



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

BAKTERİYEL BİYOSENTEZ YAKLAŞIMIYLA
GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ÜRETİMİ
VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNE GİZEM SABUNCU

Danışman: Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN

TOKAT-2025



Bu tez çalışmasında, Emine Gizem SABUNCU, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Lisansüstü Programı tarafından desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, **Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN** danışmanlığında hazırlamış olduğum “**Bakteriyel Biyosentez Yaklaşımıyla Gümüş Nanopartiküllerin Üretimi ve Karakterizasyonu**” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

.../.../...

Emine Gizem SABUNCU



İthaf

Bu tezimi sonsuz destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olan
değerli aileme ithaf ediyorum.



Önsöz/Teşekkür

Bilimin ışığında ilerlediğim bu yolda, yoğun akademik ve idari sorumluluklarına rağmen desteğini hiçbir zaman esirgemeyen;engin bilgi birikimi ve kıymetli yönlendirmeleriyle çalışmama yol gösteren, karşılaşılan her problemde pratik ve hızlı çözümler sunan ve akademik bakış açısını örnek aldığım değerli danışman hocam Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN'a sonsuz saygı ve minnetlerimi sunarım.

Akademik rehberliğiyle yüksek lisans sürecim boyunca bilgi ve deneyimiyle yolumu aydınlatan, her zaman anlayış ve destekleyici tutumuyla bana rehberlik eden kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Atefeh VARMAZYARI'ya teşekkürlerimi sunuyorum. Kıymetli hocama olan saygım ve minnettarlığım, bu yolculuğu benim için anlamlı ve verimli kıldığı için kendisine bir kez daha içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın antibakteriyel bölümünde yol gösterici yaklaşımıyla destek veren Dr. Öğr. Üyesi Çağlar BERKEL'e ve çalışmamın sensör bölümünde desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Oğuz ÖZBEK'e teşekkür ederim.

ÇAÇAN LAB üyelerine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunmamda yer alan değerli jüri üyeleri Doç. Dr. Ali AYDIN ve Doç. Dr. Kadriye Özlem SAYGI hocalarıma, katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Ve elbette; hayatım boyunca koşulsuz sevgileri ve destekleriyle her anımda, aldığım tüm kararlarımda yanımda olan ve yolumu aydınlatan, babam Ali İhsan SABUNCU ve annem Nuriye SABUNCU'ya her daim müteşekkirim. Sevgili ailemin inancı, bu sürecin en güçlü temelini oluşturdu.

Aynı şekilde, her zaman yanımda olan, destekleriyle bana güç veren değerli kardeşlerim Burak SABUNCU ve Alperen SABUNCU'ya teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmanın her adımında, canım kardeşlerimin, desteklerinin izleri var.

Tez çalışmam, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Lisansüstü Programı kapsamında desteklenmiştir. Bilime olan katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

ÖZET

BAKTERİYEL BİYOSENTEZ YAKLAŞIMIYLA GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Sabuncu, Emine Gizem

Yüksek Lisans, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ercan ÇAÇAN

Ağustos 2025, xvi + 111 sayfa

Bu tez çalışmasında, çevre dostu, ekonomik, güvenilir ve kontrollü üretimi sağlayan biyosentez (biyolojik) yöntemi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu biyosentez çalışması için *Pseudomonas fluorescens* kullanılarak bakteri aracılı AgNP'ler elde edilmiştir. Bu bakterinin seçilmesi, tampon çözelti içerisinde yapılan ön denemelerde yüksek konsantrasyonda dahi üç güne kadar canlı kalabilmesi etkili olmuştur. Stok kültürlerden elde edilen 18 farklı bakteri türüne ait izolatlar ile yapılan ön denemeler sonucunda, canlılığını sürdürebilen ve biyosentez kapasitesi yüksek olan aktif izolat olarak *Pseudomonas fluorescens* belirlenmiş olup çalışmalar bu izolatla devam ettirilmiştir. Bu sayede, hem bakterinin optimum faaliyet göstereceği ideal bir ortam belirlenmiş hem de nanopartikül oluşumu için uygun koşullar sağlanmıştır. Sentezlenen AgNP'lerin optik özelliklerin belirlenmesinde ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis), yapısal özellikler için dinamik ışık saçılımı (DLS), zeta potansiyel, X-ışını difraktometrisi (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) analizleri, morfolojik ve boyut özelliklerin belirlenmesinde ise transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleme teknikleri kullanılmıştır. UV-Vis analizinde beklenen yüzey plazmon rezonans pikine ulaşılamamış olup bu durumun, bakteriyel süpernatant içerisinde yer alan organik kalıntıların absorpsiyon özelliklerini etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Buna karşın diğer karakterizasyon teknikleri AgNP'lerin başarılı şekilde sentezlendiğini ve organik kalıntıların varlığını doğrulamışlardır. AgNP'lerin 5–50 nm aralığında partikül boyutları, küresel görünümlü, polidispers morfoloji ve partiküllerin etrafındaki biyolojik halo yapısı sonuçlarına ulaşılmıştır. Antimikrobiyal aktivite değerlendirmesi kuyu difüzyon ve disk difüzyon yöntemleri ile gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlar ticari antibiyotik diskleri ile karşılaştırılmıştır. Sentezlenen AgNP'ler, özellikle *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* gibi patojen bakterilere karşı inhibitör etki göstermiştir. Bazı ticari antibiyotiklerin etkinlik göstermediği durumlarda dahi AgNP'lerin anlamlı zon çapları oluşturduğu gözlenmiştir. Antikanser aktivite değerlendirmesi, HCT116 kolorektal kanser hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiş ve yüksek konsantrasyonlardaki AgNP uygulaması bu kanserli hücrelerin yaklaşık %90 oranında ölümüne neden olmuştur. Potansiyometrik sensör uygulaması ise kurşun iyonlarının tespiti amacıyla gerçekleştirilmiş; ancak beklenen seçicilik sergilenememiş olup, bu alanla ilgili ileri düzey çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışma ile çevreye duyarlı, düşük maliyetli ve etkili bir bakteri aracılı biyosentez yöntemi kullanılarak AgNP'lerin başarıyla üretilbileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışma, biyolojik sentez süreçlerinde organik kalıntıların AgNP'leri çevreleyerek aglomerasyonu engellemesi, nanopartiküllerin tekil halde stabil kalmasına olanak tanıyarak literatüre özgün bir katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanopartikül, Biyosentez, Karakterizasyon teknikleri, Antimikrobiyal aktivite, Antikanser aktivite, Potansiyometrik sensör

ABSTRACT

BACTERIA-MEDIATED BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES AND THEIR CHARACTERIZATION

Sabuncu, Emine Gizem

Master's Thesis, Department of Molecular Biology and Genetic

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ercan Çağan

August 2025, xvi + 111 pages

In this thesis study, silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized using a biosynthesis (biological) method that is environmentally friendly, economical, reliable, and allows for controlled production. For this biosynthesis study, bacterially mediated AgNPs were obtained using *Pseudomonas fluorescens*. The selection of this bacterium was influenced by its ability to remain viable for up to three days even at high concentrations in preliminary trials conducted in buffer solution. Among the 18 different bacterial isolates obtained from stock cultures, *Pseudomonas fluorescens* was identified as the active isolate that remained viable and demonstrated high biosynthesis capacity, and the study was continued with this isolate. Thus, both an ideal environment for the optimal activity of the bacterium and suitable conditions for nanoparticle formation were established. To determine the optical properties of the synthesized AgNPs, ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) was used; for structural properties, dynamic light scattering (DLS), zeta potential, X-ray diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) analyses were conducted; and for morphological and size characterization, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) imaging techniques were employed. The expected surface plasmon resonance peak was not achieved in the UV-Vis analysis, which is believed to be due to the absorption properties being affected by organic residues present in the bacterial supernatant. Nevertheless, other characterization techniques confirmed the successful synthesis of AgNPs and verified the presence of organic residues. The AgNPs were found to have particle sizes in the range of 5–50 nm, with spherical appearance, polydisperse morphology, and a biological halo structure surrounding the particles. Antimicrobial activity evaluation was performed using the well diffusion and disk diffusion methods, and the results were compared with commercial antibiotic discs. The synthesized AgNPs exhibited inhibitory effects particularly against pathogenic bacteria such as *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It was observed that AgNPs produced significant inhibition zones even in cases where some commercial antibiotics were ineffective. The anticancer activity evaluation was conducted on the HCT116 colorectal cancer cell line, and application of AgNPs at high concentrations resulted in approximately 90% death of these tumor cells. A potentiometric sensor application was also carried out for the detection of lead ions; however, the expected selectivity was not achieved, indicating the need for further advanced studies in this area. In conclusion, this study demonstrated that AgNPs can be successfully produced using a bacteria-mediated biosynthesis method that is environmentally conscious, cost-effective, and efficient. Additionally, this study shows that organic residues in biological synthesis prevent AgNP agglomeration, ensuring stable and discrete distribution.

Keywords: Silver nanoparticles, Biosynthesis, Bacterial synthesis, Characterization techniques, Antimicrobial activity, Antibacterial activity, Anticancer activity, Potentiometric sensor

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK SÖZLEŞME	iii
JÜRİ KABUL VE ONAY	iv
İthaf.....	v
Önsöz/Teşekkür.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiv
1 GİRİŞ.....	1
2 KURAMSAL TEMELLER.....	7
2.1 Nanoteknoloji	7
2.1.1 Nanoteknolojinin tarihçesi	7
2.2 Nanopartiküller.....	8
2.2.1 Nanopartiküllerin sınıflandırılması	9
2.2.2 Gümüş nanopartiküller	10
2.3 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri	11
2.4 Biyolojik Sentez (Biyosentez) Yöntemi	13
2.4.1 AgNP'lerin biyolojik sentezi	14
2.4.2 Bakterilerle gümüş iyonlarının (Ag ⁺) metalik gümüşe (Ag ⁰) indirgenmesi	15
2.4.3 AgNP'lerin bakteri ile biyosentezi.....	16
2.5 AgNP'lerin Potansiyel Uygulamaları.....	17
2.6 AgNP'lerin Karakterizasyon Yöntemleri	18
2.7 AgNP'lerin Biyolojik Etkilerini Belirleyen Faktörler	19
3 MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1 Araştırma Materyali.....	21
3.2 Araştırma Metodu	22
3.2.1 Besiyerlerinin hazırlanması	22

3.2.2	Mikroorganizmaların muhafazası.....	23
3.2.3	Çalışmada kullanılacak bakteri izolatının seçilmesi.....	23
3.2.4	Çalışmada kullanılacak AgNO ₃ konsantrasyonunun seçimi.....	24
3.2.5	Mikrobiyal aşı kültürlerinin hazırlık süreci.....	24
3.2.6	AgNP'lerin biyolojik sentezi ve saflaştırılması	26
3.2.7	Elde edilen AgNP'lerin karakterizasyonu	30
3.2.8	AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini besiyerinde belirlenmesi	32
3.2.9	AgNP'lerin potansiyometrik sensör aktivitesinin belirlenmesi	33
3.2.10	Antikanser aktivitesinin in vitro belirlenmesi	34
3.2.11	AgNP'lerin kararlılığının saptanması.....	36
4	BULGULAR VE TARTIŞMA	38
4.1	Bulgular	38
4.1.1	AgNP'lerde renk değişimi gözlemlenmesi	38
4.1.2	AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları	38
4.1.3	Antimikrobiyal aktivite analizi	55
4.1.4	Sensör aktivite analizi	61
4.1.5	Antikanser aktivite analizi	62
4.1.6	AgNP'lerin kararlılık analizi	63
4.2	Tartışmalar	66
5	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
5.1	Sonuçlar	71
5.2	Öneriler	74
6	KAYNAKLAR.....	79

TABLÖLAR LİSTESİ

Çizelge No	Sayfa
Çizelge 1.1. Farklı bakteri suşları ile sentezlenen AgNP'lerin özellikleri ve uygulama alanları.....	3
Çizelge 4.1. Elde edilen AgNP'lerin bileşimindeki C, O ve Ag elementlerinin ağırlıkça yüzdesi	53
Çizelge 4.2. Kuyu ve disk difüzyonda AgNP'lerin 5 farklı patojen bakteriye karşı vermiş olduğu çap ölçüm sonucu.....	59
Çizelge 4.3. AgNP'ler ve antibiyotiklerin karşılaştırmalı antibakteriyel etkisi.....	60



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 2.1. NP'lerin boyut ve kimyasal kompozisyonlarına göre sınıflandırılması	9
Şekil 2.2. NP'lerin sentez yöntemleri	12
Şekil 3.1. Katalaz testinde köpürme reaksiyon görseli	23
Şekil 3.2. Soldan sağa: Sadece <i>Pseudomonas fluorescens</i> bakterisi (kontrol), 0.1 mM, 1 mM ve 5 mM AgNO ₃ konsantrasyonlarıyla inkübe edilen süspansiyonlarda gözlenen renk değişimleri	24
Şekil 3.3. <i>P. fluorescens</i> bakterisinin NA'da gelişimi	25
Şekil 3.4. Elde edilen aşı kültürler	25
Şekil 3.5. AgNO ₃ çözeltisi ile <i>P. fluorescens</i> peletinin birleştirilmesinden sonraki gün gözlenen renk değişimi	26
Şekil 3.6. AgNO ₃ çözeltisi ile <i>P. fluorescens</i> peletinin birleştirilmesinin yedinci günü gözlenen renk değişimi	27
Şekil 3.7. Sadece AgNO ₃ çözeltisi (kontrol) ve AgNO ₃ ile <i>P. fluorescens</i> peletinin birleşiminden elde edilen süspansiyonların renk karşılaştırılması	28
Şekil 3.8. Elde edilen AgNP'lerin ependorfa eklenmiş hali	28
Şekil 3.9. Farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarıyla hazırlanan bakteriyel süspansiyonların, inkübasyondan iki gün sonra gözlenen renk değişimlerini gösteren ön deneme tüpleri	29
Şekil 3.10. İki farklı bakteri türüyle, süpernatant ve pelet fraksiyonları kullanılarak farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarında yapılan ön deneme tüplerinin altı gün sonraki görünümü	29
Şekil 3.11. AgNO ₃ ve bakteri birleştirilmesi ile yapılan ön denemelerde ışık ve karanlık ortam koşullarının etkisi değerlendirildiği deneyin görüntüsü	30
Şekil 4.1. UV-Vis spektroskopisi grafiği	39
Şekil 4.2. Farklı boyutlardaki AgNP'lerin TEM görüntüsü	40
Şekil 4.3. AgNP'lerin TEM görüntüsü (10.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 1000 nm)	41
Şekil 4.4. AgNP'lerin TEM görüntüsü (60.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)	42
Şekil 4.5. AgNP'lerin TEM görüntüsü (40.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)	43
Şekil 4.6. AgNP'lerin TEM görüntüsü (100.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)	44
Şekil 4.7. AgNP'lerin SEM görüntüsü (75.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)	45
Şekil 4.8. AgNP'lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)	46
Şekil 4.9. AgNP'lerin SEM görüntüsü (75.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)	47
Şekil 4.10. AgNP'lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)	47
Şekil 4.11. AgNP'lerin SEM görüntüsü (20.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)	48
Şekil 4.12. AgNP'lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme,	

ölçek çubuğu: 200 nm)	48
Şekil 4.13. AgNP'lerin XRD deseni ve pik noktaları grafiği	49
Şekil 4.14. Ag 3D XPS dar bölge spektrumu	51
Şekil 4.15. XPS genel spektrumu	51
Şekil 4.16. EDX grafiği	52
Şekil 4.17. Zeta potansiyel dağılım grafiği	54
Şekil 4.18. Yoğunluğa göre boyut dağılımı grafiği	55
Şekil 4.19. Beş farklı bakteriye karşı AgNP'ler ve ticari antibiyotik diskleri (Ceftazidime, Ciprofloxacın, Penicillin G, Vancomycin) ile gerçekleştirilen kuyu difüzyon testinin inhibisyon zon çaplarını gösteren görüntüleri	57
Şekil 4.20. Beş farklı bakteriye karşı AgNP'ler ve ticari antibiyotik diskleri (Ceftazidime, Ciprofloxacın, Penicillin G, Vancomycin) ile gerçekleştirilen disk difüzyon testinin inhibisyon zon çaplarını gösteren görüntüleri	58
Şekil 4.21. Hücelere AgNP uygulaması yapıldıktan 48 saat sonraki mikroskop görüntüleri (40 µg/ml konsantrasyon)	62
Şekil 4.22. Hücelere AgNP uygulaması yapıldıktan 48 saat sonraki mikroskop görüntüleri (400 µg/ml konsantrasyon)	62
Şekil 4.23. Hücreler AgNP ile muamele edildikten sonra hücre canlılığı grafiği	63
Şekil 4.24. AgNP'lerin 12 ay sonraki UV-Vis absorbanans spektroskopisi	64
Şekil 4.25. AgNP'lerin SEM görüntüsü (20.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)	67

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
Ag	Gümüş
Ag ⁰	İndirgenmiş/elementel/metalik gümüş
Ag ⁺	Gümüş iyonu
AgNO ₃	Gümüş nitrat
Ag ₂ O	Gümüş oksit
C	Karbon
eV	Elektron volt
keV	Kilo Elektron Volt
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
mV	Milivolt
nm	Nanometre
O	Oksijen
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
°C	Derece (sıcaklık)
2θ	Kırınım açısı

Kısaltma	Açıklama
AFM	Atomik Güç Mikroskopi
AgNP	Gümüş Nanopartikül
AuNP	Altın Nanopartikül
Daytam	Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DNA	Deoksiribonükleik Asit
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDS/EDX	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
EPS	Ekstrasellüler Polimerik Maddeler
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
LB	Luria Bertani Broth
MDR	Çoklu İlaç Dirençli
MHA	Mueller-Hilton Agar
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür
NA	Nutrient Agar
NADH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NB	Nutrient Broth
NP	Nanopartikül
PDI	Polidispersite İndeksi
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	Dakikada devir sayısı

SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SERS	Yüzey Güçlendirilmiş Raman Saçılması
SPR	Yüzey Plazmon Rezonansı
STM	Taramalı Tünelleme Mikroskobu
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
ToF-SIMS	Uçuş Zamanlı İkincil İyon Kütle Spektrometrisi
UV	Morötesi ışınları
UV-Vis	Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi
XPS	X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi
XRD	X-ışını Difraktometrisi

1 GİRİŞ

Nanoteknoloji son yıllarda bilimsel ve teknolojik alanlarda adından sıkça söz ettiren; sağlık, enerji, savunma, elektronik, bilişim, uzay, havacılık, çevre, gıda ve tarım gibi birçok alanda hızla gelişen ve geniş bir uygulama potansiyeline sahip bir bilim dalı hâline gelmiştir. Nanoteknoloji, nanometre büyüklüğündeki maddenin olağanüstü özelliklerini kullanarak, insan yaşamını iyileştirecek, yeni malzemeler ve araçları geliştirilmesini ifade etmektedir (Bayda ve ark., 2019). Nanobilimin en önemli malzemelerinden biri nanopartiküllerdir (NP). Nanomalzemeler bulk (hacimsel) materyallerden tamamen farklı, yeni ve daha üstün fiziksel, kimyasal, manyetik ve optik özelliklere sahip olmasından kaynaklanır. Nano boyutlu parçacık özelliklerine etki etmesinin temelde iki nedeni vardır; boyut küçüldükçe malzemenin yüzey alanı artar ve böylece dış yüzeyde bulunan atom sayısı da artmış olur (Sobolev & Gutiérrez, 2005). Nanomalzemeler arasında yer alan metalik nanopartiküller içerisinde, gümüş nanopartiküller (AgNP) 1-100 nanometre (nm) arasında olan yapılardır (Rai ve ark., 2021). Bu AgNP'ler, güçlü antimikrobiyal etkileri nedeniyle ön plana çıkmaktadır. AgNP'lerin en önemli özelliği diğer moleküller ile etkileşimi, çözünme hızı ve geniş yüzey alanı / hacim oranıdır (Gahlawat & Choudhury, 2019). AgNP'lerin elde edilmesinde, fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif olarak biyosentez (biyolojik) yöntemleri de kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemlerin kullanımı hem canlı sistemlere hem de çevreye tehlikeli ve toksiktir. Fiziksel yöntemler ise pahalı ve yüksek enerjiye ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle son yıllarda, çevre dostu ve sürdürülebilir bir alternatif olarak biyosentez yöntemi ilgi görmektedir. Bu tez çalışmasında AgNP'lerin sentezinde biyosentez yöntemlerinin arasında bakteriler ile elde edilmesini hedeflenmiştir.

Biyosentez partikül üreticileri olarak bitkilerin, bakterilerin, fungusların, aktinomisetlerin ve insan hücrelerinin kullanıldığına dair literatürde bilgiler bulunmaktadır (Jeffryes ve ark., 2015). Birçok açıdan avantajlara sahip olan biyosentez yöntemi çok çeşitli canlı sistemlerini üretici kaynağı olarak kullanmaktadır (Mohanpuria ve ark., 2008). Ek olarak, bakterilerin üreme hızı ve maliyeti düşük olmasından dolayı çeşitli biyolojik uygulamalar kullanılmaktadır. Bakteriler ile metalik NP'lerin üretimi dikkat çekmiştir.

Bu tez kapsamında, sentezi hedeflenen AgNP'lerin üretimi için düşük maliyetli, reaksiyon şartları kontrol edilebilen ve yeşil sentez yöntemi olan bakteri ile biyosentez yöntemi seçilmiştir.

Bakteriler, ağır metal açısından zengin ortamlarda gelişen, ağır metal iyonlarını azaltması için dikkate değer bir yeteneğe sahip olduklarını da bilmekteyiz. Yine bakteriler, bu özellikleri sayesinde onları NP sentezi ve toksik metal iyonlarının iyileştirilmesi amacıyla biyolojik olarak kullanılır (Nayak ve ark., 2016). AgNP sentezi için mekanizması yüksek redoks potansiyel sahip olan nitrat redüktaz NADH (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit) bir enzim olup azot çevriminde yer almaktadır ve nitratı, nitrite indirgemektedir. AgNP sentezi, hücre içinde veya hücre dışına salgılanarak gümüş iyonlarını elementel gümüşe indirgemektedir (Golinska ve ark., 2014).

Bakteriler ile NP'lerin üretilmesinde iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan birisi bakteriler uygun bir besiyerinde geliştirildikten sonra santrifüj edilerek çöktürmek suretiyle kültür sıvısından ayrılan hücreler ultra saf su içinde lizize uğratılıp ve açığa çıkan hücre lizatu ile üretim gerçekleştirilir. Bu tip NP'lerin sentezi intraselüler (hücre içi) sentez olarak bilinmektedir. Diğer yöntemde ise bakteri hücresi geliştirildikten sonra sentezde sadece kültür sıvısı kullanılır. Bu tip sentez ekstraselüler (hücre dışı) olarak bilinmektedir. İntraselüler NP sentezi maliyetlidir. Çünkü bakteri kültürü sonucunda elde edilen biyokütle miktarı az olabilmektedir ve liziz aşaması da sentez süresini uzatmaktadır.

Kalishwaralal ve ark., (2010), AgNP'lerin sentezinde *Bacillus licheniformis* kültürü süpernatantı kullanılarak homojen ve kararlı AgNP'lerin 40 nm boyutunda, biyoindirgenmesiyle sentezlenebileceğini ortaya çıkarmışlardır. Adıgüzel ve ark., (2018), aktinobakteriyal izolat ile intraselüler NP'ler biyosentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen NP'ler 35-60 nm boyutunda ve oval şekilde, kristal yapısının ise 9,35 nm boyutunda, kübik şekilde olduğunu rapor etmişlerdir. *Streptomyces sp.* AOA40 ile sentezledikleri NP'lerin *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ve *Staphylococcus aureus* için Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerlerinin sırasıyla 8 µg/mL, 16 µg/mL, 16 µg/mL ve 32 µg/mL olduğunu göstermiştir. Ayrıca, antioksidan özellik gösteren NP'lerin 12.5 µg/mL ve 15 µg/mL'lik konsantrasyonlarının *Saccharomyces cerevisiae*'da deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına sebep olmadığını belirtmişlerdir (Adiguzel ve ark., 2018).

Abd-Elnaby ve ark., (2016), *Streptomyces rochei* MHM13 kültür süpernatantı ile 22-85 nm boyutlarında AgNP sentezlemişlerdir. Üretilen NP'leri 5 farklı kanser hücre hattı karşısında antikanser özelliğinin olduğunu rapor etmişlerdir. Otari ve ark., (2012),

çalışmasında *Rhodococcus sp.*'nin AgNP sentezinde hücre içinde bulunan NADH-bağımlı nitrat redüktaz enzimleri ile gerçekleştirebileceği rapor etmişlerdir.

Çizelge 1.1. Farklı bakteri suşları ile sentezlenen AgNP'lerin özellikleri ve uygulama alanları

Bakteri Suşu	Gümüş Tuzu	Şekil	Boyut (nm)	Uygulama	Referans
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	AgNO ₃	Küresel	10-20	Antioksidan ve antimikrobiyal aktivite	Abishad ve ark., 2022
<i>Bacillus sp.</i>	AgNO ₃	Küresel	22-41	Antifungus aktivite	Ajaz ve ark., 2021
<i>Streptomyces sp.</i>	AgNO ₃	Küresel	10-30	Antibakteriyel aktivite	Goel ve ark., 2021
<i>Pseudoduganella eburnean</i>	AgNO ₃	Küresel	8-24	Antibakteriyel aktivite	Huq, 2020
<i>Bacillus siamensis</i>	AgNO ₃	Küresel	25-50	Antibakteriyel aktivite	İbrahim ve ark., 2019
<i>Bacillus cereus</i>	AgNO ₃	Küresel	20-40	Antioksidan ve antibakteriyel aktivite	Mujaddidi ve ark., 2021
<i>Bacillus brevis</i>	AgNO ₃	Küresel	41-68	Antibakteriyel aktivite	Saravanan ve ark., 2018
<i>Phenerochaete chrysosporium</i>	AgNO ₃	Küresel ve Oval	34-90	Antibakteriyel aktivite	Saravanan ve ark., 2018

Ayrıca literatür bilgisinde ne kadar da farklı bakterilerden AgNP'ler sentezlenmiş olsa da hiçbir çalışmada *Pseudomonas fluorescens* kullanılmadığı görülmüştür. Çeşitli maddelerden sentezlenen NP'ler kendilerinden şekil, boyut, optik, antibakteriyel özelliği, toksisite ve kristalizasyon gibi farklı özellikler göstermektedir. Bu literatür bilgilerine dayanarak, tez kapsamında, *Pseudomonas fluorescens* kullanılarak ilk kez AgNP'lerin sentezi yapılmıştır.

AgNP'lerin antikanser, antiplazmodiyal, antioksidan, antifungisit, antiviral, antienflamatuar aktiviteleri gibi özelliklerinden dolayı farmakolojik uygulamalarda yer almaktadır (Singh ve ark., 2019). Bunun yanında AgNP'ler antibakteriyel özellikleri sayesinde tekstil, tarım, ilaç dağıtımı, endüstriyel uygulamalar, gıda saklama kapları ve ambalajları, elektronik bileşenler, antiseptik spreyler ve biyomedikal alanda -ameliyat maskelerinde, bandajlarda, dezenfektanlar ve kateterler gibi tıbbi araç gereçlerde geniş

bir yelpazede kullanılmaktadır (Gandhi & Shende, 2021; Castillo-Henrriquez ve ark., 2020). AgNP'lerin kan pıhtılaşmasını önleyici etkisi nedeniyle anti-pıhtılaşma formülasyonlarında kullanılabileceğini bildirilmiştir (Lateef ve ark., 2015). Antimikrobiyal aktivite açısından AgNP, iyon halindeki gümüşten daha etkili olduğu raporlanmıştır (Rai ve ark., 2021). Öte yandan gümüşün, memeli hücrelerine karşı düşük toksisite göstermektedir (Zhao & Stevans, 1998).

Bacillus türleri ile üretilen AgNP'leri ilaç taşınımında kullanımıyla ilgili çalışmaları da mevcuttur (Dey ve ark., 2016). Ayrıca, bu AgNP'lerin antikanser ajanı olarak değerlendirildiği araştırmalar da literatürde yer almaktadır (Rajeshkumar ve ark., 2016). Bununla birlikte, antimikrobiyal özelliklerinden dolayı patojenik mikroorganizmaların ilaç direnci geliştirmesi, araştırmacıları yeni antimikrobiyal ajanlar bulmaya yöneltmiştir. Gümüş içerikli kremler, losyonlar, pomadlar, yara ve yanık tedavilerinde tıbbi yöntemler olarak kullanılmaktadır. Gümüş iyonları ile sülfadiazin birleşiminden oluşan ve antimikrobiyal ajan olan gümüş sülfadiazin, özellikle yanık ve cerrahi yaralarında enfeksiyon kontrolü amacıyla geliştirilmiştir. Minimal doku reaksiyonu ve düşük toksisitesi sayesinde klinik olarak tercih edilmektedir (Fox, 1983).

Sondi & Salopek-Sondi, (2004), tarafından yapılan çalışmada AgNP'lerin *Escherichia coli*'ye (*E. coli*) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, *E. coli* hücrelerinin hücre duvarında AgNP birikimi ve hücrelerde çukurlar meydana getirerek hücre ölümüne yol açmıştır. Aynı *E. coli*'de, daha büyük yüzey / hacim oranına sahip küçük NP'ler, büyük NP'lere göre daha etkili antibakteriyel aktivite gösterdiğini söylemişlerdir (Baker ve ark., 2005).

AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi sadece boyuta bağlı değil aynı zamanda şekle de bağlıdır. AgNP'lerin gram negatif bakteride *E. coli* ile şekle bağlı olarak etkileşime girdiği rapor etmişlerdir (Morones ve ark., 2005; Pal ve ark., 2007). Başka bir çalışmada AgNP'lerin *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal etkilerinin araştırmak için düşük konsantrasyonlarında AgNP maya ve *E. coli*'de büyümenin tamamen inhibe etmiştir ve *S. aureus*'ta ise gelişime etkisinin daha az olduğu belirtmişlerdir (Kim ve ark., 2007).

AgNP'ler, gelişmiş optik performansları sayesinde hassas algılama sistemlerinde; biyosensörler, kemosenörler ve genel sensör teknolojilerinde kritik bir rol oynamaktadır.

Bu NP'lerin yüzey plazmon rezonansı (SPR) gibi fiziksel özellikleri, sensörlerin duyarlılığını ve seçiciliğini önemli ölçüde artırarak, biyolojik ve kimyasal analizlerde yüksek doğruluk ve hız sağlamaktadır. Biyosensör ve kemosensör alanlarında AgNP'lerin kullanımı, özellikle yüksek duyarlılık, hızlı tepki süresi ve düşük maliyet avantajları nedeniyle, sensör performansının iyileştirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır (Malik ve ark., 2023).

Potansiyel ölçümüne dayanan potansiyometrik yöntemler, sensör araştırmacıları tarafından oldukça yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Potansiyometrik, biri referans diğeri ise çalışma (indikatör) elektrodu olmak üzere akımın hiç geçmediği veya çok az geçtiği bir elektrot sisteminin potansiyelinin zamana karşı ölçüldüğü elektroanalitik bir yöntem olarak adlandırılır (Işıldak & Özbek, 2021). Potansiyometrik yöntemler, oldukça kısa cevap zamanı, düşük tayin limiti, düşük maliyet, düşük enerji tüketimi, geniş doğrusal çalışma aralığı, hazırlanma kolaylığı, iyi hassasiyet ve çeşitli iyonik türlere karşı yüksek seçicilik sergilemesi dahil olmak üzere bilinen analitik tekniklere göre çok yönlü avantajlar sunmaktadır (Çetin ve ark., 2023; Işıldak ve ark., 2023). Potansiyometrik yöntemler sundukları bu avantajları sayesinde özellikle rutin analizlerde araştırmacılar tarafından ilgi odağı haline gelmiştir. Son yıllarda bu NP'ler nanosensör teknolojisinde de yer almaya başlamıştır. Bir nanosensör teknolojisinde temel olarak nanomateriyal, tanıma elemanı ve mekanizma (sinyal iletimi amacıyla) olması gerekmektedir (Vikesland, 2018). Literatürde, biyosentez yöntemi ile elde edilmiş AgNP'lerin suda amonyak tespit etmek amacıyla bir optik sensör olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Pandey ve ark., 2012). Sebastian ve ark., (2018), tarafından yürütülen bir çalışmada, biyosentezle elde edilen AgNP'lerin, elektrokimyasal algılama davranışları incelenmiştir ve suda bulunan toksik cıva iyonlarını hızlı bir şekilde algıladığı da tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması, AgNP'lerin bu üstün özelliklerinden yararlanılmasına dayanmıştır. Çalışmada, modifiye biyosentez yöntemleri kullanılarak AgNP üretimi gerçekleştirilmiş, karakterizasyonları yapılmış ve elde edilen AgNP'lerin antibakteriyel, sensör ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Böylece, biyosentez yöntemiyle elde edilen AgNP'lerin çok yönlü kullanım alanları bilimsel veriler ışığında ortaya konulmuştur.

