

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TERMOTOLERANT BAKTERİLERİN
NANOPARTİKÜL ÜRETİM YETENEĞİNİN ARAŞTIRILMASI**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURAK ÖZLÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emre BİRHANLI

KASIM 2021

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TERMOTOLERANT BAKTERİLERİN
NANOPARTİKÜL ÜRETİM YETENEĞİNİN ARAŞTIRILMASI**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BURAK ÖZLÜ
(36173611008)**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emre BİRHANLI

KASIM 2021

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının seçiminde, planlanmasında ve yürütülmesinde bana yön veren, çalışmanın hem deneysel hem de teorik aşamasında değerli katkılarda bulunan, yerinde yaptığı uyarılar ile yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Emre BİRHANLI'ya,

Paylaşımçı ve yardımseverliğiyle değerli vaktini ayırarak çalışmalarına fikir ve önerileriyle katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya,

Tez çalışmalarında kullanılan termotolerant bakterilerin teminini sağlayan Mersin Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Sadin ÖZDEMİR'e

Laboratuvar çalışmalarımnda yardımlarıyla destek olan Biyoloji Bölümü doktora öğrencisi Eray TATLICI'ya,

Yüksek lisans eğitimime başlama aşamasında bana öncülük eden ve manevi desteği ile katkı sağlayan Yüksek Kimyager Mehmet PİRİNÇÇİ'ye,

Yaşantım boyunca olduğu gibi tez çalışmalarımnda da maddi ve manevi destekleri ile sürekli yanımda olan babam Mahmut ÖZLÜ, annem Bilgihan ÖZLÜ, eşim Şeyma ÖZLÜ ve kızım Bahar ÖZLÜ'ye,

Bu tez çalışmasını, FYL-2019-1788 nolu proje ile maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimine

teşekkür ederim...

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Termotolerant Bakterilerin Nanopartikül Üretim Yeteneđinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Burak ÖZLÜ



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanopartikül Sentez Yaklaşımları	2
1.2. Nanopartikül Sentez Yöntemleri	3
1.2.1. Nanopartiküllerin hücre içi sentezi.....	4
1.2.2. Nanopartiküllerin hücre dışı sentezi.....	6
1.3. Nanopartikül Biyosentezinde Kullanılan Mikroorganizmalar.....	7
1.4. Bakteriler Tarafından Nanopartikül Sentezi	8
1.5. Nanopartiküllerin Boyut, Morfoloji ve Monodispersitesinin Önemi	9
1.6. Metal Nanopartiküller ve Karakterizasyonları	10
1.7. Gümüş Nanopartikül Üretimi	11
1.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkisi	11
1.9. Nanopartiküllerin Endüstriyel Uygulama Alanları.....	12
1.9.1. Gümüş nanopartiküllerin endüstriyel uygulama alanları	14
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler	22
3.1.1. <i>Anoxybacillus mongoliensis</i>	22
3.1.2. <i>Bacillus cereus</i>	23
3.2. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanışı	23
3.3. Gümüş Nanopartikül Üretim Yönteminin Belirlenmesi.....	24
3.4. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde Süre Optimizasyonu.....	25
3.5. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde Sıcaklık Optimizasyonu.....	26
3.6. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde pH Optimizasyonu	26
3.7. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Oluşturulan Gümüş Nanopartiküllerin Dispersiyonu.....	27
3.8. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	27
3.8.1. Gümüş nanopartiküllerin kristal yapı analizi	27
3.8.2. Gümüş nanopartiküllerin boyut ve şekillerinin analizi	27
3.8.3. Gümüş nanopartiküllerin FTIR analizi.....	27
3.8.4. Gümüş nanopartiküllerin SEM ve EDX analizi	28
3.9. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine İnkübasyon Süresinin Etkisi.....	29
4.2. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının Etkisi.....	31

4.3. <i>A. mongoliensis</i> ve <i>B. cereus</i> Süpernatanları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Farklı pH'ların Etkisi	32
4.4. Gümüş nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları.....	37
4.4.1. Gümüş nanopartiküllerin XRD analizleri.....	37
4.4.2. Gümüş nanopartiküllerin EDX analizleri	38
4.4.3. Gümüş nanopartiküllerin FTIR analizleri	39
4.4.4. Gümüş nanopartiküllerin RTEM analizleri	40
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	41
5. SONUÇ VE ÖNERİ	42
KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ	53



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 : Bazı bakterilerle çeşitli nanopartiküllerin hücre içi üretimi ve özellikleri.	5
Çizelge 1.2 : Bazı bakterilerin hücre dışı nanopartikül üretimi ve morfolojik özellikleri.	6
Çizelge 1.3 : AgNP'lerin farklı endüstriyel uygulama alanlarındaki kullanımları.....	15
Çizelge 3.1 : <i>A. mongoliensis</i> 'in sistematik sınıflandırılması	23
Çizelge 3.2 : <i>B. cereus</i> 'un sistematik sınıflandırması	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 : NP sentez yaklaşımları.....	2
Şekil 1.2 : NP sentez yöntemleri ve etki biçimleri.....	3
Şekil 1.3 : Mikrobiyal NP'lerin hücre içi sentezi.....	5
Şekil 1.4 : NP'lerin hücre dışı sentezinin örnek gösterimi.....	6
Şekil 1.5 : NP sentezinde kullanılan mikroorganizmalar.....	7
Şekil 1.6 : Hücre dışı sentez yöntemi ile AgNP üretimi.....	9
Şekil 1.7 : Metal NP'lerin antibakteriyel etkileri.....	12
Şekil 1.8 : AgNP'lerin kullanıldığı endüstriyel alanlar.....	14
Şekil 3.1 : <i>A. mongoliensis</i> (A) ve <i>B. cereus</i> (B) katı kültürleri.....	22
Şekil 4.1 : <i>A. mongoliensis</i> süpernatantının 1mM AgNO ₃ ile başlangıç (A), 2 (B), 4 (C), 6 (D), 12 (E) ve 24 (F) saat inkübasyonu sonunda çözeltide gerçekleşen renk değişimleri.....	30
Şekil 4.2 : <i>B. cereus</i> süpernatantının 1mM AgNO ₃ ile başlangıç (A), 2 (B), 4 (C), 6 (D), 12 (E) ve 24 (F) saat inkübasyonu sonunda gerçekleşen renk değişimleri.....	30
Şekil 4.3 : <i>A. mongoliensis</i> süpernatantının 1mM AgNO ₃ ile 40 °C (A), 50 °C (B) ve 60 °C (C)'de inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.....	31
Şekil 4.4 : <i>B. cereus</i> süpernatantının 1mM AgNO ₃ ile 40 °C (A), 50 °C (B) ve 60 °C (C)'de inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.....	32
Şekil 4.5 : Farklı pH'lara (pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D), pH 9.0 (E), pH 10.0 (F)) ayarlanmış <i>A. mongoliensis</i> süpernatantlarının 1mM AgNO ₃ ile inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.....	33
Şekil 4.6 : Farklı pH'lara (pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D), pH 9.0 (E), pH 10.0 (F)) ayarlanmış <i>B. cereus</i> süpernatantlarının 1mM AgNO ₃ ile inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.....	33
Şekil 4.7 : <i>A. mongoliensis</i> süpernatantı ile 1mM AgNO ₃ 'ün pH 6.0'da, 40 °C'de 6 saat inkübasyonu sonucu oluşan AgNP'lerin 458 nm'deki maksimum absorpsiyon piki.....	34
Şekil 4.8 : <i>B. cereus</i> süpernatantı ile 1mM AgNO ₃ 'ün pH 9.0'da, 40 °C'de 6 saat inkübasyonu sonucu oluşan AgNP'lerin 448 nm'deki maksimum absorpsiyon piki.....	34
Şekil 4.9 : <i>A. mongoliensis</i> süpernatantıyla üretilen toz formda (a) ve çözünmüş AgNP'lerin (b) eppendorf tüpler içerisindeki görüntüsü.....	35
Şekil 4.10 : <i>A. mongoliensis</i> süpernatantıyla üretilen ve dispers edilerek hazırlanan AgNP çözeltisinin 12 kat sulandırım yapıldıktan sonra spektrofotometrik tarama ile 510 nm dalga boyunda saptanan maksimum absorpsiyon piki.....	35
Şekil 4.11 : <i>B. cereus</i> süpernatantıyla üretilen toz formda (a) ve çözünmüş AgNP'lerin (b) eppendorf tüpler içerisindeki görüntüsü.....	36
Şekil 4.12 : <i>B. cereus</i> süpernatantıyla üretilen ve dispers edilerek hazırlanan AgNP çözeltisinin 5 kat sulandırım yapıldıktan sonra spektrofotometrik tarama ile 478 nm dalga boyunda saptanan maksimum absorpsiyon piki.....	36
Şekil 4.13 : <i>A. mongoliensis</i> (A) ve <i>B. cereus</i> (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin XRD grafikleri.....	37
Şekil 4.14 : <i>A. mongoliensis</i> (A) ve <i>B. cereus</i> (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin EDX grafikleri.....	38
Şekil 4.15 : <i>A. mongoliensis</i> (A) ve <i>B. cereus</i> (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin FTIR spektrumları.....	39
Şekil 4.16 : <i>A. mongoliensis</i> (A) ve <i>B. cereus</i> (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin RTEM görüntüleri.....	40

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgNO₃	: Gümüş Nitrat
AgNP	: Gümüş Nanopartikülü
AuCl₄⁻	: Tetrakloroaurat
AuNP	: Altın Nanopartikülü
°C	: Celcius, Sıcaklık Birimi
CuNP	: Bakır Nanopartikülü
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDX	: Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
HAuCl₄	: Hidrojen Tetrakloroaurat
mL	: Mililitre
MİK	: Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon
mM	: Milimolar
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
pH	: Su İçerisindeki Hidrojen İyonu Derişiminin Eksi Logaritması
ROS	: Reaktif Oksijen Türü
rpm	: Dakikada Dönme Hızı
RTEM	: Yüksek Çözünürlüklü Transmisyon Elektron Mikroskobu
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SeNP	: Selenyum Nanopartikülü
SERS	: Yüzeyi İyileştirilmiş Raman Saçılımı
SPR	: Yüzey Plazmon Rezonansı
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
XRD	: X-ışını Kırınımı

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Termotolerant Bakterilerin Nanopartikül Üretim Yeteneğinin Araştırılması

Burak ÖZLÜ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

53 + ix sayfa

2021

Danışman: Prof. Dr. Emre BİRHANLI

Nanopartiküller çeşitli yöntemlerle fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak sentezlenebilmektedir. Nanopartikül üretiminde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerin dezavantajları nedeniyle çevre dostu, ekonomik ve toksik olmayan biyolojik yöntemlere (yeşil sentez) olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Yeşil sentezde bitkiler, birçok mikroorganizma türü ve enzimler kullanılarak nanopartiküller sentezlenebilir. Bu çalışmada, iki farklı termotolerant bakteri türü olan *Anoxybacillus mongoliensis* ve *Bacillus cereus*'un gümüş nanopartikül üretim yeteneği araştırılmıştır. Buna göre; çalışmalarda test edilen bakterilerin sıvı kültürlerinden elde edilen süpernatantlar gümüş nanopartikül üretiminde kullanılmıştır. Gümüş nanopartikül varlığının saptanmasındaki ilk işlem, üretilen nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonanslarına bağlı olarak çözeltilerde gerçekleşen karakteristik renk değişimi ve spektroskopik absorpsiyon piklerinin belirlenmesidir. Bu işlemin ardından çeşitli optimizasyon çalışmaları (inkübasyon süresi, sıcaklık ve pH) yapılmış, daha sonra yapılan analizlerle (X-ışını Kırınımı, Taramalı Elektron Mikroskopisi ve Enerji Dağılımlı X-ışını, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi ve Yüksek Çözünürlüklü Transmisyon Elektron Mikroskobu) gümüş nanopartiküllerin karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Yapılan analizlerin ardından gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmıştır. Bu işlemde gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakteri türleri ve ayrıca *Candida albicans* ATCC 90028 maya türü kullanılmış ve üretilen gümüş nanopartiküllerin test edilen mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) değerleri de saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, *Anoxybacillus mongoliensis*, *Bacillus cereus*, Gümüş nanopartikülü, Termotolerant bakteri, Yeşil sentez

ABSTRACT

Master Thesis

Investigation of Nanoparticle Production Ability of Thermotolerant Bacteria

Burak ÖZLÜ

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

53 + ix pages

2021

Supervisor: Prof. Dr. Emre BİRHANLI

Nanoparticles can be synthesized physically, chemically and biologically by various methods. Due to the disadvantages of physical and chemical methods used in nanoparticle production, the interest in environmentally friendly, economical and non-toxic biological methods (green synthesis) is increasing day by day. In green synthesis, nanoparticles can be synthesized by using plants, many types of microorganisms and enzymes. In this study, the silver nanoparticle production ability of two different species of thermotolerant bacteria, *Anoxybacillus mongoliensis* and *Bacillus cereus*, was investigated. According to this; the supernatants obtained from the liquid cultures of the bacteria tested in the studies were used in the production of silver nanoparticles. The first step in detecting the presence of silver nanoparticles is to determine the characteristic color change and spectroscopic absorption peaks that occur in solutions depending on the surface plasmon resonances of the produced nanoparticles. After this process, various optimization studies (incubation time, temperature and pH) were carried out, the characteristic properties of silver nanoparticles with subsequent analyzes (X-ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-ray, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and High Resolution Transmission Electron Microscopy) were determined. After the analyzes carried out, antimicrobial activities of silver nanoparticles were also investigated. In this process, gram negative *Escherichia coli* ATCC 25922 and gram positive *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bacterial species and also *Candida albicans* ATCC 90028 yeast species were used and the minimum inhibitory concentration (MIC) values of the produced silver nanoparticles on the tested microorganisms were also determined.

Key words: Antimicrobial activity, *Anoxybacillus mongoliensis*, *Bacillus cereus*, Silver nanoparticle, Thermotolerant bacterium, Green synthesis

1. GİRİŞ

Nanoteknolojik çalışmalar fizik, kimya, biyoloji, tıp ve malzeme biliminin yer aldığı disiplinler arası bir teknoloji olarak ortaya çıkmaktadır. Nano ön eki, Yunanca'da "cüce" anlamına gelen "nanos" kelimesinden türemiştir. Milyarda biri (10^{-9} m) ifade eden "nano" boyut olarak yaklaşık 3 atom uzunluğu kadardır (Hulkoti ve Taranath, 2014). Nanopartikül (NP)'lerin boyutları 0.1 ile 1000 nm arasında değişkenlik gösterir. NP'ler karakteristik fiziksel, kimyasal, elektronik, elektrikselsel, mekanik, manyetik, termal, elektrikselsel, optik ve biyolojik özelliklere sahiptir. Boyutlarının küçüklüğü NP'lerin diğer malzemelere göre önemli ölçüde farklı fiziksel özelliklere sahip olmasına neden olur (Narayanan ve Sakthivel, 2010; Menon ve diğ, 2017).

NP'lerin yüzey plazmon rezonansı (SPR) nedeniyle diğer maddelere göre bazı avantajları vardır. Bu nedenle NP'ler, yeni nesil optoelektronik, elektronik ve çeşitli kimyasal ve biyokimyasal sensörlerin yapıtaşları olarak kabul edilmektedir (Wong ve Schwaneberg, 2003; Ramanavicius ve diğ, 2005).

Nanoteknoloji, enerji, tıp, elektronik ve uzay endüstrisi gibi birçok alana son derece önemli etkilerinden dolayı son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Bu nedenle bu alanda yapılan araştırmalar, son on yılda tüm dünyada çarpıcı bir şekilde büyümektedir. NP, nanotüp, nanotel gibi nanometre boyutundaki yeni malzemelerin geliştirilmesi bu alanın ana çalışma konularıdır. Bu malzemeler arasında kimya, optik, elektronik ve manyetik gibi alanlarda oldukça kullanışlı olmasından dolayı NP sentezine olan ilgi her geçen gün artmaktadır. NP'ler geniş yüzey alanlarına, kendilerine has özel şekillere (küresel, çubuk vb.) sahip olmaları nedeniyle biyolojik sensör üretiminde kanser hücrelerinin teşhisi ve izlenmesinde, ilaç yapımında ve terapötik uygulamalar gibi daha pek çok alanda kullanılmaktadır (Davis ve diğ, 2003; Honary ve diğ, 2012).

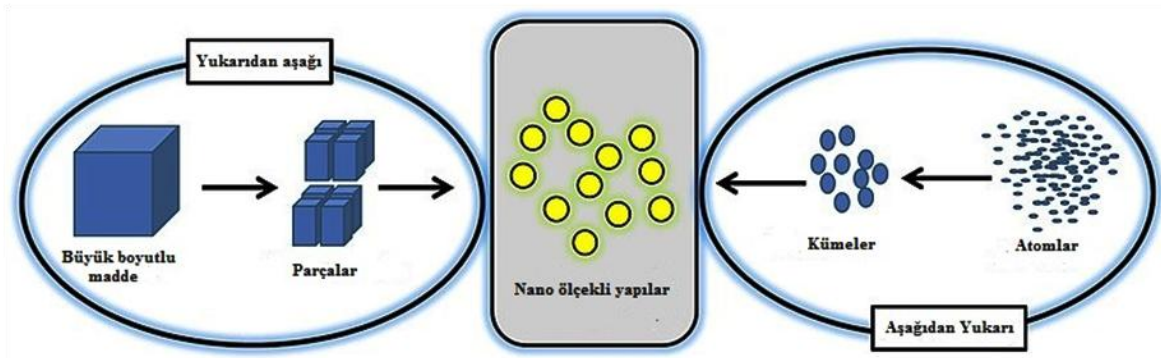
NP'ler organik ve inorganik olmak üzere başlıca 2 şekilde sınıflandırılırlar. Karbon içeren NP'ler organik NP'lerdir. Manyetik, soymetal (platin, altın ve gümüş) ve yarı iletken (titanyum dioksit ve çinko oksit) NP'ler inorganik NP'ler olarak gruplandırılır. İnorganik NP'ler, kullanım kolaylığı, işlevselliği, biyouyumluluğu, özel bir grup hücreyi

hedefleme yeteneği ve ilaçların kontrollü salınımı gibi ayırt edici özellikleri nedeniyle hedef bölgelere ilacın taşınmasında kullanılabilir (Xu ve diğ., 2006).

1.1. Nanopartikül Sentez Yaklaşımları

NP'ler yukarıdan aşağıya yaklaşım (polimerlerin monomere dönüştürülmesi) veya aşağıdan yukarıya yaklaşım (monomerlerin bir araya getirilmesi) sonucu üretilebilir (Şekil 1.1). Yukarıdan aşağıya yaklaşım genellikle büyük metalik malzemelerin mekanik olarak makro boyuttan, nano boyuta parçalanması esasına dayanan fiziksel ve/veya kimyasal yöntemleri içerir. Yukarıdan aşağıya yaklaşıma örnek olarak; mekanik aşındırma, elektro patlama, ısı (termik) yöntem, gaz atomizörü ve yüksek enerji yöntemleri verilebilir. Ancak fazla enerji tüketimi ve ekonomik maliyetler bu tekniklerin en önemli dezavantajlarıdır.

