

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI Ag TAŞIYICILI – CMC/MA/ODA-
MMT’NİN AGNP ÜRETİMİNİ AKTİVE EDEN KOMPAKT SİSTEM
TASARIMI VE ÜRETİLEN NANOKOMPOZİTİN
ANTİMİKROBİYAL ANALİZİ**

HAZIRLAYAN

HELİN ÇIKMAZ KOCA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA-2021

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI Ag TAŞIYICILI – CMC/MA/ODA-
MMT’NİN AGNP ÜRETİMİNİ AKTİVE EDEN KOMPAKT SİSTEM
TASARIMI VE ÜRETİLEN NANOKOMPOZİTİN
ANTİMİKROBİYAL ANALİZİ**

HAZIRLAYAN

HELİN ÇIKMAZ KOCA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR. ULVİYE BUNYATOVA

ANKARA-2021

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Helin ÇIKMAZ KOCA tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08 / 01 /2021

Tez Adı: Görünür Işığa Duyarlı Ag Taşıyıcılığı – CMC/MA/ODA-MMT’nin AgNP Üretimini Aktive Eden Kompakt Sistem Tasarımı ve Üretilen Nanokompozitin Antimikrobiyal Analizi

Tez Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Mustafa DOĞAN, İstanbul Teknik Üniversitesi

.....

Prof. Dr. İ. Cengiz KOÇUM, Başkent Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Ulviye BUNYATOVA, Başkent Üniversitesi

.....

ONAY

Prof. Dr. Ömer Faruk ELALDI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tarih : ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 27 / 01 / 2021

Öğrencinin Adı, Soyadı : Helin ÇIKMAZ KOCA

Öğrencinin Numarası : 21710314

Anabilim Dalı : Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Programı : Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Doç. Dr. Ulviye BUNYATOVA

Tez Başlığı : Görünür Işığa Duyarlı Ag Taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT'nin AgNP

Üretimini Aktive Eden Kompakt Sistem Tasarımı ve Üretilen Nanokompozitin

Antimikrobiyal Analizi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 70 sayfalık kısmına ilişkin, 27 / 01 / 2021 tarihinde şahsım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinalite raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %9'dur. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinalite Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:.....

ONAY

Tarih: 27 / 01 / 2021

Öğrenci Danışmanı Unvan, Adı, Soyadı, İmza:

Doç. Dr. Ulviye BUNYATOVA

TEŞEKKÜR

Hayatımın her alanında desteğini esirgemeyen Sevgili babam Ahmet ÇIKMAZ, annem Hüsniye ÇIKMAZ, kız kardeşim Gülhan Hazal ÇIKMAZ'a,

Her pes ettiğimde beni tekrar ayağa kaldıran Sevgili eşim Ali Can KOCA'ya,

Yüksek lisans tezim için her türlü soruma yanıt veren Sayın danışmanlarım Doç. Dr. Ulviye BUNYATOVA ve Prof. Dr. İsmail Cengiz KOÇUM'a,

Sorularıma her zaman cevap veren ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Kübra ERKAN TÜRKMEN ve Dr. Hüseyin KURTULDU'ya,

İş hayatımda her daim eğitim konusunda beni destekleyen Sayın Nüve A.Ş. Genel Müdürü Beril İZGİN, Nüve A.Ş. Genel Müdür Yardımcımız Mizyal HERGÜL, Nüve A.Ş. Teknik Servis Müdürü A. Fatih YILDIRIM ve Nüve A.Ş. Teknik Servis Bölümü çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

ÖZET

Helin ÇIKMAZ KOCA

GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI Ag TAŞIYICILI – CMC/MA/ODA-MMT’NİN AGNP ÜRETİMİNİ AKTİVE EDEN KOMPAKT SİSTEM TASARIMI VE ÜRETİLEN NANOKOMPOZİTİN ANTİMİKROBİYAL ANALİZİ

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

2021

Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal olarak kullanılma çalışmaları son yıllarda giderek artmaktadır. Bu nedenle çeşitli gümüş (Ag) taşıyıcılı polimer yapıları oluşturulup, farklı yöntemler ile gümüş nanopartikül (AgNP) oluşumu teşvik edilmektedir.

Bu tezin amacı; üç farklı dalga boyundaki (mavi, yeşil, kırmızı renklerindeki) görünür ışığın Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT nanokompozitte nanopartikül oluşumuna etkisi, bu aktivasyon prosesinin incelenmesi ve takibi için düşük maliyetli bir sistem tasarlanmıştır. Literatürde üç farklı görünür dalga boyunda aktivasyon sağlayıp hem de aktivasyonun gerçekleştiğini verilerle gösterebilen bir sisteme rastlanamamıştır. Bu nedenle kompakt ve düşük bir maliyetli el yapımı bir sistem tasarlanmış, üç farklı dalga boyundaki (yeşil, mavi, kırmızı renklerindeki) görünür ışık ile Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT nanokompozit, nanopartikül oluşumu için aktive edilmiş ve bu aktivasyon PIN fotodiyotlar ile algılanarak aktivasyon süreleri gözlemlenmiştir. Tasarlanan sistemle AgNP’lerin oluşum süresi boyunca potansiyel farkı tespit edilirken aktivasyon prosesinin bitişiyile potansiyel farkın sabitlendiği gözlemlenmiştir. Nanokompozit aktivasyonundan sonra mavi, yeşil ve kırmızı LED’ler ile aktive edilen numunelerin potansiyel fark- zaman eğrileri analiz edilmiştir. Aktivasyon süresince tüm LED’lerden alınan potansiyel farkının zamana karşı eksponansiyal eğri ile azaldığı tespit edilmiş, aktivasyon prosesinin bitişiyile potansiyel farkın sabitlendiği gözlemlenmiştir. Nanokompozitin aktivasyondan sonra her bir dalga boyu ile aktive edilen numunenin TEM-SEM analizleri, antimikrobiyal testleri yapılarak numuneler nanopartikül boyutları, antimikrobiyal aktiviteleri bakımından kıyaslanmıştır.

Farklı dalga boylarıyla AgNP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin nanopartikül boyutlarında, LED'lerin enerji değerlerine göre kıyaslandığında; enerjisi yüksek olan LED'in AgNP boyutunun küçük olduğu tespit edilmiştir (AgNP boyut ortalamaları sırasıyla mavi LED ile aktive edilen numunenin 4-6 nm, yeşil LED ile aktive edilen numunenin 6-8 nm ve kırmızı LED ile aktive edilen numunenin 12-14 nm).

Dalga boyunun yani enerjinin aktivasyon süresine etkili olduğu tespit edilmiştir. Enerjisi en yüksek olan LED'in AgNP aktivasyon süresinin daha kısa olduğu ölçülmüştür (ortalama aktivasyon süreleri sırasıyla mavi LED ile aktive edilen numunenin 12 dakika, yeşil LED ile aktive edilen numunenin 18 dakika ve kırmızı LED ile aktive edilen numunenin ise 24 dakikadır).

Antimikrobiyal aktiviteyi gözlemek ve konsantrasyonun (2,5 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,01 mg/ml, 0,005 mg/ml, 0,001 mg/ml, 0 mg/ml) antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisini gözlemek için disk difüzyon testi yapılmıştır. Disk difüzyon testinin (Gram negatif *E.coli* 25922, *P.aeruginosa* 27853, Gram pozitif *E.faecalis* 29212 bakterileri ve maya olarak *Candida albicans* 10231) yapıldığı AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin antimikrobiyal aktivitesinde numunelerin nanopartikül boyutları yaklaşık olarak aynı olduğu için nanopartikül boyutunun (dalga boyunun) anlamlı bir farklılık yaratmadığı gözlemlenmiştir. AgNP/CMC/MA/ODA-MMT konsantrasyonu yüksek olan numunelerin antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma için antimikrobiyal aktivitede AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin konsantrasyonunun etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmanın sonuçlarına bakarak Covid-19 ile mücadele edilen bu dönemde çevreye zararsız ve kontrollü bir şekilde antimikrobiyal nanomalzeme üretmek için kullanımı kolay, kompakt ve düşük maliyetli bir antimikrobiyal sistem tasarlandığı söylenebilmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Gümüş nanopartikül, nanopartikül foto-aktivasyonu, antimikrobiyal aktivite.

Danışman: Doç. Dr. Ulviye BUNYATOVA

ABSTRACT

Helin ÇIKMAZ KOCA

A COMPACT SYSTEM DESIGN AND ANTIMICROBIAL ANALYSIS OF THE PRODUCED NANOCOMPOSITE WITH VISIBLE LIGHT SENSITIVE Ag CARRIER - CMC/MA/ODA-MMT ACTIVATING AGNP PRODUCTION

Başkent University Institute of Science and Technology

Department of Biomedical Engineering

2021

The use of silver nanoparticles as antimicrobials has been increasing in recent years. For this reason, various silver (Ag) carrier polymer structures are formed and silver nanoparticle (AgNP) formation is encouraged by different methods.

The aim of this thesis is; The effect of visible light in three different wavelengths (blue, green, red colors) on the nanoparticle formation in Ag-carrying CMC / MA / ODA-MMT nanocomposite, a low-cost system has been designed for the investigation and monitoring of this activation process. In the literature, no system has been found that can provide activation at 3 different visible wavelengths and show the activation occurred with data. For this reason, a compact and low cost handmade system was designed, activated with visible light in three different wavelengths (green, blue, red colors) for the formation of nanoparticles in Ag-carrying CMC / MA / ODA-MMT nanocomposite, and this activation was carried out with PIN photodiodes were detected and activation times were observed. With the designed system, it was observed that the potential difference was determined during the formation period of AgNPs, while the potential difference was set at the end of the activation process. The potential difference-time curves of the samples activated by blue, green and red LEDs after the nanocomposite activation were analyzed. It was determined that the potential difference taken from all LEDs during activation decreased with the exponential curve against time, and it was observed that the potential difference was set at the end of the activation process. After the activation of the nanocomposite, TEM-SEM analyzes and antimicrobial tests of the samples activated by each wavelength were performed and the samples were compared in terms of nanoparticle sizes and antimicrobial activities.

When nanoparticle sizes of AgNP / CMC / MA / ODA-MMT with different wavelengths are activated compared to the energy values of LEDs; It has been determined that the AgNP size of the LED with high energy is small (the average nanoparticle size is 4-6 nm for the sample activated by the blue LED, 6-8 nm for the sample activated by the green LED and 12-14 nm for the sample activated by a red LED).

It has been determined that the wavelength, i.e. the energy, is effective on the activation time. It was measured that the AgNP activation time of the LED with the highest energy was shorter (average activation times were 12 minutes for the sample activated by the blue LED, 18 minutes for the sample activated by the green LED, and 24 minutes for the sample activated with a red LED, respectively).

To observe antimicrobial activity and concentration (2,5 mg / ml, 0,5 mg / ml, 0,1 mg / ml, 0,05 mg / ml, 0,01 mg / ml, 0,005 mg / ml, 0,001 mg / ml) A disk diffusion test was performed to observe the effect on antimicrobial activity (0 mg / ml). In the antimicrobial activity of AgNP / CMC / MA / ODA-MMT where the disk diffusion test (Gram negative *E.coli* 25922, *P.aeruginosa* 27853, Gram positive *E.faecalis* 29212 bacteria and *Candida albicans* 10231 as fungi) was performed, the nanoparticle sizes of the samples were approximately the same. It has been observed that nanoparticle size (wavelength) does not make a significant difference. It was observed that samples with high AgNP / CMC / MA / ODA-MMT concentrations had high antimicrobial activity. For this study, it was observed that the concentration of AgNP / CMC / MA / ODA-MMT was effective in antimicrobial activity.

Based on the results of the study, it can be said that an easy to use, compact and low cost antimicrobial system was designed to produce antimicrobial nanomaterials in a controlled stage and harmless to the environment in this period, which was struggling with Covid-19.

KEYWORDS: Silver nanoparticle, nanoparticle photo-activation, antimicrobial activity.

Supervisor: Assoc. Dr. Ulviye BUNYATOVA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gümüş	3
2.2. Nanoteknoloji.....	3
2.3. Nanopartiküller	4
2.4. Gümüş Nanopartiküller.....	5
2.5. AgNP Üretim Yöntemleri	7
2.5.1. Kimyasal yöntemler	7
2.5.2. UV ile başlatılan foto indirgeme	7
2.5.3. Foto indüksiyonlu azalma	8
2.5.4. Fiziksel yöntemler	8
2.5.5. Biyolojik yöntemler	8
2.6. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyon teknikleri	9
2.7. Bakteriler	10
2.7.1. Antibiyotik Direnci	10
2.7.2. Gram boyama testi.....	10

2.7.3. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yapısındaki fark	11
2.7.4. Gram Pozitif bakteriler	12
2.7.5. Gram pozitif bakteri türleri	12
2.7.6. Gram Negatif bakteriler	13
2.7.7. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	14
2.7.8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>P. aeruginosa</i>).....	16
2.7.9. <i>Enterococcus faecalis</i> (<i>Streptococcus faecalis</i>)	17
2.7.10. <i>Candida albicans</i>	18
2.8. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	19
2.8.1. Disk Difüzyon Testi.....	19
2.9. Gümüş İçeren Polimer-Kil Nanokompozitlerin Antibakteriyel Etkisi .	20
2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Mekanizması	24
2.10.1. Gümüş nanopartiküllerin zar proteinleriyle etkileşimleri.....	26
2.10.2. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu antibakteriyel etkiler	27
2.11. Işık	27
2.11.1. Görünür ışık	28
2.11.2. LED (Light Emitting Diodes).....	29
2.11.3. Silikon Fotodiyot (Fotosensör)	30
2.12. Aktivasyonu Yapılan Polimer Malzemenin (Ag-taşıyıcılı /CMC/MA /ODA-MMT'nin) Temel Bileşenleri	30
2.12.1. Karboksimetil selüloz (CMC)	30
2.12.2. Montmorillonit (MMT)	31
2.12.3. Gümüş Nitrat (AgNO_3).....	32
2.12.4. Maleik asit (MA)	32

3. MATERYAL METOT	34
3.1. Ön Çalışmalar.....	34
3.1.1.Ag-taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT'nin ana malzemelerinin hazırlanması	34
3.1.2.Aktivasyon ve Algılama Sistemi Tasarımı	34
3.1.3.Kırmızı, Mavi ve Yeşil LED'lerin Enerjilerinin Hesaplanması ...	40
3.2. Deney Aşaması.....	41
3.2.1.Nanopartikül sentez aktivasyonu yapılacak olan Ag Taşıyıcılı- CMC/MA/ ODA-MMT sentezi.....	41
3.2.2.Görünür ışık ile nanopartikül sentez aktivasyonu yapan sistemin çalıştırılması ve aktivasyon işlemi	41
3.2.3.Yeşil, Mavi ve Kırmızı LED'ler ile Aktive Edilmiş AgNP/CMC /MA/ ODA-MMT'nin Antimikrobiyal Testi	43
4. BULGULAR	45
4.1.Yeşil, Mavi ve Kırmızı LED'ler ile NP Aktivasyonu Yapılan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT Elektriksel Yanıtları	45
4.1.1. Manuel karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin elektriksel yanıtları	45
4.1.2. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin elektriksel yanıtları.....	46
4.1.3. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/ CMC/MA/ ODA-MMT'nin elektriksel yanıtları	48
4.2. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin Karakterizasyonu.....	51
4.3. Görünür Işık ile NP Aktivasyonu Yapılan Ag- taşıyıcılı CMC/MA / ODA-MMT'nin Kimyasal Yanıtları	59
4.4. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin Antimikrobiyal Yanıtları.....	61
4.4.1.E. faecalis 29212'nin antibakteriyel yanıtları.....	66
4.4.2. E.coli 25922'nin antibakteriyel yanıtları	66
4.4.3. P. aeruginosa 27853'ün antibakteriyel yanıtları	67

4.4.4. <i>C. albicans</i> 10231'in antifungal yanıtları	67
5. SONUÇ	70
5.1. Bilimsel Yenilik.....	70
5.2. Çalışma Sonuçlarının Değeri ve Önemi	70
KAYNAKLAR LİSTESİ	71



TABLolar LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi için temel teknikler [14].....	9
Tablo 2.2. Gram negatif bakterilerin sadece antibiyotik ve antibiyotik+CMC -AgNP ile yapılan çalışmalarının inhibisyon zonları [31].	20
Tablo 2.3. Gram pozitif bakterilerin sadece antibiyotik ve antibiyotik+CMC -AgNP ile yapılan çalışmalarının inhibisyon zonları [31].	21
Tablo 2.4. Örneklerin inhibisyon bölgesi (mm) [32].	22
Tablo 2.5. Gümüş taşıyan PVA = ODA-MMT nanofiberlerin farklı miktarlarda gümüş tuzu içeren antifungal aktivitesi (ağırlıkça%): NF-1: 0.04, NF-2: 0.03, NF-3: 0.01 ve NF-4: 0.0 [33].	23
Tablo 3.1. Her biri 20 mA'e ayarlanan mavi, yeşil ve kırmızı LED'lerin intensity tablosu.....	36
Tablo 3.2. Çalışma yapılan intensity değerine (0,6 a.u.) karşılık her LED'in akım ve dalga boyu değerleri.....	37
Tablo 3.3. LED'lerin çalışmada kullanılan intensity değerindeki enerji değerlerinin tablosu.	40
Tablo 3.4. Antibakteriyel testlerde LED renklerine ve konsantrasyonlara göre numunelerin kodlanması.....	43
Tablo 4.1. LED'lere ve mikroorganizmalara göre MIC'ler (çalışma verilerine göre).	68
Tablo 4.2. LED ve mikroorganizmalara göre çalışmadaki (2,5 mg/ml konsantrasyondaki) inhibisyon zon çapları.....	68
Tablo 4.3. Literatürdeki benzer çalışmaların antimikrobiyal aktiviteleri.....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Orta çağ vitray pencerelerine örnek [6].	4
Şekil 2.2. AgNP kullanım alanları (Rus, [5]'dan değiştirilerek).	5
Şekil 2.3. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarları [16].	12
Şekil 2.4. Patojenik bir <i>E. coli</i> suşu olan O157: H7 suşunun Gram negatif, çubuk şeklinde <i>E. coli</i> bakterilerinin SEM görüntüsü [21].	15
Şekil 2.5. Gram-negatif, <i>P. aeruginosa</i> bakterisinin SEM görüntüsü [23].	16
Şekil 2.6. Gram-pozitif <i>E. faecalis</i> bakteri grubunun SEM görüntüsü [25].	17
Şekil 2.7. <i>Candida albicans</i> kolonisinin mikroskopik görüntüsü [28].	19
Şekil 2.8. Ag taşıyan nanoliflerin <i>E. coli DH5a</i> ve <i>B. subtilis 3610</i> bakterilerine ve Ag taşıyan ODA-MMT nanokompozitinin <i>S. aureus</i> bakterisine karşı karşı antibakteriyel aktiviteleri [33].	23
Şekil 2.9. Bakteriyel hücreler ile nano ölçekli gümüş etkileşimini özetleyen diyagram (Marambio-Jones [38]'den değiştirilerek).	25
Şekil 2.10. AgNP'lerin toksik aktivitesinin mekanizması (Franci, [34]'den değiştirilerek).	26
Şekil 2.11. Elektromanyetik spektrumun görünür bölgesi [41].	28
Şekil 2.12. (a) LED'in temel yapısı, (b) grafiğin sembolü [42].	29
Şekil 3.1. LED sürücü devresinin çizimi (Görseldeki devre tasarımında yeşil ışık temsilidir).	35
Şekil 3.2. Saçılan ve geçen ışığın algılandığı fotodiyot devresi.	38
Şekil 3.3. Karakutu açık hali.	39
Şekil 3.4. Karakutu kapalı hali.	39
Şekil 3.5. Görünür ışık ile nanopartikül sentez aktivasyonu yapan sistem.	41
Şekil 3.6. 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmış Ag taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT'nin NP aktivasyonu öncesi (a) ve aktivasyondan sonraki hali (b).	42

Şekil 4.1. Manuel karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.	45
Şekil 4.2. Manuel karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.	46
Şekil 4.3. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.....	47
Şekil 4.4. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.	47
Şekil 4.5. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.....	48
Şekil 4.6. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.	48
Şekil 4.7. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.	51
Şekil 4.8. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.	52
Şekil 4.9. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.	52
Şekil 4.10. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	53
Şekil 4.11. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.10.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	53
Şekil 4.12. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	54
Şekil 4.13. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.12.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	54
Şekil 4.14. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	55

Şekil 4.15. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.14.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	55
Şekil 4.16. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	56
Şekil 4.17. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.16.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	56
Şekil 4.18. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	57
Şekil 4.19. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.18.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	57
Şekil 4.20. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsü.....	58
Şekil 4.21. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.20.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.....	58
Şekil 4.22. MA-COO-... + Ag iyonları (wLED maruziyetinden önceki ve sonraki fragmanları).....	59
Şekil 4.23. wLED maruziyetinden sonra karboksil grupları ile ODA-MMT'nin aşılama (amidizasyon) fragmanı.	60
Şekil 4.24. (a) ODA-MMT galeri boşluğu arasında CMC_Ag karışımının interkalasyonu ve ODA-MMT ve amin grupları ile etkileşim, (b) CMC fonksiyonel grupları CMC-OH... HOOC-MA'nın çapraz bağlı fragmanı (hidrojen bağı).....	60
Şekil 4.25. wLED maruziyetinden sonra CMC karboksil grupları ile ODA'nın aşılama (amidizasyon) fragmanı.	61
Şekil 4.26. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) <i>E. faecalis</i> 29212 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.	61
Şekil 4.27. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) <i>E.coli</i> 25922 ve <i>P. aeruginosa</i> 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.	62

- Şekil 4.28. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml *Candida albicans 10231* fungusine olan antifungal aktivitesi. 62
- Şekil 4.29. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2: 2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml) *E. faecalis 29212* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi. 63
- Şekil 4.30. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2: 2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml) *E.coli 25922* ve *P. aeruginosa 27853* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi. 63
- Şekil 4.31. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2:2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml *Candida albicans 10231* fungusine olan antifungal aktivitesi. 64
- Şekil 4.32. Kırmızı LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3: 2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S3B: 0,1 mg/ml, S3C: 0,05 mg/ml) *E. faecalis 29212* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi. 64
- Şekil 4.33. Kırmızı LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3: 2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) *E.coli 25922* ve *P. aeruginosa 27853* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi. 65
- Şekil 4.34. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3:2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S3B: 0,1 mg/ml, S3C: 0,05 mg/ml *Candida albicans 10231* fungusine karşı antifungal aktivitesi. 65
- Şekil 4.35. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *E. faecalis 29212*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri. 66
- Şekil 4.36. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *E. coli 25922*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri. 66
- Şekil 4.37. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *P.aeruginosa 27853*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri. 67

Şekil 4.38. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *Candida albicans 10231*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri..... 67



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simgeler

Ag	Gümüş
AgCl	Gümüş klorür
AgNO ₃	Gümüş nitrür
AgO	Metalik gümüş
AgONC	Gümüş fulminat
C	Işık hızı
E	Enerji
h	Planck sabiti
J	Joule
K	Potasyum
KJ	Kilojoule
KΩ	Kiloohm
mA	Miliamper
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mV	Milivolt
Na	Sodyum
NaBH ₄	Sodyum bor hidrür
nm	Nanometre
OH	Hidroksil grubu
SH	Sülfihidril
W	Watt
λ	Lamda
μg	Mikrogram

Kısaltmalar

AFM	Atomik kuvvet mikroskopu
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yetersizliği sendromu
CDC	Hastalık kontrol ve korunma merkezi
CH ₂ COONa	Sodyum karboksimetil
CMC	Karboksimetil selüloz
CVC	Santral venöz katater
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DLS	Dinamik ışık saçılımı
GNB	Gram negatif bakteri
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
KF	Kistik fibröz
LED	Işık yayan diyot
MA	Maleik asit
MIC	Minimum inhibisyon konsatrasyonu

MMT	Montmorillonit
MRSA	Metisiline dirençli <i>S. aureus</i>
NC	Nanokompozit
NF	Nanofiber
NMR	Nükleik manyetik rezonans
NSOM	Yakın alan taramalı optik mikroskopi
NP	Nanopartikül
ODA-MMT	Oksadesil amin montmorillonit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PLA	Polilaktik asit
PVA	Polivinil alkol
ROS	Reaktif oksijen türleri
SEM	Taramalı elektron mikroskopi
SMD	Yüzeye monte cihaz
STEC	Shiga toksik üreten <i>E. coli</i>
STM	Taramalı tünelleme mikroskopi
TEM	Geçirimli elektron mikroskopi
UV	Ultraviyole
XPS	X ışını fotoelektron spektroskopisi

1. GİRİŞ

İnsanlar yaşam ortamlarında bulunan bakteri, küf, maya ve virüs gibi mikroorganizmalardan etkilenmektedir. İlaça dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ve sayısının artması nedeniyle bilim insanları, bu mikroorganizmaların direncini aşan yeni ve etkili antimikrobiyal ajanlar geliştirmeye çalışmaktadırlar. Nanoteknolojiye ilginin giderek artmasıyla metal nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisi araştırılmaktadır. Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) antimikrobiyal etki açısından oldukça başarılıdır çünkü düşük konsantrasyonlarda insan vücudu için toksik değildir ve geniş spektrumlu antimikrobiyal etkilere sahiptir [1].

Ayrıca gümüş nanopartiküller ilaç dağıtım sistemleri, CVC (santral venöz katater) modifikasyonu, dental uygulamalar, yara tedavisi, ortopedik tedavi, görüntüleme, kardiyovasküler cerrahi gibi biyomedikal alanlarda kullanılmakta ve daha geniş alanlarda kullanılmak üzere araştırmalar yapılmaktadır [2].

Rzayev et al. [3] yapmış olduğu çalışmada Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT nanokompozitin görünür ışık ile aktive edilerek AgNP oluşturduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada aktivasyon için sadece beyaz LED kullanılmış ve malzemenin antikanser özellikleri araştırılmıştır.

Bu tez çalışmasında ise Rzayev et al. yapmış olduğu çalışma [3] referans alınarak; literatürde benzerine rastlanmayan üç farklı dalga boyundaki (yeşil, mavi, kırmızı renklerdeki) görünür ışık ile Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT nanokompozitin AgNP aktivasyonunu ve aktivasyon prosesini gözlemlemeyi sağlayan kompakt ve düşük maliyetli bir sistem tasarlanmıştır. Bu sistem ile farklı dalga boylarındaki (mavi, yeşil, kırmızı renklerdeki ultra parlak ve orta güçlü (0.5W) LED'ler) görünür ışık ile Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT nanokompoziti nanopartikül oluşumu için aktive edilmiştir. Polimerlerin aktivasyondan sonra mavi, yeşil ve kırmızı LED'ler ile aktive edilen numunelerin TEM-SEM analizleri, antimikrobiyal testleri yapılarak numuneler; nanopartikül boyutları, aktivasyon süreleri ve antimikrobiyal aktiviteleri bakımından kıyaslanmıştır.

LED'lerin dalga boyu yani enerjisi ile nanopartikül boyutu ve aktivasyon süresinde anlamlı bir orantı görülmüştür. AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin yapılan disk difüzyon testinde antimikrobiyal etkisi olduğu bu antimikrobiyal etkinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gümüş

Simgesi Ag olan gümüş, parlak, beyaz ve değerli bir metalik elementtir. Atomik ağırlığı 107,87gram, atom numarası 47'dir. Ergime noktası 961,9 °C, kaynama sıcaklığı 1950 °C, özgül ağırlığı ise 10,5 g/cm³ ve +1 değerliğe sahiptir. Gümüş, varlığı çok eski zamanlardan beri bilinmekle birlikte altın ve bakırdan sonra keşfedilmiştir. MÖ 3100 yıllarında Mısırlılar, 2500 yıllarında ise Çinliler ve Persliler tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Gümüş ilk önce Romalılar tarafından işlenmeye başladığı iddia edilmektedir. MÖ 800'lü yıllarda Nil nehri çevresinde yaşıyan insanlar para niteliğinde kullanmıştır [4].

Soy metallerin zorlu koşullara çok dirençli olduğu ve nano ölçekte üretildiğinde benzersiz özellikler sergilediği iyi bilinmektedir. Gümüş, Gümüş Nitrat (AgNO₃), Gümüş Klorür (AgCl), Gümüş Fulminat (AgONC) vb. gibi farklı gümüş bileşiklerinde bulunabilir. En popüler bileşik, Gümüş Nitrattır (AgNO₃) [5].

2.2. Nanoteknoloji

Bir nanometre, bir metrenin milyarda biri veya bir metrenin 10⁻⁹ 'u kadardır. Nanobilim ve nanoteknoloji, tek tek atomları ve molekülleri görme ve kontrol etme yeteneğini içermektedir. Yeryüzündeki her şey atomlardan oluşmaktadır; yediğimiz yiyecekler, giydiğimiz kıyafetler, içinde yaşadığımız binalar ve evler ve kendi bedenlerimiz. Nanobilim ve nanoteknolojinin arkasındaki fikir ve kavramlar, 29 Aralık 1959'da Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü'nde (CalTech) Amerikan Fizik Topluluğu toplantısında fizikçi Richard Feynman "There's Plenty of Room at the Bottom" ("aşağıda daha çok oda var") diyerek nanoteknolojinin kapıları aralanmıştır. Nanoteknoloji terimi ilk defa bu toplantıda kullanılmıştır. Feynman konuşmasında bilim adamlarının tek tek atomları ve molekülleri manipüle edip kontrol edebilecekleri bir süreci anlatmıştır. On yıldan fazla bir süre sonra, ultra hassas işleme araştırmalarında Profesör Norio Taniguchi, nanoteknoloji terimini ortaya atmıştır. Modern nanoteknoloji, tek tek atomları "görebilen" taramalı tünelleme mikroskopunun geliştirilmesiyle 1981 yılına kadar başlamamıştır.