Araştırmanın detayına indiğimizde ise, AgNP'ler biyosentez yöntem ile sentezlenmiş olup antibakteriyel, sensör ve antikanser özellikleri değerlendirilmiştir. Bu kullanımlar için iyi karakterize edilmiş olması gerekmektedir. Bu doğrultuda, sentezlenen partiküller

ilk olarak ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis) ile taranmış; AgNP'lerin yapılarının belirlenmesi için X-ışını difraktometrisi (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılmıştır. Sentezlenen AgNP'lerin morfolojik görünümü ve boyutları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskopu (TEM) ile incelenip değerlendirilmiştir. AgNP'lerin koloidal sistemler ve süspansiyonlar için yüzey yükü hakkında bilgi edinip partiküllerin kararlılığı, dağılma eğilimi ve etkileşimlerini değerlendirmek için zeta potansiyel ölçümü dahil olmak üzere çeşitli analitik teknikler kullanılmıştır. Karakterizasyon sonrası, patojen bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterebilecek uygun boyut ve özellikteki AgNP'lerin testleri gerçekleştirilmiştir. Sensör özelliğini teyit etmek için denemeler gerçekleştirilmiştir. Antikanser özelliğinin değerlendirilmesi için insan kolorektal kanser hücre hattı HCT116 üzerinde çalışma gerçekleştirilmiştir.

Bu tezde, literatür araştırmalarına bağlı olarak daha önce AgNP sentezinde kullanılmamış olan bakteri türleri kullanılmış ve denemelerin sonucunda elde edilen veriler karşılaştırılarak en ideal bakteri seçilmiştir. Bu bakteriler daha önceki çalışmalarımızda tarafımızdan doğadan izole edilmiş ve tanımlaması yapıldıktan sonra da saf kültür olarak depolanmıştır. Yapılan literatür taramasına göre, bu türlerle AgNP'ler sentezine yönelik yapılan bir çalışma bulunmadığını söyleyebiliriz. Suşlar tarafımızdan doğadan izole edildiği için bu suşlarla AgNP'ler sentezine yönelik bir çalışma olmadığını kesinlik kazanır. Dolayısıyla, birincil amacımız; doğal ortamından tarafımızca izole edilen bu suşların ilk kez gümüş özelliğinde NP yeteneğinin ortaya konması ve bu AgNP'lerin karakterizasyonudur.

Tez kapsamındaki çalışma ülkemizdeki ilk yeni özellikli AgNP biyosentez çalışmasıdır. Bu tez çalışmasında, antimikrobiyal özelliklere sahip, biyosensör uygulamalarında kullanılabilecek ve antikanser özelliği olan AgNP biyosentezi amaçlanmakta olup buna yönelik biyosentez gerçekleştirildi. Bu niteliğiyle tezde mevcut yaklaşımlardan ayrılarak özgün bir değer taşımaktadır. Buna bağlı olarak doğadan izole edilen bakterilerin biyosentez sürecinde kullanımı bu tez ile ilk kez ortaya çıkarılacaktır.

2 KURAMSAL TEMELLER

2.1 Nanoteknoloji

Nano ön eki, kökenini Yunanca'da “cüce” ya da “bodur” anlamına gelen “nanos” kelimesinden alır. Uluslararası Birim Sistemi'nde bir metrenin milyarda birini ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) karşılayan ölçü birimi ön ekidir. Nanomalzemeler, en az bir boyutu nano ölçeğinde, 1 ile 100 nm arasında değişen malzemelerdir. Örneğin, DNA molekülü yaklaşık 2.5 nm, proteinler 50 nm ve bir virüs yaklaşık 100 nm büyüklüğündedir (Hulkoti & Taranath, 2014). Karşılaştırma yapılırsa, insan saç telinin çapı yaklaşık 60.000 nm kalınlığındadır (Gnach ve ark., 2015). Bu küçük boyutları sayesinde nanomalzemeler, atom ve moleküllerden oluşan özel yapılar oluşturur.

Nanoteknoloji, maddelerin atom seviyesinde tasarımı, üretimi ve kontrolüyle ilgilenen bir bilim dalıdır (Rajeshkumar & Bharath, 2017). Bu bilim dalı, nano ölçek düzeyinde özgün kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip malzemelerin geliştirilmesini mümkün kılar. Fizik, biyoloji, moleküler biyoloji, kimya, mühendislik, genetik ve toksikoloji gibi çeşitli alanları bir araya getiren interdisipliner bir yaklaşım sergilemektedir. Optik, mekanik, uzay, elektronik, enerji, biyomedikal, kozmetik, gıda ve ilaç/gen taşıma gibi birçok sektörde geniş uygulama alanı bulmaktadır.

2.1.1 Nanoteknolojinin tarihçesi

Nanoteknoloji kavramı ilk kez 1959 yılında Amerikalı bilim insanı ve Nobel Ödülü sahibi Richard Feynman tarafından ortaya atılmıştır. Feynman, Amerikan Fizik Topluluğu'nun toplantısında, “There's Plenty of Room at the Bottom” (Aşağıda Daha Fazla Yer Var) başlıklı konuşmasında, maddeyi atomik düzeyde manipüle etme kavramını ele almıştır (Bayda ve ark., 2019). Japon bilim insanı Norio Taniguchi, Feynman'ın konuşmasından yaklaşık 15 yıl sonra, nanometre ölçeğinde gerçekleşen yarı iletken işlemleri tanımlamak için “nanoteknoloji” terimini ilk kullanan kişi olmuştur (Bayda ve ark., 2019). Nanoteknolojinin gelişiminde önemli bir dönüm noktası, 1980'li yıllarda yaşanmıştır. Bu dönemde, Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer tarafından taramalı tünelleme mikroskopunun (STM) keşfedilmesi ve ardından Harold Kroto, Richard Smalley ve Robert Curl tarafından fullerenlerin keşfi, alanın hızla ilerlemesine öncülük etmiştir. Bu gelişmeler, nanoteknolojinin bilimsel temellerinin atılmasında ve yaygın bir araştırma alanı haline

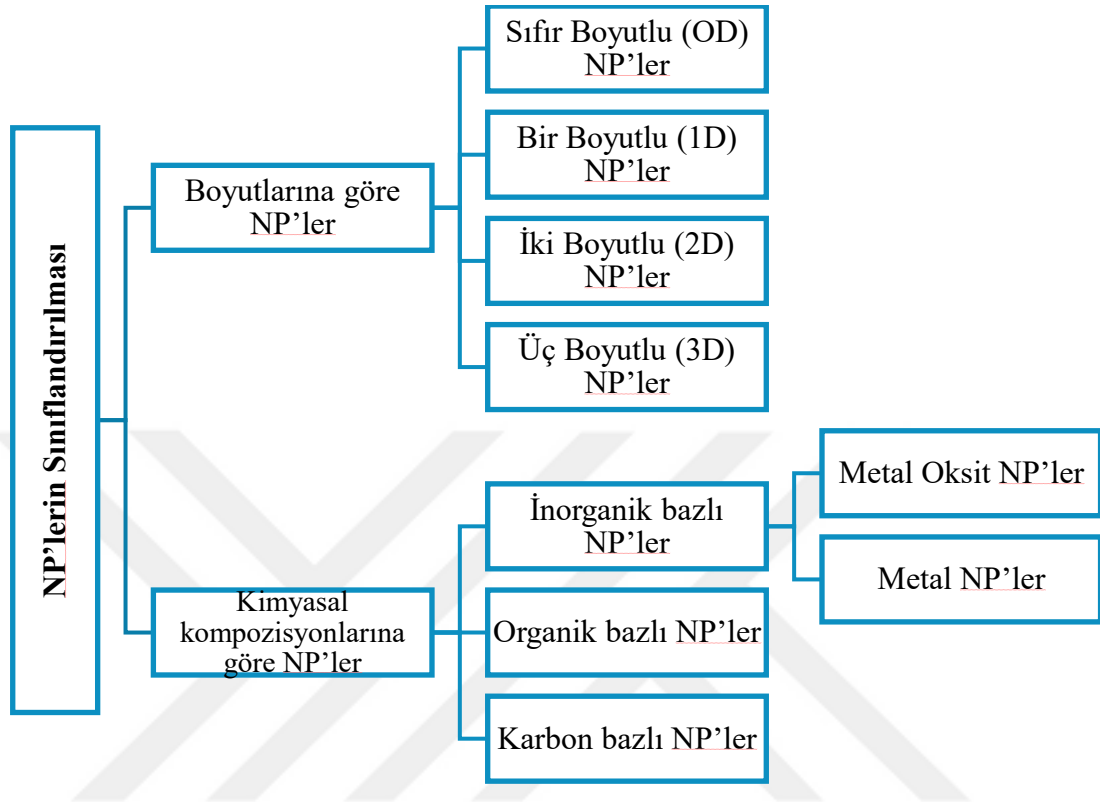
gelmesinde belirleyici olmuştur. Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nden Eric Drexler, 1986 yılında yayımladığı “Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology” adlı eserinde, Taniguchi'nin ‘nanoteknoloji’ terimi ile Feynman'ın “There is Plenty of Room at the Bottom” adlı konuşmasından yer vermiştir. Drexler, hem kendisinin hem de farklı karmaşıklıkta diğer nesnelerin kopyalarını oluşturabilecek nano ölçekli bir “montajlayıcı” (assembler) kavramını ortaya atmıştır. Drexler'in nanoteknoloji yaklaşımına yaygın olarak “moleküler nanoteknoloji” adı verilmektedir (Hulla ve ark., 2015). 1986 yılı içerisinde Gerd Binnig, Calvin Quate ve Christoph Gerber tarafından atomik güç mikroskopu (AFM) keşfedilmiş ve nanoteknoloji için önemli adımlarından biri daha atılmış oldu. 1986 yılı, AFM'nin keşfedilmesi, Drexler'in “Engines of Creatio” kitabı, STM'nin keşfedicilerine Nobel Ödülü verilmesi gibi olaylarla, nanoteknolojinin tarihindeki en önemli yıllardan biri olarak kabul edilir. 1991 yılında Japon araştırmacı Sumio İijima tarafından karbon nanotüpler keşfedilmiş. 2000 yılların başından bu zamana kadar nanoteknoloji bilimi, disiplinlerarası çalışmaların artmasıyla birlikte araştırma ve uygulama alanlarını genişleterek hızla gelişmiştir.

2.2 Nanopartiküller

Nanopartiküller, 1–100 nm boyutlarında, kendine özgü özellikleri, geniş yüzey alanı, yüksek tepkime yeteneği ve insan vücuduna kolayca girebilme özellikleriyle, tıp ve Tarım başta olmak üzere modern bilimin çeşitli alanlarında geniş uygulama alanları bulunan malzeme grubudur (Huq, 2020). Boyutları, dağılımları, morfolojileri ve sahip oldukları özellikler sayesinde biyolojik sistemlerle kolaylıkla uyum sağlayabilmektedirler. NP'ler, küçük boyutları sayesinde optik, mekanik, manyetik ve elektriksel özelliklerde avantajlar sunar (Khan ve ark., 2019). Bu avantajlar, yüksek yüzey-hacim oranları ile nano ölçekli yapılarda ortaya çıkan kuantum etkilerinden kaynaklanmaktadır (Baig ve ark., 2021).

NP'ler, yapısal kararlılıkları, çevresel faktörlere karşı gösterdikleri duyarlılık, toksisite potansiyelleri, oksidasyon ve indirgenme eğilimleri ile antimikrobiyal aktiviteleri gibi çeşitli ve çok yönlü kimyasal davranışlar sergilemektedir (Eker ve ark., 2024; Abbasi ve ark., 2023; Sharmin ve ark., 2021; Wang ve ark., 2017).

2.2.1 Nanopartiküllerin sınıflandırılması



Şekil 2.1. NP'lerin boyut ve kimyasal kompozisyonlarına göre sınıflandırılması.

Boyutlarına göre sınıflandırmada NP'ler; sıfır boyutlu (0D), bir boyutlu (1D), iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) olmak üzere dört alt gruba ayrılmaktadır. Bu sınıflandırma, partiküllerin fiziksel şekil ve yüzey alanı özelliklerine dayanmaktadır.

Kimyasal kompozisyona dayalı sınıflamada ise NP'ler; inorganik, organik ve karbon bazlı olarak üç ana gruba ayrılmaktadır. İnorganik NP'ler ayrıca metal NP'ler ve metal oksit NP'ler olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Bu sınıflandırma, NP'lerin yapısal özellikleri ve kullanım alanları hakkında temel bir çerçeve sunmaktadır.

NP'ler yaygın olarak bu kriterlere göre sınıflandırılrsa dahi literatürde onları beş temel gruba ayıran alternatif sınıflandırma modelleri de bulunmaktadır. Mamataj ve ark., (2025), NP'leri, metal NP'ler, polimerik NP'ler, manyetik NP'ler, yarıiletken kuantum noktaları ve karbon bazlı nanoyapılar olmak üzere beş temel grupta sınıflandırmışlardır.

Metalik nanomalzemeler, sentez kolaylığı ile yapı, boyut, şekil ve bileşimlerinin kontrol edilebilirliği sayesinde yüksek düzeyde uyarlanabilirliğe sahiptir. Bu özellikleri, onları diğer mühendislik ürünü NP'ler arasında öne çıkarır. Araştırmacılar, bu esneklik sayesinde metalik NP'lerin özelliklerini hassas biçimde düzenleyerek kullanım alanlarını genişletebilmektedir (Mamataj ve ark., 2025).

Metalik NP'ler altın, bakır, çinko, demir, gümüş, selenyum ve titanyum gibi çeşitli çeşitlerde karşımıza çıkar. Metalik NP'ler arasında özellikle altın nanopartiküller (AuNP) ve gümüş nanopartiküller (AgNP) yaygın olarak çalışılmakta ve geniş uygulama alanlarına sahiptir. Bakır, çinko, demir ve titanyum NP'ler de önemli olup, çeşitli sentez ve uygulama çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. Öte yandan, selenyum NP'ler biyomedikal uygulamalarda ve bazı katalitik süreçlerde araştırılan daha özel bir grubu temsil eder (Wadhwani ve ark., 2016).

2.2.2 Gümüş nanopartiküller

Gümüş (Ag), doğada yaygın olarak bulunan, düşük maliyetli ve çeşitli dikkat çekici fiziksel ile kimyasal özellikleriyle öne çıkan bir elementtir (Qamer ve ark., 2021). Ag, yüksek antimikrobiyal aktivitesiyle uzun süredir bilinmektedir. Bu özelliği tarihsel olarak çeşitli tedavi uygulamalarında kullanılmıştır. Ancak antibiyotiklerin keşfiyle birlikte önemi azalmıştır. Günümüzde, antibiyotiklere karşı gelişen direnç nedeniyle özellikle NP formundaki gümüşün antimikrobiyal etkinliği yeniden önem kazanmıştır (Rai ve ark., 2009).

AgNP'ler yeni gelişen metalik nanomalzeme grupları arasında yer almaktadır. AgNP'lerin etkileyici fizikokimyasal özellikleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmeyi başarmıştır. Yüzey kimyası, bileşimi, morfolojisi, şekli, boyutu, dağılımı, çözelti içindeki reaktivitesi, çözünme hızı, iyon salınım etkinliği, adsorpsiyon ve absorpsiyon gibi özellikleriyle antikanser, antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan gibi birçok alanda avantajlı bir materyal olarak öne çıkmaktadırlar (Aliero ve ark., 2025).

AgNP'ler, küçük boyutları sayesinde hücre zarlarından kolayca geçip antibakteriyel etki gösterirken, yüksek enerjileri nedeniyle kümelenip etkinliklerini azaltabilmektedirler (Morones ve ark., 2005). Bu sorunu aşmak için polimer veya benzeri malzemeler üzerine yüklenerek stabilize edilirler ve böylece NP'lerin şekli, boyutu, yüzey yükü ve dağılımı

kimyasal davranışlarını ve çevreyle etkileşimlerini belirlerken, fitokimyasallar ise antioksidan aktivitelerini sağlayabilirler (Li ve ark., 2019). Ayrıca, optik özellikleri sayesinde renk değişimi, ışık saçılması, floresans ve kimyasal ışık yayılımı gibi farklı yöntemlerle çalışan çeşitli sensörlerde kullanılabilmektedirler (Mamataj ve ark., 2025).

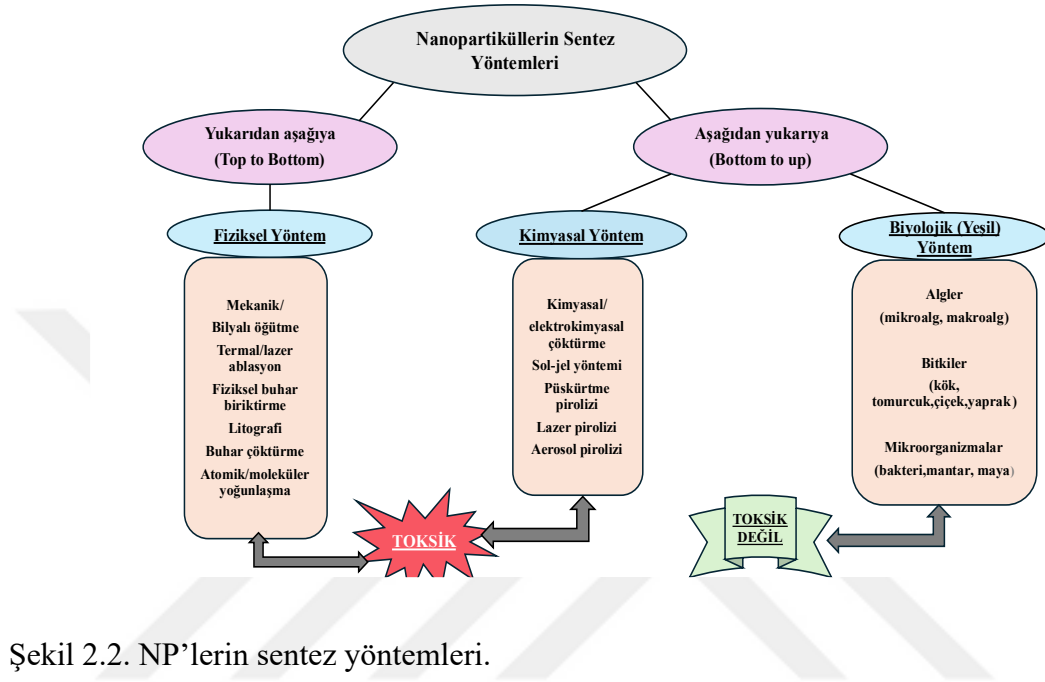
NP'ler küçük boyutları sayesinde hücre zarını kolayca geçip hücre içi yapılarla etkileşerek çeşitli hasarlara yol açabilirler (Nel ve ark., 2009). AgNP'ler de bu etkileri hücre duvarı bozulması, enerji üretiminin aksaması, radikal oluşumu, protein ve enzim fonksiyonlarının bozulması ve DNA hasarı gibi şekillerde gösterebilmektedirler (Patil & Kim, 2017). AgNP'ler, insan organlarına nüfuz edebilme ve hücre zarlarını geçebilme yetenekleri sayesinde yüksek biyoyararlanım potansiyeline de sahiptirler (Tan ve ark., 2021). Bu partiküller, sahip oldukları geniş yüzey alanı sayesinde, aynı kimyasal bileşime sahip daha büyük partiküllere kıyasla daha yüksek biyokimyasal reaktivite, katalitik aktivite ve atomik etkileşim gösterirler. Bu özellik, AgNP'lerin biyolojik uygulamalarda daha etkili olmalarını sağlamaktadır (Rafique ve ark., 2017).

AgNP'ler, kataliz, plazmonik, optoelektronik, biyosensör, antimikrobiyal aktivite, DNA dizileme, yüzey güçlendirilmiş Raman saçılması (SERS), iklim değişikliği ve kirlilik kontrolü, temiz su teknolojisi, enerji üretimi, bilgi depolama gibi çeşitli alanlarda ve özellikle ilaç taşıma sistemleri, tedavi yöntemleri, gen terapisi ve terapötik uygulamalarda önemli potansiyele sahiptirler (Huq, 2020; Rafique ve ark., 2017). Bu sayede AgNP'ler yoğun ilgi görmektedir.

2.3 Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

NP'lerin sentezinde iki temel yaklaşım bulunmaktadır: Yukarıdan aşağıya (top-down) ve aşağıdan yukarıya (bottom-up). Yukarıdan aşağıya yöntemi, bulk (hacimli) malzemelerin dışarıdan uygulanan fiziksel işlemlerle (örneğin öğütme, taşlama, lazer ablasyonu ve fiziksel buhar biriktirme gibi tekniklerle) nanometre boyutuna indirgenmesini sağlamaktadır (Vanlalveni ve ark., 2024). Aşağıdan yukarıya yöntemi ise atom veya moleküllerin kimyasal ve biyolojik süreçler aracılığıyla kontrollü bir şekilde birleşerek çekirdekler oluşturmaları ve bu çekirdeklerin büyüyerek nano boyutlu yapılara dönüşmesi esasına dayanmaktadır (Vanlalveni ve ark., 2024).

Yukarıdan aşağıya yöntemi fiziksel küçültmeye odaklanırken, aşağıdan yukarıya yöntemi ise büyüme ve şekil de kontrol sağlama gibi avantajlar sunmaktadır. Bu yönüyle kimyasal ve biyolojik yöntemler olmak üzere iki temel alt kategoriye ayrılır (Fahim ve ark., 2024).



Şekil 2.2. NP'lerin sentez yöntemleri.

NP'ler, atomların kendiliğinden birikerek nano boyutta partikülleri oluşturduğu aşağıdan yukarıya veya büyük hacimli malzemelerin çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle küçültüldüğü yukarıdan aşağıya yöntemleriyle üretilmektedirler (Gahlawat & Choudhury, 2019). Kimyasal yöntemler düşük enerji tüketimi ve partikül boyutu ile şeklinin homojenliği gibi avantajlar sağlamanın yanı sıra toksik kimyasallar kullanımı nedeniyle çevresel ve biyomedikal uygulamalarda sınırlamalar getirmektedir. Bu nedenle, NP'lerin boyut, morfoloji, stabilite ve özelliklerini etkili şekilde kontrol eden çevre dostu sentez yöntemlerinin geliştirilmesi günümüzde öncelikli araştırma alanıdır (Gahlawat & Choudhury, 2019).

Fiziksel ve kimyasal yöntemler genellikle yüksek maliyetli olup toksik atık üretmeleri nedeniyle çevreye zarar vermektedir. Buna karşın, mikroorganizmalar ve bitkiler kullanılarak gerçekleştirilen biyolojik NP sentezi, toksik olmayan ve çevre dostu substratlar kullanması ile daha basit bir sentez süreci sunmaktadır (Cekuolyte ve ark., 2023). Ayrıca biyomoleküllerin doğal stabilizatör olarak işlev görmesi sayesinde

agregasyonu azaltarak NP'lerin stabilitesini artırmaktadır (Cekuolyte ve ark., 2023). Biyolojik NP sentezinin çevre dostu ve stabiliteyi artırıcı özelliklerinin yanı sıra, sürdürülebilir üretim süreçlerinde indirgeme ve kapsama ajanlarının rolü de büyük önem taşımaktadır. Sentezlenen NP'lerin yaygın ve çeşitli alanlarda kullanılması, sentez süreçlerinin yalnızca verimli değil aynı zamanda sürdürülebilir olmasını da zorunlu kılmaktadır. Bu doğrultuda, fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif olarak gelişen biyolojik sentez stratejilerinde, indirgeme (reducing) ve kapsama (capping) ajanlarının süreçteki rolü öne çıkmaktadır (Chugh ve ark., 2021; Iravani ve ark., 2014). Bu ajanlar sayesinde partikül morfolojisi ve yüzey özellikleri kontrol edilerek uygulama verimliliği artırılabilir (Dhaka ve ark., 2023). Mikroorganizmalar (bakteriler, aktinomisetler, mantarlar, algler, virüsler ve mayalar) tarafından gerçekleştirilen biyosentez yöntemi, geleneksel NP sentez tekniklerine çevre dostu, düşük maliyetli ve toksik olmayan bir alternatif sunmaktadır. Bu biyolojik süreçler sayesinde farklı boyut, şekil, bileşim ve fizikokimyasal özelliklere sahip NP'ler üretilebilmektedir. Ayrıca, bu mikroorganizmalara ait enzimler ve biyomoleküller, nano ölçekli partiküllerin sentezi ve organizasyonu için şablon görevi görerek, sentez mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (Gahlawat & Choudhury, 2019). Son beş-altı yılda bu alandaki gelişmeler, mikroorganizmaların metal NP üretimindeki rolü, avantajları, uygulama alanları ve büyük ölçekli üretim teknikleri üzerine yoğunlaşarak bilimsel literatürde önemli ilerlemeler kaydetmiştir (Gahlawat & Choudhury, 2019).

2.4 Biyolojik Sentez (Biyosentez) Yöntemi

NP'lerin biyolojik sentezi, kimyasal olmayan reaktiflerin kullanıldığı çevre dostu, yeşil yaklaşımlı yöntemler olarak tanımlanabilir (Kaabipour & Hemmati, 2021). Günümüzde, doğadaki kaynakların giderek azalmasıyla birlikte, ekosistemin sağlıklı işleyişi açısından büyük önem taşıyan ancak daha önce pek dikkat çekmeyen canlılara yönelik bilgi düzeyimiz farklılaşmıştır. Bu canlıların biyolojik sentezdeki önemi hakkındaki bakış açımız da önemli ölçüde değişmiştir. Biyolojik sentezde kullanılan bu canlılar, NP sentezinde indirgeme ajanı olarak görev yapabilen çeşitli faydalı bileşikler içerir (Mamataj ve ark., 2025). NP oluşumu, bu canlılarda bulunan protein, enzim gibi moleküller aracılığıyla indirgenme yoluyla gerçekleştirilir. Bu canlıların önemi arttıkça, NP üretiminde kullanılan geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemlerin çevresel ve ekonomik dezavantajları da daha belirgin hale gelmiştir. Fiziksel ve kimyasal NP üretim

yöntemlerinin pahalı, toksik ve çevre dostu olmamaları nedeniyle, araştırmacılar mantarlar, mayalar, bakteriler ve aktinomisetler gibi mikroorganizmaların yanı sıra bitkiler, bitki özleri ile zarlar, virüsler, DNA ve diyatomlar gibi biyolojik şablonları kullanarak biyolojik sentez yöntemleri geliştirmiştir (Rafique ve ark., 2017). Enerji verimliliği, sürdürülebilirlik, yenilenebilirlik ve sentetik kimyasallar ile bunların modifiye edilmiş türevlerinin kullanımının azaltılması, biyolojik sentezin başlıca avantajları olarak sayılabilir. Ayrıca biyolojik yöntemlerle NP sentezi, daha hızlı üretilbilmeleri durumunda ticari açıdan daha uygulanabilir ve ekonomik bir seçenek haline gelecektir. Çünkü hızlı üretim, süreç verimliliğini artırarak maliyetleri düşürmekte ve endüstriyel ölçekte kullanımını kolaylaştırmaktadır (Shahverdi ve ark., 2007).

Biyolojik sentez, iki ana kategoriye ayrılabilir: hücre içi (intraseküler) sentez ve hücre dışı (ekstraseküler) sentez (Rai ve ark., 2021). Hücre içi sentez yönteminde NP'ler doğrudan hücrelerin içinde sentezlenirken, hücre dışı sentezde ise mikroorganizmaların hücre dışından elde edilen ekstraktlar kullanılır. Hücre dışı sentez, mikroorganizmalar ve bitkiler gibi canlıların hücre dışı materyalleri veya salgıları kullanılarak gerçekleştirilir. Biyolojik materyaller, NP sentezinde, biyoredükten ajanlar olarak görev yaparak, hücre kullanımı olmadan etkin bir sentez ortamı sağlamaktadır (Makarov ve ark., 2014).

2.4.1 AgNP'lerin biyolojik sentezi

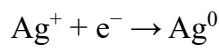
AgNP'lerin biyolojik sentezi, çevresel sürdürülebilirlik ve biyolojik sistemlerin indirgeme kapasitesine yönelik artan farkındalıkla birlikte önem kazanmıştır. Bu süreçte, bakteri, mantar, alg ve bitki gibi organizmalar, gümüş iyonlarını (Ag^+) bir gümüş öncülünden indirgemek için kullanılır (Siddiqi ve ark., 2018). Bu proses, toksik olmayan yenilenebilir malzemelerle, hafif reaksiyon koşullarında ve büyük ölçekli üretim imkânları sunan çevre dostu ve sürdürülebilir bir yöntemdir. Bitki özleri indirgeme ajanı olarak görev yaparken, mikroorganizmalar ise enzim ve biyomoleküller aracılığıyla metal iyonlarını NP'lere dönüştürür (Mamataj ve ark., 2025; Vanlalveni ve ark., 2024). AgNP'lerin biyosentezi, biyolojik organizmalarda bulunan biyomoleküllerin gümüş nitrat ($AgNO_3$) gibi gümüş tuzlarını indirgeyerek NP oluşturmada katalizör olarak görev aldığı, zararlı kimyasal kullanımı gerektirmeyen, çevre dostu bir yöntemdir (Vanlalveni ve ark., 2024). Bakteriler; büyük ölçekli üretim kapasiteleri, hızlı hücre büyüme hızları ve kolay kullanım avantajları nedeniyle en çok tercih edilen organizmalardır. AgNP sentezi, pH, sıcaklık, çalkalama hızı, metal iyonu konsantrasyonu, mikroorganizma türü ve inokülüm

miktarı gibi çeşitli parametrelerin dikkatli optimizasyonunu gerektiren karmaşık bir süreçtir (Solís-Sandí ve ark., 2023). AgNP'lerin sentez süreci, metal öncüller (AgNO_3), indirgeme ajanları (bakteriyel süpernatant gibi) ve stabilize edici maddeler (ekstraselüler proteinler, polisakkaritler gibi) olmak üzere üç temel bileşeni içerir. Sentez iki aşamalı olup, önce çekirdeklenme sonra kontrollü büyüme gerçekleştirilir. NP'lerin boyut, şekil ve homojenliği sıcaklık, pH, madde oranı ve tepkime süresi gibi parametrelerin hassas ayarlarıyla belirlenir. Bu nedenle homojen ve tekdüze AgNP elde etmek için tepkime koşullarının dikkatle optimize edilmesi gerekir (Ahmad ve ark., 2020).

NP'lerin biyosentezinde mikroorganizmaların kullanıldığı yeni yöntemlerin, birçok geleneksel ve gelişmekte olan teknolojiye önemli bir rol oynaması beklenmektedir. Yapılan birçok çalışma, mikroorganizmaların hem hücre içi hem de hücre dışı süreçlerle AgNP'ler sentezlendiği göstermiştir. Mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen AgNP'lerin hücre dışı sentezi daha avantajlıdır çünkü sentez ortamını kontrol etmek daha kolaydır ve hücre içi senteze göre daha az aşama gerektirir (Cekuolyte ve ark., 2023).