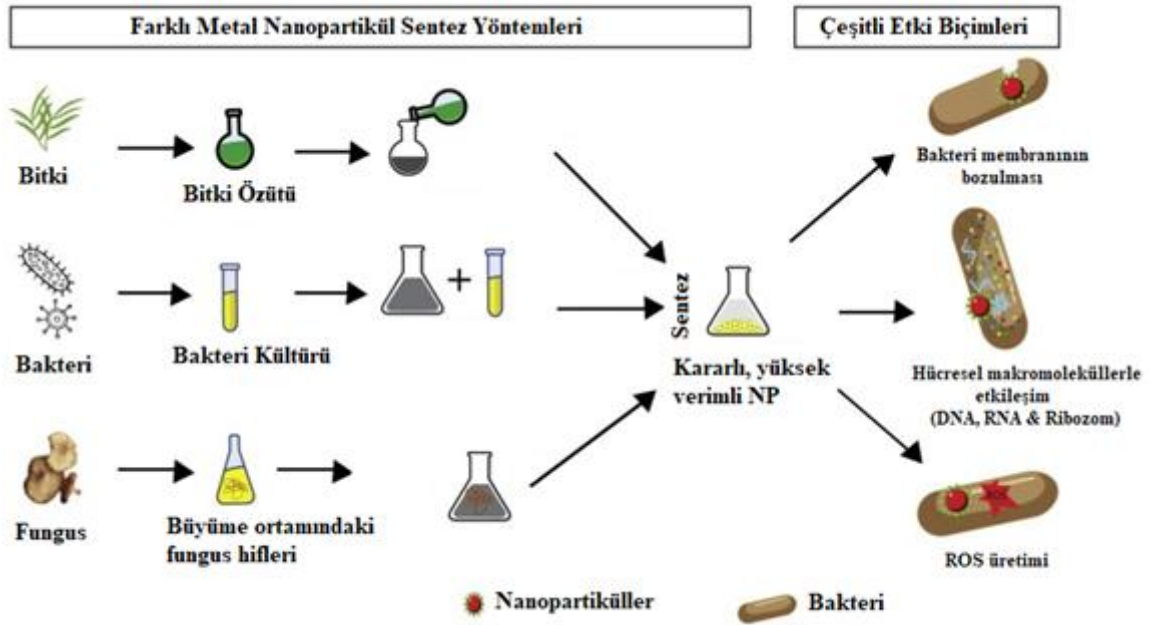
İkinci yöntem olan aşağıdan yukarıya doğru yaklaşımda ise atomik veya moleküler boyuttaki malzemelerden çeşitli NP'ler elde edilir (Şekil 1.1). Bu yöntemle gerçekleştirilen NP sentezi ucuz ve etkili olduğu için daha çok tercih edilmekte olup, bu yaklaşıma uygun çeşitli klasik yöntemler (fiziksel ve kimyasal) geliştirilmiştir. Bu klasik yöntemlere örnek olarak; asal gaz yoğunlaştırma, alev sentezi, kimyasal buhar yoğunlaştırma, yaş kimyasal sentez ve sol jel yöntemleri verilebilir. Ancak bu klasik yöntemlerin dışında yeşil nanoteknoloji olarak adlandırılan, çevre dostu ve toksik madde içermeyen çeşitli biyolojik yöntemler de kullanılmaktadır (Ates ve Bahceci, 2015; Beykaya ve Çağlar, 2016).



Şekil 1.1 : NP sentez yaklaşımları
(Bilim etiği. (t.y.) Erişim: 31 Aralık 2020,
<https://www.nanoscience.com/techniques/nanoparticle-synthesis/>).

1.2. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Yukarıda bahsedildiği gibi NP'ler fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sentezlenebilirler. Ancak genel olarak fiziksel yöntemlerin verimi düşüktür. Kimyasal yöntemlerde ise öncü kimyasalların ve toksik çözücülerin kullanımı NP'lerin klinik alanlardaki uygulamalarını oldukça sınırlar. Ayrıca kimyasal yöntemlerle NP üretimi sonucunda tehlikeli yan ürünlerin oluşabilmesi de yöntemin bir diğer dezavantajıdır. Buna ilaveten; NP sentezinde kimyasal ve fiziksel yöntemlerin kullanımı oldukça pahalı olabilmektedir (Wang ve diğ., 2007; Akbarzadeh ve diğ., 2009; Tapan ve Andrey, 2010). Bu nedenle, NP sentezi için biyoyumlu, toksik olmayan ve çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Buna göre; fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif, çevre dostu NP sentez yöntemi olan ve sentez aşamasında çeşitli bitki özütlerini veya mikroorganizmaları kullanan biyolojik metotlar (Şekil 1.2) öne çıkmaktadır (Simkiss ve Wilbur, 1989; Mann, 1996; Narayanan ve Sakthivel, 2010; Menon ve diğ., 2017).



Şekil 1.2 : NP sentez yöntemleri ve etki biçimleri (Singh ve diğ., 2020).

Buna göre; eski zamanlardan beri fitoterapide kullanılan çeşitli bitkiler, eşsiz antioksidan içerikleri ve düşük yan etkilerinden dolayı günümüzde NP sentezinde de önemli bir potansiyele sahiptir (Tan ve diğ., 2019). Mikrobiyal sentez yöntemi ise; çeşitli boyut, şekil, kompozisyon ve fizikokimyasal özelliklerde ucuz ve güvenilir NP sentezine imkan sağlar. Ayrıca bu çevre dostu NP sentezi, düşük enerji gereksinimi ve daha yüksek

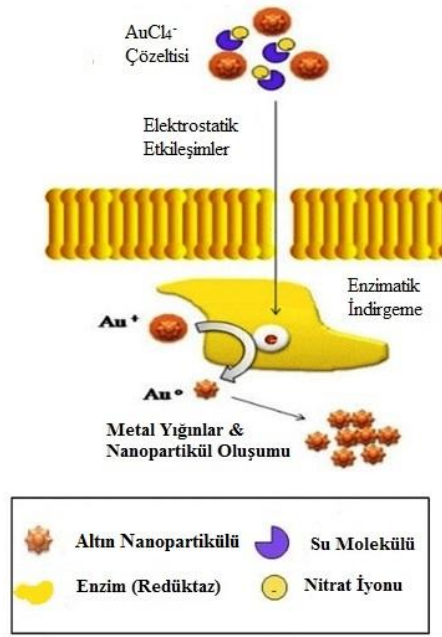
seviyelere ölçeklendirilebilmesi yönleriyle de çekici bir uygulamadır (Gahlawat ve Choudhury, 2019).

NP üretiminde kullanılan biyolojik yöntemler güvenli, uygun maliyetli, sürdürülebilir ve çevre dostu süreçler olmakla birlikte, mikroorganizma kültürlerinin oluşturulma işleminin zaman alması, üretilen NP'lerin düzensiz boyut dağılımı göstermesi, monodispers olmaması ve üretim hızlarının yavaş olabilmesi gibi bazı dezavantajları vardır. Ancak yine de pH, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, metal iyonlarının konsantrasyonu, biyolojik malzeme miktarının optimizasyonu ve suş seçiminden elde edilen bilgiler büyük ölçekli ve ticari NP üretim uygulamalarında biyolojik yöntemlerin kullanımının uygun olduğunu göstermektedir. Ayrıca genetik olarak tasarlanmış mikroorganizmaların üretilmesi sonucu biyolojik NP'lerin boyut ve şekilleri istenilen özelliklere getirilebilir (Narayanan ve Sakthivel, 2010).

1.2.1. Nanopartiküllerin hücre içi sentezi

Birçok mikroorganizma, hücre içi veya hücre dışı inorganik malzemeler üretir. Hücre içi NP sentezinde mikroorganizmaların hücre duvarı önemli bir rol oynar. Bu mekanizma, pozitif yüklü metal iyonlarının negatif yüklü hücre duvarı ile elektrostatik etkileşimini içerir. Bu etkileşim sayesinde hücre duvarında bulunan enzimler iyonları NP'lere indirger ve daha sonra bu NP'ler hücre duvarından ayrılarak sitoplazmaya geçer (Şekil 1.3) (Kashyap ve diğ, 2013).

Bu yöntem maden atıkları ve metal sızıntılarından değerli metallerin geri kazanılmasında da kullanılabilir olup, buna göre; bakteriyel aktivite sonucu çeşitli mineral cevherleri elde edilebilmektedir. Biyolojik yollarla üretilen metal NP'ler çeşitli kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak da kullanılabilir. Bu durum, NP'lerin biyoreaktörlerde sürekli kullanımı için tutulmasına olanak sağlayacaktır. Çizelge 1.1'de bazı bakterilerde hücre içi yolla üretilen NP'ler ve bunların özellikleri gösterilmiştir. Ancak hücre içi yöntemlerle üretilen NP'lerin elde edilebilmesi için genelde ultrason uygulaması veya uygun deterjanlarla reaksiyon gibi ek işlemlere ihtiyaç duyulur (Sharma ve diğ, 2007; Narayanan ve Sakthivel, 2010; Menon ve diğ, 2017).



Şekil 1.3 : Mikrobiyal NP'lerin hücre içi sentezi
(Kashyap ve diğ, 2013).

Hücre içi sentez yönteminin ayrıştırma ve saflaştırma gibi basamaklara ihtiyaç duyması yöntemin zor ve pahalı olmasına neden olabilmektedir. Buna göre; basit ve ekonomik bir yöntem olan hücre dışı sentez çeşitli uygulamalar açısından daha çok tercih edilir (Sabri ve diğ, 2016).

Çizelge 1.1 : Bazı bakterilerle çeşitli nanopartiküllerin hücre içi üretimi ve özellikleri.

Bakteri	Nanopartikül	Boyut (nm)	Şekil	Kaynak
<i>B. mycoides</i>	Selenyum	50-400	Küresel	Lampis ve diğ, 2014
<i>Bacillus sp.</i> MSh-1	Selenyum	80-220	Küresel	Beheshti ve diğ, 2013
<i>B. cereus</i>	Kadmiyum	30-200	Nanokompozit	Harikrishnan ve diğ, 2014
<i>B. thuringiensis</i>	Gümüş	10-30	Küresel	Nayak ve diğ, 2016
<i>L. kimchicus</i> DCY51	Altın	5-30	Küresel	Markus ve diğ, 2016

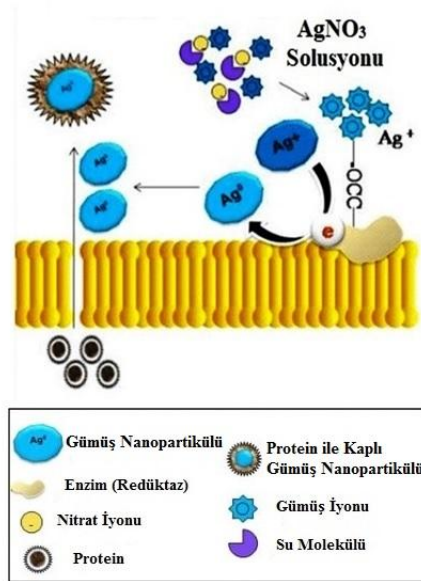
1.2.2. Nanopartiküllerin hücre dışı sentezi

Hücre içi NP sentez sürecinde gerçekleşen karmaşık işlemlerin olmaması ve zor saflaştırma adımlarına gerek duyulmaması açısından daha basit ve kullanışlı olan hücre dışı NP sentezi (Çizelge 1.2) büyük ölçekli NP üretimi açısından daha avantajlıdır (Akter ve Huq, 2019; Fariq ve diğ, 2017).

Çizelge 1.2 : Bazı bakterilerin hücre dışı nanopartikül üretimi ve morfolojik özellikleri.

Bakteri	Nanopartikül	Boyut (nm)	Şekil	Kaynak
<i>B. subtilis</i>	Titanyum	66-77	Küresel, oval	Kirthi ve diğ, 2011
<i>B. cereus</i>	Bakır	11-33	Küresel	Tiwari ve diğ, 2016
<i>B. safensis</i> LAU13	Altın	10-45	Küresel	Ojo ve Diğ, 2016
<i>Bacillus</i> sp. AZ1	Gümüş	7-31	Küresel	Deljou ve Goudarzi, 2016
<i>V. guangxiensis</i>	Gümüş	10-40	Düzensiz küresel	Du ve Yi, 2016

Metal NP'lerin mikrobiyal sentezi, hücrenin indirgeyici bileşenlerinin lokalizasyonuna bağlıdır. Metal NP'lerin hücre dışı sentezi, hücre duvarında lokalize olan veya hücre dışına salgılanan indirgeyici enzimlerin metal iyonlarının indirgenme işlemine katılması sonucunda gerçekleşir (Şekil 1.4).

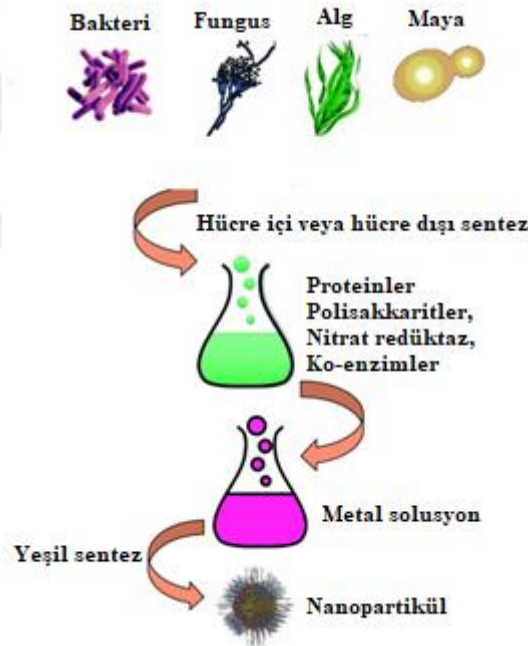


Şekil 1.4 : NP'lerin hücre dışı sentezinin örnek gösterimi (Kashyap ve diğ, 2013).

Hücre dışı NP üretiminin optoelektronik, elektronik, biyogörüntüleme ve sensör teknolojilerindeki uygulamaları hücre içi NP üretimine kıyasla daha fazladır (He ve diğ, 2007).

1.3. Nanopartikül Biyosentezinde Kullanılan Mikroorganizmalar

Funguslar, aktinomisetler, mayalar ve bakteriler dahil birçok mikroorganizma mineral kristalleri ve metal NP'leri hücre içi veya hücre dışı yollarla sentezleyebilmektedir (Şekil 1.5). Mikrobiyal NP sentez mekanizmalarının anlaşılabilmesi amacıyla son on yılda mikroorganizma kullanılarak NP sentezi üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bakteri ve funguslarla NP sentezinde daha ileri teknolojik yöntemler bulunduğundan, aktinomisetler ve mayalarla gerçekleştirilen NP sentezine kıyasla bakteriler ve funguslar daha fazla ilgi görmüştür (Zhang ve diğ, 2011).



Şekil 1.5 : NP sentezinde kullanılan mikroorganizmalar
(Gahlawat ve Choudhury, 2019)

Mikroorganizmaların maruz kaldıkları çoğu toksik ağır metale olan mikrobiyal dirençleri, kimyasal detoksifikasyonun yanı sıra hücrede bulunan iyon pompaları ile gerçekleştirilebilir. Buna ilaveten; mikrobiyal sistemler toksik özellikteki çözünebilir inorganik iyonların toksik olmayan ve çözünemeyen metal nanokümelere indirgenmesi ve/veya çökeltmesiyle de metal iyonlarını detoksifiye edebilir (Bruins ve diğ, 2000;

Beveridge ve diğ, 1996). Mikrobiyal detoksifikasyon hücre dışı biyomineralizasyon, biyosorpsiyon, çökeltme veya hücre içi biyoakümülyasyon ile yapılabilir. Bu amaçla; mikroorganizmalar sıklıkla hücre içi veya hücre dışında nano ölçekli çeşitli inorganik materyaller üretir (Bao ve diğ, 2003). Bakterilerin sahip oldukları bu özel savunma mekanizmaları, bakterilerin yüksek miktarda metale maruz kalmalarına bağılı oluşan toksik etkileri baskılamalarına ve böylece bakterilerin olumsuz çevre koşullarında oluşan hücresel stresle baş edebilmelerine yardımcı olur (Tan ve diğ, 2019).

Metal iyonlarının indirgenmesi yoluyla toksik metallerin remediasyonunda çeşitli mikroorganizmaların kullanıldığına dair literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar ışığında; farklı mikroorganizmalar kullanılarak NP sentezi de son derece ilgi çeken bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır. Mikrobiyal NP'lerin biyosentezi sürecinde öncelikle çeşitli iyonlar mikroorganizmalar tarafından ortamdan alınarak indirgenir ve ardından hücresel aktivite sonucu üretilen enzimler vasıtasıyla element formunda biriktirilir (Simkiss ve Wilbur, 1989; Mann, 1996).

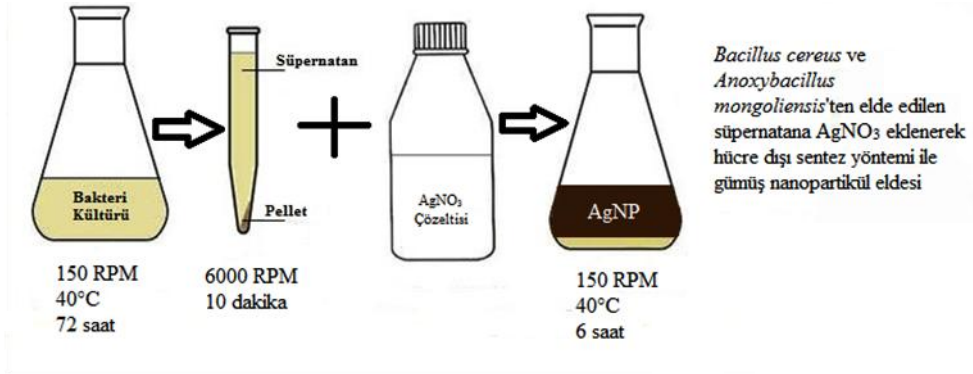
Buna göre; literatürde çeşitli bakteri, fungus, aktinomiset ve maya türleri kullanılarak yapılan çok sayıdaki çalışmada farklı şekil, büyüklük, bileşim ve çözünürlüğe sahip çeşitli metal NP'ler üretilmiştir (Pum ve Sleytr, 1999; Mithila ve diğ, 2009).

1.4. Bakteriler Tarafından Nanopartikül Sentezi

Temel olarak kolay üretilebilmeleri ve hızlı gelişimleri nedeniyle mikroorganizmalar NP üretiminde sıklıkla tercih edilmektedir (Fariq ve diğ, 2017). Mikroorganizmalar içerisinde ise mevcut teknolojik altyapıların bakteriyel ve fungal NP üretimini daha fazla desteklemesi sebebiyle pek çok araştırmacı NP üretiminde aktinomiset ve mayalara kıyasla bakteri ve fungusları daha fazla tercih etmektedir (Zhang ve diğ, 2011).

Bunlara ilaveten; NP sentezinde özellikle bakterilerin tercih edilme sebebi, bu organizmaların deneysel aşamalarda sunmuş olduğu kullanım kolaylığı ve genetik mühendislik uygulamalarında önemli bir zorlukla karşılaşılmasındadır (Klaus ve diğ, 2001). Bakteriler genelde hücre içi ve/veya hücre dışı mekanizmalarla metal iyonlarının indirgenmesini gerçekleştirerek inorganik NP'leri sentezler (Li ve diğ, 2011). Bu tez çalışmasında da; *Anoxybacillus mongoliensis* (*A. mongoliensis*) ve *Bacillus cereus* (*B. cereus*) bakteri türleri kullanılarak hücre dışı sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküllerin

(AgNP) sentezlendiği ortaya konulmuş olup, kullanılan üretim metodu Ghiuta ve diğerlerinin (2018) çalışmasından değiştirilerek Şekil 1.6’da sunulmuştur.



Şekil 1.6 : Hücre dışı sentez yöntemi ile AgNP üretimi (Ghiuta ve diğ, 2018).

İnkübasyon sıcaklığı ve süresi, substrat konsantrasyonu ve ayrıca pH gibi çeşitli parametrelerle biyosentezi düzenlenen bakteriyel NP'lerin yüzey yükü, şekli, boyutu ve kararlılığı değişebilmekte ve bu sayede güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olabilmektedir (Patra ve Baek, 2014; Hosseini ve Sarvi, 2015). Bu durum, yüksek yüzey alanına sahip NP'lerin bakteriyel hücre membranına kolayca yapışma özelliğinden dolayı hücre membranına ve bileşenlerine yapısal hasar verebilmesi veya hücre membranından geçerek DNA hasarına da neden olması ile açıklanabilir (Sunkar ve Nachiyar, 2012; Fariq ve diğ, 2017).

