonu MBK olarak kabul edilmiştir (Amangeldinova ve ark., 2025).

Antibiyofilm Aktivite

A@ZnO nanopartiküllerin MRSA suşuna karşı antibiyofilm etkisi, kristal viyole boyama yöntemiyle değerlendirilmiştir (Yıldırım ve ark., 2026). İlk olarak, taze bakteriyel kültürlerden hazırlanan süspansiyon 0.5 McFarland standardına göre ayarlanıp, Triptik Soya Broth (TSB) içinde 1/100 oranında seyreltilmiştir. Ardından, 96 kuyucuklu mikroplakalara 200 µL bakteriyel süspansiyon eklenerek, biyofilm oluşumu için 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteri içeren kuyucuklar pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyon sonrası planktonik hücreler temizlenmiş ve A@ZnO nanopartiküllerin, 2xMİK, 1xMİK ve 1/2xMİK konsantrasyonlarında eklenerek antibiyofilm aktivitesi için tekrar inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, besiyeri uzaklaştırılmış, steril fosfat tamponu (PBS) ile nazikçe yıkanarak bakteriler temizlenmiştir. Biyofilm tabakası %99'luk metanol ile fikse edildikten sonra, her kuyucuğa %0.5 kristal viyole çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika boyama yapılmıştır. Boyama işlemi sonrasında, fazla boya uzaklaştırılmış ve her kuyucu distile su ile yıkanmıştır. Bağlanan kristal viyole, etanol ile çözündürülüp, biyofilm yoğunluğu 570 nm' de ölçülmüştür. Aynı yöntem aspir ekstresi için de kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri, antibiyofilm inhibisyon yüzdesini hesaplamak için aşağıdaki formüle göre değerlendirilmiştir.

$$\text{Antibiyofilm oran (\%)} = (C-S)/C \times 100 \quad (2)$$

Burada C = kontrolün (biyofilm, işlem uygulanmamış) absorbansı ve S = testin (biyofilm ve işlem uygulanmış) absorbansıdır.

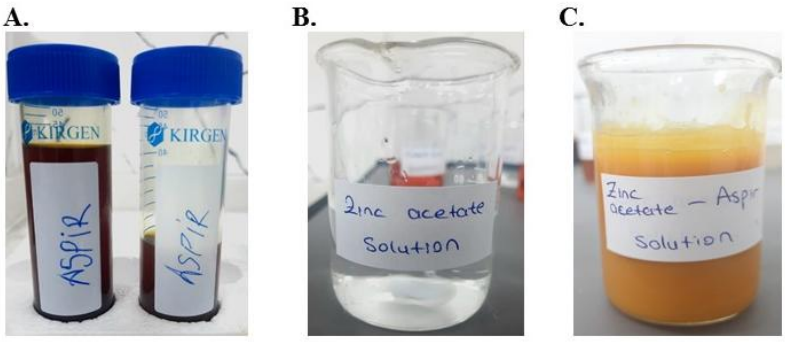
İstatistiksel Analiz

Deneysel veriler, en az üç bağımsız tekrarlı deneyin ortalama ± standart sapması (SS) olarak kaydedildi. Tedaviler arasındaki anlamlı farklılıkları değerlendirmek için iki yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. İstatistiksel analizler, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenerek GraphPad Prism (sürüm 9, GraphPad Software, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