Ancak atom kadar küçük bir şeyin çıplak gözle görülmesi imkansızdır. Nano ölçekteki yapıları görmek için gereken mikroskoplar 1980'lerin başında icat edilmiştir. Bilim adamları,

taramalı tünelleme mikroskobu (STM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) gibi araçları icat edince nanoteknoloji çağı doğmuştur. Modern nanobilim ve nanoteknoloji oldukça yeni olmasına rağmen, nano ölçekli materyaller yüzyıllardır kullanılmaktadır. Alternatif boyuttaki altın ve gümüş parçacıkları, yüzlerce yıl önce orta çağ kiliselerinin vitray pencerelerinde renkler yaratmıştır. Günümüzün bilim adamları, daha yüksek mukavemet, daha hafif ağırlık, daha fazla ışık spektrumu kontrolü ve daha büyük ölçekli muadillerine göre daha fazla kimyasal reaktivite gibi gelişmiş özelliklerinden yararlanmak için nano ölçekte malzemeler üretmenin çok çeşitli yollarını aramaktadır. Orta çağ vitray pencereler, modern öncesi dönemde nanoteknolojinin nasıl kullanıldığının bir örneğidir [6].



Şekil 2.1. Orta çağ vitray pencerelerine örnek [6].

2.3. Nanopartiküller

Nanopartiküllerin (NP) boyutları 100 nm ve altındadır ve nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır.

NP'lerin boyuta bağlı olarak elektronik özelliklerinin değişmesi, yüzey atomlarının farklı karakteristik özelliklere ve yüksek yüzey/hacim oranına sahip olması bilim ve teknolojiye yaygın olarak kullanılmasının nedenleri arasında bulunmaktadır. NP'ler bu

özellikleri nedeniyle, optik uygulamalarda, süper iletken malzemelerde, yüksek aktiviteli katalizörlerde, aşınmaya karşı kullanılan katkılarda, ilaç taşıyıcı sistemlerde, antimikrobiyal uygulamalarda, özel teşhis aletlerinde kullanılmaktadır. NP'ler, bu kullanım alanlarının yanı sıra, nano-taşıyıcılar, nano-makinalar, malzemelerin nano-boyut seviyesinde kontrolü, yüksek yoğunluğu bulunan veri depolama hücreleri ve sensörler gibi kendine özgü işlevselliği bulunan aygıtların oluşturulmasına olanak sağlamaktadır [7].

2.4. Gümüş Nanopartiküller

AgNP'ler 1 ila 100 nm aralığında boyuta sahiptir.

Gümüşün, MÖ 1000'li yıllarda bile su dezenfeksiyonunda, yanıkların ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanımının olduğu bilinmektedir [8]. Persler, Yunan ve Romalılar, gümüşün antibakteriyel etkisinin olduğunu keşfettiklerinde, gıdalarını gümüş kaplarda muhafaza etmişlerdir. Orta çağda aristokratların yemek takımlarında gümüş kullanmalarının, vebadan korunmalarına yardımcı olduğu belirlenmiştir [7].

1800'lü yıllarda gümüş, göz damlası olarak kullanılmış, daha sonra penisilinin bulunmasıyla beraber kullanımı azalmıştır. 1960'lı yıllara gelindiğinde ise yanık tedavilerinde %0,5'lik gümüş nitrat çözeltisi kullanılmaya başlanmıştır. 1968 yılında gümüş sülfadiazin krem, gümüş nitrat sülfonomidle birleşmesiyle elde edilmiştir. Bu krem, çok çeşitli mikroorganizmlara karşı etkilidir ayrıca yanık tedavisinde de kullanılmıştır. [8].



Şekil 2.2. AgNP kullanım alanları (Rus, [5]'dan değiştirilerek).

Gümüş nanopartiküller (AgNP) tıbbi ürünlerin kontaminasyonun önlemekte kullanılmaktadır. Ayrıca insanlara yönelik düşük toksisiteye sahiptirler [9].

Gümüş, antimikrobiyal madde olarak birçok önemli avantaja sahiptir. Bu avantajlar; gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması, gümüşte bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması ve daha önce belirtildiği üzere düşük derişimde toksik olmamasıdır [8].

Gümüş nanopartiküllerin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler, spor oluşturan bakteri ve virüsler de dahil olmak üzere mikroorganizmaların yaklaşık 650'nin üzerindeki türüne toksik etkisi belirlenmiştir [10].

AgNP'lerin son zamanlarda *E. coli*, *S. aureus*, metisiline dirençli *S. epidermis* ve metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. AgNP'ler ayrıca HIV ile enfekte olan hücrelere karşı güçlü hücre koruyucu aktivite sergiler [11].

Gümüşün antimikrobiyal özelliklerinden dolayı AgNP içeren oyuncak, gıda saklama kapları, emzik, spor giyim gibi ürünlerde de kullanılmaktadır. Ag⁺ içeren cilt ürünleriyle cilt yüzeyinde antimikrobiyal bir yüzey oluşturarak sivilce oluşumu engellenmektedir. Deterjanlarda Ag⁺ kullanılarak çevre dostu ve antimikrobiyal ürünler geliştirilmektedir. Ag⁺, plastik cerrahide aseptik kaplamada kullanılır ve bacak ülserleri, kesikler, sıyrıklar travmatik yaralar, deri grefti vb. bu yolla tedavi edilebilmektedir. Polimer-gümüş (AgNP) tıbbi yüz maskelerinde, cerrahi eldivenlerde, antibakteriyel bezler ve havlularda, yara pansumanı ve sargılarda, anti-enfeksiyon kateterlerde, kalp kapakçıkları gibi biyomedikal ürünlerde kullanılmaktadır [10,12].

Rus uzay ajansı ve NASA'nın uzayda suları dezenfekte etmek için gümüş nanopartikülleri kullandığı bilinmektedir. AGNP'ler ayrıca su arıtma sistemlerindeki filtrelerde kullanılmaktadır [8,12].

Günümüzde özellikle Covid-19 ile mücadelede gümüş nanopartiküllerin çevreci ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle ev ve iş yerleri gümüş nanopartiküller ile dezenfekte edilmektedir.

Bu geniş uygulama çeşitliliği nedeniyle birçok AgNP hazırlama yöntemi geliştirilmiştir [11].

2.5. AgNP Üretim Yöntemleri

2.5.1. Kimyasal yöntemler

Kimyasal yöntemler, organik ve inorganik indirgeyici ajanlar kullanılarak AgNP'lerin sentezini ifade etmektedir. Kimyasal yöntemlerin bir avantajı, sulu çözelti içinde AgNP'lerin hazırlanmasının basitliğidir. AgNP üretiminin en yaygın yöntemi, suda çözünen AgNO₃'ün sodyum sitrat, borohidrit, askorbat, glikoz, hidrazin vb. gibi indirgeyici bir bileşikle kimyasal olarak indirgenmesidir [5].

Bu indirgeme ajanları Ag⁺ 'yı azaltır ve metalik gümüş (AgO) oluşumuna yol açar, bunu oligomerik kümeler halinde aglomerasyon (başlangıçtaki ince tozların (bir başka deyişle primer partiküllerin) birbirine bağlanması ya da yapıştırılması yoluyla boyutun büyütülmesidir) izlemektedir. Bu kümeler sonunda metalik koloidal gümüş parçacıklarının oluşumuna yol açmaktadır. Metal nanopartikül hazırlama sırasında dispersif NP'leri stabilize etmek için koruyucu ajanlar kullanmak ve nano partikül yüzeyleri üzerinde absorbe edilebilen veya bağlanabilen NP'leri, aglomerasyonlarından kaçınarak korumak önemlidir. Parçacık yüzeyleri ile etkileşimler için işlevsellikler (örneğin tioller, aminler, asitler ve alkoller) içeren yüzey aktif maddelerin varlığı parçacık büyümesini stabilize edebilir ve parçacıkları tortulaşmadan, topaklaşmadan veya yüzey özelliklerini kaybetmemesini sağlamaktadır [13].

Mikroemülsiyon teknikleri, UV ile başlatılan foto indirgeme, elektrokimyasal indirgeme, çözelti ışınlaması, mikrodalga destekli sentez veya kriyokimyasal yöntem gibi AgNP üretiminin kimyasal yöntem çeşitleri bulunmaktadır [5].

2.5.2. UV ile başlatılan foto indirgeme

UV ile başlatılan ışık indirgeme, sitrat, poli vinil pirolidon, poli (akrilik asit) ve kolajen mevcudiyetinde gümüş NP'lerin sentezi için basit ve etkili bir yöntemdir. Örneğin NP'lerin toplanmasının önlenmesi için stabilize edici ajan olarak görev yapan katmanlı inorganik laponit kil süspansiyonlarında, gümüş nitratın UV ışıkla indirgenmesi yoluyla gümüş NP'ler

üretimiştir. UV altında 3 saat ışınladığında iki modlu boyut dağılımı ve nispeten büyük gümüş NP'ler elde edilmiştir. Gümüş NP'ler (nanosfer, nanotel ve dendrit), poli (vinilalkol) (koruyucu ve stabilize edici ajan olarak) kullanılarak oda sıcaklığında UV ışınlama ile foto indirgeme tekniği ile hazırlanabilmektedir [13].

2.5.3. Foto indüksiyonlu azalma

Gümüş NP'ler, çeşitli foto indüklenmiş veya fotokatalitik indirgeme yöntemleri kullanılarak sentezlenebilmektedir. Fotokimyasal sentez, yüksek çözünürlüğe, kullanım rahatlığına ve çok yönlülüğe sahip bir işlemdir. Ayrıca fotokimyasal sentez, NP'lerin hücreler, emülsiyon, polimer filmler, yüzey aktif miseller, camlar vb. dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda üretilmesini sağlamaktadır [13].

2.5.4. Fiziksel yöntemler

Buharlaşıma-yoğunlaştırma ve lazer ablasyon, hazırlanan ince filmlerde çözücü kontaminasyonunun olmaması ve nanopartikül dağılımının homojenliği gibi avantajlara sahip olan AgNP sentezi için en yaygın fiziksel yaklaşımlardandır. Bu yöntemle, saf metal kolloidler üretilmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin bazı dezavantajları vardır. Bunlar; cihazların geniş yer kaplaması ve pahalı olması, kaynak malzeme etrafında yeterli sıcaklık elde ederken büyük miktarda enerji tüketmeleri ve termal stabiliteye ulaşmak için çok zamana ihtiyaç duymalarıdır. Başvurulacak diğer fiziksel yöntemler, termal ayrışma yöntemi, seramik ısıtma işlemi, ark boşaltma tekniğidir [5].

2.5.5. Biyolojik yöntemler

Literatüre göre nanopartiküllerin kimyasal yaklaşımlarla sentezlenmesinin çevre dostu ve pahalı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, sentez protokollerinde toksik kimyasallar kullanmayan, çevre ve ekonomik açıdan dost prosesler geliştirmeye yönelik artan bir ihtiyaç vardır. Bu, araştırmacıları organizmalara bakmaya yönlendirmiştir. Nanopartikül sentezinde organizmaların potansiyeli, basit prokaryotik bakteri hücrelerinden ökaryotik mantarlara ve bitkilere kadar uzanmaktadır. Nanopartikül üretiminin bazı örnekleri arasında altın, gümüş, kadmiyum, çinko, manyetit ve demir NP'ler için bakteri, gümüş, kurşun ve kadmiyum NP'ler için mayalar, altın, gümüş ve kadmiyum NP'ler için mantarlar, gümüş ve altın NP'ler için

algler, gümüş, altın, paladyum, çinko oksit, platin ve manyetit NP'ler için bitkiler kullanılmasıdır. Biyo bazlı protokoller, organizma türleri, organizmaların kalıtsal ve genetik özellikleri, hücre büyümesi ve enzim aktivitesi için optimal koşullar, optimal reaksiyon koşulları ve seçim gibi kritik yönler olduğunda oldukça kararlı ve iyi karakterize edilmiş NP'lerin sentezi için kullanılabilir [13].

2.6. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyon teknikleri

Nanoteknolojinin çeşitli araştırma alanlarındaki genişlemesi, nanopartiküllerin analizi ve karakterizasyonu için analitik tekniklerin kullanılması ihtiyacını doğurmuştur. Mikroskobik, ayırma ve spektroskopik teknikler dahil olmak üzere çeşitli karakterizasyon teknikleri mevcuttur. Nanopartiküller literatürde genellikle boyut dağılımları, morfolojileri, yüzey özellikleri, stabiliteleri ve etkileşimleri ile karakterize edilmektedir. Genel olarak nanopartiküllerin ve özellikle AgNP'nin ana karakterizasyon teknikleri Tablo 1'de gösterilmektedir [14].

Tablo 2.1. Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi için temel teknikler [14].

Teknikler	Analiz edilen fizikokimyasal özellikler
X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)	Yüzeydeki elementel ve kimyasal bileşim.
Zeta potansiyeli	Yüzey yüküne atıfta bulunan kararlılık.
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	Boyut ve boyut dağılımı, yüzey şekli, kümelenme.
Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)	Boyut ve boyut dağılımı, şekil heterojenliği, kümelenme.
Dinamik ışık saçılımı (DLS)	Hidrodinamik boyut dağılımı.
Yakın alan taramalı optik mikroskopi (NSOM)	Nanomalzemelerin boyutu ve şekli.
Nükleer manyetik rezonans (NMR)	Yapı, kompozisyon, saflık.
Kütle spektrometrisi (MS)	Moleküler ağırlık, kompozisyon, yapı.
Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)	Boyut ve boyut dağılımı, şekli, yapısı, kümelenme.

2.7. Bakteriler

Bakteriler, çeşitli ortamlarda gelişen mikroskobik, tek hücreli organizmalardır. Bu organizmalar toprakta, suda ve insan bağırsağının içinde yaşayabilmektedirler.

Bakteriler, sütü yoğurda çevirmek veya sindirimimize yardımcı olmak gibi çeşitli konularda bize yardım elini uzatmaktadır. Ancak diğer durumlarda, bakteriler ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Bakteriler prokaryotlar olarak sınıflandırılır, çekirdeği olmayan basit bir içyapıya sahiptir ve nükleoid adı verilen bükülmüş, iplik benzeri bir kütle içinde serbestçe yüzen DNA içermektedir. Bakteriyel hücreler genellikle iki koruyucu örtü ile çevrilidir; bir dış hücre duvarı ve bir iç hücre zarı. Mikoplazmalar gibi bazı bakterilerin hücre duvarı yoktur. Bazı bakteriler, kapsül adı verilen üçüncü bir en dış koruyucu tabakaya bile sahiptir. Kamçı benzeri uzantılar bakterilerin hareket etmesine ve bir konakçıya bağlanmasına yardımcı olmaktadır. Bakterileri sınıflandırmak için birkaç farklı kriter kullanılır. Mikroorganizmalar, hücre duvarlarının doğası, şekilleri veya genetik yapılarındaki farklılıklarla ayırt edilebilir [15].

2.7.1. Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler tipik olarak bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda, uygun olmayan ve gereksiz antibiyotik kullanımı, birkaç antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının yayılmasını teşvik etmiştir.

Antibiyotik direnci durumunda, patojenik bakteriler artık daha önce etkili antibiyotiklere karşı duyarlı değildir. Bu durum dirençli bakterilerin gerçekleştirdiği enfeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştırmaktadır. CDC'ye göre, ABD'de her yıl en az 2 milyon kişi antibiyotiğe dirençli bakterilerle enfekte olmakta ve bu da en az 23.000 kişinin ölümüne yol açmaktadır [15]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, dirençli bakterilerin tedavisinde alternatif yöntemler bulmaya yöneltmiştir.

2.7.2. Gram boyama testi

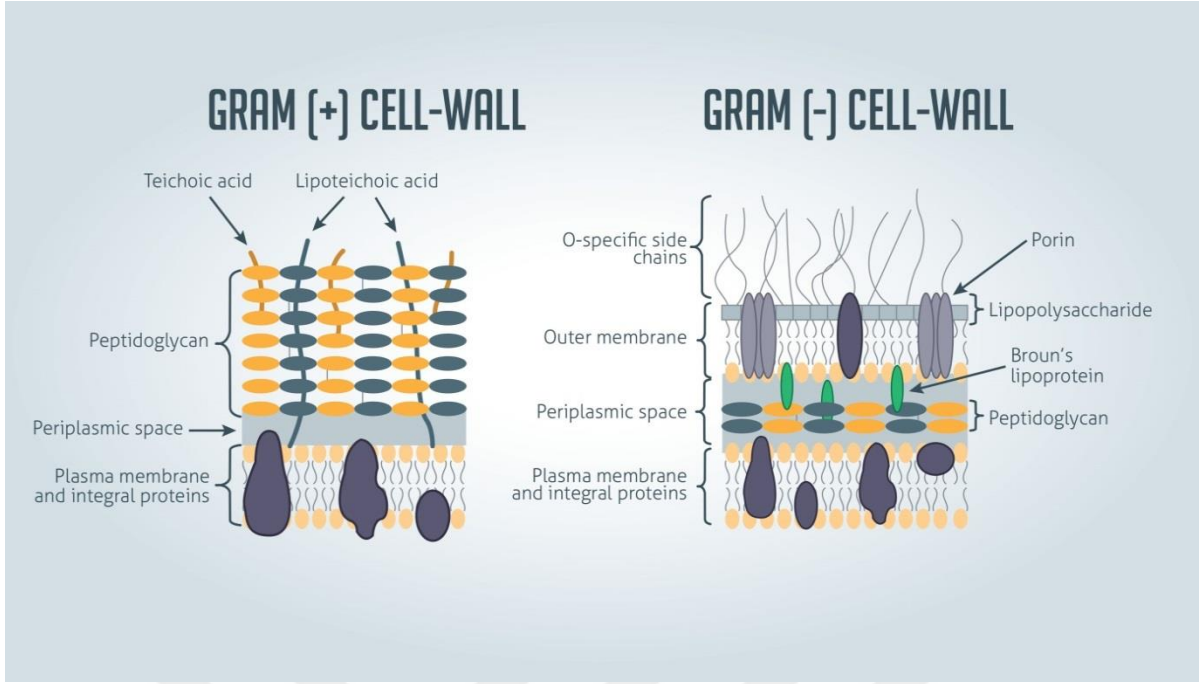
Bakteri türlerini ayırt edebilmek, enfeksiyonu teşhis etmekten veya gıda güvenliğini kontrol etmeye kadar birçok nedenden dolayı önemlidir. Bakteriyel türler ve hatta spesifik suşlar, PCR, kantitatif PCR, genom dizileme ve kütle spektrometrisi gibi bir dizi moleküler

teknik kullanılarak farklılaştırılabilmektedir. Ancak moleküler niteliklere girmeden bile, bakteri grupları arasında grupları ayırt etmeye yarayan fenotipik farklılıklar vardır. Bu farklılıklar, şekillerini (örneğin basil ve kok), belirli besin maddelerinde büyüme ve yüksek veya düşük oksijen ortamlarının tercih edilmesi gibi özelliklerini içermektedir. İncelenen karakteristiğe bağlı olarak bakteri türleri geniş gruplara ayrılabilir, ancak bu bilgiler birlikte alındığında olası kimlikleri büyük ölçüde daraltabilmektedir [16].

Gram boyama testi, bakterileri hücre duvarlarına göre sınıflandırmak için bir yöntemdir. Bilim adamlarının bir mikroorganizmanın gram pozitif mi yoksa gram negatif mi olduğunu belirlemelerine olanak tanımaktadır. Mikroskop kullanılarak yapılan bu test, 1884 yılında Hans Christian Gram tarafından oluşturulmuştur. Prosedür sırasında, bir bakteri örneğine kristal mor boya uygulanmaktadır. Bu kimyasal boya, kalın peptidoglikan katmanlarını boyamaktadır. Mikroskop altında, gram pozitif bakteriler mor-mavi görünür çünkü kalın peptidoglikan zarı boyayı tutabilmektedir. Bakteriye olumlu sonuç nedeniyle Gram pozitif denir. Gram negatif bakterilerin peptidoglikan katmanları daha incedir, bu nedenle mavi rengi koruyamamaktadır [17].

2.7.3.Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yapısındaki fark

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yapısındaki farklılıkla Şekil 1’de gösterilmektedir. Gram pozitif ve Gram negatif türlerin farklı iki temel özellik, peptidoglikan tabakasının kalınlığı ve dış lipid membranının varlığı veya yokluğudur. Bunun nedeni, duvar yapısının hücrenin Gram boyama prosedüründe kullanılan kristal mor boyayı tutma kabiliyetini etkilemesidir ve bu daha sonra bir ışık mikroskobu altında görselleştirilebilmektedir [16].



Şekil 2.3. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarları [16].

Gram pozitif bakteriler kalın bir peptidoglikan katmanına sahiptir ve dış lipid membranı yoktur, Gram negatif bakteriler ise ince bir peptidoglikan katmanına ve bir dış lipid membranına sahiptir. Gram pozitif bakteriler, bir dış lipid zarı içermediğinden monodermiler olarak adlandırılır. Gram negatif bakteriler, sahip olduğu dış lipid membrandan dolayı didermiler olarak adlandırılmaktadır [16].

2.7.4. Gram Pozitif bakteriler

Gram pozitif bakteriler, Gram boyamasını takiben bir ışık mikroskobu altında gözlendiğinde belirgin bir mor görünüme sahiptir. Bunun nedeni, hücre duvarının kalın peptidoglikan tabakasında mor kristal menekşe rengi boyanın tutulmasıdır. Gram pozitif bakteri örnekleri, tüm stafilokokları, tüm streptokokları ve bazı listeria türlerini içerir [16].

2.7.5. Gram pozitif bakteri türleri

Bir bakteri patojen ise, insanlarda hastalığa neden olduğu anlamına gelir. Gram pozitif bakterilerin çoğu patojendir. Örnekler:

Stafilokok: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*,

Streptokok: *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*,

Enterokok: *E. faecalis*, *E. faecium* , *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* , *E. casseliflavus*,

Bacillus: *B. anthracis*, *B. cereus*,

Clostridium: *C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. difficile*, *C. tetani*,

L. monocytogenes, *C. diphtheriae* [17].

Gram pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavi yönteminin bulunması; bakteri türü, antimikrobiyal direnç ve bakterilerin toksin oluşturup oluşturmadığına bağlıdır. Penisilin, çeşitli enfeksiyonlar için kullanılan yaygın bir antibiyotiktir. Bakterinin ölmesine neden olan peptidoglikan tabakasına müdahale ederek çalışır. Glikopeptid antibiyotikler genellikle ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Penisilin gibi bakterinin hücre duvarını yok ederek çalışır. Eritromisin, daha iyi bilinen azitromisin ve klaritromisini de içeren, makrolidler olarak bilinen bir antibiyotik sınıfındadır. Bakteriyel büyümeyi durduran ve hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı çalışan bir antibiyotiktir. Şarbon ve botulizm gibi toksinle ilgili hastalıklar için tedavi bir antitoksin içerir. Bu ilaç, vücuttaki toksinleri hedef alarak ve uzaklaştırarak çalışır [17].

Yıllardır yapılan çalışmalarda antibiyotiklerin belirli grup bakterilerde etkili olduğu görülmüştür. Bu nedenle araştırmalar antibiyoti haricindeki daha geniş spektrumunda antibakteriyel etki sağlayacak antibakteriyel ajanlar bulmaya yönelmiştir.

2.7.6.Gram Negatif bakteriler

Gram negatif bakteriler, gram boyamasını takiben bir ışık mikroskobu altında gözleendiğinde soluk kırmızımsı bir renk görünmektedir. Bunun nedeni, hücre duvarlarının yapısının kristal mor lekeyi tutamaması ve bu nedenle yalnızca safranin zıt boyası ile renklendirilmesidir. Gram negatif bakterilerin örnekleri arasında *Salmonella* türleri ve *Pseudomonas* türleri yer almaktadır [16].

Gram-negatif bakteriler, sağlık hizmetlerinde zatürree, kan dolaşımı enfeksiyonları, yara veya cerrahi alan enfeksiyonları ve menenjit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Gram-negatif bakteriler birden fazla ilaca dirençlidir ve mevcut antibiyotiklerin çoğuna giderek daha da direnç kazanmaktadır [18].

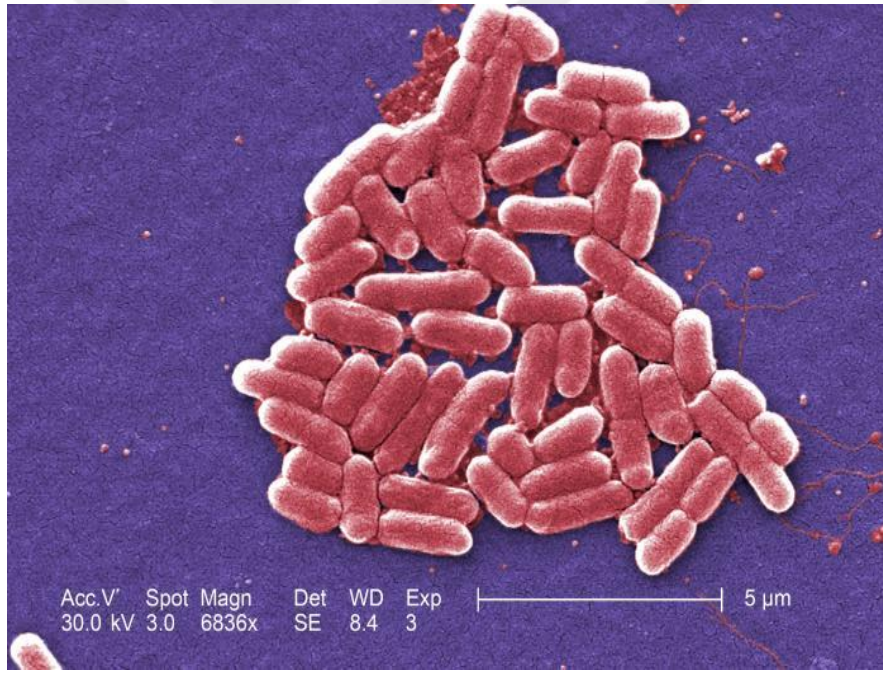
Gram negatif bakteriler (GNB), antibiyotiklere karşı yüksek direnç göstermesi nedeniyle dünyadaki en önemli halk sağlığı sorunları arasındadır. Bu mikroorganizmalar, hastaları yoğun bakım ünitesine yüksek risk altına sokmaları ve yüksek morbidite ve mortaliteye yol açması nedeniyle hastanelerde büyük klinik öneme sahiptir. Gram negatif bakteriler, insanlarda hastalığa neden olma konusunda büyük bir yeteneğe sahiptir ve sindirim sistemi, sinir sistemi, idrar sistemi ve kan dolaşımı gibi organizmadaki hemen hemen tüm sistemlere ulaşabilir, bu da ishalli gastroenteritten şiddetli menenjite kadar neden olmaktadır. Bu tür mikroorganizmalar bağırsaklarda, solunum yollarında ve deride kolonileşir. Sağlık çalışanlarının en büyük zorluklarından biri, GNB patojenlerinin dahil olduğu alt solunum yollarındaki nozokomiyal enfeksiyonları tedavi etmektir, çünkü bu enfeksiyonların büyük bir kısmından sorumlu olsalarda, antibiyotik tedavisine yanıt vermezler. Diğer bir önemli endişe, dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen ve sanitasyon eksikliğiyle ilişkili olan *Enterobacteriaceae* (*Shigella spp*, *Salmonella spp.*, Enteropatojenik *E. coli*) kaynaklı gastroenterittir. Ek olarak, menenjitten sorumludurlar. Menenjit, zamanında tedavi edilmezse potansiyel olarak ölümcül bir hastalıktır [19].

Gram negatif bakteri enfeksiyonları için tedavi seçenekleri sınırlıdır ve sonuçlar genellikle ilaç direnci nedeniyle hayal kırıklığı yaratmaktadır. Yeni ilaçların mevcudiyeti yavaş ilerledikçe, yüksek toksisiteye (nefrotoksisite ve nörotoksisite) sahip polimiksinler ve kolistin gibi önceden terk edilmiş bazı seçenekler yeniden ortaya çıkmıştır. İdrar yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan eski bir ilaç olan fosfomisin de bu enfeksiyonların tedavisi için potansiyel bir ajan olarak yeniden ortaya çıkmıştır [19].