1.5. Nanopartiküllerin Boyut, Morfoloji ve Monodispersitesinin Önemi

Partikül boyutu nano malzemelerin özelliklerini doğrudan etkiler. Nano boyuttaki partiküller daha büyük yapıdaki malzemelere kıyasla benzersiz kimyasal, optik ve elektronik özelliklere sahiptir. Bu nedenle, NP sentezinde özellikle boyut ve monodispersite homojenliği oldukça önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalar, kullanılan mikroorganizma türü, gelişim ortamı, sentez koşulları gibi çeşitli parametrelerin NP boyutu ve monodispersite üzerine etkili olduğunu göstermiştir (Holmes ve diğ, 1995; Sastry ve diğ, 2003; Ahmad ve diğ, 2003; Gericke ve Pinches, 2006). Ancak NP sentezinde uygun parçacık boyutu, morfoloji ve kristal yapıyı elde etme gibi fiziksel özelliklerin kontrolünde bazı zorluklar bulunmaktadır (Kushwaha ve diğ, 2015). Buna göre; nanobilimin önemli bir

araştırma konusunu uygulama alanına yönelik farklı morfolojilere, boyutlara ve monodispersiteye sahip NP sentezi oluşturmaktadır (Sastry ve diğ, 2003).

Buna ilaveten, NP sentezinde güvenilir, toksik olmayan ve çevre dostu deneysel yöntemlerin geliştirilmesi de oldukça önemli olup, (Korbekandi ve diğ, 2012) bu amaç doğrultusunda çeşitli enzimler, vitaminler, polisakkaritler, biyolojik olarak parçalanabilen polimerler ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır (Korbekandi ve diğ, 2009). Bu materyaller içerisinde bakteriyel NP sentezi, diğer yöntemlere kıyasla NP morfolojisi ve monodispersite üzerinde daha etkili kontrol sağlayan bir sentez yöntemidir (Javaid ve diğ, 2017).

1.6. Metal Nanopartiküller ve Karakterizasyonları

Altın, gümüş, bakır, çinko, demir, titanyum, alüminyum, kurşun, paladyum, kobalt ve kadmiyum gibi metal NP'ler (Nasreen ve diğ, 2014) boyut, morfoloji ve kararlılık gibi çeşitli özelliklerindeki farklılıkları nedeniyle geniş uygulama potansiyeline sahip olup, bu değişken özellikler antibakteriyel ve sitotoksik etkiler için son derece önemlidir. Bu nedenle NP'ler uygulama çalışmalarında kullanılmadan önce mutlaka karakterize edilmelidir (Tan ve diğ, 2019). NP oluşumunun birincil göstergesi, NP'ler tarafından sergilenen SPR nedeniyle oluşan renk değişimidir (Patil ve Kim, 2017). NP'ler, partikül tipine, boyutuna ve şekline bağlı olarak çeşitli SPR'lere sahip olup, bu durumdan dolayı farklı renkler oluştururlar (Dhand ve diğ, 2016). Buna göre; bir çözeltinin optik özelliklerinin spektroskopik analizi ile çözeltinin absorpsiyon spektrumları belirlenir ve elde edilen NP'lere özgü yüzey plazmon bandı NP oluşumu için bir göstergedir. Bu işlemin ardından yapılacak geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) ve taramalı elektron mikroskopisi (SEM) analizleri ile sentezlenmiş NP'lerin boyutu, şekli, morfolojisi ve elementsel bileşimi ve ayrıca TEM analizi ile NP'lerin çözelti içindeki dağılımı hakkında bilgi edinilir.

Elde edilen NP'lerin karakterizasyonu amacıyla x ışını kristalografisi (XRD), enerji dağılımlı x ışını spektroskopisi (EDX) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) de sıklıkla kullanılmaktadır. Buna göre; NP'lerin kristal özelliklerini saptamak amacıyla XRD, temel bileşimini belirlemek için EDX, metal NP'lerin kararlılığından sorumlu farklı fonksiyonel grupları belirlemek için de FTIR kullanılır (Patil ve Kim 2017).

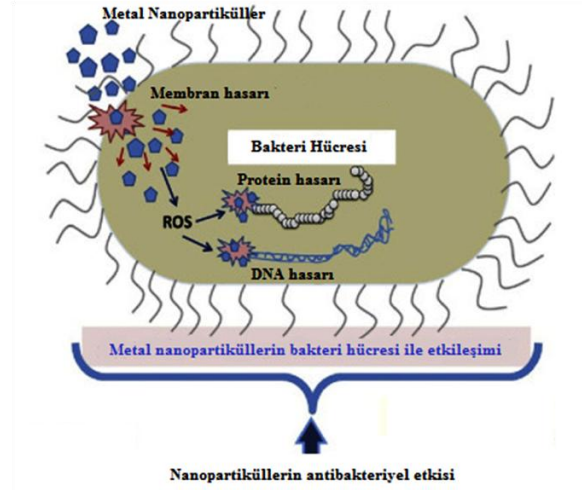
1.7. Gümüş Nanopartikül Üretimi

Günümüzde çok farklı yöntemlerle AgNP üretimi mümkün olsa da; pek çok araştırmacı toksik olmayan ve çevre dostu bir süreçle AgNP üretimi için çaba göstermektedir. Buna göre; mikroorganizmalar ürettikleri nitrat redüktaz ile hücre dışı sentez yoluyla çevre dostu AgNP üretiminde kullanılabilir. Nitrat redüktaz, metal iyonlarının biyolojik olarak indirgenmesine yol açan bir enzim olup, bu sayede NP sentezinin gerçekleşmesine sebep olur. AgNP'ler mikroorganizmalar tarafından genelde yığın veya film halinde üretilirler.

Biyosentez yoluyla üretilen AgNP'lerin antimikrobiyal özellikleri; iyonik kuvvet, boyut ve pH gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir (Wright ve diğ, 1999; Klueh ve diğ, 2000; Cao ve diğ, 2001; Sharma ve diğ, 2009). Ancak yapılan çalışmalar patojen mikroorganizmaların dirençli suşlarında dahi AgNP'lerin güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olabildiğini göstermektedir. Buna göre; AgNP'lerin ticari antibiyotiklerle birlikte kullanımı sonucu patojenik mikroorganizmalara karşı daha gelişmiş antimikrobiyal özellikte kombinasyonlar elde edilebilir. Günümüzde biyosentezle üretilen AgNP'ler eritromisin, ampisilin, kloramfenikol ve kanamisin gibi çeşitli antibiyotiklerin etkisini artırmak amacıyla kullanılabilir (Mukherjee ve diğ, 2001; Panáček ve diğ, 2006; Fayaz ve diğ, 2010; Hulkoti ve Taranath, 2014).

1.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Etkisi

Antimikrobiyal etkiye sahip NP'lerin araştırılması son zamanlarda popüler bir konu haline gelmiştir (Loo ve diğ, 2018; Soliman ve diğ, 2018; Liao ve diğ, 2019; Tormena ve diğ, 2020; Aygün ve diğ, 2021; Gulbagca ve diğ, 2021). Metaller ve metal oksitler, karbon bazlı nanomalzemeler ve yüzey aktif madde bazlı nano sıvılar antimikrobiyal etkiye sahip malzemelere örnek olarak gösterilebilir (Li ve diğ, 2008). Antimikrobiyal özelliğe sahip NP'lerle yapılan çalışmalarda, mikroorganizmaların genel olarak NP'lere karşı direnç geliştirdiği görülmemiştir (Mühling ve diğ, 2009). NP'ler, reaktif oksijen türü (ROS) üretimine sebep olmaları, hücre zarı ve hücre duvarının tahribi, enerji üretiminin duraklatılması, enzim aktivitesi ve DNA sentezinin inhibisyonu gibi mekanizmalarla antimikrobiyal etkiyi gerçekleştirir (Şekil 1.7) (Weir ve diğ, 2008).



Şekil 1.7 : Metal NP'lerin antibakteriyel etkileri (Kumar ve diğ, 2020).

Kadmiyum sülfid (CdS), altın (Au), titanyum dioksit (TiO₂), çinko oksit (ZnO) ve gümüş (Ag) tabanlı NP'ler bu alanda en çok kullanılanlar arasındadır (Saravanan ve Nanda 2010). Bu metaller arasında AgNP ticari olarak en çok kullanılan ve en çok araştırılan metal NP'dir. AgNP'lerin bu kadar popüler olmasının ana nedeni, gümüşün eskiden beri yara ve enfeksiyon tedavisinde kullanılması olabilir (Tan ve diğ, 2019). Günümüzde de AgNP'lerin vankomisin, amoksisilin, penisilin, ampisilin ve sefalotin gibi antibiyotiklerle birlikte kullanılması sonucu gram pozitif ve gram negatif bakterilerde sinerjistik bir antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (Fayaz ve diğ, 2010; Ipe ve diğ, 2020).

Mikroorganizmalarca üretilen AgNP'lerin iyonizasyonu sonucu oluşan pozitif yüklü gümüş iyonları hedef mikroorganizmaların nükleik asitleri ile kolayca konjuge olarak hücre bölünme mekanizmasını ve ayrıca solunum zincirini etkileyerek antimikrobiyal etki gösterebilmektedir (Wright ve diğ, 1999; Klueh ve diğ, 2000; Cao ve diğ, 2001; Sharma ve diğ, 2009; Fayaz ve diğ, 2010).

1.9. Nanopartiküllerin Endüstriyel Uygulama Alanları

NP'ler diğer malzemelere kıyasla büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bu özellik NP'leri bazı moleküllere karşı daha reaktif hale getirerek NP'lerin birçok alanda kullanılmasını sağlar. NP'ler kanser hücrelerinin vücuttaki yerinin tanımlanmasında kullanılabilir olup, bu nedenle tümörlerin tespiti amacıyla tıbbi alanda hem demir oksit hem de altın nanopartiküllerden (AuNP) yararlanılabilmektedir. Buna ilaveten; bakır nanopartikülleri (CuNP) de biyouyumlu kanser ilaçlarının geliştirilmesinde, osteoporoz,

anemi ve kardiyovasküler bozukluklar gibi bakır eksikliği bozuklukları için mevcut ilaçlarla birlikte yardımcı tedavide kullanılabilir (Tiwari ve diğ, 2016).

AgNP'ler ise kimyasal kararlılıkları, iletkenlikleri, antimikrobiyal, sitotoksik ve antioksidan özellikleri gibi katalitik ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle nanoteknoloji ve tıbbi alanlarda son derece önemlidir. Boyutlarının oldukça küçük olması nedeniyle NP'ler dolaşım sistemine ve kan beyin bariyerine bile nüfuz etme kabiliyetine sahiptir. Bu yönüyle AgNP'ler farmasötik alanda yeni ilaçların tasarımı konusunda oldukça kullanışlı olup, literatürde AgNP'lerin antimikrobiyal madde olarak kullanımından antiinflamatuvar madde özelliğine kadar pek çok tıbbi alanda uygulanabilirliğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Morones ve diğ, 2005; Pal ve diğ, 2007; Tiwari ve diğ, 2016). Örneğin, doku mühendisliği alanında biyoyumlu nanofiber iskelelerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar sonucunda elde edilen nanofiber iskeleler, hedeflenen spesifik hücrelerin uygun ortamda gelişimine de olanak sağlamaktadır (Paul ve Robeson, 2008).

Nanoteknoloji'nin kullanıldığı alanlardan biri de kozmetik endüstrisidir. Yapılan araştırmalarda partikül boyutu küçüldükçe kullanılan ürünün deri tarafından emiliminin hızlandığı ve buna bağlı olarak da cilt dokusunda iyileşmenin önemli ölçüde arttığı saptanmıştır (Yazıcı, 2009).

Günümüzde NP içeren çeşitli katkı maddeleri tat, aroma veya dokusunu değiştirmeden gıdaların besin içeriğini ve raf ömrünü artırmak amacıyla gıda teknolojisi uygulamalarında yaygın olarak kullanılmakta olup, bu yöntemle hazırlanan ürünler fonksiyonel gıda olarak adlandırılmaktadır (Brody, 1990; Siegrist ve diğ, 2008). NP'lerin gıda endüstrisindeki bir diğer uygulama alanı ise ürünler içinde bulunan çok küçük miktarda kimyasal kirliliklerin, virüs veya bakterilerin tespitidir. Buna göre; NP tabanlı geliştirilen sensörler birçok zararlı mikroorganizmanın hızlı ve kesin bir şekilde saptanmasına yardımcı olarak sağlıklı ve güvenilir gıdaların üretilmesine olanak sağlar (Yazıcı, 2009).

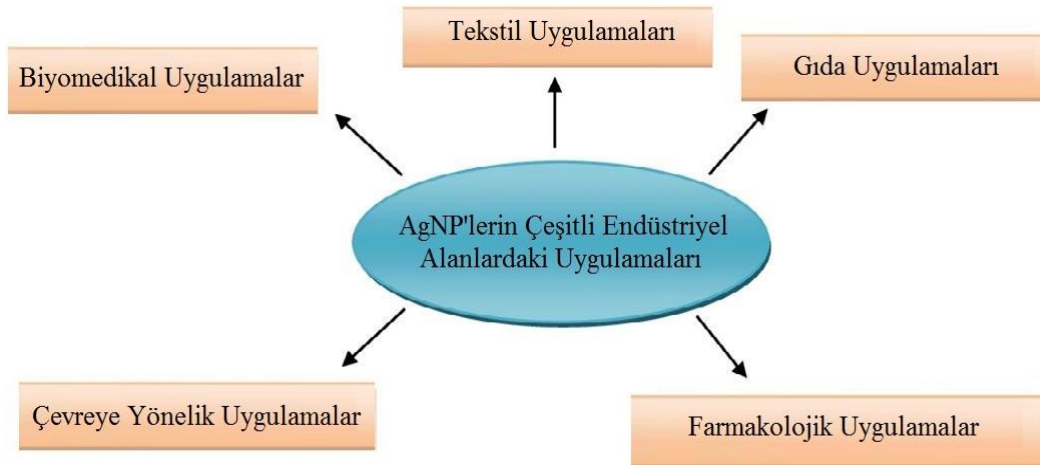
Tekstil endüstrisinde kumaş liflerine hedef NP'lerin püskürtülmesi sonucu su ve kir tutmayan, kendi kendini temizleyen, yanmayan, renk değiştiren ve antibakteriyel özelliğe sahip kumaşların üretimi yapılabilmekte olup, bu sayede tekstil ürünlerinin özellikleri geliştirilebilir ve daha uzun ömürlü olmaları sağlanabilir (Qian ve Hinestroza, 2004; Yazıcı, 2009).

Nanoteknolojik ürünlerin savunma sanayisinde de son derece önemli bir potansiyeli bulunmaktadır. Örneğin; yeni nesil zırh malzemelerinin, stratejik anten yapılarının, askeri miğferlerin, kimyasal ve biyolojik tehditleri tespit etme amacıyla mikroçip boyutunda sensör içeren kıyafetlerin ve temel lazer teknolojilerinin üretiminde nanoteknolojik ürünler yoğun bir şekilde kullanılabilir (Yazıcı, 2009; Sıkı, 2017).

Fosil yakıtların yenilenemeyen yapıları ve küresel çapta her geçen gün azalmaları sebebiyle yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilgi de artmaktadır. Yapılan çalışmalara göre; geniş yüzey alanları, optik davranışları ve katalitik yapıları nedeniyle NP'ler bu alanda kullanıma yönelik iyi bir potansiyele sahiptir (Mueller ve Nowack, 2008; Avasare ve diğ., 2015; Ning ve diğ., 2016). Buna göre; yeni nesil yakıt hücrelerinin oluşturulmasında NP'lerin kullanılması sonucu elde edilen enerjinin kayda değer ölçüde arttığı ve elde edilen yüksek verimli yeni nesil yakıt hücrelerinin ev, işyeri, fabrika gibi büyük yapılarda elektrik üretimini gerçekleştirebilecek kapasiteye eriştiği ifade edilmektedir (Yazıcı, 2009).

1.9.1. Gümüş nanopartiküllerin endüstriyel uygulama alanları

AgNP'lerin kullanıldığı endüstriyel alanlar Şekil 1.8'de gösterilmiş olup, farklı endüstriyel alanlardaki AgNP uygulamaları da Çizelge 1.3'de belirtilmiştir.



Şekil 1.8 : AgNP'lerin kullanıldığı endüstriyel alanlar (Verma ve Maheshwari, 2019).

Çizelge 1.3 : AgNP'lerin farklı endüstriyel uygulama alanlarındaki kullanımları
(Verma ve Maheshwari, 2019).

Uygulama Alanları	AgNP Uygulamaları
Biyomedikal Uygulamalar	Antibakteriyel olarak kullanımı
	Antifungal olarak kullanımı
	Antiviral olarak kullanımı
	Antienflamatuar olarak kullanımı
	Antianjiyojenik olarak kullanımı
	Antikanserojenik olarak kullanımı
Tekstil Uygulamaları	UV ışınlarına dayanıklı kumaş üretiminde kullanımı
	Tıbbi tekstil ve cihazlardaki kullanımı
Gıda Uygulamaları	Nanoteknoloji ve gıda paketlemede kullanımı
	Gıda işlemede kullanımı
Çevreye Yönelik Uygulamalar	Hava dezenfeksiyonu
	Su dezenfeksiyonu
	İçme suyu dezenfeksiyonu
	Yeraltı suyu ve biyolojik atıksu dezenfeksiyonu
Farmakolojik Uygulamalar	Antimikrobiyal aktivitesi
	Larvisidal aktivitesi
	Yara iyileştirme özelliği

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Poinern ve diğerlerinin (2013) yaptığı çalışmada *Eucalyptus macrocarpa* bitkisi kullanılarak tetrakloroaurat (AuCl_4^-) çözeltisinden biyolojik indirgenme yoluyla AuNP'ler elde edilmiştir. Yapılan analizlere göre oluşan NP'lerin 20-100 nm boyutunda ve küresel, üçgen, beşgen ve altıgen olduğu saptanmıştır. Sentezlenen AuNP'lerle birlikte yaprak özütlerinin kombinasyonu sonucu oluşan bileşiklerin *B. subtilis* ve *E. coli* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada *Garcinia mangostana* bitkisinin meyve kabuğu özütü kullanılarak metal iyonlarının indirgenmesi ile AuNP'ler üretilmiştir. Bu çalışmada 0.50 g'lık meyve kabuğu özütleri 20 mL'lik saf suya eklenerek, 60 °C'de 30 dakika bekletilmiş ve bu karışımın 10 mM'lık Hidrojen tetrakloroaurat (HAuCl_4) ile reaksiyonu sonunda çözeltinin mor-kahverengimsi bir renge dönüştüğü ifade edilmiştir. Yapılan çalışmada sentezlenen AuNP'lerin absorpsiyon piki 546 nm'de tespit edilmiş olup, TEM analizi sonucunda elde edilen AuNP'lerin çoğunlukla küresel, bazılarının ise altıgen ve üçgen, boyutlarının da yaklaşık 33 nm olduğu tespit edilmiştir (Lee ve diğ, 2016).

Diğer bir çalışmada şeker otu (*Stevia rebaudiana*) yaprak ekstratları kullanılarak AuNP'ler sentezlenmiş olup, çalışmada 1 g'lık şeker otu yaprağı 50 mL deiyonize suya eklenerek 0.1 mM AuCl_4^- çözeltisi ile karıştırılmıştır. Yapılan ölçümlerde AuNP'lerin absorpsiyon pikinin 500-550 nm arasında olduğu gözlemlenmiş ve gerçekleştirilen TEM analizi sonucunda AuNP boyutlarının 5-20 nm arasında ve küresel olduğu saptanmıştır (Sadeghi ve diğ, 2015).

Çay yaprak ekstratları kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada CuNP sentezi ve optimum temas süresi, pH, konsantrasyon ve ısıtma yöntemi gibi çeşitli parametreler araştırılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda 540-570 nm aralığında gerçekleşen karakteristik absorpsiyonlara bağlı mavi renkten sarımsı siyaha dönüşen değişim ile CuNP'lerin sentezlendiği gözlemlenmiştir. Elde edilen CuNP'ler su ve alkolle yıkanmış ve yapılan TEM analizi sonucuna göre de NP boyutlarının 70-90 nm arasında olduğu tespit edilmiştir (Mohindru ve Gark, 2017).