2.4.2 Bakterilerle gümüş iyonlarının (Ag^+) metalik gümüş (Ag^0) indirgenmesi

AgNP'lerin sentezinde temel basamaklardan biri, gümüş iyonlarının (Ag^+) metalik gümüş formuna (Ag^0) indirgenmesi işlemidir (Sati ve ark., 2025). Bu süreç, bir redoks reaksiyonu kapsamında gerçekleşmekte olup gümüş iyonlarının bir elektron alarak indirgenmesiyle tanımlanır:



Bu indirgenme, uygun bir indirgen maddenin varlığında gerçekleşir. Kullanılan mikroorganizma (bakteri) hücre içeriğinde bulunan redüktaz enzimleri, proteinler, polisakkaritler ve benzeri biyomoleküller sayesinde bu elektron transferini sağlayarak indirgen ajan görevi görmüştür. Önceki çalışmalarda, AgNP'lerin hücre dışı sentezinin nitrat redüktaz enzimi aracılığıyla gerçekleştiği de görülmüştür. Bu nitrat redüktaz enzim, nitratı nitrite dönüştürerek gümüş iyonlarına elektron aktarımını sağladığı ortaya çıkarılmıştır (Tariq ve ark., 2020). Bu tür biyolojik aracılı indirgen sistemler, çevre dostu yaklaşımların bir parçası olarak biyolojik sentez yöntemlerinde yaygın olarak tercih edilmektedir.

Ag⁺ iyonlarının Ag⁰ atomlarına indirgenmesinin ardından, bu atomlar çözeltide bir araya gelerek nükleasyon (çekirdeklenme) başlatır (Sati ve ark., 2025). Bu aşamayı, çekirdeklerin büyümesiyle karakterize edilen bir büyüme fazı takip eder. Nükleasyonun başlangıç kinetiği ve büyüme hızı, sentez ortamındaki pH, sıcaklık, indirgen madde konsantrasyonu gibi parametrelerden doğrudan etkilenmektedir (Dawadi ve ark., 2021). Bu parametreler ise elde edilen NP'lerin boyutunu, morfolojisini ve kararlılığını etkileyen faktörlerdendir (Siddiqi ve ark., 2018).

2.4.3 AgNP'lerin bakteri ile biyosentezi

AgNP'lerin sentezi ve stabilitesi, mikroorganizmalardaki enzimler, proteinler ve biyotensoaktif gibi biyomoleküller aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ayrıca, hem bakteri süpernatantları hem de hücre içi özütler stabil AgNP sentezleyebilmektedir (Solís-Sandí ve ark., 2023). Bu biyoproseste bakteriler, indirgeme ajanları olarak etkili rol oynayan redüktaz ve dehidrogenaz enzimlerini kullanmaktadır. Nitekim yapılan araştırmalar, bakteri kaynaklı özütler, küçük boyutlu ve yüksek stabiliteye sahip AgNP'ler sentezleyebildiğini ortaya koymaktadır (Fahim ve ark., 2024). Özellikle hücre dışı sentez, düşük maliyeti, büyük ölçekli üretime uygunluğu ve basit saflaştırma süreçleri nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir. Buna karşılık hücre içi özütle yapılan sentezde ise hücre lizisi ile aktif moleküllerin serbest bırakılması gerekmektedir. Günümüzde çalışmaların çoğu hücre dışı senteze odaklanmış olsada, süpernatant ve hücre içi özütlerin karşılaştırıldığı çalışmalar da sınırlı olsa dahi bulunmaktadır. Bununla birlikte, söz konusu karşılaştırmaların, farklı bakteri suşları ve deney koşullarında yapılmakta olup, uygun sentez protokollerinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (Solís-Sandí ve ark., 2023). Öte yandan *Pseudomonas stutzeri* başta olmak üzere *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus flexus*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus* gibi Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler hem hücre dışı hem de hücre içi mekanizmalarla, süpernatant, hücre dışı özüt veya doğrudan hücre kullanarak farklı morfolojik şekillerde AgNP sentezleyebilmektedir (Siddiqi ve ark., 2018).

AgNP'ler, bakteriyel proteinler tarafından tek veya çok katmanlı örtülerle stabilize edilerek kümelenmeleri önlenmektedir. Enzimler ve yapısal proteinler stabiliteye katkı sağlamaktadır. Ayrıca, bakteriyosinler ve enzimlerin farklı koşullarda AgNP'leri stabilize etme potansiyeli araştırılmış ve AgNP'lerin hem Gram pozitif hem de Gram negatif

bakterilere karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Mamataj ve ark., 2025).

2.5 AgNP'lerin Potansiyel Uygulamaları

AgNP'ler, sahip oldukları benzersiz özellikleri sayesinde pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalar genel olarak tıbbi ve çevresel/teknolojik alanlarda sınıflandırılabilir.

Rafique ve ark., (2017), derlemelerinde AgNP'lerin uygulama alanları aşağıdaki gibi özetlemiştir: AgNP'ler tıbbi alanda çeşitli uygulamalara sahiptir. Bunlar arasında diş çimentoları, yanık ve yara iyileşmesinde destekleyici ürünler, cilt tedavileri ve kozmetik uygulamalar önemli yer tutar. Ayrıca ortopedik rekonstrüktif cerrahi ve kemik çimentoları, tıbbi cihazlar ve plastik kateterler, hedefe yönelik ilaç taşıma sistemleri, tıbbi görüntüleme, biyolojik işaretleme ve tanı amaçlı kullanımlar bulunmaktadır. Kanser tedavisinde, hastane tekstilleri (yüz maskeleri, cerrahi önlükler, solunum maskeleri) kaplamalarında ve eklem protezleri ile ortopedik-ortodontik implantların kaplanması da etkin şekilde kullanılmaktadır (Rafique ve ark., 2017).

Çevresel ve endüstriyel uygulamalar ise oldukça çeşitlidir. Kişisel bakım ve tüketici ürünleri olarak sabun, diş macunu, şampuan ve deodorant gibi ürünlerde; gıda güvenliği ve ambalajlama alanında tercih edilmesinin yanı sıra nutrasötik ürünlerde yaygın şekilde tercih edilmektedir. Elektronik bileşenler, sensörler ve entegre devrelerde kullanımı yaygındır. Ayrıca antibakteriyel, antimikrobiyal, antiviral ve antifungal ajan olarak da görev yapar. Hava dezenfeksiyonu, içme suyu arıtımı, atık su ve yeraltı suyu dezenfeksiyonu ile yüzey dezenfeksiyonu uygulamalarında etkinlik göstermektedir. Güneş kremleri, tekstil boyaları, nemlendiriciler ve mutfak eşyalarında yer alırken; biyosensörler ve gıda analiz sistemlerinde de kullanımı yaygındır. Ayrıca nanotel ve yüksek enerjili batarya teknolojilerinde de önemli bir rol oynamaktadır (Rafique ve ark., 2017).

AgNP'lerin antibakteriyel etkisi, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı geniş spektrumda etkinlik göstermektedir. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia hermannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens* ve tarımsal bitki patojenleri gibi çok ilaca dirençli bakterilere karşı etkili

olduğu bilinmektedir. Antiviral özellikleri ise influenza virüsü, Herpes simpleks virüsü (HSV-1 ve HSV-2), maymun çiçeği virüsü, hepatit B ve solunum sinsityal virüsü (RSV) gibi çeşitli insan patojenlerine karşı antiviral aktivite göstermektedir. Bunun yanı sıra AgNP'ler antifungal olarak *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* ve *Trichophyton mentagrophytes* gibi mantar türlerine karşı fungisidal aktivite sergilemektedir (Rafique ve ark., 2017).

2.6 AgNP'lerin Karakterizasyon Yöntemleri

NP'lerin sentezini, anlamak ve değerlendirmek için NP'lerin karakterizasyonu kilit rol oynamaktadır (Natsuki ve ark., 2015). Bunun için ise NP'lerin doğası, boyutu, şekli, dağılımı, morfolojisi, stabilitesi, elementel bileşimi gibi özellikleri dikkate alınarak çeşitli karakterizasyon teknikleri kullanılır (Mamataj ve ark., 2025). Bu teknikler; ultraviyole spektrum analizi (UV–Vis), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), X-ışını kırınımı (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), dinamik ışık saçılması (DLS), zeta potansiyeli, taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) gibi pek çok yöntemlerden oluşmaktadır (Lasmi ve ark., 2025).

AgNP'lerin oluşum sürecini izlemek için UV-vis spektroskopisi, sentezin ilk aşamasında önemli bir yöntemdir (Mamataj ve ark., 2025). Sentezlenen NP'lerin iletkenlik bandındaki elektron titreşimleri ışık dalgaları ile rezonansa girer ve bu durum, UV–Vis spektrofotometreleri tarafından 400–500 nm aralığında kolayca tespit edilen bir yüzey plazmon rezonans (SPR) tepe noktası oluşturur (Dhaka ve ark., 2023).

FTIR ile AgNP'lerin indirgenmesi ve kaplanması; bileşikler, metabolitler ve yüzeylerindeki kimyasal kalıntılarla karakterize edilmekte olup bu yöntem moleküler bağ titreşimlerini kızılötesi ışınım yoluyla tanımlar (Mamataj ve ark., 2025).

NP'lerin küresel, düz, silindirik, tübüler, konik veya düzensiz olabilen şekilleri ile kristal ya da amorf yapıdaki, yüzeyindeki tutarlılık veya düzensizlik gösterebilen yüzey özellikleri, onların işlevselliklerini maksimuma çıkarılması açısından büyük önem taşır (Dhata ve ark., 2023). Boyut ve yüzey morfolojisinde ise SEM ve TEM gibi elektron mikroskobu görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır (Dhaka ve ark., 2023). TEM, ince bir örnekten geçen ya da örnekten saçılan elektronları kullanan bir mikroskopi tekniğidir

(Crisan ve ark., 2021). Elektron demetlerinin örnek yüzeylerini tarayarak yapısal, topografik ve elementel bileşim analizini sağlayan SEM'e kıyasla, TEM yaklaşık 1000 kat daha yüksek çözünürlük sağlayarak daha detaylı görüntüleme sunar (Dhaka ve ark., 2023). AFM yüzeylerinin üç boyutlu görüntülerini oluşturmak için kullanılan tekniktir (Crisan ve ark., 2021). Ek olarak AFM, NP'lerin boyut, şekil, absorpsiyon, yapı ve dağılımını ile agregasyonunu incelememizi sağlar. Bunların yanı sıra AFM, NP ile destekli lipid çift katmanları arasındaki etkileşimi gerçek zamanlı olarak karakterize etmek için de kullanılır (Lasmi ve ark., 2025).

DLS, kolloidal süspansiyonlarda saçılan ışığın zaman içindeki değişimi analiz edilerek, NP'lerin hareket ve dağılım bilgilerini elde etmemize yardımcı olur. Böylece moleküllerin hidrodinamik nano boyutlarını ölçer (Crisan ve ark., 2021; Lasmi ve ark., 2025).

EDS, yüksek enerjili elektronların numuneye çarpmasıyla açığa çıkan X-ışınlarının enerjisini ölçerek numunedeki elementleri tanımlamaktadır. Ayrıca NP'lerin elementel bileşimi ve iç yapılarındaki dağılımına dair sunduğu özgün verilerin analiz edilmesiyle beraber bu partiküllerin özelliklerinin ve davranışlarının derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Lasmi ve ark., 2025).

XPS ile bileşim ölçümü yapılır (Dhaka ve ark., 2023). Partiküllerin oksidasyon durumları, elementel bileşimi ve yüzey kimyası hakkında bilgileri elde etmemizi sağlamaktadır (Lasmi ve ark., 2025).

XRD, kristal yapı, faz bileşimi, örgü parametreleri ve kristalit boyutu gibi yapısal özelliklerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan en temel karakterizasyon tekniklerindendir (Crisan ve ark., 2021).

Zeta potansiyelinde ise kolloidal dağılımların stabilitesini analiz etmek için kullanılır. Yüksek pozitif/negatif yüke sahip partiküllerin birbirini iterek stabil kolloidal çözeltiler oluşturur (Crisan ve ark., 2021).

2.7 AgNP'lerin Biyolojik Etkilerini Belirleyen Faktörler

Lasmi ve ark., (2025), bir derlemelerinde AgNP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinde NP'lerin belirli fiziksel ve kimyasal özelliklerinin kritik bir rol

oynadığını detaylıca açıklamışlardır. Bu derlemede, NP'lerin şekli, boyutu, biyolojik sıvılardaki çözünürlüğü, agregasyon (topaklanma/kümeleşme) durumu, kimyasal bileşimi, spesifik yüzey alanı, kristal yapısı, yüzey morfolojisi, yüzey enerjisi, yüzey kaplaması ve yüzey yükü gibi faktörlerin, AgNP'lerin hücre içi alınımı, dağılımı, biyoyararlanımı ve toksisitesi üzerinde doğrudan etkileri olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, bu özelliklerin NP'lerin tıbbi ve çevresel uygulamalardaki etkinlik ve güvenliğini belirlemede önemli faktörler olduğu vurgulanmıştır. Bu bağlamda, AgNP'lerin tasarımı ve uygulamalarında bu parametrelerin dikkatle optimize edilmesi gerektiği belirtilmiştir (Lasmi ve ark., 2025).



3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Materyali

Yararlanılan cihazlar ve ekipmanlar

- Buzdolabı (Vestel)
- Çalkalamalı inkübatör (Labart)
- Derin dondurucu (Vwr Symphony)
- EDX cihazı (Zeiss)
- Hassas terazi (Radwag)
- İnkübatör (Memmert)
- Otoklav (Hirayama)
- Otomatik pipetler (Eppendorf)
- Ultra saf su cihazı (Minipure)
- Santrifüj (Hettich Universal)
- SEM (Zeiss)
- Steril laminar flow kabin (Thermo Fisher Scientific)
- TEM (Hitachi)
- Terazi (Radwag)
- Uv-Vis spektrofotometre (Shimadzu)
- Vorteks (IKA)
- Zeta potansiyel ölçüm cihazı (Malvern)
- XPS (SPECS)
- XRD (PANalytical)

Kullanılan bakteriler

- *Pseudomonas fluorescens*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Enterococcus faecalis*
- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*

Kullanılan besiyerleri

- Nutrient Agar (NA): Bakterilerin katı ortamda geliştirilmesi ve izolasyon amacıyla kullanılmıştır.
- Nutrient Broth (NB): Sıvı kültürde bakteri üretim ve gelişim amacıyla kullanılmıştır.
- Luria Bertani Broth (LB): Sıvı kültürde hızlı bakteri çoğaltım amacıyla kullanılmıştır.
- Mueller-Hilton Agar (MHA): Antibakteriyel deneyinde katı besiyeri olarak kullanılmıştır.

Kullanılan yıkama çözücüler

- Etanol (C_2H_5OH)
- n-Hegzân (C_6H_{14})

Kullanılan çözelti

- Gümüş Nitrat Çözeltisi (1 Mm, $AgNO_3$): Biosentezde gümüş iyonu kaynağı olarak kullanılmıştır. Çözelti, ultra saf su kullanılarak biosentez için hazırlanmıştır.

Kullanılan hücre hattı

- HCT-116, kolorektal kanser hücre hattı

3.2 Araştırma Metodu

3.2.1 Besiyerlerinin hazırlanması

NA, üretici firma (Biokar) protokolüne göre hazırlanmış olup ultra saf su ile çözündürülmüştür. $121^{\circ}C$ 'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Steril petri kaplarına dökülüp solid hale gelinceye kadar bekletilmiştir.

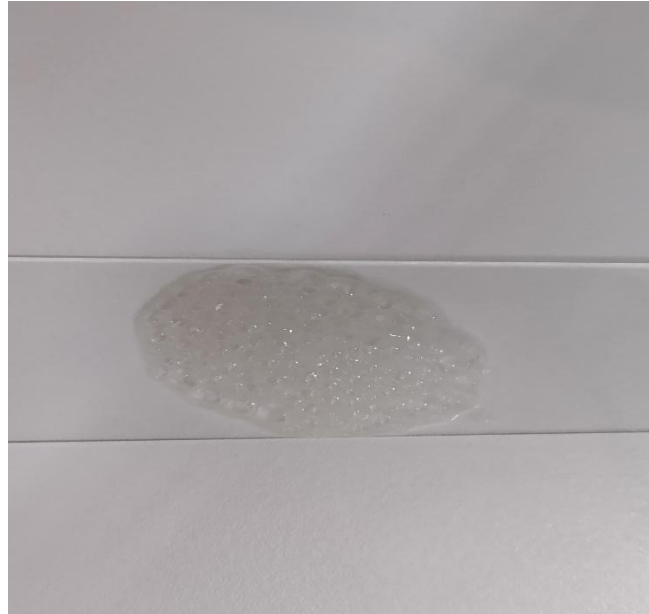
NB’de üretici firma (Biokar) protokolüne göre hazırlanmış olup ultra saf su ile çözündürülmüş ve 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sıvı kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

3.2.2 Mikroorganizmaların muhafazası

Bu çalışmada kullanılan bakteriler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Mikroorganizmalar -80°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Çalışmada kullanılacak bakteri izolatının seçilmesi

Çalışmada kullanılacak AgNP üretiminde uygun mikroorganizmanın belirlenmesi amacıyla toplamda 18 farklı bakteri türüne ait izolatlar değerlendirilmiştir. Bu izolatlar, katalaz testi gibi temel biyokimyasal analiz doğrultusunda karşılaştırılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, redüktaz enzimi pozitif olan bakteriler arasından en güçlü olan seçilmiştir. Çalışma için en uygun özellikleri gösterdiği belirlenen *Pseudomonas fluorescens* (*P. Fluorescens*) türü tercih edilmiştir.



Şekil 3.1. Katalaz testinde köpürme reaksiyon görseli.

3.2.4 Çalışmada kullanılacak AgNO₃ konsantrasyonunun seçimi

Çalışmada kullanılacak AgNO₃ konsantrasyonunun belirlenmesi için 0.1 mM, 1 mM ve 5 mM olmak üzere üç farklı konsantrasyonda ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, optimum etkiyi sağlayan 1 mM konsantrasyonu ile çalışmalara devam edilmiştir.



Şekil 3.2. Soldan sağa: Sadece *Pseudomonas fluorescens* bakterisi (kontrol), 0.1 mM, 1 mM ve 5 mM AgNO₃ konsantrasyonlarıyla inkübe edilen süspansiyonlarda gözlenen renk değişimleri.

3.2.5 Mikrobiyal aşı kültürlerinin hazırlık süreci

Ön denemelerde katalaz testine göre seçtiğimiz *P. fluorescens* bakterisi steril öze yardımıyla alınan örnekler NA besiyeri bulunan petrilere çizme plak yöntemi ile ekim yapılmış. Bu petrilere 28°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

24 saatin sonunda inkübasyon sonucunda gelişmiş olan mikroorganizma kolonisinden öze yardımıyla NB içeren cam şişelere aşılanmıştır. Bu cam şişeler 28°C’de 24 saat çalkalamalı inkübatöre (150 rpm) bırakılmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda elde edilen bakteriyel sıvı kültürler, kullanılmak üzere aşı kültürü olarak hazırlanmıştır (Varmazyari ve ark., 2020).



Şekil 3.3. *P. fluorescens* bakterisinin NA’da gelişimi.

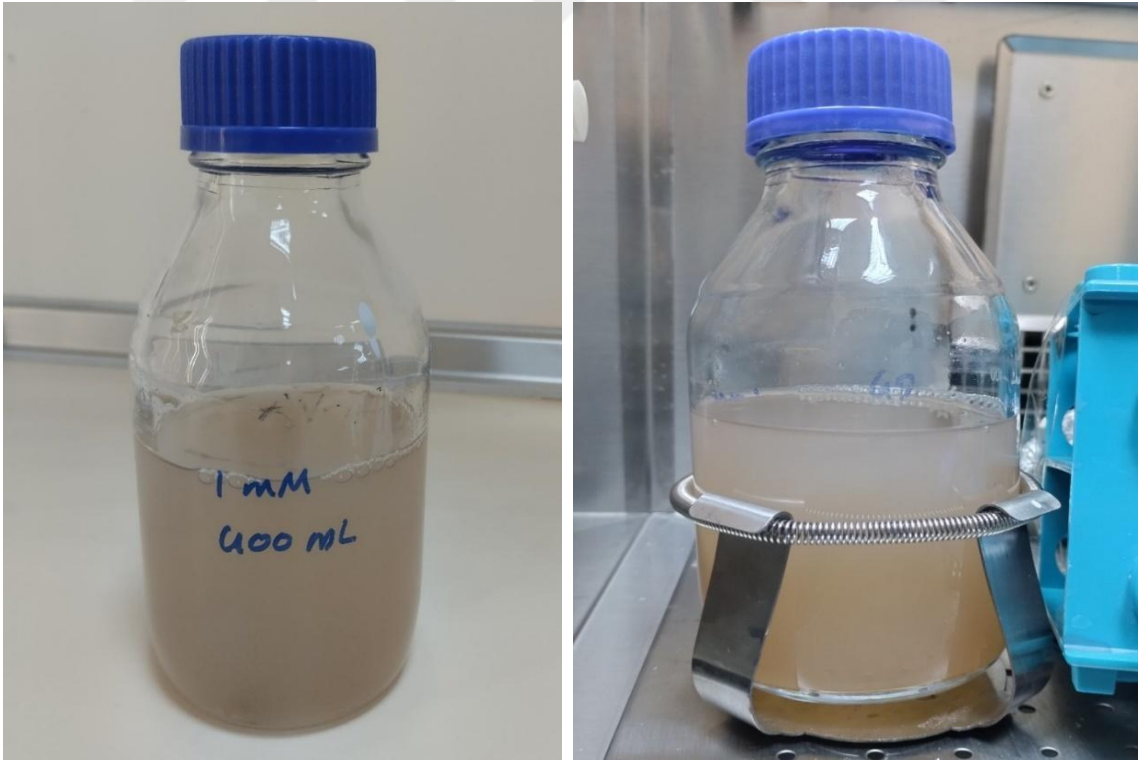


Şekil 3.4. Elde edilen aşı kültürler.

3.2.6 AgNP'lerin biyolojik sentezi ve saflaştırılması

Biyosentez protokolü literatürde mevcut olan John ve ark., (2020), tarafından yapılan çalışmadan ilham alınarak gerçekleştirilmiştir. Seçilen bakteriyel izolat, NB içeren cam şişelere inkübe edilerek 28 °C'de, 150 rpm'de, 24 saat çalkalamalı inkübatörde bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından kültürler santrifüj etmek amacıyla 4 500 rpm'de, 15 dakika boyunca cihaza yerleştirilmiştir. Süpernatant ve pelet olmak üzere iki fraksiyona ayrılmıştır. Biyosentez aşamasında pelet kısmı kullanılmıştır. Cam şişe içinde 1 mM konsantrasyonda AgNO₃ çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 67.952 mg AgNO₃ tartılmış ve 400 mL ultra saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Hazırlanan AgNO₃ çözeltisine, *P. fluorescens* bakterisine ait peletten 4 gram eklenmiştir. 150 rpm'de 30°C'de çalkalamalı inkübatörde bırakılmıştır. Renk değişim süreci 7 günlük periyot boyunca gözlemlenmiştir. İlk günden itibaren renk değişimi dikkat çekmiştir. 7 gün sonunda çözeltinin renginde bulanık saydam renkten kahverengiye doğru bir değişim gözlemlenmiştir. Bu durum gümüş iyonlarının indirgenerek AgNP oluştuğunu göstermiştir.



Şekil 3.5. AgNO₃ çözeltisi ile *P. fluorescens* bakteri peletinin birleştirilmesinden sonraki gün gözlenen renk değişimi: Kahverengimsi bulanıklık, AgNP oluşumuna işaret etmektedir.



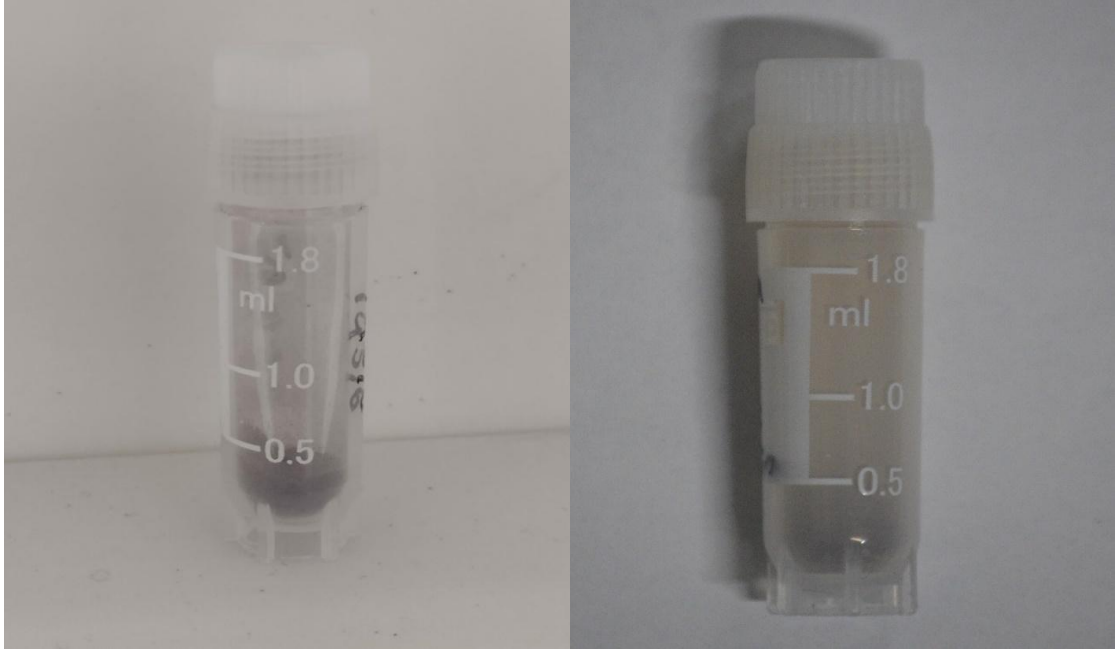
Şekil 3.6. AgNO_3 çözeltisi ile *P. Fluorescens* peletinin birleştirilmesinin 7. günü gözlenen renk değişimi.

Şekil 3.6’da görülen fotoğrafta kahverengiye dönüşmeye devam etme durumu gösterilmektedir. Bu da AgNP oluşumunun sürdüğünü ve çözeltinin stabil kaldığını göstermektedir.

İnkübasyonun yedinci gününde, oluşan AgNP’ler 9 500 rpm’de 15 dakika, 4°C santrifüj yapılarak çöktürülmüştür. Elde edilen pelet sırasıyla ultra saf su, etanol, n-hegzân ve son olarak yine ultra saf su ile yıkanmıştır. Santrifüj işlemi ile üst fazlar uzaklaştırılmıştır (Varmazyari ve ark., 2021). Ardından elde edilen AgNP peletleri, 60 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat boyunca kurutularak toz formuna getirilmiştir. Kurutulan AgNP, homojen bir toz elde edilmesi amacıyla steril bir porselen havanda öğütülmüştür. AgNP’ler ependorfa konulup karakterizasyon analizlerine hazır hale getirilmiştir.



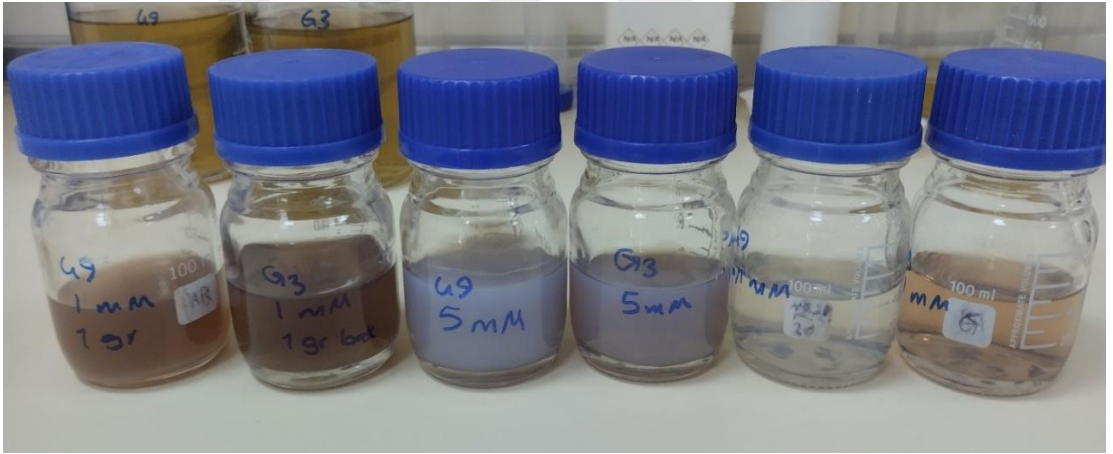
Şekil 3.7. Sadece AgNO_3 çözeltisi (kontrol) ve AgNO_3 ile *P. Fluorescens* peletinin birleşiminden elde edilen süspansiyonların renk karşılaştırılması



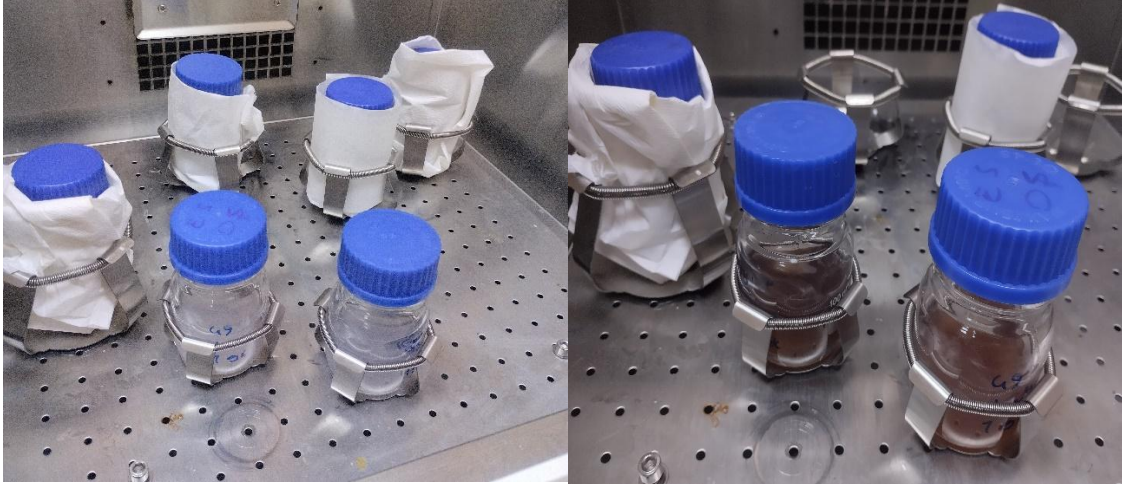
Şekil 3.8. Elde edilen AgNP'lerin ependorfa eklenmiş hali.



Şekil 3.9. Farklı AgNO_3 konsantrasyonlarıyla hazırlanan bakteriyel süspansiyonların, inkübasyondan iki gün sonra gözlenen renk değişimlerini gösteren ön deneme tüpleri.



Şekil 3.10. İki farklı bakteri (*Pseudomonas fluorescens* ve *Rhodococcus erythropolis*) türleriyle, süpernatant ve pelet fraksiyonları kullanılarak farklı AgNO_3 konsantrasyonlarında yapılan ön deneme tüplerinin altı gün sonraki görünümü



Şekil 3.11. AgNO_3 ve bakteri birleştirilmesi ile yapılan ön denemelerde ışık ve karanlık ortam koşullarının etkisi değerlendirildiği deneyin görüntüsü.

3.2.7 Elde edilen AgNP'lerin karakterizasyonu

Bu tez kapsamında biyosentez olarak elde edilen AgNP'lerin karakterizasyonu için çeşitli fiziksel ve kimyasal analiz yöntemler kullanılmıştır. AgNP'lerin boyut, şekil, dağılım, kristal yapı, yüzey morfolojisi, elementel bileşim, yüzey kimyası ve stabilite gibi özellikleri değerlendirilip analiz edilmiştir. UV-Vis spektrofotometresi ile optik özellikler, TEM ve SEM ile partikül morfolojisi ve boyut dağılımı, Zeta potansiyel analizi ile yüzey yükü ve kolloidal stabilitesi, DLS ile hidrodinamik çap ve dağılımı, XRD ile kristal yapısı, XPS ile yüzey kimyasal bileşimi ve EDS/EDX ile elementel bileşimi belirlenmiştir (Narayanan ve ark., 2021; Iqtedar ve ark., 2019). Tüm karakterizasyon yöntemleri, Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) laboratuvarlarından gerçekleştirilmiştir.

