

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FUNGAL GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU
VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HACER ALTIN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ASMA

KASIM 2024

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FUNGAL GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU
VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hacer ALTIN
(36223611901)

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ASMA

KASIM 2024

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Fungal Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmamda bana her aşamasında yön gösteren destek ve emeklerini esirgemeyen beni yüreklendiren, sabrı ile bana örnek olan, bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemedi beni her konu da yönlendiren öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım sayın Prof. Dr. Dilek ASMA hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında ayrıca hem araştırma aşamasında hem de laboratuvar çalışmalarında bilgisiyle bana yol gösteren, değerli vaktini bana ayıran Doktor Öğretim Üyesi Elif ÖZBEY hocama teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu çalışmalarım süresince de benden her türlü desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezin uygulama aşamasında vermiş oldukları maddi ve manevi destekten dolayı, İnönü Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Fungal Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Hacer ALTIN



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ	1
1.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi.....	1
1.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları	2
1.2.1. Biyoteknoloji	2
1.2.2. Tarım	2
1.2.3. Tıp ve sağlık sektörü	2
1.2.4. Elektronik ve enerji depolama	3
1.2.5. Biyomedikal teknolojiler.....	4
1.2.6. Malzeme ve imalat sanayisi.....	4
1.2.7. Gıda endüstrisi	4
1.3.Nanoteknolojik Sentez Yaklaşımları.....	4
1.3.1. Yukarıdan aşağıya doğru yaklaşım.....	4
1.3.2. Aşağıdan yukarıya doğru yaklaşım.....	5
1.4. Nanopartikül Sentez Yöntemleri	5
1.5. Bitkiler Tarafından Nanopartikül Biyosentezi	5
1.6. Algler Tarafından Nanopartikül Biyosentezi	6
1.7. Mikroorganizma Aracılığı ile Nanopartikül Biyosentezi.....	6
1.8. Gümüş Nanopartikülleri.....	8
1.8.1. Gümüş nanopartikül sentezi	8
1.8.2. Gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal özellikleri.....	10
1.8.3. AgNP'lerin kullanım alanları	11
1.8.4. AgNP karakterizasyonu.....	11
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Çalışmada Kullanılan Fungus.....	16
3.1.1. <i>Cladosporium cladosporioides</i>	16

3.2. Çalışmada Kullanılacak Fungus Kültürlerinin Hazırlanması.....	17
3.3. AgNO ₃ Çözeltilisinin Hazırlanması.....	17
3.4. AgNP'lerin Sentezi ve Optimizasyon Çalışmaları.....	17
3.4.1. Gümüş nitrat konsantrasyonunun AgNP üretimi üzerine etkisi.....	17
3.4.2. Filtrat miktarının AgNP üretimi üzerine etkisi.....	18
3.4.3. Gümüş nanopartikülün üretimine pH' ın etkisi.....	18
3.4.4. Gümüş nanopartikül üretimine sıcaklığın etkisi.....	18
3.4.5. Gümüş nanopartikül üretimine sürenin etkisi.....	19
3.4.6. Gümüş nanopartikülün üretimine çalkalama hızının etkisi.....	19
3.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması.....	19
3.6. AgNP'lerin Karakterizasyonu.....	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4.1. AgNP'lerin Sentezi ve Optimizasyon Çalışmaları.....	21
4.1.1. Filtrat miktarının AgNP üretimine etkisi.....	21
4.1.2. Farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarının AgNP üretimine etkisi.....	24
4.1.3. Gümüş nanopartikül üretimine pH ın etkisi.....	25
4.1.4. Gümüş nanopartikülün üretimine sıcaklığın etkisi.....	27
4.1.5. Gümüş nanopartikülün üretimine sürenin etkisi.....	28
4.1.6. Gümüş nanopartikül üretimine çalkalamalı hızının etkisi.....	31
4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması.....	33
4.3. AgNP' lerin Karakterizasyonu.....	35
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKÇA.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1: AgNP'lerin neden olduğu inhibisyon zon çapları.....	34
---	-----------



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 : <i>Cladosporium cladosporioides</i> fungusu	16
Şekil 4.1 : <i>Cladosporium cladosporioides</i> peletleri	21
Şekil 4.2 : Farklı filtrat miktarlarında AgNP oluşumuna bağlı olarak renk değişimi	22
Şekil 4.3 : Farklı filtrat miktarlarında (sırasıyla 1 ml, 5 ml, 9 ml) sentezlenen AgNP'nin SEM fotoğrafları	23
Şekil 4.4 : Farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarında (sırasıyla 5 mM, 10 mM ve 50 mM) sentezlenen AgNP'nin SEM fotoğrafları	24
Şekil 4.5 : Farklı pH koşullarının üretilen AgNP oluşumuna bağlı olarak renk değişimi..	25
Şekil 4.6 : Farklı pH'larda (sırasıyla pH:3.0,5.0,7.0,9.0) sentezlenen AgNP SEM fotoğraflar.....	26
Şekil 4.7 : Farklı sıcaklıklarda (sırasıyla 20°C, 28°C 35°C, 45°C)inkübasyon sonrası sentezlenen AgNP SEM fotoğrafları.....	28
Şekil 4.8 : Farklı inkübasyon sürelerinin AgNP oluşumuna bağlı olarak renk değişimi	29
Şekil 4.9 : Sırasıyla 6 saatlik, 12 saatlik, 24 saatlik ve 48 saatlik inkübasyon sonrası AgNP SEM fotoğrafları	30
Şekil 4.10 : Farklı çalkalama koşullarının AgNP oluşumuna bağlı olarak renk değişimi ..	31
Şekil 4.11 : Farklı çalkakalama koşullarında (sırasıyla statik, 50 rpm, 100 rpm ve 200 rpm) sentezlenen AgNP'nin SEM fotoğrafları.....	32
Şekil 4.12 : Optimum koşullarda üretilen AgNP ve santrifüj sonrası görüntü.....	33
Şekil 4.13 : AgNP' lerin antimikrobiyal aktivite test görüntüsü	34
Şekil 4.14 : Gümüş Nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu	36
Şekil 4.15 : AgNP' lerin SEM/ EDX sonuçları	38
Şekil 4.16 : AgNP' lerin XRD spektrumu	39
Şekil 4.17 : AgNP' lerin FTIR spektrumu	40
Şekil 4.18 : AgNP'lerin yüzey yük dağılımı.....	36

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgNO₃	: Gümüş Nitrat
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
AgO	: Gümüş Oksit
°C	: Celcius, Sıcaklık Birimi
EDX	: Enerji Yayılımlı X-Işınımı
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre
L	: Litre
mL	: Mililitre
MİK	: Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
mm	: Milimetre
NP	: Nanopartikül
pH	: Su İçerisindeki Hidrojen İyonu Derişiminin Eksi Logaritması
rpm	: Dakikada Dönme Hızı
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
SDB	: Sabouraud Dekstroz Broth
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
XRD	: X-Işını Kırınımı
Cfr	: Sefadroksil

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FUNGAL GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

HACER ALTIN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

50 + ix sayfa

2024

Danışman: Prof. Dr. Dilek ASMA

Nanoteknoloji, biyoloji, fizik, kimya ve tıp gibi disiplinleri kapsayan disiplinlerarası bir bilim dalıdır. Bu disiplinlerarası alan, tıbbi uygulamalar, nanomateriyallerin çevre dostu üretimi, çevre kirliliğinin kontrolü, kozmetik, optik, tekstil ve elektronik gibi birçok sektörde kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmalar, biyolojik materyaller kullanılarak sentezlenen farklı boyut ve şekillerdeki nanoyapıların çevre dostu ve biyouyumlu olmasının, endüstri ve biyotıp uygulamaları için önem taşıdığını göstermiştir. Bu nedenle, son zamanlarda fonksiyonel nanopartiküllerin sentezinde mikroorganizmaların kullanımı büyük ilgi görmüştür. Biyolojik yöntemler, güvenilir, ucuz ve çevre dostu alternatifler sunmaktadır. Son yıllarda çeşitli mikroorganizmalar tarafından farklı metal oksit nanopartiküllerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Metalik nanopartikül sentezinde funguslar, bakteriler, bitkiler, arkeler, algler ve enzimler kullanılabilir. Gümüş nanopartiküller (AgNP), antimikrobiyal özellikleri nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, gümüş AgNP'ler biyolojik yöntemle, kolay, düşük maliyetli ve çevre dostu bir şekilde elde edilmiştir. *Cladosporium cladosporioides*'in AgNP'ler filtrat, üretimi amacıyla kullanılmıştır. Öncelikle fungal filtrat elde edilerek nanopartikül üretiminde kullanılmıştır. Nanopartikül üretiminin ilk göstergesi, metalik nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonansına bağlı olarak meydana gelen renk değişimi ve karakteristik absorpsiyon bandıdır. Daha sonra, nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılmış ve antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. Antimikrobiyal etkileri bulunan gümüş nanopartiküllerinin *Cladosporium cladosporioides* kullanılarak biyosentezi, SEM (taramalı elektron mikroskopisi) ve EDAX (enerji dağılımlı X-ışınları spektroskopisi) gibi analitik yöntemlerle karakterize edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanopartikül, Antimikrobiyal, *Cladosporium cladosporioides*, Biyolojik sentez

ABSTRACT

Master Thesis

"MICROBIAL SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES AND DETERMINATION OF THEIR ANTIMICROBIAL PROPERTIES"

HACER ALTIN

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

50 + ix sayfa

2024

Supervisor: Prof. Dr. Dilek ASMA

Nanotechnology is an interdisciplinary science that encompasses disciplines such as biology, physics, chemistry, and medicine. This multidisciplinary field is used in various sectors, including medical applications, environmentally friendly production of nanomaterials, control of environmental pollution, cosmetics, optics, textiles, and electronics. Various studies have shown that nanostructures synthesized using biological materials, which exhibit different sizes and shapes, are environmentally friendly and biocompatible, making them significant for industrial and biomedical applications. Biological methods offer reliable, cost-effective, and environmentally friendly alternatives. In recent years, various microorganisms have been used to synthesize different metal oxide nanoparticles. With the increasing demand for nanotechnology-based products, there are concerns about the environmental risks posed by the nanoparticles used in these products. Fungi, bacteria, plants, archaea, algae, and enzymes can be employed in the synthesis of metallic nanoparticles. AgNPs are widely preferred due to their antibacterial properties.

In this study, AgNPs were obtained through a biological method that is easy, low-cost, and environmentally friendly. The filtrates and extracts of *Cladosporium cladosporioides* were used for the production of silver nanoparticles. Initially, fungal filtrates and extracts were obtained and utilized in nanoparticle production. The first indication of nanoparticle production was the color change resulting from the surface plasmon resonance of the metallic nanoparticles and the characteristic absorption band. Subsequently, the characterization of the nanoparticles was performed, and their antimicrobial properties were tested. The biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial effects using *Cladosporium cladosporioides* was characterized by analytical methods such as SEM (Scanning Electron Microscopy) and EDAX (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy).

Key words: Silver nanoparticle, Antimicrobial, *Cladosporium cladosporioides*, Biological synthesis



1.GİRİŞ

"Nano" kelimesi kökenini Yunanca'dan alır ve orijinal anlamı "küçük yaşlı adam" veya "cüce"dir. Günümüzde ise, "nano" terimi milyarda bir birim anlamında kullanılan bir ölçü birimi olarak bilinir. Birçok farklı tanımı bulunmakla birlikte, "teknoloji" genel olarak insanoğlunun mal veya hizmet üretiminde kullandığı araç ve gereçler hakkındaki bilgi olarak tanımlanabilir (Santhoskumar vd. 2017; Chen vd. 2016).

1.1. Nanoteknolojinin Tarihçesi

21. yüzyılın önemli bilim dallarından biri olarak kabul edilen nanoteknoloji, fizikçi Richard Feynman'ın 1959 yılında yaptığı ve "derinlerde çok şey var" ifadesini kullandığı konuşmasında, nanoyapıların farklı özellikleri bilim insanlarının ilgisini çekmiş ve bu alandaki araştırmalar hız kazanmıştır. 1981' de taramalı tünelleme mikroskobunun (STM) ve 1985'te atomik kuvvet mikroskobunun (AFM) keşfi, yüzeydeki atom ve moleküllerin incelenmesine ve atomsal tepkimelerin izlenmesine imkân sağlamıştır. Bu ilerlemeler, 20. yüzyılın sonlarına doğru nanoteknoloji endüstrisinin hızla gelişmesine ve doğada bulunmayan yeni nanomalzemelerin atomsal düzeyde üretilmesine olanak tanımıştır (TÜBİTAK, 2004).

Feynman'ın ilk birleştirici ünite (assembler) fikrindeki ipuçları, Eric Drexler tarafından daha da geliştirilmiştir (Drexler 1981; Ramsden 2009). Drexler'e göre, evrensel nanoölçekli bir aygıt olan birleştirici ünite sadece nanoyapılı malzemeler üretmekle kalmamalı, aynı zamanda kendi kopyalarını da üretebilmelidir. Bu birleştirici cihaz, atomların kontrollü bir şekilde birleştirilmesiyle oluşturulmalı ve çalıştırıldığında kendi kopyalarını üretebilmelidir. Yeterli sayıda cihaz üretildiğinde, evrensel üretim kapasitesine ve nano çağa ulaşılabileceği tahmin edilmektedir. Nano ölçekte farklı bir yaklaşım, mikroskobik dünyadan başlayarak hassas cihaz mühendisliğini ve ultra hassas mühendislik bilimini ortaya çıkarmaktadır. Nanoteknoloji terimi, sürecin alt sınırlarını tanımlamak için Norio Taniguchi tarafından 1983'te bilim dünyasına sunulmuştur (Ramsden 2009). Günümüz yüksek hassasiyetli mühendislik, bilimi, yüzeylerde yalnızca birkaç nanometrelik pürüzler oluşturabilir. Bu yöntem, yarı iletken işleme endüstrisinde de başarıyla uygulanmaktadır. On yıl öncesine kadar çalışmalar mikrometre ölçeğinde odaklanırken, günümüzde bu ölçek nanometre düzeyine inmiştir.

1.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Nanoteknoloji ilkelerine göre üretilen nanopartiküller, sağlam ve metallerle benzer iletkenlik özellikleri ile düşük fiyat gibi ticari açıdan tercih edilen niteliklere sahiptir. Bu özellikler, günlük hayatın çeşitli alanlarında uygulama bulmaktadır. Metal nanopartiküllerin kullanıldığı yöntemler aşağıdaki bölümde sunulmaktadır.

1.2.1. Biyoteknoloji

Son zamanlarda, özellikle biyo-uyumlu materyallerin klinik uygulamalarda hayati önem taşıdığı durumlarda, çeşitli organik ve/veya inorganik fonksiyonel gruplarla modifiye edilmiş karbon nanotüpler öne çıkmaktadır. Bu materyaller, ileri teknoloji ürünleri arasında, üzerinde en fazla araştırma yapılan malzemelerden biridir. Biyolojik nano sensörlerde sıkça kullanılan bu malzemeler, yapay doku iskeleleri ve hatta mikro ilaç dağıtım sistemleri gibi doku mühendisliği alanlarında potansiyel uygulamalara sahiptir (Paul ve Robeson, 2008).

1.2.2. Tarım

Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte doğal kaynakların ve tarım arazilerinin hızla tükenme eğiliminde olduğu ve parazit bitkiler ve konakçılar tarafından bulaştırılma riskiyle karşı karşıya olduğu bilinmektedir. Bu durum, daha küçük ekim alanlarında daha verimli ve çevre dostu tarımsal faaliyetlerin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Son yıllarda özellikle nano-enkapsülasyon çalışmaları sayesinde tarım alanında umut verici çıktılar elde edilmiştir. Nanoenkapsülasyon teknolojisi ile uyumlu olarak geliştirilen nanomalzemeler, özellikle bitki koruma çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Bu teknik, ekim alanlarında potansiyel parazit bitkileri kontrol etmek için kullanılan kapsülleme yöntemi aracılığıyla, herbisitlerin bitkide oluşturabileceği fitotoksikite problemlerini azaltmak amacıyla benimsenmektedir. Bu yöntemle, toprakta bozulmadan bitki tohumuna nem, anorganik bileşenler ve diğer uyarıcıların iletimi sağlanmıştır (Bhushan 2012).

1.2.3. Tıp ve sağlık sektörü

Nanoenkapsülasyon tekniği, tarım dışında tıp ve sağlık sektöründe de önemli bir rol oynamaktadır. Bu teknoloji sayesinde, canlı organizmalar içinde hedeflenen bölgeye ilaçların doğru zamanda ve istenilen miktarda iletilmesi mümkün olmaktadır. Özellikle metal nanopartiküller aracılığıyla tasarlanan sistemler, ilaçların daha kontrollü bir şekilde ve uygun dozlarda hedef dokulara ulaşmasını sağlamaktadır. Güncel çalışmalarda, ilaç dağıtımı ve salımı için polimer nanokompozitlerinin kullanımı önemli bir araştırma konusudur. Özellikle, küresel veya silindirik demir oksit nanopartiküllerinin bu alanlarda çeşitli uygulamalar için potansiyelini

araştıran çalışmalar yaygındır. Bu uygulamalar arasında, manyetik rezonans görüntülemeye kontrast iyileştirmesi, immünolojik testler, hücresel tedavi ve hedeflenen ilaç verme yer almaktadır. Örnek olarak, poli (L-lizin) mikro kürecikler içinde koaservasyon yöntemiyle hazırlanan manyetik demir oksit nanopartikülleri, hedeflenen ilaç dağıtım uygulamalarında değerlendirilmiştir. Biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin kullanımı, organik polimer mikro ve nanopartiküllerin düzenli olarak elde edilmesi için geliştirilen yeni imprint litografi yöntemleriyle araştırılmaktadır (Paul ve Robeson 2008).

Son yıllarda kanser tedavisi alanında yapılan çalışmalarda, nanopartiküllerden faydalanılarak yan etkileri en aza indirgeyen ve sadece hastalıklı dokuları hedefleyen tedavi stratejileri geliştirilmektedir. Bu stratejiler genellikle, hedef ilacın manyetik özellik gösteren nanopartiküllerin içine kimyasal veya fiziksel yöntemlerle yerleştirilmesi ile başlar. Daha sonra, dışarıdan bir magnet veya ışıma kaynağı kullanılarak bu nanopartiküllerin hedef dokuya doğru yönlendirilmesi ve ilacın burada kontrollü bir şekilde salınması sağlanır. Özellikle kanserli dokuların sağlıklı dokulara kıyasla daha asidik olması, bu nanopartikül tabanlı tedavi stratejilerinin tasarımında önemli bir strateji olarak kullanılmaktadır (Shilatta 2011).