2.7.7. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Genellikle insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında bulunan gram negatif bir bakteridir. Çoğu *E. coli* suşu zararsızdır. Bununla birlikte, Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) gibi bazı suşlar, ciddi gıda kaynaklı hastalığa neden olabilmektedir. İnsanlara öncelikle çiğ veya az pişmiş kıyma ürünleri, çiğ süt ve kontamine çiğ sebzeler ve filizler gibi kontamine

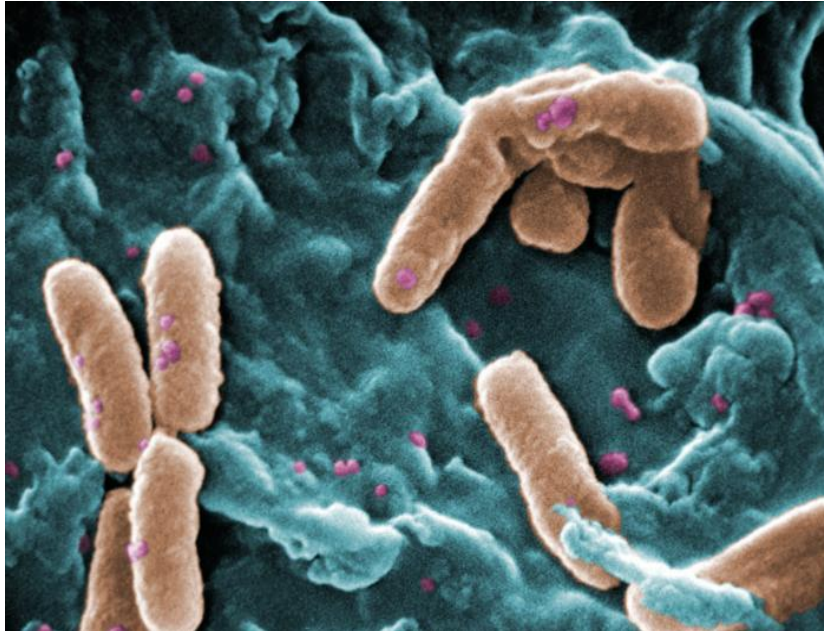
gıdaların tüketimi yoluyla bulaşmaktadır. STEC'in neden olduğu hastalıkların semptomları, bazı durumlarda kanlı ishale (hemorajik kolit) ilerleyebilen abdominal krampları ve ishali içermektedir. Ateş ve kusma da olabilmektedir. Kuluçka süresi ortalama 3 ila 4 gün olmak üzere 3 ila 8 gün arasında değişebilmektedir. Çoğu hasta 10 gün içinde iyileşir, ancak hastaların küçük bir kısmında (özellikle küçük çocuklar ve yaşlılar) enfeksiyon, hemolitik üremik sendrom gibi yaşamı tehdit eden bir hastalığa yol açabilmektedir. Hemolitik üremik sendrom, akut böbrek yetmezliği, hemolitik anemi ve trombositopeni (düşük kan trombositleri) ile karakterizedir. STEC enfeksiyonu olan hastaların %10 kadarının HÜS geliştirebileceği tahmin edilmektedir ve vaka ölüm oranı %3 ila 5 arasında değişmektedir. Genel olarak HÜS, küçük çocuklarda akut böbrek yetmezliğinin en yaygın nedenidir. HÜS hastalarının %25'inde nörolojik komplikasyonlara (nöbet, inme ve koma gibi) ve hayatta kalanların yaklaşık %50'sinde genellikle hafif olan kronik böbrek sekeline neden olabilmektedir [20].



Şekil 2.4. Patojenik bir *E. coli* suşu olan O157: H7 suşunun Gram negatif, çubuk şeklinde *E. coli* bakterilerinin SEM görüntüsü [21].

2.7.8. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

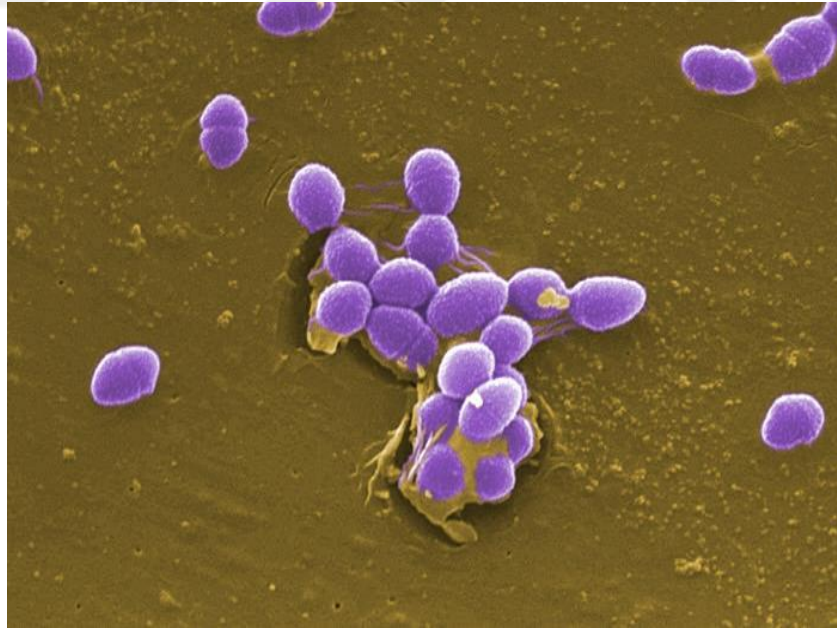
Gram negatif fırsatçı bir patojen olup virölans ve bakteriyel iletişimlari incelemek için model bir bakteridir. Toprak ve su da dahil olmak üzere çok çeşitli ortamlardan düşük sayılarda izole edilebilirken, hemen hemen her insan / hayvan etkilenen ortamda kolayca bulunabilmektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış ve kronik rahatsızlıkları olan insanlarda hastalık ve ölümün başlıca nedenidir ve bu hastalardaki enfeksiyonların tedavisi, bir dizi antibiyotik direnç mekanizmaları ve organizmanın çok hücreli biyofilm adı verilen yapıyı oluşturma eğilimi nedeniyle zordur. *P. aeruginosa*, çoğu antibiyotik sınıfına ve terapötik maddeye dirençlidir ve bu tedavi edilmesi zor olabileceğinden enfeksiyon sırasında problemlili hale getirmektedir. Sağlıklı bireyleri nadiren enfekte ettiğii için sıklıkla 'fırsatçı' bir patojen olarak adlandırılmaktadır. Klinik olarak birincil risk, kistik fibroz (KF), kanser, AIDS, kalıcı tıbbi cihazlar, yanık ve göz yaralanmaları ve iyileşmeyen diyabetik yaralar dahil olmak üzere bağışıklık sistemi zayıflamış hastalar içindir. *P. aeruginosa* bitkiler, nematodlar, böcekler ve memeliler dahil olmak üzere çeşitli konakçılarda hastalığa neden olabilmektedir. Özellikle KF'li hastalarda *P. aeruginosa* enfeksiyonu tedavisi oldukça zordur. KF, akciğerlerde sıklıkla yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkar ve antibiyotiklerle agresif tedaviye rağmen enfeksiyon ilerleyip, akciğer fonksiyon kaybına ve sonunda ölüme neden olabilmektedir [22].



Şekil 2.5. Gram-negatif, *P. aeruginosa* bakterisinin SEM görüntüsü [23].

2.7.9. *Enterococcus faecalis* (*Streptococcus faecalis*)

Gram pozitif bir bakteri türüdür. *Streptococcus faecalis*'i Andrewes ve Horder 1906 yılında tanımlamıştır. Normal florada bulunan bakteriler olan enterokoklar, safra yolu, genitoüriner sistem ve ağız boşluğunda yaşadığı bilinmektedir. Hastanede uzun süre kalan, antibiyotik kullanan ve immünsüpressif hastalarda enterokok enfeksiyonların riski artmaktadır. Vankomisin dirençli enterokok türleri nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Schleifer ve Kilpper-Balz 1984'te *S. faecalis* ve *S. faecium*'un streptokoklardan ayrılarak *Enterococcus* cinsine aktarılmasını önermişlerdir. Daha sonra bu cins içindeki bakteriler *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* gibi çeşitli türlere ayrılmışlardır. *E. faecalis* ve *E. faecium*'un bazı suşları tarafından üretilen sitolizin, insan ve hayvan eritrositlerinde hemolize neden olmaktadır. Ayrıca *E. faecalis*'in biyofilm oluşturması bu bakterinin kalp kapaklarına, vasküler kateterlere ve üriner sistemde kolonize olmasını kolaylaştırmaktadır. Enterokokal enfeksiyonlar içerisinde *E. faecalis*'in neden enfeksiyonların oranı diğer türlere göre 10 kat fazladır [24].



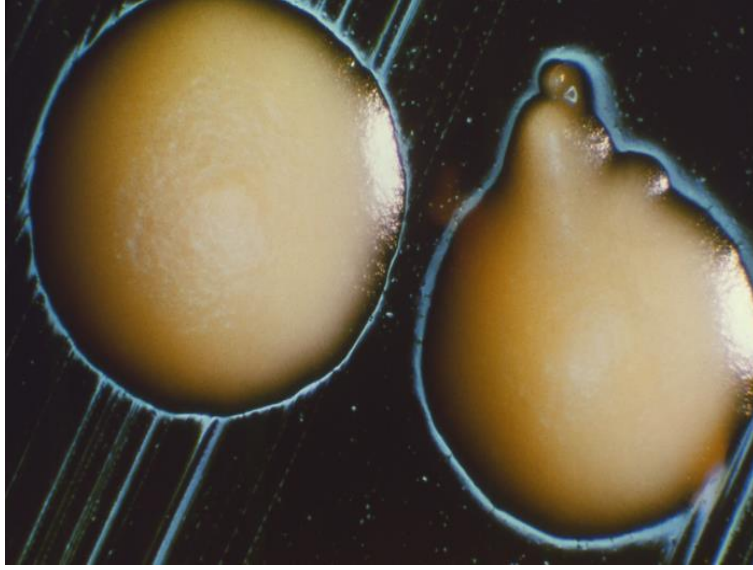
Şekil 2.6. Gram-pozitif *E. faecalis* bakteri grubunun SEM görüntüsü [25].

2.7.10. *Candida albicans*

Maya, çoğu Ascomycota filumunda bulunan yaklaşık 1.500 tek hücreli mantar türünden biridir. Mayalar, dünya çapında toprakta ve bitki yüzeylerinde bulunmakta ve özellikle çiçek nektarı ve meyveler gibi şekerli ortamlarda bol miktarda bulunmaktadır. İktisadi açıdan önemli yüzlerce çeşit maya vardır; ekmek, bira ve şarap üretiminde yaygın olarak kullanılan türler, *Saccharomyces cerevisiae*'nin seçilmiş türleridir. Özellikle *Candida albicans*, Histoplasma ve Blastomyces mayaları, insanlar ve diğer hayvanlar için tehlikeli patojenlerdir [26].

Candida albicans, maya tipinde bir mantar türüdür. Candida cinsine ait yaklaşık 200 tür vardır ve en yaygın görülen mantar enfeksiyonu albicans'a aittir. Eşeyli çoğalan diplot bir mantar türüdür. Sağlıklı yetişkinlerin %40'ının ağız florasında, sağlıklı kadınların %20-25'inin vajen florasındaki varlığı bilinmektedir. Bağırsakların da flora üyesi olan Candida, fırsatçı enfeksiyonların temel etkenidir. Bağırsak florasının güçlü ve hassas dengesi herhangi bir nedenle bozulması durumunda fırsatçı maya olan *Candida albicans* sayıca artmaya başlar ve candidiyozis denilen tablo ortaya çıkmaktadır. Candidiyozis tablosunda, normalde tek hücreli olan *Candida albicans* kontrolden çıkarak çok hücreli, ipliksi ve istilacı şekle dönüşmektedir. İpliksi şekle dönüşmesinin yanısıra, konak dokulara bağlanmayı sağlayan adhesinleri, dokuları hem imha etmeyi hem de onlara daha iyi yapışmayı sağlayan proteazları ve vücudun bağışıklık sisteminin tepkisini azaltan çok sayıda faktörü de üretmektedir. *Candida*'nın bağırsak duvarına tutunmasıyla oluşan immunolojik hasar bağırsak mukozasının permeabilitesini bozmaktadır. Bu durumda çok önemli bağırsak bariyerin bozulması besin duyarlılığı veya besin alerjilerinin oluşmasına yol açmaktadır [27].

Şiddetli *Candida* enfeksiyonlarını tedavi etmek için yalnızca üç sınıf antifungal ilaç mevcuttur: azoller, ekinokandinler ve amfoterisin B. *Candida* türleri genellikle hastanede yatan hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olur. Bu hastaların yaklaşık dörtte biri ölür. *Candida* türleri ayrıca ağız, cildi ve vajinayı etkileyebilen yaygın maya enfeksiyonlarına neden olur ve bu da her yıl 3,6 milyon ABD sağlık bakımı ziyareti ve 3 milyar dolarlık tahmini doğrudan tıbbi maliyetle sonuçlanır. Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan antibiyotikler, *Candida* enfeksiyonları riskini artırır [26].



Şekil 2.7. *Candida albicans* kolonisinin mikroskopik görüntüsü [28].

2.8. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Bir patojen türüne karşı, bir antimikrobiyal ajanın in-vitro etkinliğini tespit etmek amacıyla uygulanan testlerdir. Antimikrobiyal tedaviye bu test sonuçlarına göre karar verilir. Bu amaçla aşağıdaki antimikrobiyal duyarlılık testleri kullanılmaktadır [29]:

1. Disk difüzyon testi
2. E-test
3. Tüp dilüsyon
4. Agar dilüsyon [29].

Bu tezde kullanılan antimikrobiyal duyarlılık testi disk difüzyon testidir.

2.8.1. Disk Difüzyon Testi

Antimikrobiyal duyarlılığın saptanması için en sık kullanılan yöntem disk difüzyon testidir. Kirby-Bauer tarafından geliştirilen bu sistemin uygulanması basit ve ucuzdur. Bu amaçla; test edilecek miktarlarda antimikrobiyal ajan emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan patojenin ekildiği besiyerlerine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, ekimi yapılmış patojen de çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez.

Patojen, antimikrobiyal ajana ne kadar duyarlı ise diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu (diskin çevresindeki patojensiz alan) o kadar geniş olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek kayıt altına alınmaktadır [29].

2.9. Gümüş İçeren Polimer-Kil Nanokompozitlerin Antibakteriyel Etkisi

Literatürde gümüş içeren polimer-kil nanokompozitlere ait birçok çalışma bulunmaktadır. *K. Pneumonia*, *E. coli* ve *S. aureus* türlerine karşı sentezlenen poli(akrilonitril)/MMT/gümüş nanokompozitlerin antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı sentezlenen farklı oranlarda gümüş içeren poli (vinil alkol/MMT/gümüş nanokompozitlerinin antibakteriyel etkisi olduğu ve nanokompozit içerisindeki gümüşün artmasıyla antibakteriyel etkinin arttığı saptanmıştır [30].

Prema et al. [31] yayınlamış olduğu “CMC stabilize nano gümüş sentezi, karakterizasyonu ve geniş spektrumlu antibiyotiklerle antibakteriyel ve sinerjistik etkisi” başlıklı makalede gümüş nanopartiküllerin stabilize edici ajan olarak CMC (karboksimetil selüloz) kullanarak Gram pozitif ve Gram negatif insan bakteriyel patojenlerine karşı bakterisidal etkisini gösterilmektedir. Bu çalışmada bakterilerin gümüş nanopartiküllere duyarlılığının, kullanılan bakterilerin çeşitlerine bağlı olarak değiştiği bulunmuştur [31].

Tablo 2.2. Gram negatif bakterilerin sadece antibiyotik ve antibiyotik+ CMC-AgNP ile yapılan çalışmalarının inhibisyon zonları [31].

Antibiotics	Gram negative pathogens	Zone of Inhibition (mm)	
		Antibiotic Alone (a)	CMC-AgNPs + Antibiotics (b)
Amoxycillin (30 mcg)	<i>E.coli</i>	13.80 ± 0.88	20.07 ± 1.69
	<i>K. pneumoniae</i>	17.00 ± 1.06	23.03 ± 1.85
	<i>P.aeruginosa</i>	12.00 ± 0.64	18.93 ± 1.35
	<i>S. typhimurium</i>	19.77 ± 1.33	27.90 ± 1.08
	<i>V. vulnificus</i>	08.47 ± 0.46	21.93 ± 1.25
Ampicillin (10 mcg)	<i>E. coli</i>	09.37 ± 0.53	18.20 ± 1.28
	<i>K. pneumoniae</i>	08.00 ± 0.64	17.00 ± 1.07
	<i>P. aeruginosa</i>	09.00 ± 0.81	15.90 ± 1.08
	<i>S. typhimurium</i>	12.00 ± 0.67	27.07 ± 1.86
	<i>V. vulnificus</i>	08.00 ± 0.43	22.96 ± 1.75
Erythromycin (15 mcg)	<i>E. coli</i>	13.00 ± 0.88	27.07 ± 1.98
	<i>K. pneumoniae</i>	12.33 ± 0.47	19.20 ± 1.22
	<i>P. aeruginosa</i>	10.00 ± 0.87	26.67 ± 1.83
	<i>S. typhimurium</i>	15.00 ± 1.04	21.53 ± 1.42
	<i>V. vulnificus</i>	24.70 ± 1.43	27.93 ± 1.69
Kanamycin (30 mcg)	<i>E. coli</i>	21.00 ± 1.82	32.37 ± 2.09
	<i>K. pneumoniae</i>	18.70 ± 1.43	24.47 ± 1.16
	<i>P. aeruginosa</i>	15.50 ± 0.92	26.10 ± 1.89
	<i>S. typhimurium</i>	16.67 ± 1.27	23.13 ± 1.67
	<i>V. vulnificus</i>	19.67 ± 1.23	21.77 ± 1.20
Tetracycline (30 mcg)	<i>E. coli</i>	14.83 ± 0.84	20.97 ± 1.65
	<i>K. pneumoniae</i>	17.80 ± 1.28	21.80 ± 1.76
	<i>P. aeruginosa</i>	18.40 ± 1.56	25.23 ± 1.93
	<i>S. typhimurium</i>	11.33 ± 0.94	17.17 ± 1.17
	<i>V. vulnificus</i>	17.90 ± 1.22	21.07 ± 1.98

Çalışmada farklı antibiyotikler kullanılarak antibiyotik çeşidinin etkisi de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Gram pozitif bakterilerin sadece antibiyotik ve antibiyotik+ CMC-AgNP ile yapılan çalışmalarının inhibisyon zonları [31].

Antibiotics	Gram positive pathogens	Zone of Inhibition (mm)	
		Antibiotic Alone (a)	CMC –AgNPs + Antibiotics (b)
Amoxycillin (30 mcg)	<i>B. cereus</i>	15.67 ± 0.48	20.80 ± 1.36
	<i>S. aureus</i>	17.67 ± 1.12	25.13 ± 1.82
	<i>S. epidermidis</i>	17.16 ± 1.23	24.93 ± 1.64
Ampicillin (10 mcg)	<i>B. cereus</i>	10.67 ± 0.94	16.10 ± 1.13
	<i>S. aureus</i>	10.00 ± 0.50	21.40 ± 1.67
	<i>S. epidermidis</i>	14.90 ± 0.67	18.37 ± 1.23
Erythromycin (15 mcg)	<i>B. cereus</i>	12.00 ± 1.00	14.67 ± 0.87
	<i>S. aureus</i>	13.00 ± 1.22	18.77 ± 1.24
	<i>S. epidermidis</i>	15.33 ± 1.37	20.67 ± 1.48
Kanamycin (30 mcg)	<i>B. cereus</i>	16.67 ± 1.48	22.20 ± 1.18
	<i>S. aureus</i>	13.00 ± 0.82	19.17 ± 1.18
	<i>S. epidermidis</i>	14.87 ± 0.96	23.67 ± 1.28
Tetracycline (30 mcg)	<i>B. cereus</i>	18.66 ± 1.24	19.87 ± 1.14
	<i>S. aureus</i>	17.67 ± 1.36	24.17 ± 1.82
	<i>S. epidermidis</i>	17.00 ± 1.34	25.90 ± 1.67

Bu çalışmada görülebileceği gibi sadece antibiyotik varlığına kıyasla, antibiyotik+CMC-AgNP varlığı antibakteriyel aktiviteyi ciddi şekilde arttırmıştır [31].

Pedroza-Toscano et al [32] yayınlamış olduğu “Karboksimetil Selüloz Kullanılarak Yarı Sürekli Kimyasal İndirgeme ile Elde Edilen Gümüş Nanopartiküller ve Antibakteriyel Kapasitesi” başlıklı makalede, CMC/AgNO₃, NaBH₄ kullanılarak gümüş nanopartiküller elde edilmiştir. AgNP'lerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir. Çalışmada, AgNP konsantrasyonu ne kadar yüksekse inhibisyon bölgesi o kadar büyük olmuştur. AgNP üretimi için farklı AgNO₃ konsantrasyonları, farklı reaksiyon süreleri ve farklı CMC / AgNO₃ ağırlık oranları kullanılarak numuneler hazırlanmıştır. Aşağıdaki tabloda üretim formülasyonları gösterilmiştir. AgNP'ler, Gram pozitif bakteri *S. aureus* (ATCC 25923) ve Gram negatif *E. coli* (ATCC 25922) 'ye karşı agar disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite açısından test edilmiştir. 10, 20 veya 30 µg AgNP ile emprenye edilmiş steril filtre kağıt diskleri (6 mm çapında) besin ve bakterileri içeren plakalara yerleştirilmiştir. Pozitif ve negatif kontroller olarak sırasıyla 10 µg Streptomisin ve diğeri saf su ile yüklenmiş bir disk kullanılmıştır. Pozitif kontrol (antibiyotik Streptomisin 10µg), *S. aureus* (a) ve *E. coli* (b) için sırasıyla 5 mm ve 8 mm inhibisyon bölgeleri göstermiştir. Negatif kontrol (saf su) inhibisyon bölgesi göstermemiştir [32].

Tablo 2.4. Örneklerin inhibisyon bölgesi (mm) [32].

Sample	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	10 µg/disk mm	20 µg/disk mm	30 µg/disk mm	10 µg/disk mm	20 µg/disk mm	30 µg/disk mm
S1	3.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.9 ± 0.1	2.7 ± 0.3	4.0 ± 0.3	6.1 ± 0.1
S2	2.9 ± 0.1	6.9 ± 0.2	8.0 ± 0.2	2.6 ± 0.1	3.9 ± 0.3	5.9 ± 0.1
S3	2.6 ± 0.1	6.8 ± 0.3	7.9 ± 0.1	2.7 ± 0.2	4.2 ± 0.2	5.8 ± 0.3
S4	3.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.8 ± 0.3	2.8 ± 0.1	4.0 ± 0.1	6.2 ± 0.2
S5	3.0 ± 0.1	6.9 ± 0.2	8.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2	4.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2
S6	2.7 ± 0.2	6.9 ± 0.1	8.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1	3.9 ± 0.1	5.9 ± 0.2
S7	3.0 ± 0.1	6.9 ± 0.1	8.1 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3.9 ± 0.1	5.8 ± 0.1
S8	3.0 ± 0.2	6.8 ± 0.1	7.9 ± 0.1	2.6 ± 0.3	4.0 ± 0.0	6.0 ± 0.2

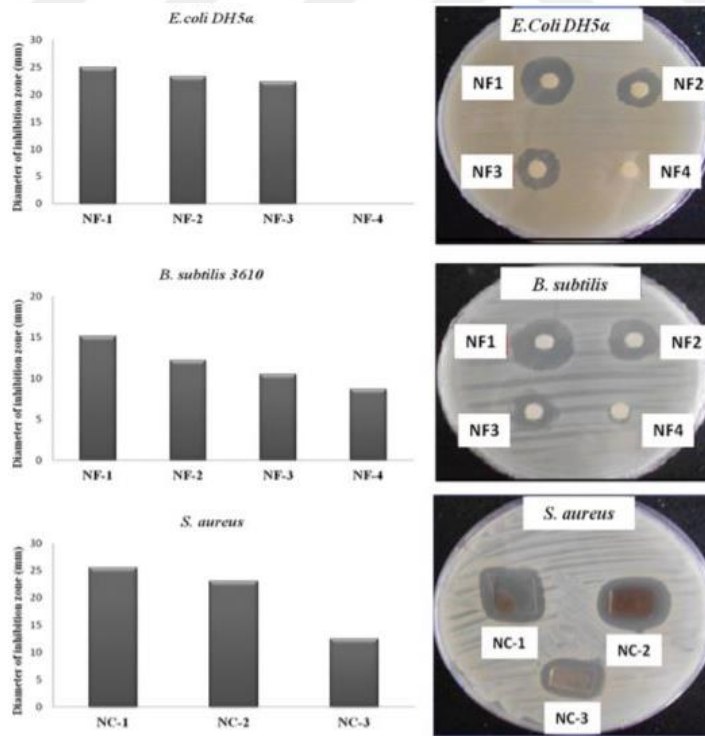
AgNP'ler, test edilen her iki bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. AgNP konsantrasyonu ne kadar yüksekse inhibisyon bölgesi o kadar büyük olduğu tespit edilmiştir. Tablo 2.4.'de, incelenen partikül boyutları aralığı için *S. aureus* ve *E. coli*'nin büyümesinin inhibisyonu üzerinde partikül büyüklüğünün hiçbir etkisinin olmadığını göstermektedir. AgNP konsantrasyonu ne kadar yüksekse inhibisyon bölgesi o kadar büyük olmaktadır. İncelenen partikül boyutları aralığı için, *S. aureus* ve *E. coli* büyümesinin inhibisyonu üzerinde partikül büyüklüğünün etkisi gözlenmemiştir [32].

Rzayev et al [33] yayınlamış olduğu “Fonksiyonel Kopolimer / Organo-MMT Nano Mimarileri. XXII. Antifungal ve Antibakteriyel Poli (Vinil Alkol-Ko-Vinil Asetat / ODA-MMT / AgNPs Nanofiberler ve Nano Kaplamaların e-Spinning ve c-Spinning Yöntemleri ile Üretimi ve Karakterizasyonu” başlıklı makalede PVA/ODA-MMT ve AgNO₃ ile gümüş nanopartikül taşıyan polimer üretilmiştir. Ayrıca bu polimer ile farklı yöntemler kullanarak nanofiberler üretilmiştir. Bu nanokompozit ve nanofiberlerin antifungal ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Çeşitli gümüş tuzu konsantrasyonlarına sahip nanofiberler ve nanokompozitlerin antifungal ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Gümüş tuzu konsantrasyonları nanofiberler için: (NF-1 için %0,04, NF-2 için % 0,03, NF-3 için % 0,01 ve NF-4 için % 0,0) ve nanokompozitler için NC-1 : % 0.043, NC-2 : %0.025 ve NC-3: %0.01'dir. Negatif kontrol olarak AgNP içermeyen bir kopolimer = ODA-MMT kili (NF-4) kullanılmıştır [33].

Tablo 2.5. Gümüş taşıyan PVA = ODA-MMT nanofiberlerin farklı miktarlarda gümüş tuzu içeren antifungal aktivitesi (ağırlıkça%): NF-1: 0.04, NF-2: 0.03, NF-3: 0.01 ve NF-4: 0.0 [33].

Candida Spp. Fungals	Inhibition zone (mm)			
	NF-1	NF-2	NF-3	NF-4
<i>Candida albicans</i>	19	13	12	0
<i>Candida tropicalis</i>	14	12	11	0
<i>Candida glabrata</i>	14	13	10	0
<i>Candida kefyr</i>	16	14	10	1.8
<i>Candida krusei</i>	17	13	11	1.5

Antifungal aktiviteler, gümüş içeriğinin artmasıyla esas olarak iyileşirken, Ag içermeyen matriks nanokompozit polimer, *C. kefyr* ve *C. krusei* dışında herhangi bir etki göstermemiştir. NF-1 ve NF-2 örneklerinde daha iyi sonuçlar gözlenmiştir. Ag taşıyan nanolifler için minimum inhibitör konsantrasyonu 0.01 mg/ mL bulunmuştur [33].



Şekil 2.8. Ag taşıyan nanoliflerin *E. coli DH5α* ve *B. subtilis 3610* bakterilerine ve Ag taşıyan ODA-MMT nanokompozitinin *S. aureus* bakterisine karşı karşı antibakteriyel aktiviteleri [33].

Nanofiberlerin ve nano kompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri Şekil 2.8.'de gösterilmektedir. Ag taşıyan NF ve NC'lerin antibakteriyel etkisinin AgNP'lerin konsantrasyonuna bağlı olduğu gözlemlenmiştir. [33].

2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Mekanizması

Gümüş nanopartiküllerin bakteriyel patojenler üzerindeki inhibe edici etkisi için temel iki olası mekanizma vardır. Birincisi, mikroorganizmaların negatif yüklü hücre zarı ile pozitif yüklü gümüş iyonları arasındaki elektrostatik çekimdir. İkincisi, gümüş iyonlarının konsantrasyonu ile ilgili olarak bakteri hücre duvarında çukurların oluşmasıdır [34].