Eren ve Baran (2019)'ın yaptığı çalışmada yeşil fıstık (*Pistacia vera* L.) yaprak özütleriyle AgNP sentezlenmiş, üretilen AgNP'lerin maksimum absorbands değerinin yaklaşık 461 nm'de olduğu belirlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen AgNP'lerin XRD analiz sonuçlarına göre; kristal boyutların yaklaşık 16.7 nm olduğu, SEM-EDX analiz sonuçlarına göre AgNP'lerin küresel yapıda ve gümüş parçacıklarının 100 nm'den küçük olduğu ve yapılan EDX analizinde de element kompozisyonunun büyük oranda gümüşe ait olduğu görülmektedir. Buna ilaveten; elde edilen AgNP'lerin *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922 ve *C. albicans* üzerinde de güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Yıldız çiçeği (*Dahlia pinnata*) kullanılarak yapılan bir çalışmada, bitkinin yaprak özütleri AgNO₃ çözeltisine eklenmiş ve 8 saatlik inkübasyon sonunda kahverengi renk değişimi gözlemlenmiştir. Elde edilen renkli çözeltideki AgNP'lerin maksimum absorbandsının 460 nm dalga boyunda olduğu tespit edilmiştir. Yapılan TEM analizi sonucunda da AgNP'lerin küresel yapıda ve yaklaşık 15 nm çapında olduğu saptanmıştır (Roy ve diğ, 2015).

Liken (*Cetraria islandica* L.) özütü ile AgNP elde edilen bir çalışmada; Çankırı ilinin Yapraklı ilçesinden temin edilen *Cetraria islandica* L. liken örnekleri sıvı azot ile muamele edilerek küçük parçalara ayrılmıştır. Bu işlemin ardından 8 g liken 160 mL etanolde ekstrakte edilerek liken özütleri elde edilmiştir. İndirgen ajan olarak kullanılan liken özütleri 10 mM'lık AgNO₃ çözeltisi ile tepkimeye sokularak AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen araştırma sonuçları AgNP'lerin optimum sentez sıcaklığının 38 °C ve optimum sentez süresinin de 123 dakika olduğunu göstermektedir. Yapılan analizler sonucunda; sentezlenen AgNP'lerin 405 ile 438 nm dalga boylarında maksimum absorbands verdiği, partikül boyutlarının da 5.6-28.6 nm arasında ve küresel formda olduğu ifade edilmiştir (Yıldız, 2011).

Tyagi ve diğerleri (2019) tarafından fungus kullanılarak yapılan bir çalışmada *Beauveria bassiana*'nın hücre dışı AgNP üretim potansiyeli test edilmiş olup, optimum AgNP sentez sıcaklığının 25 °C, pH'sının ise 6.0 olduğu saptanmıştır. Spektrofotometrik ölçümler; sentezlenen AgNP'lerin maksimum absorbands değerinin 450 nm dalga boyunda olduğunu göstermektedir. Elde edilen AgNP'lerin TEM analizleri sonucunda boyutlarının 10-50 nm arasında olduğu, şekillerinin de üçgen, dairesel ve altıgen olduğu rapor edilmektedir. Araştırmacılar sentezlenen AgNP'lerin *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiğini de saptamışlardır.

Fungus kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada *Fusarium oxysporum*'un hücre dışı sentez yöntemiyle 5-60 nm boyutlarında ve düzensiz şekillerde AgNP'ler elde edilmiştir. Araştırmacılar sentezlenen AgNP'lerin *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris* ve *L. monocytogens* gibi çeşitli bakteri türleri üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ifade etmiştir (Mohammadian ve diğ, 2007).

Hücre içi sentez yöntemi ile maya kullanılarak yapılan bir çalışmada *S. cerevisiae* ATCC 9763 suşunun ultrasonifikasyonu ile hücre özütü elde edilmiş olup, bu özüt 1 mM ve 5 mM konsantrasyonlarındaki AgNO₃ çözeltileri ile inkübe edilerek AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümlere göre, hücre özütünün 1 mM AgNO₃ çözeltisi ile inkübasyonu sonucunda elde edilen AgNP'lerin ortalama partikül boyutu 323 nm iken, 5 mM AgNO₃ çözeltisi ile hücre özütünün inkübasyonu sonucunda elde edilen AgNP'lerin ortalama partikül boyutu 3505 nm olarak bulunmuştur. Buna göre; AgNO₃ konsantrasyonu değiştikçe partikül boyutunun belirgin bir şekilde değiştiği ve her iki AgNO₃ konsantrasyonunda da küresel partiküllerin olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda elde edilen tüm AgNP'lerin *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae* suşları üzerine antimikrobiyal etki gösterdikleri saptanmıştır. Ancak 5 mM AgNO₃ ile inkübasyonu sonucu oluşan AgNP'lerin, 1 mM AgNO₃ ile inkübasyonu sonucu oluşan AgNP'lere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Altınsoy, 2016).

Bir siyanobakteri türü olan *Oscillatoria limnetica*'nın özütü kullanılarak yapılan bir çalışmada yeşil sentezle AgNP üretimi gerçekleştirilmiştir. Buna göre; 0.5 mM AgNO₃'e *O. limnetica* ekstraktının eklenmesi sonunda AgNP üretimine bağlı olarak başlangıçtaki yeşil renkten kahverengiye doğru bir renk geçişi olmuş ve 426 nm dalga boyunda yüzey plazmon pikinin olduğu gözlemlenmiştir. Üretilen AgNP'lerin TEM analizi sonucunda elde edilen görüntülerinde NP'lerin yaklaşık 3-18 nm arasında değişen boyutlarda ve yarı küresel şekilde olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda sentezlenen AgNP'lerin *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*'a karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilediğini ve ayrıca insana karşı da sitotoksik etkiler gösterdiğini rapor etmişlerdir (Hamouda ve diğ, 2019).

Siyanobakteri türü kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada AgNP'lerin yeşil sentezi için *Anabaena doliolum* hücre özütü test edilmiş ve *A. doliolum* tarafından sentezlenen AgNP'lerin dispers özelliği, küresel şekilde ve 10-50 nm büyüklüğünde olduğu ifade edilmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen AgNP'lerin iki gram negatif (*Klebsiella pneumoniae* DF12SA (HQ114261) ve *Escherichia coli* DF39TA (HQ163793)) ve bir gram pozitif (*Staphylococcus aureus* DF8TA (JN642261)) bakteri türü üzerindeki antibakteriyel etkileri disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Test edilen tüm bakteri türleri, 5-500 µg/mL konsantrasyonlarda AgNP içeren disklerle inkübe edilmiş ve artan gümüş konsantrasyona bağlı olarak inhibisyon bölgelerinin kademeli olarak arttığı gözlenmiştir. Buna göre; 500 µg/mL AgNP'nin *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde neden olduğu maksimum inhibisyon bölgelerinin çapları sırasıyla 36, 33 ve 34 mm olarak saptanmıştır (Singh ve diğ., 2014).

Singh ve Kundu (2014) tarafından yapılan bir çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* ve *Rhodopseudomonas capsulata*'nın AuNP biyosentez potansiyelleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada pH 4.0-7.0 arasında değişen farklı pH değerlerinin AuNP üretimine etkisi test edilmiş olup, pH 7.0 ortamında oluşan AuNP'lerin boyutlarının 10-20 nm arasında ve küresel şekilde olduğu tespit edilmiştir.

Hindistan'daki altın madenlerinden izole edilen *Brevibacillus formozus* kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle yapılan bir çalışmada, test edilen bakteri türünün HAuCl₄'ü indirgemesi sonucu AuNP'lerin oluştuğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar sentezlenen AuNP'lerin maksimum absorpsiyonunun 535 nm, şeklinin küresel formda ve boyutlarının da 5-12 nm arasında olduğunu ifade etmişlerdir. Sentezlenen AuNP'lerle yapılan antibakteriyel aktivite testlerinin sonuçlarına göre; *Staphylococcus aureus*'a karşı iyi bir antibakteriyel aktivite, *E. coli*'ye karşı ise daha düşük bir antibakteriyel aktivite elde edilmiştir (Srinath ve diğ., 2017).

Pouri ve diğ. (2017)'nin yaptığı bir çalışmada İran'da faaliyet gösteren Imam Khomeini Petrokimya Endüstrisi'nden izole edilen *Bacillus cereus* BIPC04 suşunun selenyum nanopartikül (SeNP) üretim yeteneği araştırılmıştır. Bu çalışmada kullanılan bakteri suşu öncelikle 30 °C ve 120 rpm'de üretilmiş olup, elde edilen sıvı bakteri kültürünün 1 mL'si 600 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Daha sonra elde edilen süpernatant 1/1 oranında sodyum selenat çözeltisi (100 mg/mL) ile karıştırılarak SeNP üretim işlemine geçilmiştir. Uygun inkübasyon süresi (24 saat) sonunda çözeltide

kırmızımsı renk değişimi gözlenmiş ve ortalama 170 nm çapında küresel SeNP'ler elde edilmiştir.

Hindistan'da yayılım gösteren bir böcekten (*Stibara sp.*) izole edilen *Serratia* cinsine ait bir bakteri türü kullanılarak yapılan çalışmada yeşil sentezle CuNP üretimi araştırılmıştır. Buna göre; test edilen bakteri türü 3000 rpm'de santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatantlar 1, 3, 5, 7 ve 10 mM bakır sülfat (CuSO_4) çözeltileri ile inkübe edilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışması sonucunda maksimum CuNP üretiminin 5 mM'lık CuSO_4 çözeltisi kullanılarak gerçekleştiği tespit edilmiş olup, TEM analizi sonucunda elde edilen CuNP'lerin polidispers özellikte ve çaplarının 10-30 nm arasında olduğu saptanmıştır (Hasan ve diğ, 2008).

E. coli kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile AgNP üretimi yapılan bir çalışmada, test edilen bakteri türü ayrı ayrı Nutrient Broth (NB) ve Luria Bertani Broth (LBB) besiyerlerinde 24 saat boyunca 27 °C, 220 rpm'de inkübe edilmiş ve daha sonra sıvı kültürler santrifüjlenerek süpernatantlar elde edilmiştir. Araştırmacılar 1 mM AgNO_3 çözeltisi ile her iki farklı besiyerinden elde edilen süpernatantların ayrı ayrı, ışıklı ortamda ve 24 saat muamelesi sonucunda NB'ye kıyasla LBB ortamında daha fazla AgNP üretildiğini rapor etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; sentezlenen AgNP'lerin 40-60 nm arasında değişen çeşitli boyutlarda ve polidispers özellikte olduğu, maksimum dalga boyunun ise 390-410 nm arasında olduğu belirlenmiştir (Natarajan ve diğ, 2010).

Wang ve diğ. (2016) tarafından topraktan izole edilen *Bacillus methylotrophicus* DC3 suşunun AgNP üreticisi olarak test edildiği bir çalışmada, sıvı bakteri kültürlerinden elde edilen süpernatant kullanılarak 10-30 nm büyüklüğünde ve küresel formda AgNP'ler sentezlendiği rapor edilmiştir. Üretilen AgNP'lerin dört farklı patojenik mikroorganizma (*Candida albicans* (KACC 30062), *Salmonella enterica* (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 10798) ve *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 33844)) üzerine antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda AgNP içeren disklerin test edilen tüm mikroorganizmalarda önemli inhibisyon bölgelerinin oluşumuna sebep olduğu gözlemlenmiştir.

Singh ve diğ. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada hücre dışı sentez yöntemiyle AgNP üretmek için *Brevibacterium frigoritolerans* DC2 suşu kullanılmış olup, 1 mM AgNO_3 çözeltisi ile test edilen bakteri türünün süpernatantı 25 °C ve 200 rpm'de inkübe edilmiş ve daha sonra bu karışımın 16000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmesi sonucu

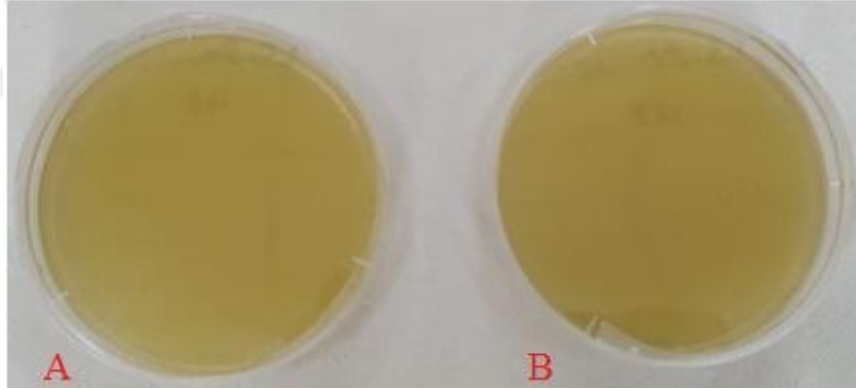
AgNP'ler elde edilmiştir. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda elde edilen AgNP'lerin maksimum dalga boyunun 420 nm olduğu belirlenmiş, üretilen AgNP'lerin küresel şekilde ve 0-30 nm boyutlarında olduğu saptanmıştır. Çalışmada *B. anthracis*, *V. parahaemolyticus*, *S. enterica*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* gibi çeşitli patojenik mikroorganizmalar üzerine 1 mM konsantrasyonda AgNO₃ ve aynı konsantrasyonda AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre; AgNP'lerin AgNO₃'e kıyasla daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite sergilediği saptanmıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler

Çalışmalarda Afyonkarahisar ilindeki sıcak su kaplıcalarından izole edilen termotolerant bakteriler olan *Anoxybacillus mongoliensis* (Accession Number: KJ094999) ve *Bacillus cereus* (Accession Number: KJ434789) kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bu bakteri kültürlerinin aktivasyonu ve devamlılığını sağlamak amacıyla uygun koşullarda ve sürelerde bakteri izolatlarının 30 günde bir katı besiyeri olan Nutrient Agar (NA) ortamlarında üretilmeleri yapılmıştır. Elde edilen saf bakteri kültürleri (Şekil 3.1) 40 °C de 24 saat boyunca statik inkübatörde inkübe edildikten sonra İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarı buzdolabında 4 °C’de stok kültür olarak muhafaza edilmektedir.



Şekil 3.1 : *A. mongoliensis* (A) ve *B. cereus* (B) katı kültürleri.

3.1.1. *Anoxybacillus mongoliensis*

Çalışmamızda termotolerant bir bakteri izolatı olan *A. mongoliensis* kullanılmıştır. Bu bakterinin sınıflandırma basamakları Çizelge 3.1’deki gibidir.

Çizelge 3.1 : *A. mongoliensis*'in sistematik sınıflandırılması
(Bilim etiği. (t.y.) Erişim: 20 Nisan 2021, <https://www.arb-silva.de/browser/ssu-138.1/KJ094999>).

Alem:	Bacteria
Filum:	Firmicutes
Sınıf:	Bacilli
Ordo:	Bacillales
Familya:	Bacillaceae
Cins:	<i>Anoxybacillus</i>
Tür:	<i>Anoxybacillus mongoliensis</i>

3.1.2. *Bacillus cereus*

Çalışmamızda diğer bir termotolerant bakteri izolatu olan *B. cereus* kullanılmıştır. Bu bakterinin sınıflandırma basamakları da Çizelge 3.2'deki gibidir.

Çizelge 3.2 : *B. cereus*'un sistematik sınıflandırması
(Bilim etiği. (t.y.) Erişim: 20 Nisan 2021, <https://www.arb-silva.de/browser/ssu-138.1/KJ434789>).

Alem:	Bacteria
Filum:	Firmicutes
Sınıf:	Bacilli
Ordo:	Bacillales
Familya:	Bacillaceae
Cins:	<i>Bacillus</i>
Tür:	<i>Bacillus cereus</i>

3.2. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanışı

Test edilen her iki termotolerant bakteri türünün (*A. mongoliensis* ve *B. cereus*) NA plaklarında üretilmiş stok kültürlerinden örnek alınarak sıvı besiyeri olan Nütrient Broth (NB) ortamlarına steril koşullarda transfer edilmiştir. Daha sonra 40 °C'de ve 150 rpm çalkalama hızında 24 saat inkübe edilerek saf sıvı bakteri kültürleri elde edilmiştir.

3.3. Gümüş Nanopartikül Üretim Yönteminin Belirlenmesi

Öncelikle optimum üretim yönteminin belirlenmesi için yapılan ön çalışmalarda 4 farklı yöntem test edilmiştir.

Birinci yöntemde; 250 mL'lik erlenlerde hazırlanan bakteri kültürleri 6000 rpm ve 10 dakika boyunca santrifüjlenerek bakteri peletleri ve süpernatantlar birbirinden ayrılmıştır. Peletlerin üzerine steril distile su pipetlenerek peletler distile su içerisinde çözdürülmüştür. Hazırlanan stok AgNO_3 çözeltisi (10 mL ve 10 mM) 90 mL pelet çözeltisi üzerine eklenerek toplamda 100 mL'lik ve 1 mM AgNO_3 içeren karışım elde edilmiştir. Bu karışım 40 °C, 150 rpm'de ve ışıklı ortamda 24 saat inkübe edilmiş ancak 24 saat sonunda herhangi bir renk değişimi gözlemlenmemiş ve spektrofotometrede yapılan ölçümlerde de SPR'ye bağlı herhangi bir absorpsiyon piki elde edilememiştir.

İkinci yöntemde; birinci yönteme benzer şekilde 250 mL hacimli erlenlerde hazırlanan *A. mongoliensis* ve *B. cereus* sıvı kültürleri daha önce belirlenen rpm ve sürede ayrı ayrı santrifüjlenerek peletler ve süpernatantlar elde edilmiştir. Bu işlemden sonra peletler üzerine yine steril distile su eklenerek toplam 100 mL hacminde pelet çözeltileri hazırlanmıştır. Bu işlemin ardından 3 gün boyunca 40 °C ve 150 rpm'de inkübe edilmiş, inkübasyon sonrası çözeltiler plastik tüplere transfer edilerek 6000 rpm ve 10 dakika boyunca santrifüj edilmiş daha sonra peletler uzaklaştırılarak elde edilen süpernatantlar (80'er mL) erlenlere aktarılmıştır. Erlenlere transfer edilen süpernatantlar üzerine de 20'er mL ve 5 mM stok AgNO_3 çözeltileri eklenerek toplamda 100 mL'lik ve 1 mM AgNO_3 içeren karışımlar elde edilmiştir. Bu karışımlar ışıklı ortamda 40 °C, 150 rpm, 24 saat boyunca inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrasında çözelti renginin sarıdan koyu kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Daha sonra bu çözeltilerden örnekler de alınmış ve oluşan AgNP'lerin SPR'lerine bağlı spektrofotometrik absorpsiyon piklerinin oluştuğu saptanmıştır.

Üçüncü yöntemde de bakteri kültürleri diğer iki yöntemle aynı koşullarda santrifüjlenmiş ve bakteri peletleri ile süpernatantlar birbirinden ayrılmıştır. Elde edilen peletler steril distile su ilavesi ile çözdürülmüştür. Bu işlemin ardından ultrasonifikasyon işlemine tabi tutulan toplam 100 mL hacmindeki pelet çözeltileri 3 gün boyunca 40 °C ve 150 rpm'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında çözeltiler plastik tüplere transfer edilmiş ve önceden belirlenmiş rpm ve sürede santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen 80'er mL hacmindeki süpernatantlar erlenlere transfer edilerek

üzerlerine 20'şer mL ve 5 mM AgNO₃ çözeltisi eklenmiş ve toplamda 100 mL'lik ve 1 mM AgNO₃ içeren karışımlar elde edilmiştir. Bu karışımlar ışıklı ortamda 24 saat boyunca 40 °C, 150 rpm'de inkübe edilmiş ve çözeltinin başlangıç rengi olan sarıdan kahverengiye doğru bir renk dönüşümünün gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu gözleme ilaveten yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda çözeltide oluşan AgNP'lerin SPR'lerine bağlı olarak absorpsiyon pikleri de tespit edilmiştir.