1.2.4. Elektronik ve enerji depolama

Verimli elektrik enerjisi birikimi, günümüzde süregelen ve sürekli olarak geliştirilen önemli bir araştırma alanıdır. Yüksek verimli enerji depolama cihazlarının geliştirilmesi, elektronik cihaz endüstrisinde önemli yeniliklere yol açmaktadır. Ayrıca, bu yeni nesil enerji depolama cihazları, mevcut enerji santrallerinde yük dengelemede kullanılmaktadır. Bu cihazlardaki enerji dönüşümü genellikle elektrotların yüzeyindeki kimyasal reaksiyonlar veya yük transferi yoluyla gerçekleşir. Nanopartikül destekli sistemlerde bu süreçler nano ölçekte gerçekleşir. Nanomalzemeler, küçük boyutlarına rağmen geniş yüzey alanları sağladıkları için standart malzemelere göre daha yüksek bir yük depolama kapasitesi sunarlar. Bu durum, elektrolitlerle daha geniş bir temas alanı sağlar ve dolayısıyla yük transfer reaksiyonlarının gerçekleşmesi için daha büyük bir bölge yaratır. Özellikle nanopartiküllerin kullanıldığı sistemlerde, mikrometre boyutundaki parçacıklarla elde edilemeyen elektrot reaksiyonları başarıyla gerçekleştirilebilir (Bhushan 2012).

1.2.5. Biyomedikal teknolojiler

Doku mühendisliği alanında yapılan araştırmalarda, biyo-uyumlu nanofiber iskelelerin geliştirilmesi önemli bir odak noktasıdır. Bu nanofiber iskeleler, özel olarak tasarlanmış yapılarıyla hedeflenen spesifik hücrelerin uygun ortamda gelişimini teşvik eder. Örneğin, sinir hücrelerinin büyümesini ve yenilenmesini desteklemek için iletken polimerlerle kaplanmış nanofiber yapılar kullanılmaktadır. Ayrıca, nanopartikül boyutundaki gümüş, gümüş oksit ve diğer gümüş tuzlarının polimer matrislerine eklenerek antimikrobiyal veya biyosidal aktivite sağlandığı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda nano boyuttaki gümüşün, yüksek gümüş iyonu salınımı sayesinde daha etkili antimikrobiyal özellikler gösterdiği belirlenmiştir (Paul ve Robeson 2008).

1.2.6. Malzeme ve imalat sanayisi

Karbon nanotüp uygulamaları, silindirik yapılar olarak buharlaştırma yöntemiyle üretilir ve yüksek mukavemet ile çekme özelliklerine sahiptirler. Bu nedenle, karbon nanotüpler çimento gibi malzemelerde nanomalzeme takviyesi olarak büyük potansiyele sahip olsalar da endüstriyel ölçeklerde üretimleri hala maliyetli bir süreçtir ve bu durum potansiyel kullanımlarını kısıtlar. Ayrıca, karbon nanotüplerin yüksek hidrofobik özelliklerinin olması, polar çözücü ortamlarda çalışmalarını zorlaştırır ve uygulama kolaylığını sınırlayan bir faktördür (Bhushan 2012).

1.2.7. Gıda endüstrisi

Nanopartikül içerikli katkı maddeleri, ileri gıda teknolojisi uygulamalarında kullanılarak gıdanın besin içeriğini artırırken tadı, aroması ve dokusunu korumayı ve raf ömrünü uzatmayı amaçlayan fonksiyonel gıdaların hazırlanmasına imkân sağlar. (Siegrist vd. 2008; Brody 1990). Nanoenkapsülasyon tekniği, duyarlı gıda bileşenlerini korumak, gıda ürünlerinin canlı renkleri ve çekici aromaları kazanmasını sağlamak ve gerektiğinde tat, koku veya renk maskesi uygulamak için yapılmaktadır (Chaudhry vd. 2008).

1.3. Nanoteknolojik Sentez Yaklaşımları

1.3.1. Yukarıdan aşağıya doğru yaklaşım

Bu yaklaşıma göre, maddenin makro boyuttan nano boyuta küçültülmesi, hammaddeye kimyasal veya mekanik enerji uygulanarak hedeflenmektedir. Bu işlemlerde genellikle öğütme,

aşındırma ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Örneğin, yüksek enerjili bilyelerle yapılan öğütme metodu, metal nanopartiküllerin üretiminde kullanılan bir yöntemdir (Bhushan 2012).

1.3.2. Aşağıdan yukarıya doğru yaklaşım

Bu teknikte, atomik veya moleküler boyuttaki malzemelere kimyasal reaksiyonlar aracılığıyla enerji verilerek nanopartikül elde etme hedeflenmektedir. Bu yöntem, nanopartikül sentezinde daha ekonomik ve verimli olduğu için tercih edilmektedir (Bhushan 2012).

1.4. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

"Nano" terimi, milimetrenin milyonda birini ifade ederken, "nanopartikül" terimi 100 nm ve altındaki boyutlara sahip parçacıkları tanımlamaktadır (Narayanan ve Sakthivel, 2010). Büyük yapıli maddelerin aksine, nanopartiküller nano boyutlarıyla kendine özgü fiziksel, kimyasal, elektronik, mekanik, manyetik, termal, dielektrik, optik ve biyolojik özellikler taşımaktadır (Portakal, 2008; Durán ve vd. 2011). Yapılan çalışmalar, çevre dostu, düşük toksisiteye sahip ve canlı hücrelerden nanopartikül üretimine dayanan yeşil nanoteknoloji kavramının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Bu kavram, atık ürünlerin neden olduğu sorunların çözümüne katkıda bulunan, insan sağlığı açısından risk teşkil etmeyen pratik teknikleri inceleyen yöntemler olarak tanımlanmaktadır. Yeşil nanoteknoloji çalışmaları kapsamında, genellikle yeşil bitki ekstraktları ve mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır. Nanopartiküller için, fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üç farklı sentez yöntemi bulunmaktadır. Fiziksel yöntemlerde nanopartikül sentezi için pahalı ekipmanlar, yüksek sıcaklık ve yüksek basınç gerekebilir. Kimyasal yöntemlerde ise çevreye ve canlılara zarar verebilecek toksik kimyasallar kullanılmaktadır (Parveen vd. 2016). Fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerinin dezavantajları nedeniyle çevre ve canlı dostu, daha ekonomik bir seçenek olarak yeşil sentez veya biyolojik sentez yöntemleri tercih edilmektedir. Bu yöntemlerde nanopartiküller, bitkiler, bakteriler, mantarlar, algler gibi doğal biyolojik kaynaklar kullanılarak sentezlenmektedir (Agarval vd. 2017; Yuvakkumar vd. 2014).

1.5. Bitkiler Tarafından Nanopartikül Biyosentezi

Bitkiler, bitki dokusu, bitki özleri veya yaş bitkilerin kullanımıyla altın ve gümüş nanopartiküllerinin biyosentezi, kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre daha uygun bir seçenek olarak önem kazanmıştır. Bu yöntem, nanopartikül üretiminde bitkisel kaynakların etkin kullanımını vurgulayan çalışmalarla desteklenmektedir (Iravani 2011; Akhtar vd. 2013; Mittal vd. 2013; Shamaila vd. 2016). Bitki yaprakları, kökleri, kauçuk özü, tohumları ve bitki özleri gibi

çeşitli bitkisel kısımlar, metalik nanopartiküllerin sentezinde geniş ölçüde kullanılmaktadır (Marshall vd. 2007; Cast vd. 2011).

1.6. Algler Tarafından Nanopartikül Biyosentezi

Son zamanlarda alglerin kullanımıyla metal nanopartiküllerin sentezi keşfedilmiş ve diğer biyolojik yöntemlere kıyasla daha biyoyumlu olduğu rapor edilmiştir. Deniz yosunu ekstraktı kullanılarak metalik nanopartiküllerin sentezi, hızlı ve zararsız bir süreç olarak tanımlanmıştır. Birçok araştırmacı, metalik nanopartiküllerinin etkin bir şekilde sentezlenmesi için alglerin kullanımıyla ilgilenmektedir (Jena et vd. 2013).

Merin ve vd. (2010), *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina*, *Isochrysis galbana* ve *Tetraselmis gracilis* gibi dört farklı mikroalg türünü kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezlendiğini bildirmişlerdir. Sentezlenen nanopartiküller, *Klebsiella sp.*, *Proteus vulgaricus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* gibi insan patojenleri üzerinde antibakteriyel etki açısından test edilmiştir. Bahsedilen alg türleri tarafından üretilen gümüş nanopartiküller, dört bakteri türünde de belirgin antibakteriyel etki göstermiştir.

Jena vd. (2013), sadece alg ekstraktının değil, tüm alg biyokütlesinin de gümüş nanopartiküllerin sentezi için kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında *Chlorococcum humicola* gibi taze mikroalg kullanmışlardır. Nanopartiküllerin sentezi in vivo ve in vitro olarak UV-vis spektroskopi, taramalı elektron mikroskopisi (SEM), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD) gibi analitik yöntemlerle karakterize edilmiş ve TEM ile 16 nm boyutunda nanopartiküllerin sentezlenebileceği gösterilmiştir. Bu biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin de *E. coli* üzerine antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

1.7. Mikroorganizma Aracılığı ile Nanopartikül Biyosentezi

Nanopartiküllerin biyosentezinde, dünya genelindeki bitkiler ve mikroorganizmaların yaygın olarak bilinen bir markasıdır. (Fariq vd. 2017). Bakteri, maya ve fungus gibi mikroorganizmalar, hızlı çoğalmaları ve çevresel koşullara dayanıklılıkları sebebiyle nanopartikül sentezi için tercih edilmektedir. Bu organizmalar, metal içeren ortamlara uyum sağlayarak hücre içi ve dışı yollarla nanopartikül üretebilirler. Enzimatik aktiviteleri sayesinde metal iyonlarını elemental forma dönüştürebilirler (Liv vd. 2011). Bakteriler, ağır metal iyonlarını indirgeme yetenekleriyle nanopartikül üretebilirler ve araştırmalar, bazı bakterilerin nanometre ölçeğinde metalleri çöktürme kabiliyetini ortaya koymuştur. Bakteri kaynaklı nanopartikül sentezi, az

miktarda toksik kimyasal kullanımıyla büyük ölçekli ve çevre dostu üretim sağlar. Funguslar ise hücre içi ve dışı enzimler sayesinde iyi tanımlanmış geometrilere ve boyutlara sahip nanopartiküller üretebilirler. Daha büyük biyokütleleri nedeniyle, mantarların nanopartikül verimi bakterilere kıyasla daha yüksektir. Literatürde *Colletotrichum sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium luteoalbum*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium sp.* gibi çeşitli mantar türlerinin farklı boyut ve şekillerde nanopartiküller ürettiği rapor edilmiştir (Fariq vd. 2017; Jeevanandam vd. 2016).

Son yıllarda, *Trichothecium sp.*, *Trichoderma asperellum*, *T. viride*, *Phanerochaete chrysosporium*, *F. solani* USM 3799, *F. semitectum*, *A. fumigatus*, *Penicillium brevicompactum*, *Coriolus versicolor*, *Colletotrichum sp.*, *Aspergillus niger*, *Phoma glomerata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium fellutanum*, *Fusarium oxysporum* ve *Volvariella volvaceae* gibi mantar türleri nanopartikül sentezi için incelenmiştir. Mantarlar, mikroorganizmalar arasında miselyal yapısı, bitki materyalleri ve çalkalamaya ve biyoreaktör koşullarına direnç açısından avantajlıdır (Narayanan vd. 2010).

1.7.1. Bakterilerle nanopartikül biyosentezi

Bakteriler, dünyada yaygın mikroorganizmalardır ve çeşitli habitatlarda yaşayabilirler, bu da boyut, şekil ve enerji kazanma yöntemleri açısından avantaj sağlar. Bakteriler yüksek veya düşük sıcaklık, asidite, alkalinite, tuz veya sülfür gibi çeşitli çevresel koşullara adapte olabilirler. Nanobiyoteknoloji çalışmalarında kullanılabilecek bakteri türlerinin büyük bir kısmı, zorlu çevresel şartlarda yaşayan ekstremofil bakterilerdir. Bu organizmalar, ekstrem habitatlarda rahatça gelişip çoğalabilirler. Ekstremofil bakteriler olarak bilinen bu türler, özellikle yabancı metal iyonları veya metal toksisitesi gibi stres koşullarına karşı özel savunma mekanizmaları geliştirebilirler (Quester vd. 2013). *Pseudomonas stutzeri* gibi bazı bakteri türleri çok yüksek metal iyon derişimlerinde bile yaşayabilir ve gelişebilirler. Bu organizmalar, özellikle gümüş açısından zengin topraklarda bulunabilirler. (Haefeli vd. 1984). *Pseudomonas aeruginosa* gibi bazı türler de gümüş metali karşısında direnç kazanmıştır. (Bridges vd. 1979) Ayrıca, hücre içinde sentezlenen manyetik nanopartiküller gibi inorganik materyaller üretebilen manyetotaktik bakteri örnekleri de bulunmaktadır (Lovley vd. 1987; Spring ve Schleifer 1995). Nanobiyoteknoloji alanında, metalik nanopartiküllerin üretimi için alternatif çözümler kapsamında çeşitli bakteri türü kullanılmıştır. Bu çalışmalarda genellikle bakterilerin metal iyonlarını redüksiyon yeteneklerini incelemek amacıyla canlı hücreler kullanmıştır. Fakat bu yöntemin dezavantajı olan biyokütle fazlalığı sorunu göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak, metalik nanopartiküllerin biyosentezi için hücre

özütlerinin kullanılması gibi uygun alternatifler de güncel çalışmalarda dikkate alınmaktadır (Quester vb 2013).

1.7.2. Küflerle nanopartikül biyosentezi

Funguslar, çeşitli koşullarda yaşayabilen ökaryotik canlılardır. Genellikle çürükçül ve organik bileşikleri parçalayarak beslenirler. Funguslar, laboratuvar şartlarında kolayca yetiştirilebilme ve hızlı çoğalma özellikleri ile diğer organizmalardan üstündürler. Nanopartiküllerin yeşil biyosentezinde fungusların da kullanımı literatürde rapor edilmiştir (Sasthy vd. 2003; Durán vd. 2005; Husen ve Siddiqi 2014; Kitching vd. 2015). Funguslar, bakterilere göre metal nanopartiküllerini sentezlemek için daha avantajlıdır. (Pantidos vd. Horsfall 2014). Geniş bir yüzey alanı sağlayan fungus miselleri etkileşim için uygun bir ortam sunar; bunun yanı sıra, funguslar bakterilere kıyasla daha fazla protein salgırlar, bu durum da metal tuzlarının nanopartiküllere dönüşüm sürecini hızlandırır (Siddiqi ve Husen 2016).

1.8. Gümüş Nanopartikülleri

Gümüş, binlerce yıldır bilinen bir elementtir. Gümüş bazlı bileşikler, antimikrobiyal amaçlar için 1800'lerden beri kullanılmaktadır. Ayrıca gümüş nanopartikülleri çeşitli fiziksel, biyolojik ve ilaç uygulamalarında da kullanılmaktadır. Bu nanopartiküller, Çin'de demiryolu istasyonları, gibi çeşitli toplumsal alanlarda antimikrobiyal ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta ve etkinlikleri literatürde belirtilmektedir (Slawson, 1992; Zhao, 1998). Gümüş, tıp alanında çok çeşitli roller üstlenebilen mükemmel bir seçenektir. Antimikrobiyal etki için genellikle gümüşün nitrat formları kullanılır (Sukumaran, 2012). Gümüş nanopartiküllerinin çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bu alanlar arasında katalizörler, optik sensörler (zeptomol konsantrasyonunda), tekstil mühendisliği, elektronik cihazlar, optik endüstri ve özellikle tıbbi uygulamalar bulunmaktadır (Sukumaran, 2012).

1.8.1. Gümüş nanopartikül sentezi

Gümüş nanopartiküllerin çeşitli boyutlar, yükler ve ayrıcalıklara sahip olmaları, onların çeşitli uygulamalar için ideal olmalarını sağlamaktadır. İstenilen karakteristiklere sahip AgNP 'ler, çeşitli kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak sentezlenebilir. Ancak bu yöntemler genellikle pahalı ve bazıları da çevresel olarak da sürdürülebilir değildir. Bu nedenle, bitkilerin ve mikroorganizmaların kullanıldığı biyolojik sentez yöntemleri alternatif olarak daha cazip hale gelmiştir.

1.8.1.1. Kimyasal ve fiziksel nanopartikül sentez yöntemleri

Gümüş (Ag) nanopartikül üretimi için farklı kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri, nano metal parçacıklarının mekanik olarak öğütülmesi ve kolloidal koruyucu ajanların eklenmesiyle stabilizasyonunu içeren 'top-down' yöntemidir (Gaffet vd. 1996; Amulyavichus, 1998). Bottom-up yaklaşımı ise, metallerin indirgenmesi, elektrokimyasal teknikler ve kısa süreli ayrışmayı içerir. Genel olarak ıslak kimyasal yöntemler arasında, çeşitli indirgeyici kimyasallar kullanılarak gümüş nitrat tuzlarının indirgenmesi yer alır. Bu süreçte gümüş iyonları belirli bir kristal yapısında bir araya gelerek küresel yapıda gümüş nanopartiküller oluşturur. En basit kimyasal yöntemlerden biri, metalik AgBF_4 ve NaBH_4 tuzlarının indirgenmesini içerir. Elde edilen nanopartiküllerin boyutları 3-40 nm aralığında olup, bunlar TEM ve UV-görünür (UV-vis) absorpsiyon spektroskopisi ile karakterize edilir (Yu, 2008).

Sono ayrışma yöntemi, ultrasonik dalgaların kullanımıyla gerçekleşen bir süreçtir. Bu yöntemde, ultrasonik dalgalar sulu çözeltiden geçerken kavitasyon oluşturur yani; mikroskobik kabarcıklar oluşturur ve bu kabarcıklar da genişleyip patlayarak gümüş nanopartiküllerinin sentezini sağlar. Gümüş nanopartiküllerinin sentezi için sulu AgNO_3 çözeltisi sonokimyasal redüksiyon ile argon-hidrojen atmosferinde gerçekleştirilir. Elde edilen nanopartiküller 20 nm çapındadır. Bu nanopartiküller, TEM, X-ışını difraksiyonu, absorpsiyon spektroskopisi, diferansiyel taramalı kalorimetri ve EPR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir (Salkar, 1999). Bu yöntemde, gümüş iyonları aniyonik bir sürfaktan ile elektrostatik kompleks oluşturacak şekilde yüksek kararlılıkta bir sıvı içinde tepkimeye girer. Elde edilen köpük daha sonra süzülür ve sodyum borohidrit eklenerek indirgenir. Bu süreç sonucunda elde edilen gümüş nanopartiküllerinin solüsyon içinde son derece kararlı olduğu görülür. Aerosol, nanopartikülleri kararlı hale getirir. Bu yöntemle elde edilen nanopartiküllerin çapları 5 ile 40 nm arasındadır (Salkar, 1999).