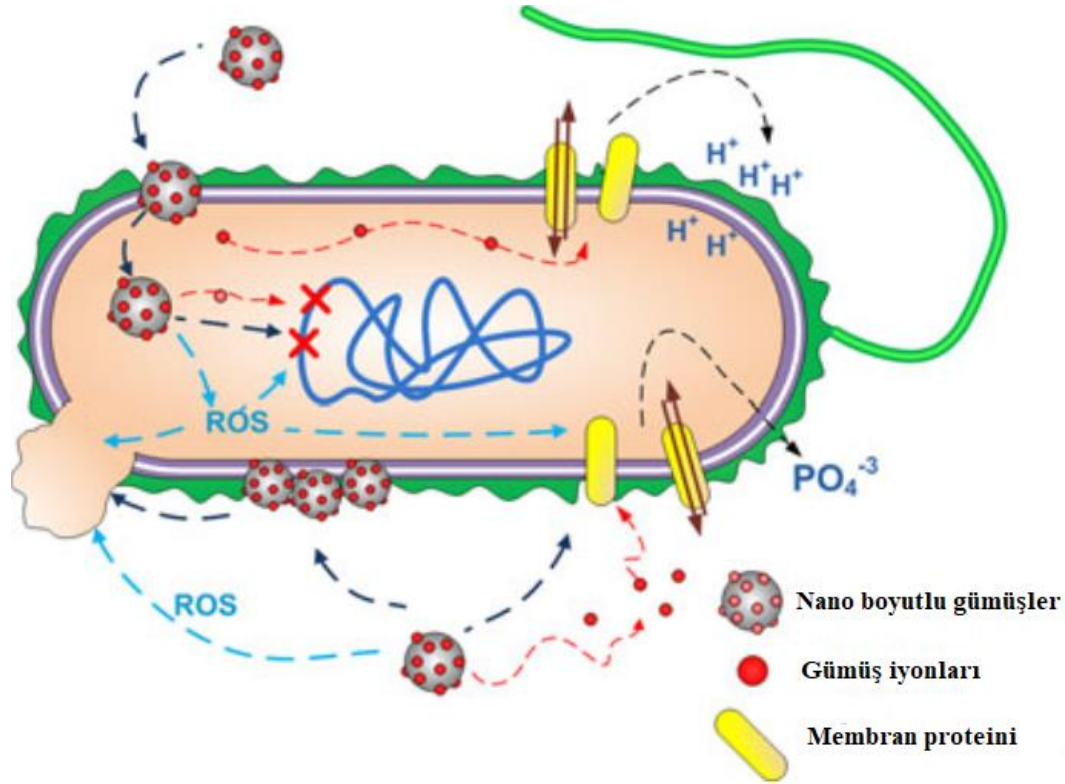
Gümüş nanopartiküllerden salınan gümüş iyonları, mikroorganizmaların organelleri ve enzim ve proteinlerdeki tiyol grupları ile etkileşime girebilmekte, vakuolde ve hücre duvarında granül ve stunt büyümesiyle gümüş birikmesine yol açmaktadır. Gümüş nanopartiküllerin oluşturduğu serbest radikaller, hücre duvarını ve hücre zarını tahrip etmekte ve liziz yoluyla bakterilerden K^+ iyonlarının (potasyum) salınmasına neden olup hücre ölümüne yol açmaktadır. AgNP'lerin bakterisidal reaktif oksijen türleri ürettiği, laktat dehidrojenaz gibi enzimleri inaktive ettiği, DNA'nın fosfat grupları ile etkileşime girdiği ve DNA replikasyonunu etkilediği bulunmuştur [35].

Antibakteriyel etkinin, AgNP boyutu ve konsantrasyonundan etkilendiği öne sürülmektedir. AgNP boyutunun küçülmesinin ve konsantrasyonunun artmasının antibakteriyel etkinin artmasını sağladığı düşünülmektedir [34].

Gümüş iyonlarının bakteri hücresine girmesi, DNA moleküllerini yoğunlaştırır ve çoğalma yeteneğini engeller, bu da hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır. Ayrıca gümüş iyonları sülfhidril grubuna bağlanarak proteinlerle reaksiyona girmektedir. ($-SH$) hızlı bir şekilde, bu da birden fazla enzimin aktivitesinin azalmasına veya kaybına yol açmaktadır [36].

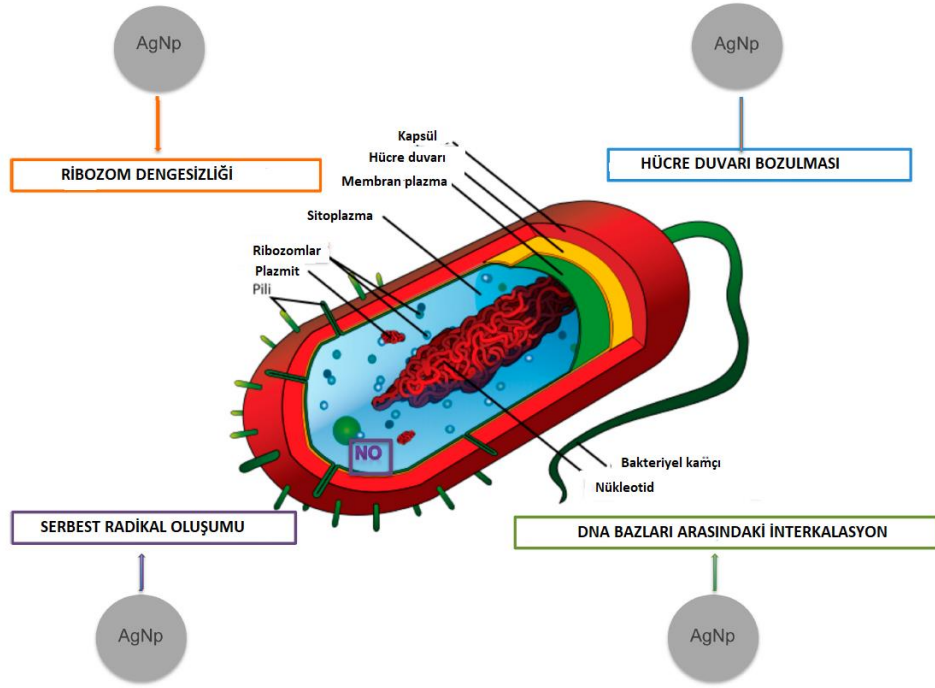
Ag^+ , protein deaktivasyonu ile sonuçlanan kararlı bağlar oluşturmak için hücre zarında bulunan proteinlere bağlanmaktadır. (Proteinler, ATP oluşumunda yer almakta ve hücre membranları boyunca iyon taşınmasına aracılık etmektedir.) Ayrıca, Ag^+ 'nın mikromolar derecelerinin, oksidatif fosforilasyondan solunum elektron taşınmasını engellediği

açıklanmıştır. Bakterilerin içindeki negatif yüklü plazmik DNA, gümüş iyonlarının bir başka hedefidir. Ag^+ 'nın nükleik asitlerle etkileşime girdiği kompleks oluşturabildiği bulunmuştur. Gümüş iyonları bakteriyel hücrelere yayılır, Ag^+ , pürin ve pirimidin baz çiftleri arasında araya girer, anti-paralel DNA ipliklerinin baz çiftleri arasındaki H-bağlarını bozarak replikasyon ve transkripsiyon işlemlerini engeller. Böylelikle hücre bölünmesini ve çoğalmasını önleyerek sterilizasyonu sağlamaktadır [36,37].



Şekil 2.9. Bakteriyel hücreler ile nano ölçekli gümüş etkileşimini özetleyen diyagram (Marambio-Jones [38]'den değiştirilerek).

Pozitif yüklü gümüş nanopartiküller, elektrostatik etkileşim yoluyla negatif yüklü bakteriye karşı daha büyük bir afiniteye sahiptirler ve bu da biyosidal aktivitenin önemli bir nedenidir. Hücre yüzeyindeki daha yüksek negatif yük nedeniyle, Gram negatif bakteriler ile nanopartiküller üzerindeki pozitif yük arasındaki etkileşim, Gram pozitif bakterilerden daha güçlüdür [38].



Şekil 2.10. AgNP'lerin toksik aktivitesinin mekanizması (Franci, [34]'den değiştirilerek).

2.10.1. Gümüş nanopartiküllerin zar proteinleriyle etkileşimleri

AgNP'nin bakteri hücre duvarına tutunabildiği ve sonuç olarak onu infiltre edebileceği bildirilmiştir. Bu eylem, hücresel içerik sızıntısına ve bakteri ölümüne yol açabilecek membran hasarı gibi bakteriyel membranda fiziksel değişikliklere neden olmaktadır [37].

Bakteriyel hücre duvarı, plazma membranının dışındaki şekerler ve amino asitlerden oluşan spesifik bir peptidoglikan tabakasıdır. Peptidoglikan tabakasında hücre solunumundan sorumlu çok sayıda reseptör ve enzim bulunur. Gümüş iyonları negatif yüklü peptidoglikan ile bağlanabildiğinden, peptidoglikan membran boyunca reseptörlerin ve enzimlerin tiol grubuna (SH) kolayca bağlanabilirler, bu da proteinlerin yanlış katlanmasına neden olarak, bakterilerin oksijeni metabolize eden enzimlerini daha da devre dışı bırakır ve bakteriyel ölüme yol açar. AgNP'lerin Gram negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisinin Gram pozitif bakterilerden daha güçlü olduğu bildirilmiştir. Bu esas olarak peptidoglikandan oluşan Gram-pozitif bakteriler (30 nm) ve Gram-negatif bakteriler (3–4 nm) arasındaki hücre duvarı kalınlığındaki farkla açıklanabilir. Gram pozitif bakteriler için kalın peptidoglikan molekülleri, gümüş iyonlarının hücre duvarının iç kısımlarına nüfuz etmesini önleyebilen,

bakteriyel hücre zarı çevresinde yoğun bir ağ yapılı hücre duvarı oluşturur. Bu nedenle, gümüş iyonları sadece dış peptidoglikan katmanlarıyla reaksiyona girer ve bakteriler üzerinde önemli olumsuz etkileri bir nebze olsa azalmaktadır [37,39].

AgNP'ler bakteriyel hücre duvarı ile etkileşime girebildiği gibi bakteriyel hücre zarı ile de etkileşime girmektedir. Bakteri hücresel zarının karboksil, fosfat ve amino gruplarının varlığından dolayı negatif yüke sahip olduğu kanıtlanmıştır. Pozitif yük, AgNP'ler arasında elektrostatik çekim sağlar ve mikroorganizmaların hücre membranını negatif olarak yükler, böylece AgNP'nin hücre membranlarına bağlanmasını kolaylaştırır [39].

2.10.2. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu antibakteriyel etkiler

Oksijen varlığı, ROS üretimi için büyük önem taşımaktadır [39].

AgNP'lerin antibakteriyel mekanizması ayrıca yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ve hidrojen peroksit, süperoksit anyon, hidroksil radikali, hipokloröz asit ve tekli oksijen gibi serbest radikal türlerini üretme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır [37].

Normal koşullar altında, hücrelerde üretilen ROS sınırlıdır ve antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılabilir. Gümüş iyonları da ROS oluşturabildiğinden, nano gümüşün antibakteriyel aktivitesini içeren ROS, hem nano gümüşten hem de salınan gümüş iyonlarından gelebilir. AgNP'ler ve gümüş iyonları, solunum zinciri dehidrojenazlarının inaktivasyonu ve sonunda hücrelerin solunumunu ve büyümesini inhibe eden aşırı ROS üretimine neden olmaktadır. Fazla ROS, bakteriyel hücreler içindeki oksidasyon / anti-oksidasyon dengesini bozarak oksidatif stres oluşumuna yol açabilir. Daha sonra ROS, proteinler, lipidler ve DNA gibi biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek önemli antibakteriyel etkilere neden olur [37,39].

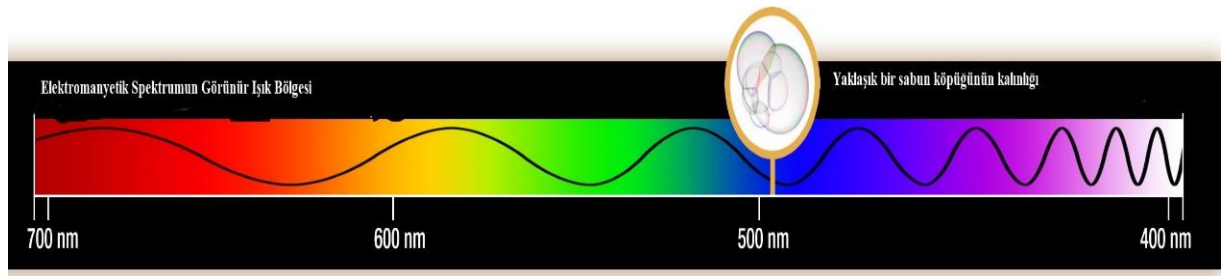
2.11. Işık

Işık, uzayda ışık hızı ile yayılan bir tür dalgadır. Dalgaların en önemli iki özelliği, dalga boyu ve frekanstır. Birim zamandaki salınımların sayısı frekans, dalganın iki tepe arasındaki mesafe ise dalga boyudur. Dalga boyu ve fraksanın çarpımı dalganın uzaydaki y hızını vermektedir. Işığın uzaydaki hızı saniyede 300.000 kilometredir. Işığın enerjisi frekansı ile doğru orantılı, dalga boyu ile ters orantılıdır. Işık ışınlarının dalga boyları ya da frekanslarına

göre sıralanmasıyla ışık tayfı elde edilir. Görünür ışık bu tayfin ortasında yer alır. Görünür ışığın dalga boyu 400 ile 700 nanometre arasındadır. Görünür ışık tayfinda dalga boyu en yüksek olan dalga boyu yaklaşık 800 nm ile kırmızı ışık yer alır bundan sonraki dalga boyu kısmına kızılötesi denir. Kızılötesinin dalga boyu daha uzun yani enerjisi daha azdır. Kızılötesinden sonra mikro ve radio dalgaları gelir. Yaklaşık dalga boyu 400 nm olan mavi ışıktan dalga boyu daha küçük olan en yakın kısımda morötesi ışık yer alır. Mor ötesinden sonra X-ışınları ve gama ışınları gelir ve bunları dalga boyları çok küçük yani enerjileri çok fazladır [40].

2.11.1. Görünür ışık

Elektromanyetik radyasyonun tamamı ışıktır, ancak bu radyasyonun yalnızca küçük bir bölümünü görebiliriz. Gözlerimizdeki koni şeklindeki hücreler, spektrumun bu dar bandında dalga boylarına ayarlanmış alıcılar gibi davranırlar. Spektrumun diğer kısımları, algımızın biyolojik sınırlamaları için çok büyük veya çok küçük ve enerji dalga boylarına sahiptir. Görünür ışığın tam spektrumu bir prizmadan geçerken, dalga boyları gökkuşağının renklerine ayrılır çünkü her renk farklı bir dalga boyudur. Menekşe yaklaşık 380 nanometre ile en kısa dalga boyuna sahiptir ve kırmızı yaklaşık 700 nanometre ile en uzun dalga boyuna sahiptir [41].



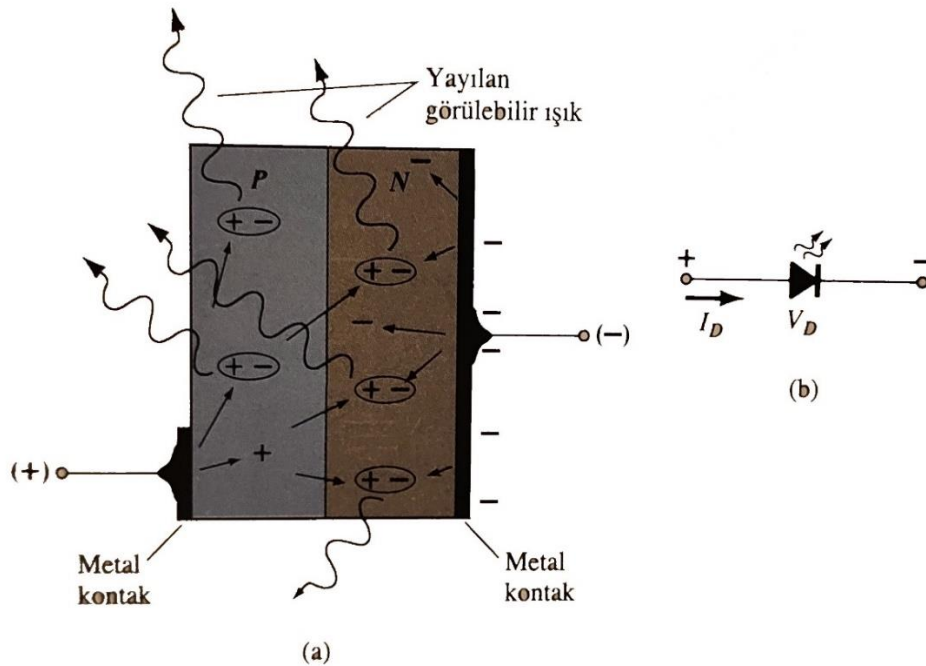
Şekil 2.11. Elektromanyetik spektrumun görünür bölgesi [41].

Ortalama bir insan gözünün görünür ışığa tepkisi 350 nm ile 700 nm arasındaki ışığa verilir ve 550 nm'deki ışıktaki tepki tepe yapmaktadır. En yüksek tepki yeşil renge verilmektedir. Yani insan gözü yeşil renge daha hassastır [42].

2.11.2. LED (Light Emitting Diodes)

Işık yayan cihazlar arasında en çok kullanılanı ışık yayan diyottur (LED). İsminden anlaşıldığı gib ışık yayan diyot, enerji verildiğinde, görünür olan veya olmayan ışık veren diyottur. İleri eğilimlenirse p-n eklemde, yapının içinde ve çoğunlukla eklem yakın noktalarda delikler ve elektronlar birleşmektedir. Bu birleşmede, bağlı bulunmayan serbest elektronların enerjisi başka bir duruma aktarılmaktadır. Bütün yarıiletken p-n eklemlerde bu enerji ya ısı şeklinde ya da foton olarak dışarı verilmektedir [42].

Bir LED'in temel yapısı Şekil 2.12.'de verilmiştir. İleri eğilimlemede çıkacak foton sayısını yüksek tutmak için p tipi malzemeye bağlı iletken metal yüzey küçük tutulmaktadır. Şekil 2.12.'de ileri eğilimlemeli eklem nedeniyle birleşen katılmış taşıyıcıların, birleşim bölgesinden ışık yayımına neden oldukları görülebilmektedir. Yapının kendisi elbette fotonların enerjisini soğuracaktır fakat şekilde görüldüğü gibi çoğu foton, etkileşmeden ayrılmaktadır. Genel olarak, elektroışıma yapan cihazların frekansından çok dalgaboyundan söz edilmektedir [42].



Şekil 2.12. (a) LED'in temel yapısı, (b) grafiğin sembolü [42].

2.11.3. Silikon Fotodiyot (Fotosensör)

Malzemeler yalıtkan, iletken ya da yarı iletken olmaktadır. Bunun nedeni iki farklı enerji bandı olmasıdır. Bir malzemenin yalıtkan olmasının nedeni değerlik ve iletim bantları arasındaki büyük enerji boşluğudur. İletkenlerde ise bu boşluk neredeyse yoktur. Elektronlar, iletkenlerde elektrik alanının uygulanmasıyla birlikte iletim bandında neredeyse hareket etmemektedir. Yarı iletkenler ise değerlik bandındaki elektronları uyararak serbest bırakmak için küçük bir enerjiye ihtiyaç vardır. Fotodiyotlar yarı iletken malzemelerdir. Fotodiyotlardaki elektron uyararak bu enerji fotondan gelmektedir. Fotodiyotlar gelen fotonları elektrik sinyaline çevirirler [43].

Bu tezde kullanılan fotodiyot, P-I-N fotodiyottur.

PIN fotodiyotlar, p ve n bölgeleri arasına sıkıştırılmış, katkısız bir iç bölgeye sahip tek bir kristalden oluşmaktadır. PIN fotodiyotları oldukça hassastır. Üretildiği malzemesine bağlı olarak 2 µm'ye kadar küçük dalga boylarına duyarlı foton dedektörleridir. Yüksek kuantum verimliliğine sahiptir. Tükenme bölgesini genişletmek için ters voltaj ayarlamaya gerek olmadığından, aynı zamanda yüksek güç ve bant genişliği verimliliğine de sahiptirler. PIN fotodiyotlarında, oluşan elektron / delik çiftleri, aktif bölgedeki güçlü elektrik alan nedeniyle verimli bir şekilde toplanmaktadır. Ayrıca bant genişliği verimliliği yüksektir [43].

2.12. Aktivasyonu Yapılan Polimer Malzemenin (Ag-taşıyıcılı /CMC/MA/ODA-MMT'nin) Temel Bileşenleri

2.12.1. Karboksimetil selüloz (CMC)

Kimyasal formülü: $C_8H_{16}NaO_8$

Tüm polisakkaritler arasında, karboksimetil selüloz (CMC) günümüzde en yaygın kullanılan ve en kolay elde edilebilen selüloz eterdir. CMC, selüloz omurgasını oluşturan glikopiranoz monomerlerinin bazı hidroksil gruplarına bağlı karboksi metil gruplarına (CH_2COOH) sahip bir selüloz türevidir. Biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, hidrofilik, toksik olmayan ve ucuz bir polisakkarittir. Bir dizi sodyum karboksimetil (CH_2COONa) ve hidroksil ($-OH-$) grupları sayesinde suda çözünürlüğü ve yüksek kimyasal

stabiliteyi artırır. Nazal ve bukkal ilaç verme sistemleri için özellikle biyoadhesif materyal olarak çeşitli ilaç uygulamalarında kullanılmıştır [31,39].

Suda çözünür bir karbonhidrat polimeridir, endüstriyel olarak büyük ölçekte üretilebilir ve gıda ve medikal ile ilgili alanlarda geniş uygulama alanına sahiptir. CMC ayrıca ilaçlarda kıvam arttırıcı ajan olarak, petrol sondajı endüstrisinde viskozite değiştirici ve su tutma ajanı olarak hareket ettiği sondaj çamurunun bir bileşeni olarak kullanılmaktadır [31].

CMC'nin nanopartikül oluşturulan biyopolimerlerde kullanımında en yaygın strateji, nanopartiküllerin aglomerasyonlarından kaçınarak, nanopartikül yüzeyine emilebilen veya bağlanabilen koruyucu maddelerle korumaktır. Stabilizatörler, partiküllerin boyutunun ve dispersiyon stabilitesinin kontrol edilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Karbonhidratlar, sadece stabilizatör olarak değil, aynı zamanda indirgeyici bir ajan olarak da hareket ederek asil metal nanopartiküllerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu tür konjuge suda çözünür nanopartiküller, potansiyel antimikrobiyal uygulamalara sahiptir. Bu nedenle birçok araştırmacı, metal nanopartikülleri oluşturmak ve stabilize etmek için çeşitli doğal biyopolimerler kullanmıştır. Negatif yüklü çözündürülmüş CMC, pozitif yüklü gümüş katyonların polimerik zincirlere çekilmesini ve ardından mevcut indirgeme grupları ile indirgemeyi kolaylaştırır [31].

2.12.2. Montmorillonit (MMT)

Montmorillonit (MMT), Fransa'nın Montmorillon adlı yerleşim yerinde 1848 yılında bulunmuştur ve adını buradan almıştır. Montmorillonit için H. Le Chatelier çalışmalarında $4\text{SiO}_2 \bullet \text{Al}_2\text{O}_3 \bullet \text{H}_2\text{O} + \text{suda. molekül}$ formülünü sunmuştur [30].

Kil, biyoyumlu, toksik olmayan, doğal oluşum ve düşük maliyet özellikleri nedeniyle birçok araştırmacı tarafından da tercih edilen adaydır. Yüksek yüzey alanına sahiptir ve hidrofiliktir [45].

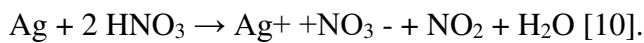
MMT, polimer nanokompozitlerde kullanılmaktadır. Katmanlı bir kil olan MMT, ara katman, şişme ve iyon değiştirme özelliklerine sahiptir. MMT, zorluk çekmeden temel tabakalara ayrılabilir. Bu nedenle, nano ölçekli metallerin elektrotsuz kaplama yoluyla hazırlanmasında substrat olarak genellikle bu tabakalar kullanılmaktadır. MMT ara katman

alanı, geçiş metali komplekslerini sabitlemek için destek ve katyonik iyonlar için adsorban olarak malzeme ve biyomateryal nanopartiküllerin sentezi için kullanılmaktadır [11].

Kil minerallerinin çoğu negatif yüke sahiptir ve kenarları dahil her yüzeyi katyon değiştirebilir. Kil (silikat) yüzeyi ile organik molekül yüzeyleri arasında hem elektrostatik hem de fiziksel kuvvetler etkileşime katılmaktadır. Adsorplanan organik madde ve kil minerali arasındaki kimyasal etkileşim, adsorplanan organik molekülün yapısı (molar kütle ve zincir uzunluğu gibi), negatif yüklü gruplar (-COO⁻, -SO₃⁻), pozitif yüklü gruplar (-NH₃⁺), yanında organik moleküldeki hidrofobik 16 gruplar (-C-C-), π bağları (-C=C-, aromatik halkalar) ve elektronegatif gruplar (-C=O-C-O-C, OH) gibi fonksiyonel gruplara göre değişmektedir. Adsorplanan organik maddeler ve kil minerali arasındaki etkileşim doğrudan iyon değişimi, yarı tuz (hemisalt) oluşumu, kil yüzeyinde organik moleküllerin protonlanması, π elektronlarının verilmesi, iyon-dipol oluşumu, hidrojen bağı oluşumu ve -zayıf fiziksel kuvvetler ile meydana gelmektedir. ODA'nın amin grubunun Na⁺-MMT tabakaları arasına nüfuzu ve iyon-değişimi sonucunda modifiye edilmiş organik kil Oktadesilamin-Montmorillonit (ODA-MMT) elde edilmektedir [10].

2.12.3. Gümüş Nitrat (AgNO₃)

Gümüş nitrat, inorganik bileşiktir. Fiziksel görünüşü renksiz kristaldir. Temas edildiği zaman oksitleyici özelliğinden dolayı ciltte siyah lekeler bırakmaktadır [10]. Antimikrobiyal özelliği vardır bu özellikten yukarıda ayrıntılı olarak bahsedilmiştir. Bileşiğin sentezi aşağıdaki formülde belirtildiği gibi yapılır.



2.12.4. Maleik asit (MA)



Maleik asit, ozonoliz yoluyla glioksilik asit üretimi için endüstriyel bir hammadDEDİR. Maleik asit, bir dikarboksilik asit (iki karboksil grubuna sahip molekül) olan organik bir bileşiktir. Molekül, iki karboksilik asit grubu ile çevrili bir etilen grubundan oluşur. Maleik asit, butendioik asidin cis izomeridir, fumarik asit trans izomerdir. Cis izomeri, ikisinden daha

az kararlı olanıdır; yanma ısısındaki fark 22,7 KJ / mol'dür. Maleik asidin fiziksel özellikleri fumarik asitten fiziksel olarak çok farklıdır. Maleik asit suda çözünürken, fumarik asit suda çözünmez ve maleik asidin erime noktası (130- 131 derece santigrat) fumarik asitten (287 derece santigrat) çok daha düşüktür [46].



3. MATERYAL METOT

3.1. Ön Çalışmalar

3.1.1. Ag-taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT'nin ana malzemelerinin hazırlanması

Karboksimetilselüloz (CMC) (Chem Cruz'dan satın alınmıştır.)

Oktadesilamin-Montmorillonit Kil (ODA-MMT) (Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. (aminopropiltrietoksilan kütle olarak %0.05-5, oktadesilamin kütle olarak %15-35))

Poly (acrylic acid-co-maleic acid) (MA) (Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır (kütle olarak %47,17, %50 konsantrasyonlu su çözeltisi)

Gümüş Tuzu (AgNO_3) (Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. (%99.995, erime noktası 202°C , $d = 4.35 \text{ g cm}^{-3}$))

Distile su

%10'luk 50 ml'lik CMC karışımı hazırlandı. Bunun için 5 gr CMC'nin olduğu beherin içerisine yavaş yavaş 50 ml olana kadar distile su ilave edildi. Bu karışım homojen oluncaya dek manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. %4'lük ODA-MMT ilave edildi ve tekrar homojen oluncaya kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

%50'lik 0,8 ml MA 1,2 ml distile su eklenerek, 2 ml %20'lik MA elde edildi.

AgNO_3 , hassas terazide 10 mg olarak ölçülerek 10 adet şişeye konulmuştur.

3.1.2. Aktivasyon ve Algılama Sistemi Tasarımı

Sistem, görünür ışığın farklı dalga boyları olan kırmızı, mavi ve yeşil renkli LED ile Ag-taşıyıcılı /CMC/MA/ODA-MMT'nin aktive edilmesi ile AgNP üretimi ve saçılan ve geçen ışığın milivolt değerlerinin ölçülmesi ile AgNP üretiminin olduğunun ispatlanması için tasarlanmıştır.

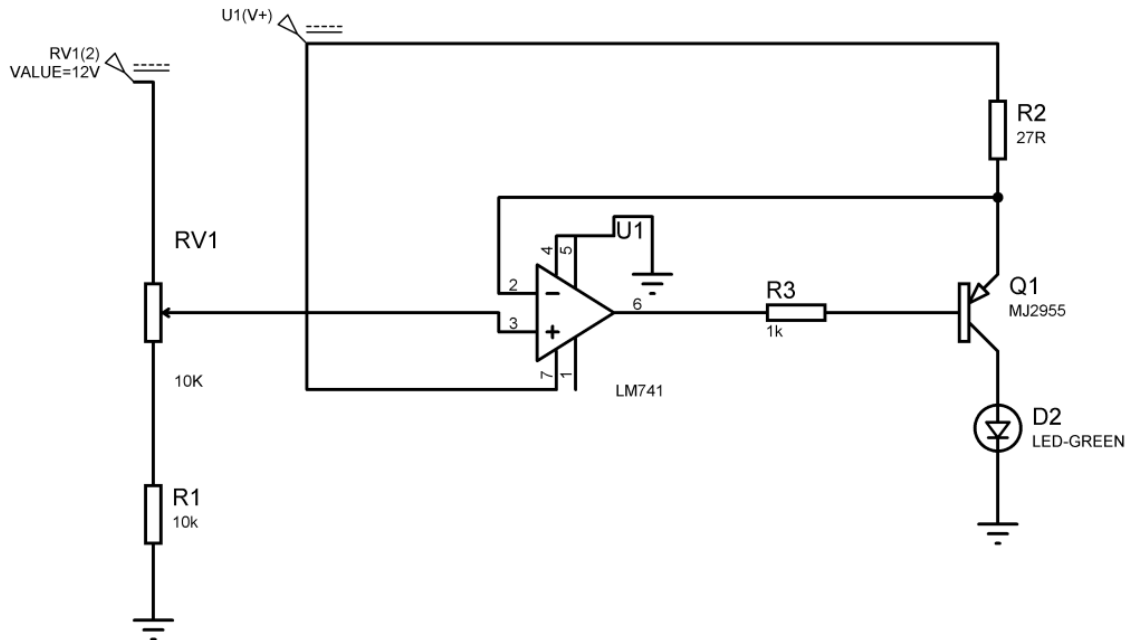
Sistem 3 ana bölümden oluşur:

İlk bölüm, LED sürücü devresidir.