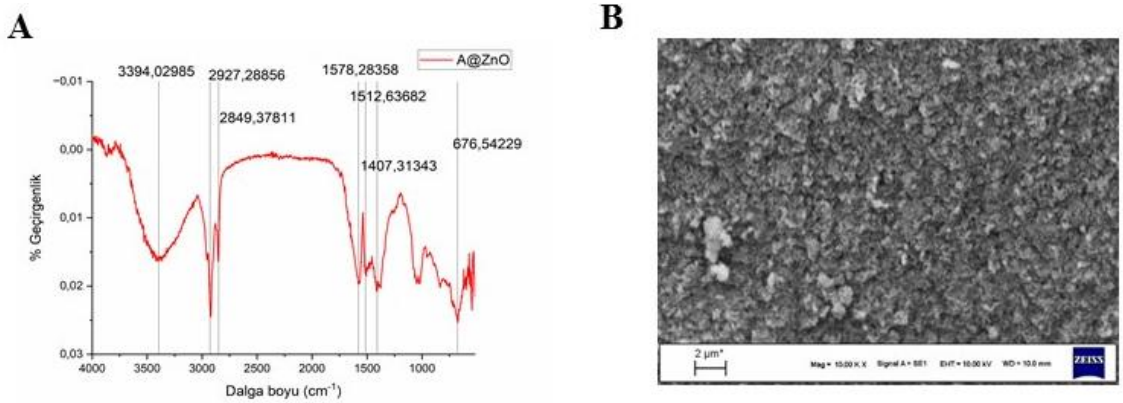
Nanopartiküllerin özgün özelliklerinin keşfi, endüstri, sağlık ve tarım gibi birçok alanda önemli problemlerin çözülmesine olanak tanımıştır (Shaheen ve ark., 2021). Bu küçük boyutlardaki malzemeler, geniş bir uygulama yelpazesinde yenilikçi çözümler sunmuştur. ZnO nanopartikülleri, biyouyumlu ve toksik olmayan özellikleri sayesinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle hedefli ilaç taşıma, biyogörüntüleme ve yara iyileşmesi gibi tedavi süreçlerinde etkili bir şekilde yer alabilirler. Yapılan araştırmalar, ZnO nanopartiküllerin antimikrobiyal, antikanser ve antioksidan aktivitelerde önemli sonuçlar gösterdiğini ortaya koymuştur (Al-Radadi ve ark., 2022; Chawla ve ark.,

2024; Aydin ve Gencer, 2024). Bu bulgular ışığında, araştırmacılar, ZnO nanomalzemelerinin daha sürdürülebilir bir şekilde üretilebilmesi için bitki ekstresi ile gerçekleştirilen yeşil sentez yöntemlerine yönelmektedir (Agarwal ve ark., 2017). Çalışmamızda, aspir ekstresinin koyu renkteki tonları, çinko asetat çözeltisi ile birleştirildikten sonra sentez süreci boyunca belirgin bir renk değişimi göstermiştir (Şekil 1).



Şekil 1. A@ZnO nanopartiküllerin yeşil sentez aşamaları: (A) Aspir ekstresi, (B) çinko asetat çözeltisi, (C) sentez sonrası elde edilen A@ZnO nanopartikül süspansiyon görünümü

Sentezlenen A@ZnO nanopartiküllerinin FTIR spektrumları, 4000–500 cm^{-1} dalga sayısı aralığında incelenerek yapıda bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. 3394 cm^{-1}' de gözlemlenen geniş bant, bitki ekstraktından kaynaklanan O–H gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. 2927 cm^{-1} bandı C–H gerilme titreşimlerine atfedilmiştir. 1578 ve 1512 cm^{-1} dalga sayılarında gözlenen pikler, aromatik C=C gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmiş olup, bu bantların bitki ekstraktında bulunan polifenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. 1407 cm^{-1}' de gözlenen bant ise C–O gerilme (stretching) titreşimlerine karşılık gelmektedir. 676 cm^{-1}' de ortaya çıkan karakteristik pik, Zn–O gerilme titreşimlerine ait olup, ZnO nanopartiküllerinin başarıyla sentezlendiğini göstermektedir (Şekil 2A). A@ZnO nanopartiküllerinin morfolojik özellikleri SEM analizi yardımıyla incelenmiştir. Elde edilen görüntülerde, nanopartiküllerin kısmen aglomere yapılar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun, yeşil sentez sırasında kullanılan bitki ekstraktında bulunan biyoaktif bileşenlerin nanopartikül yüzeyinde kaplayıcı etki göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Partiküllerin benzer boyut ve homojen morfolojik özellikler sergilemesi, bitki ekstresi aracılığıyla gerçekleştirilen indirgeme sürecinin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 2B. Ayrıca, sentezlenen A@ZnO nanopartiküllerinin SEM görüntülerinin, literatürde rapor edilen diğer yeşil yöntemlerle sentezlenmiş ZnO nanopartiküllerinin morfolojik özellikleriyle uyumlu olduğu belirlenmiştir (Al-Mohaimeed ve ark., 2022).