Uv-Vis spektroskopisi

AgNP'lerin optik özelliklerinin belirlenmesi için UV-Vis spektroskopisi analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için hazırlanan numune, DAYTAM İleri Spektroskopi Laboratuvarı'na gönderilmiş ve analizler Shimadzu UV-3600 Plus marka cihazı kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler, 200.0–1200.0 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

Geçirimli elektron mikroskopu (TEM)

AgNP'lerin morfolojik özelliklerini ve boyut dağılımını belirlemek için TEM analizi gerçekleştirilmiştir. Numune, DAYTAM İleri Görüntüleme Laboratuvarı bünyesinde yer alan Hitachi HighTech HT7700 marka cihaz kullanılarak analiz edilmiştir. Ölçümler, 120 kV hızlandırma voltajında yapılmış olup, cihazın çözünürlüğü 0.144 nm olarak gerçekleştirilmiştir. AgNP numunesinden elde edilen TEM görüntüleri, 10.000x, 20.000x, 40.000x, 50.000x, 60.000x ve 100.000x büyütme seviyelerinde ölçülmüştür. Elde edilen TEM görüntüler üzerinde araştırmacı tarafından FIJI (ImageJ) programı kullanılarak manuel olarak NP'lerin partikül boyutu analizi yapılmış ve ortalama boyut belirlenmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

AgNP'lerin yüzey morfolojilerinin incelenmesi için SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, DAYTAM İleri Görüntüleme Laboratuvarı bünyesinde bulunan Zeiss marka SEM cihazı ile analiz edilmiştir. Ölçümler 5 kV hızlandırma voltajında yapılmış olup, görüntüler farklı büyütme oranlarında (20×, 50×, 70× ve 75×) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen SEM görüntüleri üzerinde boyut analizi, FIJI (ImageJ) programı kullanılarak manuel olarak araştırmacı tarafından yapılmıştır. Bu ölçümler sonucunda NP'lerin yüzey özellikleri ve dağılımları değerlendirilmiştir.

Tane büyüklüğü ölçümü (zeta sizer) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi

Analizler, DAYTAM İleri Spektroskopi Laboratuvarı bünyesinde bulunan Malvern Zetasizer Nano ZSP cihazı kullanılarak yapılmıştır. AgNP'lerin yüzey yükünü ve kolloidal stabilitesini belirlemek için zeta potansiyel ölçümüyle, ortalama hidrodinamik çapı ve boyut dağılımını belirlemek için ise DLS analiziyle gerçekleştirilmiştir.

Zetasizer cihazı sıvı ortamlardaki partiküllerin üç temel özelliğini ölçmek için kullanılır. Bu üç temel özellik; kolloidal süspansiyonlardaki moleküllerin büyüklük dağılımları, yüzey yükleri ve moleküler ağırlıklarıdır. Büyüklük dağılımları dinamik ışık saçılması, moleküler ağırlıkları ise statik ışık saçılması tekniğiyle yapılmaktadır. Zeta potansiyel ölçümleri de lazer doppler elektroforez tekniğiyle yapılmaktadır (Malvern 2008).

X-ışını kırınımı (XRD)

AgNP'lerin kristal fazlarını ve yapısal özelliklerini belirlemek için XRD analizi yapılmıştır. Ölçümler, DAYTAM İleri Spektroskopi Laboratuvarı bünyesinde bulunan PANalytical Empyrean marka XRD cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Analizde Cu K α radyasyonu ($\lambda_1 = 1.5406 \text{ \AA}$) kullanılmıştır. Ölçümler, θ - θ gonyometre sisteminde gerçekleştirilmiştir. Numune, yansımali-geçirimli özelliğe sahip döner tabla (reflection-transmission spinner stage) üzerine yerleştirilerek analiz edilmiştir. Taramalar, 9.99° ile 89.99° arasındaki 2θ aralığında, 0.026° adım genişliğiyle ve sürekli (continuous scan) modunda yapılmıştır. X-ışını tüpü ise 45 kV gerilim ve 40 mA akım ile çalıştırılıp ölçümler alınmıştır.

X-Işını fotoelektron spektroskopisi (XPS)

AgNP'lerin yüzey kimyasal bileşimi ve elementel analizinin belirlenmesi için XPS analizi gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, DAYTAM İleri Spektroskopi Laboratuvarı bünyesinde bulunan SPECS-Flex XPS cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Genel yüzey taramasının yanı sıra, özellikle Ag 3d bölgesine ait yüksek çözünürlüklü spektrumlara dair verilerde elde edilmiştir.

Enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX/EDS)

AgNP'lerin elementel bileşimini belirlemek için EDX analizi yapılmıştır. Ölçümler, DAYTAM İleri Görüntüleme Laboratuvarı bünyesinde bulunan Zeiss marka SEM cihazı üzerine entegre EDX dedektörü kullanılarak yapılmıştır.

EDX analizi, AgNP yüzeyindeki elementler, niteliksel ve niceliksel olarak değerlendirilmesinde yardımcı olmuştur.

3.2.8 AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini katı besiyerinde belirlenmesi

AgNP'ler antimikrobiyal aktivitesi, katı besiyerinde hem disk difüzyon hem de kuyu difüzyon yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki yöntemde de aynı besiyeri, aynı antibiyotik diskler ve aynı patojen bakteriler kullanılmıştır. Ayrıca her iki yöntem de üç kez tekrarlanıp değerlendirilmiştir. Ortalama zon çapları hesaplanarak sonuçlar analiz edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivitenin kuyu difüzyon yöntemi ile katı besiyerinde belirlenmesi

Antibakteriyel etkinliğin değerlendirildiği *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* patojen bakterileri, 24 saat boyunca LB besiyerinde 37°C ve 150 rpm’de inkübe edildikten sonra her biri MHA (Biokar) besiyerleri üzerine 100 µL olmak üzere yayılmıştır. Steril pipet ucu ile agar üzerine kuyu açılmıştır. Bu kuyuya 50 µL AgNP homojen süspansiyonu eklenmiştir. Daha sonra Ceftazidime (10 µg), Ciprofloxacın (5 µg), Penicillin G (10 UI), Vancomycin (10 µg) antibiyotik içeren ticari diskler agar yüzeyine yerleştirilmiştir. 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Kültürasyon sonrasında, 24 ve 48 saat sonra kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonları ölçülmüştür.

Antimikrobiyal aktivitenin disk difüzyon yöntemi ile katı besiyerinde belirlenmesi

Her biri MHA (Biokar) besiyeri üzere, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri 100 µL olmak üzere yayılmıştır. Yine bu petrilerin her birinin yüzeyine Ceftazidime (10 µg), Ciprofloxacın (5 µg), Penicillin G (10 UI), Vancomycin (10 µg) antibiyotik içeren ticari diskler ve blank (boş) disk yerleştirilmiştir. Blank diskin üzerine 5 µL AgNP homojen süspansiyonu eklenmiştir. 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Kültürasyon sonrasında, 24 ve 48 saat sonra kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonları ölçülmüştür.

3.2.9 AgNP’lerin potansiyometrik sensör aktivitesinin belirlenmesi

Elde edilen AgNP’lerde potansiyel sensör aktivitesi olup olmadığı PVC bazlı membran sistemleri hazırlanarak değerlendirilmiştir.

Deneyde kullanılan materyaller

- Yüksek molekül ağırlıklı Polivenilklorür (PVC) - Sigma Aldrich
- Plastikleştirici (Bis(2-ethylhexyl) adipate) - Sigma Aldrich
- Potasyum tetrakis (p -klorofenil)borat (KT p ClPB) - Sigma Aldrich
- Tetrahidrofuran (THF) - Sigma Aldrich
- Grafen tozu - Sigma Aldrich
- Desmodur RFE (Sertleştirici) - Bayer AG
- Macroplast Su 2227 (epoksi) - Henkel

- Sodyumhidroksit (NaOH) - Merck
- Nitrik asit (HNO₃) - Sigma Aldrich
- Ultra saf su - Zeneer Power I

PVC membran potansiyometrik elektrotlar literatürdeki protokol kullanılarak hazırlanmıştır (Akyasan ve ark., 2025). Potansiyometrik sensörlerin hazırlanması iki işlemden oluşmaktadır: Katı kontakların ve PVC membran sensörlerin hazırlanması.

Katı kontakların hazırlanma işlemi şu şekilde gerçekleşmiştir: %50 (w/w) grafit, %35 (w/w) epoksi ve %15 (w/w) sertleştirici katı kontak karışımı yapılmış ve ardından 3 mL THF ilave edilerek homojenlik elde edilene kadar karıştırılmıştır. İstenilen viskozite sağlandığında 15 cm boyutundaki bakır teller birkaç kez daldırılarak uçları katı kontak bileşimi ile tamamen kaplanmıştır. Hazırlanan bu katı kontak elektrotlar, 24 saat boyunca karanlık ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

PVC membran sensörlerin hazırlanma işlemi şu şekilde gerçekleşmiştir: 3 mg AgNP, 32 mg PVC, 64 mg plastikleştirici ve 1 mg KT p ClPB olmak üzere karışım hazırlanıp THF ile çözündürülmüş ve uygun viskozite sağlanana kadar karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışıma önceden hazırlanan katı-hâl kontak kaplı elektrotlar birkaç kez daldırılmıştır. Elde edilen bu sensörler 24 saat boyunca karanlık ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Potansiyometrik ölçümler bilgisayar tabanlı çok kanallı ölçüm (Medisen Medical Ltd.şti., Türkiye) sisteminde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sistemi laboratuvar da hazırlanmış özel bir yazılım programı ile takip edilmiştir. Potansiyel ölçümler için Ag/AgCl (Thermo Scientific Orion) elektrotu referans olarak kullanılmıştır.

3.2.10 Antikanser aktivitesinin in vitro belirlenmesi

Elde edilen AgNP'lerin antikanser aktivitesini değerlendirmek için kolorektal kanser hücre hattı olan HCT116 kullanılmıştır. Hücre kültürü ve deneysel aşamalar daha önce belirlendiği şekliyle uyarlanmıştır (Cacan & Ozmen, 2020; Berkel & Cacan, 2021).

Deneyde kullanılan materyaller

- Hücre hattı (HCT-116)
- Medya (McCoy's-5A)

- Tripsin (Gibco/Thermo Fisher)
- Tripan Mavisi
- MTT tozu (Serva)
- Fosfat Buffer Saline (PBS)
- RPMI Media
- DMSO

Hücre kültürü

Bu deneyde kolorektal kanser hücre hattı (HCT116) kullanılmıştır. Bu hücreleri McCoy's-5A besiyeri içerisinde %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin ilavesiyle T75 flasklara kültüre edilmiştir. 37 °C'de %5 karbondioksit (CO₂) içeren inkübatöre yaklaşık 2-3 dakika boyunca bırakılmıştır. Ardından steril serolojik pipet yardımı ile 50 mL'lik tüpe aktarılmış ve 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılıp oluşan hücre pelletinin üzerine medya eklenerek süspansiyon edilmiştir (Berkel & Cacan, 2021).

Hücre sayımı

Hazırlanmış süspansiyonundan 1:1 oranında mikropipet yardımıyla çekilip Tripan Mavisi ile karıştırılmıştır. Hücre sayımı için hemositometre cam plaka kullanılmıştır. Yapılan ölçüm sonucunda hücre canlılık oranı %99 olarak belirlenmiştir. Ardından serolojik pipet yardımı ile 4 mL hücre süspansiyonu alınarak 50 mL'lik tüpe aktarılmıştır. Hemen sonra 36 mL medya eklenmiştir.

Bu hücre süspansiyonundan, her bir kuyucuk 200 µL olacak şekilde kuyucuklarına aktarılmıştır. Hazırlanan plaka 24 saat boyunca 37 °C, %5 CO₂ (karbondioksit) içeren inkübatör bırakılmıştır (Mommert, IN110).

Hücrelere AgNP uygulaması

Bir gün öncesinden ekilen hücrelerin üzerine uygulanmak için, AgNP'lerin stok ve çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltisi için 10 mg AgNP ve 400 µL distile su içinde çözülmesiyle elde edilmiştir. Bu stoktan ardışık olarak 100 µL alınarak 900 µL distile su ile seyreltilmiştir ve toplamda 4 farklı konsantrasyon çözeltisi hazırlanmıştır

(1:10 oran). Çözeltilerin konsantrasyonlar sırayla; 4 µg/ml, 40 µg/ml 400 µg/ml 4000 µg/ml. Böylece 1 stok ve 4 AgNP'lü çözeltisi olmak üzere toplam 5 tüp elde edilmiştir.

Hazırlanan AgNP çözeltileri vortekslenilerek homojenize edilip her konsantrasyon için 10 µL olacak şekilde, daha önce ekilmiş kuyucuklu plakadaki hücrelerin üzerine eklenmiştir. Her konsantrasyon için 6 kuyu ayrılmıştır. Kontrol grubunda ise yalnızca hücre ve besiyeri bulunmaktaydı. AgNP uygulamasının ardından plaka, 48 saat boyunca 37 °C'de ve %5 CO₂ (karbondioksit) içeren inkübatörde bırakılmıştır (Memmert, IN110).

Hücre canlılık analizi

Hücre canlılık analizi için MTT Testi yapılmıştır. MTT çözeltisi, 10 mg MTT tozu (Serva), 2 mL PBS ve 10 mL renksiz yani fenol kırmızısı içermeyen RPMI medyası ile 50 ml'lik falkon tüpte hazırlanmıştır ve bu tüp alüminyum folyo ile sarılmıştır. Ardından vortekslenmiştir. Karanlık ortamda, inkübeye bırakmış olduğumuz kuyu plakayı alıp işlem yapılacak her kuyucuğa 100 µL PBS yavaş yavaş eklenmiş ve plaka hafifçe çalkalanmıştır. Sonrasında içerik dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Daha sonra hazırlanan MTT çözeltisinden her kuyucuğa 100 µL eklenmiştir. Bu plaka 37 °C'de, %5 CO₂ içeren inkübatörde 4 saat bırakılmıştır (Memmert, IN110).

İnkübasyon sonunda, yine karanlık bir ortamda, plakanın üzerindeki çözelti dikkatlice uzaklaştırılmıştır ve her kuyucuğa MTT çözücüsü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) eklenmiştir. Bu aşamada belirgin bir renk değişimi gözlenmiştir. Plaka hafifçe çalkalandıktan sonra tekrar alüminyum folyo ile sarılarak çalkalayıcıya yerleştirilmiştir ve 37 °C'de, 450 rpm'de 30 dakika bekletilmiştir. Son olarak, absorbans değerleri mikroparka okuyucu (Thermo Scientific/Multiskan GO) ile 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler, GraphPad Prism yazılımı ile analiz edilmiştir. Veriler ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.11 AgNP'lerin kararlılığının saptanması

Elde edilmiş olan AgNP'ler herhangi bir uygulama yapılmadan 12 ay oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonrasında bu AgNP'den 5 mg alınıp 50 ml ultra saf su eklenip vortekslenmiştir. Ardından 60 dakika, 4 500 rpm'de santrifüjlenmiştir. Pelet kısmına yine

ultra saf su eklenip vortekslenmiştir. 20 dakika, 15 000 rpm’de santrifüjlendi. Son olarak kararlılık izlenmesi için çözeltinin ışığı maksimum absorbladığı dalga boyu taranmıştır. Bu işlemde kullanılan Uv-Vis spektroskopisi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü bünyesinde bulunan Shimadzu UV-2600i Plus marka cihazdır. Ölçümler, 200.0–800.0 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.



4 BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bulgular

4.1.1 AgNP’lerde renk değişimi gözlemlenmesi

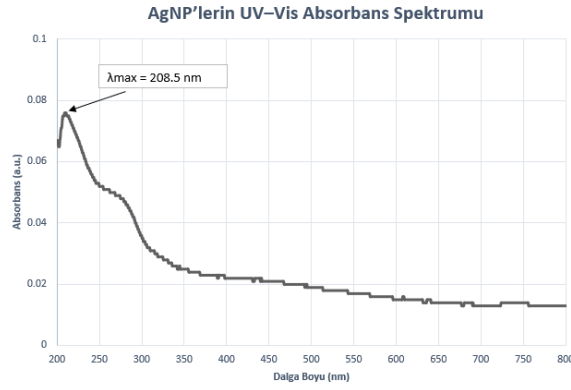
AgNP biyosentezinin, ön tespiti genellikle renk değişimi için yapılan görsel gözlemle gerçekleştirilir. Tipik olarak genellikle, kırmızımsı kahverengi veya kahverengiye dönüşür (Singh ve ark., 2015). Başlangıçta renksiz olan AgNO₃ çözeltisi, bakteriyel süspansiyonla birleştirildikten sonraki ilk saatlerde bulanık renge, bir sonraki gün ise kahverengi tonlarında bulanık bir renge dönüşmüştür. 7. günün sonunda ise tamamen kahverengiye dönüşümü gözlemlenmiştir. Literatürde bu olgu, NP sentezinde ilk tanısal gösterge olarak değerlendirilmiştir (Asif ve ark., 2022).

4.1.2 AgNP’lerin karakterizasyon sonuçları

Sentez sonrasında AgNP’lerin yapısal, morfolojik ve yüzey özelliklerinin belirlenmesi için DAYTAM’a numune gönderilmiş ve UV-Vis Spektroskopisi, TEM, SEM, XRD, XPS, EDX ve Zeta potansiyeli karakterizasyon teknikleri, protokollere uygun olarak uygulanmıştır.

UV-Vis spektroskopisi

AgNP’lere ait karakteristik SPR bandı, literatürde sıkça bildirilen 400–450 nm aralığından farklı olarak 208.5 nm’de pik vermiş olsa dahi, sentezlediğimiz AgNP de 400-450 arasında zayıf bir absorbans artışı olduğu da görülmektedir. Bu durum NP’lerin farklı boyut dağılımları veya SPR özellikleri ile ilişkilendirilebilir. Şekil 4.1.’de bu UV-Vis spektroskopi grafiği verilmiştir. 208.5 piki, muhtemelen bakteriyel kaynaklı biyomoleküllerin absorbansından kaynaklanmaktadır. Sentez sırasında ortama salınan protein, enzim veya diğer biyomoleküllerin AgNP yüzeyini kaplayarak SPR sinyalini bastırmasından dolayı 208.5 nm’deki pik daha yüksek gözüküyor olabilir. Biyolojik matriks ve partikül boyut/fazı nedeniyle SPR piklerinin kayması, zayıf ya da belirsizlik olması literatürde de görülmektedir. UV-Vis spektroskopisi analizi tek başına AgNP varlığı için yeterli olmayabilir. Suseela ve ark., (2022), biyolojik sentezle elde ettikleri AgNP’lerin, UV-Vis spektroskopisi analizinde 330 nm’de yoğun ve yüksek bir pik ve 430 nm’de ise zayıf bir pik oluşunu çalışmalarından raporlamışlardır.



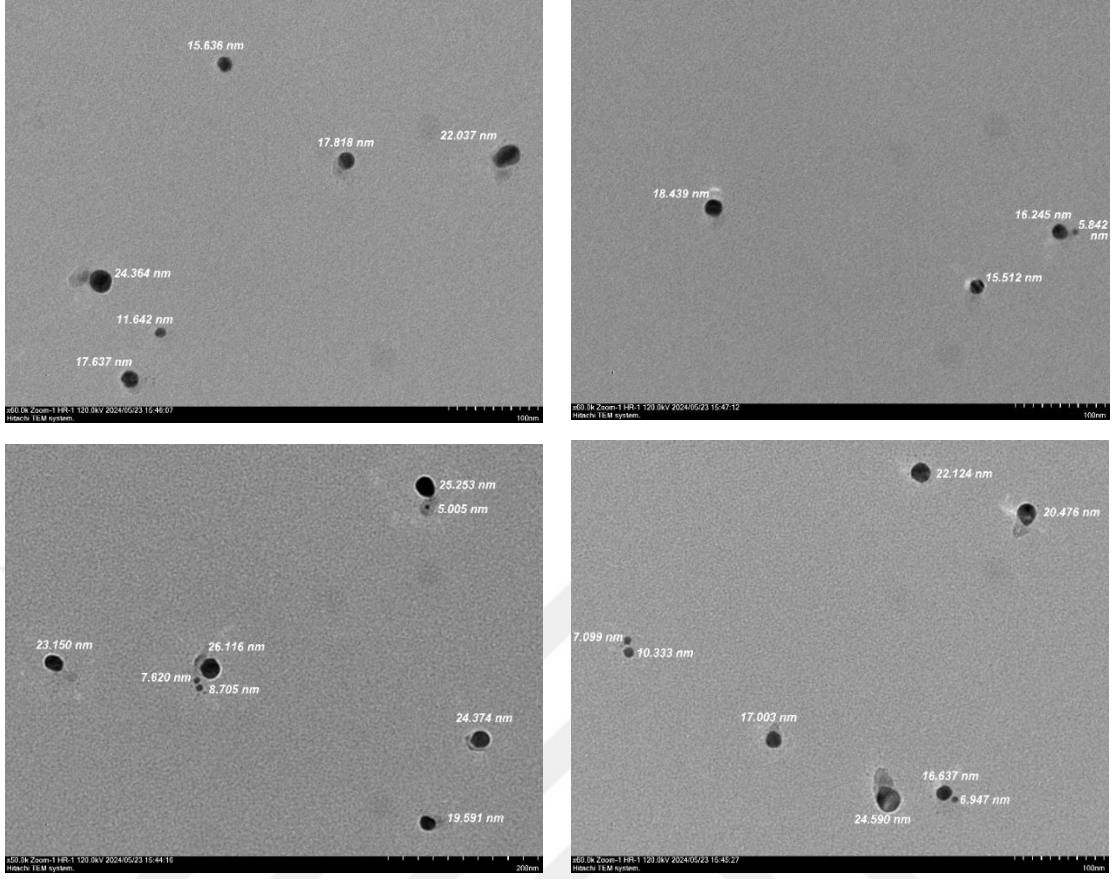
Şekil 4.1. UV-Vis spektroskopisi grafiği

208.5 nm'de belirgin bir absorbans piki görülmektedir (Şekil 4.1). 400-450 nm aralığında ise belirgin olmayan, küçük dalgalanmalar ve zayıf bir absorbans artışı görülmektedir.

UV-Vis grafiğinde, 400-450 nm aralığında AgNP'lere özgü belirgin bir SPR piki gözlemlenmemiştir. Ancak aşağıda bahsedilen TEM ve diğer analizlerde 5-50 nm aralığında değişen geniş bir boyut dağılımına sahip AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, farklı boyutlardaki NP'lerin SPR tepkilerinin üst üste binerek spektral yoğunluğu düşürmesi ve tipik SPR pikinin belirginleşmesini engellemesi ile açıklanabilir. Dolayısıyla, UV-Vis spektrumunda pik gözlenmemesi, polidispersiteye bağlı genişlemiş ve bastırılmış plazmoniği işaret ediyor olabilir.

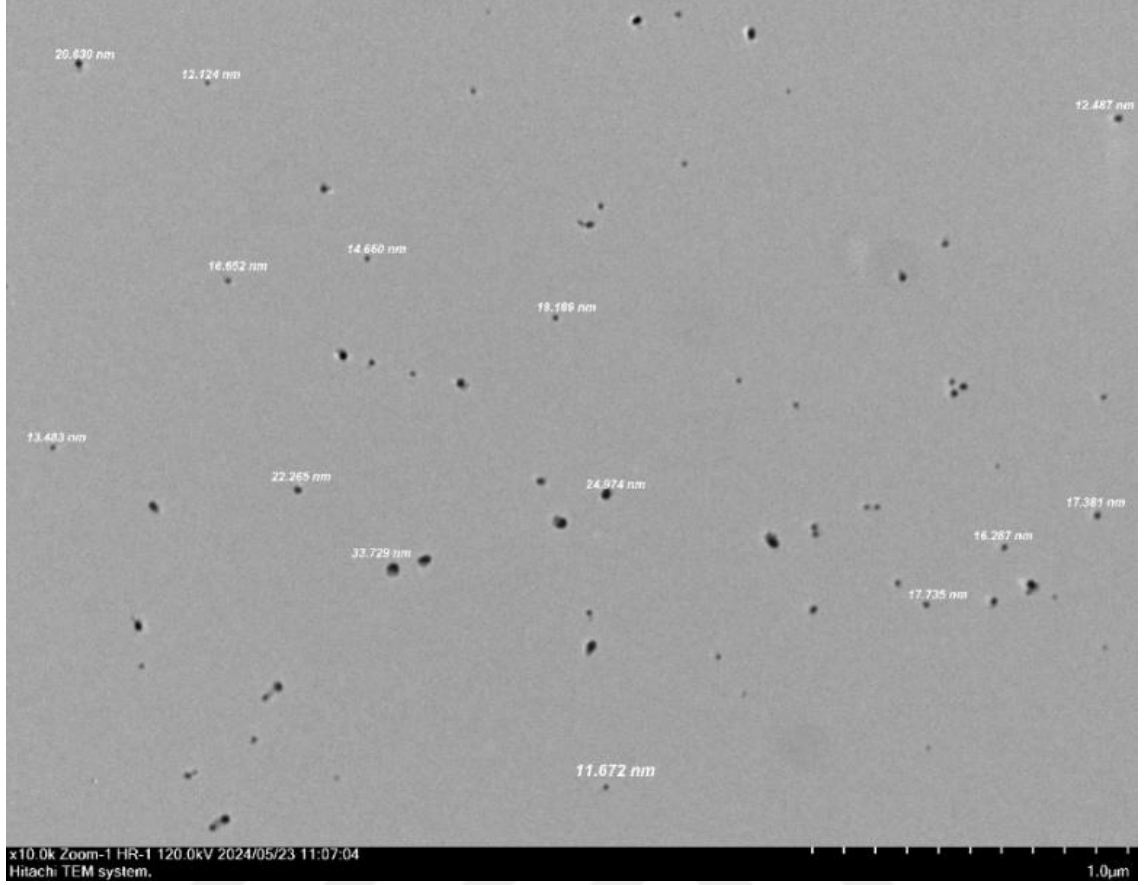
TEM analizi

TEM görüntülerinde, AgNP'lerin ağırlıklı olarak 10-60 nm arasında değişen boyutlara sahip olduğunu (hatta 5 nm civarında da AgNP'ler gözlemlenmiş), genellikle küresel ve polidispers yapıda olduğu gözlenmiştir. Bu görüntüler, sentezlenen partiküllerin nano boyutta olduğunu ve mikroskopik ölçekte de gözlemlenebildiğine işaret etmektedir. Birçok partikülün çevresinde grimsi haleler görülmektedir. Bu grimsi halelerin, bakteri aracılı biyosentezden ötürü yüzeye tutunan proteinler, enzimatik kalıntılar veya hücre zarına ait biyolojik kalıntılar olabileceği düşünülmektedir.



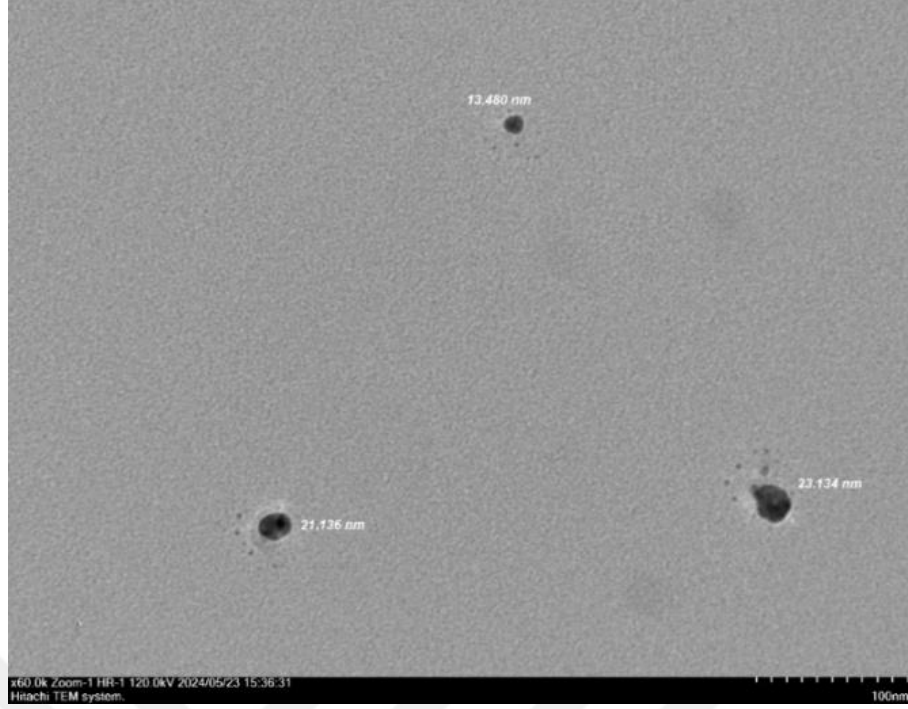
Şekil 4.2. Farklı boyutlardaki AgNP'lerin TEM görüntüsü.

Bu TEM görüntülerinde (Şekil 4.2.) AgNP'lerin 5 nm'den 25 nm'ye kadar çeşitli boyutlardaki küresel/yuvarlak formdaki görüntüleri yer almaktadır.



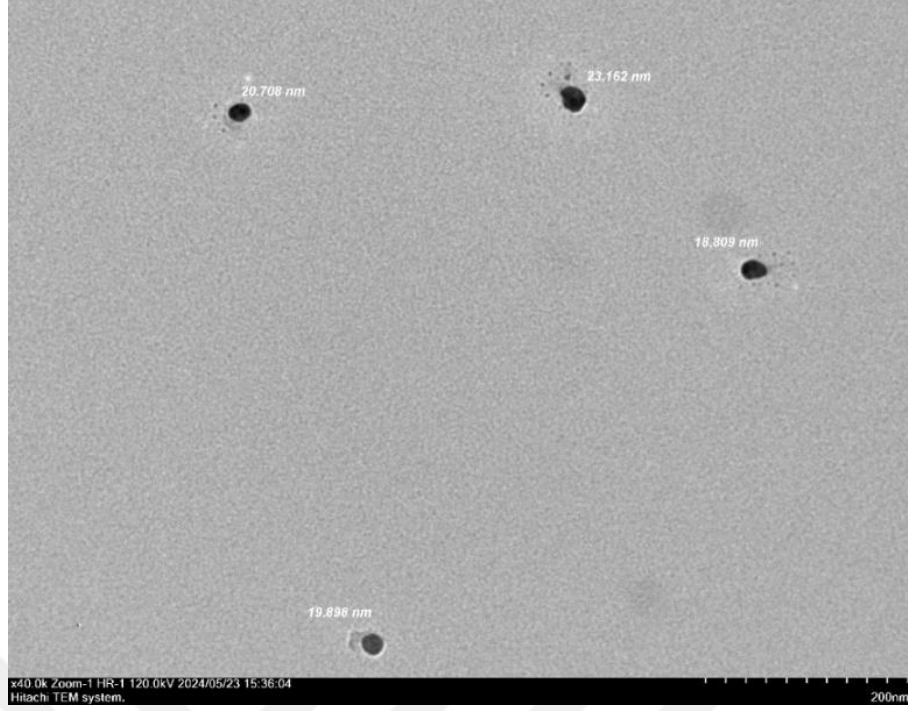
Şekil 4.3. AgNP'lerin TEM görüntüsü (10.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 1000 nm)

Şekil 4.3.'deki TEM görüntülerinde boyutlar farklı aralıklarda ve yuvarlak, küresel AgNP'ler gözlenmiştir. Belirgin aglomerasyon (kümeleşme) yoktur. Bu NP'ler, çevrelerinde açık gri tonlu amorf yapılar gözlemlenmiştir. Bu çevresel yapıların bakteriyel kaynaklı organik kalıntılar olabileceği düşünülmektedir.