Dördüncü yöntemde ise; hazırlanan bakteri kültürleri daha önce belirlenen rpm ve sürede santrifüjlenmiş ve bu işlem sonrasında pelet ve süpernatantlar birbirinden ayrılmıştır. Elde edilen süpernatantlar 40 °C ve 150 rpm'de 3 gün boyunca inkübe edilmiş ve 80'er mL hacmindeki süpernatantlar erlenlere transfer edilmiştir. Bu süpernatantlara 20'şer mL ve 5 mM AgNO₃ çözeltisi eklenerek toplamda 100 mL'lik ve 1 mM AgNO₃ içeren karışımlar elde edilmiştir. Bu karışımlar ışıklı ortamda 24 saat boyunca 150 rpm'de ve 40 °C inkübe edilmiş ancak inkübasyon sonunda herhangi bir renk değişimi gözlemlenmediği gibi spektrofotometrik ölçümlerde de anlamlı absorpsiyon pikleri saptanamamıştır.

Sonuç olarak; yapılan çalışmalara göre 1. ve 4. yöntemlerde AgNP üretiminin gerçekleşmediği, 2. ve 3. yöntemlerde ise AgNP üretiminin gerçekleştiği saptanmıştır. Ancak AgNP üretimine yönelik çalışmalar için yöntem kolaylığı açısından 2. yöntem tercih edilmiştir.

3.4. A. mongoliensis ve B. cereus Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde Süre Optimizasyonu

AgNP üretiminde optimum sürenin belirlenmesi ve belirlenen sürenin AgNP üretimine etkisini saptamak amacıyla ayrı ayrı ve üçer tekrarlı olacak şekilde içerisinde *A. mongoliensis* veya *B. cereus* süpernatantları ve son konsantrasyonda 1 mM AgNO₃ bulunan 100 mL'lik çözeltiler hazırlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda; hazırlanan çözeltiler inkübasyon sıcaklıkları 40 °C olacak şekilde ayarlanmış çalkalamalı inkübatörde 2, 4, 6, 12 ve 24 saat boyunca 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilmiştir. Test edilen zaman dilimlerinde çözeltilerden 2.5'er mL örnekler alınarak üretilen AgNP'lerin 300-800 nm dalga boyu arasındaki absorpsiyon pikleri spektrofotometrik tarama ile saptanmıştır.

3.5. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde Sıcaklık Optimizasyonu

A. mongoliensis veya *B. cereus* süpernatantları ile AgNO₃ çözeltisinin inkübasyonu sonucunda oluşan AgNP'lerin üretiminde optimum sıcaklığın saptanması ve bu sıcaklığın AgNP üretimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla içerisinde 1 mM AgNO₃ çözeltisi ve test edilen bakteri türlerinin ayrı ayrı süpernatantları bulunan 100'er mL'lik çözeltiler hazırlanmıştır.

Sıcaklık AgNP üretiminde önemli bir parametre olup, çalışmalarda kullanılan bakteri izolatlarının termotolerant olmaları nedeniyle AgNP üretiminde inkübasyon sıcaklık aralığı olarak 40 °C, 50 °C ve 60 °C test edilmiştir.

Hazırlanan çözeltiler belirlenen inkübasyon sıcaklıklarına ayarlanmış çalkalamalı inkübatörlerde 6 saat boyunca ve 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda çözeltilerden 2.5'er mL örnekler alınarak, üretilen AgNP'lerin SPR'lerine bağlı olarak 300-800 nm dalga boyu aralığında oluşan absorbans pikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

3.6. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretiminde pH Optimizasyonu

Bu çalışmada en yüksek AgNP sentezinin gerçekleştiği pH değerini belirlemek amacıyla ayrı ayrı ve üçer tekrarlı olacak şekilde 1 mM AgNO₃ çözeltisi ile *A. mongoliensis* veya *B. cereus* süpernatantları son hacim 100 mL ve ortam pH değerleri 5.0-10.0 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Buna göre; test edilen pH değerlerinin belirlenmesinde 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl çözeltileri kullanılarak AgNP üretim ortamlarının pH değerleri pH metre (Hanna HI2002-02 Edge) aracılığıyla pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 ve 10.0'a ayarlanmıştır. Bu işlemten sonra farklı pH değerlerine ayarlanmış 100 mL hacmindeki çözeltiler optimum inkübasyon sıcaklığı olarak belirlenen 40 °C ve 150 rpm'e ayarlanmış çalkalamalı etüvde inkübe edilmiştir. Daha önce optimum süre olarak belirlenen 6. saat sonunda çözeltilerden 2.5'er mL örnekler alınmış ve elde edilen AgNP'lere bağlı oluşan absorbans pikleri 300-800 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Buna göre; yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda maksimum seviyede üretilmiş olan AgNP'lerin SPR'lerine bağlı olarak yaklaşık 400-500 nm dalga boyları arasında oluşan karakteristik absorpsiyon pikleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu işlemler sonrasında maksimum oranda AgNP içeren çözeltilerin sıvı kısımları santrifüj işlemi ile uzaklaştırılmış ve nemli durumdaki AgNP'ler uygun sıcaklık (40 °C) ve sürede (24 saat) inkübatörde kurutulmuştur.

Sonuç olarak, kurutma işleminin ardından *A. mongoliensis* ve *B. cereus*'a ait AgNP'ler toz formda elde edilmiştir.

3.7. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Oluşturulan Gümüş Nanopartiküllerin Dispersiyonu

A. mongoliensis ve *B. cereus* süpernatantlarıyla üretilen ve kurutma işleminin ardından toz formda elde edilen AgNP'lerin dispersiyonu için öncelikle toz formdaki AgNP'ler eppendorf tüplerine transfer edilmiş ardından bu AgNP'lerin üzerine 1'er mL distile su eklenmiştir. Daha sonra AgNP'lerin dispers hale gelmesi için bu tüpler 1 saat süreyle ultrasonik su banyosuna (Elmasonic P60H, Almanya) yerleştirilmiştir.

3.8. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.8.1. Gümüş nanopartiküllerin kristal yapı analizi

AgNP'lerin kristal yapısının analizi XRD tekniği ile İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı ile yapılmıştır.

3.8.2. Gümüş nanopartiküllerin boyut ve şekillerinin analizi

AgNP'lerin boyut ve şekillerinin belirlenmesi Yüksek Çözünürlüklü Transmisyon Elektron Mikroskobu (RTEM) kullanılarak Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı'nda hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.8.3. Gümüş nanopartiküllerin FTIR analizi

AgNP'lerin FTIR analizleri İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı ile yapılmıştır.

3.8.4. Gümüş nanopartiküllerin SEM ve EDX analizi

AgNP'lerin SEM ve EDX analizi İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı ile yapılmıştır.

3.9. Antimikrobiyal Aktivitenin Saptanması

Çalışmada antimikrobiyal aktivite Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) yöntemi ile belirlenmiş olup, antimikrobiyal aktivitenin saptanması için *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakteri türleri ve *Candida albicans* ATCC 90028 maya türü kullanılmıştır. Yapılan çalışmada mikroorganizma yoğunlukları McFarland standardına bağlı olarak ayarlanmış olup, MİK uygulamasında mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve çalışmalar 96 kuyucuklu platelerde yürütülmüştür. Test edilen maya ve bakteriler için uygun besiyeri içeren kuyucuklara stok AgNP çözeltisinden eklenerek seri sulandırılmalar yapılmış ve ortamlara hazırlanmış olan mikroorganizma kültürleri eklenmiştir. Bu işlemin ardından bakteri ve maya içeren plateler 37 °C'de ve sırasıyla 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. Üremeyi inhibe eden en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlenmiştir (Apoohan ve diğ, 2017; Tatlıcı, 2019).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

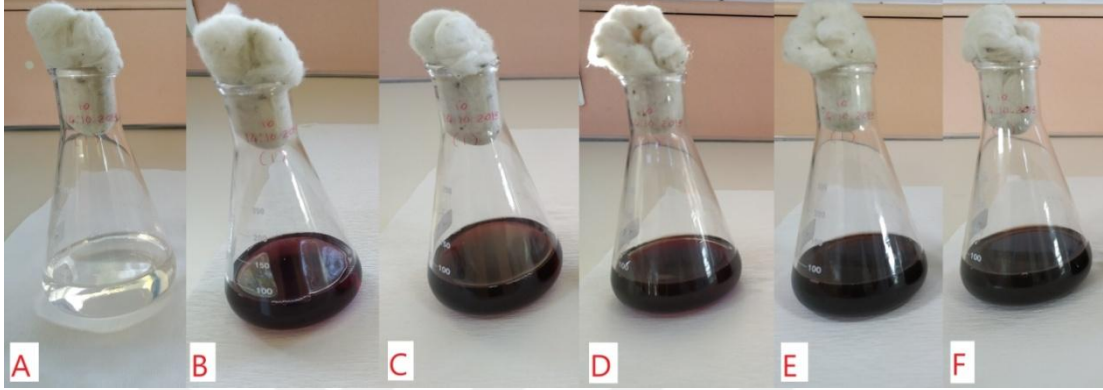
Test edilen bakteri türlerinin AgNP üretimine yönelik çalışmalara başlamadan önce yapılan ön çalışmalarla *A. mongoliensis* ve *B. cereus*'un AgNP üretim yetenekleri saptanmış ve daha sonra tez çalışmalarına başlanmıştır. Buna göre; yapılan çalışmalar sonucunda kullanılan bakteri türlerinin AgNP üretim kapasitelerinin çeşitli parametreler ve inkübasyon koşullarına göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle AgNP üretim çalışmalarında, farklı üretim süreleri, ortam pH'ları ve inkübasyon sıcaklıklarının AgNP üretim verimi üzerine etkileri araştırılarak tespit edilen optimum koşullarda *A. mongoliensis* ve *B. cereus*'un AgNP üretim yetenekleri en üst seviyeye çıkarılmıştır. Bu çalışmalardan sonra maksimum seviyede üretilen AgNP'ler toz formda elde edilmiş olup, bu AgNP'lerin dispersiyonları, antimikrobiyal aktiviteleri ve ayrıca karakterizasyon çalışmaları yapılarak kimyasal ve moleküler özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir.

4.1. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine İnkübasyon Süresinin Etkisi

Çalışmalarda kullanılan ve Gram pozitif termotolerant bir bakteri izolatı olan *A. mongoliensis* süpernatantlarının bulunduğu çözeltilerdeki en verimli AgNP üretimi 6. saat gibi kısa bir inkübasyon süresinde gerçekleşmiştir. Bu sürede üretimin gerçekleştiği koşullarda inkübasyon sıcaklığı 40 °C, pH 6.0 ve çalkalama hızı da 150 rpm olarak ayarlanmıştır. Bu koşullarda 6 saatlik inkübasyon sonucunda elde edilen AgNP'lerin SPR'lerine bağlı absorpsiyon değeri 458 nm'de 1.395 OD olarak tespit edilmiştir.

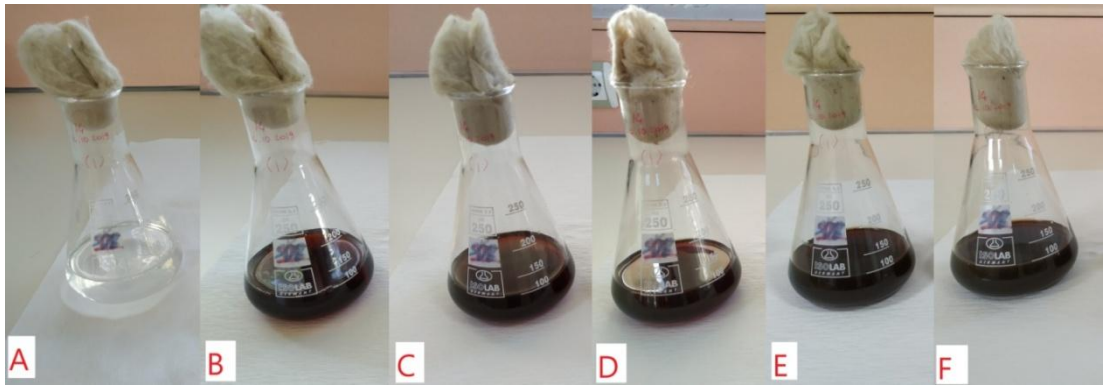
Yine termotolerant ve gram pozitif bakteri türü olan *B. cereus*'un süpernatantının bulunduğu çözeltilerde de en verimli AgNP üretimi 6. saat sonunda gerçekleşmiştir. Bu zaman diliminde AgNP üretiminin gerçekleştiği koşullarda ortam pH'sı 9.0, çalkalama hızı 150 rpm ve inkübasyon sıcaklığı 40 °C olarak ayarlanmıştır. Bu üretim koşullarında 6 saatlik inkübasyon sonucunda üretilen AgNP'lerin SPR'lerine bağlı spektrofotometrik absorpsiyon değeri 448 nm'de 2.451 OD olarak belirlenmiştir.

İnkübasyon süresi üretim verimi açısından önemli bir parametre olduğundan çalışmalarda kullanılan bakteri süpernatantları, 1 mM AgNO₃ ile farklı zaman dilimlerinde (2, 4, 6, 12 ve 24 saat) inkübe edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, *A. mongoliensis* süpernatantı için 2. saat sonunda 468 nm’de 0.781 OD, 4. saat sonunda 461 nm’de 1.179 OD, 6. saat sonunda 458 nm’de 1.395 OD gibi zamana bağlı artan absorbans değerleri ve koyu kahve renkli çözeltiler elde edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 : *A. mongoliensis* süpernatantının 1mM AgNO₃ ile başlangıç (A), 2 (B), 4 (C), 6 (D), 12 (E) ve 24 (F) saat inkübasyonu sonunda çözeltide gerçekleşen renk değişimleri.

B. cereus süpernatantı için de inkübasyonun 2. saatinin sonunda 445 nm’de 1.322 OD, 4. saatinin sonunda 448 nm’de 1.954 OD, 6. saatinin sonunda da 448 nm’de 2.451 OD gibi zamana bağlı artan absorbans değerleri ve koyu kahve renkli çözeltiler elde edilmiştir (Şekil 4.2).



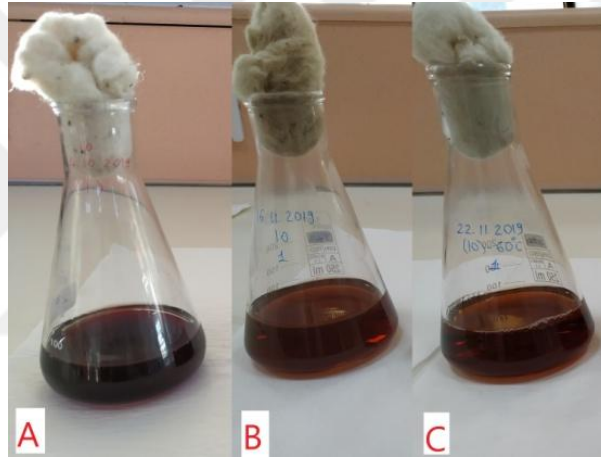
Şekil 4.2 : *B. cereus* süpernatantının 1mM AgNO₃ ile başlangıç (A), 2 (B), 4 (C), 6 (D), 12 (E) ve 24 (F) saat inkübasyonu sonunda gerçekleşen renk değişimleri.

Şekil 4.1 ve 4.2’de görüldüğü gibi her iki bakteri türü için de test edilen 12. ve 24. saatlerde ortaya çıkan çözeltilerin rengine ve ayrıca ölçülen absorbans değerlerinde de 6.

saate kıyasla belirgin bir değişiklik gerçekleşmemiştir. Bu nedenle her iki bakteri için de en verimli ve en yüksek üretim zamanının 6. saat sonunda gerçekleştiği anlaşılmıştır.

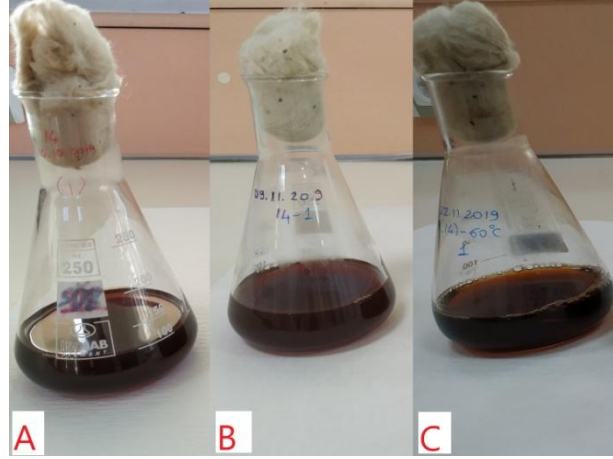
4.2. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının Etkisi

Çalışmalarda kullanılan bakteri süpernatantlarının AgNP üretim verimleri 40 °C, 50 °C ve 60 °C’de test edilmiş olup, içerisinde *A. mongoliensis* süpernatantı bulunan çözeltilerin diğer sıcaklık derecelerine kıyasla 40 °C’de inkübasyonu daha koyu bir renk değişimine neden olmuştur (Şekil 4.3). Ayrıca yapılan spektrofotometrik ölçümlerde elde edilen absorbens değerleri; 40 °C’de 1,289 OD (492 nm), 50 °C’de 1,254 OD (476 nm) ve 60 °C’de 0,876 OD (456 nm)’dir.



Şekil 4.3 : *A. mongoliensis* süpernatantının 1mM AgNO₃ ile 40 °C (A), 50 °C (B) ve 60 °C (C)’de inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.

Benzer şekilde içerisinde *B. cereus* süpernatantı bulunan çözeltilerin diğer sıcaklık derecelerine kıyasla 40 °C’de inkübasyonu sonucu daha koyu renkli çözeltiler elde edilmiştir (Şekil 4.4). Yapılan spektrofotometrik ölçümlerde elde edilen absorbens değerleri; 40 °C’de 2,451 OD (448 nm), 50 °C’de 2,328 OD (506 nm) ve 60 °C’de 2,036 OD (461 nm)’dir.



Şekil 4.4 : *B. cereus* süpernatantının 1mM AgNO₃ ile 40 °C (A), 50 °C (B) ve 60 °C (C)'de inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.

Bu sonuçlara göre; her iki bakteri süpernatanı için de en koyu renkli çözeltilerin oluşumuna bağlı olarak maksimum AgNP üretiminin gerçekleştiği sıcaklık derecesinin 40 °C olduğu belirlenmiştir.

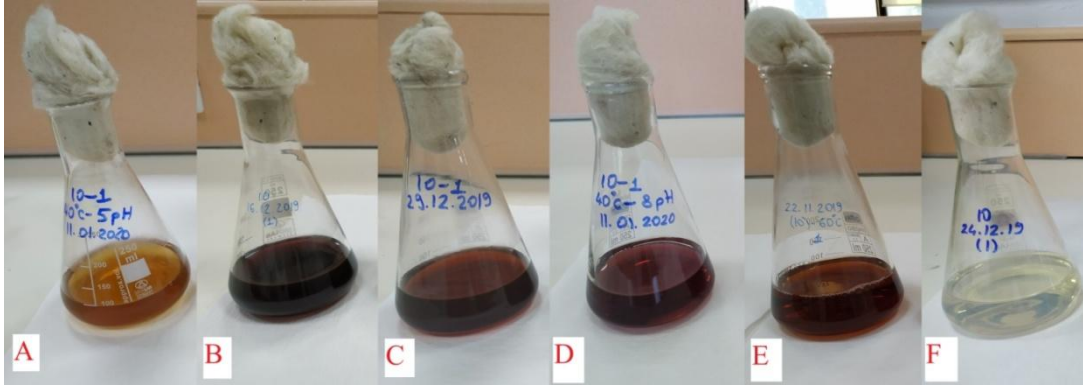
4.3. *A. mongoliensis* ve *B. cereus* Süpernatantları ile Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Farklı pH'ların Etkisi

A. mongoliensis ve *B. cereus* süpernatantlarının AgNP üretimi üzerine farklı ortam pH'larının etkisini araştırmak amacıyla öncelikle her iki bakteri türünün süpernatant çözeltileri farklı pH'lara (pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 ve 10.0) ayarlanmış ve bu çözeltilere son konsantrasyonda 1 mM olacak şekilde AgNO₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Bu işlem sonrası çözeltilerin daha önce belirlenen optimum süre ve sıcaklıkta inkübasyonu sonucunda oluşan renk değişimleri gözlemlenmiş ve ardından spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır.