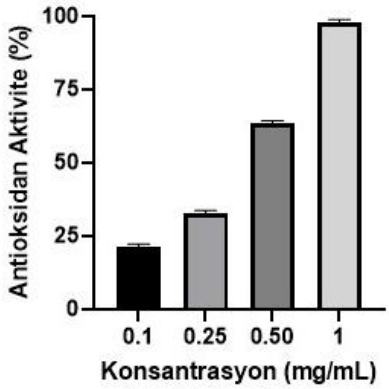


Şekil 2 A@ZnO'nun FTIR spektrumu (A) ve SEM görüntüleri (B)

Antioksidan Aktivite

ABTS testleri, düşük konsantrasyonlardaki aktif bileşenleri tespit etme yeteneği sayesinde, antioksidan kapasiteyi analiz etmek için nanopartikül araştırmalarında sıkça tercih edilen bir tekniktir (Hassan ve ark., 2015). A@ZnO nanopartiküllerin ABTS testi ile yapılan antioksidan aktivite değerlendirmesi, 0.1-10 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda doza bağlı olarak belirgin bir artış göstermektedir (R^2 = 0.9906). En yüksek aktivite 1 mg/mL' de %97.9 ± 1 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3). Bu durum, nanopartiküllerin konsantrasyonunun, radikal temizleme kapasitesi üzerinde büyük bir etki göstermektedir. ABTS için %50 inhibisyona neden olan antioksidan derişimi (IC_{50}) değeri ise 0.386 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, referans antioksidan standardı BHT' ın göstermiş olduğu IC_{50} değeri 2.9 ± 0.06 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Antioksidanlar, biyolojik sistemlerin düzgün işleyişi için kritik öneme sahiptir. Serbest radikaller, biyomoleküllerin moleküler oksijenle reaksiyona girmesiyle oluşur ve bu radikaller biyomoleküllerin yapısını bozarak hücresel hasara yol açar (Halarnekar ve ark., 2023; Das ve ark., 2013). Çalışmamızda A@ZnO nanopartiküllerin ABTS testi ile yapılan antioksidan aktivite değerlendirmesinde en yüksek aktivite 1 mg/mL' de %97.9 ± 1 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda aspir ekstresinin antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiş, bu ekstreye ZnO ile sentezlenmesi sonucu oluşan nanopartiküllerin antioksidan aktivitenin arttığı gözlenmiştir (Kuşoğlu ve Kahraman, 2015; Hamsidi ve ark., 2023; Ibrahim ve ark., 2019).



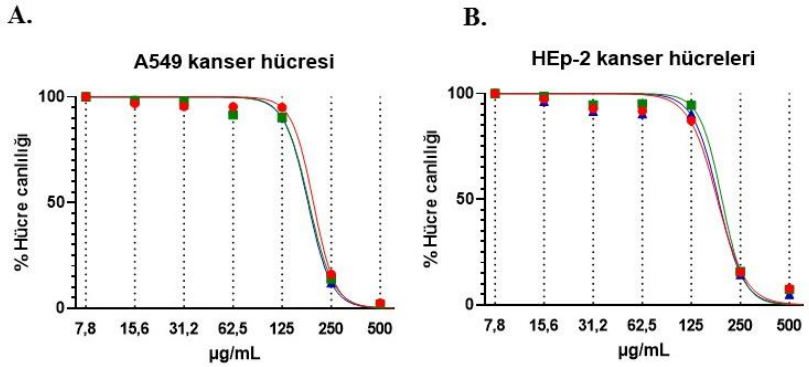
Şekil 3. A@ZnO nanopartiküllerin ABTS radikal temizleme aktivitesi

Antikanser Aktivite

A@ZnO nanopartiküllerinin antikanser etkileri, A549 ve HEp-2 kanser hücrelerine karşı MTT yöntemiyle test edilmiştir (Şekil 4). A549 hücrelerinde, 125 µg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığı %90.3 ± 2.1 seviyelerinde iken, konsantrasyon 250 µg/mL' ye yükseldiğinde canlılık %12 ± 1.6 oranına düşmüş, 500 µg/mL' lik daha yüksek konsantrasyonla ise hücre canlılığı %2.1 ± 0.21 olarak tespit edilmiştir. A@ZnO nanopartiküllerinin A549 hücresine karşı IC_{50} değeri 187.3 ± 7.1 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Benzer bir etki HEp-2 hücrelerinde de gözlemlenmiştir. HEp-2 hücrelerinde 125 µg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığı %86.5 iken, konsantrasyon arttıkça 250 µg/mL' de canlılık %15 ± 0.56 oranına, 500 µg/mL' de ise %6.6 ± 1.1 oranına düşmüştür. HEp2 hücreleri için IC_{50} değeri ise 185.4 ± 7.3 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, A@ZnO nanopartiküllerinin her iki hücre tipi üzerinde de konsantrasyona bağlı olarak belirgin bir sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri kanserdir ve her yıl çeşitli kanser türleri nedeniyle milyonlarca hayat kaybedilmektedir (Reddy ve ark., 2024). Kanser tedavisinde cerrahi müdahaleler, radyoterapi ve kemoterapi gibi birçok yöntem mevcut olmakla birlikte, bu tedavi