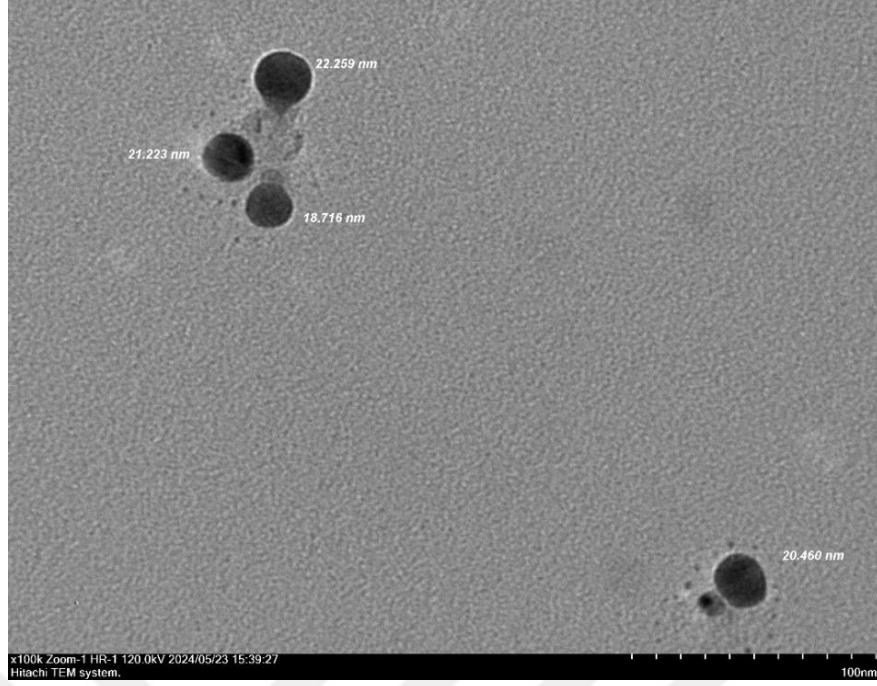
Şekil 4.4. AgNP'lerin TEM görüntüsü (60.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)

Sekil 4.4.'de görüntüde, belirgin koyu kontrastlı ve yuvarlak morfolojili AgNP'ler gözlemlenmiştir. Bu renklerin koyu gözükmesi, AgNP yapıların yüksek elektron yoğunluğu, gümüşün sıfır değerlikli (Ag^0) formunu göstermektedir. Partiküllerin homojen dağılım göstermesi ve belirgin agregasyon izlenmemesi, sentez sürecinin kontrollü olduğunu da ortaya koymaktadır. Ek olarak, gümüş oksit (Ag_2O) gibi oksit fazlara özgü herhangi bir karakteristik amorf yapı izlenmemiştir.



Şekil 4.5. AgNP'lerin TEM görüntüsü (40.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

Şekil 4.5.'de görüntüde farklı boyutlarda, koyu renkli AgNP'ler gözlemlenmiştir. Bu partiküller Ag^0 formunu gösteren elektron yoğun yapılardır. Yine bazı partiküllerin çevresinde açık tonlu, amorf yapılar gözlenmiştir. Bunlar biyolojik sentez sırasında NP yüzeyinde tutunan organik kalıntılarla ilgili olabilir.



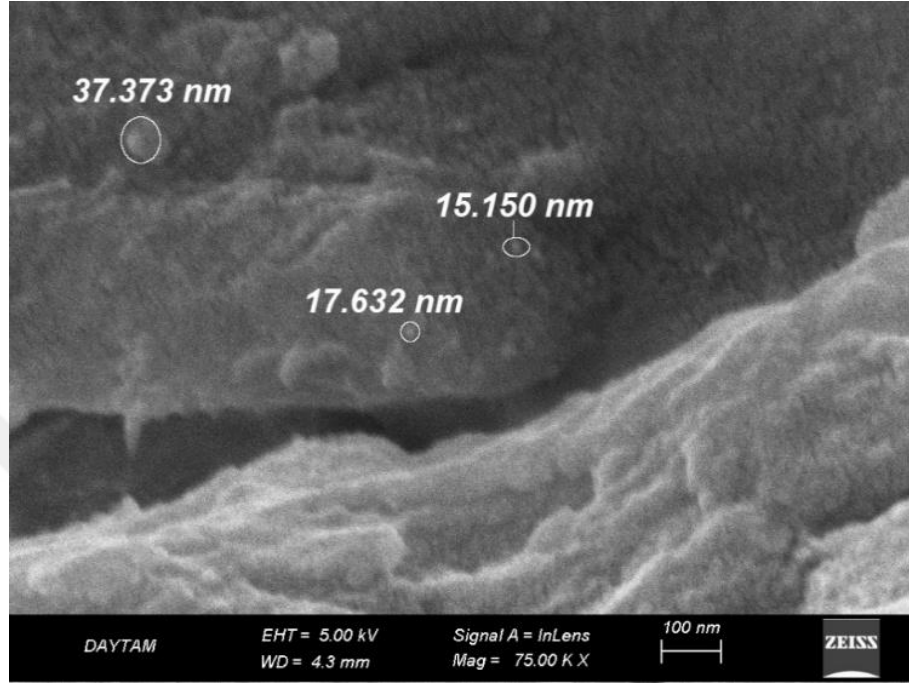
Şekil 4.6. AgNP'lerin TEM görüntüsü (100.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)

Şekil 4.6.'deki TEM görüntüsünde yine belirgin koyu kontrastlı ve şekil olarak küresel/yuvarlak morfolojiye sahip AgNP oluşumları mevcuttur. Etraflarında oluşan küçük yapılar bakteri kaynaklı organik kalıntıları bariz belli etmektedir. Partiküllerin yoğunluğunun ayrı ayrı yapılar şeklinde olduğu da gözlemlenmektedir. Bu da sentezde kullanılan biyolojik ajanların yeterli düzeyde stabilize edici etki gösterdiğine işaret etmesinden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Görüntüde tespit edilen net sınırlar ve tek tip yapılar bulunmaktadır.

SEM analizi

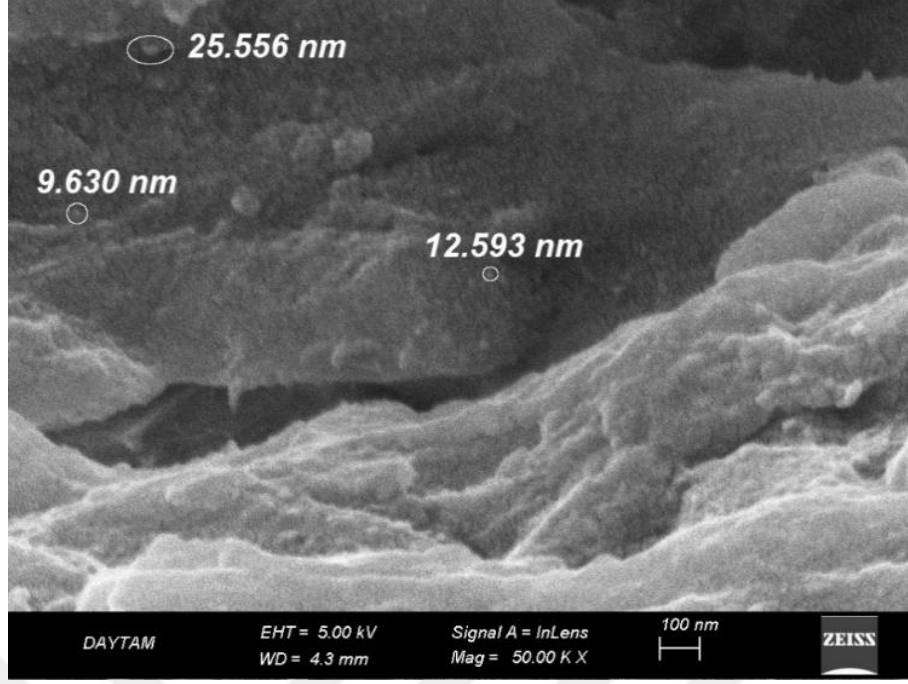
Yüzey morfolojisinin detaylı incelenmesi ve AgNP varlığı tespiti için yapılan SEM analizlerinde, NP'lerin boyutu, dağılımı, yüzeye etkileşimi ve olası aglomerasyon yapıları değerlendirilmiştir. Görüntülerde yüzeyin pürüzlülüğü, lifli ve katmanlı yapısı gözlemlenmektedir. Bu durum AgNP'lerin tutunması ve yüzeye adsorpsiyonu açısından ortam sağladığını düşündürmektedir. Görüntülerde, belirli bölgelerde yoğunlaşan yapılar muhtemel AgNP'ler olduğu yorumlanmıştır. AgNP'lerin yüzeye dağılmış ve biyolojik

matrise gömülü olarak da gözlemlenmiştir. Boyutlarının polidispers dağılımlı yapıda olduğu da yine SEM görüntülerinden anlaşılmaktadır.



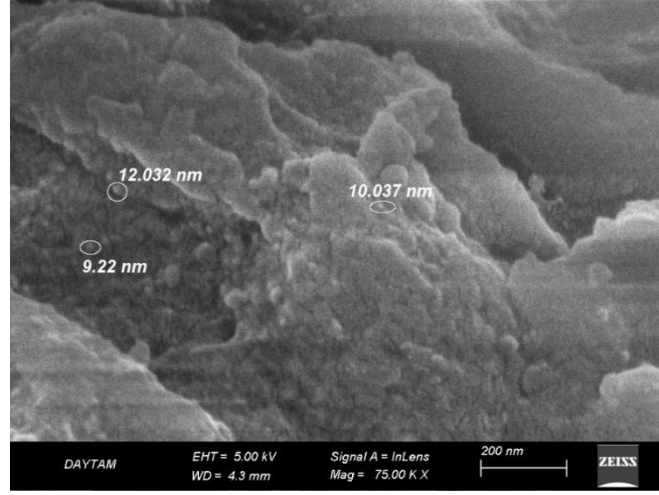
Şekil 4.7. AgNP'lerin SEM görüntüsü (75.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)

SEM görüntüsünde (Şekil 4.7), matriks yüzeyine bağlı, küresel morfolojili, 15-45 nm civarında AgNP benzeri yapılar gözlenmiştir.



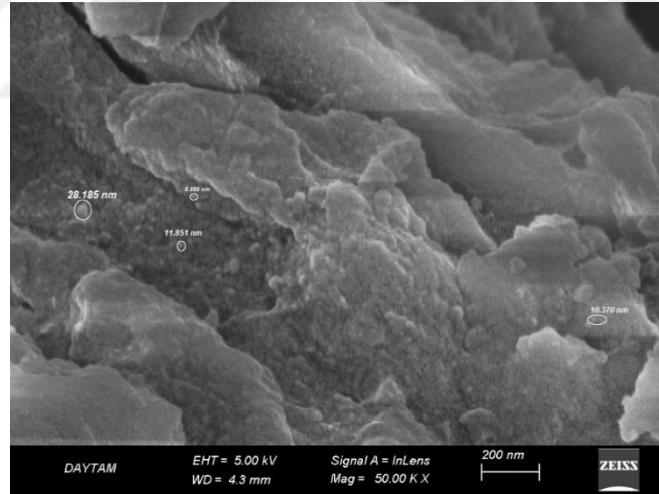
Şekil 4.8. AgNP'lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 100 nm)

SEM görüntüsünün (Şekil 4.8), alt bölgesinde lifsi ve dalgalı bir yapı dikkat çekmektedir. Bu alanın, büyük olasılıkla biyolojik kaynaklı bir matriks ya da protein temelli bir yapı olduğu düşünülmektedir. Üst sol kısımda yer alan parlak noktalar ise, AgNP benzeri yapılara işaret etmektedir. Buradaki görüntüde (Şekil 4.8.) AgNP'lerin küçük boyutlu olduğu da belirtilmiştir. Yüzeyin genel olarak pürüzlü ve heterojen görünümü, NP'lerin yüzeyle etkileşime girerek adsorpsiyon veya dağılım yoluyla tutunduğunu gözlemlenmektedir.



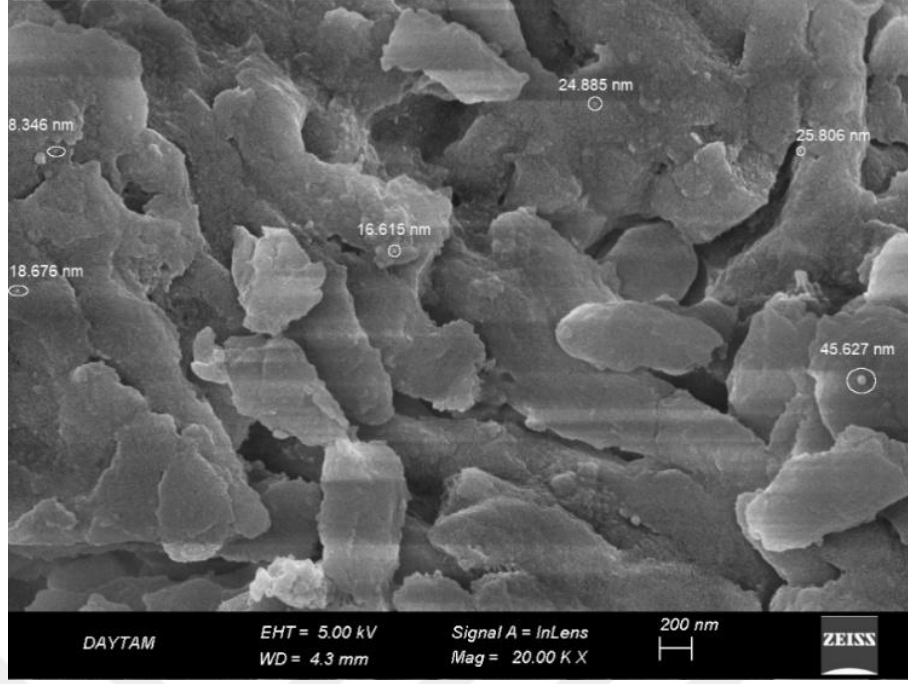
Şekil 4.9. AgNP’lerin SEM görüntüsü (75.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

SEM görüntüsünde (Şekil 4.9), yüzeye tutunmuş parlak ve belirgin yuvarlak yapılar gözlemlenmiştir. Bu yapılar, potansiyel AgNP kümelerinin varlığına kanıt niteliğindedir.



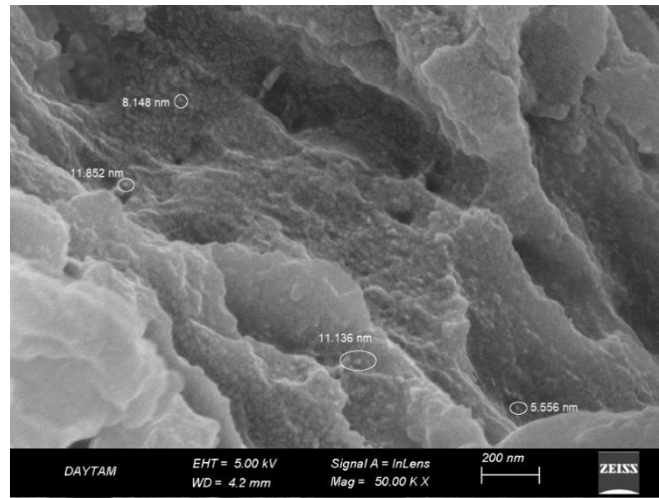
Şekil 4.10. AgNP’lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

SEM görüntüsünde (Şekil 4.10) yüzey genelinde dağılmış parlak nokta görünümleriyle birlikte pürüzlü ve dalgalı bir morfoloji gözlemlenmiştir. Bu yapılar, matrise gömülü halde bulunan dağılmış AgNP’lerin olabileceğinin düşündürmüştür.



Şekil 4.11. AgNP'lerin SEM görüntüsü (20.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

SEM görüntüsünde (Şekil 4.11), yaklaşık 8–50 nm boyutlarında polidispers dağılımlı, düzgün küresel morfolojiye ve yüksek kontrasta sahip NP'ler gözlemlenmiştir. Bu yapılar, parlak görünümleri ve morfolojik özellikleriyle (küresel vb.) AgNP varlığını desteklemektedir. Ek olarak, biyomateriyal yüzeyinin yüksek pürüzlülüğe ve katmanlı, lifli yapıya sahip olması, AgNP adsorpsiyonu açısından uygun bir matriks oluşturduğunu bu görselde de (Şekil 4.11) göstermektedir.



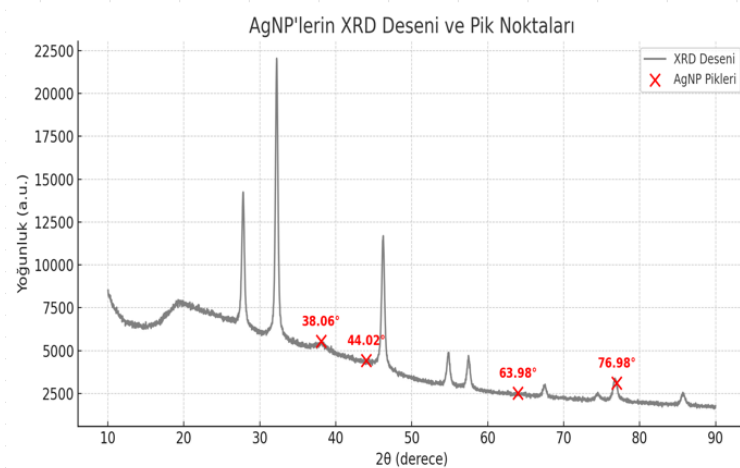
Şekil 4.12. AgNP'lerin SEM görüntüsü (50.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

50.000 kat büyütme ile elde edilen SEM görüntüsünde (Şekil 4.12.), 5.55 nm boyutunda dahi AgNP tespit edilmiştir. Bu küçük boyuttaki AgNP'ler yüzeye tutunmuş haldedirler. Yüzey morfolojisi ise dalgalı, lifsi ve katmanlı bir yapıya sahip olduğu yine gözlemlenmiştir. Bu girintili-çıkıntılı yapı, AgNP'lerin yüzeye tutunması açısından uygun bir ortam sunabiliyor olabileceğini akla getirmektedir.

XRD analizi

XRD analizinde gümüşe özgü karakteristik difraksiyon piklerinden bazıları (özellikle 77° civarında olan) zayıf bir şekilde gözlemlenmiştir. Pik şiddetleri düşük olsa dahi sentezlenen AgNP'lerin kısmen kristal yapı içerdiğini düşünülmektedir. Fakat kristallilik oranının düşük olabileceği düşünülmektedir. Kristalliliğin düşük olması birçok sebebe işaret olabilir. Örneğin NP boyutunun küçük olması ve yüzeydeki biyolojik kalıntıların kristal yapıyı maskeleyip izlenimine işaret ediyor olabilir. Biyolojik sentezden kaynaklı organik kalıntılar, difraksiyon sinyalini baskılaması ile açıklanabilir.

Partila ve El-Hadedy (2020), bir çalışmada XRD analizinde AgNP'ler için karakteristik 38° piki zayıf veya yok denecek kadar az görülmüştür ve bunu AgNP'lerin ya düşük konsantrasyonda ya da kısmen amorf yapıda olabileceğinden kaynaklandığını düşünmüşlerdir.



Şekil 4.13. AgNP'lerin XRD deseni ve pik noktaları grafiği

XRD analizinde, AgNP'lere ait karakteristik kristal düzlemleri olan (111), (200) ve (220) düzlemlerine karşılık gelen 38.06° , 44.02° , 63.98° ve 76.98° açılarında zayıf yoğunlukta pikler gözlemlenmiştir. Bu durum, sentezlenen AgNP'lerin kristal yapıda olduğunu fakat düşük kristallik düzeyine sahip olabileceğini düşündürmektedir.

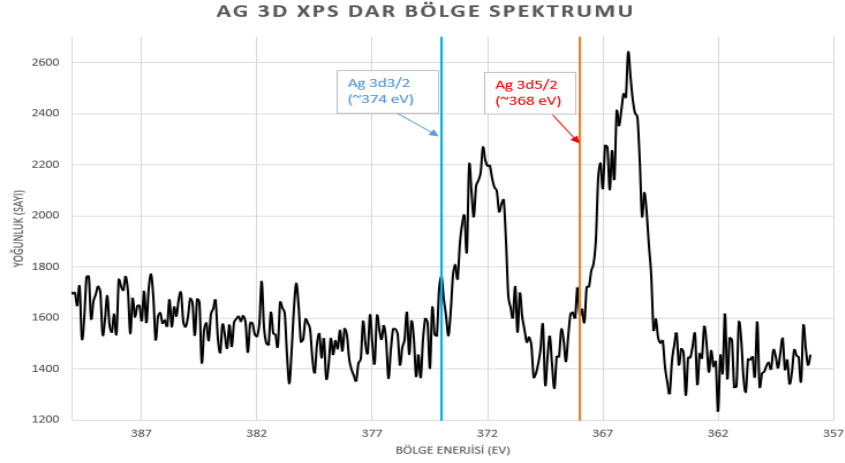
Debye–Scherrer denklemi kullanılarak yapılan boyut hesaplamasında, ortalama kristalit boyutunu yaklaşık 10.3 nm olarak hesaplanmıştır. Grafikte 27° – 32° arasında gözlenen yüksek şiddetteki pikler ise biyolojik kalıntılardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Biyolojik kalıntılardan dolayı da AgNP sinyalinin maskeleyebileceği düşünülmektedir.

XPS analizi

XPS analizinde Ag 3d bölgesinde elde edilen çift pik yapısı, Ag^0 ve Ag^+ formlarının birlikte bulunduğunu göstermektedir. Analizde, Ag $3d_{5/2}$ ve $3d_{3/2}$ pikleri sırasıyla ~ 368 eV ve ~ 374 eV'de olduğu analiz edilmiştir. Bu değerler, yüzeyde elementel gümüş varlığını doğrulamakla birlikte Ag^0 formunun baskın olduğunu göstermektedir. Ag^0 sinyalinin baskın olması, indirgenmenin başarılı olduğunu ve NP'lerin büyük oranda metalik gümüş formunda oluştuğunu ortaya koymaktadır. Ajitha ve ark., (2015), yaptıkları bir çalışmada, biyosentez yöntemi ile elde etmiş oldukları AgNP'lerin XPS değerleri de bu çalışma ile benzerlik göstermiştir.

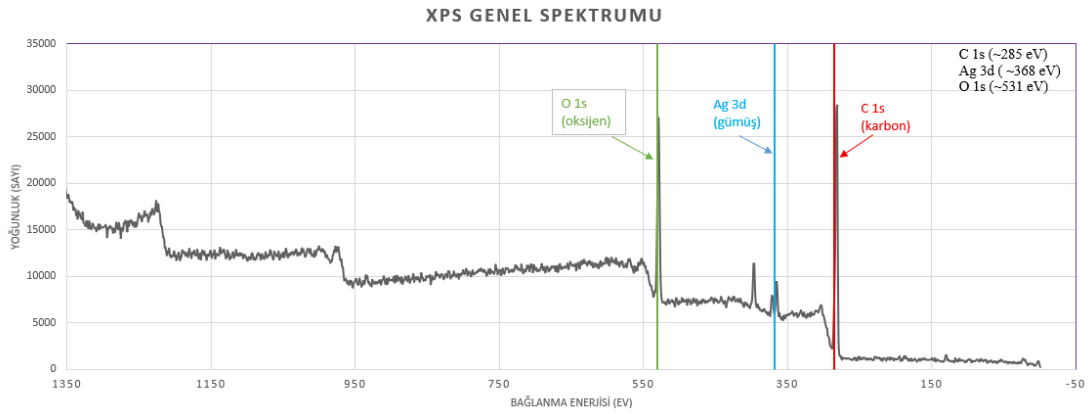
Ayrıca XPS analizinde C 1s ve O 1s bölgelerinde belirgin piklerin bulunması, partikül yüzeyinde bakteriyel kalıntıların bulunduğunu göstermektedir. Yani yüzeyde metalik gümüş hâkim fakat organik kalıntılar da mevcut olduğunu söyleyebiliriz.

Bu sonuçlar, yüzeyde hem AgNP hem de biyolojik matriksin bir arada var olduğunu ve biyolojik sentez yoluyla AgNP üretiminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini kanıtlamaktadır. SEM görüntüleriyle de uyumaktadır.



Şekil 4.14. Ag 3D XPS dar bölge spektrumu

XPS dar bölge grafiğinde elde edilen Ag 3d spektrumunda, yaklaşık 368 eV ve 374 eV sırasıyla Ag 3d_{5/2} ve Ag 3d_{3/2} pikleri gözlenmiştir. Bu çift pikler, gümüş elementine ait karakteristik spin-orbit çiftlenmesini temsil etmektedir. Pikler arası enerji farkı yaklaşık 6 eV olup, bu değer literatürle uyumludur. Benzer şekilde, Garibo ve ark., (2020), biyolojik sentez ile elde etmiş oldukları AgNP’de, Ag 3d_{5/2} ve Ag 3d_{3/2} pikleri arasında 6.0 eV fark gözlemlemişlerdir. Bu XPS sonuçları, AgNP’lerin varlığını desteklemektedir.



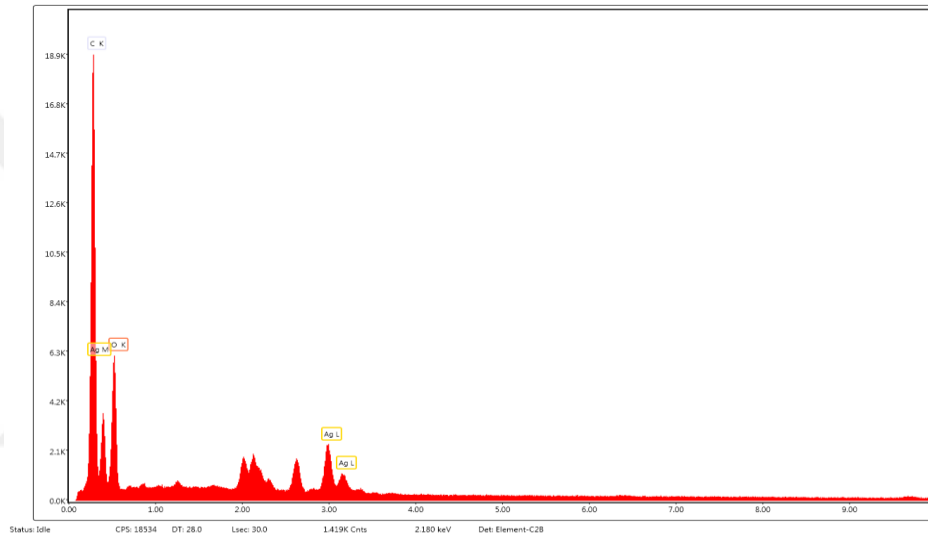
Şekil 4.15. XPS genel spektrumu

XPS genel spektrumunda, 285 eV civarında C 1s, 368 eV civarında Ag 3d ve 531 eV civarında O 1s pikleri gözlenmiştir. Bu pikler karbon, gümüş ve oksijen elementlerinin numune yüzeyinde bulunduğunu göstermektedir. C 1s ve O 1s piklerinin konumları, literatürde protein yapılarla ilişkilendirilen enerji değerleriyle örtüşmekte olup ve bu

durum NP yüzeyinde bakteri aracılı biyosentezden kaynaklı organik kalıntıların varlığına işaret etmektedir (Kim ve ark., 2019).

EDX/EDS analizi

EDX analizinde partiküllerin hangi oranda Ag içerdiği tespit edilmiştir. Ek olarak, AgNP'lerde Ag'nin yanı sıra hangi elementleri içerdiği de oranlarıyla beraber tespit edilmiştir.



Şekil 4.16. EDX grafiği

Spektrumda görülen (Şekil 4.16), yüksek oranda karbon (C) ve oksijen (O) varlığı, partikül yüzeyinde organik kalıntıların bulunduğuna işaret etmektedir. Bu organik kalıntılar, TEM ve SEM'de gözlenen çevresel gri renkli haleleri desteklemektedir.

Çizelge 4.1. Elde edilen AgNP'lerinin bileşimindeki C, O, ve Ag elementlerinin ağırlıkça yüzdesi.

Elemet	Ağırlık (%)	Atomik (%)
C	46.32	62.31
O	34.48	34.82
Ag	19.21	2.88

EDS analizi sonucunda elde edilen spektrumda, yaklaşık 2.98 keV ve 3.15 keV'de gözlenen iki belirgin pik, sırasıyla Ag L α ve Ag L β geçişlerine karşılık gelmekte olup bu pikler Ag⁰ formunu doğrulamaktadır (Kumawat ve ark., (2023)). Ag elementi, analizde ağırlıkça %19.21 oranında tespit edilmiştir.

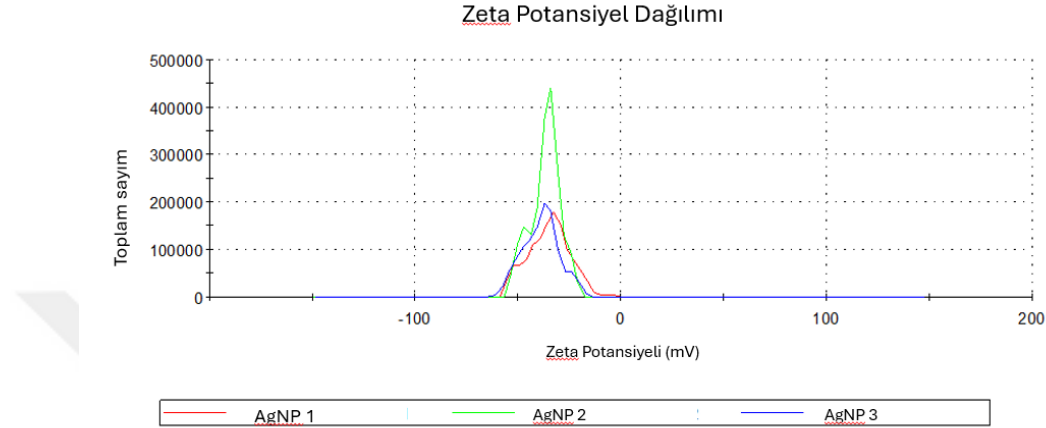
Spektrumda ayrıca 0.27 keV civarında gözlenen pik karbon ve 0.52 keV civarındaki pik oksijen sinyallerine işaret etmektedir (Dildar ve ark., 2022). Gözlemlenen karbon elementi, ağırlıkça %46.32 oranında ve oksijen elementi, ağırlıkça %34.48 oranında tespit edilmiştir. Bu oranların yüksek olması da bakteri aracılı biyosentez olmasından ötürü organik kalıntılar olduğu tahmin edilmektedir. Bu kalıntılar, büyük oranda ekstrasellüler polimerik maddeler (EPS), proteinler ve polisakkaritlerden oluşmakta olup, NP'lerin yüzeyinde bir tabaka oluşturdukları düşünülmektedir. Benzer şekilde, Zaghloul ve ark., (2023), tarafından yapılan çalışmada da karbon oranının yüksek çıkması, EPS kaynaklı organik yapıların NP yüzeyinde birikmesiyle açıklamışlardır.

EDS analizi sentezlenen AgNP'lerin kimyasal bileşimini doğrulamaktadır. Ayrıca bu doğrulama, biyolojik sentez kaynaklı organik kalıntıları da göstermektedir.

Yüzey yükü ve stabilite (zeta potansiyeli)

Zeta potansiyeli analizi ile AgNP'lerin yüzey yüklerinin değerinin, ortalama -36.8 mV olduğunu göstermiştir. Bu değerler, koloidal sistemin yüksek elektrostatik stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Negatif potansiyel, partiküller arasında güçlü elektrostatik itme bulunduğunu ve böylece aglomerasyonu önlediğini göstermektedir (Rocha ve ark., 2024). Bu durum, TEM görüntülerinde partiküllerin birbirine yapışmadan farklı yerlerde olmalarıyla uyumludur. Ayrıca çözeltide iyi dağılmış ve kümelenmemiş

olduğunu da göstermektedir. Biyosentezde genellikle organik kalıntılar NP'lerin yüzeyini kaplar ve negatif yüklü fonksiyonel gruplar ile zeta potansiyelini daha negatif yapar (Mikhailova, 2024).