Gümüş nanopartiküllerinin mikrodalga ile sentezi, geleneksel ısıtma yöntemine göre tercih edilir, çünkü değişken frekanslı mikrodalga radyasyonu aynı sıcaklıkta daha hızlı reaksiyon sağlar ve daha yüksek partikül konsantrasyonu elde edilmesine olanak tanır. Ayrıca, poly(N-vinylpyrrolidone) konsantrasyonunun artırılmasıyla nanopartikül boyutunun daha küçük olduğu (15-25 nm aralığında) gözlemlenmiştir. Fazla gümüş nitrat konsantrasyonu, uzun reaksiyon süresi ve yüksek sıcaklık koşullarında ise daha büyük partiküller elde edilmektedir. (Jiang, 2006).

1.8.1.2. Biyolojik nanopartikül sentez yöntemleri

Biyosentez, enerji kullanılarak daha kompleks ürünler elde edilmesini sağlayan kimyasal süreçleri ifade eder. Nanoteknolojide ise bitki ekstraktları veya çeşitli canlı organizmalar (bakteri,

mantar, maya, alg vb.) kullanılarak nanopartikül sentezi yapılması şeklinde tanımlanır (Sukumaran ve Eldho, 2012). Kimyasal üretimde, gümüş iyonları bir kimyasal indirgeyici madde tarafından gümüş çekirdeğine dönüştürülür ve partiküller, kümeleşmeyi önleyen bir kapama ajanı ile kararlı hale getirilir. Mikroorganizmalar tarafından sağlanan indirgeme ve kapama ajanları ile iyonların çöktürülüp kararlı hale getirilmesi, biyolojik sentezin temel işlemlerindendir (Sukumaran ve Eldho, 2012). Çoğu fiziksel ve kimyasal yöntemlerde, nanopartikül üretimi pahalıdır ve zehirli kimyasalların kullanımı çevresel ve biyolojik riskler oluşturabilir. Buna göre Gümüş nanopartiküllerinin daha ucuz ve çevre dostu şartlarda üretilmesi gereklidir (Kalishwaralal vd. 2008). Bu ihtiyaç, biyomimetik (biyotaklit) yöntemlerle biyolojik sentezlere olan ilgiyi artırmıştır. Kimyasal sentezler genellikle yüzeyde emilme özellikleri nedeniyle tıbbi uygulamalar için uygun olmayabilir (Parashar vd. 2009). Gümüş nanopartiküllerinin biyosentezinde, genellikle redoks reaksiyonları bottom-up yönteminin esasını oluşturur. Mikrobiyal enzimler ve bitki kökenli fitokimyasallar, istenilen nanopartiküllerin sentezinde kullanılan indirgeyici ve antioksidan özelliklere sahip bileşenlerdir (Sukumaran ve Eldho, 2012).

1.8.2. Gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal özellikleri

AgNP'ler çeşitli antibiyotiklere dirençli olan Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı yüksek ölçekte antibakteriyel etkiye sahiptir. Bu antibakteriyel etki ile ilişkili çok çeşitli mekanizmalar açıklanmıştır. Ancak tam olarak hangi mekanizma üzerinden etkili olduğu konusunda bazı farklı görüşler bulunmaktadır. Gümüş nanopartikülleri bakteri DNA'sında bulunan sülfür ve fosforla etkileşime girerek, DNA replikasyonunda sorunlara neden olup bakterisidal etki göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin bakteri hücre duvarı ve hücre membranı ile etkileşime girebilir. Hücre zarının membran geçirgenliğini bozarak yapısal değişikliklere ve sonuçta da hücre ölümüne sebep olabilir. AgNP'leri serbest radikallerin oluşumuna neden olabilir. AgNP'leri aracılığıyla oluşan bu serbest radikaller hücrenin biyomoleküllerine zarar vererek hücrenin ölümüne yol açabilirler. Serbest radikaller için önerilen bu etki mekanizması elektron spin rezonans spektroskopisi ile yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004; Shrivastava, 2009). Ayrıca nanopartiküllerdeki gümüş iyonlarının serbest hale geçebileceği de ileri sürülmüştür (Feng, 2008). Bu serbest iyonlar hayati role sahip birçok enzimin tiyol gruplarıyla reaksiyona girerek enzimleri inaktive edebilir (Matsumura vd. 2003). Gümüş, bakterilerde bazı metabolik yolları bozduğu için hücre zarar görür. Çünkü gümüş iyonları solunum enzimlerini inhibe ederek hücrede metabolik bozukluklara neden olmaktadır. Gümüş iyonlarının zayıf asidik özelliğe sahip olmalarından dolayı hücredeki zayıf bazik özellikte olan sülfür ve fosfat yapılarıyla reaksiyona girme eğilimi vardır. Diğer taraftan gümüş bu özelliğinden dolayı DNA'nın yapısındaki sülfür ve

fosfor ile de etkileşime girerek DNA'yı parçalayabilir ve hücre ölümüne neden olabilir (Hatchett ve Henry, 1996).

Jones ve Hoek'e göre (Marambio-Jones ve Hoek, 2010), en etkili yöntemlerden biri gümüş iyonlarının, ATP molekülleriyle etkileşimi ve hücrelerin enerji metabolizmasında meydana gelen aksamalardır. Diğer taraftan AgNP'ler tarafından reaktif oksijen türlerinin oluşumu, DNA replikasyonundaki aksaklıklar ve gümüş iyonlarının hücrede meydana getirdiği hasarlar diğer etkili yöntemler arasındadır. AgNP'leri, membran geçirgenliğinin artışıyla özellikle Gram negatif bakterilerin hücre duvarında da oksidasyon sebebiyle zarara neden olmaktadır (Lara vd. 2010; Soni ve Salopek-Soni, 2004). AgNP'ler, organizmaların sinyallerini keserek ve çoğalmalarını engelleyerek peptitlerin fosfotrosin profili üzerinde de değişiklik yapar (Shrivastava, 2009). Aynı zamanda nanopartiküller, bakterilerde sinyal transdüksiyonunu azaltıcı etki göstererek sinyal iletimini inhibe ederler ve böylece bakterilerin üremesi engellenmiş olmaktadır (Shrivastava vd. 2007).

1.8.3. AgNP'lerin kullanım alanları

Gümüş nanopartiküllerinin farklı birçok özelliklerinden dolayı giderek artan farklı kullanım alanları keşfedilmektedir. AgNP'ler, sağlık alanında, gıda endüstrisinde, tekstil sanayisinde ve çok sayıda çevre ve tarım uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. AgNP kullanılarak yapılan birçok ürün, ABD'de FDA ve EPA, Japonya'da SIAA, Kore'de Kimyasal Sanayi için Kore Test ve Araştırma Enstitüsü'nde birçok akredite kurum tarafından onaylanmıştır (Abou El-Nour vd., 2010). AgNP içeren pamuk fiberler antibakteriyel ajanlar olarak, *Escherichia coli*'ye karşı yüksek antibakteriyel etki gösterir. Gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal etkilerinden dolayı çoğunlukla tıbbi alanda kullanılırken, çinko ve titanyum gibi nanopartiküller ise kozmetik alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Aynı zamanda gümüş, çinko ve diğer metal nanopartiküller, antimikrobiyal etkilerinden dolayı gıda paketlenme, yara pansumanları, ilaç salınımlarında da kullanılmaktadır. Henüz geliştirilme aşamasında olan metal nanopartiküllerin diğer uygulama alanları da foto görüntüleme, fototermal tedavi ve manyetik olarak duyarlı ilaç verimi gibi alanlardır (Abou El-Nour vd., 2010).

1.8.4. AgNP karakterizasyonu

Nanopartiküllerin karakterizasyonu, sentezlenen nanopartiküllerin özelliklerini ortaya çıkarmak ve uygun alanlarda kullanılmasını sağlamak açısından çok önemlidir. Bu amaçla kullanılan çok sayıda teknik mevcuttur. Nanopartikül yapılarının yüzeySEL morfoloji görüntülerinin elde edilmesi amacıyla taramalı elektron mikroskopu (SEM), transmisyon

(geçirimli) elektron mikroskopy (TEM), atomik kuvvet mikroskopy (AFM) kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin kristal formlarının tespiti için X-ışını Kırınım (XRD) cihazı, dinamik ışık saçılımı (DLS), X ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) cihazı kullanılmaktadır. Üretilen nanopartiküllerin içerisindeki elementler arasındaki bağların ortaya koyulması amacıyla Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) kullanılmaktadır. Nanoparçacıkların yüzey yükü ve kararlılığının tespiti için zeta potansiyeli ölçümü tekniği kullanılmaktadır. UV-vis spektroskopisi tekniği ile de plazmon rezonans gösterilerek örnek oluşumu doğrulanmaktadır. (Abou El-Nour vd., 2010).



2.LİTERATÜR ÖZETİ

Araştırmalar, yeşil sentezle üretilen nanopartiküllerin, fizikokimyasal yöntemlerle sentezlenenlere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Mukherjee vd. 30 nm boyutundaki biyolojik nanopartiküllerin % 96.67 antibakteriyel aktivite sergilediğini, ancak kimyasal olarak sentezlenen nanopartiküllerin aynı konsantrasyonda anlamlı bir etki göstermediğini kanıtlamıştır. Bir diğer çalışmada ise, *Desmodium gangeticum*'dan elde edilen biyolojik nanopartiküllerin, kimyasal yöntemle sentezlenen nikel nanopartiküllerine kıyasla LLC PK1 epitelyal hücre hatlarında daha yüksek antioksidan, antibakteriyel ve biyouyumluluk aktivitelerine sahip olduğu rapor edilmiştir (Singh vd., 2014).

Hanan M. Abd-Elnaby vd. biyolojik yöntemlerle sentezledikleri AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmek amacıyla çeşitli mikroorganizmalar üzerinde testler yapmış ve bu nanopartiküllerin tüm test edilen türler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. (Abd-Elnaby vd. 2016). Bir diğer çalışmada, AgNP'lerin farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel aktiviteleri *Bacillus*, *Enterococci*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* ve *E. coli* üzerinde incelenmiş ve en yüksek antibakteriyel aktivitenin *Klebsiella pneumoniae* üzerine olduğu rapor edilmiştir (Rajkuberan vd. 2015).

Mohammadian vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, *Fusarium oxysporum* ile ekstraselüler AgNP sentezi gerçekleştirilmiş ve antibakteriyel etkileri test edilmiştir. İnkübasyon sonucunda, 5-60 nm boyutlarında elde edilen AgNP'lerin *E. coli*, *V. paraheamolyticus*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris* ve *L. monocytogenes* gibi çeşitli bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir (Mohammadian vd. 2007).

Hindistan'da topraktan izole edilen *Fusarium oxysporum* ve farklı cins fungus izolatları kullanılarak gümüş nanopartikül sentezinin çok hızlı gerçekleştiği görülmüştür (Beykaya, Ç. ve Çağlar A.2016).

Khandelwal vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada *Argemone mexicana* nın (Meksika haşhaşı) yaprak özütü kullanılarak AgNP' nin biyosentezi gerçekleştirilmiş ve bu nanopartiküller UV-vis absorpsiyon spektroskopisi, FTIR, XRD ve taramalı elektron mikroskobu ile karakterize edilerek 30 nm çapında yapı gösterilmiştir. Bakterilere ve funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenerek, yapılan çalışmada *Argemone mexicana* bitkisinin yaprak özütü ilk kez nanopartikül sentezinde kullanılmıştır (Khandelwal 2010).

Verticillium sp. biyokütlesi gümüş nitrat çözeltisi içine konulduğunda, büyük miktarda gümüş nanopartiküllerinin oluştuğu bildirilmiştir (Narayanan ve N. Sakthivel, 2010).

Kora vd. yaptıkları bir çalışmada reaksiyon koşullarını optimize ederek, *Anogeissus latifolia* tarafından yaklaşık 5.7 ± 0.2 nm'lik hemen hemen monodispers ve boyut kontrollü küresel nanopartiküller elde etmişlerdir (Kora vd. 2012).

Baker vd. tarafından yapılan bir çalışmada, AgNP sentezi için farklı gümüş nitrat konsantrasyonları kullanılmış ve en yüksek verim 1 mM gümüş nitrat konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bu ortamdaki AgNP'lerin de 5-50 nm boyutlarında olduğu rapor edilmiştir (Baker ve Satish, 2015).

Başka bir çalışmada, *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano, 1968, *Isochrysis galbana* Parke, 1949, *Chlorella salina* Butcher, 1952 ve *Tetraselmis gracilis* (Kylin) Butcher, 1959 mikroalgleri kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentez potansiyelini incelenmiştir. İlk denemede, üretim öncesi besi ortamına 1 mM AgNO₃ eklenmiş ve hücrelerin gümüş varlığında inkübasyonu ile hücre gelişimi ve nanopartikül oluşumu izlenmiştir. İkinci denemede, logaritmik fazdaki kültür hasat edilerek süpernatant ve yaş biyokütle gümüş iyonları ile muamele edilerek AgNP sentezlenmiştir. Üçüncü denemede ise, logaritmik fazdaki hücreler ultrasonikasyon ile parçalanmış ve 1 mM AgNO₃ çözeltisi ile süspanse edilerek nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin yüzey plazmon rezonansı 420 nm civarında pik vermiştir. Ayrıca, bu nanopartiküllerin *Proteus vulgaricus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi patojen bakterilere karşı antimikrobiyal etkileri de test edilmiştir (Merin vd. 2010).

Her metal nanopartikül, kendine özgü yüzey plazmon rezonansına bağlı olarak karakteristik bir renge sahip koloidal süspansiyon oluşturur. Örneğin, gümüş iyonları gümüş nanopartiküllere indirgendikçe süspansiyonun rengi sarıdan kırmızı kahverengiye doğru değişmektedir (Ahn vd. 2019). Benzer şekilde, titanyum nanopartikül oluşumunda, şeffaf metal çözeltisinin rengi nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olarak kırık beyazdan griye geçiş göstermektedir (Caliskan vd. 2022). Çinko ve demir nanopartikül sentezinde, metal çözeltisinin şeffaf rengi nanopartikül oluşumunun başlangıcından itibaren kahverengiye dönüşmektedir. Renk değişimi, her metal iyonu için karakteristik olduğundan, metal iyonlarının indirgenmesiyle metal nanopartiküllerin oluşumu ve deneyin başarısı hakkında hızlı bir değerlendirme yapmada indikatör görevi görmektedir (Agarwal vd. 2019; Dhandapani vd. 2020).

Abd-Elnaby vd. *Streptomyces rochei* MHM13 suşu ile yaptıkları araştırmada, kültür süpernatantına gümüş nitrat ekledikten sonra inkübasyon sonucunda nanopartikül oluşumunun makroskobik belirtisi olan renk değişimini gözlemlemişlerdir (Abd-Elnaby vd. 2016).

Yapılan birçok çalışmada, biyolojik yolla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin küresel formda ve 50 nm'den büyük boyutlarda olduğu gösterilmiştir. Literatürdeki SEM analizleri incelendiğinde, biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin 10-100 nm aralığında ve çeşitli şekillerde olduğu rapor edilmiştir (Abd-Elnaby vd. 2016; Chanthini vd. 2015; Javaid vd. 2018;).

Birçok araştırmacı, AgNP'lerin 410-450 nm dalga boyunda yüzey plazmon rezonansı sergileyen küresel nanopartiküller oluşturduğunu rapor etmiştir (Rajkuberan vd. 2015; Rivallan vd. 2010; Zaheer ve Rafiuddin, 2010).

Ganoderma applanatum aracılığıyla üretilen gümüş nanopartikülün pH 6-7'de 420 nm'de güçlü bir pik verdiği rapor edilmiştir. Üretilen gümüş nanopartiküllerinin küresel ve ortalama 20-25 nm boyutta olduğu saptanmıştır. Aynı fungus kullanılarak farklı pH koşullarında üretilen gümüş nanopartiküllerinin ise daha yüksek dalga boyunda pik verdiği bildirilmiştir. Aynı zamanda bu pH'larda elde edilen AgNP'lerin küresel olmadığı ve farklı boyut ve şekillerde olduğunu bildirilmiştir (Jogaiah vd. 2017).

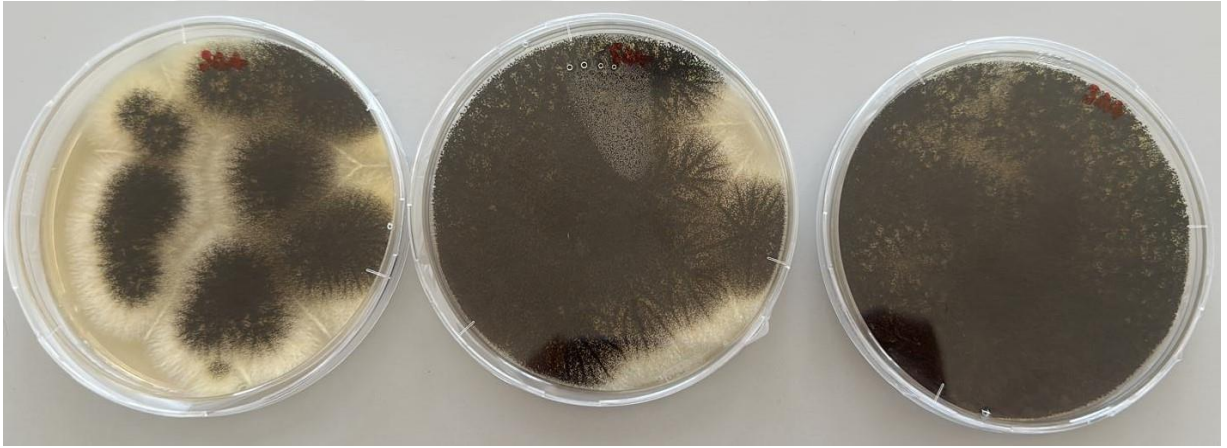
T. versicolor kültür filtratı ile gerçekleştirilen AgNP üretiminde, alkali pH ortamında nanopartiküllerin normal pH'ya göre daha hızlı oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca, pH'nın sentezlenen nanopartikül boyutunu etkilediği gözlemlenmiştir (Sanghi ve Verma, 2009).

Sanghi ve arkadaşları tarafından *P. chrysosporium* kültür filtratı kullanılarak AuNP üretimi üzerine sıcaklık koşullarının etkisi test edilmiştir. 37 °C'de altın nanopartiküllerinin oluşumuna bağlı olarak açık sarıdan koyu mora kadar hızlı bir renk değişimi gözlenmişken, oda sıcaklığında uzun bir süre renk değişimi olmadığı rapor edilmiştir (Sanghi vd. 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Fungus

Çalışmada Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda muhafaza edilen *Cladosporium cladosporioides* kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan fungusun devamlılığı sağlamak amacıyla uygun koşullarda ve sürelerde Sabouraud dekstroza agar (SDA) ortamında üretimleri yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle steril koşullarda SDA plakları hazırlanmış ve bu plaklara daha önce üretilip +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilen fungus kültürü steril şartlar altında ekilmiştir. Ekim sonrasında, kültürler 28 °C'de statik koşullarda inkübe edilmiştir ve üretim sonrası Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. *Cladosporium cladosporioides*.