seçeneklerinin çoğu çeşitli yan etkiler ve toksik sonuçlar doğurabilmektedir. Bu nedenle, daha az yan etki gösteren ve maliyet açısından daha uygun yeni kanser tedavi bileşiklerinin bulunması önemlidir. Bitkiler, bu alandaki en umut verici alternatiflerden biridir (Bharathi ve ark., 2020). Bitki ekstreleri kullanılarak yeşil sentezlenen ZnO nanopartiküllerin akciğer kanseri hücrelerine olan sitotoksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Mango yapraklarından sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin A549 hücreleri üzerindeki antioksidan ve sitotoksik etkileri incelenmiş ve bu etkiler düşük doz siklofosfamid ile mango yaprağı ekstresiyle karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular, nanopartikül konsantrasyonunun antikanser özellikler üzerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Rajeshkumar ve ark., 2018). Vijayakumar ve ark. ise, *Laurus nobilis* yaprağı özütü kullanarak sentezledikleri ZnO nanopartiküllerin RAW264.7 makrofaj hücreleri ve A549 akciğer kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini incelemiştir. Sonuçlar, ZnO nanopartiküllerin normal makrofaj hücrelerine etkisiz olduğunu, ancak 80 mg/mL konsantrasyonunda A549 kanser hücrelerinin canlılığını inhibe etmede etkili olduğunu göstermiştir (Vijayakumar ve ark., 2016).



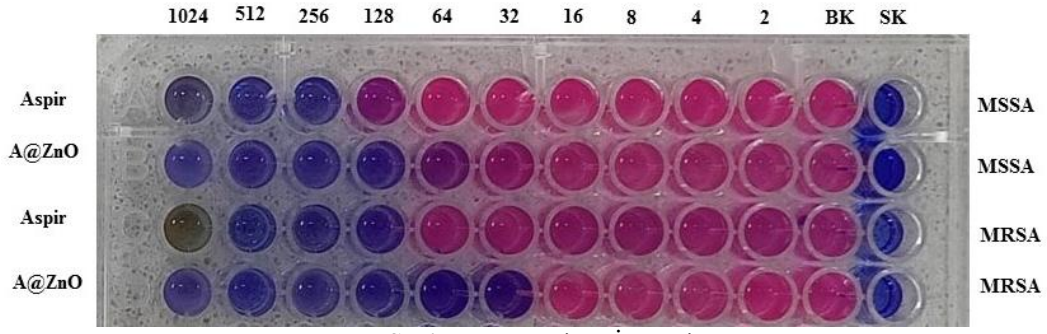
Şekil 4. A@ZnO nanopartiküllerin A549 (A) ve HEp-2 (B) kanser hücre hatlarına karşı doza bağlı hücre canlılığı

Antimikrobiyal aktivite

A@ZnO nanopartiküllerin MSSA ve MRSA suşlarına karşı MİK değerleri, resazurin mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 5). Elde edilen veriler, test edilen A@ZnO nanopartiküllerin her iki *S. aureus* suşuna karşı farklı düzeylerde antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Aspir ekstresinin MSSA suşuna karşı MİK değeri 256 µg/mL olarak belirlenmiştir. Aynı suş üzerinde test edilen A@ZnO nanopartikülleri ise daha düşük bir MİK değeri olan 128 µg/mL göstermiştir. MRSA suşu için, aspir ekstresi 128 µg/mL MİK değeriyle etkinlik gösterirken, A@ZnO nanopartikülleri bu suşa karşı daha güçlü bir inhibitör etki sergileyerek 32 µg/mL MİK değerine ulaşmıştır. Çalışmamızda MBK değeri ise 128-1024 µg/mL konsantrasyon aralığında tespit edilmiştir (Çizelge1).