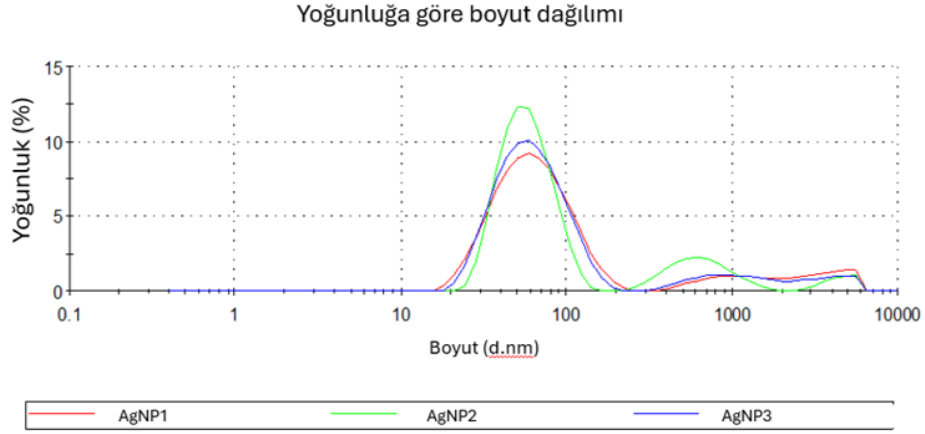
Şekil 4.17. Zeta potansiyel dağılım grafiği

Zeta potansiyeli ölçümü, aynı numuneden alınan üç teknik tekrar ile gerçekleştirilmiştir. Bu değerler sırasıyla -35.0 mV, -36.6 mV ve -38.7 mV olarak ölçülmüştür. Bu ölçümler sonucunda ortalama zeta potansiyeli -36.8 mV olarak hesaplanmış, standart sapma ise 1.86 mV olarak bulunmuştur.

DLS analizi

DLS analizi sonucunda AgNP'lerin ortalama hidrodinamik çapı 65 nm olarak tespit edilmiştir. DLS'de ölçülen boyutlar, TEM ile ölçülen fiziksel boyutlardan daha büyük olup 20 nm altında da partikül boyutu gözlemlenmemiştir. Nedeni ise DLS, yalnızca çekirdeği değil aynı zamanda yüzey kaplamayı ve solvasyon kabuğunu da hesaba katarak ölçülmektedir (Varga ve ark., 2020).

DLS analizi sonucunda elde edilen polidispersite indeks (PDI) değerleri sırasıyla 0.432, 0.384 ve 0.340 olup, bu durum sentezlenen AgNP'lerin orta düzeyde dağılmış polidispers yapıda olduğuna ve kabul edildiğine işaret etmektedir (Bettersize Instruments, 2023).



Şekil 4.18. Yoğunluğa göre boyut dağılımı grafiği

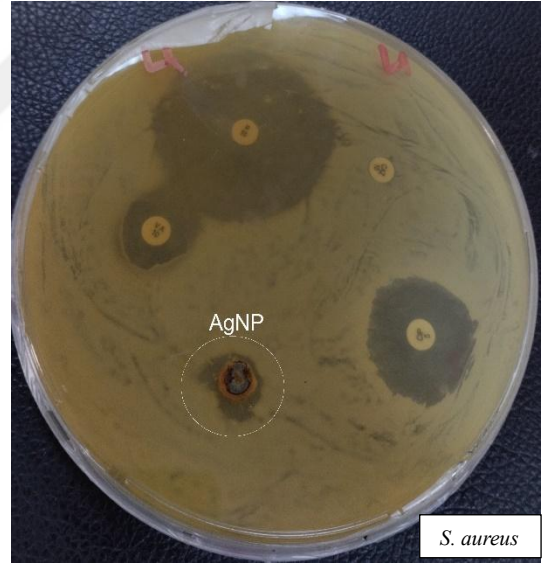
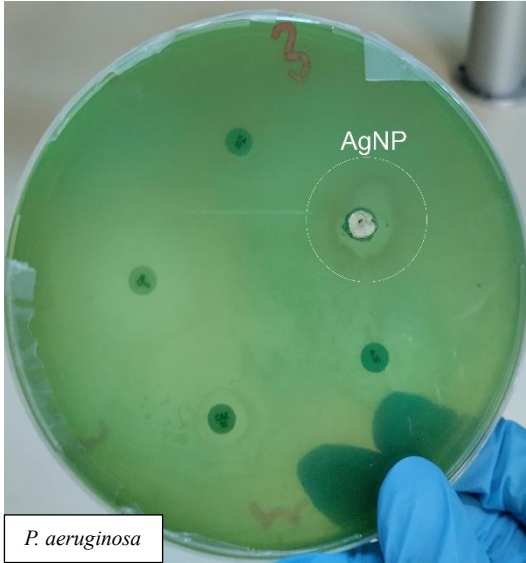
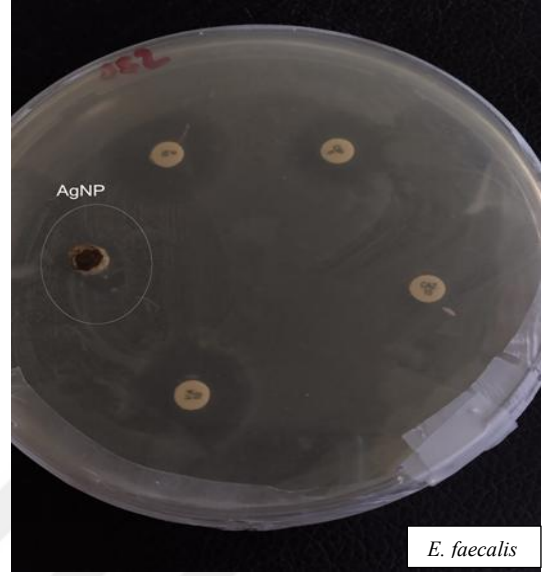
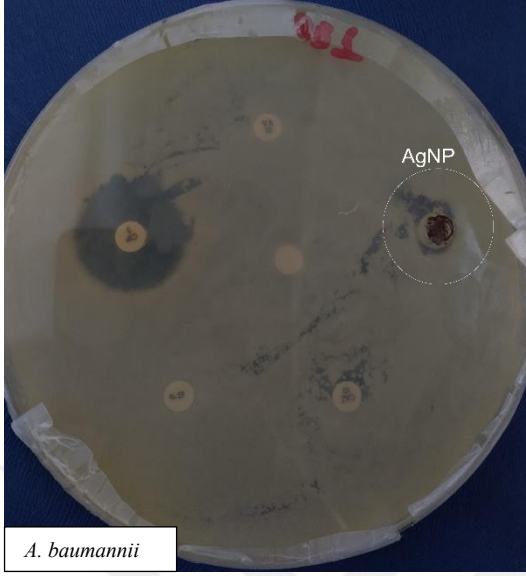
Şekil 4.18.’deki grafikde görüldüğü üzere, DLS analizinde elde edilen boyut dağılımı, 30–90 nm arasında yoğunlaşmakta olup ortalama partikül boyutu yaklaşık 65 nm olarak belirlenmiştir.

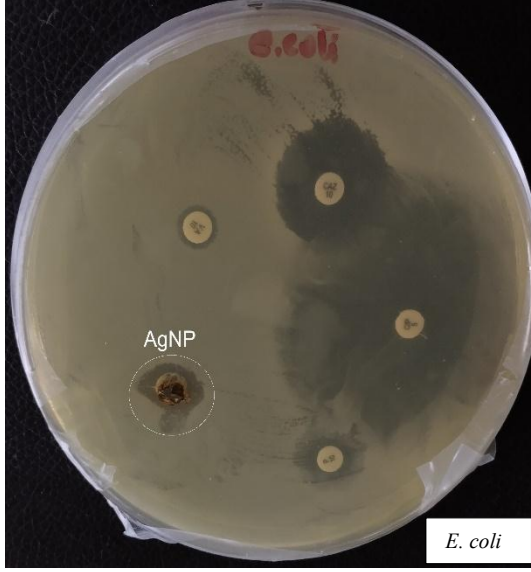
Zeta potansiyeli ve DLS boyut dağılımı analizleri, aynı cihazda ve aynı numune üzerinde ardışık olarak gerçekleştirilmiştir. Zeta potansiyeli ve DLS analizleri beraber değerlendirildiğinde, bakteriyel biyosentezlenen AgNP’lerin yüksek kolloidal stabiliteye sahip olduğu ve homojen dağılım gösteren partiküller halinde sentezlendiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, literatürde biyolojik AgNP senteziyle ilgili raporlarla uyumlu olup, sentezin başarılı olduğunu göstermektedir (Cekuolyte ve ark., 2023). Ayrıca NP’lerin hem yüzey yükü hem de boyut açısından homojen ve stabil olduğunu göstermektedir.

4.1.3 Antimikrobiyal aktivite analizi

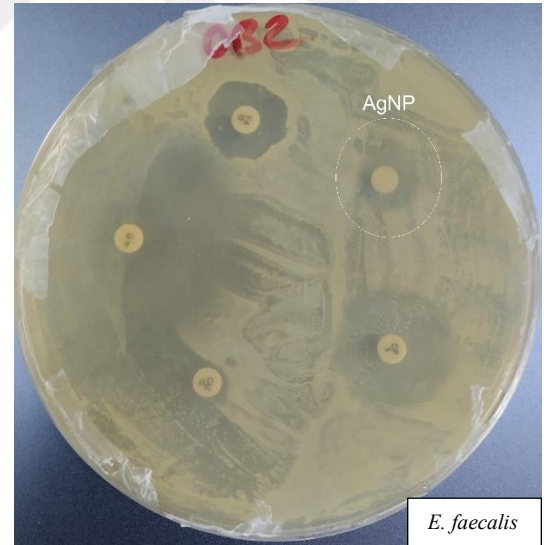
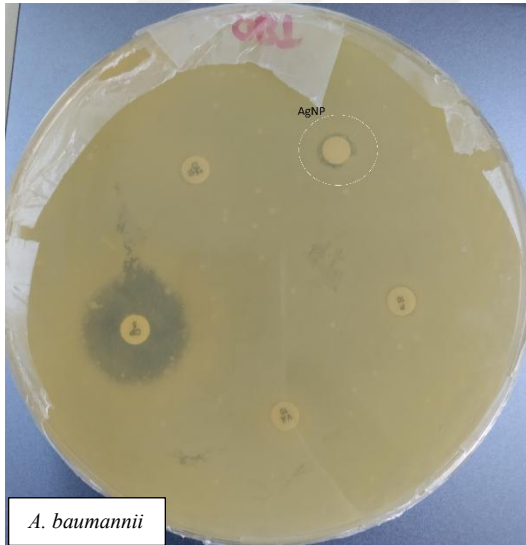
Sentezlenen AgNP’lerin antimikrobiyal aktivitesi Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler kullanılarak hem kuyu difüzyon hem de disk difüzyon yöntemleri ile yapılarak değerlendirilmiştir. AgNP’lerin antibakteriyel deneyi çeşitli yaygın antibiyotiklerle (Ceftazidime (10 µg), Ciprofloksacin (5 µg), Penicillin G (10 UI), Vancomycin (10 µg)) karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Her bir ajan için aynı bakteriler kullanılmış, 24 ve 48 saat olmak üzere zon çapları ölçülerek karşılaştırılmıştır. Bunlar kuyu difüzyon yönteminde de disk difüzyon yönteminde de üç tekrarlı olarak deneyler yapılmıştır.

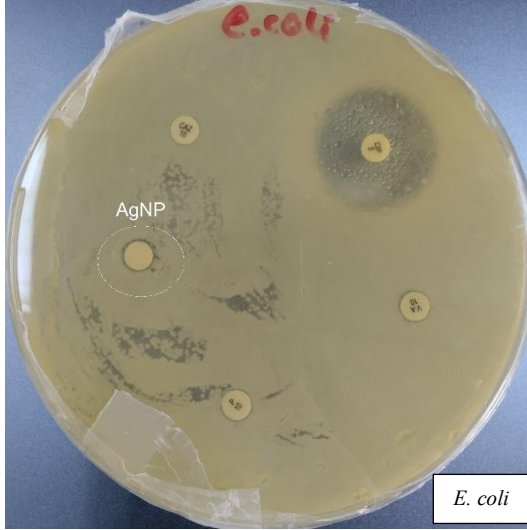
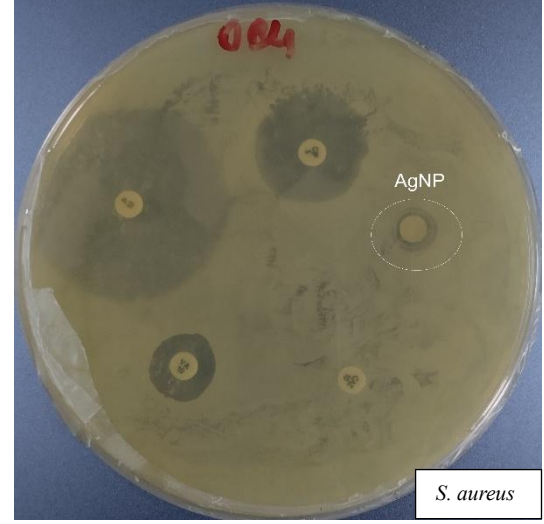
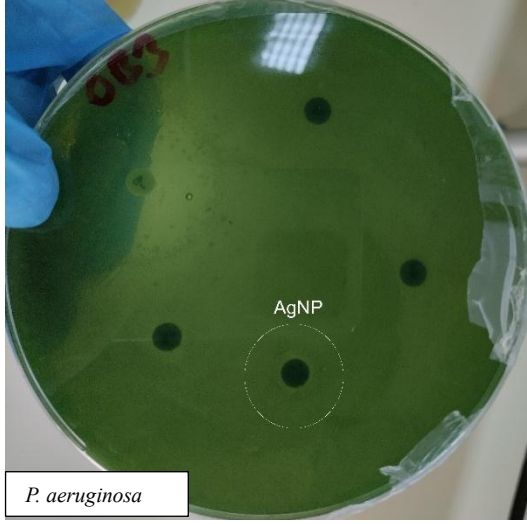
NP'lerin antimikrobiyal etkisi, küçük boyut, yüksek yüzey alanı, stabilite ve biyolojik geçirgenliğe sahip kaplama yapısıyla açıklanabilir.





Şekil 4.19. Beş farklı bakteriye karşı AgNP’ler ve ticari antibiyotik diskleri (Ceftazidime, Ciprofloxacin, Penicillin G, Vancomycin) ile gerçekleştirilen kuyu difüzyon testinin inhibisyon zon çaplarını gösteren görüntüler.





Şekil 4.20. Beş farklı bakteriye karşı AgNP'ler ve ticari antibiyotik diskleri (Ceftazidime, Ciprofloxacin, Penicillin G, Vancomycin) ile gerçekleştirilen disk difüzyon testinin inhibisyon zon çaplarını gösteren görüntüler

Çizelge 4.2. Kuyu ve disk difüzyonda AgNP'lerin 5 farklı patojen bakteriye karşı vermiş olduğu çap ölçüm sonucu

Bakteri Türü	Kuyu Difüzyon (mm)		Disk Difüzyon (mm)	
	24 saat sonraki ölçüm	48 saat sonraki ölçüm	24 saat sonraki ölçüm	48 saat sonraki ölçüm
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ± 0.1	10 ± 0.1	8 ± 0.1	8 ± 0.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	12 ± 0.1	15 ± 0.1	15 ± 0.1	18 ± 0.1
<i>Escherichia coli</i>	14 ± 0.1	14 ± 0.1	7 ± 0.1	7 ± 0.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 ± 0.1	16 ± 0.1	8 ± 0.1	10 ± 0.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 ± 0.1	12 ± 0.1	10 ± 0.1	10 ± 0.1

AgNP'lerde hem kuyu difüzyon hemde disk difüzyon yöntemleriyle yapılan antibakteriyel deneyinde inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. İnhibisyon zon çapları yöntemlere ve inkübasyon süresine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak, kuyu difüzyon yönteminde inhibisyon zonlarının disk difüzyon yöntemine kıyasla daha büyük olduğu görülmüştür. Bu durum, AgNP'lerin sıvı ortamda daha iyi yayılması ve daha etkili difüzyon göstermesi ile açıklanabilir.

Acinetobacter baumannii bakterisi için kuyu difüzyon yönteminde 48. saatte zon çapı değişmezken, disk difüzyon yönteminde zon çapında değişme gözlenmemiştir.

Enterococcus faecalis bakterisi, disk difüzyon yönteminde 24 saatlik ölçümde, 15 mm zon çapı oluştururken bu değer 48 saatlik ölçümde, 18 mm'ye yükselmiştir. Kuyu difüzyon yönteminde ise 15 mm'den sabit kalmıştır.

Escherichia coli bakterisi, disk difüzyon yönteminde yalnızca 7 mm zon çapı oluştururken, kuyu difüzyon yönteminde bu değer 14 mm olarak gözlemlenmiştir. Bu da yöntemden dolayı farklılık gösterdiğini düşündürmektedir.

Pseudomonas aeruginosa bakterisi ise en yüksek inhibisyon zonları elde edilmiştir. 48 saat sonunda kuyu difüzyon yönteminde 16 mm, disk difüzyon yönteminde ise 10 mm zon çapı ölçülmüştür.

Staphylococcus aureus bakterisi, kuyu difüzyon yönteminde 12 mm, disk difüzyon yönteminde 10 mm olarak zon çapı ölçülmüştür. Bir gün sonra zon çaplarında bir değişim olmamıştır.

Çizelge 4.3. AgNP'ler ve antibiyotiklerin karşılaştırmalı antibakteriyel etkisi

Bakteri Türü	AgNP (mm)		Ceftazidime (mm)		Ciprofloxacin (mm)		Penicillin G (mm)		Vancomycin (mm)	
	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 mm	8 mm	X	X	24 mm	20 mm	X	X	X	X
<i>Enterococcus faecalis</i>	15 mm	18 mm	6 mm	8 mm	16 mm	24 mm	20 mm	40 mm	20 mm	16 mm
<i>Escherichia coli</i>	14 mm	7 mm	24 mm	X	40 mm	25 mm	14 mm	X	10 mm	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 mm	10 mm	11 mm	8 mm	24 mm	30 mm	X	X	X	X
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 mm	10 mm	X	X	23 mm	23 mm	40 mm	40 mm	15 mm	14 mm

K: kuyu difüzyon, D: disk difüzyon, X: zon çapı vermeyenleri kapsamaktadır. 0.1 mm sapma olabilir.

Acinetobacter baumannii bakterisine karşı uygulanan Ceftazidime ve Penicillin G antibiyotiklerine ait inhibisyon zonu gözlemlenmemesine rağmen AgNP'e karşı inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

Enterococcus faecalis bakterisine karşı uygulanan tüm disklere ve AgNP'e ait inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. Ancak AgNP'de Ceftazidime'e göre daha büyük çapta inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

Escherichia coli bakterisine karşı uygulanan Ceftazidime, Penicillin G, Vancomycin antibiyotiklerine ait inhibisyon zonu disk difüzyon yöntemi ile yapılan deneyde gözlemlenmemiştir. Fakat kuyu difüzyon yöntemi ile yapılan deneyde inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. Bu tutarsızlık, kullanılan diskin sistemde davranışından kaynaklanabilir (Chiu ve ark., 2021). *E. coli* bakterisine karşı AgNP'de Vancomycin'e göre daha büyük çapta inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

Pseudomonas aeruginosa bakterisine karşı uygulanan Penicillin G ve Vancomycin antibiyotiklerine ait inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. AgNP'de ise Ceftazidime'e göre daha büyük çapta inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

Staphylococcus aureus bakterisine karşı uygulanan Ceftazidime antibiyotiğine ait inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. AgNP'de ise bu bakteriye karşı inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

4.1.4 Sensör aktivite analizi

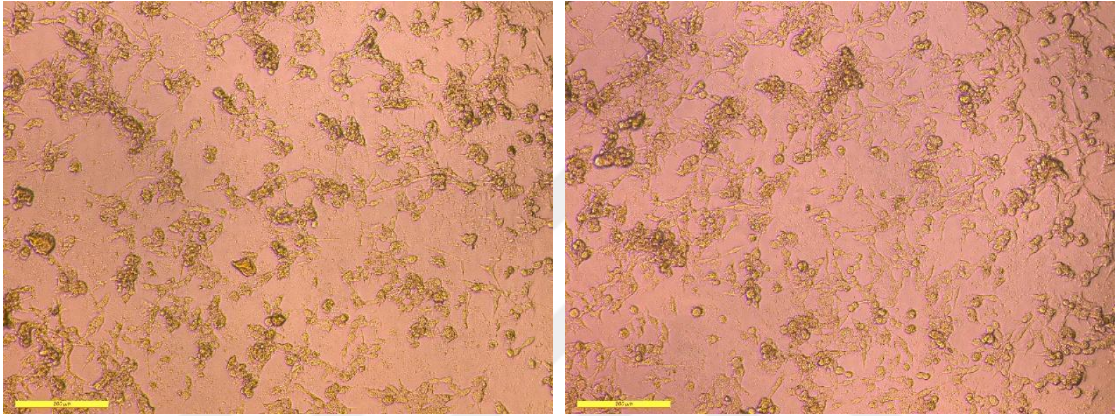
Sentezlenen AgNP'lerin sensör materyali olarak kullanılabilirliği potansiyometrik tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Bu teknikte, Ag/AgCl referans elektrodu kullanılarak yüksek molekül ağırlıklı PVC ve plastikleştirici içeren membranla birlikte ölçüm yapılmıştır. Literatüre uygun hazırlanan sensör, kurşun (Pb^{2+}) iyonlarına karşı ölçülüp değerlendirilmiştir. Maalesef ki yapılan ölçümlerde kurşun iyonlarının katı-hâl kontak kaplı elektrotunda anlamlı bir potansiyel seçiciliği gözlemlenmemiştir.

Literatürdeki bazı sensör çalışmalarında, AgNP'lerin, tek başına algılama elemanı olarak değil, elektrot yüzeyinin iletkenliğini artıran, sinyal güçlendiren ve yüzey alanını genişleten yardımcı araç olarak kullanılmıştır (Demir ve ark., 2023; Xu ve ark., 2023). Böylece AgNP'lerin, sensör performansını iyileştirmedeki etkisini göstermişlerdir.

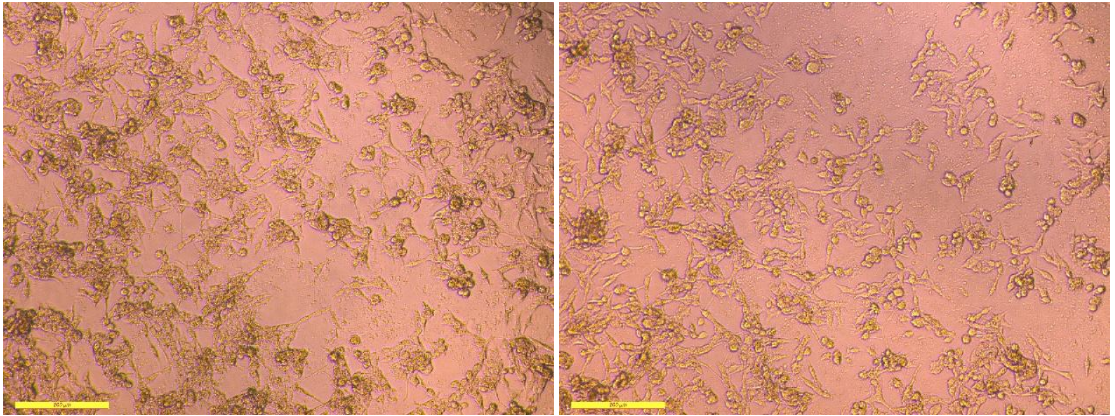
4.1.5 Antikanser aktivite analizi

Sentezlenen AgNP'lerin antikanser aktivitesi ıslak laboratuvarında deneyleri HCT116 hücre hattında yapılmış olup çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir.

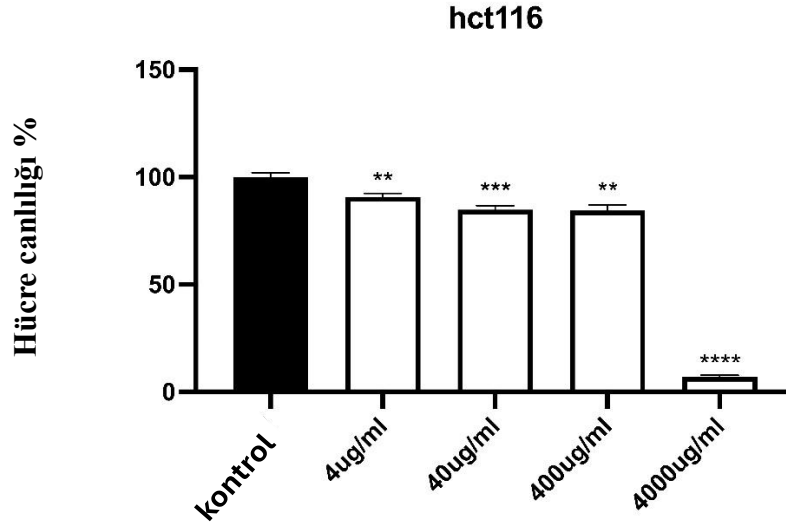
Aşağıda (Şekil 4.21. ile Şekil 4.22.), hücelere farklı konsantrasyonda AgNP uygulayıp inkübe edildikten 48 saat sonraki 200 kat büyütmedeki mikroskop görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.21. Hücelere AgNP uygulaması yapıldıktan 48 saat sonraki mikroskop görüntüleri (40 µg/ml konsantrasyon)



Şekil 4.22. Hücelere AgNP uygulaması yapıldıktan 48 saat sonraki mikroskop görüntüleri (400 µg/ml konsantrasyon)

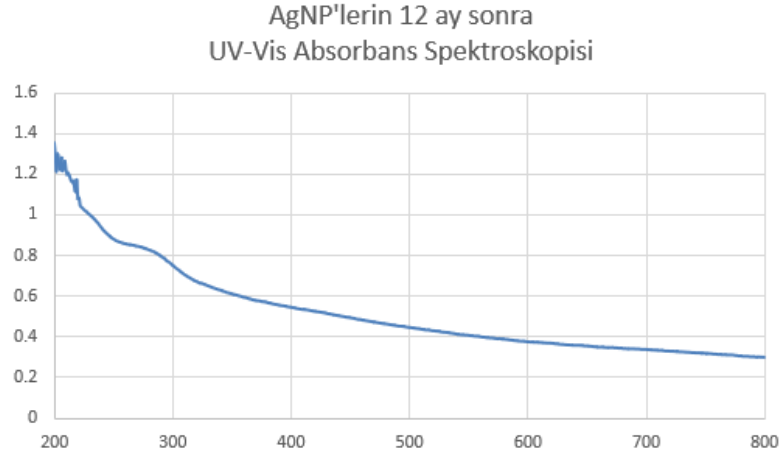


Şekil 4.23. Hücreler AgNP ile muamele edildikten sonra hücre canlılığı grafiği

MTT analiz sonuçları değerlendirildiğinde, AgNP uygulamasının hücre canlılığı üzerinde etkisi olduğunu göstermiştir. Kontrol grubunda hücre canlılığı %97-106 aralığında iken, düşük konsantrasyonlarda (4 $\mu\text{g/mL}$) hücre canlılığı %87-95 aralığında sonuç vermiştir. Orta konsantrasyonlardan olan 40 $\mu\text{g/mL}$ 'de ise hücre canlılığı %78-90 arasında değişmiştir. Yine bir diğer orta konsantrasyonlardan olan 400 $\mu\text{g/mL}$ 'de %78-94 arasında değişkenlik göstermiştir. Fakat yüksek konsantrasyonda (4000 $\mu\text{g/mL}$) hücre canlılığı belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Sayısal veri olarak %4.9-%9.5 aralığına düştüğü görülmüştür. Bu sonuçlar, AgNP'lerin HCT116 kolon kanseri hücreleri üzerinde doza bağlı sitotoksik etki gösterdiğini ve 4000 $\mu\text{g/mL}$ gibi konsantrasyonlarda, güçlü bir hücre öldürücü etkiye sahip olduğunu açıklamaktadır. Buradan da anlaşılabileceği üzere AgNP'lerin özellikle yüksek konsantrasyonda kanser hücrelerinde doza bağlı şekilde sitotoksik etkisinin olduğunu göstermektedir (Salih ve ark., 2023; Maharani ve ark., 2016).

4.1.6 AgNP'lerin kararlılık analizi

Bakteri aracılı elde edilen AgNP'lerin kararlılığı, ilerideki uzun vadeli uygulamalar açısından kritik öneme sahiptir. Bu deneyde, AgNP biyosentezinden yaklaşık 12 ay sonra gerçekleştirilen UV-Vis spektroskopisi ölçümleriyle AgNP'lerin optik kararlılığı değerlendirilmiştir (Vigneshwaran ve ark., 2007).



Şekil 4.24. AgNP'lerin 12 ay sonraki UV-Vis absorbans spektroskopisi

Bu tez kapsamında AgNP'ler elde edilir edilmez karakterizasyon amaçlı DAYTAM'da Shimadzu UV-3600 Plus marka UV-Vis spektrum cihazı ile ölçülmüştü. Yaklaşık 12 ay sonra da yeniden ölçülüp değerlendirilmiştir. Bu ölçüm ise Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya Bölümü bünyesinde yer alan Shimadzu UV-2600i Plus marka UV-Vis spektrum cihazı ile ölçüldü. Başlangıçta AgNP'nin ilk ölçümünde, 208 nm aralığında belirgin absorpsiyon piki gözlemlenmişti. Bu pik bakteriyel biyosentez sırasında oluşan organik kalıntılardan dolayı gözlemlendiği de belirtildi. Bu organik kalıntıların kanıtı diğer karakterizasyon yöntemleriyle de açıklandı. Yaklaşık 12 ay sonra yapılan UV-Vis ölçümlerinde de ilk ölçümle hemen hemen aynı 200-210 nm aralığında absorpsiyon pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.24). 12 ay sonra gözlemlenen pik genişlemesi ise organik kalıntılar ve cihaz farklarından dolayı olabileceğini akla getirmektedir. Farklı Shimadzu UV-Vis spektrum cihazlarından alınan verilerin incelenip grafik yorumlanmasında, 200-210 nm'deki organik piklerin her iki cihazda tutarlılık göstermesi, biyokaplamanın zamanla korunduğunu teyit etmektedir. Organik kalıntıların varlığı, NP'lerin birbiri ile temas ederek kümeleşmesini önleyebilir (Xu ve ark., 2020; Bélteky ve ark., 2019). Bu sayede de AgNP'ler uzun vadeli kararlılığı koruyabilir. Aslında bu durum, AgNP'lerin uzun depolama süresince optik özelliklerini önemli ölçüde koruduğuna işaret edebilir (Habibullah ve ark., 2022). Böylece kararlılığın stabilitesini de düşünülmektedir. Bu durum, NP'lerin agregasyon veya kimyasal bozunma gibi kararlılık kaybına yol açan süreçlere karşı yüksek direnç gösterdiğini de düşündürülebilir. UV-Vis sonuçları, sentezlenen AgNP'lerin uzun vadeli koloidal kararlılığı büyük ölçüde koruduğu

düşünülmektedir. Bu kararlılık, muhtemelen bakteri kaynaklı oluşan ve partikül yüzeyini saran organik kalıntılardan kaynaklanmaktadır. Bu organik kalıntılar, NP'ler için etkili bir stabilize edici kaplama görevi görmüş olabilirler.

Bu bulgu, bakteriyel biyosentezin kararlılık stabilitesini büyük ölçüde koruduğu AgNP'lerin üretme durumunu ortaya koymuştur. AgNP'lerin çeşitli biyomedikal ve diğer biyoyumlu pek çok uygulamalar için yüksek potansiyel taşıdığına ve uzun ömürlü olabileceklerini işaret etmektedir (Meher ve ark., 2024).