3.1.1. *Cladosporium cladosporioides*

Çalışmamızda kullanılan *C. cladosporioides*'in sınıflandırılması:

Domain: *Eukaryota* (Ökaryotlar)

Kingdom: *Fungi* (Mantarlar)

Phylum: *Ascomycota* (*Ascomycete* Mantarları)

Class: *Eurotiomycetes*

Order: *Capnodiales*

Family: *Cladosporiaceae*

Genus: *Cladosporium*

Species: *Cladosporium cladosporioides*

3.2. Çalışmada Kullanılacak Fungus Kültürlerinin Hazırlanması

Daha önce üretilip buzdolabında muhafaza edilen SDA stok kültürlerden *C. cladosporioides* örneği alınarak yatık SDA besiyerlerine steril koşullarda ekim yapılmış ve ardından da kültürler 28 °C'lik etüvde 5 gün üretime bırakılmıştır. Üretim sonrası yatık kültürlerin üzerine 15 mL steril distile su eklenerek, öze yardımı ile yüzeyden hafifçe kazınarak 250 mL'lik erlenlerdeki 50 mL Sabouraud dekstrozu broth besiyerlerine steril koşullarda 1mL ekimleri yapılarak 28 °C ve 150 rpm'de 5 gün boyunca üretilmiştir. Oluşan fungal peletleri filtre kâğıt yardımıyla distile sudan 3 kez geçirilerek, peletler besiyerinden arındırılmıştır. Peletlerin üzerine 100 mL distile su eklenerek 48 saat boyunca 28 °C'de üretilimi sağlanmıştır. Sonrasında fungus kültürleri Milipore marka vakumlu pompa ile Nuche erleninden süzölmüş ve filtrat (süzöntü) elde edilmiştir.

3.3. AgNO₃ Çözeltisinin Hazırlanması

Gümüş nanopartiköllerin sentezinde kullanılmak amacıyla 100 mM'lık stok gümüş nitrat (AgNO₃) çözeltisi hazırlanmıştır.

3.4. AgNP'lerin Sentezi ve Optimizasyon Çalışmaları

Gümüş nanopartiköllerin üretiminde yüksek verim elde etmek amacı ile farklı koşullar test edilmiştir. AgNP sentezi için misel süzöntüsü (kültür filtratı) elde edilmiş ve optimizasyon çalışmaları için sırasıyla süzöntü miktarı (1 mL, 5 mL ve 9 mL), AgNO₃ konsantrasyonu (5 mM, 10 mM ve 50 mM), süre optimizasyonu (6 saat, 12 saat, 24, saat 48 saat ve 72 saat), sıcaklık (20 °C, 28 °C, 35 °C ve 45 °C), pH (3.0, 5.0, 7.0 ve 9.0) ve çalkalama (statik, 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm) koşulları gibi farklı faktörler açısından değerlendirilmiştir.

3.4.1. Gümüş nitrat konsantrasyonunun AgNP üretimi üzerine etkisi

Gümüş nitrat (AgNO₃) konsantrasyonu, gümüş nanopartiköllerin (AgNP) biyosentezinde önemli bir faktördür ve bu durum çeşitli araştırmalarla kanıtlanmıştır. Gümüş nanopartiköllerin üretiminde AgNO₃ konsantrasyonu, nanopartiköl boyutu, şekli, morfolojisi ve antimikrobiyal özellikleri üzerinde belirleyici bir etkiye sahiptir. En iyi gümüş nanopartiköl eldesi için 5 mM, 10 mM ve 50 mM olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda gümüş nitrat çözeltisi hazırlanmıştır. 28 °C' de 150 rpm'de 48 saat İnkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.4.2. Filtrat miktarının AgNP üretimi üzerine etkisi

Yüksek miktarda gümüş nanopartiküllerin elde edilmesi için 1 mL, 5 mL ve 9 mL olmak üzere 3 farklı filtrat miktarı ile çalışılmıştır. Çalışmada 10 mM'lık AgNO_3 kullanılmıştır. AgNO_3 'ın son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde 9 mL filtrat üzerine 100 mM'lık stok AgNO_3 çözeltisinden 1 mL eklenerek toplam 10 mL'lik çözelti hazırlanmıştır. Aynı şekilde 5 mL süzüntüye, 1 mL 100 mM'lık stok AgNO_3 çözeltisi ve 4 mL distile su eklenerek son hacim 10 mL ve 10 mM'lık çözelti hazırlanmıştır. 1 mL süzüntü üzerine de 1 mL 100 mM AgNO_3 çözeltisi ve 8 mL de distile su eklenerek toplam 10 mL, 10 mM'lık çözelti hazırlanmıştır. 28 °C' de 150 rpm'de 48 saat karanlık ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra süresi biten örnekler 9000 rpm +4 °C' de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.4.3. Gümüş nanopartikülün üretimine pH'ın etkisi

pH'ın AgNP üretimi üzerindeki etkisi, spesifik üretim yöntemine ve kullanılan indirgeme ajanına bağlı olarak değişir. Bu nedenle, hedeflenen nanopartikül özelliklerine göre pH optimizasyonu yapmak, başarılı ve kontrollü bir AgNP sentezi için önemlidir. Yüksek miktarda AgNP'lerin elde edilmesinde pH'nın etkisini test etmek için 0.1 N konsantrasyonlarında HCl veya NaOH kullanarak pH 3.0, 5.0, 7.0 ve 9.0 olacak şekilde çözeltiler hazırlanarak inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan çözeltiler 28 °C' de 150 rpm'de 48 saat inkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C' de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.4.4. Gümüş nanopartikül üretimine sıcaklığın etkisi

Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) üretiminde sıcaklık, reaksiyon hızını, nanopartiküllerin boyutunu, şeklini ve genel özelliklerini belirleyen kritik bir parametredir. Hem biyosentez hem de kimyasal sentez yöntemlerinde, sıcaklığın kontrolü AgNP'nin istenilen özelliklerde üretilmesini sağlar. Sıcaklık, gümüş iyonlarının (Ag^+) indirgenme hızını, büyüme sürecini ve nanopartiküllerin stabilitesini doğrudan etkiler. En yüksek AgNP sentezinin hangi sıcaklıkta olduğunu belirlemek için, 20 °C, 28 °C, 35 °C, 45 °C sıcaklıklarda deneylerimiz yürütülmüştür. Belirtilen sıcaklık değerlerinde 150 rpm'de 48 saat inkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C' de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.4.5. Gümüş nanopartikül üretimine sürenin etkisi

Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) üretiminde reaksiyon süresi, nanopartiküllerin boyutunu, şeklini, oluşum verimini ve kararlılığını doğrudan etkileyen önemli bir faktördür. Yüksek miktarda gümüş nanopartikül eldesi için 6 saat, 12 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saat olacak şekilde üretimler yapılmıştır. 28 °C’ de 150 rpm’de 48 saat İnkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C’ de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.4.6. Gümüş nanopartikülün üretimine çalkalama hızının etkisi

Çalkalama hızının optimize edilmesi, AgNP’lerin üretiminde hedeflenen boyut, şekil ve stabiliteyi elde etmek için önemlidir. Çalkalamanın kontrollü bir şekilde yapılması, üretim sürecinin daha verimli ve öngörülebilir olmasını sağlar. Bu çalışmada en iyi AgNP üretiminin hangi çalkalama koşullarında elde edildiğini saptamak için, 50 rpm, 100 rpm 150 rpm, 200 rpm ve statik koşullarda olacak şekilde ayrı ayrı 5 tane optimum koşullarda kültür filtratı hazırlanmıştır. 28 °C’ de 150 rpm’de 48 saat İnkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C’ de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanoparçacıklarının karakterizasyonu için analiz edilmiştir.

3.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması

Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antimikrobiyal aktivitesi, birçok mikroorganizmaya (bakteriler, mantarlar, karşı etkili olduğu için geniş bir uygulama alanına sahiptir. AgNP’lerin antimikrobiyal aktiviteleri hem Gram (+) hem de Gram (-) bakteriler ve mantarlar üzerinde disk difüzyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus spizizenii*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmanın hazırlık aşamasında bakteri kültürleri için Nütrient agar ve Nütrient broth, maya kültürleri için de Sabouraud dextrose agar ve Sabouraud dextrose broth’lar hazırlandı. Bakteri ve maya kültürleri önce sıvı kültürlerde üretilerek sonrasında katı besiyerine ekildi. Petriler 3 bölüme ayrılarak, 1.bölüme sefadroksil antibiyotiği, 2.bölüme AgNP, 3.bölüme ise AgNO₃ çözeltisi emdirilen diskler yerleştirildi. Bakteri kültürleri 37 °C, maya kültürleri 28 °C ye ayarlanmış etüvlerde 24 saat inkübe edilmiştir.

3.6. AgNP'lerin Karakterizasyonu

Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu, AgNP'lerin boyut, şekil, morfoloji, kristal yapısı, kimyasal bileşim ve yüzey özelliklerinin detaylı olarak incelenmesini içerir. Bu karakterizasyon, AgNP 'lerin belirli uygulamalar için uygun olup olmadığını değerlendirmek ve antimikrobiyal etkinlik, çevresel etkiler gibi özelliklerini anlamak açısından oldukça önemlidir. Nanopartikül şekli ve yüzeyinin içeriğinin tanımlanması için taramalı elektron mikroskobu (SEM), renk değişimine dayalı karakterizasyonu için ultraviyole görünür spektroskopi (UV-vis), nanopartikül yüzeyinde kimyasal kompozisyonu tanımlanması amacıyla fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), sulu çözelti içindeki nanopartiküllerin yüzey yükünün ölçümü amacıyla zeta potansiyeli analizörü (Zeta-Sizer), elemental içeriğin belirlenmesi X-ışını kırılma (XRD) cihazları kullanılmıştır. AgNP'lerin XRD analizi, FTIR analizi, SEM ve EDX analizi İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı ile yapılmıştır. Zeta potansiyeli ölçümü ise Kimya Bölümü Laboratuvarlarında Malvern-Zeta Sizer Nano-Series Nano ZS model cihaz kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. AgNP'lerin Sentezi ve Optimizasyon Çalışmaları

Daha önceki tez çalışmaları da bahsedildiği gibi *Cladosporium cladosporioides* kullanılmış olup, *C. cladosporioides* fungusunun üretimi yapıldıktan sonra kültür filtratı elde edilmiş ve elde edilen filtrat gümüş nanopartikül üretimi için kullanılmıştır.



Şekil 4.1. *Cladosporium cladosporioides* peletleri.

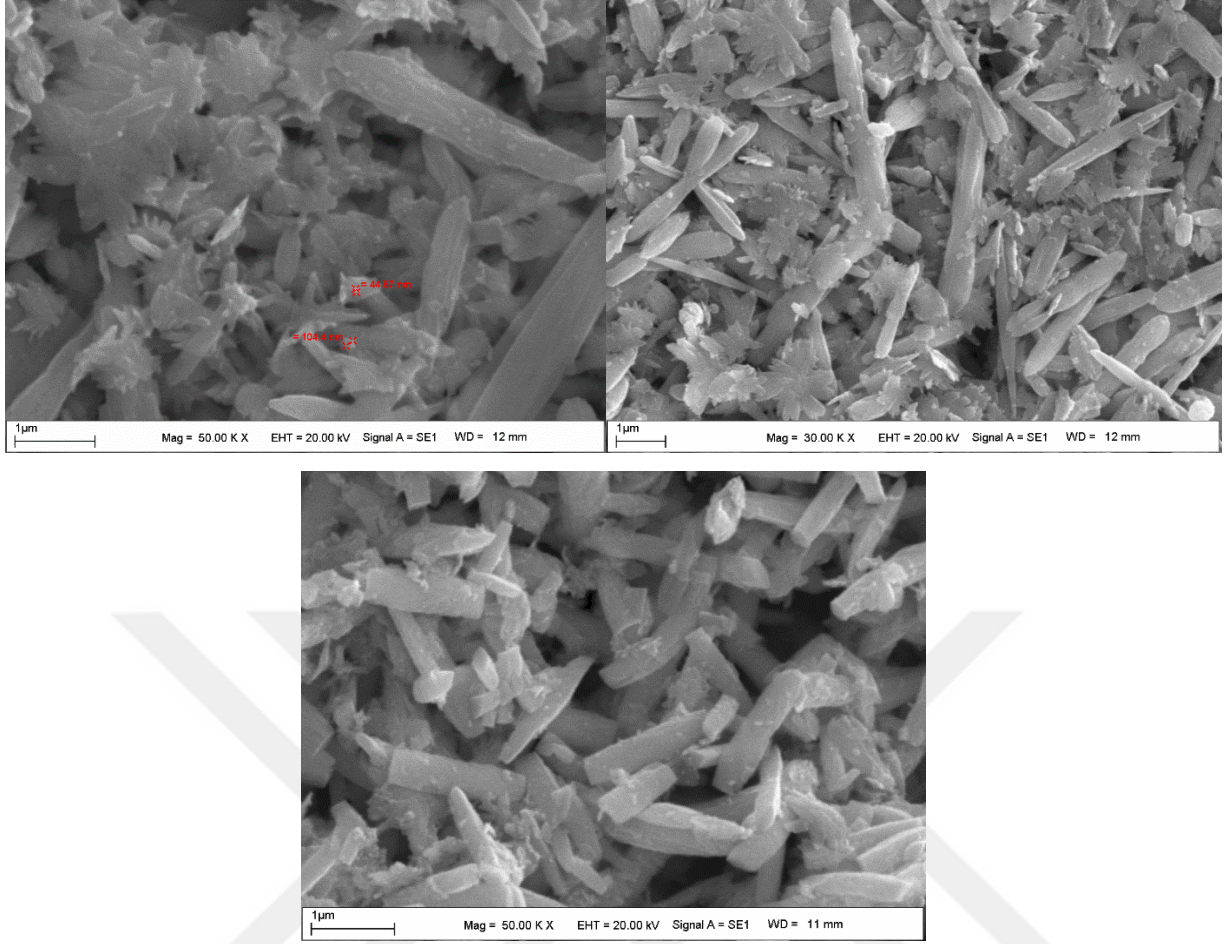
4.1.1. Filtrat miktarının AgNP üretimine etkisi

Filtrat miktarının gümüş nanopartikül üretimi üzerindeki etkisi, çeşitli biyosentez yöntemlerinde önemli bir parametre olarak karşımıza çıkar. Biyosentez yöntemiyle AgNP üretiminde, genellikle bitki özütleri, mikroorganizma kültürleri veya diğer biyolojik kaynaklardan elde edilen filtratlar kullanılır. Bu filtratlar, gümüş iyonlarının (Ag^+) indirgenmesini sağlayan biyoaktif bileşikler içerir ve nanoparçacıkların boyutu, şekli, dağılımı ve verimi üzerinde doğrudan etkilidir. Gümüş nanopartiküllerin üretiminde süzüntü (filtrat) miktarının etkisini araştırmak, sentez verimliliğini optimize etmek açısından kritik bir öneme sahiptir. Yapılan denemelerde 1 mL, 5 mL ve 9 mL olmak üzere farklı miktarlarda süzüntü kullanılmıştır. En iyi AgNP'leri 9 mL lik filtrat kullanıldığında elde edildiği için bundan sonraki deneylerde 9 mL süzüntü kullanılarak devam edilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı filtrat miktarlarında AgNP oluşumuna bağlı olarak renk değişimi.

Süzüntü miktarının artırılması, AgNP sentezinde daha fazla indirgeme ajanı ve biyomolekülün mevcut olmasını sağlamaktadır. Bu durum, gümüş iyonlarının daha etkin bir şekilde indirgenmesini ve daha fazla nanopartikül oluşumunu teşvik etmektedir. Nanopartikül oluşumunun makroskobik olarak ilk belirtisi nanopartiküllerin oluşumuna bağlı olarak çözelti rengindeki değişim ve nanopartiküllere özgü dalga boyunda karakteristik absorpsiyon bandı (pik) oluşumuyla doğrulanmaktadır. 9 mL süzüntüde gözlenen yüksek AgNP üretim verimi başlangıçta renksiz olan fungus özütlerine gümüş nitrat çözeltisinin ilavesiyle bir süre sonra çözeltinin sarımsı ve ardından da kahverengine dönüşen renk değişimleri ile gözlenmiştir. Bu renk değişimi 9 mL filtrat kullanıldığında daha belirgin olduğundan nanopartikül oluşumunun da daha fazla olduğuna karar verilmiştir.



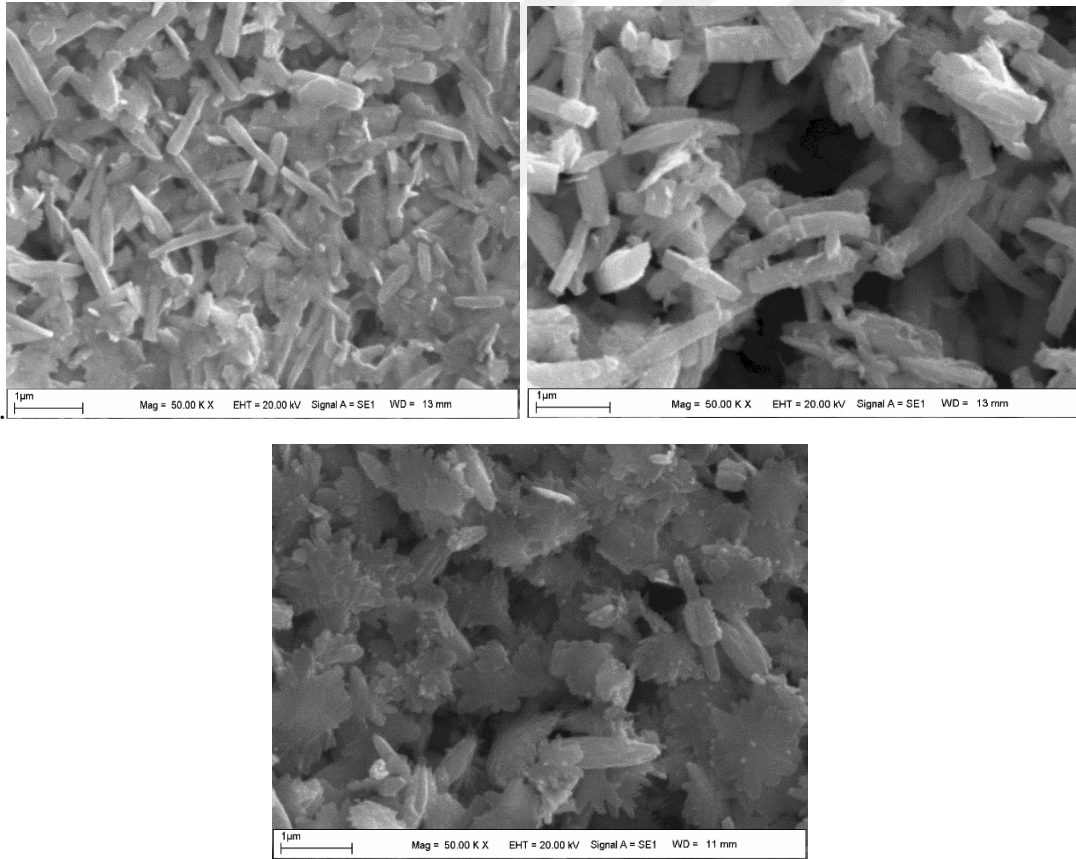
Şekil 4.3. Farklı filtrat miktarlarında (sırasıyla 1 ml, 5 ml, 9 ml) sentezlenen AgNP'nin SEM görüntüleri.