Çizelge 1. Aspir ekstresi ve A@ZnO nanopartiküllerinin MSSA ve MRSA suşuna karşı geliştirdiği MİK ve MBK değerleri (µg/mL)

Bakteriyel Suşlar	Aspir		A@ZnO		Vankomisin	
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
MSSA	256	1024	128	512	1	2
MRSA	128	512	32	128	2	4

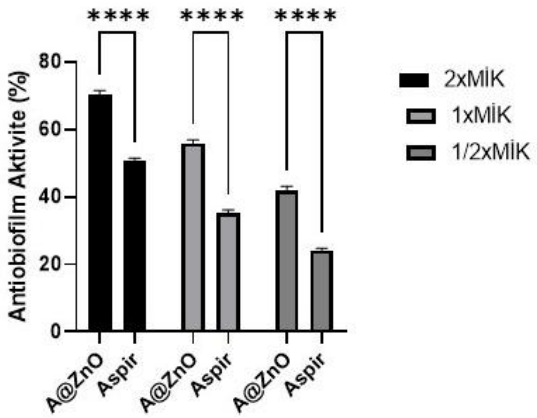


Şekil 5. Resazurin MİK testi

Antibiyofilm Aktivite

MRSA suşuna karşı antibiyofilm aktivitesinin değerlendirilmesinde, 2xMİK, 1xMİK ve 1/2xMİK konsantrasyonlarındaki A@ZnO nanopartikülleri kullanılmıştır. Bu konsantrasyonlar, biyofilm oluşumunu inhibe etme etkinliklerini karşılaştırmak için belirlenmiştir. MRSA suşunda, A@ZnO nanopartikülleri ile yapılan antibiyofilm aktivite testlerinde, en yüksek konsantrasyon olan 2xMİK biyofilm oluşumunu %70.1 ± 0.95 oranında inhibe ederek en güçlü etkinliği göstermiştir. Bunu takiben, 1xMİK ve 1/2xMİK konsantrasyonlarında sırasıyla %55.9 ± 0.7 ve %41.8 ± 0.95 oranlarında daha düşük inhibisyon değerleri elde edilmiştir. Bu sonuçlar, A@ZnO nanopartiküllerinin, konsantrasyon arttıkça biyofilm inhibisyonunun da arttığını ve yüksek derişimlerin daha etkili olduğunu göstermektedir. Aynı testler aspir ekstresi ile de yapılmış olup, MRSA suşuna karşı aspir ekstresinin etkisi, A@ZnO nanopartikülleri ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. 2xMİK konsantrasyonunda, aspir ekstresi biyofilm oluşumunu %50.6 ± 0.55 oranında inhibe ederken, 1xMİK ve 1/2xMİK konsantrasyonlarında sırasıyla %35.1 ± 0.7 ve %24.1 ± 0.45 oranlarında daha az inhibisyon gözlemlenmiştir (Şekil 6). Bu sonuçlar, aspir ekstresinin MRSA suşunun biyofilm oluşumunu inhibe etme kapasitesinin A@ZnO nanopartiküllerine kıyasla istatistiksel olarak daha düşük olduğunu, ancak yine de belirgin bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır ($p < 0.0001$).

Son yıllarda, patojenlerin kalıcılığının ve antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdikleri dirençlerin artışı, yeni antimikrobiyal tedavi seçeneklerinin ve stratejilerin geliştirilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymuştur (WHO, 2024). Yapılan araştırmalar, biyofilmlerin mikrobiyal enfeksiyonların yaklaşık %65'ine neden olduğunu ve kronik enfeksiyonların %78,2'sinin biyofilm ile ilişkilendirildiğini ortaya koymaktadır (Malone ve ark., 2017; Coenye ve ark., 2024). Bu bulgular, bilimsel topluluğun biyofilmlere karşı etkili antibiyofilm stratejilerinin geliştirilmesine öncelik verdiğini göstermektedir. Çalışmamızda, A@ZnO nanopartiküllerin MSSA ve MRSA suşlarına karşı gösterdiği MİK ve MBK değerleri aspir ekstresinden daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular, A@ZnO nanopartiküllerinin, özellikle MRSA suşuna karşı daha yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Ayrıca, antibiyofilm çalışmalarında A@ZnO nanopartikülü MRSA suşunun oluşturduğu biyofilmi parçalama kapasitesi aspir ekstresinden oldukça yüksek bulunmuştur. A@ZnO nanopartikülleri daha güçlü ve konsantrasyona bağlı artan bir inhibisyon etkisi sergilemektedir. Sonuç olarak, A@ZnO nanopartiküllerinin biyofilm inhibisyonunda daha etkili bir ajan olarak öne çıktığını ve bu tür nanopartiküllerin MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 6. MRSA suşuna karşı antibiyofilm aktivite