Buna göre; yapılan gözlemler sonucunda pH 6.0'ya ayarlanan *A. mongoliensis* süpernatant çözeltisinin diğer pH'lara ayarlanmış *A. mongoliensis* süpernatant çözeltilerine kıyasla daha koyu bir renge dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.5).

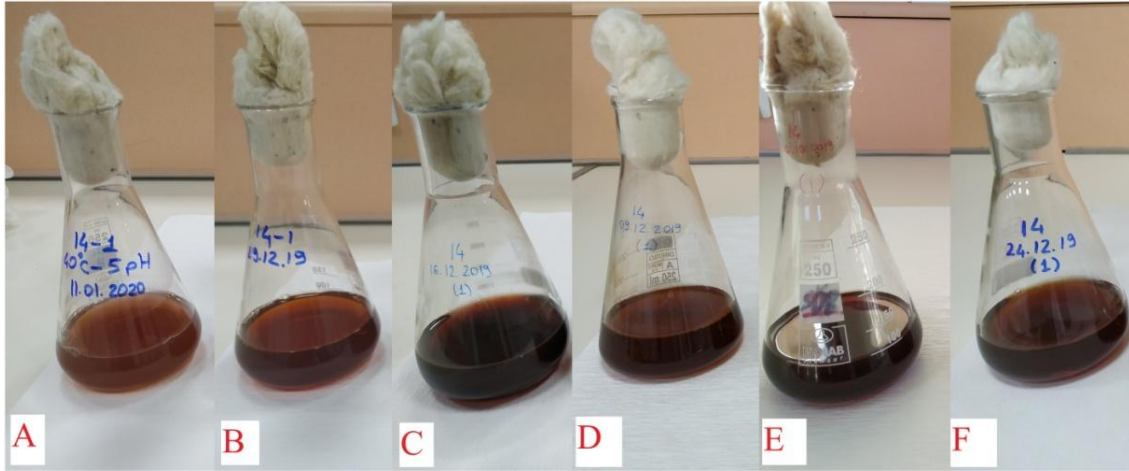
Farklı pH'lara ayarlanmış çözeltilerin spektrofotometrik ölçümlerinde saptanan absorpsiyon değerleri; pH 9.0 için 492 nm'de 1,289 OD, pH 8.0 için 489 nm'de 1,300 OD, pH 7.0 için 510 nm'de 1,342 OD, pH 6.0 için 458 nm'de 1,395 OD, pH 5.0 için 389 nm'de 0,628 OD'dir. Çözeltinin pH'sı 10.0'a ayarlandığında ise belirgin bir renk dönüşümü gözlemlenmemiş (Şekil 4.5) ve dolayısıyla spektrofotometrik ölçümlerde de SPR'ye bağlı herhangi bir absorpsiyon piki elde edilememiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda *A.*

mongoliensis süpernatanı ile AgNP üretimi için optimum pH değeri 6.0 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 : Farklı pH'lara (pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D), pH 9.0 (E), pH 10.0 (F)) ayarlanmış *A. mongoliensis* süpernatantlarının 1mM AgNO₃ ile inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.

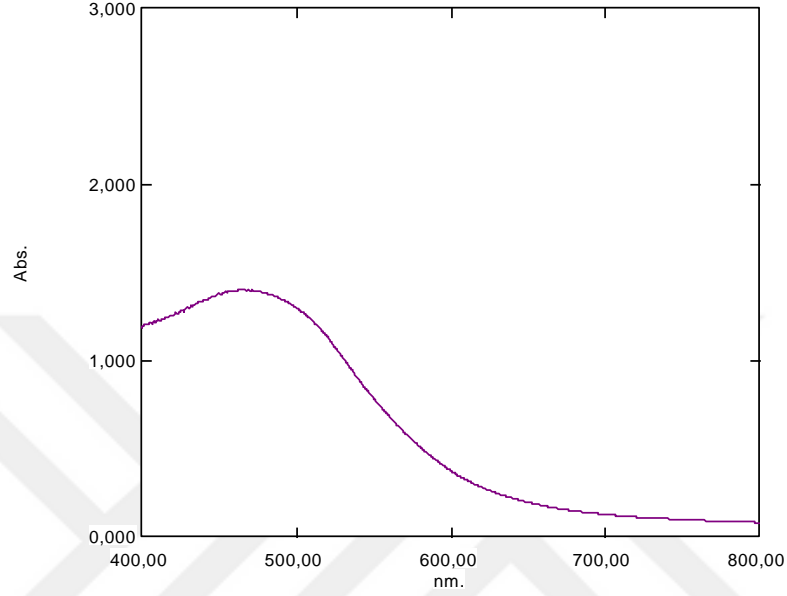
Farklı pH'lara ayarlanan *B. cereus* süpernatant çözeltilerinin 1 mM AgNO₃ ile inkübasyonu sonucunda ise pH 9.0'a ayarlanmış çözeltilerin diğer pH'lara ayarlanmış *B. cereus* süpernatant çözeltilerine kıyasla daha koyu bir renge dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).



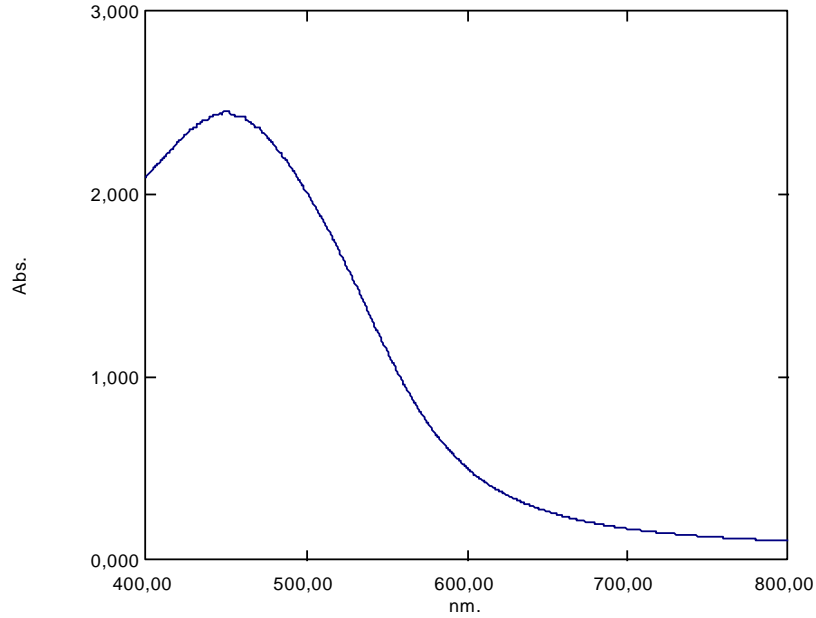
Şekil 4.6 : Farklı pH'lara (pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D), pH 9.0 (E), pH 10.0 (F)) ayarlanmış *B. cereus* süpernatantlarının 1mM AgNO₃ ile inkübasyonu sonucunda gerçekleşen renk değişimleri.

Spektrofotometrik ölçümlere göre elde edilen absorbanans değerleri; pH 10.0 için 460 nm'de 1,574 OD, pH 9.0 için 448 nm'de 2,451 OD, pH 8.0 için 470'de 2,161 OD, pH 7.0 için 461 nm'de 2,000 OD, pH 6.0 için 444 nm'de 1,594 OD, pH 5.0 için 392 nm'de 1,073 OD'dir. Bu sonuçlar doğrultusunda *B. cereus* süpernatantı ile AgNP üretimi için optimum pH değeri 9.0 olarak saptanmıştır.

Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de test edilen iki bakteri türünün süpernatantları ile elde edilen AgNP’lerin SPR’lerine bağlı olarak yaklaşık 400-500 nm dalga boyları arasında verdiği karakteristik absorpsiyon pikleri spektrofotometrik olarak gösterilmiştir. Yapılan bu analizler optimum koşullarda yüksek miktarda AgNP oluşumunun gerçekleştiğini desteklemektedir.



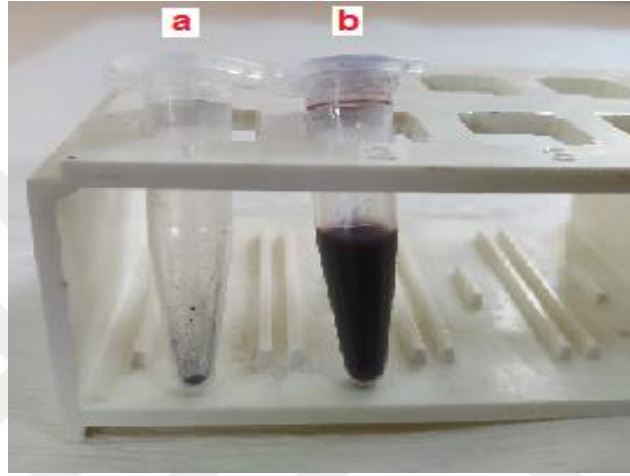
Şekil 4.7 : *A. mongoliensis* süpernatantı ile 1mM AgNO₃’ün pH 6.0’da, 40 °C’de 6 saat inkübasyonu sonucu oluşan AgNP’lerin 458 nm’deki maksimum absorpsiyon piki.



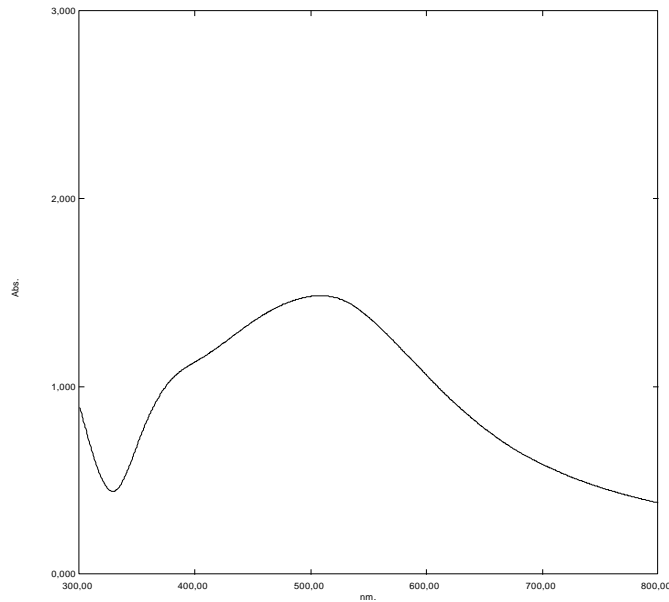
Şekil 4.8 : *B. cereus* süpernatantı ile 1mM AgNO₃’ün pH 9.0’da, 40 °C’de 6 saat inkübasyonu sonucu oluşan AgNP’lerin 448 nm’deki maksimum absorpsiyon piki.

Yukarıda bahsedilen ön analizlerden sonra yapılan santrifüj işlemi ile test edilen her iki bakteri süpernatanı ile oluşturulan AgNP'ler uygun sıcaklık ve sürede (40 °C, 24 saat) kurutulmuştur.

A. mongoliensis süpernatanıyla üretilen ve kurutma işleminin ardından toz formda elde edilen AgNP'ler 1 saat ultrasonik su banyosunda bekletilerek yeterli dispersiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği hem makroskobik (Şekil 4.9) hem de spektroskopik (Şekil 4.10) olarak incelenmiş ve uygulama için yeterli dispersiyonunun gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

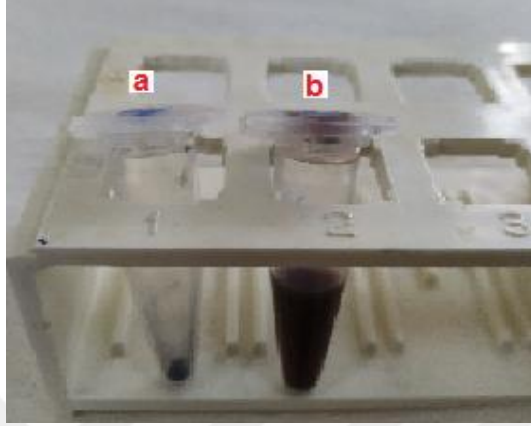


Şekil 4.9 : *A. mongoliensis* süpernatanıyla üretilen toz formda (a) ve çözülmüş AgNP'lerin (b) eppendorf tüpler içerisindeki görüntüsü.

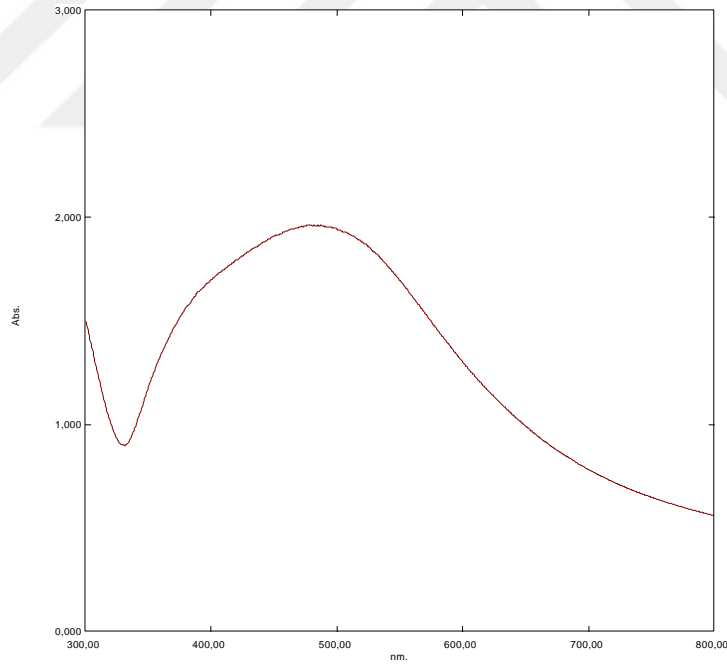


Şekil 4.10 : *A. mongoliensis* süpernatanıyla üretilen ve dispers edilerek hazırlanan AgNP çözeltisinin 12 kat sulandırım yapıldıktan sonra spektrofotometrik tarama ile 510 nm dalga boyunda saptanan maksimum absorpsiyon piki.

Benzer şekilde *B. cereus* süpernatanı kullanılarak üretilen ve yapılan kurutma işleminin sonrasında toz formda elde edilen AgNP'ler de 1 saat boyunca ultrasonik su banyosunda bekletilerek yeterli dispersiyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği hem makroskobik (Şekil 4.11) hem de spektroskopik (Şekil 4.12) olarak incelenmiş ve yine uygulama için yeterli dispersiyonun olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.11: *B. cereus* süpernatanıyla üretilen toz formda (a) ve çözülmüş AgNP'lerin (b) ependorf tüpler içerisindeki görüntüsü.

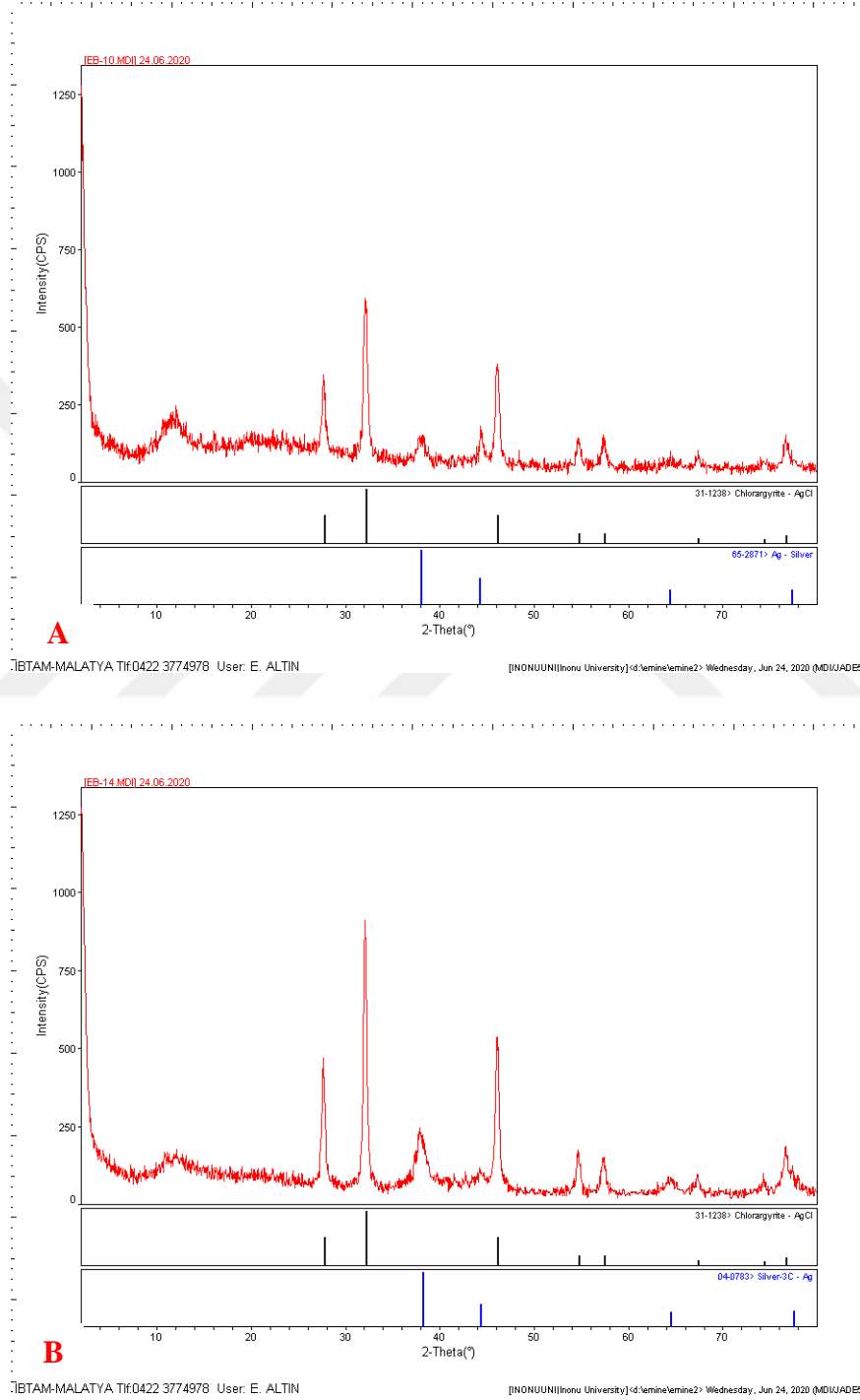


Şekil 4.12: *B. cereus* süpernatanıyla üretilen ve dispers edilerek hazırlanan AgNP çözeltisinin 5 kat sulandırım yapıldıktan sonra spektrofotometrik tarama ile 478 nm dalga boyunda saptanan maksimum absorpsiyon piki.