Daha fazla süzüntü miktarı, reaksiyon ortamında daha fazla aktif bileşen bulunmasını sağlamaktadır, bu da nanopartikül konsantrasyonunun artmasına yol açmaktadır. Abd-Elnaby vd.'nin *Streptomyces rochei* MHM13 suşu ile yaptıkları araştırmada, kültür süpernatantına gümüş nitrat ekledikten sonra inkübasyon sonucunda nanopartikül oluşumunun makroskobik belirtisi olan renk değişim gözlemlenmiştir (Abd-Elnaby vd.2016). Literatürde, gümüş nanoparçacıkların çözeltideki artışıyla birlikte, yüzey plazmon rezonansı nedeniyle sarı-kahverengi bir renk oluşması ve bu değişimin nitelik olarak tespit edilebildiği görülmektedir. Çalışmalarımız sırasında, başlangıçta renksiz olan fungus özütlerine gümüş nitrat çözeltisi eklendiğinde önce sarı, ardından kahverengiye yakın renk değişimleri gözlenmiştir. Bu renk değişimi, nanopartikülün oluştuğunu göstermektedir. Literatür çalışmalarında görüldüğü gibi, her metal nanopartikül, kendine özgü yüzey plazmon rezonansı nedeniyle karakteristik bir renk oluşturmaktadır. Örneğin, gümüş iyonları gümüş nanopartiküllere indirgendikçe çözeltinin rengi sarıdan koyu kahverengine doğru değişmektedir (Ahn vd. 2019). Benzer şekilde, titanyum nanopartikül oluşumunda, şeffaf metal

çözeltilisinin rengi nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olarak kırık beyazdan griye geçiş göstermektedir (Caliskan vd. 2022). Çinko ve demir nanopartikül sentezinde, metal çözeltisinin şeffaf rengi nanopartikül oluşumunun başlangıcından itibaren kahverengiye dönüşmektedir. Renk değişimi, her metal iyonu için karakteristik olduğundan, metal iyonlarının indirgenmesiyle metal nanopartiküllerin oluşumu ve deneyin başarısı hakkında hızlı bir değerlendirme yapmada indikatör görevi görmektedir (Agarwal vd. 2019; Dhandapani vd. 2020).

4.1.2. Farklı AgNO_3 konsantrasyonlarının AgNP üretimine etkisi

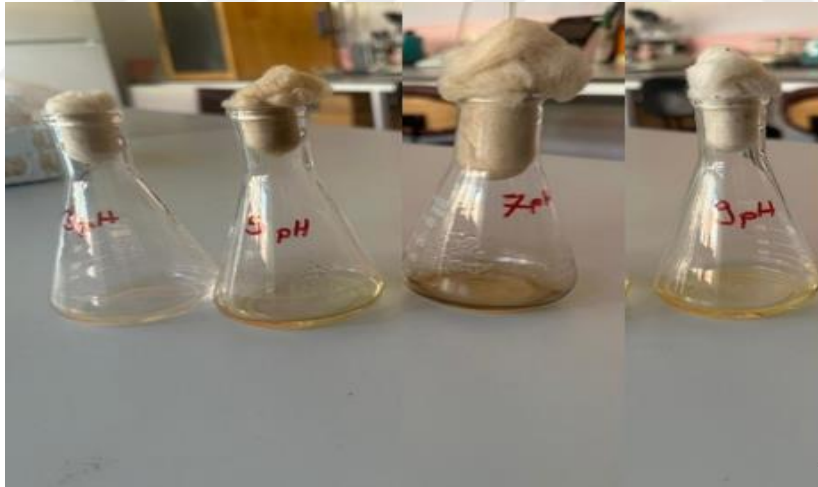
Süzüntü miktarı optimizasyonu sonucu elde edilen analiz sonuçlarında en iyi nanopartikül sentezi 9 mL filtrat içeren örneklerde tespit edildiği için ideal AgNO_3 konsantrasyonu; 9 mL filtrat ve 5 mM, 10 mM ve 50 mM AgNO_3 içeren farklı metal çözeltilerinde denenmiştir. Çalışmalar sonucunda en iyi AgNP üretiminin, 10 mM'lık gümüş nitrat konsantrasyonu olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.4. Farklı AgNO_3 konsantrasyonlarında (sırasıyla 5 mM, 10 mM ve 50 mM) sentezlenen AgNP'nin SEM görüntüleri.

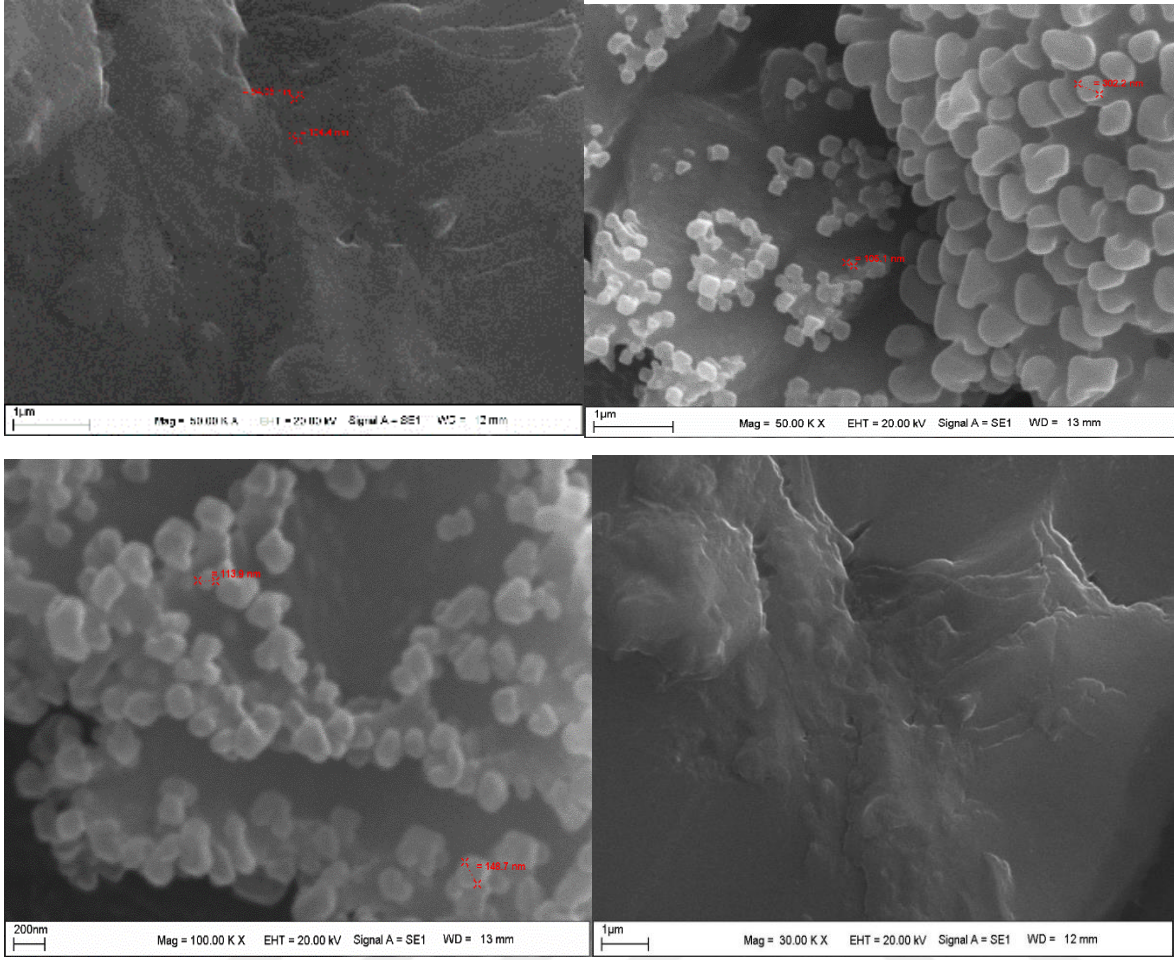
4.1.3. Gümüş nanopartikül üretimine pH ın etkisi

Gümüş nanopartiküllerin üretiminde pH'ın etkisini test etmek, sentez verimliliği ve nanopartiküllerin özelliklerini optimize etmek açısından önemli bir adımdır. Bu amaçla pH'sı 3.0, 5.0, 7.0 ve 9.0 olan 9 ml kültür filtratı hazırlandı 9 mL süzüntü, 10 mM'lık AgNO_3 'ten 1 mL AgNO_3 alınarak toplam hacim 10 mL olacak şekilde eklendi. pH'ını ayarlamak için 0.1 mM'lık HCl ve 0.1 mM'lık NaOH çözeltileri kullanıldı. Hazırlanan 250 mL erlenlere, kültür filtratları 28 °C'de 150 rpm'de 48 saat karanlık ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra süresi biten örnekler 9000 rpm +4 °C' de 15 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanopartiküllerin karakterizasyonları yapılmıştır. En yüksek AgNP üretimi pH 7' de elde edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda '*Ganoderma applanatum* aracılığıyla üretilen gümüş nanopartikülünün pH 6-7' de 420 nm' de güçlü bir pik verdiği rapor edilmiştir. Üretilen gümüş nanopartiküllerinin küresel ve ortalama 20-25 nm boyutta olduğu saptanmıştır. Aynı fungus kullanılarak farklı pH koşullarında üretilen gümüş nanopartiküllerinin ise daha yüksek dalga boyunda pik verdiği ve sentezlenen AgNP' lerin küresel olmadığı ve farklı boyut ve şekillerde olduğunu bildirmişlerdir' (Jogaiah vd. 2017).



Şekil 4.5. Farklı pH koşullarında üretilen AgNP oluşumuna bağlı renk değişimleri.

pH, kimyasal reaksiyonların kinetiğini, indirgeme ajanlarının etkinliğini ve nanopartiküllerin kararlılığını önemli ölçüde etkileyen bir parametredir. Farklı pH seviyelerinde yapılan deneylerin sonuçları, optimal pH değerlerini belirlemek için çok önemlidir.



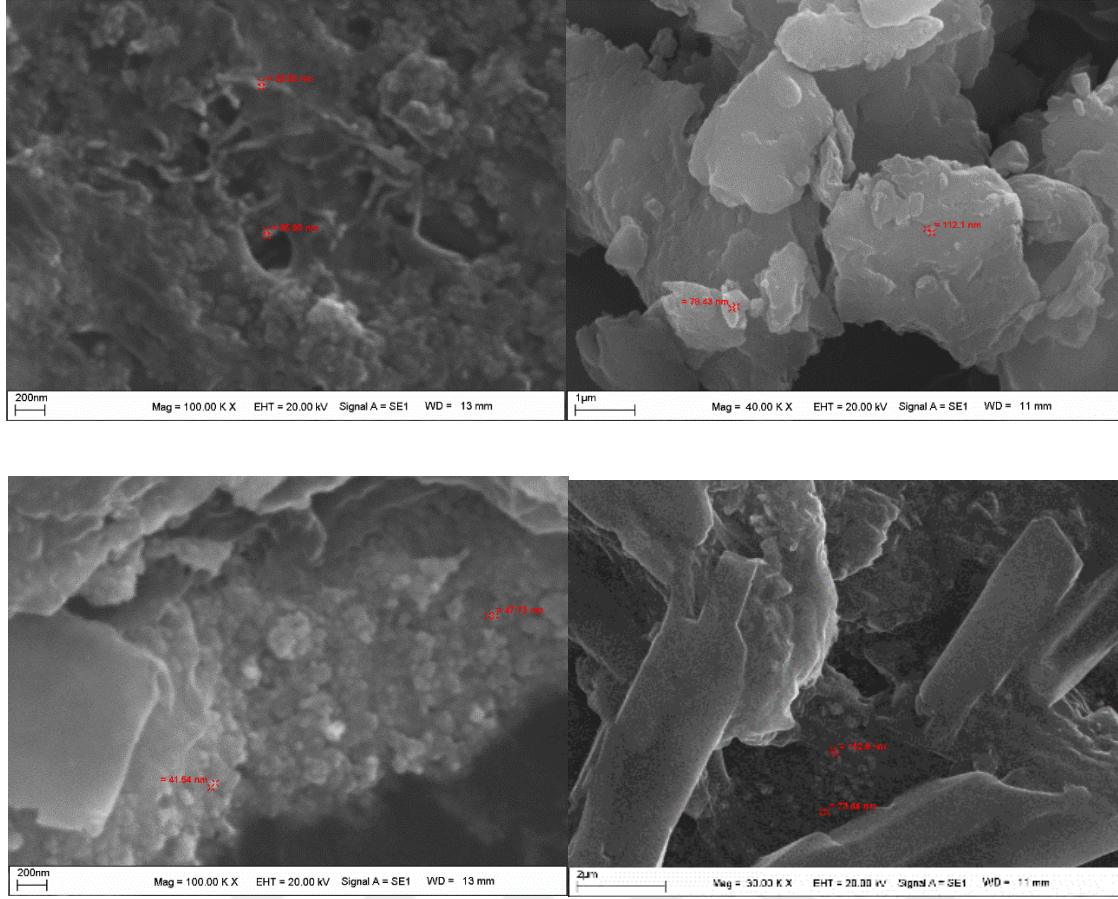
Şekil 4.6. Farklı pH'larda (sırasıyla pH: 3.0, 5.0, 7.0, 9.0) sentezlenen AgNP SEM görüntüleri.

pH 3 gibi asidik ortamlarda, yüksek H^+ iyon konsantrasyonu, indirgeme ajanlarının etkinliğini azaltabilir ve nanopartiküllerin oluşumunu yavaşlatabilir. Ayrıca, asidik koşullar nanopartiküllerin aglomerasyonuna neden olabilir, bu da verimi düşürebilir. pH 5 civarındaki hafif asidik koşullar, indirgeme ajanlarının kısmen daha etkin çalışmasına izin verebilir, ancak bu ortam hala optimal değildir. Nanopartiküllerin boyut ve şekil kontrolü zor olabilir. pH 7 nötr pH seviyesinde, indirgeme ajanlarının ve gümüş iyonlarının optimal reaksiyon koşullarına ulaşması mümkündür. Bu durum, daha verimli bir indirgemenin gerçekleşmesine ve daha yüksek miktarda AgNP oluşmasına yol açar. Ayrıca, nötr pH, nanopartiküllerin kararlılığı ve homojen dağılımı için en uygun koşulları sağlamaktadır. Literatür çalışmalarında, *T. versicolor* kültür filtratı ile gerçekleştirilen AgNP üretiminde, alkali pH ortamında nanopartiküllerin normal pH'ya göre daha hızlı oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca, pH'nın sentezlenen nanopartikül boyutunu etkilediği de gözlemlenmiştir (Sanghi ve Verma, 2009). pH 9 civarındaki bazik ortamlarda ise, yüksek OH^- iyon konsantrasyonu, indirgeme ajanlarının etkinliğini artırabilir, ancak aşırı bazik koşullar da

nanopartiküllerin kümelenmesine ve kararlılık kaybına yol açabilir. Bu da verimi olumsuz etkileyebilir.

4.1.4. Gümüş nanopartikülün üretimine sıcaklığın etkisi

Gümüş nanopartikül sentezinde sıcaklığın etkisinin incelenmesi, sentez verimliliği ve nanopartikül özelliklerini optimize etmek açısından önemli bir çalışmadır. Sıcaklık, kimyasal reaksiyonların kinetiğini önemli ölçüde etkileyen bir parametredir. Farklı sıcaklıklarda yapılan deneyler, optimal koşulları belirlemek ve sentez verimliliğini artırmak açısından kritiktir. Owaid ve arkadaşları tarafından bazı *Pleurotus* türleri ve suşlarıyla gümüş nanopartikül üretim çalışmaları yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda; fungus türlerine, özüt elde etme yöntemine ışık ve sıcaklık gibi inkübasyon koşullarına bağlı gümüş nanopartiküllerinin de özelliklerinin değiştiği rapor edilmiştir (Owaid vd. 2017b). En yüksek AgNP sentezinin hangi sıcaklıkta olduğunu belirlemek için, daha önce elde edilen en iyi filtrat miktarı, pH ve AgNO₃ konsantrasyonu sabit tutularak farklı sıcaklıklarda 20 °C, 28 °C, 35 °C, 45 °C’de deneylerimiz yürütülmüştür. Bu amaçla pH’sı 7 olan, 9 mL süzüntü, 150 rpm’de 48 saat karanlık ortamda belirtilen sıcaklıklarda İnkübe edildi. İnkübasyon sonrası 9000 rpm +4 °C’ de 15 dakika santrifüj edilerek metal oksit nanopartiküllerin karakterizasyonu analiz edilmiştir. En yüksek verimin 45 °C’de olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar baz alındığında düşük sıcaklıklarda, gümüş iyonlarının indirgenme hızı yavaştır. Sıcaklık arttıkça indirgeme reaksiyonları hızlanır. Sanghi ve arkadaşları tarafından *P. chrysosporium* kültür filtratı kullanılarak AuNP üretimi üzerine sıcaklık koşullarının etkisi test edilmiştir. 37 °C’ de altın nanopartiküllerinin oluşumuna bağlı olarak açık sarıdan koyu mora kadar hızlı bir renk değişimi gözlenmişken oda sıcaklığında uzun bir süre renk değişimi olmadığı rapor edilmiştir (Sanghi vd. 2011).



Şekil 4.7. Farklı sıcaklıklarda (sırasıyla 20°C, 28 °C 35°C, 45°C) inkübasyon sonrası sentezlenen AgNP SEM görüntüleri.

20 °C gibi düşük sıcaklık koşullarında, kimyasal reaksiyonlar daha yavaş gerçekleşir. Bu, gümüş iyonlarının (Ag^+) indirgenme hızını ve nanopartikül oluşumunu sınırlayabilir. Sonuç olarak, daha düşük verim elde edilir. 35 °C gibi orta sıcaklıkta, reaksiyon hızı artar, ancak yine de optimal değildir. Nanopartikül oluşumu artar, ancak maksimum verim için yeterli değildir. 45 °C' de ise, reaksiyon kinetiği daha hızlıdır ve indirgeme ajanları daha etkin çalışır. Bu sıcaklık, gümüş iyonlarının indirgenmesini ve nanopartiküllerin oluşumunu maksimum düzeye çıkarır. Ayrıca, yüksek sıcaklıkta reaksiyon ortamında daha homojen bir dağılım sağlar. 45 °C' de artan termal enerji, indirgeme ajanlarının aktivitesini artırır ve gümüş iyonlarının daha hızlı ve etkin bir şekilde indirgenmesini sağlar. Bu durum, daha yüksek verimle nanopartikül oluşumunu teşvik eder.