SONUÇ

Aspir ekstresi kullanılarak hızlı, ekonomik ve çevre dostu yöntemleriyle karakterize edilen A@ZnO nanopartiküller başarıyla elde edilmiştir**.** Biyojenik olarak sentezlenen nanopartiküllerin, ABTS testi ile gösterilen antioksidan aktivitenin yanı sıra, MSSA ve MRSA suşlarına antibakteriyal, MRSA suşuna antibiyofilm, A549 ve HEp-2 kanser hücrelerine antikanser aktivite sergiledikleri görülmüştür. Bu çok fonksiyonlu biyolojik aktivite özellikle aspir ile kaplanmış ZnO nanopartiküllerin biyomedikal alanda çeşitli uygulamalarda çok yönlü ve umut vadeden materyaller olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmamaktadır.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Abuova, Z., Turgumbayeva, A., Jumagaziyeva, A., Rakhimov, K., & Jussupkaliyeva, A. (2022). Study of component composition and antimicrobial activity of the ophthalmic emulsion based on the safflower flowers (Carthamus tinctorius L.). *International Journal of Microbiology*, *2022*(1), 3181270.

Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles–An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, *3*(4), 406-413.

Al-Mohaimeed, A. M., Al-Onazi, W. A., & El-Tohamy, M. F. (2022). Multifunctional eco-friendly synthesis of ZnO nanoparticles in biomedical applications. *Molecules*, *27*(2), 579.

Al-Radadi, N. S., Faisal, S., Alotaibi, A., Ullah, R., Hussain, T., Rizwan, M., ... & Ali, Z. (2022). Zingiber officinale driven bioproduction of ZnO nanoparticles and their anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-Alzheimer, anti-oxidant, and anti-microbial applications. *Inorganic Chemistry Communications*, *140*, 109274.

Amangeldinova, M., Ersatır, M., Necip, A., Cimentepe, M., Kudrina, N., Terletskaya, N., ... & Yildirim, M. (2025). Green Extraction Strategies and Bioactivity of Rheum cordatum Losinsk: Antioxidant, Antimicrobial, and Molecular Docking Insights. Plants

Amangeldinova, M., Ersatır, M., Necip, A., Yilmaz, M. A., Cimentepe, M., Kudrina, N., ... & Yildirim, M. (2024). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals from Rheum tataricum L. roots: a comparative study of supercritical CO2, subcritical ethanol, and ultrasound-assisted extraction for enhanced antioxidant, antibacterial activities, and molecular docking study. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1513875.

Aydin Acar, C., Gencer, M. A., Pehlivanoglu, S., Yesilot, S., & Donmez, S. (2024). Green and eco-friendly biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Calendula officinalis flower extract: Wound healing potential and antioxidant activity. *International wound journal*, *21*(1), e14413.

Bai, D. P., Zhang, X. F., Zhang, G. L., Huang, Y. F., & Gurunathan, S. (2017). Zinc oxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human ovarian cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 6521-6535.

Bapte, P. S., Pansambal, S., Bardapurkar, P. P., Ghotekar, S., & Borgave, S. S. (2025). Eco-friendly synthesis of ZnO nanoparticles using pomegranate leaves and its antimicrobial, antioxidant, anticancer, angiogenic activity, and toxicity assessment. *Results in Chemistry*, 102460.

Bharathi, D., Preethi, S., Abarna, K., Nithyasri, M., Kishore, P., & Deepika, K. (2020). Bio-inspired synthesis of flower shaped iron oxide nanoparticles (FeONPs) using phytochemicals of Solanum lycopersicum leaf extract for biomedical applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *27*, 101698.

Chawla, U., Dahiya, D., Kumar, Y., Bala, A., Genwa, M., Agasti, N., ... & Meena, P. L. (2024). A review on ZnO-based targeted drug delivery system. *Letters in Drug Design & Discovery*, *21*(3), 397-420.

Coenye, T., Ahonen, M., Anderson, S., Cámara, M., Chundi, P., Fields, M., ... & Webb, J. S. (2024). Global challenges and microbial biofilms: Identification of priority questions in biofilm research, innovation and policy. *Biofilm*, *8*, 100210.

Das, D., Nath, B. C., Phukon, P., & Dolui, S. K. (2013). Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *111*, 556-560.