İkinci bölüm, Ag-taşıyıcılı/CMC/MA/ODA-MMT'nin kuvartz küvete konulup yerleştirildiği, LED ve PIN fotodiyotların takıldığı kara kutudur.

Üçüncü bölüm, geçen, saçılan ve fark ışığın algılandığı fotosensörlerin bulunduğu ve fotosensörlerin milivolt yanıtlarının ölçüldüğü kısımdır.

LED sürücü devresi



Şekil 3.1. LED sürücü devresinin çizimi (Görseldeki devre tasarımında yeşil ışık temsilidir).

LED'ler çalıştıktan belirli bir süre sonra ısınmakta, yoğunlukları ve dalga boyları biraz değişmektedir. Bu parametrelere bağlı olarak LED'lerden geçen akım da değişmektedir. Bu nedenle LED'leri sürmek için sabit bir akım kaynağı kullanılmıştır.

Bu sistemde ışık kaynağının olduğu yer jaklı tasarlanarak farklı LED'lerin rahatlıkla takıp çıkarılması amaçlanmıştır.

Sistemdeki 10 K Ω luk ayarlanabilir direnç ile LED'lerden geçen akımın artırılıp azaltılması amaçlanmıştır.

LED'ler seçilirken 4 özelliğe dikkat edilmiştir:

- Güçlerinin aynı olması: Intensity değerlerini eşit ayarlayabilmek için ön koşuldur.
- Aynı kılıf ölçülerine sahip olmaları: Karakutu tasarımında standardizasyonu sağlamak amaçlanmıştır.
- Işığın aynı açı ile yayılması: Intensity değerlerini eşit ayarlayabilmek için ön koşuldur.
- Çalışabileceği minimum ve maksimum akım değerleri: Devre tasarımının doğru yapılabilmesi amaçlanmıştır.

Bu nedenlerle yapılan araştırmalar sonucunda gücü 0.5 W, kılıf ölçüsü 3.2x2.8x1.9 mm, açısı 120° ve çalışabildiği akım aralığı 0 mA- 150 mA olan mavi (Avago Technologies, dalga boyu: 420-500nm), yeşil (Kingbright dalga boyu: 480-590 nm) ve kırmızı (Avago Technologies, dalga boyu: 580-650 nm) ultra parlak SMD LED'ler satın alınmıştır.

Aynı akım değerlerine ayarlanan LED'lerde insan gözü yeşil LED'i daha parlak görmektedir. Bu durum bölüm 2.10.1'de açıklanmıştır. Fakat elektronik cihazlarla ölçüldüğü zaman durum böyle değildir. Tablo 3.1'de görülebileceği fourier dönüşümlü optik spektrum analizörü THORLABS FTS CCS100 cihazı ile ölçülen aynı akım değerine ayarlanan mavi, yeşil ve kırmızı LED'lerde intensity (aynı açıdan çıkan foton demeti miktarı) değerleri mavi>kırmızı>yeşil'dir. LED'lerde ayarlanan akım değiştikçe intensity değeri de değişmektedir.

Tablo 3.1. Her biri 20 mA'e ayarlanan mavi, yeşil ve kırmızı LED'lerin intensity tablosu.

LED rengi	Intensity değeri (a.u.)
Mavi	0,9
Yeşil	0,3
Kırmızı	0,4

Yapılan çalışmanın doğru olabilmesi için aktivasyon yapılırken her LED'in aynı intensity değerine ayarlanması gerekmektedir. Intensity ayarı da LED'in üzerinden geçen akım ayarlanarak yapılmaktadır. Bu nedenle LED sürücü devresi ayarlanabilir sabit akım kaynağıdır.

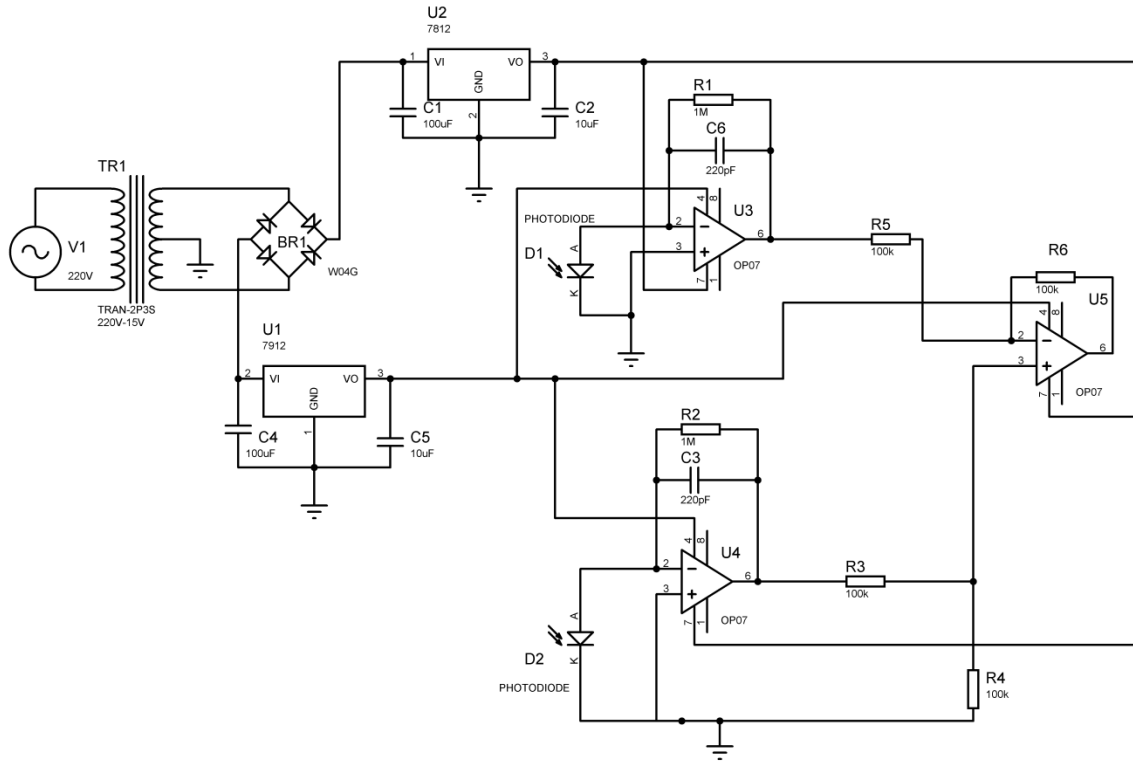
Her bir LED'in farklı akım değerlerindeki intensity değerleri ve dalga boyları, fourier dönüşümlü optik spektrum analizörü THORLABS FTS CCS100 cihazı ile ölçülmüştür. Intensity değerleri ölçülerek, aktivasyon işlemi sırasında her bir LED'in aynı intensity değerine ayarlanması sağlanmıştır.

Çıkan ölçüm sonuçlarına göre çalışılacak intensity değerine (0,6 a.u.) göre LED'lerin miliamper ve dalga boyu değerleri Tablo 3.2.'de belirtilmiştir. Yapılan aktivasyon işlemlerinde her LED Tablo 3.2.'de verilen akım değerleri ayarlanarak yapılmıştır.

Tablo 3.2. Çalışma yapılan intensity değerine (0,6 a.u.) karşılık her LED'in akım ve dalga boyu değerleri.

LED	mA değeri	Dalga boyu
Yeşil	50	525 nm
Mavi	10	450 nm
Kırmızı	30	630 nm

Saçılan ve geçen ışığın algılandığı fotodiyot devresi



Şekil 3.2. Saçılan ve geçen ışığın algılandığı fotodiyot devresi.

Tasarlanan bu ölçüm devresinde 3 adet ölçüm alınabilmektedir. Saçılan, geçen ışık ve bunların arasındaki fark değerleri ölçülebilmektedir.

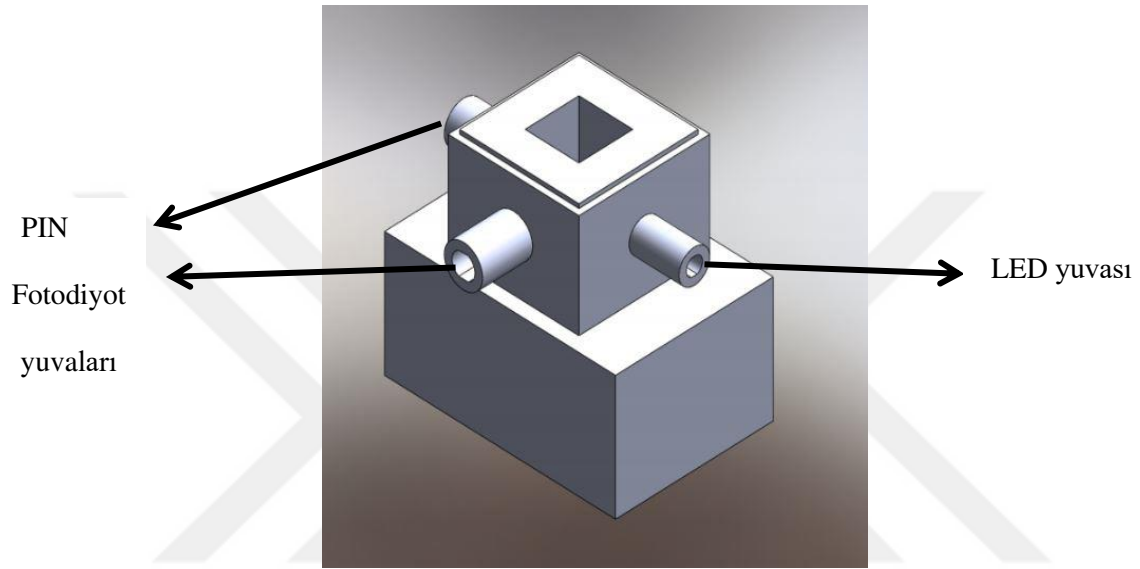
Kullanılan fotosensör, ölçüm dalga boyu aralığı olarak 430-1100 nm olması (kullanılan LED'lerin dalga boyu aralıklarına uygun), kılıf ölçülerinin tasarlanan kara kutuya ve ledlere uygun olması, silikon PIN fotodiyotların ölçüm verimliliğinin yüksek olması nedeniyle VISHAY marka BPW34 model Silikon PIN fotodiyot kullanılmıştır.

PIN fotodiyotların ölçüm sonuçları için 3 opamptan ve topraktan birer çıkış alınmıştır. Opamptan gelen ölçüm çıkışı multimetrenin bir probuna ve topraktan gelen çıkış diğer probuna bağlanarak milivolt cinsinden ölçümler alınması için tasarlanmıştır.

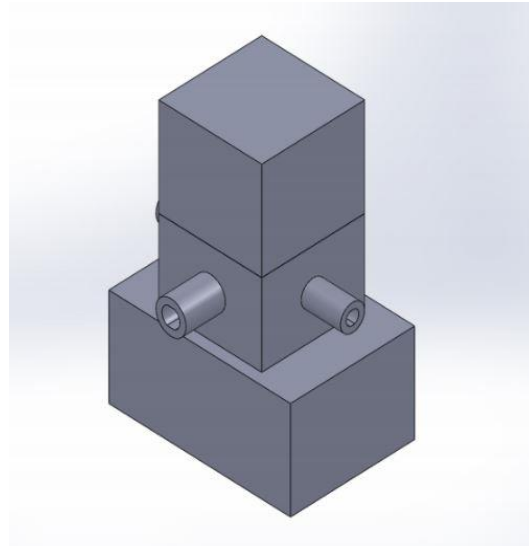
PIN fotodiyotların ölçüm sonucu olarak milivolt değerlerini ölçebilmek akımdan gerilime dönüştürücü ve diferansiyel amplifikatör (temel fark alıcı) kullanılmıştır.

Diferansiyal amplifikatör sistemde, geçen ve saçılan ışık arasındaki mV farkının bir fikir verebilir düşüncesi ile yerleştirilmiştir. Fakat gerilim farkı sürekli değişmiş, aktivasyon tamamlanınca gerilim farkı sabit kalmıştır ve bu fark saçılan ve geçen ışığın kaydedilen değerlerinin matematiksel farkı ile aynıdır. Bu nedenle bu uçtan ölçüm sonuçlarını kaydetmek gerekli görülmemiştir.

Aktivasyonun gerçekleşeceği ortam olan kara kutunun tasarımı



Şekil 3.3. Karakutu açık hali.



Şekil 3.4. Karakutu kapalı hali.

Kara kutu, spektrofotometrelerdeki kuvvet yuvalarına benzer olarak tasarlanmıştır. Kara kutunun bir adet LED yuvası, 2 adet de PIN fotodiyot yuvası bulunmaktadır. LED yuvasının tam karşısında yer alan yuvadaki PIN fotodiyot geçen ışığı, sağ tarafında bulunan yuvadaki PIN fotodiyot ise saçılan ışığı ölçmektedir.

Tasarım Solidworks programında çizilerek 3 boyutlu yazıcı ile (Zortrax m200) içerideki ışığı yansıtmaması ve dışarıdan ışık sızması için (yapılacak ölçümleri saptıracağından dolayı) siyah filament (ABS 1.75mm) kullanılarak yapılmıştır.

3.1.3. Kırmızı, Mavi ve Yeşil LED'lerin Enerjilerinin Hesaplanması

- Işık enerji hesaplaması:
- $E = h \cdot c / \lambda$
- $c = 3 \cdot 10^8$ m/s
- $h = 6,636 \cdot 10^{-34}$ J.s

Bu formüle göre tüm LED'lerin ölçüm alınan tüm mA değerlerindeki enerji hesaplaması yapılmıştır.

Tablo 3.3. LED'lerin çalışmada kullanılan intensity değerindeki enerji değerlerinin tablosu.

Renk	Ayarlanan Akım Değeri (mA)	Enerji (J)
Mavi	10	$440,1 \times 10^{-21}$
Yeşil	50	$382,5 \times 10^{-21}$
Kırmızı	30	$315,6 \times 10^{-21}$

Yukarıdaki tabloda görüldüğü gibi aynı intensity değerleri için enerji sıralaması:

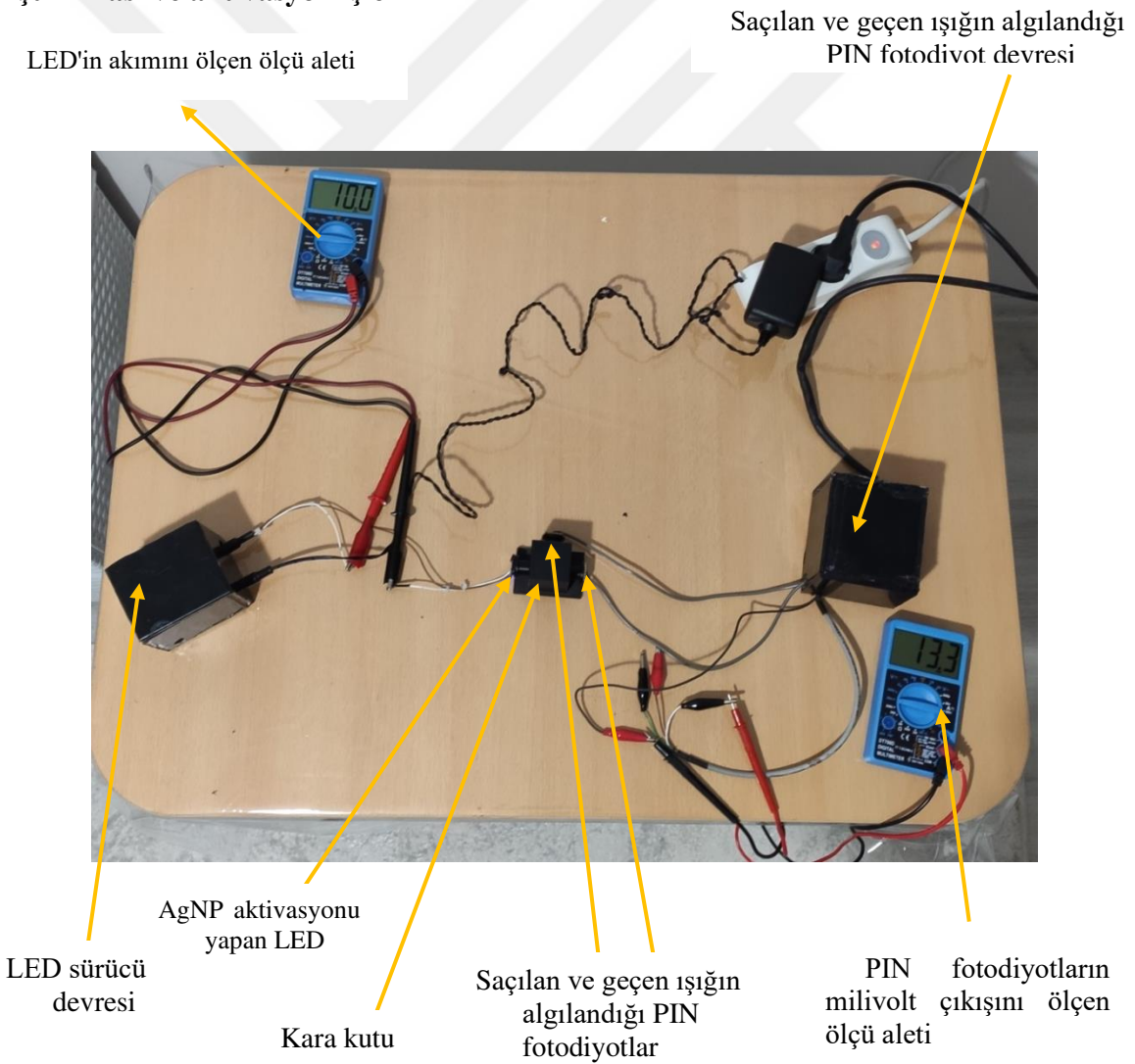
Mavi > Yeşil > Kırmızı şeklindedir.

3.2. Deney Aşaması

3.2.1. Nanopartikül sentez aktivasyonu yapılacak olan Ag Taşıyıcılı- CMC/MA/ ODA-MMT sentezi

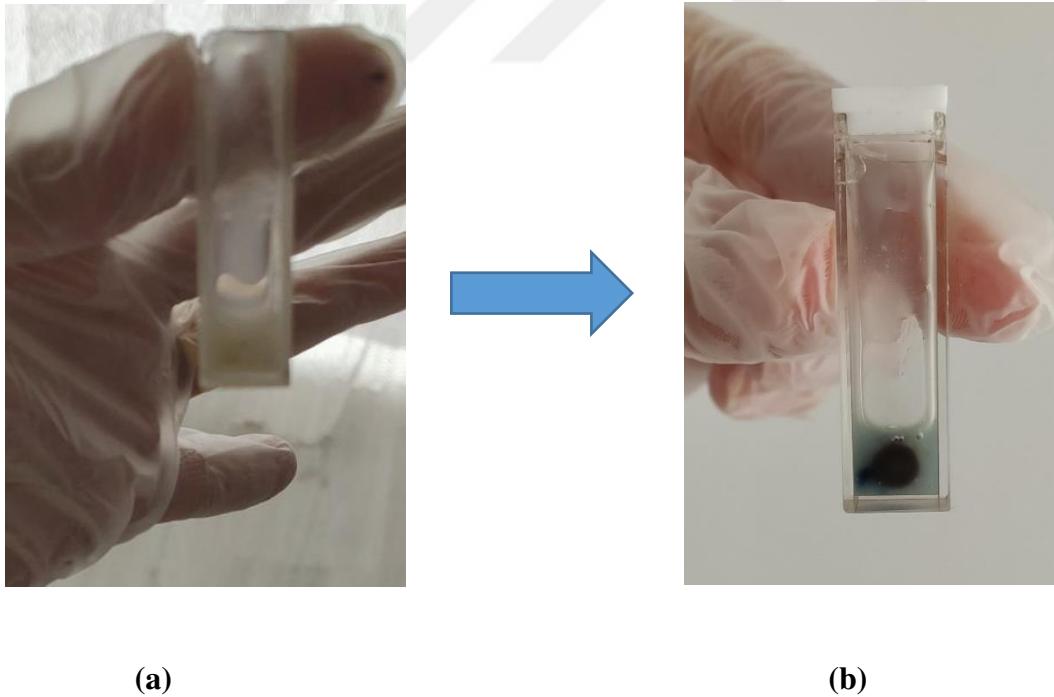
CMC/ODA-MMT karışımından insülin şırıngası ile 0,8 ml alınarak içerisinde 10 mg AgNO_3 olan şişeye konulur. Bunların üzerine insülin şırıngası ile alınan 0,2 ml %20'lik MA eklenerek 1 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Hazır olan karışım kuvartz küvete dökülür.

3.2.2. Görünür ışık ile nanopartikül sentez aktivasyonu yapan sistemin çalıştırılması ve aktivasyon işlemi



Şekil 3.5. Görünür ışık ile nanopartikül sentez aktivasyonu yapan sistem.

- 1) Aktivasyon yapacak LED jak ile LED sürücü devresine bağlanır.
- 2) LED sürücü devresi 12 V adaptöre takılır ve adaptör 220 V şehir şebekesine bağlanır. Işık ölçüm devresi de 220 V şehir şebekesine bağlanır.
- 3) Aktivasyon yapacak LED'in uçları ampermetreye bağlanır burdan akım değeri görülerek, LED sürücü devresinde bulunan potansiyometre ile ilgili akım değeri ayarlanır.
- 4) LED ve PIN fotodiyotların ışık sızıntısının olmaması için kara kutuya yerleştirilirken siyah silikon ile yuvalarına müherlenerek yerleştirilir.
- 5) Kuvartz tüpteki Ag taşıyıcılı- CMC/MA/ ODA-MMT karakutuya yerleştirilir. Böylelikle aktivasyon işlemi başlamış olur.
- 6) 0. Dakikadan itibaren her 2 dakikada bir sıra sıra önce geçen ışığın ölçüldüğü fotodiyotun opampının çıkışı ve toprak çıkışı voltmetreye bağlanır ve okunan milivolt değeri not edilir. Hemen arkasından saçılan ışığın ölçüldüğü fotodiyotun opampının çıkışı ve toprak çıkışı voltmetreye bağlanır ve okunan milivolt değeri not edilir. Saçılan ve geçen ışık milivolt değerleri sabitleninceye kadar 2 dakika aralıklarla ölçüm alınır.
- 7) Saçılan ışığın ve geçen ışığın sabitlenmesi aktivasyon işleminin tamamlandığı anlamına gelir. Böylelikle AgNP/ CMC/MA/ ODA-MMT oluşmuş olur.



Şekil 3.6. 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmış Ag taşıyıcılı- CMC/MA/ ODA-MMT'nin NP aktivasyonu öncesi (a) ve aktivasyondan sonraki hali (b).

Malzemenin renginin koyuya dönmesinin nedeni AgNP oluşumudur.

3.2.3.Yeşil, Mavi ve Kırmızı LED’ler ile Aktive Edilmiş AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT’nin Antimikrobiyal Testi

Ag-taşıyan CMC/MA/ODA-MMT yeşil, mavi ve kırmızı LED ile aktive edilip AgNP sentezi gerçekleştirildi. Oluşan AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT’nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED’ler ile aktive edilmesinin ve farklı konsantrasyonlarının, antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla bu testler yapılmıştır.

Yeşil, mavi ve kırmızı LED ile aktive edilmiş AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunelerinin başlangıç konsantrasyonu 2,5 mg/ml’dir. Bu numunelerin her birinin 8 farklı konsantrasyonu (2,5 mg/ml, A:0,5 mg/ml, B: 0,1 mg/ml, C: 0,05 mg/ml, D: 0,01 mg/ml, E: 0,005 mg/ml, F: 0,001 mg/ml, O: 0 mg/ml (kontrol)) Gram negatif *E.coli* 25922, *P.aeruginosa* 27853, Gram pozitif *E.faecalis* 29212 bakterileri ve maya olarak *Candida albicans* 10231 kullanılarak disk difüzyon testi yapılmış ve sonuçlar 24 ve 48 saat inkübasyon ile elde edilmiştir.

Tablo 3.4. Antibakteriyel testlerde LED renklerine ve konsantrasyonlara göre numunelerin kodlanması.

LED	2,5	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
rengi	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
Yeşil	S1	S1A	S1B	S1C	S1D	S1E	S1F
Mavi	S2	S2A	S2B	S2C	S2D	S2E	S2F
Kırmızı	S3	S3A	S3B	S3C	S3D	S3E	S3F

24 ile 48 saat inkübasyon arasında inhibisyon zonlarında farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.

Disk diffüzyon testi ile malzemelerin farklı konsantrasyonlarının test mikroorganizmaları üzerindeki etkisine bakılmıştır. Farklı konsantrasyonların denemeleri

yapılarak etkisi olabilecek konsantrasyon aralığı (yüksekten düşüğe doğru) belirlenmiştir. Mikroorganizmaların oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek antimikrobiyal aktivite varlığı ve etkisi ile ilgili sonuçlar elde edilmiştir.

Bir mikroorganizmanın oluşturduğu inhibisyon zon çapı ne kadar büyükse, test edilen malzemenin antimikrobiyal aktivitesi de o kadar yüksek olarak değerlendirilmektedir.

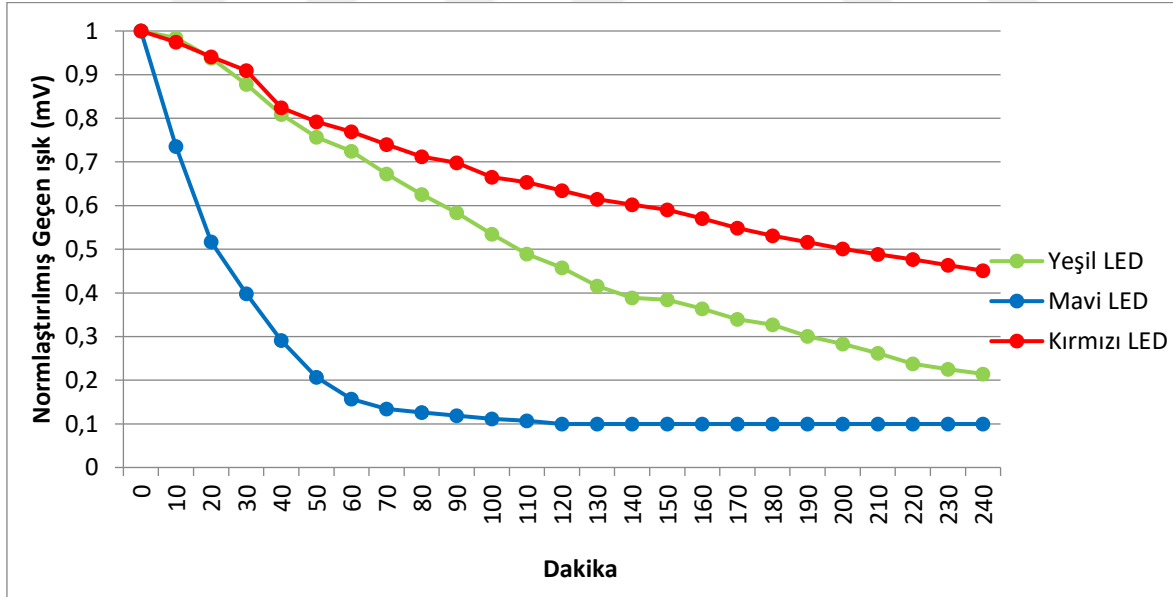


4. BULGULAR

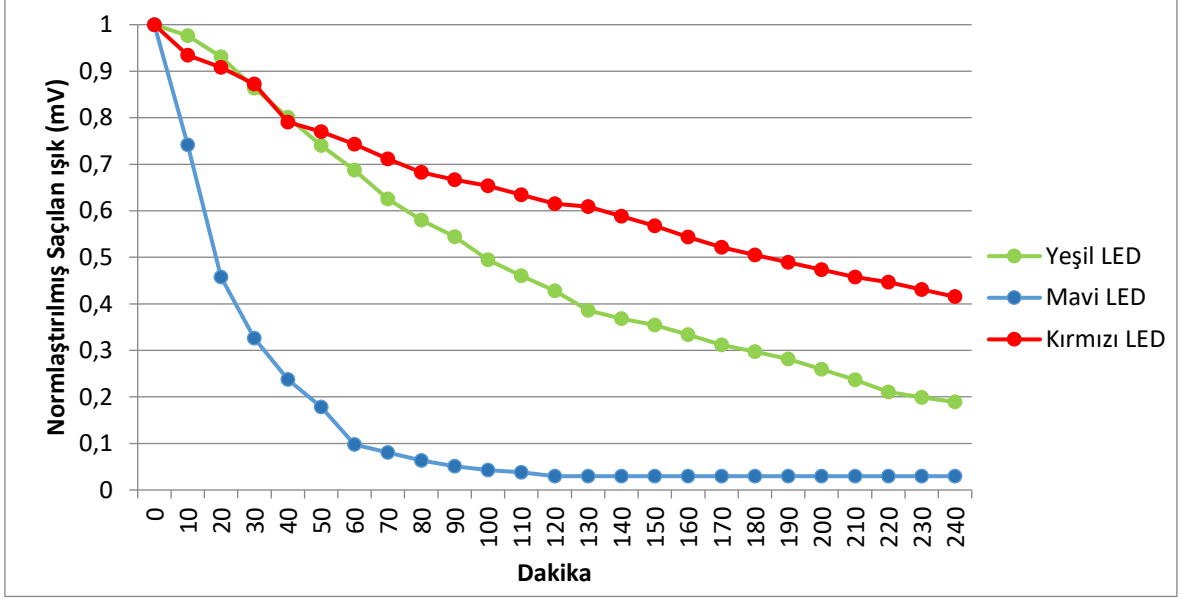
4.1.Yeşil, Mavi ve Kırmızı LED’ler ile NP Aktivasyonu Yapılan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT Elektriksel Yanıtları

Bu ev yapımı sistem tasarlandıktan sonra ev koşullarında (manyetik karıştırıcısız) Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ODA-MMT karışımı manuel karıştırılarak oluşturulmuş ve nanopartikül aktivasyonu sağlanmıştır. Daha sonra laboratuvar koşullarında 15 dakika ve 1 saat manyetik karıştırıcı ile malzemeler karıştırılmış, Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT oluşturulmuş ve nanopartikül aktivasyonu sağlanmıştır. Sistemden alınan geçen ve saçılan ışığın mV değerleri manuel karıştırılan ve 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılan numune için 10 dakikada bir kaydedilmiştir (daha kısa sürelerde küçük değişimler olduğu için). 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılan numunenin ise 2 dakikada bir geçen ve saçılan ışık mV değerleri kaydedilmiştir (çok kısa sürelerde değişiklik olduğu için). PIN fotodiyotlardan alınan ölçümler standardizasyon amaçlı normlaştırılarak grafik haline getirilmiştir.