4.1.5. Gümüş nanopartikülün üretimine sürenin etkisi

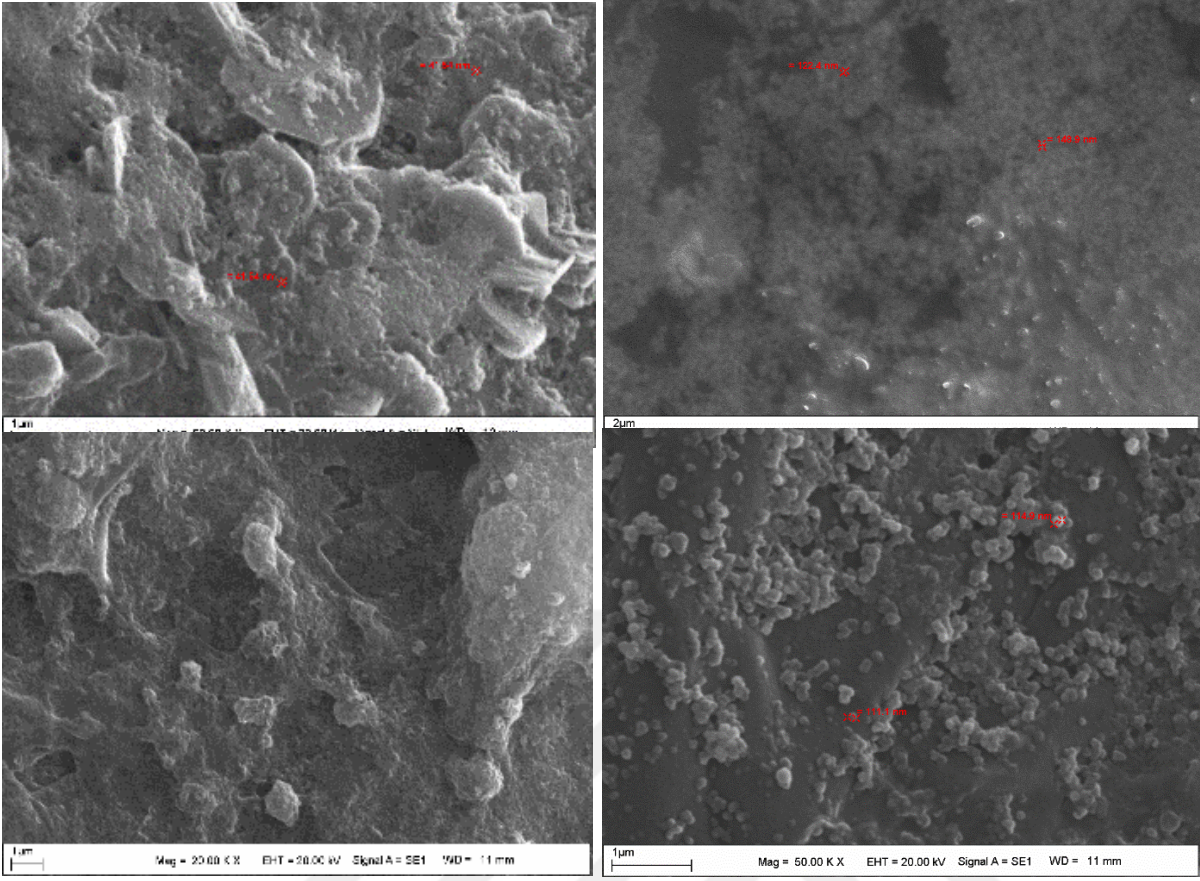
İnkübasyon süresi, nanopartikül oluşumunun kinetiği ve verimliliği üzerinde doğrudan etkili bir parametredir. Farklı inkübasyon süreleri, optimal sentez koşullarını belirlemek için kritik

öneme sahiptir. Kültür filtratından AgNP üretiminde optimum inkübasyon süresinin belirlenmesi, sentez verimliliği ve nanopartikül özelliklerini optimize etmek açısından kritik bir adımdır. Deneyde 9 mL süzüntü, 10 mM'lık AgNO_3 , pH 7.0, inkübasyon sıcaklığı 45 °C ve çalkalama hızı 150 rpm sabit tutularak farklı sürelerde (6 saat, 12 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saat) inkübasyon yapılmış ve en yüksek verim 48. saatte elde edilmiştir.



Şekil 4.8. Farklı inkübasyon sürelerinde üretilen AgNP oluşumuna bağlı renk değişimi.

Daha önce yapılan çalışmalara bakılınca reaksiyon süresi arttıkça, gümüş iyonlarının tam olarak indirgenmesi sağlanır ve daha fazla nanopartikül oluşur. *P. sapidus* kültür özütüyle yapılan AuNP üretim çalışmasında rengin öncelikle pembe, 24 saat sonrasında ise koyu kırmızıya dönüştüğü gösterilmiştir. Inkübasyon sonucu oluşan nanopartiküllerin ortalama 65 nm boyutunda olduğu saptanmıştır (Sarkar vd. 2013).



Şekil 4.9. Sırasıyla 6 saatlik, 12 saatlik, 24 saatlik ve 48 saatlik inkübasyon sonrası AgNP SEM görüntüleri.

6 saatlik kısa inkübasyon süresi, indirgeme ajanlarının gümüş iyonları ile tam olarak reaksiyona girmesi için yeterli zaman sağlamaz. Bu da düşük verimle sonuçlanabilir. 12 saatlik orta süreli inkübasyon, indirgeme reaksiyonlarının daha etkin gerçekleşmesini sağlar, ancak yine de optimum verim için yeterli değildir. 24 saatlik inkübasyonda indirgenme reaksiyonları büyük ölçüde tamamlanmış olabilir, ancak maksimum verim henüz elde edilmemiştir. 48 saatlik inkübasyon süresi ise, indirgeme ajanlarının Ag^+ iyonları ile tam olarak reaksiyona girmesi ve nanopartikül oluşumunun maksimum düzeye ulaşması için yeterli süre sağlar. Bu süre hem reaksiyon kinetiği hem de nanopartikül kararlılığı açısından optimaldir. 72 saatlik daha uzun inkübasyon süresi ise, reaksiyonların doyumluğa ulaşmasına ve nanopartiküllerin aglomerasiyonuna neden olabilir. Bu da verimin düşmesine ve nanopartikül kalitesinin bozulmasına yol açabilir.

4.1.6. Gümüş nanopartikül üretimine çalkalamalı hızının etkisi

Gümüş nanopartikül sentezinde çalkalama hızının etkisini incelemek, sentez verimliliği ve nanopartikül özelliklerini optimize etmek açısından önemli bir adımdır. Bu çalışmada, 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm ve statik (çalkalamasız) koşullarda sentezlenen kültür filtratları hazırlanmıştır. Kültür filtratları 45 °C'de 48 saat karanlık ortamda belirtilen çalkalama hızlarında inkübe edildikten sonra süresi biten örnekler 9000 rpm + 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilerek sentezlenen metal oksit nanopartiküllerin karakterizasyonu için analiz edilmiş ve en yüksek verimin 100 rpm' de elde edilmiştir.

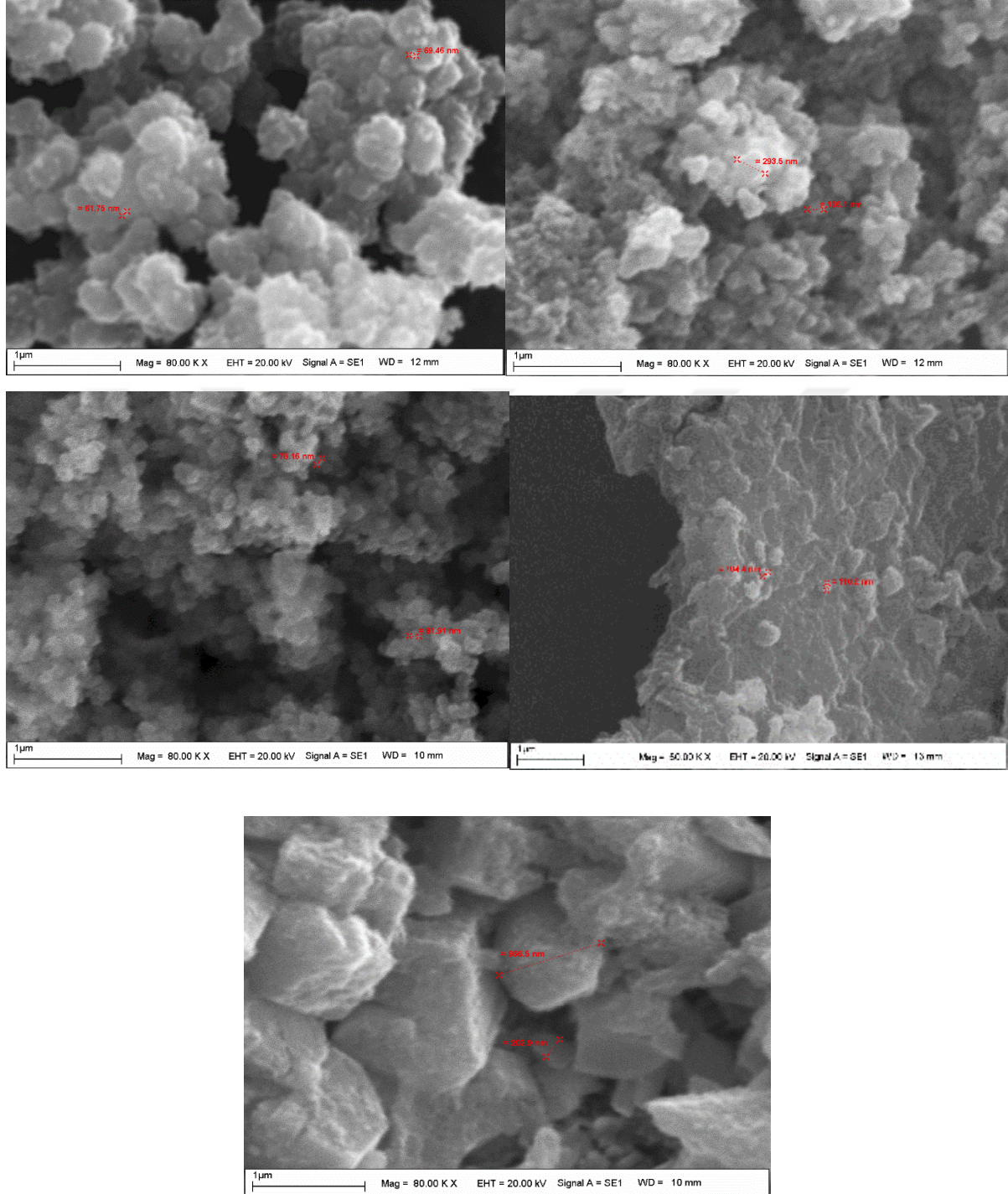


Şekil 4.10. Farklı çalkalama hızlarında üretilen AgNP oluşumuna bağlı renk değişimi.

Çalkalama hızı, reaksiyon ortamının homojenliğini ve indirgeme ajanlarının etkinliğini önemli ölçüde etkileyen bir parametredir. Statik yani çalkalamasız koşullarda, reaksiyon ortamı homojen olmaz ve gümüş iyonlarının indirgenmesi düzensiz gerçekleşir. Bu durum, düşük verimle sonuçlanmaktadır. 50 rpm'lik düşük çalkalama hızında, reaksiyon ortamı kısmen daha homojen olur, ancak yine de optimal değildir. Nanopartikül oluşumu sınırlı kalır. 100 rpm' de, reaksiyon ortamı daha homojen hale gelir ve indirgeme ajanları Ag^+ iyonları ile etkin bir şekilde etkileşime girer. Bu hız, optimal karıştırma sağlayarak daha yüksek verimle sonuçlanır. Ayrıca, 100 rpm' de çalkalama, nanopartiküllerin aglomerasyonunu engeller ve daha küçük, homojen boyutlarda nanopartiküllerin oluşumunu teşvik etmektedir. 100 rpm' de elde edilen homojen karışım, indirgeme reaksiyonlarının dengeli ve verimli bir şekilde gerçekleşmesini sağlar. Bu hız, nanopartiküllerin boyut ve morfoloji kontrolü açısından da optimaldir.

150 rpm ve 200 rpm gibi daha yüksek çalkalama hızlarında, reaksiyon ortamı aşırı derecede hareketli olur. Bu durum, nanopartiküllerin aglomerasyonuna ve reaksiyon kinetiğinin

bozulmasına neden olabilir. Ayrıca, yüksek çalkalama hızları, sistemdeki çözeltinin kararlılığını azaltabilir ve nanopartikül homojen dağılımını olumsuz etkileyebilir.



Şekil 4.11. Farklı çalkalama koşullarında (sırasıyla statik, 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm ve 200 rpm) sentezlenen AgNP'nin SEM görüntüleri.

Çalkalama hızının AgNP sentezi üzerindeki etkisini incelemek, sentez verimliliğini ve nanopartiküllerin özelliklerini optimize etmek için önemlidir. 100 rpm' de elde edilen en yüksek

verim, çalkalama hızının nanopartikül sentezinde kritik bir parametre olduğunu ve optimal koşulların belirlenmesinde önemli bir rol oynadığını gösterir.

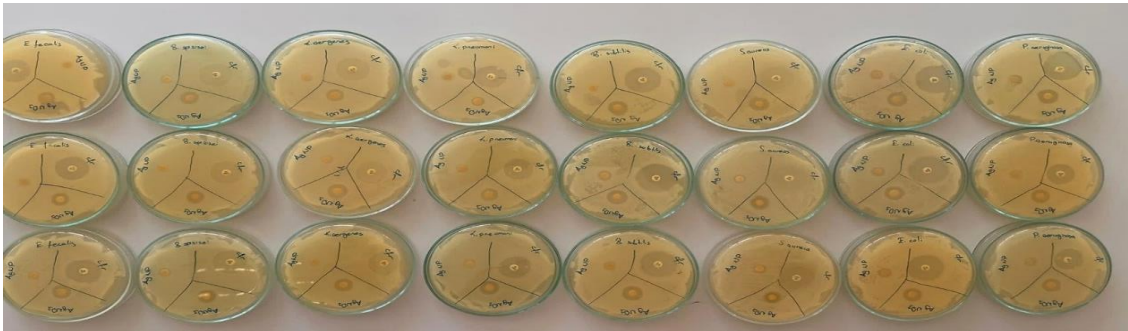
C. cladosporioides kullanılarak farklı koşulların denenmesi sonucu elde edilen verilere göre optimum koşullarda bol miktarda AgNP'leri üretilmiştir.



Şekil 4.12. Optimum koşullarda üretilen AgNP ve santrifüj sonrası görüntüsü.

4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması

AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi, nanoteknolojinin biyomedikal ve sağlık uygulamalarındaki potansiyelini ortaya koymak açısından önemli bir araştırma alanıdır. Bu çalışmada disk difüzyon testi kullanılarak optimum koşullarda elde edilen AgNP'lerin hem Gram (+) hem de Gram (-) bakteri türleri ile bir de maya türü üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, özellikle *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* dışındaki diğer mikroorganizmalarda AgNP'lerin güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir.



Sekil 4.13. AgNP'lerin antimikrobiyal test görüntüsü.

Çalışmada *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *B. spizizenii*, *K. aerogenes*, *K. Pneumoniae* kullanılmıştır. Yapılan deney sonucunda test edilen mikroorganizmaların inhibisyon zon çapları aşağıdaki tabloda görülmektedir.

Çizelge 4.1. AgNP’lerin neden olduğu inhibisyon zon çapları.

Mikroorganizma türü	Cfr (mm)	AgNO3 (mm)	AgNP (mm)
<i>E. faecalis</i>	7	3	2
	6	3	2
	6	3	2
<i>P. aeureginosa</i>	7	4	3
	6	3	2
	6	4	2
<i>B. spizizenii</i>	6	3	1
	6	3	1
	6	3	1
<i>K. aerogenes</i>	6	4	1
	6	4	1
	7	3	1
<i>K. pneumoniae</i>	6	4	2
	6	4	3
	6	4	3
<i>B. subtilis</i>	7	4	2
	9	4	3
	7	4	3
<i>S. aureus</i>	7	3	2
	7	3	2
	7	3	1
<i>E. coli</i>	7	3	2
	7	3	2
	7	3	2
<i>C.albicans</i>	-	2	-
	-	2	-
	-	2	-

Tablodaki değerler farklı antimikrobiyal ajanların (Cfr, AgNO₃, AgNP) çeşitli mikroorganizma türleri üzerindeki inhibisyon çapların (mm) değerlerini göstermektedir. AgNO₃’ün, *B. subtilis* ve bazı Gram-negatif türlerde (*K. aerogenes*, *K. pneumoniae*) antimikrobiyal etkisi diğer mikroorganizmalara kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. *C. albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkisi ise 2 mm’lik inhibisyon çapı ile daha zayıf olduğu tesbit edilmiştir. AgNP’nin antimikrobiyal etkisinin *B. spizizenii* ve *K. aerogenes* üzerinde daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki, *B. subtilis* ve *K. pneumoniae* türlerinde

gözlemlenmiştir. Cfr antibiyotiği ve AgNP'nin *Candida albicans*'da etkisinin olmadığı saptanmıştır.

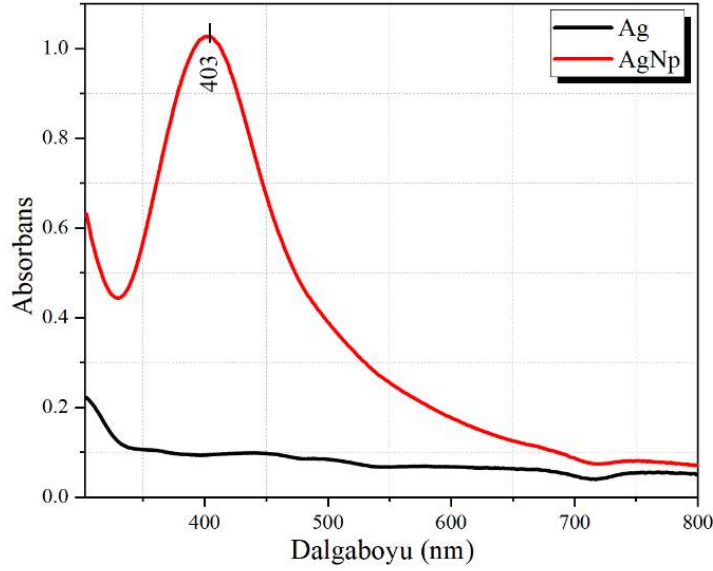
AgNP'lerin özellikle Gram (+) bakteriler üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Gram (+) bakterilerin hücre duvarı yapısı, AgNP'lerin içeri girmesini kolaylaştırabilir ve antimikrobiyal aktivitenin artmasına katkıda bulunabilir. Gram (-) bakterilerin dış membran yapısı, AgNP'lerin içeri girişini sınırlayabilir ancak yine de AgNP'lerin bazı Gram (-) türler üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Bu etki, AgNP'lerin bakteriyel membranı bozarak veya oksidatif stres oluşturarak çalışabileceğini gösterebilir. AgNP'lerin *Candida albicans* gibi maya türleri üzerinde de güçlü bir antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu etki, AgNP'lerin maya hücrelerine giriş yaparak veya hücre membranını etkileyerek gerçekleşebilir. Maya'ların hücresel yapıları, AgNP'lerin etkili olmasında önemli bir faktördür.