Delshad, E., Yousefi, M., Sasannezhad, P., Rakhshandeh, H., & Ayati, Z. (2018). Medical uses of Carthamus tinctorius L.(Safflower): a comprehensive review from traditional medicine to modern medicine. *Electronic physician*, *10*(4), 6672.

Du, W., Feng, K., Li, C., Li, S., Abidin, Z. U., Yin, H., & Chen, S. (2023). Controlled synthesis of zinc oxide nanoparticles through flame spray pyrolysis and evaluation of their anticancer effects against gastric cancer cell. *Arabian Journal of Chemistry*, *16*(10), 105192.

Efati, Z., Shahangian, S. S., Darroudi, M., Amiri, H., Hashemy, S. I., & Aghamaali, M. R. (2023). Green chemistry synthesized zinc oxide nanoparticles in Lepidium sativum L. seed extract and evaluation of their anticancer activity in human colorectal cancer cells. *Ceramics International*, *49*(20), 32568-32576.

Geremew, A., Carson, L., Woldesenbet, S., Wang, H., Reeves, S., Brooks Jr, N., ... & Peace, E. (2023). Effect of zinc oxide nanoparticles synthesized from Carya illinoinensis leaf extract on growth and antioxidant properties of mustard (Brassica juncea). *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1108186.

Halarnekar, D., Ayyanar, M., Gangapriya, P., Kalaskar, M., Redasani, V., Gurav, N., ... & Gurav, S. (2023). Eco synthesized chitosan/zinc oxide nanocomposites as the next generation of nano-delivery for antibacterial, antioxidant, antidiabetic potential, and chronic wound repair. *International journal of biological macromolecules*, *242*, 124764.

Hamsidi, R., Adianti, M., Septriana, M., Priskila, O., Fristiohady, A., Malaka, M. H., ... & Hafid, A. F. (2023). Characteristic of the ethanol extract of Carthamus tinctorius L. flowers and its antioxidant activity. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, *16*(2), 791-798.

Hassan, S. S., El Azab, W. I., Ali, H. R., & Mansour, M. S. (2015). Green synthesis and characterization of ZnO nanoparticles for photocatalytic degradation of anthracene. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, *6*(4), 045012.

Ibrahim, F. Y., El-Khateeb, A. Y., & Mohamed, A. H. (2019). Rhus and safflower extracts as potential novel food antioxidant, anticancer, and antimicrobial agents using nanotechnology. *Foods*, *8*(4), 139.

Kishor, R., Purchase, D., Saratale, G. D., Saratale, R. G., Ferreira, L. F. R., Bilal, M., ... & Bharagava, R. N. (2021). Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(2), 105012.

Kuşoğlu, E., & Kahraman, S. (2015). Total Phenolic Content and Radical Scavenging Activity of Carthamus Tinctorius L. *International Journal of Electronics Mechanical and Mechatronics Engineering*, *5*(2), 943-947.

Li, Y., Zhu, J., Zhao, N., Ma, G., Liu, B., & Xu, J. (2023). ZnO as a promising nanocarrier for efficient delivery of 5-fluorouracil anticancer drug. *Journal of the Iranian Chemical Society*, *20*(11), 2871-2877.

Liao, C., Jin, Y., Li, Y., & Tjong, S. C. (2020). Interactions of zinc oxide nanostructures with mammalian cells: cytotoxicity and photocatalytic toxicity. *International journal of molecular sciences*, *21*(17), 6305.

Lopez-Miranda, J. L., Molina, G. A., González-Reyna, M. A., España-Sánchez, B. L., Esparza, R., Silva, R., & Estévez, M. (2023). Antibacterial and anti-inflammatory properties of ZnO nanoparticles synthesized by a green method using sargassum extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(2), 1474.

Maind, R., Halder, S., Bhat, A. R., Bhattacharya, D., Mujahid, M. H., Abu-Rayyan, A., ... & Tataringa, G. (2025). Biomimetic green synthesis of ZnO nanoparticles using Cheilocostus speciosus and Gardenia gummifera with comprehensive characterization and bioactivity assessment. *Scientific Reports*, *15*(1), 44323.

Malone, M., Bjarnsholt, T., McBain, A. J., James, G. A., Stoodley, P., Leaper, D., ... & Wolcott, R. D. (2017). The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. *Journal of wound care*, *26*(1), 20-25.

Punitha, V. N., Vijayakumar, S., Vidhya, E., Amirthanathan, A., Mythili, R., Devanesan, S., ... & Kim, W. (2024). Biowaste valorization based ZnO nanoparticles as vital component for multifaceted applications: a green approach. *Waste and Biomass Valorization*, *15*(3), 1833-1840.