4.1.1. Manuel karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT’nin elektriksel yanıtları



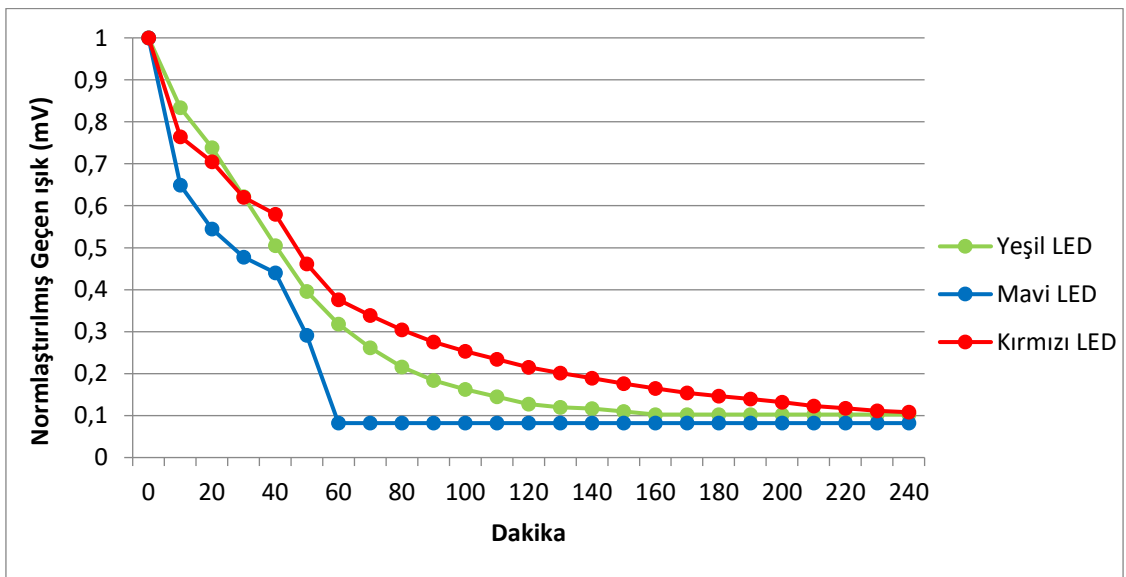
Şekil 4.1. Manuel karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED’lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT’nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.



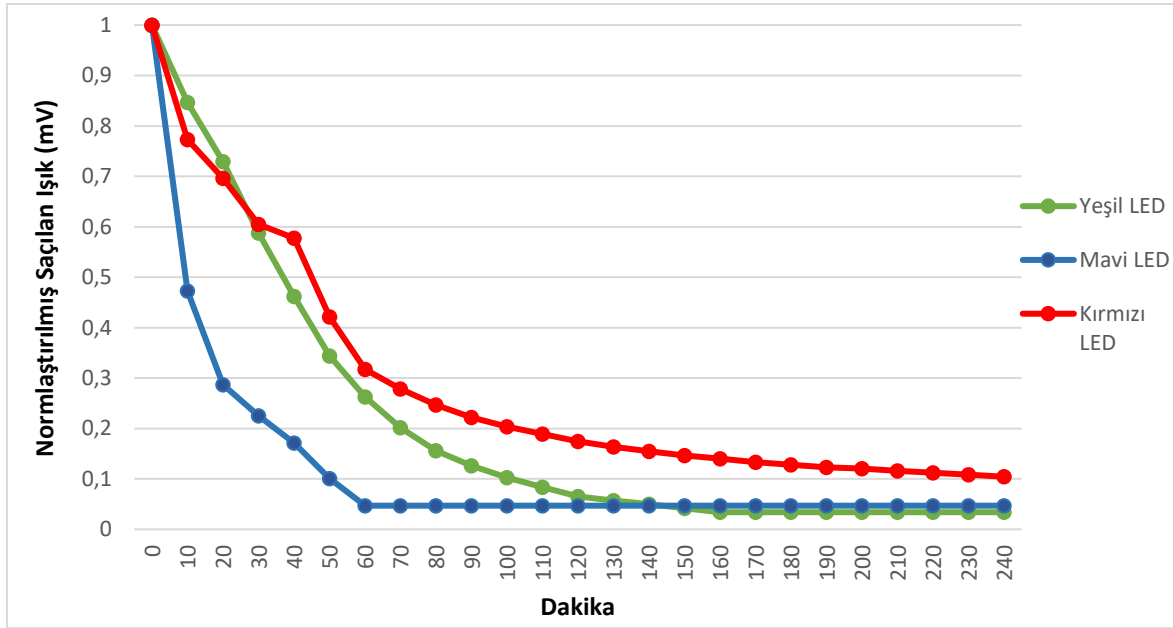
Şekil 4.2. Manuel karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED’lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT’nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.

Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT manuel olarak karıştırıldığı zaman 120. Dakikadan sonra mavi LED ile yapılan aktivasyonun eğrisinin stabil hale geldiği gözlemlenmiştir. Fakat 240 dakika sonunda bile yeşil ve kırmızı LED ile yapılan aktivasyonun eğrisinde bir stabilizasyon gözlemlenmemiştir.

4.1.2. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT’nin elektriksel yanıtları



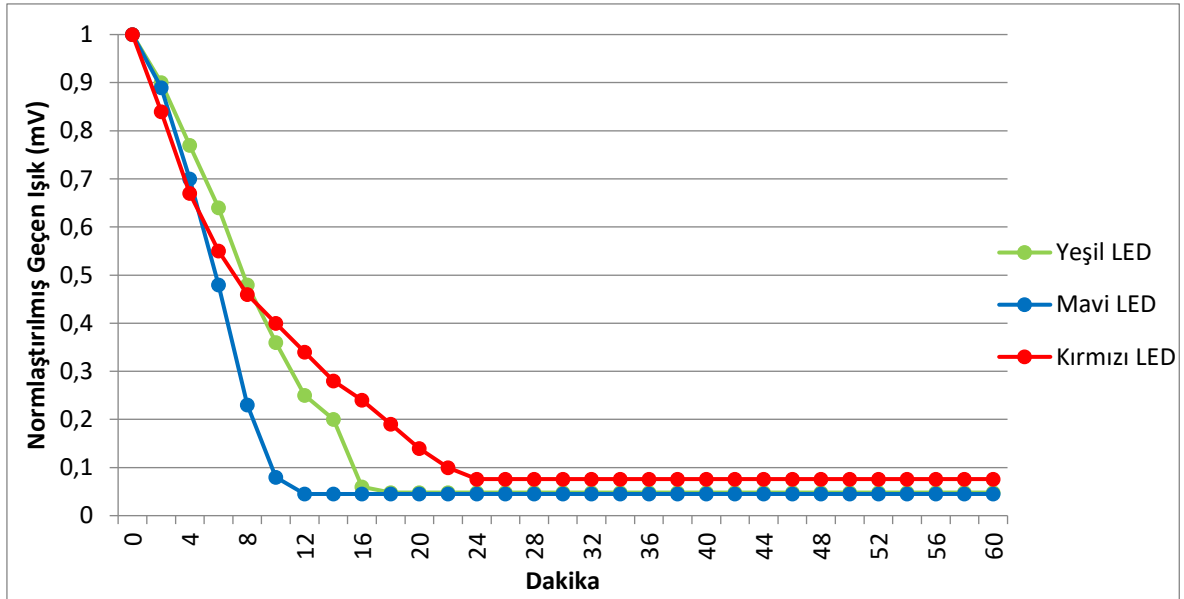
Şekil 4.3. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.



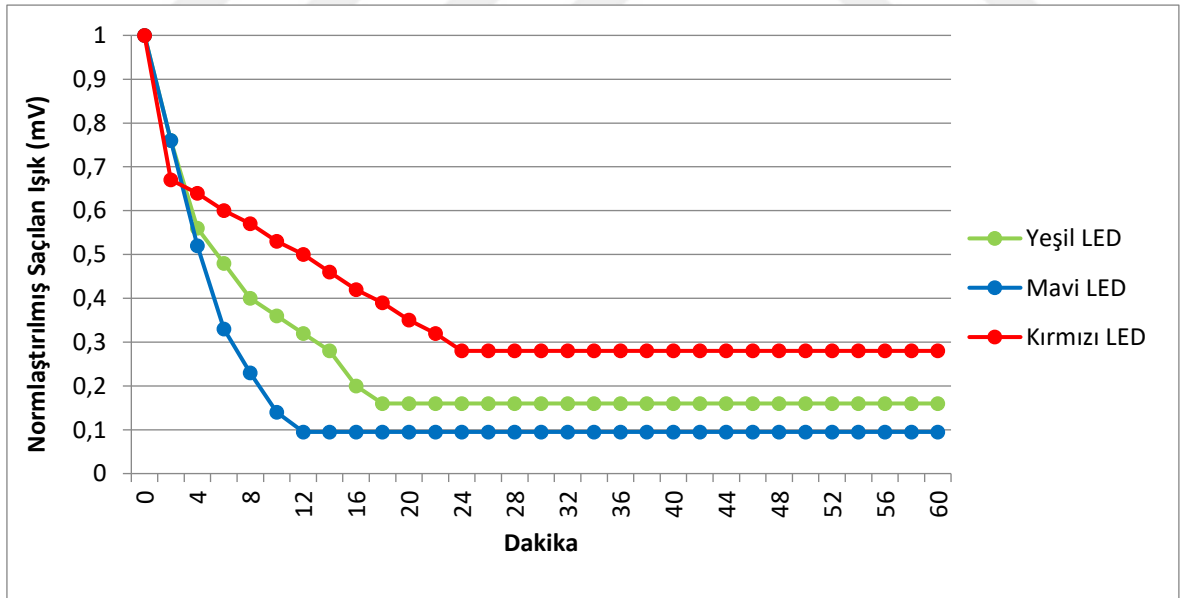
Şekil 4.4. 15 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.

Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT manyetik karıştırıcı ile 15 dakika karıştırılan numunelerinde 60. Dakikadan sonra mavi LED, 160. Dakikadan sonra da yeşil LED ile yapılan aktivasyonun eğrisinin stabil hale geldiği gözlemlenmiştir. Fakat 240 dakika sonunda bile kırmızı LED ile yapılan aktivasyonun eğrisinde bir stabilizasyon gözlemlenmemiştir.

4.1.3. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak oluşan Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin elektriksel yanıtları



Şekil 4.5. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış geçen ışığın elektriksel yanıtları.



Şekil 4.6. 1 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, üç farklı renkteki LED'lerle aktive edilen Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT'nin normlaştırılmış saçılan ışığın elektriksel yanıtları.

Ag taşıyıcılı/CMC/MA/ ODA-MMT manyetik karıştırıcı ile 1 saat karıştırılan numunelerinde 12. Dakikadan sonra mavi LED, 18. Dakikadan sonra da yeşil LED, 24. Dakikadan sonra kırmızı LED ile yapılan aktivasyonun eğrisinin stabil hale geldiği gözlemlenmiştir.

Manuel karıştırılan Ag taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT numunelerinin ölçüm süresi boyunca PIN fotodiyotlardan alınan geçen ve saçılan ışık ölçümlerinde yeşil ve kırmızı LED için sabitlenme olmamıştır. 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılan Ag taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT numunelerinin ölçüm süresi boyunca PIN fotodiyotlardan alınan geçen ve saçılan ışık ölçümlerinde kırmızı LED için sabitlenme olmamıştır. PIN fotodiyotlardan alınan, geçen ve saçılan ışık ölçüm sonuçlarına göre 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılan numunenin aktivasyon süresi en kısa olmuştur ve tüm LED'ler ile aktivasyon, ölçülen sürelerde tamamlanmıştır. Bunun nedeni ise, 1 saat manyetik karıştırıcıda karışan numunede AgNO_3 en homojen şekilde karışmıştır ve AgNO_3 ne kadar homojen karışırsa aktivasyon süresi de o kadar kısa olmuştur.

Hazırlanan sistem ile farklı dalga boylarındaki LED'ler ile aktivasyon yapılmış ve her bir LED ile aktivasyonu yapılan AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı sürelerde aktivasyonunu tamamladığı gözlemlenmiştir. LED'in enerjisi ile aktivasyon süresi arasında belirgin bir ilişki vardır. Bu çalışma için LED'in enerjisi yükseldikçe (dalga boyu kısaldıkça) aktivasyon süresi kısalmaktadır.

Aktivasyon süresince tüm LED'lerden alınan potansiyel farkının zamana karşı eksponansiyal eğri ile azaldığı tespit edilmiş, aktivasyon prosesinin bitişiyle potansiyel farkın sabitlendiği gözlemlenmiştir. Bu durum hem saçılan hem de geçen ışık için gözlemlenmiştir.

Küresel parçacıklar için klasik ışık saçılım teorisinin, kuasistatik (Rayleigh) yaklaşımı ve genel Mie teorisine [47,48] dayandığı bilinmektedir. Genellikle, bir dalga boyu parçacık boyutundan daha büyük olduğunda Rayleigh saçılması hakimdir. Ayrıca, Mie teorisi aralığındaki küresel parçacıkların, Rayleigh teorisinin baskın olduğu durumlarda, çoğunlukla ileri yönde saçılma eğiliminde olduğu ve daha yan bir açıyla saçıldığı da bilinmektedir. Çalışmada elde edilen AgNP'ler, incelemek için kullanılan ışıktan çok daha küçüktür (mavi LED (450 nm), yeşil LED (525nm) ve kırmızı LED (630 nm) ve bu nedenle Rayleigh saçılması baskındır. Çözelti içindeki nanopartiküllerin ışık enerjisi kaybı, yalnızca ısı ve saçılma oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Bu bağlamda, parçacığı aktive eden ışığın çoğu, 'yana

doğru' açıyla saçılır ve saçılan ışığı kaydeden fotodiyot tarafından kaydedilmektedir. Aynı nedenle, bu çalışmada geçen ışığı kaydeden fotodiyotun sadece gerçekte iletilen ışık sinyallerini kaydettiğini ve bu fotodiyotu da kaydedebilecek çok az miktarda saçılan ışık sinyalini ihmal ettiği dikkate alınmıştır.

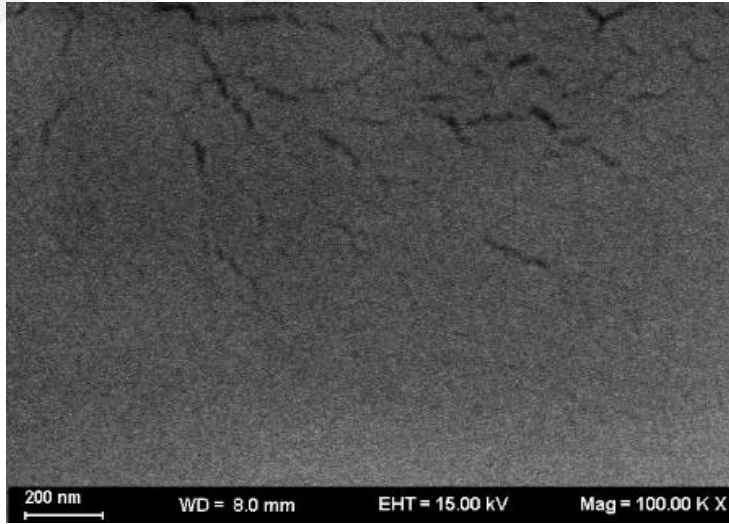
Bir atoma ışık gönderilirse atomdaki temel düzeydeki elektronlar ışığın enerjisini kullanarak bir üst düzeye çıkarlar ya da elektron fırlatarak ışığı soğururlar (absorbe ederler). Partikül parçalanıp daha küçük partiküllere ayrıldığı zaman toplam yüzey alanı ve yüzeydeki atom sayısı artar [49]. Bu durumda absorpsiyon yüzey alanı artmaktadır [50]. Partikül boyunun küçülmesiyle yüzey alanındaki atom sayısının artması ışığı absorbe edecek atomların da arttığını gösterir. Bu nedenle partikül boyutu küçüldükçe absorbans artmaktadır. Bir malzemedeki ışık absorpsiyonu arttıkça malzemeden geçen ışık azalır. Song et al. [50] yaptığı çalışmada AgNP boyutunun küçülmesi ile absorpsiyonun arttığını yani geçen ışığın azaldığı göstermiştir. Küçük AgNP'lerin absorpsiyon spektrumu, tüm görünür aralığı kapsayan bir geniş bant ile karakterize edilir ve aslında gelen ışığın büyük bir bölümünü almaktadır [51]. Bu tezde LED maruziyeti ile nanopartikül boyutu azalmış ve absorbans arttığı için geçen ışık zamanla azalmıştır (Şekil 4.1., Şekil 4.3., Şekil 4.5.). Nanopartikül boyutu sabit kalınca absorbe edilen ışık miktarı sabit kaldığı için geçen ışık da sabit kalmıştır. Bu bağlamda, mavi LED ile elde edilen 5 nm AgNP'lerin, Şekil 4.5 'de iletilen ışık ile teyit edilen 8 ve 12 nm boyutlu AgNP'lerden çok daha fazla ışığı absorbe ettiği söylenebilmektedir. Yayılan ışığın dalga boyundan çok daha küçük boyutlara sahip bir nanopartikül için absorpsiyon ve saçılma enine kesitleri, buna göre $1 / \text{ışık dalga boyu}$ ve $1 / \text{ışık dalga boyuna}$ bağlı olarak 4. kuvvete bağlıdır [52].

Fotodiyot ölçüm sonuçlarında saçılan ışıktaki potansiyel farkın zamanla azaldığı ve bir doygunluk platosu ile karakterize olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2., Şekil 4.4., Şekil 4.6.). Saçılan ışık, parçacık boyutuna duyarlıdır; gümüş NP'lerin üretimi ve boyutunun küçülmesi nedeniyle voltajdaki değişiklikler meydana gelmektedir. Saçılan ışığın ölçüldüğü fotodiyottan toplanan voltaj verilerinin zamanla değişmesi AgNP'lerin oluşumunun göstergesidir. Parçacık boyutu, şekli veya dielektrik ortamındaki herhangi bir değişikliğin, parçacıkların saçılma, soğurma ve yok olma tepkilerini değiştirdiği bilinmektedir [53,54] Dahası, araştırmacılar, büyük parçacıklardan AgNP'ler oluşurken artan ışık saçılımı ile saçılma yoğunluğunun arttığını bildirmişlerdir [50,55]. Saçılma yoğunluğu sinyali, bir partikül tarafından saçılan

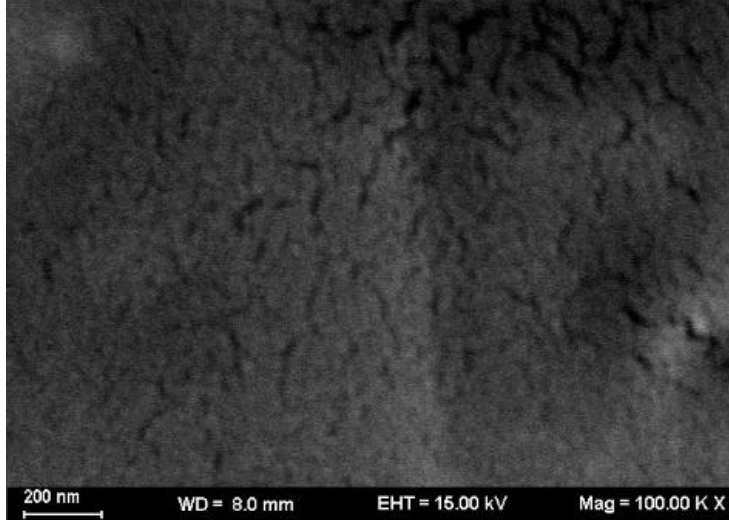
kesit alanıyla (etkili çarpışma alanı) doğru orantılı olarak açıklanmaktadır [50]. Bu çalışmada, saçılma yoğunluğu sinyali, nano veya aglomere parçacıkların boyutuyla açık bir korelasyon göstermektedir. Bu anlamda, fotonların hedef AgNP'lerle (sabit veya hareketli) çarpışması olarak tanımlanır ve herhangi bir reaksiyonun meydana gelme olasılığı, enine kesitiyle orantılıdır. Yukarıda belirtilenlerin hepsini özetleyerek, 12 nm boyutlu AgNP'lerin ışığı 8 nm'den daha fazla saçma olasılığına sahip olduğunu söyleyebilmekteyiz ve aynı hükümler 8 nm ve 5 nm boyutlu AgNP'ler için de geçerli olabilmektedir. Deneysel olarak arşivlenmiş veriler (Şekil 4.6.): 12 nm boyutlu AgNP'ler için kırmızı LED ile aktive olanlar, 8 nm yeşil LED ile aktive olan AgNP'ler ve 5 nm AgNP'ler mavi LED ile aktive olanlar) yukarıda yazılı iddiaları doğrulamaktadır. Ayrıca, yan saçılma sinyali, nanopartiküllerin boyutu ile açık bir korelasyon gösterir. Sadece saçılan ışık bölümünün dağınık kesit alanına doğru oranını tanımlamaz, aynı zamanda voltaj stabilizasyonu foto-sentez işleminin tamamlandığını ve AgNP'lerin bu süre içinde kararlı hale geldiğini gösterir.

Bölüm 4.4.'deki TEM görüntüleri nanopartikül oluştuğunu ispatlamıştır.

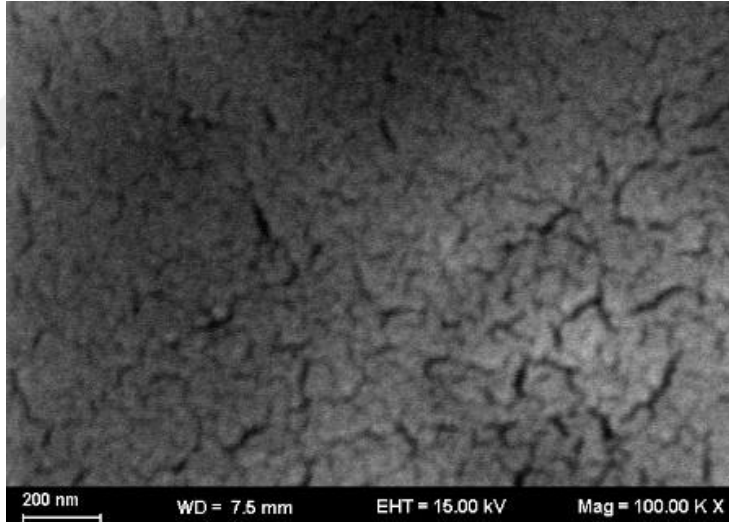
4.2. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin Karakterizasyonu



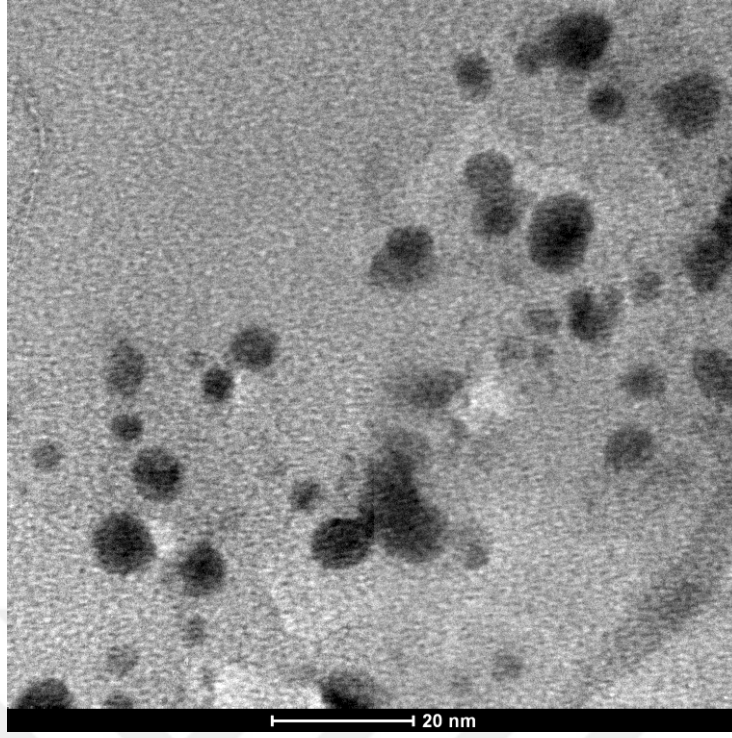
Şekil 4.7. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.



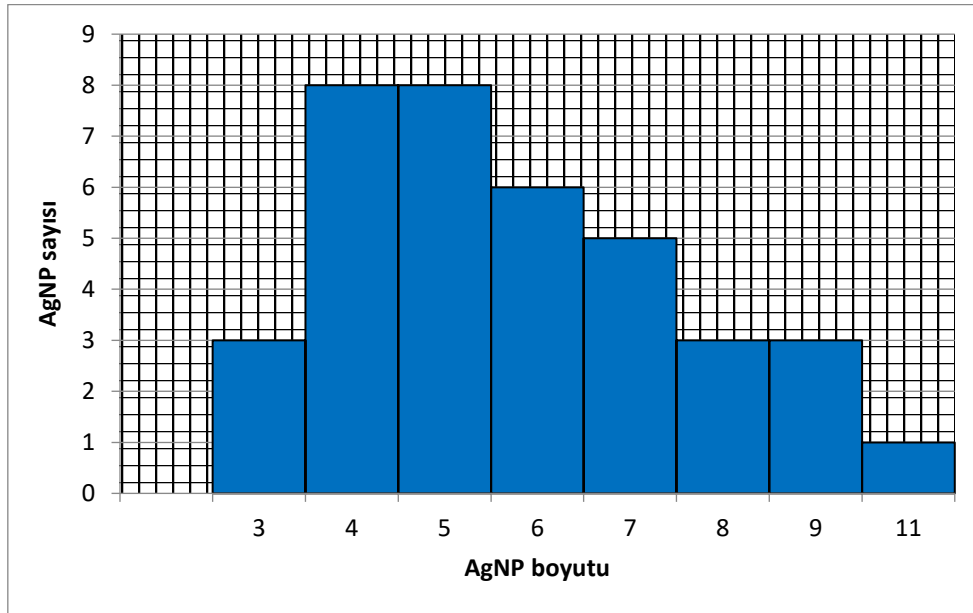
Şekil 4.8. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.



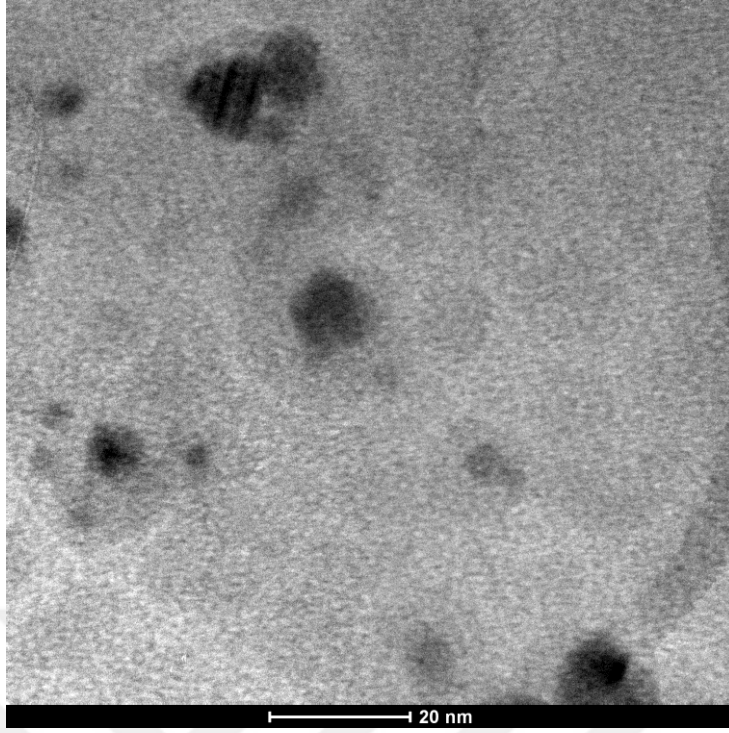
Şekil 4.9. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin SEM görüntüsü.