Literatür çalışmalarına bakıldığında; Hanan M. Abd-Elnaby vd. biyolojik olarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin çeşitli mikroorganizmalar üzerinde test etmiş ve bu nanopartiküllerin, test edilen mikroorganizma türlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, AgNP'lerin geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahip olabileceğini göstermiştir (Abd-Elnaby vd. 2016). Bir diğer çalışmada, AgNP'lerin farklı konsantrasyonlarının antibakteriyal aktiviteleri *Bacillus*, *Enterococci*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* ve *E. coli* üzerinde incelenmiş ve en yüksek antibakteriyel aktivitenin *Klebsiella pneumoniae* üzerine olduğu rapor edilmiştir (Rajkuberan vd. 2015). Bu sonuçlar, AgNP'lerin farklı yapısal türlere sahip antimikrobiyal etkilerinin organizma türüne ve nanopartiküllerin yayılma noktasına bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini vurgulamaktadır. Mohammadian vd. (2007) çalışmasında, biyolojik sentez yöntemlerinin gümüş nanopartikül üretme potansiyelini ve bu nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliklerini ortaya koymaktadır. Çalışmada *Fusarium oxysporum*, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Listeria monocytogenes*'i kullanarak biyolojik olarak sentezlenen nanopartiküllerin çevre dostu üretim teknikleriyle antimikrobiyal ajanların elde edilmesinde kullanılabileceğini vurgulamaktadır. Özellikle nanopartiküllerin boyutlarının 5-60 nm aralığında olması, daha büyük bir yüzey alanına sahip olduğunu göstermiştir (Mohammadian vd. 2007).

4.3. AgNP'lerin Karakterizasyonu

AgNP'lerin biyosentezi sırasında UV-vis spektrofotometre kullanılarak belirlenen absorpsiyon spektrumları, nanoteknoloji ve malzeme bilimi alanlarında önemli bir karakterizasyon yöntemidir. Bu tür spektrumlar, AgNP'lerin sentezlenmesi ve karakterizasyonunda kritik bir rol

oynamaktadır. AgNP'lerin biyosentezi sırasında gözlenen absorpsiyon piki, gümüş nanopartiküllerin oluşumunun makroskobik belirtisidir. Biz de çalışmamızda AgNP' nin UV-Vis spektrumunu 403 nm olarak saptadık.

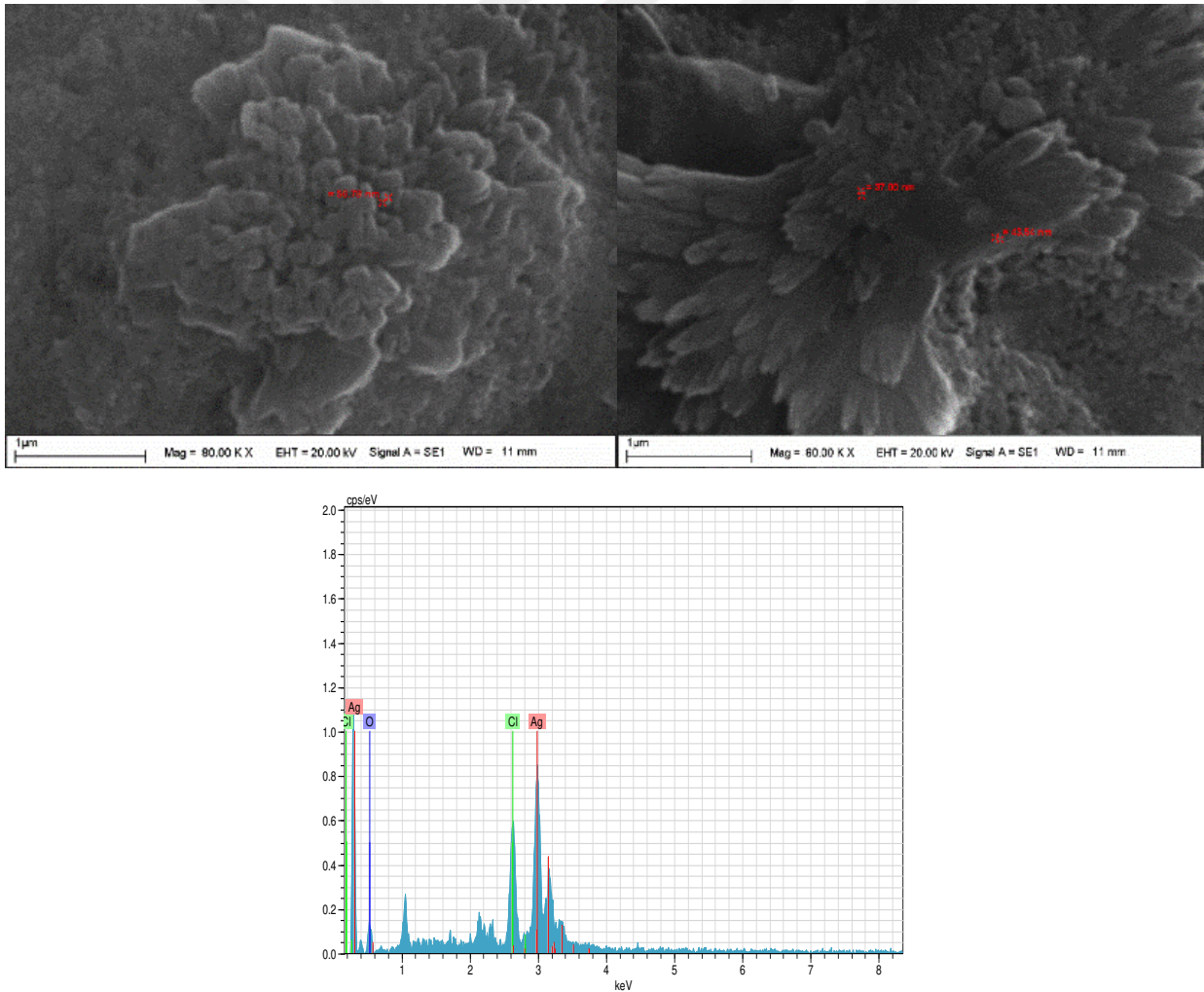


Şekil 4.14. Gümüş Nanopartiküllerinin UV-vis spektrumu.

UV-vis spektrofotometredeki renk değişimi ile yapılan okumalarda 400-450 nm dalga boyunda maksimum absorbans değerleri de AgNP'lerin varlığını gösteren karakteristik bir bulgudur. Khandelwal vd. (2010) Meksika haşhaşı (*Argemone mexicana*) bitkisinin yaprak özünün, gümüş nanopartiküllerinin biyosentezinde kullanılmasının ilk kez gerçekleştirildiğini belirterek çalışmada, biyosentez yoluyla elde edilen AgNP'lerin çeşitli karakterizasyon teknikleri (UV-vis absorpsiyon spektroskopisi, FTIR, XRD ve taramalı elektron mikroskobu) kullanılarak incelendiğini ve elde edilen nanopartiküllerin yaklaşık 30 nm'de olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite gösterdiği, yani hastalıklara ve mantarlara karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, biyolojik olarak sürdürülebilir nanopartikül üretimi için potansiyel bir kaynak olduğunu vurgulamaktadır (Khandelwal vd. 2010).

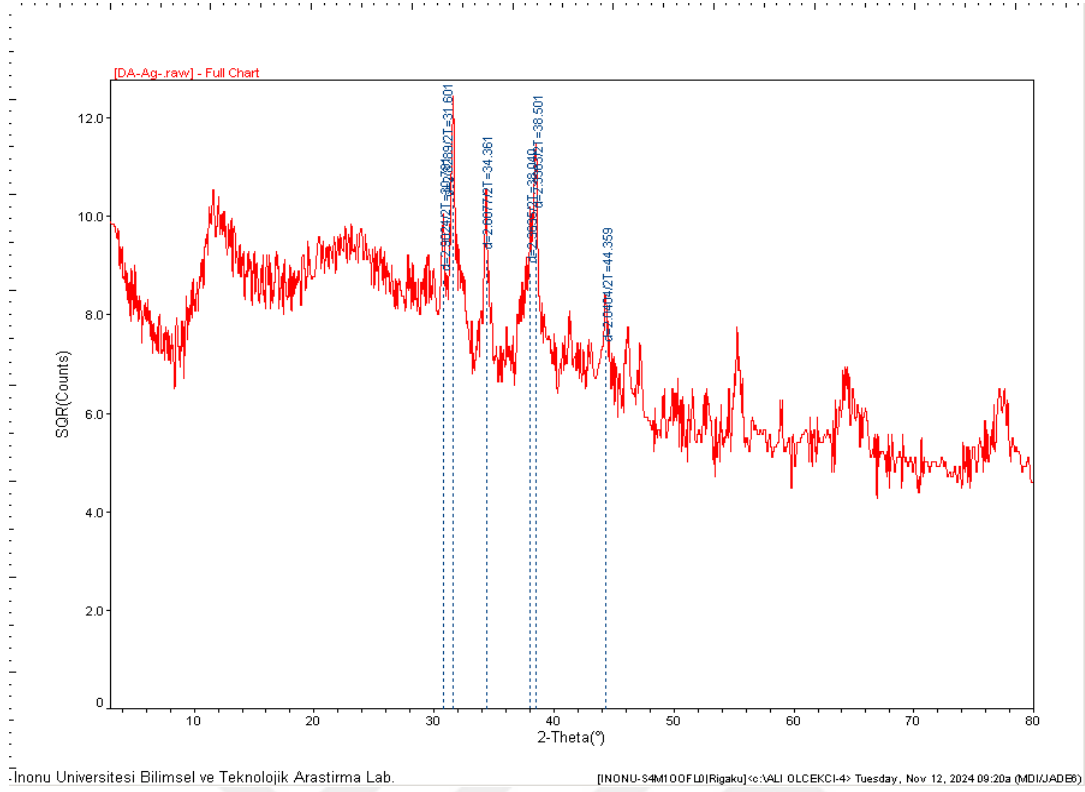
Birçok araştırmacı, AgNP'lerin 410-450 nm dalga boyunda yüzey plazmon rezonansı sergileyen küresel nanopartiküller oluşturduğunu rapor etmiştir (Rivallan vd. 2010; Rajkuberan vd., 2015; Zaheer ve Rafiuddin, 2010).

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerinin yüzeysel morfoloji görüntülerinin SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve EDX (Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi) analizleri, nanoteknoloji ve malzeme bilimi araştırmalarında önemli bir adımdır. Yapılan birçok çalışmada, biyolojik yolla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin küresel formda ve 50 nm'den büyük boyutlarda olduğu gösterilmiştir. Literatürdeki SEM analizleri incelendiğinde, biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin 10-100 nm aralığında ve çeşitli şekillerde olduğu rapor edilmiştir (Abd-Elnaby vd. 2016; Javaid vd. 2018; Chanthini vd. 2015). Bu analizler, nanopartiküllerin yapısal özelliklerini belirlemek, şekil ve boyutlarını görsel olarak gözlemlemek ve kimyasal bileşimlerini tespit etmek için kullanılır. SEM, yüksek çözünürlüklü görüntüler sağlayarak gümüş nanopartiküllerinin yüzey morfolojisini incelemeye önemli bir araçtır. EDX, SEM ile entegre olarak kullanılarak gümüş nanopartiküllerinin kimyasal bileşimini belirlemek için kullanılır.



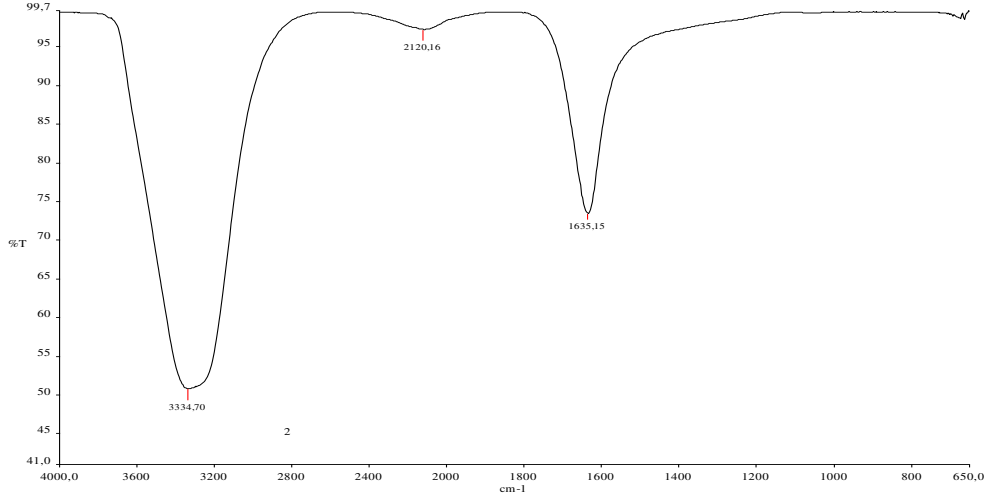
Şekil 4.15. AgNP'lerin SEM/EDX sonuçları.

SEM-EDX verileri incelendiğinde AgNP'lerin küre şeklinde olduğu ve ortalama boyutunun yaklaşık 35-60 nm olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.16). EDX verilerinde element kompozisyonları gümüşe ait güçlü piklerin oluşu ile AgNP'lerin varlığını destekleyici nitelik taşımaktadır. EDX verilerinde karbon ve oksijen gibi elementlerden gelen zayıf pikler fungal yapılardan kaynaklanıyor olabilir. Enerji yayımlı X-ışın analizi (EDX) kullanılarak gümüş nanopartiküllerinin değerlerinin doğrulayan verilerini açıklamaktadır. EDX analizinde, AgNP'lerin karakterizasyonunda güçlü gümüş piki olduğu belirtilmektedir. Bu, gümüş nanopartiküllerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve mevcut olduğunu desteklemektedir. AgNP'lerin fiziksel yapısının doğrulayan bu bulguları, AgNP'lerin sentez sürecinin doğru bir şekilde oluştuğunu ve incelendiğini göstermektedir. Aynı zamanda, EDX verilerindeki daha zayıf pikler ise biyolojik yapılarının temel bileşenleşeni olan karbon ve oksijene ait piklerdir. Dolayısıyla, AgNP biyosentezinde kullanılan bitkisel özüt veya fungal yapılardaki oksijen ve karbona ait pikler, elde edilen AgNP'lerin yüzey özellikleri ve biyolojik ortamlarla etkileşimlerini destekleyen önemli bir bulgudur. XRD analizi, nanopartiküllerin kristal yapılarını belirlemek için kullanılan temel ve yaygın bir yöntemdir. X-ışınlarının kristal yapılarla etkileşimi ile farklı kırınım desenleri oluşmaktadır. Bu desenler, nanopartiküllerin kristalin oluşumunu, faz oluşumunu, mikroyapısını ve kristalin büyüklüğünü saptamak için kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin büyüklüğü, şekli ve düzenliliği hakkında bilgi sağlar. Yaptığımız çalışmada XRD sonuçları ile kristal yapıda AgNP'lerin oluştuğunu tesbit ettik. XRD haritasında 2θ düzleminde AgNP'lerin kristal yapısına ait 30.781° , 31.601° , 34.361° , 38.040° , 38.501° ve 44.359° 'de pikler gözlenmiştir.



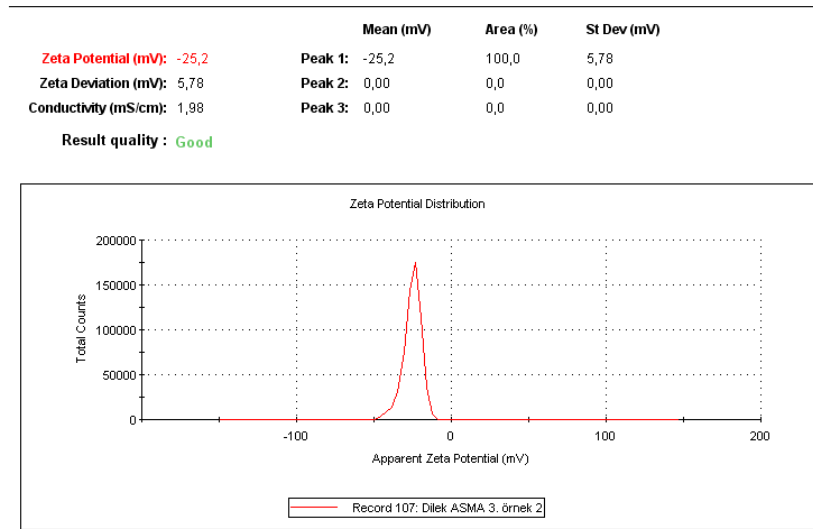
Şekil 4.16. AgNP'lerin XRD spektrumu.

Nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak rol oynayan biyolojik fonksiyonel grupların varlığı FT-IR analizi ile belirlenmektedir. Bu amaçla Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, fungal misellerinde var olan biyoaktif bileşenlerle gümüş iyonlarının etkileşimlerini tespit amacıyla kullanılmıştır. Çalışmamızda yapılan incelemelerde indirgemeye katılan belirgin piklerin -OH, C=O ve C=C bağlarına ait olduğu görülmektedir. Ayrıca AgNP'lerin sentezinde, 3334.70, 2120.16 ve 1635.15 cm^{-1} spektrumlarında oluşan frekans kaymaları ile OH, -CN ve C=O gruplarının indirgemedede rol aldığı tespit edilmiştir. Literatürde de AgNP'lerin biyosentezinde indirgemededen sorumlu grupların 3200-3426 cm^{-1} spektrumlarının -OH, gruplarını karakterize ettiği, 2127 cm^{-1} pikinin -CN, 1562, 1631 ve 1635 cm^{-1} piklerinin ise C=O ve C=C gerilmelerine ait olduğu bildirilmiştir.



Şekil 4.17. AgNP’lerin FTIR spektrumu.

AgNP’lerin yüzey yüklerine ait dağılımlarını belirlemek üzere yapılan AgNP’nin yüzey özelliklerini değerlendiren ve parçaların kararlılığını önemli bir analiz yöntemine işaret etmektedir. Zeta potansiyelinin büyüklüğü ve işareti, yüklerin bir arada kalma durumunu veya dağılma özelliklerini belirler. Yüksek zeta potansiyeli, NP’lerin bir araya gelerek kümelenmesini önlemektedir. Bu sayede NP’lerin kararlılığı artmaktadır. Nanopartiküllerin daha kararlı olması ve topaklanmanın olmaması, nanopartiküllerin çözeltide uzun süre kararlı kalmasını sağlamaktadır. AgNP’ler için Zeta potansiyel analizi, hastalıkların biyolojik olarak incelenmesi veya endüstriyel uygulamalarda etkin bir şekilde kullanılabilirliğinin belirlenmesi için kritik bir parametredir. Zeta potansiyeli analizi sonucu – 25,2 mV olarak bulunmuştur.