Rajeshkumar, S., Kumar, S. V., Ramaiah, A., Agarwal, H., Lakshmi, T., & Roopan, S. M. (2018). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles usingMangifera indica leaves and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties in lung cancer (A549) cells. *Enzyme and microbial technology*, *117*, 91-95.

Rata, D. M., Cadinoiu, A. N., Daraba, O. M., Gradinaru, L. M., Atanase, L. I., & Ichim, D. L. (2023). Influence of ZnO nanoparticles on the properties of ibuprofen-loaded alginate-based biocomposite hydrogels with potential antimicrobial and anti-inflammatory effects. *Pharmaceutics*, *15*(9), 2240.

Reddy, M. S., Singh, K. P., Kumar, N., Kumar, R., Singh, M. V., & Gupta, S. (2024). Multifaceted applications of chitosan-L-ornithine modified ZnO nanoparticles: Antibacterial, antioxidant, and anticancer potentials. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *91*, 105192.

Saeed, M., Al-Keridis, L. A., Khattak, S., Alshuraym, L., Alshammari, N., Al-Amrah, H., ... & Kesari, K. K. (2024). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using egg white and coriander root waste: characterization and anti-cancer efficacy in Hela cells. *Waste and Biomass Valorization*, *15*(10), 5639-5655.

Salem, S. S. (2023). A mini review on green nanotechnology and its development in biological effects. *Archives of Microbiology*, *205*(4), 128.

Shaheen, T. I., Salem, S. S., & Fouda, A. (2021). Current advances in fungal nanobiotechnology: Mycofabrication and applications. *Microbial nanobiotechnology: Principles and applications*, 113-143.

Shehabeldine, A. M., Amin, B. H., Hagras, F. A., Ramadan, A. A., Kamel, M. R., Ahmed, M. A., ... & Salem, S. S. (2023). Potential antimicrobial and antibiofilm properties of copper oxide nanoparticles: time-kill kinetic essay and ultrastructure of pathogenic bacterial cells. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *195*(1), 467-485.

Vieira, I. R. S., da Silva, A. A., da Silva, B. D., Torres Neto, L., Tessaro, L., Lima, A. K. O., ... & Conte-Junior, C. A. (2024). Antioxidant, antimicrobial, and anticancer potential of green synthesized ZnO nanoparticles from Açaí (Euterpe oleracea Mart.) berry seed residue extract. *Waste and Biomass Valorization*, *15*(8), 4717-4734.

Vijayakumar, S., Vaseeharan, B., Malaikozhundan, B., & Shobiya, M. (2016). Laurus nobilis leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *84*, 1213-1222.

Wen, Z., Shi, X., Li, X., Liu, W., Liu, Y., Zhang, R., ... & Su, J. (2023). Mesoporous TiO2 coatings regulate ZnO nanoparticle loading and Zn2+ release on titanium dental implants for sustained osteogenic and antibacterial activity. *ACS applied materials & interfaces*, 15(12), 15235-15249.

World Health Organization. (2024). *WHO* bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. World Health Organization.

Yıldırım, M., Yilmaz, B. S., Çimentepe, M., Necip, A., & Dellal, Ö. (2025). Antioxidant, anti-acetylcholinesterase, antimicrobial, and anticancer activities of Morin–Cu (II) hybrid Nanoflowers. *Polyhedron*, 117917.

Yıldırım, M., Yilmaz, B. S., Çimentepe, M., Necip, A., & Dellal, Ö. (2025). Green Fabrication of Copper and Zinc Nanoflowers Using Rheum tataricum L. and Evaluation of their Antioxidant, Enzyme-Inhibitory, Antimicrobial, and Anticancer Properties. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1-13.

Yıldırım, M., Yilmaz, B. S., Çimentepe, M., Necip, A., & Öztürk, G. (2026). Multifunctional Bioactivities of Ellagic Acid-Based Hybrid Cu, Zn, and Co Microflowers: Antioxidant, Anti-AChE, Anticancer, and Antibacterial Effects. *Journal of Cluster Science*, *37*(1), 4.

Yi, C., Yu, Z., Ren, Q., Liu, X., Wang, Y., Sun, X., ... & Huang, X. (2020). Nanoscale ZnO-based photosensitizers for photodynamic therapy. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, *30*, 101694.