4.2 Tartışmalar

Bu çalışmada biyosentez yöntemi ile *P. fluorescens* bakterisinden sentezlenen AgNP'ler, yapısal, yüzeysel ve biyolojik etkinlik açısından literatürdeki benzerlerinden farklı olarak özgün sonuçlara ulaşılmıştır. Bu bölümde elde edilen farklı bulgular literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

P. fluorescens ile sentezlenen AgNP'lerde, renk değişiminin ertesi gün gözlemlenmesi, indirgeme sürecinin yavaş fakat daha kontrollü gerçekleştiğini göstermektedir. Bu durum, partiküllerin daha homojen büyümesini sağlayarak stabilite açısından avantajlı durum sağlayabilir. Literatürde bildirilen bitki özütleriyle sentezlenen hızlı indirgeme reaksiyonlarıyla karşılaştırıldığında, bu durum bakteri ile sentezlenen AgNP'lerde indirgeme ajanlarının yavaş kinetik, parçacık stabilitesi sayesinde de aglomerasyonun az olmasına işaret eder (Asif ve ark., 2022; Abeer Mohammed ve ark., 2022).

Bu çalışmada elde edilen UV–Vis SPR piki beklenen 400–450 nm değeri yerine 208 nm'de gözlenmiştir. Bu durumun birkaç sebebi olabilir.

Birinci sebep, sentezde kullanılan bakteri kaynaklı biyolojik ajanlardan dolayı organik kalıntıların NP yüzeyinde kaplama etkisi yaratmış olabileceğidir. Bu organik kalıntılar, yüzey etkileşimini zayıflatabilir ve absorpsiyon şiddetini baskılayabilir. Benzer şekilde, AgNP sentezi gerçekleştirilen bir çalışmada, kaplayıcı ajan içeren AgNP'lerde 200–300 nm bandında pikler gözlemlenmiş ve bu durum amino asitler, proteinler ve diğer organik kalıntıların varlığıyla açıklanmıştır (Guilger-Casagrande ve ark., 2021).

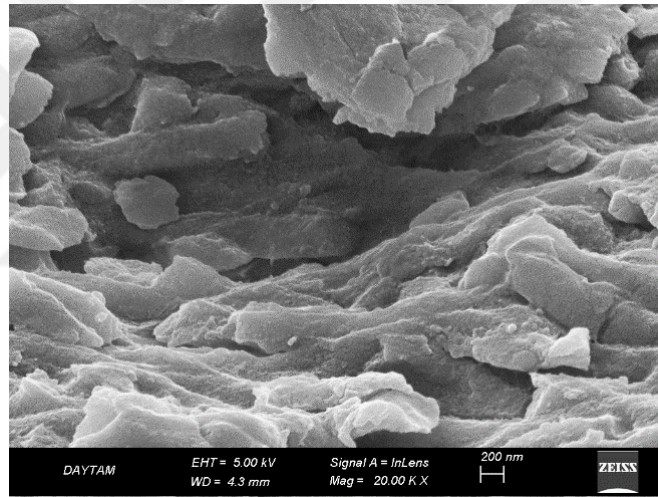
İkinci sebep, partiküllerin küçük boyutlu (TEM'de 10 nm altında ölçülmüştür) ve polidispers (DLS'de orta polidispers olduğu görülmüştür) olmasından dolayı hem boyut hemde dağılım sebebiyle SPR pikinde maviye kayma görülebilmektedir (Car & Krstulović, 2022). Yani 400 nm altında bu SPR piki görülebilmektedir.

Üçüncü sebep, sentez sonrası yıkama işleminde kullanılan hegzanın ortam etkisine de bağlanabilir. Literatürde, hegzan ile muamele edilen AgNP'lerde, SPR piklerinin belirgin şekilde azaldığı ortaya çıkmıştır (Sharma ve ark., 2020).

Dördüncü sebep, düşük partikül konsantrasyonundan dolayı SPR piki istenilen değerde çıkmamış olabilir (Tomaszewska ve ark., 2013)

Beşinci sebep ise literatürde, SPR pikinin oluşumunun pH değerine bağlı olduğu da değerlendirilmiştir. Adhikari ve ark., (2022), biyosentez ile elde ettikleri AgNP’lerde sadece pH’ın 10 olduğu koşullarda, SPR piki gözlemlendiğini, düşük pH koşullarında (pH 6.4) ise herhangi bir SPR bandı oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Bu durum ise uygun pH aralığı sağlanmadığı takdirde UV–Vis spektroskopisinde plazmon rezonansı etkisinin gözlenmeyebileceğine işaret etmektedir.

Tüm bu nedenler birlikte değerlendirildiğinde; yüzeyin organik kalıntılarla kaplanması, küçük partikül boyutu, polidisperse, kullanılan çözeltinin (hegzan) apolar özelliği, düşük NP konsantrasyonu ve pH değeri gibi faktörlerin her biri, UV–Vis analizinde beklenen SPR pikinin gözlemlenmemesine işaret ediyor olabilir.



Şekil 4.25. AgNP’lerin SEM görüntüsü (20.000 kat büyütme, ölçek çubuğu: 200 nm)

20.000× büyütme ile elde edilen SEM görüntüsünde (Şekil 4.25.) yüzeyin pürüzlü ve tabakalı bir morfolojiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek yüzey alanı ve gözenekli bir yapı varlığına işaret etmektedir. Bu yüzey, AgNP adsorpsiyonu ve tutunması için oldukça uygun bir ortam sunmaktadır (Maksoud ve ark., 2020; Kumar ve ark., 2017). Bu tür yüzeyler, yüksek yüzey alanı sayesinde antibakteriyel etkiyi destekleyen “NP taşıyıcı” sistem olarak kullanılabilir.

Elde edilen TEM görüntülerinde, bazı AgNP’lerin çevresinde gözlemlenen grimsi haleler, bakteriyel sentezden dolayı organik kalıntıların varlığını göstermektedir. Organik

kalıntılar, AgNP'lerin çevresinde amorf bir tabaka oluşturur. Bu tabaka, TEM analizinde düşük elektron yoğunluğu nedeniyle gri renkli hale şeklinde görülür (Sharma ve ark., 2014). TEM görüntülerindeki bu grimsi haleleri, organik kalıntı olarak değerlendirmek, EDS ve XPS analizlerinde, karbon ve oksijen piklerinin şiddetli olması ile desteklenebilir. Ek olarak, bu organik kalıntılar, SPR sinyalinin UV-Vis analizinde zayıf gözlemlenmesini açıklayan bir bulguda olabilir. Ayrıca bu organik kalıntı, XRD analizinde de kristal yapının zayıf gözlemlenmesine de neden olmuş olabilir.

XRD ve XPS analizleri beraber değerlendirildiğinde, AgNP'lerin kristal yapısı ve yüzey kimyası hakkında birbirini tamamlayan sonuçlar vermiştir.

XRD analizinde, FCC yapılı AgNP'lere özgü karakteristik pikler tespit edilmiştir. Ancak bu pikler beklenenden daha düşük şiddetlidir. Sebebi, NP'lerin küçük boyutlu olması (10 nm'den az), düşük kristallilik göstermesi, organik kalıntıların olması, konsantrasyonunun düşük olması gibi nedenlerle kırınım sinyalini bastırmasıyla açıklanabilir (Dhaka ve ark., 2023; Mourdikoudis ve ark., 2018). XRD analizinde AgNP'lere özgü karakteristik pikler dışında, 27°, 32°, 46°, 54° ve 57° civarlarında görülen piklere de rastlanmıştır. Bu pikler bakteriyel biyosentezden kaynaklanan organik kalıntılar veya hacimsel olarak iz miktarda bulunan Ag₂O sinyaline işaret edebilir (Sjöström ve ark., 2019; Nagaraja ve ark., 2022).

Bu bağlamda yapılan XPS analizleri, yüzeyde metalik gümüş formunun baskın olduğunu ve anlamlı düzeyde iyonik gümüş ile Ag₂O sinyali bulunmadığını göstermiştir. XPS'in yüzey duyarlılığı ile XRD'nin hacimsel analiz kabiliyeti arasındaki fark göz önünde bulundurulduğunda, XRD'de tespit edilen piklerin ya yüzeye çıkmamış iz miktardaki Ag₂O kristallerine ya da biyosentez kaynaklı organik kalıntıların kırınım izlerine ait olabileceği yorumlanmaktadır. Analizlerde, hacimde iz miktarda Ag₂O tespit edilmesine rağmen NP yüzeyinin büyük oranda Ag⁰ formunda bulunduğu anlaşılmaktadır. XRD'in, hacimsel faz kompozisyonu ile XPS'in yüzey kimyası ve oksidasyonu sunan özelliklerine dair ortaya sunduğu detaylı bilgi, AgNP sentezinin ve karakterizasyonunun değerlendirilmesinde birbirini tamamlayan iki kritik analiz yöntemi olarak öne çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2016).

Bakteriyel biyosentezlenen AgNP'ler, XRD analizi değerlendirmesinde düşük kristallilik göstermesi ve iz miktarda potansiyel oksidasyon, bakteriyel biyosentez ortamının kimyasal yapısıyla ilişkilidir. Bu tür AgNP'ler genellikle yavaş iyon salınımı sağlar, bu

da antimikrobiyal etkilerin daha uzun vadeli veya kalıcı olabileceğini düşündürmektedir (Bonilla-Gameros ve ark., 2022; Jenkhongkarn & Phisalaphong, 2023).

AgNP'lerin boyutlarında ise DLS analizlerinde ve TEM görüntülerinde farklılıklar bulunmaktadır. TEM görüntülerinde 5 nm civarında ve genel olarak 20 nm altında pek çok AgNP'ler gözlemlenmiştir. Buna rağmen, DLS analizinde 20 nm boyut aralığında belirgin bir sinyal tespit edilmemiştir. Bu durum, küçük çaplı partiküllerin düşük konsantrasyonları nedeniyle DLS cihazı tarafından algılanamamasıyla açıklanabilir. Hatta literatürde bu farkın nedenini, DLS'nin NP'lerin sadece çekirdeğini değil, aynı zamanda çevresindeki su molekülleri ve organik kalıntıları da ölçerken, TEM sadece katı çekirdek boyutunu ölçmesiyle ilişkilendirmişlerdir (Mourdikoudis ve ark., 2018). Bu nedenle, TEM görüntülerinde ölçülen AgNP'lerin boyutları 5–20 nm arasında da ölçülmesi, DLS ile elde edilen daha büyük hidrodinamik çap değerleriyle aslında çelişmemektedir. Literatürde de benzer şekilde, biyolojik yöntemle sentezlenen AgNP'lerde TEM ile ölçülen boyutların daha küçük çıkarken DLS ile ölçülen boyutların daha büyük aralıkta çıkmasını değerlendiren çalışmalar mevcuttur (Alam, 2022; Singhal ve ark., 2011).

AgNP'lerin zeta potansiyel değerinin -36.8 mV gibi yüksek negatif değerlerde olması ise partiküllerin uzun süreli kolloidal stabilitesini sağlamakla beraber bakteri hücreleriyle etkileşimini optimize etmektedir (Pelinescu ve ark., 2023). Yüksek negatif zeta potansiyeli değeri sayesinde AgNP'lerin, bakteri hücre duvarına yapışması kolaylaşır ve böylece nanokompozitlerin antibakteriyel etkinliğinde önemli düzeyde rol aldığını doğrulamaktadır (Kuyukina ve ark., 2022).

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, AgNP'lerin antibakteriyel etkisini hem kuyu difüzyon hem de disk difüzyon yöntemleriyle değerlendirilmiştir. AgNP'ler için kuyu yönteminin tercih edilmesi yönünde sonuç vermiştir. Bu durum, literatürde bildirilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildiğinde de örtüşmektedir. Literatürde AgNP'lerin kuyu difüzyon yöntemi, disk difüzyon yöntemine göre antibakteriyel etkisini daha güçlü ve güvenilir şekilde gösterdiğini rapor etmektedir (Nurkhaliza ve ark., 2024).

Antimikrobiyal deneyler sonucunda değerlendirilen, antibakteriyel aktivitenin sebebi, AgNP'lerin küçük boyutları ve organik kalıntılardan kaynaklanan kaplamaların hücre membranlarına geçişini kolaylaştırması ile açıklanabilir. Literatürde benzer çalışmalarda,

küçük boyutlu özellikle 10–20 nm boyut aralığındaki AgNP’lerin direkt olarak hücre membranına adsorbe olduğunu ve hücre içerisine girip, bakteri hücre duvarlarını etkili bir şekilde geçebildiği, bu sayede de yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Agnihotri ve ark., 2014). Küçük boyut, yüzey alanı/hacim oranını artırmakta ve partiküllerin hücre yüzeyine daha fazla temas etmesini mümkün kılmaktadır. Ayrıca, biyosentez yöntemiyle elde edilen AgNP’lerde mevcut olan organik kaplama molekülleri (protein ve polisakkarit türevleri gibi), AgNP’lerin bakteriyel hücrelerle etkileşimini kolaylaştırmakta ve hücre membranlarına tutunmasını artırmaktadır (Zhou et al., 2021).

AgNP’ler, ROS üretimi, hücre membranında yapısal bozulma, DNA ve protein hasarı ve biyofilm oluşumunu engelleme gibi özellikleri sayesinde antibakteriyel mekanizmalarla özellikle çoklu ilaç dirençli (MDR) patojenlere karşı güçlü bir etki ortaya koymaktadır. AgNP’ler sadece bunlarla da sınırlı kalmayıp bu özellikleri sayesinde, enfeksiyon kontrolü, antibiyotik aktivitesini artırma, tanı sistemleri, yara iyileştirme süreçleri ve biyomedikal kaplamalar gibi çeşitli tıbbi ve biyoteknolojik alanda kullanım potansiyeli sağlamakta olup kapsamlı etkileri ve düşük toksisite düzeyleriyle tarımsal biyoteknoloji uygulamalarında da çok yönlü ve güçlü adaylar olarak ön plana çıkmaktadır (Agnihotri ve ark., 2014; Gaurav, 2021; Mikhailova, 2024; More ve ark., 2023; Yakoup ve ark., 2024).

AgNP’lerin kararlılığını değerlendirmek amacıyla yapılan 12 ay sonraki Uv-Vis ölçümünde kesin bir cevap verilememekle beraber, AgNP’lerin büyük oranda kararlılığını koruduğunu belirlendi. Kesin olarak yorum yapılamama nedenleri ise ilk ölçüm yapılan cihaz DAYTAM’a ait olan UV-3600 Plus iken, 12 ay sonraki ölçüm ise Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya Bölümüne ait olan UV-2600i Plus modellerinin farklı olmasıdır. Çünkü markalar aynı olsa bile model farklılığından dolayı sonuçları etkileyebilir (Minelli ve ark., 2022; Quevedo ve ark., 2021). Bu cihazlar çözünürlük, kalibrasyon ve detektör gibi faktörler nedeniyle farklılıklar gösterebilir. UV-3600 Plus ve UV-2600i Plus cihazlarının UV-Vis ölçüm hassasiyetleri farklı olabilir ve bu da pikin genişliğini etkileyen sebeplerden biri olabilir. Aynı numuneyi farklı cihazlarla ölçmek, sonuçların karşılaştırılmasında zorluklar yaratabilir. Belki de piklerin genişlemesi, zamanla gelişen fiziksel değişimlere veya organik kalıntıların etkisine bağlıdır. Bu sebep ise NP’lerin kararlılığına dair herhangi bir olumsuz etken değildir. Fakat daha fazla analiz ve veri olmadan bu konuda kesin bir değerlendirme yapabilmek doğru değildir.

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışması kapsamında *P. fluorescens* bakterisi kullanılarak biyolojik sentez yöntemi ile AgNP'ler başarıyla sentezlenmiştir. Elde edilen AgNP'lerin morfolojik karakterizasyon, antimikrobiyal etkinlik ve antikanser özellik göstermiştir. Renk değişimi gibi makroskobik gözlemler, biyosentezin ilk saatlerinden itibaren AgNP oluşumunu doğrulamış, UV-Vis spektroskopisinde tespit edilen 208 nm gibi olağandışı bir SPR piki, AgNP'lerin küçük boyutlara ve yoğun biyolojik yüzey kaplamalara (çevrede organik kalıntılar) sahip olduğuna işaret etmiştir (Car & Krstulović, 2022; Guilger-Casagrande ve ark., 2021). Bu özellik, literatürde nadiren bildirilen bir durumdur ve sentez ortamındaki bakteriyel indirgeme sisteminin yüksek reaktivitesine işaret etmektedir. TEM ve SEM görüntülerinde AgNP'lerin 5–50 nm aralığında partikül boyutları, küresel görünümü, polidispers morfoloji ve partiküllerin etrafındaki biyolojik halo yapısı sonuçlarına ulaşılmıştır. XRD analizinde $2\theta = 27^\circ$ ve 32° 'de gözlemlenen pikler, kristal yapı ve oksit fazlarının varlığını ortaya koymuştur. XPS ve EDX analizlerinde yüksek C ve O oranı ise Ag^0 formunun yanı sıra biyolojik kalıntıları da işaret ederek hibrit yüzey yapısını doğrulamıştır (Zaghloul ve ark., 2023; Kim ve ark., 2019). Bu da AgNP'lerin yüzey stabilitesini ve biyofonksiyonelliğini artırmaktadır. DLS analizinde ise, AgNP'lerin hidrodinamik çapı 65 nm ölçülmüştür. Bu da hidrodinamik çap, yüzey kaplamayla birlikte düşünüldüğünde AgNP'lerin biyolojik ortamlarda uzun süre kararlı kalabileceğini göstermiştir (Bélteky ve ark., 2021). Zeta analizinde de -36.8 mV potansiyel değer AgNP'lerin uzun süreli ve yüksek kolloidal stabiliteye sahip olduğunu göstermiştir (Pelinescu ve ark., 2023). DLS ve zeta analizi birlikte değerlendirildiğinde çelişme olmamaktadır.

Tüm bu farklı karakterizasyon yöntemlerinden elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, biyosentez yöntemi ile bakteriyel sentezlenen AgNP'lerin metalik formda, ortalama 65 nm boyutlarda olmakla birlikte 10 nm altında boyutlarda da bulunduğu, kısmen kristal yapı, biyolojik kalıntılarla çevrili, orta düzeyde polidispers özellikte ve yüksek kolloidal olarak stabil olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Antimikrobiyal test sonuçlarına göre, bakteriyel biyosentez ile elde edilen AgNP'ler patojen olan hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilere (*A. baumannii*, *E.*

faecalis, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*) karşı belirgin inhibisyon zon çapları oluşturmuş, antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bu etkinin, NP'lerin çoklu etki mekanizmalarına (hücre zarının bozulması, ROS üretimi, DNA ve protein yapılarının tahribi) dayandığı değerlendirilmektedir. AgNP'ler mikrobiyal membranlarla sinerjik etkileşimi ve kontrollü Ag⁺ iyon salınımıyla açıklanabilir ve böylece daha etkili antibakteriyel etki oluşturur (Dakal ve ark., 2016). Mekanizma aslında AgNP'nin önce bakterinin zarına yapışıp yapısını bozmasıyla ardından Ag⁺ iyonları yavaşça salmasıyla bakteriyi öldürür. Ek olarak yine bu antibakteriyel etkinin küçük boyut, yüzey kaplamanın geçirgenliği, iyon salınımı ve parçacığın membranla kurduğu biyofiziksel etkileşimle birlikte açıklanmalıdır (Dakal ve ark., 2016). Bu sonuçlar, AgNP'lerin yalnızca pasif bir ajan değil; yüzey özellikleri sayesinde aktif biyolojik etkileşim sağlayan işlevsel sistemler olduğunu göstermektedir. Yani akıllı ve çok yönlü bir materyal diyebiliriz. Klasik metal NP'lerden çok daha fazlasıdır. AgNP'ler biyolojik sistem ürünü, hücreyle iletişime geçen fonksiyonel nanoyapılar olarak yorumlanabilir.

Potansiyometrik sensör çalışmasında, PVC membran sistemine sahip katı-hal kontak elektrotun kurşun iyonlarına karşı belirgin bir seçicilik sergilemediği görülmüştür. Bu sonuç, kullanılan membran bileşenlerinin, kurşun iyonlarıyla yeterince etkileşime girmemesinden, AgNP'lerin hedef iyonla ilişkili etkileşimin zayıf veya sınırlı olmasından veya membran kompozisyonunun uygunsuzluğundan kaynaklanıyor olabilir (Bakker ve ark., 1997; Nisah ve ark., 2022).

Antikanser çalışmasında ise AgNP'lerin kolon kanser hücre hattı olan HCT116 üzerinde konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etkisini ortaya koymuştur. Düşük ve orta konsantrasyonlarda anlamlı canlılık kaybı gözlenmezken, yüksek konsantrasyonlarda belirgin bir hücre canlılığı düşüşü olduğu değerlendirilmiştir. Sayısal verilerle değerlendirdiğimizde yüksek konsantrasyonda kullandığımız (4000 µg/mL) canlılığın %4.9 - %9.5 olduğu görülmektedir. Yani % 95.1 ile 90.5 kadar kanser hücrelerini öldürmüştür. Bu veriler ve değerlendirmeler, AgNP'lerin kanser hücreleri gibi ökaryotik hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterebileceği ve böylece kontrollü dozlarda potansiyel antikanser ajanı olarak kullanılabileceğini desteklemektedir (Liu ve ark., 2010). Benzer şekilde, literatürde mevcut olan bir çalışmada da biyosentezlenen AgNP'lerin HCT-116 kanser hücrelerinde antikanser etkilerinin yüksek dozlarda gösterdiği rapor edilmiştir (Acharya ve ark., 2021).

P. fluorescens ile gerçekleştirilen bu çalışma, AgNP'lerin biyolojik sentez yöntemiyle çevre dostu, düşük maliyetli, yüksek verimli, toksik kimyasalların kullanılmaması ve fonksiyonel biçimde elde edilebileceğini güçlü biçimde göstermiştir. Elde edilen partiküller yalnızca nanometrik ölçekte fiziksel yapılar değildir; onlar aynı zamanda mikroorganizma kaynaklı biyomoleküllerin taşıyıcısı, kontrollü iyon salınım sistemlerinin potansiyel öncülleri ve çoklu antibiyotik direncine karşı geliştirilen biyolojik mühendislik ürünleridir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, yeşil sentezin (green synthesis) bilimsel açıdan ne kadar geliştirilebileceği, en iyi şekilde nasıl elde edilebileceğini göstermiştir. Bunları yaparken de çevreye zarar vermeden, kimyasal ve zararlılar kullanılmadan gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen AgNP'lerin küçük boyutlarından ötürü UV-Vis spektrofotometresinde SPR piki istenilen sonucu vermese dahi aslında biyolojik kalıntılardan kaynaklı olduğunu TEM, SEM, XRD, XPS ve EDX analizlerinde de doğrulanmıştır. Organik kalıntılar ise aslında AgNP'lerin ilerleyen zamanlarda agregasyon oluşturmamaları açısından olumlu şekilde yansımıştır. Zeta potansiyel değerleriyle, kolloidal stabilitenin yüksek olduğunu böylece uzun süre kararlı olabileceği kanıtlandı. Kararlılık biyomedikal uygulamalar ve biyoyumluluk açısından çok önemli bir detay olduğundan dolayı ilerideki çalışmalarda AgNP'lerin kullanılabilmesi umut vaat etmiştir. Antimikrobiyal aktivitesi deneylerinde aldığımız sonuçlara göre Gram negatif ve pozitif çeşitli bakterilere göstermiş oldukları inhibisyon çapları yine ilerideki çalışmalar da ışık tutacak bir özellik olduğunu göstermektedir. Böylece AgNP'lerin yalnızca morfolojik ve fiziksel özellikleriyle değil, biyolojik olarak da aktif rollerinin olduğuna işaret etmiştir. Son olarak bakteri aracılı biyosentez yöntemi ile elde etmiş olduğumuz bu AgNP'ler, yalnızca temel bilimsel araştırmalarda değil, gelecek de nanotıp, biyoteknoloji, mikrobiyal nanoteknoloji ve daha fazla alana yön verecek uygulamalı araştırmaların temelini oluşturmaktadır.

5.2 Öneriler

Bu tez çalışması kapsamında bakteri aracılı biyosentez yöntemiyle AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlenmesi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ardından bu AgNP'lerin antimikrobiyal ve potansiyometrik sensör aktiviteleri incelenmiştir. Ancak, elde edilen bu bulgular yalnızca başlangıç niteliğinde olup temel bilimsel araştırmadır. Aşağıdaki öneriler kısmı, ilerideki araştırmalarda, bu tez çalışmasının derinleştirilmesine, uygulama alanlarının genişletilmesine ve nanoteknolojik ile biyoteknolojik yönünün daha fazla öne çıkarılmasına ışık tutması bakımından ele alınmıştır.

Gelecekteki çalışmalarda, farklı bakteri türleri kullanılarak da biyosentez yöntemiyle AgNP'ler elde edilip bunların karakteristik ve biyolojik özelliklerinin karşılaştırılmalıdır. Böylece tür-spesifik üretim endeksi net olarak ortaya konulabilir.

Nanoteknolojik ileri karakterizasyon tekniklerinden yararlanılmalı

AFM, FTIR, uçuş zamanlı ikincil iyon kütle spektrometrisi (ToF-SIMS) ve SERS gibi gelişmiş yüzey analiz yöntemleri ile yüzey kaplamalarının bağ türleri, kalınlıkları ve kimyasal içerikleri detaylı biçimde ortaya çıkarılmalıdır. Ayrıca AgNP'lerin nanomekanik davranışları (esneklik, yapışkanlık, yüzey sertliği) nanoindentasyon prensiplerine dayalı yöntemler kullanılarak değerlendirilip analiz edilmelidir.

AgNP'lerin kararlılığı detaylı şekilde saptanmalı

AgNP'lerin kararlılığını değerlendirmek için, sentezden 12 ay sonra yapılan UV-Vis sonuçlarına ek olarak DLS, TEM ve zeta potansiyeli ile de değerlendirme yapılmalıdır. Böylece, daha kapsamlı değerlendirmeler ve yorumlar yapılmalı, kesin sonuçlar elde edilmelidir.

İyon salınımı ve stabilite dinamikleri araştırılmalı

AgNP'lerin kontrollü salım kapasitesini değerlendirmek için iyon salınım kinetiği farklı pH, sıcaklık ve iyonik güç ortamlarında stabilite testleri gerçekleştirilerek AgNP'lerin biyolojik ortamlardaki davranışı belirlenip doz-gecikme profili sistematik olarak analiz edilmelidir.

Hücresel ve moleküler etki mekanizmaları aydınlatılmalı

Bakteriyel hücre duvarı etkileşimleri, yüksek çözünürlüklü TEM, lazer taramalı konfokal mikroskopi ve akış sitometrisi gibi ileri düzey görüntüleme ve analiz teknikleriyle detaylı olarak incelenmeli ve bunlar membran yıkımı mekanizmalarının moleküler düzeyde doğrulanmasında kullanılmalıdır. ROS üretimi, membran geçirgenliğinde meydana gelen değişiklikler ve gen ekspresyonu üzerindeki etkiler; qRT-PCR, Western blot ve floresan boyama gibi moleküler analiz teknikleriyle detaylı olarak ortaya konmalıdır.

Antimikrobiyal etki alanı artırılmalı

MDR klinik suşlar da dâhil olmak üzere farklı patojenlere karşı etkinlik testleri yapılmalıdır. Yeni terapötik stratejiler geliştirilmelidir. Bu strateji de AgNP'lerin çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılarak sinerjik çalışmalarının tasarlanmasıyla ve etkilerinin incelenmesiyle olabilir. AgNP'lerin düşük doz antibiyotiklerle birlikte kullanımı da değerlendirilmelidir. Böylece hem etkinliği artırabilir hem de antibiyotik direncinin önüne geçebilir.

Ayrıca probiyotik bazlı ürünlerde, AgNP'lerin bu antimikrobiyal etkisinden yararlanılarak sentetik mikrobiyom modülasyonu hedeflenmelidir. Zararlı mikroorganizmalar baskılanırken faydalı bakterilerin çalışabildiği sistemler tasarlanılabilir.

AgNP'lerin kanser hücrelerine karşı detaylı sitotoksik potansiyeli incelenmeli

AgNP'lerin kanser hücreleri üzerinde in vitro sitotoksik testleri gerçekleştirilmelidir. Farklı insan tümör hücre hatlarında partiküllerin seçici etkileri araştırılmalıdır.

Kanser hücrelerine seçici hedefleme sağlamak amacıyla, AgNP'lerin yüzeyine folat, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ligandları veya aptamer gibi biyomoleküller bağlanarak hedefe yönelik taşıma sistemleri geliştirilebilir. Bu da hem AgNP'lerin nanotaşıyıcı olarak işlev görmesini sağlayabilir. Ayrıca bu şekilde yönlendirilen AgNP'lerin hücre içi alım mekanizmaları, ROS üretimi, apoptoz sinyalleme ve DNA hasarı gibi biyolojik etkileri değerlendirilmelidir. Bu değerlendirmeler floresan boyama, akış sitometrisi ve gen ekspresyon analizleriyle kapsamlı şekilde yapılabilir. Böylece

hedefe yönelik taşıyıcı sistemlerde AgNP'lerin kullanımı, potansiyel antikanser ajan olarak kullanılabilirliği değerlendirilebilir.

Nanotıpta taşıyıcı sistem ve kombinasyon stratejileri geliştirilmeli

AgNP'ler, taşıyıcı özellikleri derinlemesine değerlendirilmelidir. Örneğin yukarı da da değinildiği üzere kemoterapötik ajanlarla beraber AgNP'ler yüklenerek kombinasyonel taşıyıcı sistemler oluşturulabilir. Ardından bunların sinerjik etkileri test edilmelidir.

Multifonksiyonel nanosistemler tasarlanmalı

AgNP'ler ile öyle bir multifonksiyonel nanosistem oluşturulmalı ki aynı yapı hem kanser hücrelerine ulaşmalı, hem ilaç bırakmalı, hem de gerektiğinde fototermal/ROS etkisiyle hücreyi yok edebilecek potansiyele sahip olmalıdır.

In vivo ve klinik öncesi modellerde test edilmeli

AgNP'lerin biyouyumluluğu, sitotoksitesi, toksikolojisi, farmakokinetik dağılımı ve terapötik güvenliği in vitro hücre kültürlerinde test edilmelidir. Ardından in vivo modellerle çalışılmalı ve medikal uygulamalara entegrasyon olanakları değerlendirip araştırılmalıdır.

AgNP'lerin farmakokinetik ve farmakodinamik profilleri, geleneksel ilaçlarla karşılaştırmalı olarak incelenmelidir. Doz-optimizasyon protokolleri oluşturulmalıdır.

Özellikle dermal, oral veya intravenöz uygulama senaryoları üzerinden biyoyararlanım çalışmaları yapılmalıdır. Böylece tıbbi nanoteknolojik uygulamalarda da AgNP'lerden yararlanılmış olur.

AgNP'lerin polimerik yapılara veya biyobozunur taşıyıcı sistemlere entegre edilerek nanokompozit yapılar geliştirmelidir. AgNP'ler farklı taşıyıcı materyallerle birleştirilmesi sağlanılmalıdır. Böylece gıda ambalajı, yara örtüsü, medikal tekstil, tıbbi implant kaplamaları ve antimikrobiyal yüzey teknolojileri gibi alanlarda prototip geliştirme adımları planlanmış olur.

AgNP'lerin antibiyofilm aktivitesinin detaylı olarak değerlendirilmelidir. Bu da enfeksiyonların tedavisinde uygulama potansiyelini genişletebilir.

Biyosensör uygulamalarında AgNP tabanlı fonksiyonel yapılar geliştirilmeli

AgNP'lerin optik ve elektrokimyasal özellikleri kullanılarak glukoz ölçümü, DNA tayini gibi modern biyosensör teknolojilerinde kullanılabilirliği artırılabilir.

Yüzey fonksiyonelleştirmesi yapılarak hedefe özgü sensör sistemleri tasarlanmalıdır. Hızlı, duyarlı ve de düşük maliyetli teşhis teknolojileri geliştirilmelidir.