Şekil 4.18. AgNP’lerin yüzey yük dağılımı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoteknoloji, boyutları nanometre ölçeğinde (1 nanometre = 1 milyar metrenin bir kısmı) olan materyaller ve yapılar üzerinde çalışmayı içeren bir bilim dalıdır. Bu alan, günümüzde fizik, kimya, biyoloji, ilaç, çevre, bilgisayar, uzay ve elektronik gibi birçok endüstriyel ve bilimsel alanda önemli uygulamalar bulmuştur. Nanoteknolojinin bu kadar geniş bir uygulama alanına sahip olmasının nedeni, malzemelerin nano ölçekte farklı ve benzersiz özellikler sergileyebilmesidir. Bu özellikler, çeşitli alanlarda yenilikçi çözümler ve gelişmiş teknolojiler geliştirmeyi mümkün kılar.

Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler, belirli uygulamalar ve istenen nanopartikül özelliklerine göre seçilmelidir. Fiziksel yöntemler, yüksek saflık ve kontrollü boyut avantajı sunarken, yüksek maliyet ve enerji tüketimi gibi dezavantajlara sahiptir. Kimyasal yöntemler, geniş ölçekte üretim ve hassas kontrol imkânı sağlarken, toksik kimyasalların kullanımı çevresel ve sağlık riskleri oluşturur. Biyolojik yöntemler, çevre dostu ve biyoyumlu olmaları nedeniyle sürdürülebilir bir seçenek sunmaktadır. Yeşil sentez yöntemleri, nanopartiküllerin üretiminde bitkiler, bakteriler, mantarlar ve algler gibi çeşitli biyolojik kaynakları kullanır. Bu biyolojik kaynaklar, nanopartiküllerin sentezi sırasında çevreye zararlı kimyasalların kullanımını minimize eder ve daha biyoyumlu ürünler elde edilmesini sağlar. Funguslar, çeşitli zorlu çevre koşullarında yaşayabilen, ökaryotik organizmalar olup, genellikle çürükçül olarak organik bileşikleri parçalayarak hayatlarını sürdürürler. Nanopartiküllerin yeşil biyosentezinde fungusların kullanımı, literatürde geniş bir şekilde ele alınmış ve çeşitli avantajları nedeniyle diğer biyolojik kaynaklara göre üstün bir seçenek olarak değerlendirilmiştir.

Nanopartiküller, nanoteknoloji alanında son yıllarda büyük ilgi gören ve çeşitli uygulama alanlarında devrim yaratan önemli bileşenlerdir. Literatürde nanopartikülleri sentezlemek için birçok yöntem geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemler arasında çevre dostu ve sürdürülebilir özellikleriyle dikkat çeken yeşil sentez veya biyosentez yöntemleri, özellikle akademik araştırmalarda önemli bir konuma sahiptir. Yapılan çalışmada yeşil sentez yöntemi ile *Cladosporium cladosporioides* ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikülleri sentezlenmiştir. Elde edilen sonuçların çalışma başlamadan önce hedeflenen amaca ve literatürde kabul gören değerlere ulaşıldığını göstermesi, akademik açıdan olumlu bir durumu ifade etmektedir. Gümüş nanopartiküllerinin oluşumunun kısa sürede tamamlandığı sentez sırasındaki renk dönüşümü ile de gözlemlenmiştir. Fungus ekstraktı kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi, çevre dostu ve sürdürülebilir bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Reaksiyon ortamının renginin sarıdan kahverengiye dönüşmesi, gümüş nanopartiküllerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini

göstermektedir. Reaksiyon ortamının renginin değişimi, aynı zamanda nanopartiküllerin büyüklüğü ve morfolojisi hakkında bilgi sağlar. Daha küçük nanopartiküller sarı renkte görünürken, daha büyük ve olgunlaşmış nanopartiküller kahverengi tonlarına dönüşebilir. Bu renk değişimi, sentez sürecinin ilerleyişini ve nanopartiküllerin boyut dağılımını izlemek için bir gösterge olarak kullanılabilir. Elde edilen nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları sonucunda kristal yapıları, şekilleri, boyutları ve element içerikleri gibi özellikler ayrıntılı bir şekilde (XRD, SEM ve EDX, FTIR ve Zeta Potansiyelleri) de ortaya konmuştur. Bu karakterizasyon çalışmaları, sentezlenen nanopartiküllerin metalik özelliklere sahip olduğunu doğrulamıştır.

Gümüş, binlerce yıldır bilinen ve kullanılan değerli bir metaldir. Özellikle 19. yüzyıldan bu yana gümüş bazlı bileşikler, antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıbbi uygulamalarda geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Günümüzde, gümüş nanopartiküller, fiziksel, biyolojik ve farmasötik alanlarda çok çeşitli uygulamalara sahip olması nedeniyle bilimsel araştırmalarda büyük ilgi görmektedir.

Elde edilen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri de detaylı bir şekilde incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçları, disk difüzyon testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla *C. cladosporioides* aracılığıyla sentezlenen AgNP'leri kullanılmıştır. İnkübasyon sonrası disk etrafında oluşan inhibisyon zon çapı değerlerine bakılarak bu nanopartiküllere karşı test edilen mikroorganizmaların duyarlılık ya da direnç durumu belirlenmiştir. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon bölgesi o kadar geniş olacaktır. Antimikrobiyal aktivite testlerinin sonuçları, nanopartiküllerin çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili bir biyolojik ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bu bilgiler, nanopartiküllerin potansiyel tıbbi ve endüstriyel uygulamalarında kullanılabilirliğini artırmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma, kullanılan yöntemle nanopartikül üretiminin mümkün olduğunu ve üretilen nanopartiküllerin çeşitli uygulama alanlarında değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu hem akademik hem de endüstriyel araştırmalar için yeni ufuklar açmakta ve daha fazla araştırma gerekliliğini vurgulamaktadır. Aynı zamanda yapılan çalışmanın sonuçları, kullanılan yöntemin nanopartikül sentezi için etkili olduğunu göstermektedir. Bu yöntemle üretilen nanopartiküllerin karakterizasyonu, yöntemin tekrarlanabilir ve güvenilir olduğunu kanıtlamaktadır.

KAYNAKÇA

- Abd-Elnaby H. M., G. M. Abo-Elala, U. M. Abdel-Raouf, and M. M. Hamed,** “Antibacterial and anticancer activity of extracellular synthesized silver nanoparticles from marine *Streptomyces rochei* MHM13,” Egypt. J. Aquat. Res., vol. 42, no. 3, pp. 301–312, 2016.
- Abou El-Nour K. M. M., A. Eftaiha, A. Al-Warthan, and R. A. A. Ammar,** “Synthesis and applications of silver nanoparticles,” Arab. J. Chem., vol. 3, no. 3, pp. 135–140, 2010.
- Agarwal H, Venkat Kumar S, Rajeshkumar S.** A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles- An eco-friendly approach. Resource-Efficient Technologies. 2017;3(4):406-13.
- Akhtar, M. S., Panwar, J., Yun, Y.-S., 2013.** Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 1(6), 591-602.
- Amulyavichus A, Daugvila A, Davidonis R, Sipavichus C.** Study of chemical composition of nanostructural materials prepared by laser cutting of metals. Fizika Met. Met. 1998; 85: 111–117
- Baker S. and S. Satish,** “Extracellular synthesis of silver nanoparticles by novel *Pseudomonas veronii* AS41G inhabiting *Annona squamosa* L. and their bactericidal activity,” *Spectrochim. Acta Part a Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 150, pp. 691–695, 2015.
- Beykaya, Ç. ve Çağlar A. (2016).** Bitkisel Özütlere Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3, 631 – 641.
- Bhushan, B. (Ed.). 2012.** Encyclopedia of nanotechnology, Springer, No: 544.1 ENC. Dordrecht, Netherlands.
- Bridges, K., Kidson, A., Lowbury, E.J.L., Wilkins, M.D., 1979.** Gentamicin- and silverresistant *Pseudomonas* in a burns unit. British Medical Journal, 1, 446– 449
- Brody A.L. 1990.** Active Packaging, Food Engineering, 62(4); 87-92.
- Castro, L., Blázquez, M. L., Muñoz, J. A., González, F., García-Balboa, C., Ballester, A., 2011.** Biosynthesis of gold nanowires using sugar beet pulp. Process Biochemistry, 46(5), 1076-1082.
- Chanthini A. B.(2015).** “Structural characterization, antioxidant and in vitro cytotoxic properties of seagrass, *Cymodocea serrulata* (R.Br.) Asch. & Magnus mediated silver nanoparticles,” J. Photochem. Photobiol. B Biol., vol. 153, pp. 145–152, 2015.

- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B. Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., Watkins, R. 2008.** Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Additives & Contaminants*, 25(3); 241-258
- Drexler, K.E., 1981.** Engines of Creation 2.0. Wow10 Llc, 1-649.
- Durán, N., Marcato, P. D., Alves, O. L., De Souza, G. I., Esposito, E., 2005.** Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of nanobiotechnology*, 3(1), 8.
- Fariq A., T. Khan, and A. Yasmin,** “Microbial synthesis of nanoparticles and their potential applications in biomedicine,” *J. Appl. Biomed.*, vol. 15, no. 4, pp. 241– 248, 2017.
- Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO.** A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Biomed. Mater. Res.* 2008; 52: 662–668
- Gaffet E, Tachikart M, El KO, Rahouadj R.** Nanostructural materials formation by mechanical alloying: morphologic analysis based on transmission and scanning electron microscopic observations. *Mater. Charact.* 1996; 36: 185- 190
- Haefeli, C., Franklin, C., Hardy, K., 1984.** Plasmid-determined silver resistance in *Pseudomonas stutzeri* isolated from a silver mine. *Journal of Bacteriology*, 158 (1), 389–392.
- Hatchett DW, Henry S.** Electrochemistry of sulfur adlayers on low-index faces of silver. *J. Phys. Chem.* 1996; 100: 9854–9859
- Husen, A., Siddiqi, K. S., 2014.** Plants and microbes assisted selenium nanoparticles: characterization and application. *Journal of nanobiotechnology*, 12(1), 28.
- Iravani, S., 2011.** Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650
- Javaid A., S. F. Oloketuyi, M. M. Khan, and F. Khan,** “Diversity of Bacterial Synthesis of Silver Nanoparticles,” *Bionanoscience*, vol. 8, no. 1, pp. 43–59, 2018.
- Jeevanandam J., Y. S. Chan, and M. K. Danquah,** “Biosynthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles,” *ChemBioEng Rev.*, vol. 3, no. 2, pp. 55–67, 2016.
- Jena, J., Pradhan, N., Dash, B. P., Sukla, L. B., Panda, P. K., 2013.** Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using microalga *Chlorococcum humicola* and its antibacterial activity. *Int J Nanomater Biostruct*, 3(1),
- Jiang H, Moon K, Zhang Z, Pothukuchi S, Wong CP.** Variable frequency microwave synthesis of silver nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* 2006; 8: 117– 124
- Jogaiah, S., Kurjogi, M., Abdelrahman, M., Hanumanthappa, N., Tran, L.S.P. (2018).** *Ganoderma applanatum*-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Structural characterization, and in vitro and in vivo biomedical and agrochemical properties. *Arab. J. Chem.* <https://doi.org/10.1016/j. Arabjc.2017.12.002>.

Kalishwaralal K, Deepak V, Ramkumarpandian S, Nellaiah H, Sangiliyandi G.

Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture supernatant of *Bacillus licheniformis*. *Mater. Lett.* 2008; 62: 4411–4413

Khandelwal, N. Singh, A., Jain, D., Upadhyay, M.K., Verma, H.N. 2010. Green synthesis of silver nanoparticles using *Argemone maxicana* leaf extract and evaluation of their activity, *Digestive Journal of Nanomaterial Biostruction*, 5: 483–489.

Kitching, M., Ramani, M., Marsili, E., 2015. Fungal biosynthesis of gold nanoparticles mechanism and scale up. *Microbial biotechnology*, 8(6), 904-917.

Kora A., S. Beedu, and A. Jayaraman, “Size-controlled green synthesis of silver nanoparticles mediated by gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) and its biological activity,” *Org. Med. Chem. Lett.*, vol. 2, no. 1, p. 17, 2012.

Lara H. H., L. Ixtepan-Turrent, E. N. Garza-Treviño, and C. Rodriguez-Padilla, “PVP-coated silver nanoparticles block the transmission of cell-free and cell-associated HIV-1 in human cervical culture,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 8, pp. 1–11, 2010.

Li X., H. Xu, Z.-S. Chen, and G. Chen, “Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications,” *J. Nanomater.*, vol. 2011, pp. 1–16, 2011.

Lovley, D.R., Stolz, J.F., Nord G.L., Philips, E.J.P., 1987. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*, 330, 252- 254.

M. Rivallan, S. Thomas, M. Lepage, N. Takagi, H. Hirata, and F. Thibault-Starzyk, “Evolution of Platinum Particles Dispersed on Zeolite upon Oxidation Catalysis and Ageing,” *ChemCatChem*, vol. 2, no. 12, pp. 1599–1605, 2010.

Marambio-Jones C. and E. M. V. Hoek, “A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 12, no. 5, pp. 1531–1551, 2010.

Marshall, A. T., Haverkamp, R. G., Davies, C. E., Parsons, J. G., Gardea-Torresdey, J. L., van Agterveld, D., 2007. Accumulation of gold nanoparticles in *Brassic juncea*. *International journal of phytoremediation*, 9(3), 197-206.

Matsumura Y, Yoshikata K, Kunisaki S, Tsuchido T. Mode of bacterial action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 4278–4281

Merin, D. D., Prakash, S., Bhimba, B. V., 2010. Antibacterial screening of silver nanoparticles synthesized by marine micro algae. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 797-799.

Mittal, A. K., Chisti, Y., Banerjee, U. C., 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.

- Mohammadian, A., Shojaosadati, S. A. & Rezaee, M. H. (2007).** Fusarium oxysporum mediates photogeneration of silver nanoparticles, *Scientia Iranica*, 14 (4), 323-326.
- Narayanan K. B. and N. Sakthivel,** “Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes.,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 156, no. 1–2, pp. 1–13, 2010.
- Owaid, M.N., Al-Saeedi, S.S.S., Abed, I.A. (2017b).** Study on UV-visible for detection of biosynthesis of silver nanoparticles by oyster mushroom’s extracts. *J. Water Environ. Nanotechnol.* 2, 66-70.
- Parashar UK, Saxena SP, Srivastava A.** Bioinspired synthesis of silver nanoparticles. *Dig. J. Nanomat. Biostruct.* 2009; 4: 159–166
- Parveen K, Banse V, Ledwani L.** Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. *AIP Conf Proc.* 2016;1724(1):020048.
- Paul, D.R. and Robeson, L.M. 2008.** Polymer nanotechnology: nanocomposites. *Polymer*, 49(15); 3187-3204.
- Quester, K., Avalos-Borja, M., Castro-Longoria, E., 2013.** Biosynthesis and microscopic study of metallic nanoparticles. *Micron*, 54-55 (2013), 1-27.
- Rajkuberan C., K. Sudha, G. Sathishkumar, and S. Sivaramakrishnan,** “Antibacterial and cytotoxic potential of silver nanoparticles synthesized using latex of *Calotropis gigantea* L.,” *Spectrochim. Acta- Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 136, no. PB, pp. 924–930, 2015.
- Ramsden, J., 2009.** *Essential of Nanotechnology.* Jeremy Ramsden & Ventus Publishing ApS, 1-126.
- S. Shrivastava, T. Bera, S. K. Singh, G. Singh, P. Ramachandrarao, and D. Dash,** “Characterization of antiplatelet properties of silver nanoparticles,” *ACS Nano*, vol. 3, no. 6, pp. 1357–1364, 2009.
- Salkar RA, Jeevanandam P, Aruna ST, Koltypin Y, Gedanken A.** The sonochemical preparation of amorphous silver nanoparticles. *J. Mater. Chem.* 1999; 9: 1333–1335
- Sanghi, R., Verma, P. (2009).** Biomimetic synthesis and characterisation of protein capped silver nanoparticles. *Bioresour. Technol.* 100, 501-504.
- Santhoskumar J, Venkat Kumar S, Rajeshkumar S.** Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies.* 2017;3(4):459-65.

- Sarkar, J., Roy, S.K., Laskar, A., Chattopadhyay, D., Acharya, K. (2013).** Bioreduction of chloroaurate ions to gold nanoparticles by culture filtrate of *Pleurotus sapidus* Quel. Mater. Lett. 92, 313-316.
- Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M. I., Kumar, R., 2003.** Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. Current science, 85(2), 162-170.
- Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D.** Characterisation of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnology. 2007; 18: 1–9
- Siddiqi, K. S., Husen, A., 2016.** Fabrication of metal nanoparticles from fungi and metal salts: scope and application. Nanoscale research letters, 11(1), 98.
- Siegrist, M., Stampfli, N., Kastenholz, H. and Keller, C. 2008.** Perceived risks and perceived benefits of different nanotechnology foods and nanotechnology food packaging. Appetite, 51(2); 283-290.
- Singh P., Y. J. Kim, D. Zhang, and D. C. Yang,** “Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms,” Trends Biotechnol., vol. 34, no. 7, pp. 588–599, 2016. Environ. Chem., vol. 96, no. 5, pp. 743– 754, 2014.
- Slawson RM, Trevors JT, Lee H.** Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri*. Arch. Microbiol. 1992; 158: 398–404
- Sondi I. and B. Salopek-Sondi,** “Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria,” J. Colloid Interface Sci., vol. 275, no. 1, pp. 177–182, 2004.
- Spring, S. and Schleifer, K.H., 1995.** Diversity of magnetotactic bacteria. Systematic and Applied Microbiology, 18, 147–153.
- Srilatha, B. 2011.** Nanotechnology in agriculture. Journal of Nanomedicine and Nanotechnology, 2(7).
- Sukumaran P, Eldho KP.** Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. Int. Nano. Lett. 2012; 2: 32
- Taherzadeh, M. J., Fox, M., Hjorth, H., Edebo, L., 2003.** Production of mycelium biomass and ethanol from paper pulp sulfite liquor by *Rhizopus oryzae*. Bioresource technology, 88(3), 167-177.
- TÜBİTAK, 2004.** Nanoteknoloji Strateji Grubu, Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri Vizyon 2023 Projesi, Ankara, Türkiye, 26 s.
- Yu AK, Kudrinskiy A, Yu O, Lisichkin V.** Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects, Russ. Chem. Rev. 2008; 77(3): 233- 257
- Yuvakkumar R, Suresh J, Nathanael AJ, Sundrarajan M, Hong SI.** Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

peel extract and its antibacterial applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014; 41:17-27.

Zaheer Z. and Rafiuddin, “Silver nanoparticles to self-assembled films: Green synthesis and characterization,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 90, no. 1, pp. 48–52, 2012.

Zhao, GJ, Stevens, SE. Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion. *Biometals* 11.1998; 27–32



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Hacer ALTIN

Lisans: 2012, Malatya İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Malatya İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (devam etmekte)

Çalıştığı Kurum: Millî Eğitim Bakanlığı'nda Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır.