4.4. Gümüş nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları

4.4.1. Gümüş nanopartiküllerin XRD analizleri

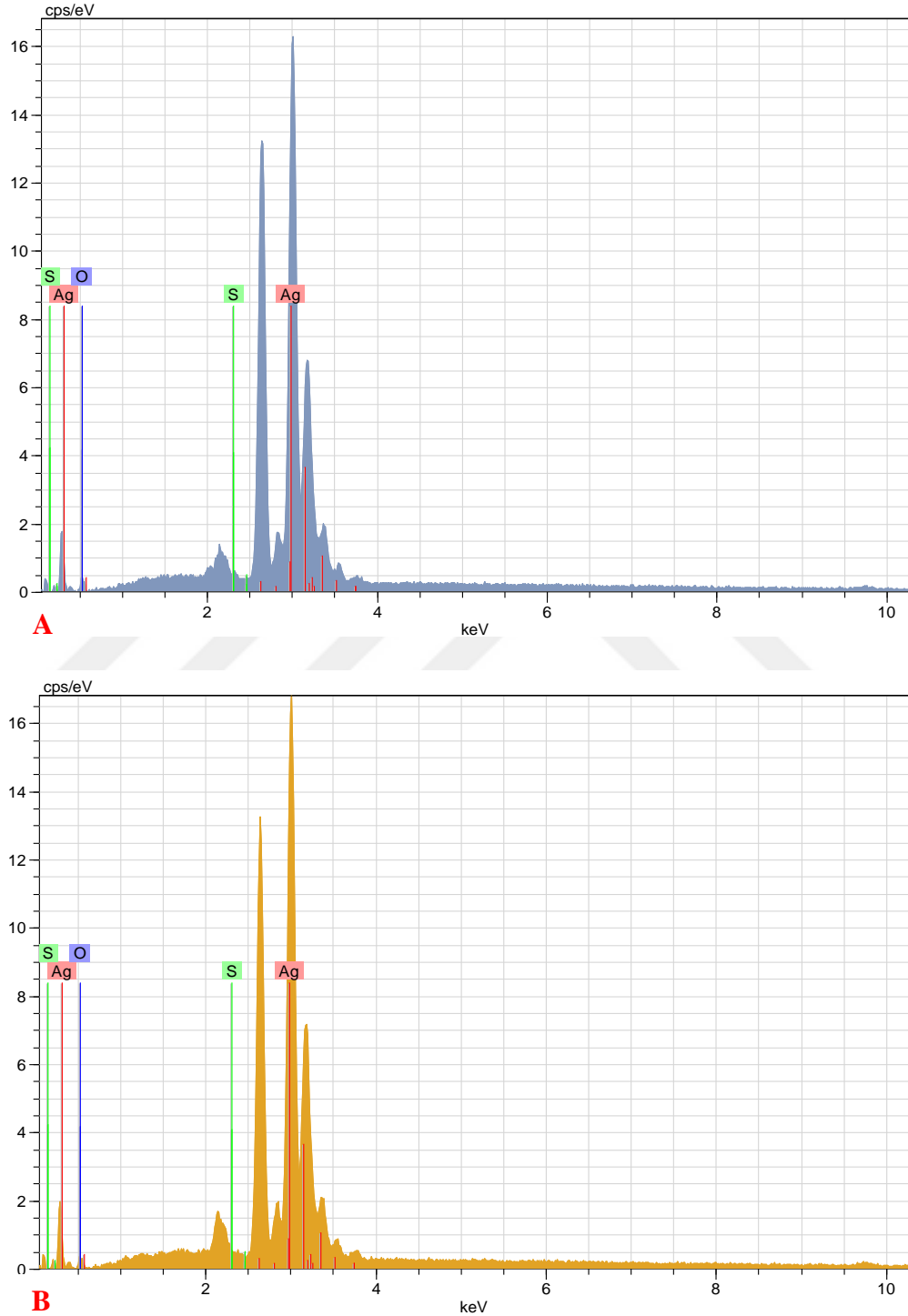
Gerçekleştirilen XRD analizleri her iki bakteri türünün süpernatanı ile sentezlenmiş AgNP'lerin kristal yapıda olduğunu göstermektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: *A. mongoliensis* (A) ve *B. cereus* (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin XRD grafikleri.

4.4.2. Gümüş nanopartiküllerin EDX analizleri

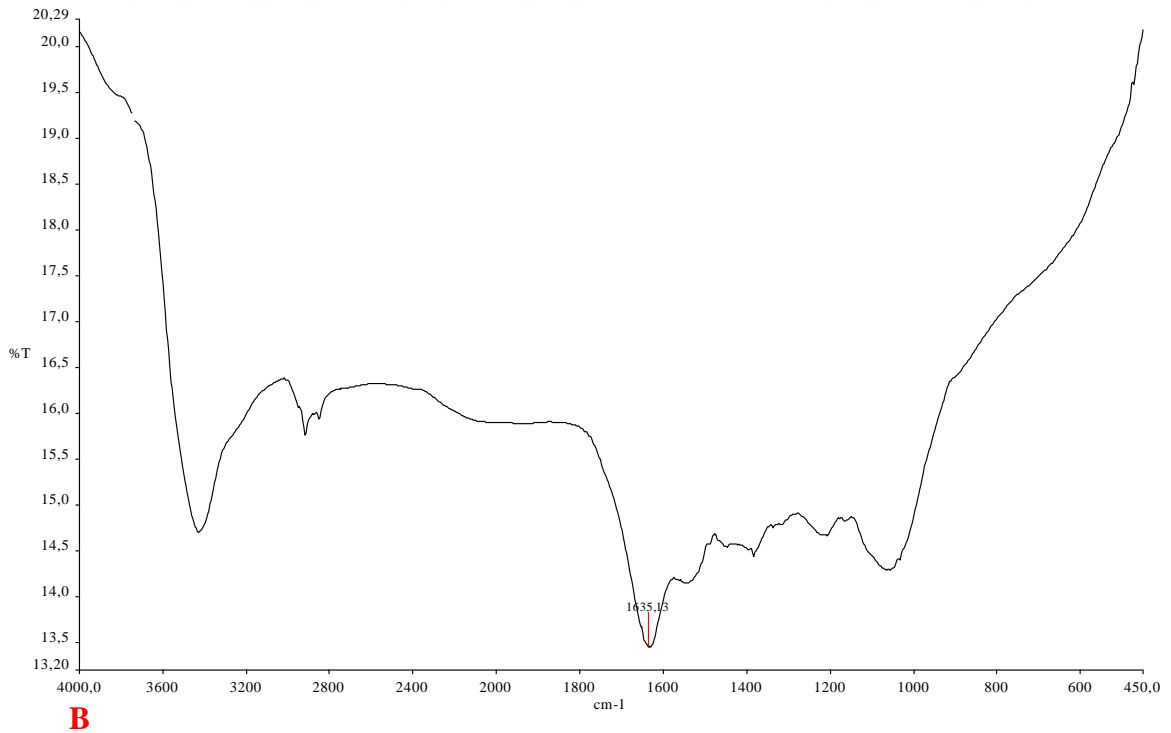
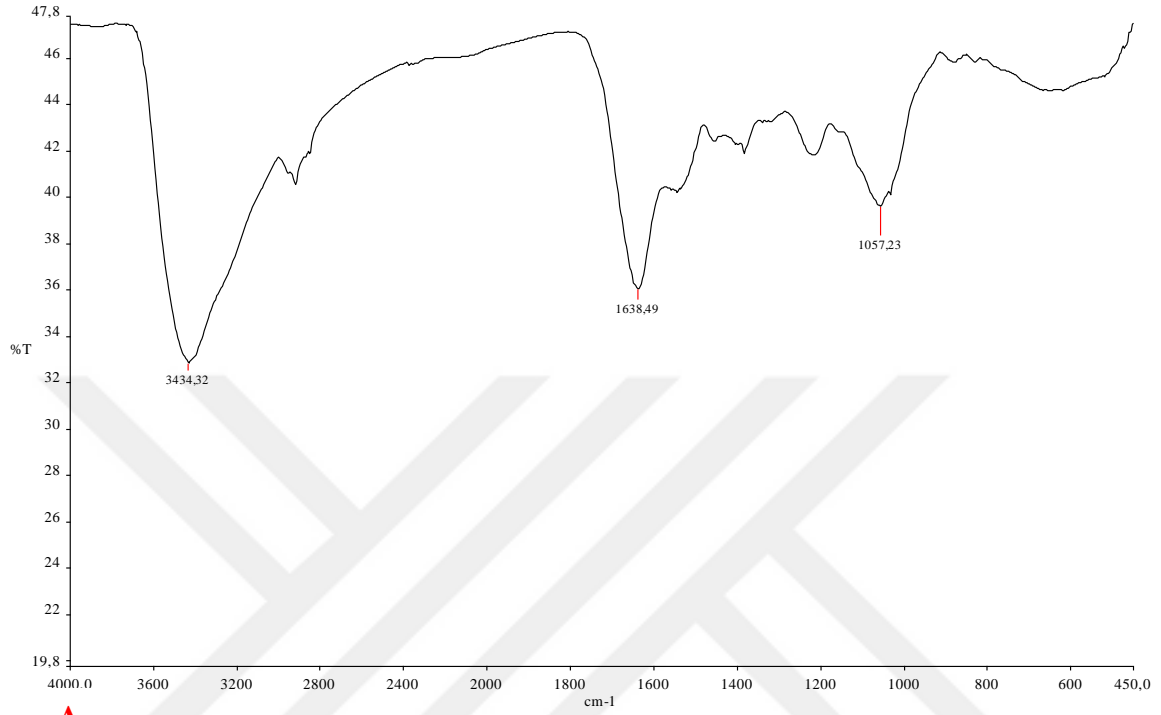
Yapılan EDX analizleri test edilen her iki bakteri türünün süpernatanı ile üretilen AgNP'lerde %93'ün üzerinde gümüş elementinin olduğunu göstermiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: *A. mongoliensis* (A) ve *B. cereus* (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin EDX grafikleri.

4.4.3. Gümüş nanopartiküllerin FTIR analizleri

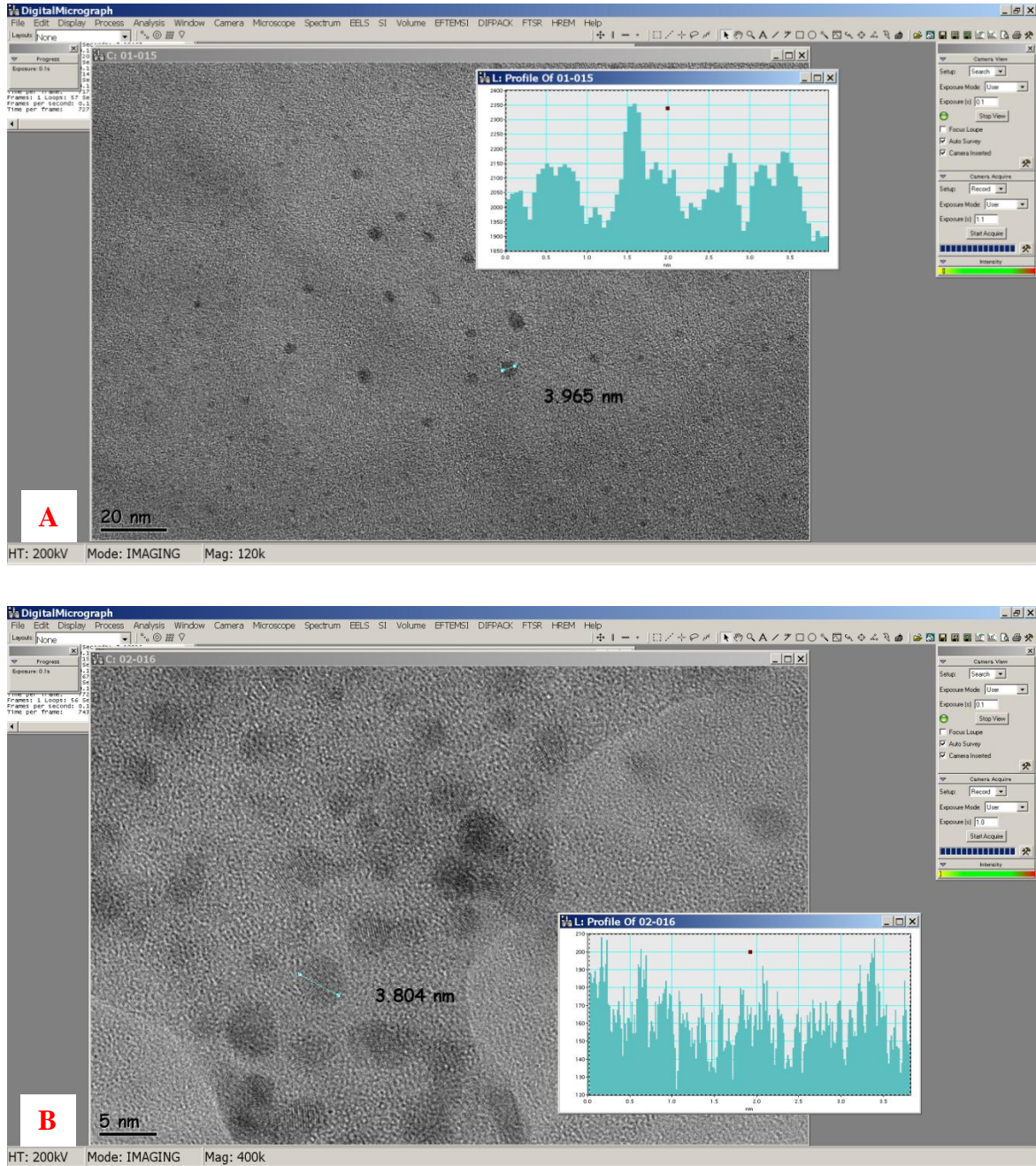
Gerçekleştirilen FTIR analizleri her iki bakterinin süpernatantlarıyla üretilen NP'lerin çevresinde organik bileşenler olduğunu göstermektedir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: *A. mongoliensis* (A) ve *B. cereus* (B) süpernatantlarıyla üretilen AgNP'lerin FTIR spektrumları.

4.4.4. Gümüş nanopartiküllerin RTEM analizleri

Gerçekleştirilen RTEM analizleri sonucunda, *A. mongoliensis* süpernataniyla üretilen AgNP'lerin boyutlarının yaklaşık 3.97 nm, *B. cereus* süpernataniyla üretilen AgNP'lerin boyutlarının ise yaklaşık 3.80 nm olduğu saptanmıştır. Ayrıca yapılan RTEM analizleri her iki bakteri süpernataniyla üretilen AgNP'lerin genelde küresel yapıda olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.16).



Şekil 4.16: *A. mongoliensis* (A) ve *B. cereus* (B) süpernatanlarıyla üretilen AgNP'lerin RTEM görüntüleri.

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Yapılan MİK çalışmaları sentezlenen AgNP'lerin hem *E. coli* (Gr- bakteri) üzerine hem de *C. albicans* (maya) üzerine antimikrobiyal etkileri olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte AgNP'lerin *S. aureus* (Gr+ bakteri) üzerine antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

A. mongoliensis süpernatanı ile sentezlenen AgNP'lerin *E. coli* ve *C. albicans* üzerine MİK değeri 62.5 µg/mL olarak saptanmış olup, *B. cereus* süpernatanı ile sentezlenen AgNP'lerin *E. coli* üzerine MİK değeri 31.25 µg/mL olarak belirlenirken, bu değer *C. albicans* için 62.5 µg/mL olarak tespit edilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİ

AgNP'ler fiziksel, kimyasal ve biyolojik (yeşil sentez) yöntemlerle sentezlenebilirler. Ancak fiziksel ve kimyasal yöntemlerin çeşitli dezavantajlara sahip olması, araştırmacıların biyolojik yöntemlerle AgNP üretimini daha çok tercih etmesine neden olmuştur. Yeşil sentezle AgNP üretiminin basit, ekonomik ve çevre dostu olması gibi pek çok avantajı bulunmaktadır.

Buna göre; bu tez çalışmasında, iki farklı termotolerant bakteri türü olan *Anoxybacillus mongoliensis* ve *Bacillus cereus*'un çeşitli inkübasyon koşullarındaki AgNP üretim yetenekleri araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda öncelikle test edilen bakteri türlerinin sıvı kültürlerinden elde edilen süpernatantlar AgNP üretiminde kullanılmış ve üretim sonucu oluşan AgNP'lerin SPR'lerine bağlı olarak çözeltilerde gerçekleşen renk değişimleri ve ölçülen spektroskopik absorpsiyon pikleri saptanmıştır. Bu işlemlerden elde edilen bulgular AgNP varlığının kanıtı yönündedir. Bu çalışmalardan sonra farklı inkübasyon süreleri, inkübasyon sıcaklıkları ve pH'lar ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarına başlanmıştır ve her bakteri türüne özgü optimum AgNP üretim koşulları tespit edilmiştir. Daha sonra hem makroskobik gözlemler hem de spektroskopik ölçümler sonucunda her iki bakteri süpernatantı ile üretilen AgNP'lerin yeterli dispersiyona sahip olduğu belirlenmiştir.

Bu işlemler sonrasında sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyon analizleri (XRD, SEM ve EDX, FTIR ve RTEM) de yapılmış olup, gerçekleştirilen analizler AgNP'lerin kristal yapıları, şekilleri, boyutları ve element içerikleri hakkında bilgi vermiştir. Buna göre; yapılan XRD analizi üretilen AgNP'lerin kristal yapıda olduğunu, EDX analizi AgNP'lerde %93'ün üzerinde gümüş elementinin olduğunu, FTIR analizleri de AgNP'lerin çevresinde organik bileşenler olduğunu göstermiştir. Gerçekleştirilen RTEM analizi sonucunda ise her iki bakterinin süpernatantından elde edilen AgNP'lerin genellikle küresel yapıda olduğu, *A. mongoliensis* süpernatantı ile üretilen AgNP'lerin boyutlarının ortalama 3.97 nm, *B. cereus* süpernatantı ile üretilen AgNP'lerin boyutlarının ise ortalama 3.80 nm olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri MİK yöntemiyle belirlenmiş olup, antimikrobiyal aktivitenin saptanması amacıyla *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakteri türleri ile *Candida albicans* ATCC 90028 maya türü kullanılmıştır. Sentezlenen AgNP'ler *E. coli* ve *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, *S. aureus* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Sonuç olarak; yüksek lisans tezi kapsamında yapılan bu çalışmalar Afyonkarahisar ilindeki sıcak su kaplıcalarından izole edilen ve literatürde henüz yeni iki farklı termotolerant bakteri türü olan *A. mongoliensis* ve *B. cereus*'un sıvı kültür süpernatantları ile kısa sürede, çevre dostu ve ekonomik olarak AgNP üretilebileceğini göstermiştir. Literatürde AgNP'lerin çeşitli alanlarda kullanımına yönelik çok sayıda bilimsel bulgunun varlığı göz önüne alındığında, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen bu AgNP'lerin kullanım potansiyellerinin ortaya çıkarılması için uygulamaya yönelik diğer çalışmalarla da desteklenmesi son derece önemlidir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M. I., Kumar, R. & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28 (4), 313-318.
- Akbarzadeh, A., Zare, D., Farhangi, A., Mehrabi, M. R., Norouziyan, D., Tangestaninejad, S., Moghadam, M. & Bararpour, N. (2009). Synthesis and characterization of gold nanoparticles by tryptophane, *American Journal of Applied Sciences*, 6 (4), 691-695.
- Akter, S. & Huq, A. (2019). Biologically rapid synthesis of silver nanoparticles by *Sphingobium sp.* MAH-11T and their antibacterial activity and mechanisms investigation against drug-resistant pathogenic microbes, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 48 (1), 672-682.
- Altınsoy, B. (2016). Gümüş nanopartiküllerinin mikrobiyal sentezi, yapısal analizi, antimikrobiyal ve antikanser özelliklerinin belirlenmesi (Rapor No. THD-2016-6466) Kayseri: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Sonuç Raporu.
- Apohan, E., Yılmaz, U., Yılmaz, O., Serindag, A., Kucukbay, H., Yesilada, O. & Baran, Y. (2017). Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives, *Journal of Organometallic Chemistry*, 828, 52-58.
- Ates, H. & Bahceci, E. (2015). Nano malzemeler için üretim yöntemleri, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji*, 3 (2), 483-499.
- Avasare, V., Zhang, Z., Avasare, D., Khan, I. & Qurashi, A. (2015). Room-temperature synthesis of TiO₂ nanospheres and their solar driven photoelectrochemical hydrogen production, *International Journal of Energy Research*, 39 (12), 1714-1719.
- Aygün, A., Özdemir, S., Gülcan, M., Yalçın, M. S., Uçar, M. & Şen, F. (2021). Characterization and antioxidant-antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using *Punica granatum* extract, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1, 1-11.
- Bao, C., Jin, M., Lu, R., Zhang, T. & Zhao, Y. Y. (2003). Preparation of Au nanoparticles in the presence of low generational poly (amidoamine) dendrimer with surface hydroxyl groups, *Materials Chemistry and Physics*, 81 (1), 160-165.
- Beheshti, N., Soflaei, S., Shakibaie, M., Yazdi, M. H., Ghaffarifar, F., Dalimi, A. & Shahverdi, A. R. (2013). Efficacy of biogenic selenium nanoparticles against *Leishmania major*: In vitro and in vivo studies, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27 (3), 203-207.