Ayrıca AgNP'lerin renk değişimine dayalı renkli sensörler analiz edilmelidir. AgNP'nin kendisini floresan sönmüleyici olarak kullanabilme özelliği sayesinde, bu özelliğini kullanarak görsel tanı sistemlerine entegrasyonu sağlanılabilir.

AgNP'lerin DNA ve RNA dizileriyle etkileşim özellikleri kullanılarak genetik temelli tanı sistemlerinde biyosensörler geliştirilebilir. Bu sistemler, özellikle kanser ve genetik hastalıkların erken teşhisinde değerlendirilmesinde umut olabilir.

Tarımsal biyoteknoloji alanında uygulama potansiyeli araştırılmalı

AgNP'lerin tarımsal biyoteknoloji alanındaki potansiyel uygulamaları, özellikle tohum çimlenmesi, kök gelişimi ve genel olarak bitki büyümesi üzerine olan etkileri analiz edilmelidir. AgNP'lerin mikrobiyal gübre olarak kullanımları geliştirilmelidir. Bu partiküllerin mikrobiyal gübrelerin stabilitesine ve biyolojik etkinliğine katkısı incelenmelidir.

AgNP'lerin bitki patojenlerine karşı biyopestisit veya koruyucu ajan olarak kullanımı analiz edilmelidir. Bu amaçla geliştirilecek kontrollü Ag⁺ salınımına sahip nano yapıların hem bitki sağlığına hem de çevresel sürdürülebilirliğe olan katkıları analiz edilmedi.

Çevresel güvenlik ve biyobirikim potansiyeli araştırılmalı

AgNP'lerin çevresel salınım sonrası su, toprak ve canlı sistemlerde oluşturabileceği uzun vadeli etkiler araştırılmalıdır.

Yukarıda bahsettiğimiz tarımda AgNP'lerin kullanımında da toprak mikrobiyotası üzerindeki uzun vadeli etkileri ve olası ekotoksikolojik riskleri olup olmadığı araştırılmalıdır. Toprak sağlığına zarar vermeyecek güvenli konsantrasyon aralıkları belirlenmelidir. AgNP'lerin ekotoksitesitesi sucul organizmalar ve böcekler gibi çevre organizmaları üzerinde in vivo olarak analiz edilmelidir. Ayrıca, AgNP'lerin çevresel

organizmalarda biyobirikim potansiyeli incelenmelidir. Gıda zincirine geçiş riski değerlendirilmeli, sürdürülebilir kullanım ilkeleri göz önünde bulundurularak güvenlik sınırları belirlenmelidir. Atık su arıtımında, mikrobiyal direnç kontrolü için AgNP katkılı sistemlerin uygulanabilirliği analizlenmelidir.

Aşı teknolojilerinde uygulamalar

AgNP'ler antijen taşıyıcı veya bağışıklık yanıtını artırıcı destekleyici olarak kullanılıp kullanılmadığı değerlendirilmelidir. Testlerden başarıyla geçtikleri takdirde hedefli ve daha etkili bağışıklık sistemleri uyarlanılabirler.

Bu neriler, AgNP'lerin yalnızca temel bilimsel bir sentez çalışması olmadığını aynı zamanda fonksiyonel nanomalzeme geliştirme sürecine atılmış sağlam bir adım olduğunu göstermektedir. Nanotıp, nanosensör, kanser biyoteknolojisi, akıllı ilaç taşıyıcı sistemler ve uygulamalı nanomedikal alanlarda nasıl bir dönüşüm yaratabileceğine dair vizyoner bir yol haritası sunmaktadır. Literatür taramasında da görüldüğü üzere özellikle son yıllarda bu yönlerde büyük bir ivme olduğu açıktır. Bu bağlamda, çalışmanın bir sonraki fazı bu ekseninde planlanmalıdır. Louis Pasteur'n bilime bakışı doğrultusunda, bilim yalnızca bilgi üretmekle kalmamalı; bu bilgiyi insanlık yararına uygulanabilir üzümlere dönüştürmeyi hedeflemelidir. Bu kanıdan yola çıkarak, yalnızca keşfetmek yeterli olmaz, keşfi anlamlı uygulamalara dönüştürmekte gerekli olduğunu söyleyebiliriz.

6 KAYNAKLAR

- Abbasi, R., Shineh, G., Mobaraki, M., Doughty, S., & Tayebi, L. (2023). Structural parameters of nanoparticles affecting their toxicity for biomedical applications: a review. *Journal of Nanoparticle Research*, 25(3), 43.
- Abd-Elnaby, H. M., Abo-Elala, G. M., Abdel-Raouf, U. M., & Hamed, M. M. (2016). Antibacterial and anticancer activity of extracellular synthesized silver nanoparticles from marine *Streptomyces rochei* MHM13. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(3), 301-312.
- Abeer Mohammed, A. B., Abd Elhamid, M. M., Khalil, M. K. M., Ali, A. S., & Abbas, R. N. (2022). The potential activity of biosynthesized silver nanoparticles of *Pseudomonas aeruginosa* as an antibacterial agent against multidrug-resistant isolates from intensive care unit and anticancer agent. *Environmental Sciences Europe*, 34(1), 109.
- Abishad, P., Vergis, J., Unni, V., Ram, V. P., Niveditha, P., Yasur, J., ... & Rawool, D. B. (2022). Green synthesized silver nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus* as an antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm agent against multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 14(5), 904-914.
- Acharya, D., Satapathy, S., Somu, P., Parida, U. K., & Mishra, G. (2021). Apoptotic effect and anticancer activity of biosynthesized silver nanoparticles from marine algae *Chaetomorpha linum* extract against human colon cancer cell HCT-116. *Biological Trace Element Research*, 199(5), 1812-1822.
- Adhikari, A., Lamichhane, L., Adhikari, A., Gyawali, G., Acharya, D., Baral, E. R., & Chhetri, K. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia vulgaris* extract and its application toward catalytic and metal-sensing activity. *Inorganics*, 10(8), 113.
- Adiguzel, A.O., Adiguzel, S.K., Mazmanci, B., Tunçer, M. and Mazmanci, M.A., 2018. Silver nanoparticle biosynthesis from newly isolated streptomyces genus from soil. *Materials Research Express*, 5(4), p.045402.

- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances*, 4(8), 3974-3983.
- Ahmad, S. A., Das, S. S., Khatoon, A., Ansari, M. T., Afzal, M., Hasnain, M. S., & Nayak, A. K. (2020). Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials science for energy technologies*, 3, 756-769.
- Ajaz, S., Ahmed, T., Shahid, M., Noman, M., Shah, A. A., Mehmood, M. A., ... & Li, B. (2021). Bioinspired green synthesis of silver nanoparticles by using a native *Bacillus* sp. strain AW1-2: Characterization and antifungal activity against *Colletotrichum falcatum* Went. *Enzyme and microbial technology*, 144, 109745.
- Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., & Reddy, P. S. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Lantana camara* leaf extract. *Materials science and engineering: C*, 49, 373-381.
- Akyasan, A., Özbek, O., Akbaş, H., & Işıldak, Ö. (2025). Protic ionic liquid based potentiometric sensors: high selectivity detection of silver (I) ions. *ChemistrySelect*, 10(3), e202405507.
- Alam, M. (2022). Analyses of biosynthesized silver nanoparticles produced from strawberry fruit pomace extracts in terms of biocompatibility, cytotoxicity, antioxidant ability, photodegradation, and in-silico studies. *Journal of King Saud University-Science*, 34(8), 102327.
- Aliero, A. S., Hasmoni, S. H., Haruna, A., Isah, M., Malek, N. A. N. N., & Zawawi, N. A. (2025). Bibliometric exploration of green synthesized silver nanoparticles for antibacterial activity. *Emerging Contaminants*, 11(1), 100411.
- Asif, M., Yasmin, R., Asif, R., Ambreen, A., Mustafa, M., & Umbreen, S. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs), structural characterization, and their antibacterial potential. *Dose-response*, 20(2), 15593258221088709.
- Baig, N., Kammakakam, I., & Falath, W. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials advances*, 2(6), 1821-1871.

- Baker, C., Pradhan, A., Pakstis, L., Pochan, D. J., & Shah, S. I. (2005). Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 5(2), 244-249.
- Bakker, E., Bühlmann, P., & Pretsch, E. (1997). Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 1. General characteristics. *Chemical reviews*, 97(8), 3083-3132.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Bélteky, P., Rónavári, A., Igaz, N., Szerencsés, B., Tóth, I. Y., Pfeiffer, I., ... & Kónya, Z. (2019). Silver nanoparticles: Aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity. *International journal of nanomedicine*, 667-687.
- Bélteky, P., Rónavári, A., Zakupszky, D., Boka, E., Igaz, N., Szerencsés, B., ... & Kónya, Z. (2021). Are smaller nanoparticles always better? Understanding the biological effect of size-dependent silver nanoparticle aggregation under biorelevant conditions. *International journal of nanomedicine*, 3021-3040.
- Berkel, C., & Cacan, E. (2021). Involvement of ATMIN-DYNLL1-MRN axis in the progression and aggressiveness of serous ovarian cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 570, 74-81.
- Bettersize Instruments, 2023. What are Z-average and polydispersity index (PDI)?. Çin, <https://www.bettersizeinstruments.com/learn/bettersize-wiki/what-is-z-average-and-polydispersity-index-pdi/> (05.06.2025).
- Bonilla-Gameros, L., Chevallier, P., Copes, F., Sarkissian, A., & Mantovani, D. (2022). The oxidation state of Ag nanoparticles highly affects the release of Ag ions without compromising the mechanical performance and the safety of amorphous hydrogenated carbon coatings. *Diamond and Related Materials*, 130, 109430.
- Cacan, E., & Ozmen, Z. C. (2020). Regulation of Fas in response to bortezomib and epirubicin in colorectal cancer cells. *Journal of Chemotherapy*, 32(4), 193-201.
- Car, J., & Krstulović, N. (2022). Analytical Model for Determination of Size-Distribution of Colloidal Silver Nanoparticles from Surface Plasmon Resonance Wavelength and Dielectric Functions. *Nanomaterials*, 12(19), 3474.

- Castillo-Henríquez, L., Alfaro-Aguilar, K., Ugalde-Álvarez, J., Vega-Fernández, L., Montes de Oca-Vásquez, G., & Vega-Baudrit, J. R. (2020). Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. *Nanomaterials*, 10(9), 1763.
- Cekuolyte, K., Gudiukaite, R., Klimkevicius, V., Mazrimaite, V., Maneikis, A., & Lastauskiene, E. (2023). Biosynthesis of silver nanoparticles produced using *Geobacillus* spp. bacteria. *Nanomaterials*, 13(4), 702.
- Cetin, A., Özbek, O., & Erol, A. (2023). Development of a potentiometric sensor for the determination of carbamazepine and its application in pharmaceutical formulations. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 98(4), 890-897.
- Chiu, C. T., Lai, C. H., Huang, Y. H., Yang, C. H., & Lin, J. N. (2021). Comparative analysis of gradient diffusion and disk diffusion with agar dilution for susceptibility testing of *Elizabethkingia anophelis*. *Antibiotics*, 10(4), 450.
- Chugh, D., Viswamalya, V. S., & Das, B. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles with algae and the importance of capping agents in the process. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 126.
- Crisan, C. M., Mocan, T., Manolea, M., Lasca, L. I., Tăbăran, F. A., & Mocan, L. (2021). Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial solutions. *Applied Sciences*, 11(3), 1120.
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in microbiology*, 7, 1831.
- Dawadi, S., Katuwal, S., Gupta, A., Lamichhane, U., Thapa, R., Jaisi, S., ... & Parajuli, N. (2021). Current research on silver nanoparticles: synthesis, characterization, and applications. *Journal of nanomaterials*, 2021(1), 6687290.
- Demir, E., Silah, H., Erkmen, C., & Uslu, B. (2023). Electrochemical sensor design based on silver nanoparticles modified multiwalled carbon nanotubes paste electrode for the sensitive determination of mepivacaine. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 26(15), 2644-2655.
- Dey, B., Mukherjee, S., Mukherjee, N., Mondal, R. K., Satpati, B., Senapati, D., & Babu, S. S. (2016). Green silver nanoparticles for drug transport, bioactivities and a

- bacterium (*Bacillus subtilis*)-mediated comparative nano-patterning feature. *RSC Advances*, 6(52), 46573-46581.
- Dhaka, A., Mali, S. C., Sharma, S., & Trivedi, R. (2023). A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. *Results in Chemistry*, 6, 101108.
- Dildar, N., Ali, S. N., Sohail, T., Lateef, M., Khan, S. T., Bukhari, S. F., & Fazil, P. (2022). Biosynthesis, characterization, radical scavenging and antimicrobial properties of *Psidium guajava* Linn coated silver and iron oxide nanoparticles. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(2), 145-152.
- Eker, F., Duman, H., Akdaşçi, E., Bolat, E., Sarıtaş, S., Karav, S., & Witkowska, A. M. (2024). A comprehensive review of nanoparticles: from classification to application and toxicity. *Molecules*, 29(15), 3482.
- Fahim, M., Shahzaib, A., Nishat, N., Jahan, A., Bhat, T. A., & Inam, A. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles: A comprehensive review of methods, influencing factors, and applications. *JCIS Open*, 100125.
- Fox Jr, C. L. (1983). Topical therapy and the development of silver sulfadiazine. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 157(1), 82-88.
- 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.
- Gandhi, S., & Shende, P. (2021). Cyclodextrins-modified metallic nanoparticles for effective cancer therapy. *Journal of Controlled Release*, 339, 41-50.
- Garibo, D., Borbón-Núñez, H. A., de León, J. N. D., García Mendoza, E., Estrada, I., Toledano-Magaña, Y., ... & Susarrey-Arce, A. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Lysiloma acapulcensis* exhibit high-antimicrobial activity. *Scientific reports*, 10(1), 12805.
- Gaurav, I. (2021). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles with Rhizome extract of *Curcuma longa* (AgNPs-RECL) for Antimicrobial activity towards *Xanthomonas* and *Erwinia* species. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(1), 325-330.

- Gnach, A., Lipinski, T., Bednarkiewicz, A., Rybka, J., & Capobianco, J. A. (2015). Upconverting nanoparticles: assessing the toxicity. *Chemical Society Reviews*, 44(6), 1561-1584.
- Goel, N., Ahmad, R., Singh, R., Sood, S., & Khare, S. K. (2021). Biologically synthesized silver nanoparticles by *Streptomyces* sp. EMB24 extracts used against the drug-resistant bacteria. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100753.
- Golinska, P., Wypij, M., Ingle, A. P., Gupta, I., Dahm, H., & Rai, M. (2014). Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(19), 8083-8097.
- Guilger-Casagrande, M., Germano-Costa, T., Bilesky-José, N., Pasquoto-Stigliani, T., Carvalho, L., Fraceto, L. F., & De Lima, R. (2021). Influence of the capping of biogenic silver nanoparticles on their toxicity and mechanism of action towards *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 53.
- Habibullah, G., Viktorova, J., Ulbrich, P., & Ruml, T. (2022). Effect of the physicochemical changes in the antimicrobial durability of green synthesized silver nanoparticles during their long-term storage. *RSC advances*, 12(47), 30386-30403.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321.
- Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Huq, M. A. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Pseudoduganella eburnea* MAHUQ-39 and their antimicrobial mechanisms investigation against drug resistant human pathogens. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1510.
- Iqtedar, M., Aslam, M., Akhyar, M., Shehzaad, A., Abdullah, R., & Kaleem, A. (2019). Extracellular biosynthesis, characterization, optimization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Bacillus mojavenis* BTCB15 and its antimicrobial activity against multidrug resistant pathogens. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(2), 136-142.

- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9(6), 385-406.
- Isildak, Ö., & Özbek, O. (2021). Application of potentiometric sensors in real samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(3), 218-231.
- Isildak, Ö., Güneş, G., & Özbek, O. (2023). Use of some amino acid potentiometric biosensors as detectors in ion chromatography. *Chemical Papers*, 77(6), 3317-3325.
- İbrahim, E., Fouad, H., Zhang, M., Zhang, Y., Qiu, W., Yan, C., ... & Chen, J. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles using endophytic bacteria and their role in inhibition of rice pathogenic bacteria and plant growth promotion. *RSC advances*, 9(50), 29293-29299.
- Jeffryes, C., Agathos, S. N., & Rorrer, G. (2015). Biogenic nanomaterials from photosynthetic microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 23-31.
- Jenkhongkarn, R., & Phisalaphong, M. (2023). Effect of reduction methods on the properties of composite films of bacterial cellulose-silver nanoparticles. *Polymers*, 15(14), 2996.
- John, M. S., Nagoth, J. A., Ramasamy, K. P., Mancini, A., Giuli, G., Natalello, A., ... & Pucciarelli, S. (2020). Synthesis of bioactive silver nanoparticles by a *Pseudomonas* strain associated with the antarctic psychrophilic protozoan *Euplotes focardii*. *Marine drugs*, 18(1), 38.
- Kaabipour, S., & Hemmati, S. (2021). A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 12(1), 102-136.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Kalishwaralal, K., BarathManiKanth, S., Pandian, S. R. K., Deepak, V., & Gurunathan, S. (2010). Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 340-344.

- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., ... & Cho, M. H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine*, 3(1), 95-101.
- Kim, M., Jee, S. C., Shinde, S. K., Mistry, B. M., Saratale, R. G., Saratale, G. D., ... & Kadam, A. A. (2019). Green-synthesis of anisotropic peptone-silver nanoparticles and its potential application as anti-bacterial agent. *Polymers*, 11(2), 271.
- Kumar, K. Y., Archana, S., Raj, T. V., Prasana, B. P., Raghu, M. S., & Muralidhara, H. B. (2017). Superb adsorption capacity of hydrothermally synthesized copper oxide and nickel oxide nanoflakes towards anionic and cationic dyes. *Journal of science: advanced materials and devices*, 2(2), 183-191.
- Kumawat, A. K., Rathore, S. S., Singh, S., & Nathawat, R. (2023). Structural transition and photoluminescence behavior of (V₂O₅)_{1-x} (Ag_{0.33}V₂O₅)_x (x= 0 to 0.1) nanocomposites. *Results in Chemistry*, 5, 100802.
- Kuyukina, M. S., Makarova, M. V., Pistsova, O. N., Glebov, G. G., Osipenko, M. A., & Ivshina, I. B. (2022). Exposure to metal nanoparticles changes zeta potentials of *Rhodococcus* cells. *Heliyon*, 8(11).
- Lasmi, F., Hamitouche, H., Laribi-Habchi, H., Benguerba, Y., & Chafai, N. (2025). Silver Nanoparticles (AgNPs), Methods of Synthesis, Characterization, and Their Application: A Review. *Plasmonics*, 1-34.
- Lateef, A., Ojo, S. A., Akinwale, A. S., Azeez, L., Gueguim-Kana, E. B., & Beukes, L. S. (2015). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using cell-free extract of *Bacillus safensis* LAU 13: antimicrobial, free radical scavenging and larvicidal activities. *Biologia*, 70(10), 1295-1306.
- Li, R., Wang, H., Song, Y., Lin, Y. N., Dong, M., Shen, Y., ... & Wooley, K. L. (2019). In situ production of Ag/polymer asymmetric nanoparticles via a powerful light-driven technique. *Journal of the American Chemical Society*, 141(50), 19542-19545.
- Liu, J., Sonshine, D. A., Shervani, S., & Hurt, R. H. (2010). Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces. *ACS nano*, 4(11), 6903-6913.
- Maharani, V., Sundaramanickam, A., & Balasubramanian, T. (2016). In vitro anticancer activity of silver nanoparticle synthesized by *Escherichia coli* VM1 isolated from

- marine sediments of Ennore southeast coast of India. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 146-154.
- Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)), 35-44.
- Maksoud, M. A., El-Sayyad, G. S., El-Khawaga, A. M., Abd Elkodous, M., Abokhadra, A., Elsayed, M. A., ... & Ashour, A. H. (2020). Nanostructured Mg substituted Mn-Zn ferrites: A magnetic recyclable catalyst for outstanding photocatalytic and antimicrobial potentials. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 123000.
- Malik, S., Singh, J., Goyat, R., Saharan, Y., Chaudhry, V., Umar, A., ... & Baskoutas, S. (2023). Nanomaterials-based biosensor and their applications: A review. *Heliyon*, 9(9).
- Malvern Instruments Ltd. Printed in England, 2008. Zetasizer Nano User Manual.
- Mamataj, S., Roy, S., Ravindiran, G., Datta, D., & Das, B. (2025). Contemporary research on synthesis of silver nanoparticles and its applications. *Indian Chemical Engineer*, 67(1), 91-120.
- Meher, A., Tandi, A., Moharana, S., Chakroborty, S., Mohapatra, S. S., Mondal, A., ... & Chandra, P. (2024). Silver nanoparticle for biomedical applications: A review. *Hybrid Advances*, 6, 100184.
- Mikhailova, E. O. (2024). Green silver nanoparticles: an antibacterial mechanism. *Antibiotics*, 14(1), 5.
- Minelli, C., Wywijas, M., Bartczak, D., Cuello-Nuñez, S., Infante, H. G., Deumer, J., ... & Shard, A. G. (2022). Versailles project on advanced materials and standards (VAMAS) interlaboratory study on measuring the number concentration of colloidal gold nanoparticles. *Nanoscale*, 14(12), 4690-4704.
- Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of nanoparticle research*, 10(3), 507-517.

- More, P. R., Pandit, S., Filippis, A. D., Franci, G., Mijakovic, I., & Galdiero, M. (2023). Silver nanoparticles: bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. *Microorganisms*, 11(2), 369.
- 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.
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871-12934.
- Mujaddidi, N., Nisa, S., Al Ayoubi, S., Bibi, Y., Khan, S., Sabir, M., ... & Qayyum, A. (2021). Pharmacological properties of biogenically synthesized silver nanoparticles using endophyte *Bacillus cereus* extract of *Berberis lyceum* against oxidative stress and pathogenic multidrug-resistant bacteria. *Saudi journal of biological sciences*, 28(11), 6432-6440.
- Nagaraja, S. K., Niazi, S. K., Bepari, A., Assiri, R. A., & Nayaka, S. (2022). *Leonotis nepetifolia* flower bud extract mediated green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, and in vitro evaluation of biological applications. *Materials*, 15(24), 8990.
- Narayanan, M., Natarajan, D., Priyadharshini, S. G., Kandasamy, S., Shanmugam, S., Sabour, A., ... & Pugazhendhi, A. (2021). Biofabrication and characterization of AgNPs synthesized by *Justicia adhatoda* and efficiency on multi-drug resistant microbes and anticancer activity. *Inorganic Chemistry Communications*, 134, 109071.
- Natsuki, J., Natsuki, T., & Hashimoto, Y. (2015). A review of silver nanoparticles: synthesis methods, properties and applications. *Int. J. Mater. Sci. Appl*, 4(5), 325-332.
- 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.

- Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials*, 8(7), 543-557.
- Nisah, K., Rahmi, R., Ramli, M., Idroes, R., Alva, S., Iqhrammullah, M., & Safitri, E. (2022). Optimization of castor oil-based ion selective electrode (ISE) with active agent 1, 10-phenanthroline for aqueous Pb²⁺ analysis. *Membranes*, 12(10), 987.
- Nurkhaliza, F., Risana, M. Z., Pubasari, A., Priatmoko, S., Prastya, M. E., & Andreani, A. S. (2024). Comparative study of well diffusion and disc diffusion method to investigate the antibacterial properties of silver nanoparticles synthesized from *Curcuma longa* extracts. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 503, p. 09003). EDP Sciences.
- Otari, S. V., Patil, R. M., Nadaf, N. H., Ghosh, S. J., & Pawar, S. H. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles from an actinobacteria *Rhodococcus* sp. *Materials Letters*, 72, 92-94.
- 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.
- Pandey, S., Goswami, G. K., & Nanda, K. K. (2012). Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 583-589.
- Partila, A. M., & El-Hadedy, D. E. (2020). Effect of green silver nanoparticles embedded in irradiated sodium alginate/poly acrylamide on removal of dye wastes. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 13(1), 586-593.
- 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, 79-92.
- Pelinescu, D., Anastasescu, M., Bratan, V., Maraloiu, V. A., Negrila, C., Mitrea, D., ... & Balint, I. (2023). Antibacterial Activity of PVA Hydrogels Embedding Oxide Nanostructures Sensitized by Noble Metals and Ruthenium Dye. *Gels*, 9(8), 650.

- Qamer, S., Romli, M. H., Che-Hamzah, F., Misni, N., Joseph, N. M., Al-Haj, N. A., & Amin-Nordin, S. (2021). Systematic review on biosynthesis of silver nanoparticles and antibacterial activities: Application and theoretical perspectives. *Molecules*, 26(16), 5057.
- Quevedo, A. C., Guggenheim, E., Briffa, S. M., Adams, J., Lofts, S., Kwak, M., ... & Valsami-Jones, E. (2021). UV-Vis spectroscopic characterization of nanomaterials in aqueous media.
- Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(7), 1272-1291.
- Rai, M., Ingle, A. P., Trzcińska-Wencel, J., Wypij, M., Bonde, S., Yadav, A., ... & Golińska, P. (2021). Biogenic silver nanoparticles: what we know and what do we need to know?. *Nanomaterials*, 11(11), 2901.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, 27(1), 76-83.
- Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles—a review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-biological interactions*, 273, 219-227.
- Rajeshkumar, S., Malarkodi, C., Vanaja, M., & Annadurai, G. (2016). Anticancer and enhanced antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles against clinical pathogens. *Journal of molecular structure*, 1116, 165-173.
- Rocha, V., Ferreira-Santos, P., Aguiar, C., Neves, I. C., & Tavares, T. (2024). Valorization of plant by-products in the biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial and catalytic properties. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(9), 14191-14207.
- Salih, R., Bajou, K., Shaker, B., & Elgamouz, A. (2023). Antitumor effect of algae silver nanoparticles on human triple negative breast cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115532.
- Saravanan, M., Arokiyaraj, S., Lakshmi, T., & Pugazhendhi, A. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from *Phenerochaete chrysosporium* (MTCC-787) and their

- antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*, 117, 68-72.
- Sati, A., Ranade, T. N., Mali, S. N., Ahmad Yasin, H. K., & Pratap, A. (2025). Silver Nanoparticles (AgNPs): Comprehensive Insights into Bio/Synthesis, Key Influencing Factors, Multifaceted Applications, and Toxicity— A 2024 Update. *ACS omega*, 10(8), 7549-7582.
- Sebastian, M., Aravind, A., & Mathew, B. (2018). Green silver-nanoparticle-based dual sensor for toxic Hg (II) ions. *Nanotechnology*, 29(35), 355502.
- Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., & Nohi, A. A. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42(5), 919-923.
- Sharma, V. K., Siskova, K. M., Zboril, R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2014). Organic-coated silver nanoparticles in biological and environmental conditions: fate, stability and toxicity. *Advances in colloid and interface science*, 204, 15-34.
- Sharma, V., Verma, D., & Okram, G. S. (2020). Influence of surfactant, particle size and dispersion medium on surface plasmon resonance of silver nanoparticles. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 32(14), 145302.
- Sharmin, S., Rahaman, M. M., Sarkar, C., Atolani, O., Islam, M. T., & Adeyemi, O. S. (2021). Nanoparticles as antimicrobial and antiviral agents: A literature-based perspective study. *Heliyon*, 7(3).
- Siddiqi, K. S., Husen, A., & Rao, R. A. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 14.
- Singh, J., & Dhaliwal, A. S. (2019). Novel green synthesis and characterization of the antioxidant activity of silver nanoparticles prepared from *Nepeta leucophylla* root extract. *Analytical Letters*, 52(2), 213-230.
- Singh, R., Shedbalkar, U. U., Wadhvani, S. A., & Chopade, B. A. (2015). Bacteriagenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 4579-4593.

- Singhal, G., Bhavesh, R., Kasariya, K., Sharma, A. R., & Singh, R. P. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity. *Journal of nanoparticle Research*, 13(7), 2981-2988.
- Sjöström, J. K., Bindler, R., Granberg, T., & Kylander, M. E. (2019). Procedure for organic matter removal from peat samples for XRD mineral analysis. *Wetlands*, 39(3), 473-481.
- Sobolev, K., & Gutiérrez, M. F. (2005). How nanotechnology can change the concrete world. *American Ceramic Society Bulletin*, 84(10), 14.
- Solís-Sandí, I., Cordero-Fuentes, S., Pereira-Reyes, R., Vega-Baudrit, J. R., Batista-Menezes, D., & de Oca-Vásquez, G. M. (2023). Optimization of the biosynthesis of silver nanoparticles using bacterial extracts and their antimicrobial potential. *Biotechnology Reports*, 40, e00816.
- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, 275(1), 177-182.
- Suseela, V., Nirmaladevi, R., Pallikondaperumal, M., Priya, R. S., Shaik, M. R., Shaik, A. H., ... & Shaik, B. (2022). Eco-friendly preparation of silver nanoparticles and their antiproliferative and apoptosis-inducing ability against lung cancer. *Life*, 12(12), 2123.
- Tan, L. V., Tran, T., & Thi, V. D. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus licheniformis* TT01 isolated from quail manure collected in Vietnam. *Processes*, 9(4), 584.
- Tariq, F., Ahmed, N., Afzal, M., Khan, M. A. U., & Zeshan, B. (2020). Synthesis, Characterization and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis*-derived silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *Jundishapur J Microbiol*, 13(5), e91934.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M., ... & Grobelny, J. (2013). Detection limits of DIs and Uv-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. *Journal of Nanomaterials*, 2013(1), 313081.

- Vanlalveni, C., Ralte, V., Zohmingliana, H., Das, S., Anal, J. M. H., Lallianrawna, S., & Rokhum, S. L. (2024). A review of microbes mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their enhanced antimicrobial activities. *Heliyon*, 10(11).
- Varga, Z., Fehér, B., Kitka, D., Wacha, A., Bóta, A., Berényi, S., ... & Fraikin, J. L. (2020). Size measurement of extracellular vesicles and synthetic liposomes: the impact of the hydration shell and the protein corona. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 192, 111053.
- Varmazyari, A., Taghizadehghalehjoughi, A., Baris, O., Yilmaz, A., & Hacimuftuoglu, A. (2021). The evaluation of the cortex neurons viability in CdS nanoparticles induced toxicity. *Nanomed. J*, 8(3), 211-219.
- Varmazyari, A., Taghizadehghalehjoughi, A., Sevim, C., Baris, O., Eser, G., Yildirim, S., ... & Mezhuev, Y. (2020). Cadmium sulfide-induced toxicity in the cortex and cerebellum: In vitro and in vivo studies. *Toxicology Reports*, 7, 637-648.
- Vigneshwaran, N., Kathe, A. A., Varadarajan, P. V., Nachane, R. P., & Balasubramanya, R. H. (2007). Silver– protein (core– shell) nanoparticle production using spent mushroom substrate. *Langmuir*, 23(13), 7113-7117.
- Vikesland, P. J. (2018). Nanosensors for water quality monitoring. *Nature Nanotechnology*, 13(8), 651-660.
- Wadhwani, S. A., Shedbalkar, U. U., Singh, R., & Chopade, B. A. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: current status and future prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(6), 2555-2566.
- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of nanomedicine*, 1227-1249.
- Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996.
- Xu, T., Yang, L., Zhang, X., Lu, G., & Bai, Z. (2023). A highly sensitive electrochemical sensor by growing Ag nanoparticles on the surface of PPy@ PEDOT: PSS film for detecting sodium hydroxymethanesulfinate molecules. *Food Chemistry: X*, 18, 100701.

- Yakoup, A. Y., Kamel, A. G., Elbermawy, Y., Abdelsattar, A. S., & El-Shibiny, A. (2024). Characterization, antibacterial, and cytotoxic activities of silver nanoparticles using the whole biofilm layer as a macromolecule in biosynthesis. *Scientific Reports*, 14(1), 364.
- Zaghloul, E. H., Ibrahim, M. I., & Zaghloul, H. A. (2023). Antibacterial activity of exopolysaccharide produced by bee gut-resident *Enterococcus* sp. BE11 against marine fish pathogens. *BMC microbiology*, 23(1), 231.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.
- Zhao, G., & Stevens Jr, S. E. (1998). Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. *Biometals*, 11(1), 27-32.