- Beveridge, T. J., Hughes, M. N., Lee, H., Leung, K. T., Poole, R. K., Savvaidis, I., Silver, S. & Trevors, J. T.** (1996). Metal-microbe interactions: Contemporary approaches, *Advances in Microbial Physiology*, 38, 177-243.
- Beykaya, Ç. & Çağlar, A.** (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16, 631-641.
- Bilim etiği.** (t.y.). Erişim: 31 Aralık 2020, <https://www.nanoscience.com/techniques/nanoparticle-synthesis/>
- Bilim etiği.** (t.y.). Erişim: 20 Nisan 2021, <https://www.arb-silva.de/browser/ssu-138.1/KJ094999>
- Bilim etiği.** (t.y.). Erişim: 20 Nisan 2021, <https://www.arb-silva.de/browser/ssu-138.1/KJ434789>
- Brody, A. L.** (1990). Active packaging, *Food Engineering*, 62 (4), 87-92.
- Bruins, R. M., Kapil, S. & Oehme, S. W.** (2000). Microbial resistance to metals in the environment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45 (3), 198-207.
- Cao, Y., Jin, R. & Mirkin, C. A.** (2001). DNA-modified core-shell Ag/Au nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society*, 123 (32), 7961-7962.
- Davis, T. A., Volesky, B. & Mucci, A.** (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae, *Water Research*, 37 (18), 4311-4330.
- Dhand, V., Soumya, L., Bharadwaj, S. A., Chakra, S., Bhatt D. & Sreedhar, B.** (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity, *Materials Science and Engineering: C*, 58, 36-43.
- Deljou, A. & Goudarzi, S.** (2016). Green extracellular synthesis of the silver nanoparticles using thermophilic *Bacillus sp.* AZ1 and its antimicrobial activity against several human pathogenetic bacteria, *Iranian Journal of Biotechnology*, 14 (2), 25-32.
- Du, J. & Yi, T. H.** (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Variovorax guangxiensis* THG-SQL3 and their antimicrobial potential, *Materials Letters*, 178, 75-78.
- Eren, A. & Baran, M. F.** (2019). Fıstık (*Pistacia vera* L.) yaprağından gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6 (2), 165-173.
- Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T. & Venketesan, R.** (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: A study against gram-positive and gram-negative bacteria, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6 (1), 103-109.
- Fariq, A., Khan, T. & Yasmin, A.** (2017). Microbial synthesis of nanoparticles and their potential applications in biomedicine, *Journal of Applied Biomedicine*, 15 (4), 241-248.

- Gahlawat, G. & Choudhury, A. R.** (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes, *RSC Advances*, 9 (23), 12944-12967.
- Gericke, M. & Pinches, A.** (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles, *Hydrometallurgy*, 83 (1), 132-140.
- Ghiuta, L., Cristea, D., Croitoru, C., Kost, J., Wenkert, R., Vyrides, I., Anayiotos, A. & Munteanu, D.** (2018). Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles, biosynthesized using *Bacillus species*, *Applied Surface Science*, 438, 66-73.
- Gulbagca, F., Aygün, A., Gülcan, M., Ozdemir, S., Gonca, S. & Şen, F.** (2021). Green synthesis of palladium nanoparticles: Preparation, characterization and investigation of antioxidant, antimicrobial, anticancer and DNA cleavage activities, *Applied Organometallic Chemistry*, 35, e6272.
- Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-Elmagd, R. A. & Bawazir, S. S.** (2019). Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*, *Scientific reports*, 9, 13071.
- Harikrishnan, H., Shine, K., Ponmurugan, K., Moorthy, I. G. & Kumar, R. S.** (2014). In vitro eco-friendly synthesis of cadmium sulfide nanoparticles using heterotrophic *Bacillus cereus*, *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, 6 (1), 1-7.
- Hasan, S. S., Singh, S., Parikh, R. Y. & Dharne, M.** (2008). Bacterial synthesis of copper/copper oxide nanoparticles, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 8 (6), 3191-3196.
- He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J. & Gu, N.** (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*, *Materials Letters*, 61 (18), 3984-3987.
- Holmes, J. D., Smith, P. R., Evans-Gowing, R., Richardson, D. J., Russell, D. A. & Sodeau, J. R.** (1995). Energy-dispersive x-ray analysis of the extracellular cadmium sulfide crystallites of *Klebsiella aerogenes*, *Archives of Microbiology*, 163, 143-147.
- Honary, Gharaei-Fathabad, E., Paji, Z. K. & Eslamifar, M.** (2012). A novel biological synthesis of gold nanoparticle by *Enterobacteriaceae* family, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11 (6), 887-891.
- Hulkoti, N. I. & Taranath, T. C.** (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes-a review, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hosseini, M. R. & Sarvi, M. N.** (2015). Recent achievements in the microbial synthesis of semiconductor metal sulfide nanoparticles, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 40, 293-301.
- Ipe, D. S., Kumar, P. T. S., Love, R. M. & Hamlet, S. M.** (2020). Silver nanoparticles at biocompatible dosage synergistically increases bacterial susceptibility to antibiotics, *Frontiers in Microbiology*, 11, 1074.
- Javaid, A., Oloketuyi, S. F., Khan, M. M. & Khan, F.** (2017). Diversity of bacterial synthesis of silver nanoparticles, *BioNanoScience*, 8, 43-59.

- Kashyap, P. L., Kumar, S., Srivastava, A. K. & Sharma, A. K.** (2013). Myconanotechnology in agriculture: A perspective, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 29 (2), 191-207.
- Kirithi, A., V., Rahuman, A., A., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Jayaseelan, C. & Bagavan, A.** (2011). Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using bacterium *Bacillus subtilis*, *Materials Letters*, 65 (17), 2745-2747.
- Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E. & Granqvist, C. G.** (2001). Bacteria as workers in the living factory: Metal-accumulating and potential for materials science, *Trends in Biotechnology*, 19 (1), 15-20.
- Klueh, U., Wagner, V., Kelly, S, Johnson A. & Bryers, J. D.** (2000). Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation, *Journal of Biomedical Materials Research*, 53 (6), 621-631.
- Korbekandi, H., Irvani, S. & Abbasi, S.** (2009). Production of nanoparticles using organisms, *Critical Reviews in Biotechnology*, 29 (4), 279-306.
- Korbekandi, H., Irvani, S. & Abbasi, S.** (2012). Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 87 (7), 932-937.
- Kumar, P., Mahajan, P., Kaur, R. & Gautam, S.** (2020). Nanotechnology and its challenges in the food sector: A review, *Materials Today Chemistry*, 17, 100332.
- Kushwaha, A., Singh, V. K., Bhartariya, J., Singh, P. & Yasmeen, K.** (2015). Isolation and identification of *E. coli* bacteria for the synthesis of silver nanoparticles: Characterization of the particles and study of antibacterial activity, *Pelegia Research Library*, 5 (1), 65-70.
- Lampis, S., Zonaro, E., Bertolini, C., Bernardi, P., Butler, C. S. & Vallini, G.** (2014). Delayed formation of zero-valent selenium nanoparticles by *Bacillus mycooides* SeITE01 as a consequence of selenite reduction under aerobic conditions, *Microbial Cell Factories*, 13, 35.
- Lee, K. X., Shameli, K., Miyake, M., Kuwaano, N., Khairudin, N. B. A., Mohamad, S. E. & Yew, Y. P.** (2016). Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Garcinia mangostana* Fruit Peels, *Journal of Nanomaterials*, 2016, 1-7.
- Li, X., Xu, H., Chen, Z.-S. & Chen, G.** (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications, *Journal of Nanomaterials*, 2011, 1-16.
- Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D. & Alvarez, P. J. J.** (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications, *Water Research*, 42 (18), 4591-4602.
- Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q., Cheng, Z., Dai, G., Wu, G., Wang, L. & Chen, L.** (2019). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *International Journal of Nanomedicine*, 14, 1469-1487.

- Loo, Y. Y., Rukayadi, Y., Nor-Khaizura, M. A. R., Kuan, C. H., Chieng, B. W., Nishibuchi, M. & Radu, S.** (2018). In vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected gram-negative foodborne pathogens, *Frontiers in Microbiology*, 9,1555.
- Mann, S.** (1996). *Biomimetic Materials Chemistry*, Wiley-VCH, New York.
- Markus, J., Mathiyalagan, R., Kim, Y. J., Abbai, R., Singh, P., Ahn, S. & Yang, D. C.** (2016). Intracellular synthesis of gold nanoparticles with antioxidant activity by probiotic *Lactobacillus Kimchicus* DCY51 T isolated from Korean Kimchi. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 85-93.
- Menon, S., Rajeshkumar, S. & Kumar, V.** (2017). A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications, *Resource-Efficient Technologies*, 3 (4), 516-527.
- Mithila, A., Swanand, J., Ameeta, R. K., Smita, Z. & Sulabha, K.** (2009). Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589, *Materials Letters*, 63 (15), 1231-1234.
- Mohammadian, A., Shojaosadati, S. A. & Rezaee, M. H.** (2007). *Fusarium oxysporum* mediates photogeneration of silver nanoparticles, *Scientia Iranica*, 14 (4), 323-326.
- Mohindru, J. J. & Garg, U. K.** (2017). Green synthesis of copper nanoparticles using tea leaf Extract, *International Journal of Engineering Sciences & research Technology*, 6 (7), 307-311.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. & Yacaman, M. J.** (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology*, 16 (10), 2346-2353.
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S. R., Khan, M. I., Parishcha, R., Ajaykumar, P. V., Alam M., Kumar, R. & Sastry, M.** (2001). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis, *Nano Letters*, 1 (10), 515-519.
- Mueller, N. C. & Nowack, B.** (2008). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment, *Environmental Science Technology*, 42 (12), 4447-4453.
- Mühling, M., Bradford, A., Readman, J. W., Somerfield, P. J. & Handy, R. D.** (2009). An investigation into the effects of silver nanoparticles on antibiotic resistance of naturally occurring bacteria in an estuarine sediment, *Marine environmental research*, 68 (5), 278-283.
- Narayanan, K. B. & Sakthivel, N.** (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Advances Colloid and Interface Science*, 156 (1-2), 1-13.
- Nasreen, I., Hulkoti, T. C. & Taranath, P.** (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A Review, *Collids and surface B: Bioinformatics*, 121 (1), 474-483.
- Natarajan, K., Selvaraj, S. & Murty, V. R.** (2010). Microbial production of silver nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5 (1), 135-140.

- Nayak, P. S., Arakha, M., Kumar, A., Asthana, S., Mallick, B. C. & Jha, S.** (2016). An approach towards continuous production of silver nanoparticles using *Bacillus thuringiensis*, *RSC Advances*, 6 (10), 8232-8242.
- Ning, F., Shao, M., Xu, S., Fu, Y., Zhang, R., Wei, M., Evans, D.G. & Duan, X.** (2016). TiO₂/graphene/NiFe-layered double hydroxide nanorod array photoanodes for efficient photoelectrochemical water splitting, *Energy & Environ Science*, 9, 2633-2643.
- Ojo, S. A., Lateef, A., Azeez, M. A., Oladejo, S. M., Akinwale, A. S., Asafa, T. B., Beukes, L. S.** (2016). Biomedical and catalytic applications of gold and silver-gold alloy nanoparticles biosynthesized using cell-free extract of *Bacillus safensis* LAU 13: Antifungal, dye degradation, anti-coagulant and thrombolytic activities, *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 15 (5), 433-442.
- Pal, S., Tak, Y. K. & Song, J. M.** (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram negative bacterium *Escherichia coli*, *Applied and environmental microbiology*, 73 (6), 1712-1720.
- Panáček, A., Kvítek, L., Pucek, R., Kolář, M., Večeřová, R., Pizúrová, N., Sharma, V. K., Nevěčná, T. & Zbořil, R.** (2006). Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *The Journal of Physical Chemistry B*, 110 (33), 16248-16253.
- Patil, M. P. & Kim, G-D.** (2017). Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles, *Applied microbiology and biotechnology*, 101 (1), 79-92.
- Patra, J. K. & Baek, K-H.** (2014). Green nanobiotechnology: Factors affecting synthesis and characterization techniques, *Journal of Nanomaterials*, 2014, 417305.
- Paul, D.R. & Robeson, L.M.** (2008). Polymer nanotechnology: Nanocomposites, *Polymer*, 49 (15), 3187-3204.
- Poinern, G. E. J., Chapman, P., Le X. & Fawcett, D.** (2013). Green biosynthesis of gold nanometre scale plates using the leaf extracts from an indigenous Australian plant *Eucalyptus macrocarpa*, *Gold Bulletin*, 46 (3), 165-173.
- Pouri, S., Motamedi, H., Honary, S. & Kazeminezhad, I.** (2017). Biological synthesis of selenium nanoparticles and evaluation of their bioavailability, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, 1590-1678.
- Pum, D. & Sleytr, U. B.** (1999). The application of bacterial s-layers in molecular nanotechnology, *Trends in Biotechnology*, 17 (1), 8-12.
- Qian, L. & Hinestroza, J. P.** (2004). Application of nanotechnology for high performance textiles. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 4 (1), 1-7.
- Ramanavicius, A., Kausaite, A., Kausaite, A. & Ramanaviciene, A.** (2005). Biofuel cell based on direct bioelectrocatalysis, *Biosens and Bioelectronics*, 20 (10), 1962-1967.

- Roy, K., Chandan, K. S. & Ghosh, C.** (2015). Rapid colorimetric detection of Hg²⁺ ion by green silver nanoparticles synthesized using *Dahlia pinnata* leaf extract, *Green Processing and Synthesis*, 4 (6), 1515-1524.
- Sabri, M. A., Umer, A., Awan, G. H., Hassan, M. F. & Hasnain, A.** (2016). Selection of suitable biological method for the synthesis of silver nanoparticles, *Nanomaterials and Nanotechnology*, 6 (29), 1-20.
- Sadeghi, B., Mohammadzadeh, M. & Babakhani, B.** (2015). Green synthesis of gold nanoparticles using *Stevia rebaudiana* leaf extracts: Characterization and their stability, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 148, 101-106.
- Saravanan, M. & Nanda, A.** (2010). Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77 (2), 214-218.
- Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M. I. & Kumar, R.** (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete, *Current Science*, 85 (25), 162-170.
- Sharma, N. C., Sahi, S. V., Nath, S., Parsons, J.G., Gardea-Torresdey, J. L. & Pal, T.** (2007). Synthesis of plant-mediated gold nanoparticles and catalytic role of biomatrix-embedded nanomaterials, *Environmental Science & Technology*, 41 (14), 5137-5142.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A. & Lin, Y.** (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in colloid and interface science*, 145 (1-2), 83-96.
- Sıkı, N.** (2017). Nanoteknoloji temelli ilaç ve ilaç ürünlerinin patent perspektifinden değerlendirilmesi (Uzmanlık tezi). T.C. Türk Patent ve Marka Kurumu, Patent Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Siegrist, M., Stampfli, N., Kastenholz, H. & Keller, C.** (2008). Perceived risks and perceived benefits of different nanotechnology foods and nanotechnology food packaging, *Appetite*, 51 (2), 283-290.
- Simkiss, K. & Wilbur, K. M.** (1989). Biomineralization cell biology and mineral deposition, *Academic Press*, New York.
- Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P. M., Shivalkar, S., Sahoo, A. K. & Samanta, S. K.** (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review, *Biotechnology Reports*, 25, 1-11.
- Singh, G., Babele, P. K., Shahi, S. K., Sinha, R. P., Tyagi M. B. & Kumar, A.** (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using cell extracts of *Anabaena doliolum* and screening of its antibacterial and antitumor activity, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 (10), 1354-1367.
- Singh, P., Kim, Y. J., Singh, H., Wang, C., Hwang, K. H., Farh, M. E-A. & Yang, D. C.** (2015). Biosynthesis, characterization, and antimicrobial applications of silver nanoparticles, *International Journal of Nanomedicine*, 10, 2567-2577.
- Singh, P. K. & Kundu, S.** (2014). Biosynthesis of gold nanoparticles using bacteria, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84, 331-336.

- Srinath, B. S., Namratha, K. & Byrappa, K.** (2017). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles by gold mine bacteria *Brevibacillus formosus* and their antibacterial and biocompatible studies, *The Journal of Pharmacy*, 7 (8), 53-60.
- Soliman, H., Elsayed, A. & Dyaa, A.** (2018). Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesised by *Rhodotorula* sp. strain ATL72, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 228-233.
- Sunkar, S. & Nachiyar, C. V.** (2012). Biogenesis of antibacterial silver nanoparticles using the endophytic bacterium *Bacillus cereus* isolated from *Garcinia xanthochymus*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (12), 953-959.
- Tan, G., İlk, S., Emul, E., Altindag, S., Birhanli, E., Apohan, E., Yesilada, O., Verma, S. K., Gurel, E. & Saglam, N.** (2019). Green synthesis and biogenic materials, characterization, and their applications. In: R. Prasad (Ed.), *Microbial Nanobionics* (pp. 29-61). Switzerland AG: Springer Nature.
- Tapan, K. S. & Andrey, L. R.** (2010). Nonspherical noble metal nanoparticles: Colloid chemical synthesis and morphology control, *Advanced Optical Materials*, 22 (16), 1781-804.
- Tatlıcı, E.** (2019). Altın ve gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesi (Yüksek lisans tezi). İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Tiwari, M., Jain, P., Hariharapura, R. C., Narayanan, K., Bhat, U., Udupa, N., Rao, J. V.** (2016). Biosynthesis of copper nanoparticles using copper-resistant *Bacillus cereus*, a soil isolate, *Process Biochemistry*, 51 (10), 1348-1356.
- Tormena, R. P. I., Rosa, E. V., Mota, B. F. O., Chaker, J. A., Fagg, C. W., Freire, D. O., Martins, P. M., Silva, I. C. R. & Sousa, M. H.** (2020). Evaluation of the antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained by microwave-assisted green synthesis using *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos underbark extract, *Royal Society of Chemistry Advances*, 10, 20676-20681.
- Tyagi, S., Tyagi, P. K., Gola, D., Chauhan, N. & Bharti, R. K.** (2019). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using entomopathogenic fungus: Characterization and antibacterial potential, *SN Applied Sciences*, 1, 1545.
- Verma, P. & Maheshwari S. K.** (2019). Applications of silver nanoparticles in diverse sectors, *International Journal of Nano Dimension*, 10 (1), 18-36.
- Wang, C., Kim, Y. J., Sing, P., Mathiyalagan, R., Jin, Y. & Yang, D., C.** (2016). Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and their antimicrobial activity, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 44 (4), 1127-1132.
- Wang, Z., Chen, J., Yang, P. & Yang, W.** (2007). Biomimetic synthesis of gold nanoparticles and their aggregates using a polypeptide sequence, *Applied Organometallic Chemistry*, 21 (8), 645-651.
- Weir, E., Lawlor, A., Whelan, A. & Regan, F.** (2008). The use of nanoparticles in antimicrobial materials and their characterization, *The Analyst*, 133 (7), 835-845.

- Wong, T. S. & Schwaneberg, U.** (2003). Protein engineering in bioelectrocatalysis, *Current Opinion in Biotechnology*, 14 (6), 590-596.
- Wright, J. B., Lam, K., Hansen, D. & Burrell, R. E.** (1999). Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens, *American Journal of Infection Control*, 27 (4), 344-350.
- Xu, Z. P., Zeng Q. H., Lu, G. Q. & Yu, A. B.** (2006). Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery, *Chemical Engineering Science*, 61 (3), 1027-1040.
- Yazıcı, E.** (2009). Ultrasonik sprey piroliz tekniğiyle küresel gümüş nano-partiküllerinin üretimi (Yüksek lisans tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Yıldız, N.** (2011). Gümüş nanopartiküllerin liken özü ile biyosentezi (Rapor No. 10Ö4343004) Ankara: Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu.
- Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R. D. & Surampalli, R. Y.** (2011). Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates, *Chemosphere*, 82 (4), 489-494.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad

: Burak ÖZLÜ

Lisans

: 2007, Malatya İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü