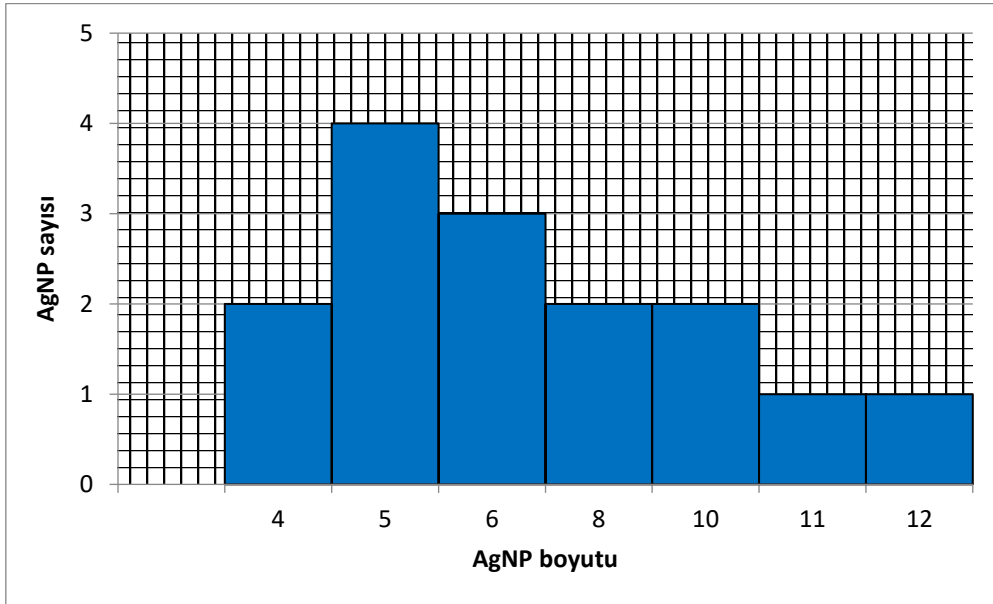
Şekil 4.10. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



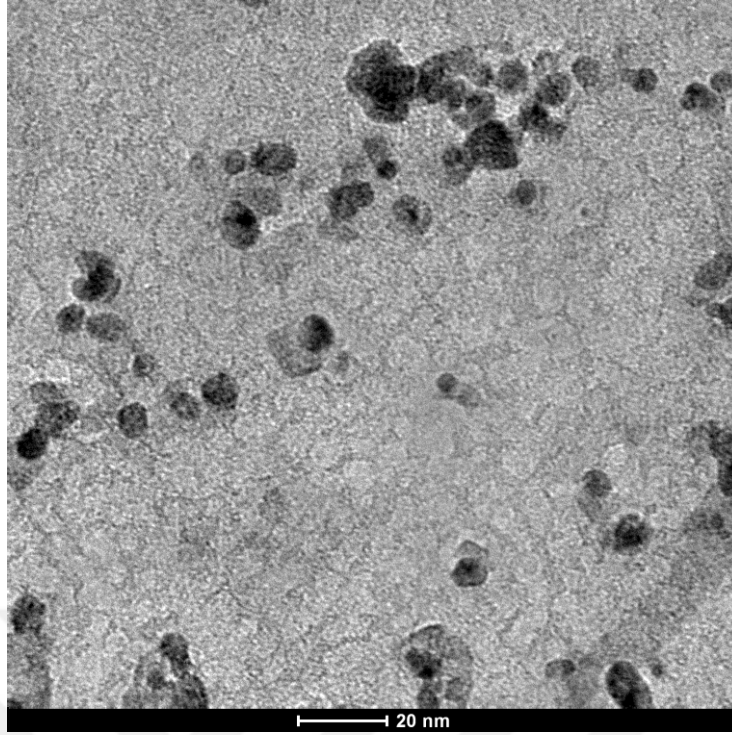
Şekil 4.11. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.10.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.



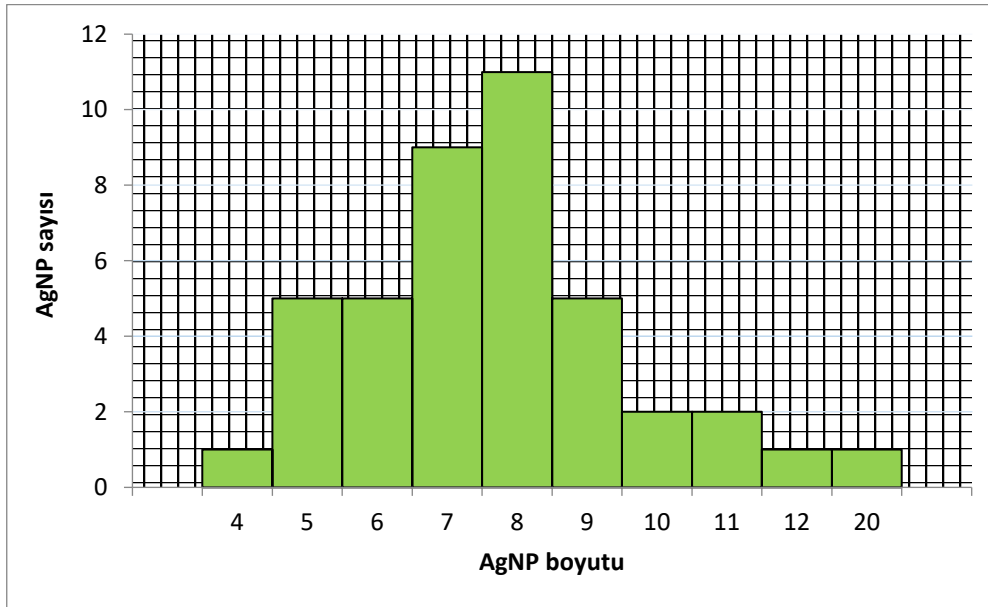
Şekil 4.12. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



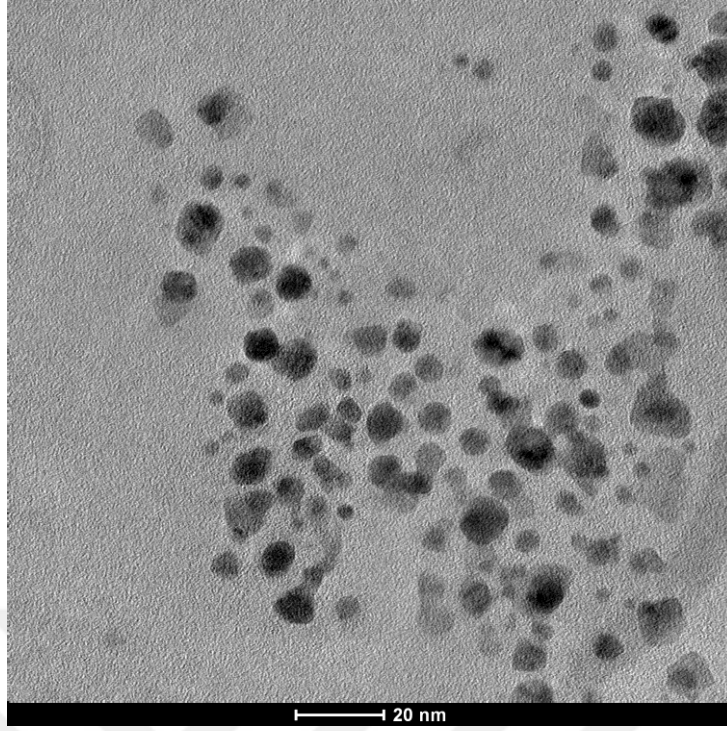
Şekil 4.13. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.12.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.



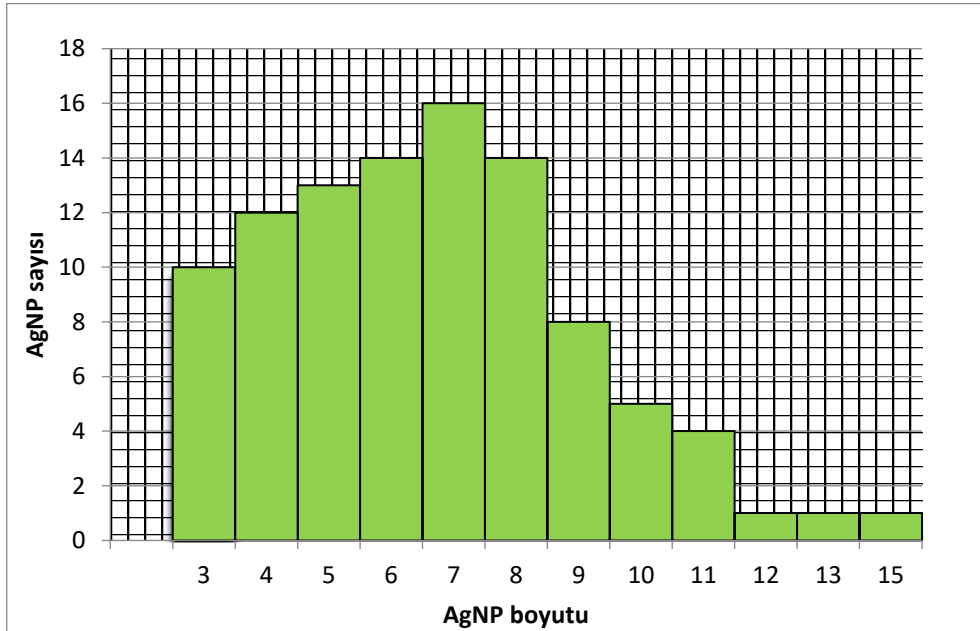
Şekil 4.14. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



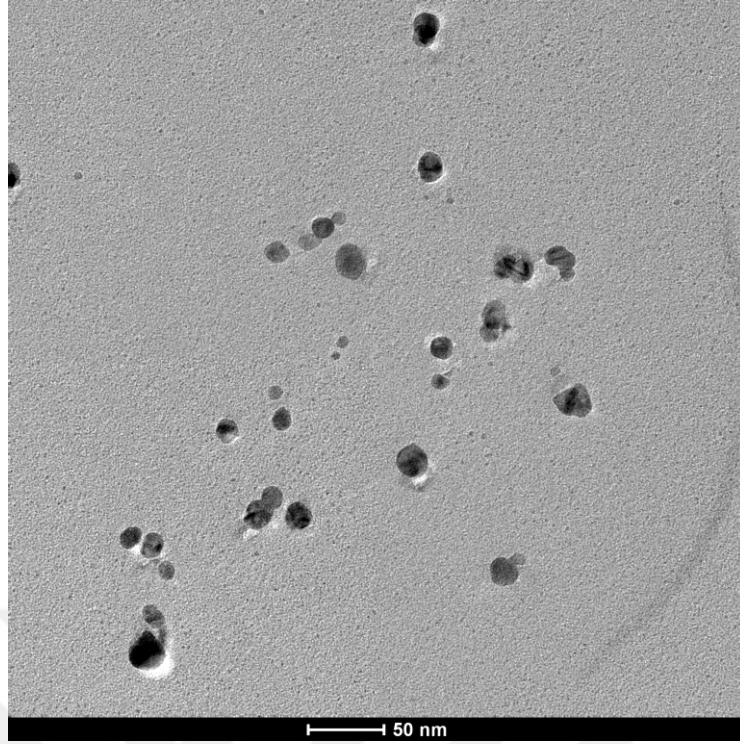
Şekil 4.15. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.14.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.



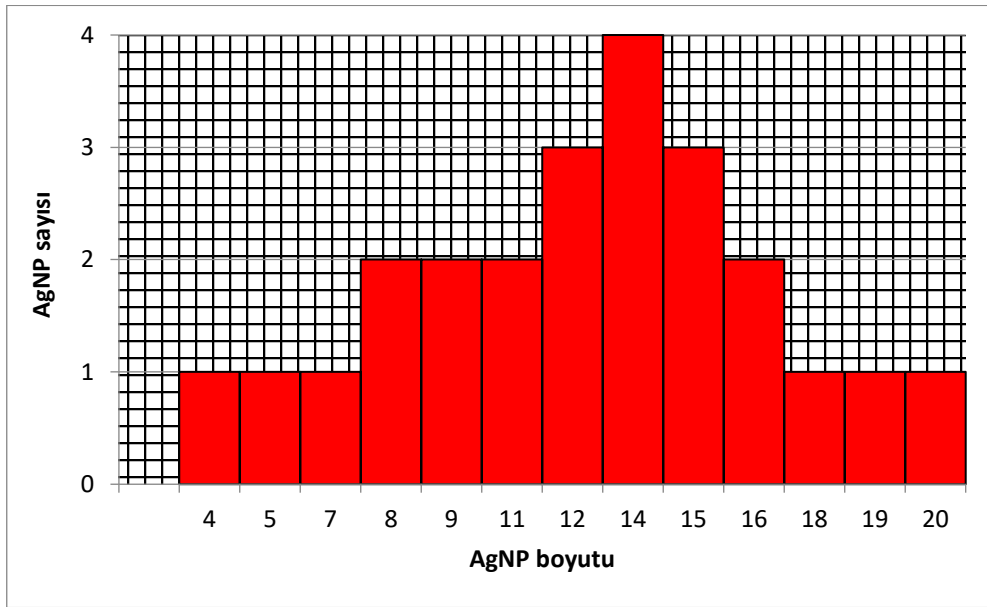
Şekil 4.16. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



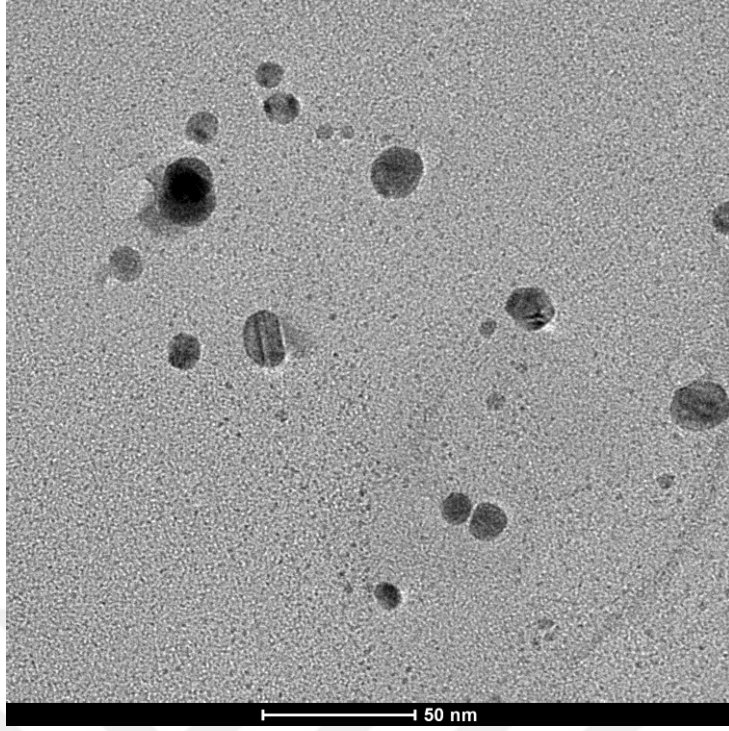
Şekil 4.17. Yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 20 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.16.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.



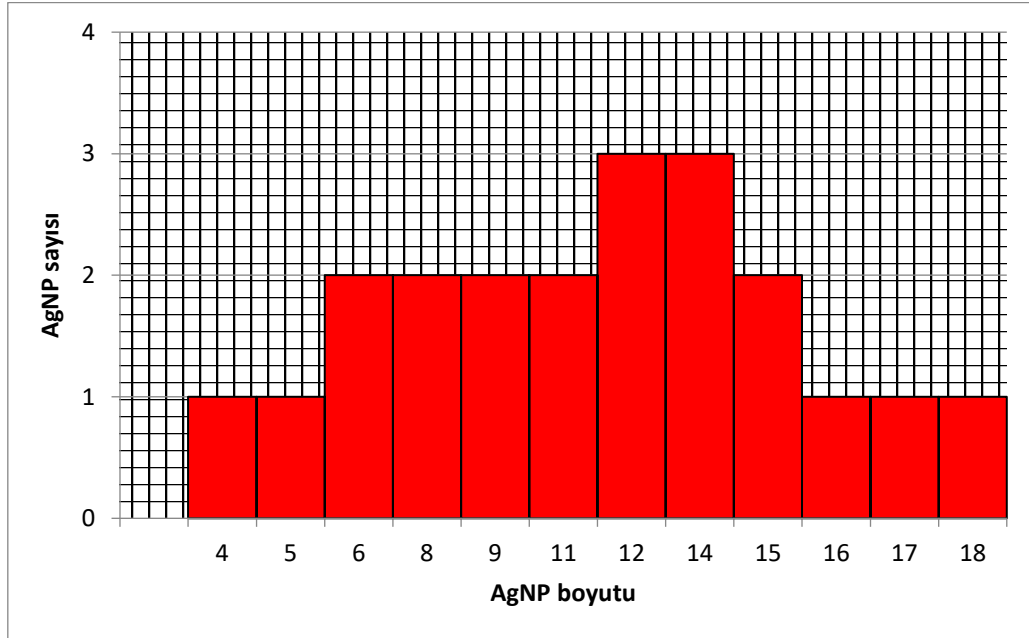
Şekil 4.18. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



Şekil 4.19. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.18.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.



Şekil 4.20. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsü.



Şekil 4.21. Kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin 50 nm ölçekteki TEM görüntüsünün (Şekil 4.20.) AgNP boyutu (nm) dağılımı.

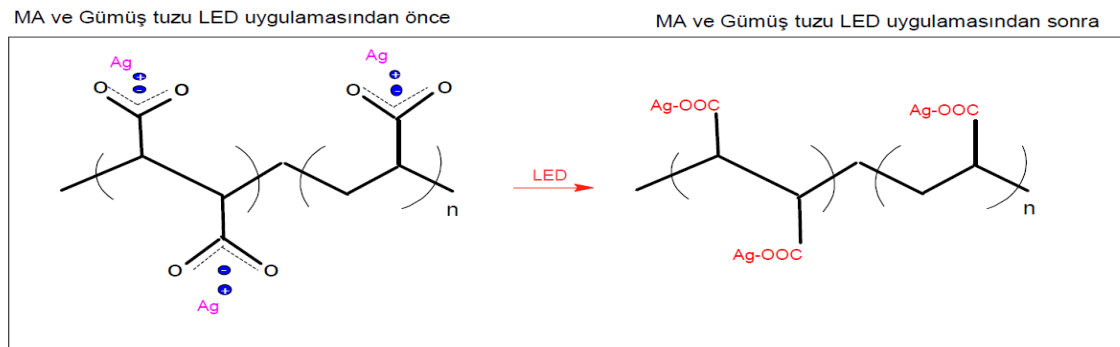
SEM görüntüleri, silikat nanokompleksteki nanopartiküllerin mono-dağılmış ve çoğunlukla küre şeklinde olduğunu ve hibrit hidro kompozit üzerinde kapsüllendiğini ortaya koymaktadır. AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin TEM ve SEM görüntüleri, AgNP'lerin iyi dağılmış durumda kaldığını doğrulamıştır.

Mavi, yeşil ve kırmızı LED'ler ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin ortalama AgNP boyutu Imaje J programı ile hesaplanmıştır. Mavi LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin ortalama AgNP boyutu 4-6 nm, yeşil LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin ortalama AgNP boyutu 6-8 nm, kırmızı LED ile NP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT'nin ortalama AgNP boyutu 12-14 nm'dir.

LED'lerin enerjisi yükseldikçe (dalga boyu kısaldıkça) aktivasyon sonrasında ortaya çıkan AgNP'lerin nanopartikül boyutları küçülmektedir. TEM görüntüleri, sırasıyla mavi LED, yeşil LED ve kırmızı LED ile ışınlama altında elde edilen 4-6 nm, 6-8 nm ve 12-14 nm arasında ortalama boyut dağılımına sahip olan homojen boyutta küresel şekilli NP'leri göstermektedir.

Enerjisi en yüksek olan LED'in (mavi LED) ortalama en küçük AgNP nanopartikül boyutuna sahip olduğu ve NP aktivasyon süresinin (Bölüm 4.3.) en kısa olduğu gözlemlenmiştir.

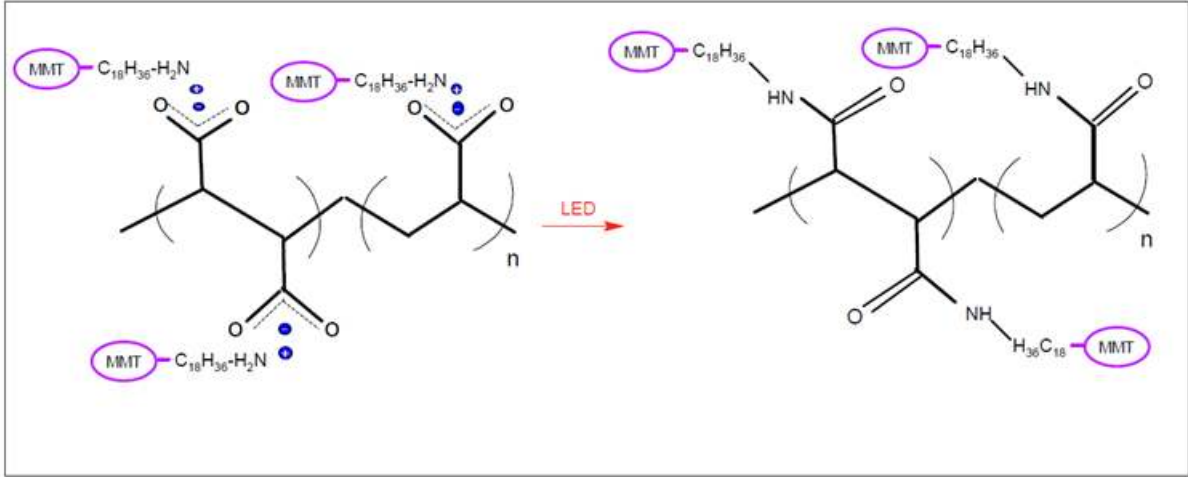
4.3. Görünür Işık ile NP Aktivasyonu Yapılan Ag- taşıyıcılı CMC/MA/ ODA-MMT/'nin Kimyasal Yanıtları



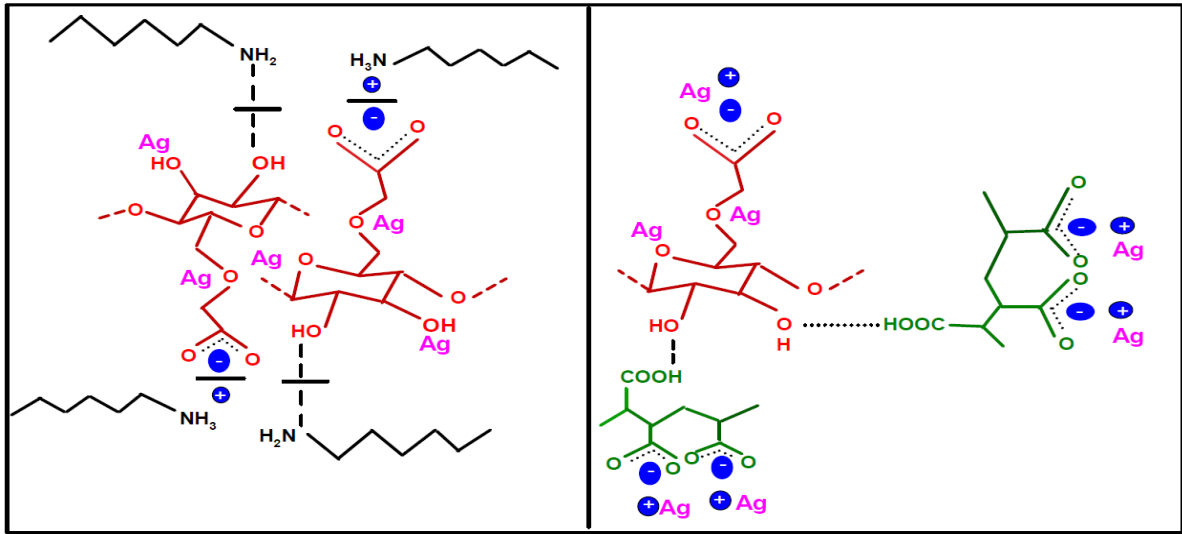
Şekil 4.22. MA-COO-... + Ag iyonları (wLED maruziyetinden önceki ve sonraki fragmanları)

ODA-MMT ve MA LED uygulamasından önce

ODA-MMT ve MA LED uygulamasından sonra



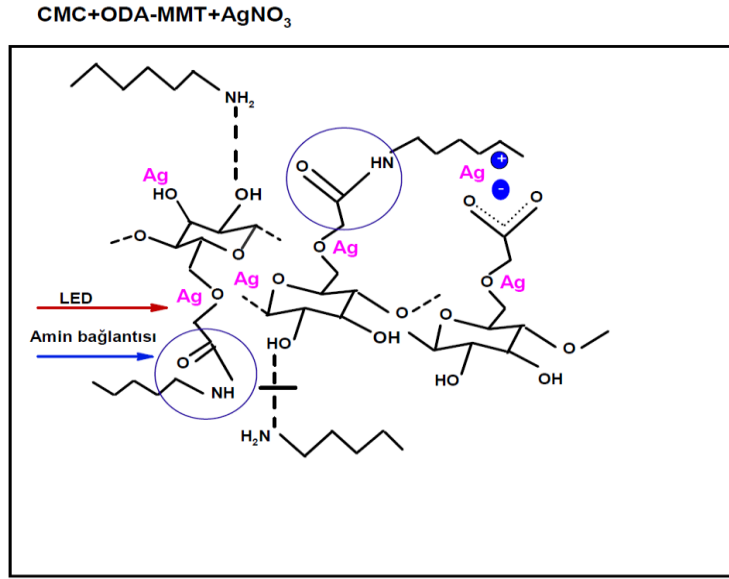
Şekil 4.23. wLED maruziyetinden sonra karboksil grupları ile ODA-MMT'nin aşılama (amidizasyon) fragmanı.



(a)

(b)

Şekil 4.24. (a) ODA-MMT galeri boşluğu arasında CMC_Ag karışımının interkalasyonu ve ODA-MMT ve amin grupları ile etkileşim, (b) CMC fonksiyonel grupları CMC-OH... HOOC-MA'nın çapraz bağlı fragmanı (hidrojen bağı).



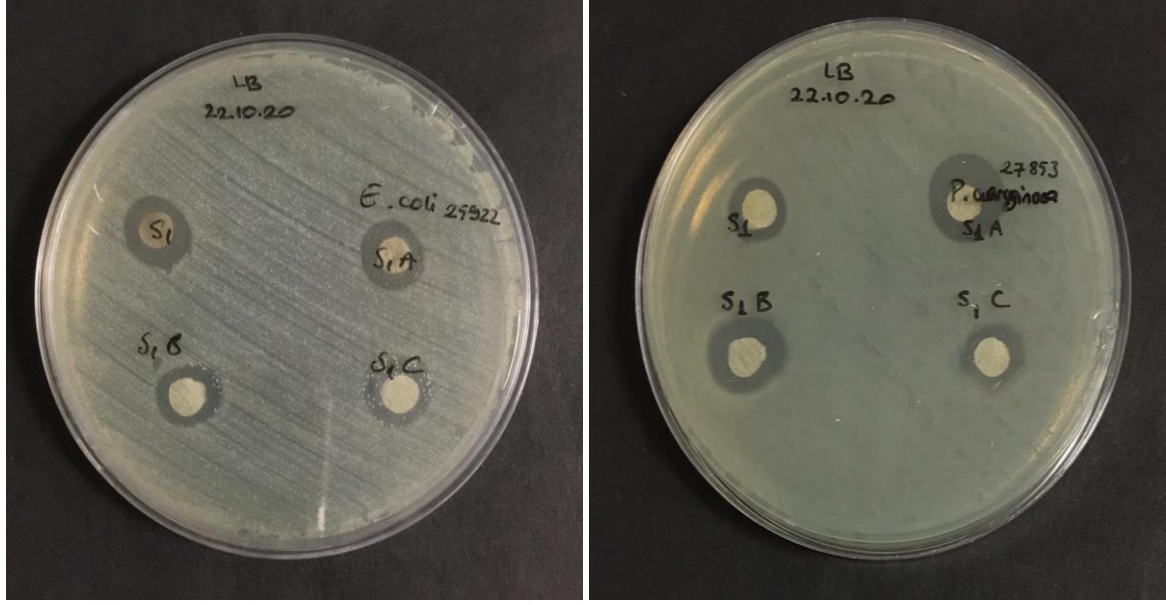
Şekil 4.25. wLED maruziyetinden sonra CMC karboksil grupları ile ODA'nın aşılama (amidizasyon) fragmanı.

Ag taşıyıcılı- CMC/MA/ ODA-MMT LED maruziyeti ile nanokompozite, büyük gümüş partiküller ise parçalanarak AgNP'ye dönüşmektedir.

4.4. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin Antimikrobiyal Yanıtları



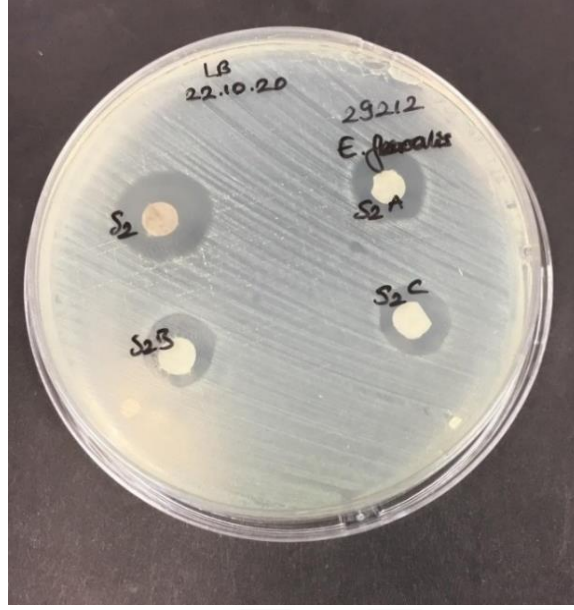
Şekil 4.26. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) *E. faecalis* 29212 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.



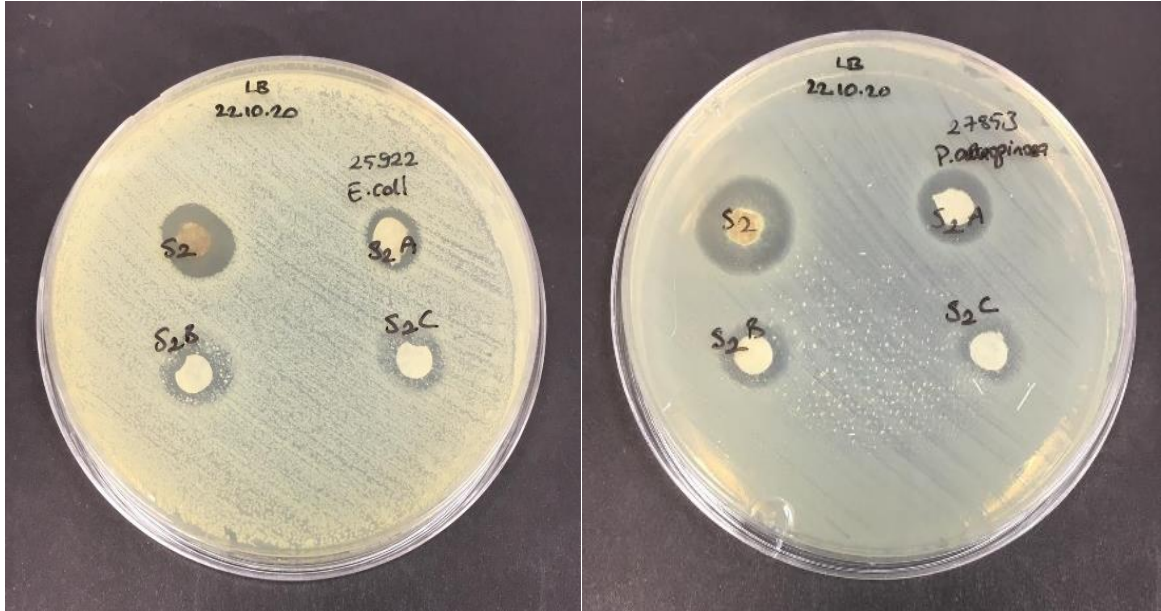
Şekil 4.27. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) *E.coli* 25922 ve *P. aeruginosa* 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.



Şekil 4.28. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S1: 2,5 mg/ml, S1A:0,5 mg/ml, S1B: 0,1 mg/ml, S1C: 0,05 mg/ml) *Candida albicans* 10231 fungusine olan antifungal aktivitesi.



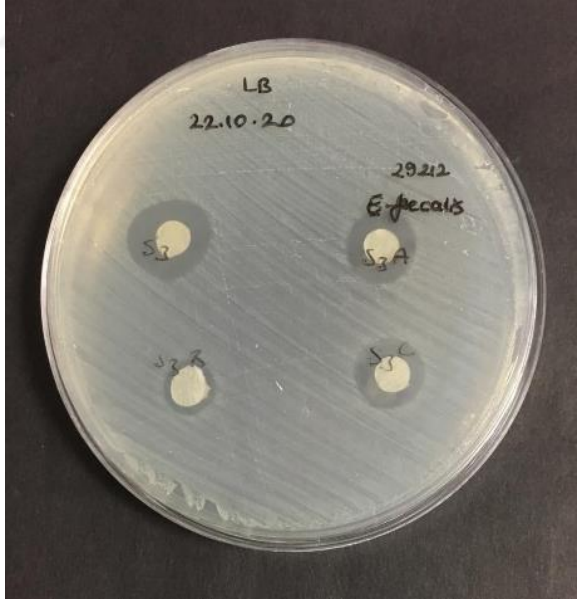
Şekil 4.29. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2: 2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml) *E. faecalis* 29212 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.



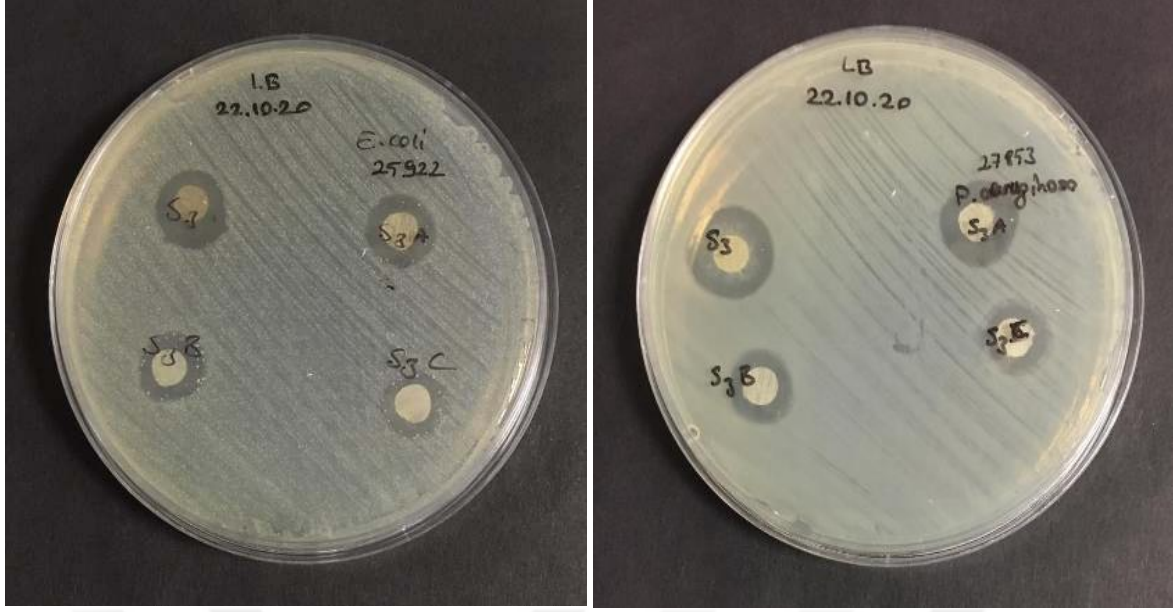
Şekil 4.30. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2: 2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml) *E. coli* 25922 ve *P. aeruginosa* 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.



Şekil 4.31. Mavi LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S2:2,5 mg/ml, S2A:0,5 mg/ml, S2B: 0,1 mg/ml, S2C: 0,05 mg/ml) *Candida albicans* 10231 fungusine olan antifungal aktivitesi.



Şekil 4.32. Kırmızı LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3: 2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S3B: 0,1 mg/ml, S3C: 0,05 mg/ml) *E. faecalis* 29212 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.

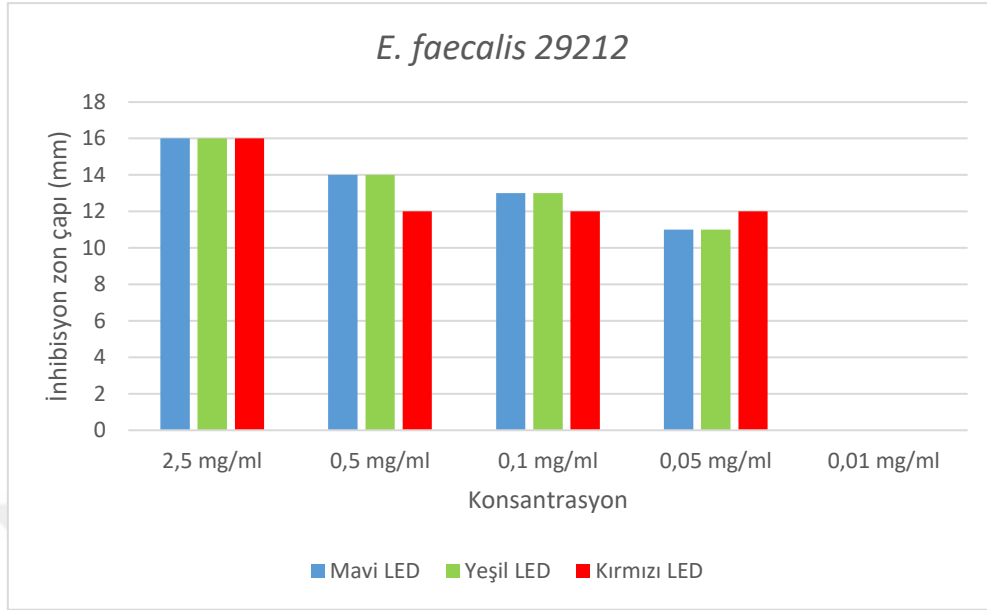


Şekil 4.33. Kırmızı LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3: 2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S3B: 0,1 mg/ml, S3C: 0,05 mg/ml) *E.coli* 25922 ve *P. aeruginosa* 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi.



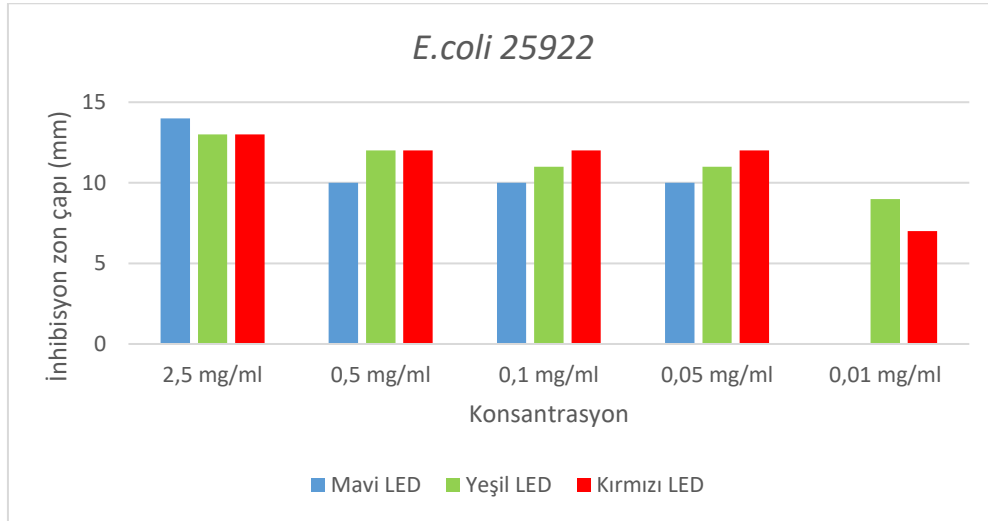
Şekil 4.34. Yeşil LED ile aktive edilen AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunesinin farklı konsantrasyonlarda (S3:2,5 mg/ml, S3A:0,5 mg/ml, S3B: 0,1 mg/ml, S3C: 0,05 mg/ml) *Candida albicans* 10231 fungusine karşı antifungal aktivitesi.

4.4.1. *E. faecalis* 29212'nin antibakteriyel yanıtları



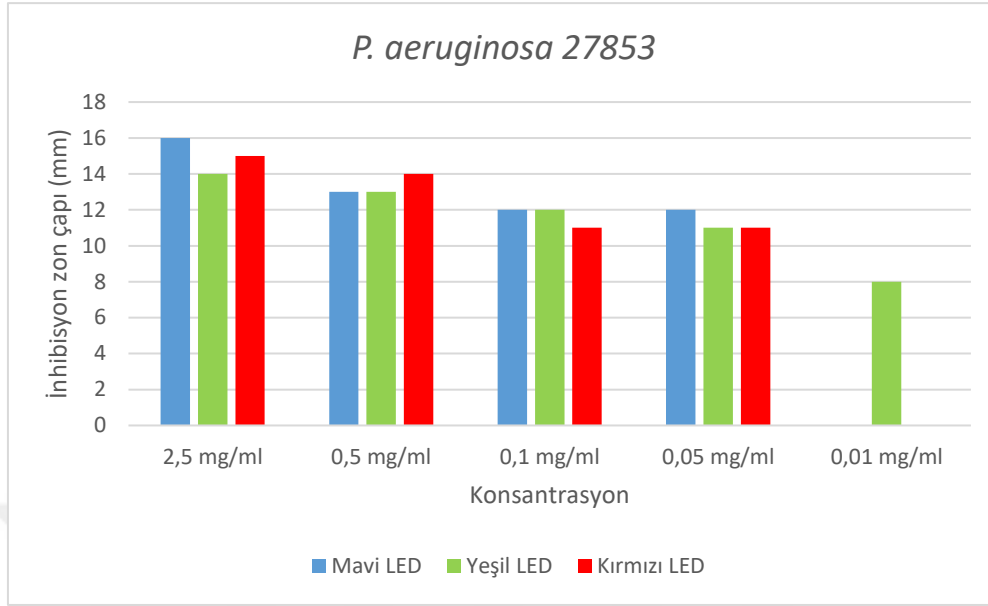
Şekil 4.35. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *E. faecalis* 29212'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri.

4.4.2. *E. coli* 25922'nin antibakteriyel yanıtları



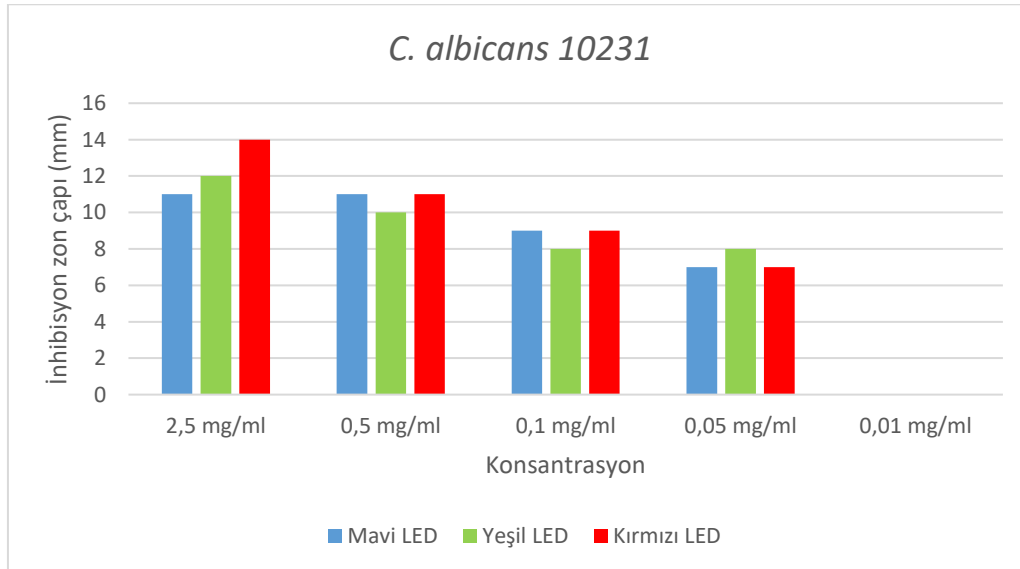
Şekil 4.36. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *E. coli* 25922'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri.

4.4.3. *P. aeruginosa* 27853'ün antibakteriyel yanıtları



Şekil 4.37. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *P.aeruginosa* 27853'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri.

4.4.4. *C. albicans* 10231'in antifungal yanıtları



Şekil 4.38. AgNP/CMC/MA/ ODA-MMT'nin yeşil, mavi ve kırmızı renkteki LED'ler ile aktive edilen ve farklı konsantrasyonlarının, *Candida albicans* 10231'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri.

Test edilen tüm mikroorganizmalar için en yüksek antimikrobiyal aktivite, test edilen konsantrasyonlar arasındaki en yüksek konsantrasyon olan 2,5 mg/ml’ de sağlanmıştır. AgNP/MA/CMC/ODA-MMT konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyal aktivitenin arttığı tespit edilmiştir.

MIC (Minimum inhibition concentration): İnkübasyon süresi boyunca mikroorganizmanın üremesini engelleyen en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonudur [56].

Tablo 4.1. LED’lere ve mikroorganizmalara göre MIC’ler (çalışma verilerine göre).

Mikroorganizma	Mavi LED (MIC)	Yeşil LED (MIC)	Kırmızı LED (MIC)
<i>E. faecalis</i> 29212	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml
<i>E.coli</i> 25922	0,5 mg/ml	0,1 mg/ml	0,1 mg/ml
<i>P. aeruginosa</i> 27853	0,5 mg/ml	0,1 mg/ml	0,5 mg/ml
<i>C. albicans</i> 10231	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml

Tablo 4.2. LED ve mikroorganizmalara göre çalışmadaki (2,5 mg/ml konsantrasyondaki) inhibisyon zon çapları.

Mikroorganizma	Mavi LED (inhibisyon zon çapı mm)	Yeşil LED (inhibisyon zon çapı mm)	Kırmızı LED (inhibisyon zon çapı mm)
<i>E. faecalis</i> 29212	16	16	16
<i>E.coli</i> 25922	14	13	13
<i>P. aeruginosa</i> 27853	16	14	15
<i>C. albicans</i> 10231	11	12	14

Mavi, yeşil ve kırmızı LED ile AgNP aktivasyonu yapılmış AgNP/CMC/MA/ODA-MMT numunelerinin antimikrobiyal aktivitelerine ve nanopartikül boyutlarına bakılarak:

Test edilen en yüksek konsantrasyon olan 2,5 mg/ml’deki inhibisyon çaplarına bakarak:

E. faecalis 29212 test edilen numunelerdeki nanopartikül boyutlarına göre antimikrobiyal aktivitesinde farklılık gözlenmemiştir.

E.coli 25922 test edilen numunelerdeki en küçük nanopartikül boyutuna sahip numunede (mavi LED ile aktive edilen) en iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

P. aeruginosa 27853 25922 test edilen numunelerdeki en küçük nanopartikül boyutuna sahip numunede (mavi LED ile aktive edilen) en iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

C. albicans 10231 test edilen numunelerdeki en büyük nanopartikül boyutuna sahip numunede (kırmızı LED ile aktive edilen) en iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan bakteriler için çalışmadaki nanopartikül boyutları birbirlerine yakın olduğundan numunelerin antimikrobiyal aktivitelerinde de ciddi bir farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca mantarlar için nanopartikül boyutunun antimikrobiyal aktivitede etkili olduğu ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır.

Yukarıdaki sonuçlara bakarak aşağıdaki tabloda mavi LED ile aktivasyonu yapılan numuneye göre değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 4.3. Literatürdeki benzer çalışmaların antimikrobiyal aktiviteleri.

AgNP Boyutu(nm)	AgNP minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)	<i>E.faecalis</i> 29212 inhibisyon zon çapı (mm)	<i>E.coli</i> 25922 inhibisyon zon çapı (mm)	<i>P.aeruginosa</i> 27853 inhibisyon zon çapı (mm)	<i>C. albicans</i> 10231 inhibisyon zon çapı (mm)	Kaynak
4-6	0,5 mg/ml	16	14	16	11	Bu tez
5	2,5 mg/ml	10				[57]
5-10	30 µg/ml		12			[58]
2-15	31 µg/ml		18	23	20	[59]
10-40	0,2 µg/ml		16			[60]
16	1.9 µg/ml	12				[61]
18-27	2 µg/ml	9				[62]
20	10 µg/ml	23				[63]
10-40	%4 w		17	18		[64]
10-45	31 µg/ml		18		22	[65]
36	0,2 µg/ml		7			[66]
39	230 µg/ml		16			[67]

Yukarıda gösterilen literatür taramasına bakıldığında zaman bu tezdeki inhibisyon zon çapları ve MIC değerinin ortalamaya göre başarılı ve benzer olduğu gözlemlenmektedir. Ayrıca yukarıdaki tabloda ve bu tezde görülebileceği gibi AgNP boyutu ile MIC değeri ve antimikrobiyal aktivite arasında anlamlı bir karşılaştırma yapılamamaktadır.

5. SONUÇ

5.1. Bilimsel Yenilik

İlk defa böyle bir sistemin tasarlanıp yapılmış olması,

İlk defa 3 farklı LED'le AgNP aktivasyonu yapılmış olması bu çalışmanın özgün değerleridir.

Aktivasyon süresinin kısa olması, AgNP boyutunun diğer numunedeki AgNP boyutlarına göre daha küçük olması ve antimikrobiyal aktivitede (2,5 mg/ml'lik konsantrasyon için) diğer dalga boylarıyla AgNP aktivasyonu yapılan numunelerden anlamlı bir fark olmaması nedeniyle, mavi LED ile en verimli aktivasyon işlemi yapılacağına karar verilmiştir.

Dalga boyunun yani enerjinin aktivasyon süresine etkili olduğu tespit edilmiştir. Enerjisi en yüksek olan LED'in AgNP aktivasyon süresinin daha kısa olduğu ve AgNP boyutunun daha küçük olduğu ölçülmüştür (ortalama aktivasyon süreleri sırasıyla mavi LED ile aktive edilen numunenin 12 dakika, yeşil LED ile aktive edilen numunenin 18 dakika ve kırmızı LED ile aktive edilen numunenin ise 24 dakikadır. AgNP boyut ortalamaları sırasıyla mavi LED ile aktive edilen numunenin 4-6 nm, yeşil LED ile aktive edilen numunenin 6-8 nm ve kırmızı LED ile aktive edilen numunenin 12-14 nm).

5.2. Çalışma Sonuçlarının Değeri ve Önemi

AgNP üretim aktivasyonu zamana bağlı olarak takip edilebilir, farklı dalga boyları ile AgNP aktivasyonu yapılan ve AgNP aktivasyonu yapılan nanokompozitin antimikrobiyal özellikleri düşük konsantrasyonlarda bile başarılı olan bir sistem tasarlanmıştır.

Covid-19 ile mücadele edilen bu dönemde çevreye zararsız ve kontrollü bir şekilde antimikrobiyal nanomalzeme üretmek için kullanımı kolay, kompakt ve düşük maliyetli bir antimikrobiyal sistem tasarlandığı söylenebilmektedir.

KAYNAKLAR LİSTESİ

- [1] P. Premaa, S. Thangapandiyan, G. Immanuel, “CMC stabilized nano silver synthesis, characterization and its antibacterial and synergistic effect with broad spectrum antibiotics”, Carbohydrate Polymers, 2016, DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.083.
- [2] Alexandra-Cristina Burduşel, Oana Gherasim, Alexandru Mihai Grumezescu, Laurențiu Mogoantă, Anton Fica, and Ecaterina Andronescu, “Biomedical applications of silver nanoparticles: an up-to-date overview” Nanomaterials, vol:8, pp:681, 2018, DOI: 10.3390/nano8090681.
- [3] Zakir M.O. Rzayev, Ulviye Bunyatova, Jonathan F. Lovell, Weipeng Shen, Tim Thomay, Alexander Cartwright, “Novel Ag-carried CMC/functional copolymer/ODA-Mt wLEDtreated NC and their responses to brain cancer cells”, Materials Science & Engineering, 2018, DOI: 10.1016/j.msec.2018.05.032.
- [4] “Gümüş Nedir?”, <https://malzemebilimi.net/gumus-nedir-gumus-nerelerde-kullanilir.html>, (Erişim tarihi: 29.11.2018).
- [5] Alexandru Rus, Vasile-Dănuț Leordean, Petru Berce, “Silver Nanoparticles (AgNP) impregnated filters in drinking water disinfection” MATEC Web of Conferences 137, 2017, DOI: 10.1051/mateconf/201713707007.
- [6] “What is Nanotechnology?”, <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition> (Erişim tarihi: 02.11.2020).
- [7] Sahra Kırmusaoğlu, Elest İrem Cansız, “Nanoteknolojide nano gümüşün antibakteriyel özelliği”, Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, cilt: 1, sayı: 1, sayfa: 87 – 94, 2018.
- [8] Mehmet BEYKAYA, Abdullah ÇAĞLAR, “Bitkisel Özütler Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma”, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, sayı:16, sayfa:631-641, 2016, DOI: 10.5578/fmbd.34220.

- [9] Büşra Öztürk, Helin Çıkmaz, “Ateş diken (Pyracantha Coccinea) bitkisinin sap eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda gümüş nanopartiküllerin kullanılması”, Lisans Tezi, Çorlu Mühendislik Fakültesi, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, Türkiye, 2016.
- [10] Nilufer Nagizade, “PVA/KOPOLİMER-g-PLA/ORGANİK KİL/AgNO₃ nanokompozitlerin ve nanoliflerin sentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel özellikleri”, Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2013.
- [11] Kamyar Shameli, Mansor Bin Ahmad, Mohsen Zargar, Wan Md Zin Wan Yunus, Nor Azowa Ibrahim, Parvaneh Shabanzadeh, Mansour Ghaffari Moghaddam, “Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity”, International Journal of Nanomedicine, vol:6, pp: 271-284, 2011.
- [12] Pınar Nartop, “Biyosentetik gümüş nanopartiküllerinin *Pyracantha coccinea* bitkisinin gövde eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda kullanımı”, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilim Dergisi, cilt:23, sayı:6, sayfa:759-761, 2017.
- [13] Jose Vega-Baudrit, Stephanie Marin Gamboa, Ericka Rodriguez Rojas, Veronica Vega Martinez, “Synthesis and characterization of silver nanoparticles and their application as an antibacterial agent”, Biosensors & Bioelectronics, vol:5 no:5, pp:166-173, 2019, DOI: [10.15406/ijbsbe.2019.05.00172](https://doi.org/10.15406/ijbsbe.2019.05.00172).
- [14] S. Iravani, H. Korbekandi, S.V. Mirmohammadi, B. Zolfaghari, “Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods”, Research in Pharmaceutical Sciences, vol: 9, no:6, pp: 385–406, 2014.
- [15] “What Are Bacteria?”, <https://www.livescience.com/51641-bacteria.html>, (Erişim tarihi: 02.11.2020).
- [16] “Gram Positive vs Gram Negative”, <https://www.technologynetworks.com/immunology/articles/gram-positive-vs-gram-negative-323007>, (Erişim tarihi: 31.10.2020).

- [17] “Gram Positive”, <https://www.healthline.com/health/gram-positive#summary>, (Erişim tarihi:31.10.2020).
- [18] “Gram-negative Bacteria Infections in Healthcare Settings”, <https://www.cdc.gov/hai/organisms/gram-negative-bacteria.html>, (Erişim tarihi: 31.10.2020).
- [19] “Gram Negative Bacteria”, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213/>, (Erişim tarihi: 07.10.2020).
- [20] “e. coli”, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>, (Erişim tarihi: 29.10.2020).
- [21] <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10068>, (Erişim tarihi:09.11.2020).
- [22] Stephen P. Diggle, Marvin Whiteley, “Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat”, Microbiology, vol: 166, no: 1, pp: 30-33, 2020, DOI: 10.1099/mic.0.000860.
- [23] <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=10043>, (Erişim tarihi: 09.10.2020).
- [24] Mustafa Yıldırım, “Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelisen Enfeksiyonlar”, Düzce Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi, vol:2, pp:46-52, 2007.
- [25] <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=12803>, (Erişim tarihi:10.10.2020).
- [26] “Candidiasis”, <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/index.html>, (Erişim tarihi: 02.11.2020).
- [27] Tijen Acarkan, Hüseyin Nazlıkul, Elvan R. Bayram, “Candida albicans at the intestine”, Journal of Complementary Medicine, Regulation and Neural Therapy, vol:8, no:1, pp: 20-25, 2014.
- [28] <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=22972>, (Erişim tarihi: 10.10.2020).
- [29] “Antimikrobiyal duyarlılık testleri”, Yrd. Doç. Dr. Uğur Demirpek, <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>, (Erişim

tarihi: 17.12.2020).

- [30] Bengi Uysaler, “Organik modifiye montmorilonit (ORG-MMT) ve gümüş içeren fonksiyonel anhidrit kopolimer-kil nanokompozitlerin hazırlanması ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2019.
- [31] P. Premaa, S. Thangapandiyan, G. Immanuel, “CMC stabilized nano silver synthesis, characterization and its antibacterial and synergistic effect with broad spectrum antibiotics”, Carbohydrate Polymers, 2016, DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.11.083.
- [32] M. A. Pedroza-Toscano, S. López-Cuenca, M. Rabelero-Velasco, E. D. Moreno-Medrano, A. P. Mendizabal-Ruiz, R. Salazar-Peña Hindawi, “Silver nanoparticles obtained by semicontinuous chemical reduction using carboxymethyl cellulose as a stabilizing agent and its antibacterial capacity”, Journal of Nanomaterials, vol:1, pp:1-7, 2017, DOI:10.1155/2017/1390180.
- [33] Zakir M. O. Rzayev, Demet Erdönmez, Kübra Erkan, Murat Şimşek, Ulviya Bunyatova, “XXII. Fabrication and Characterization of Antifungal and Antibacterial Poly (Vinyl Alcohol-co-Vinyl Acetate/ODA-MMT/AgNPs Nanofibers and Nanocoatings by e-Spinning and c-Spinning Methods”, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, vol:64, no:5, pp:267-278, 2015, DOI:10.1080/00914037.2014.936599.
- [34] Gianluigi Franci, Annarita Falanga, Stefania Galdiero, Luciana Palomba, Mahendra Rai, Giancarlo Morelli, Massimiliano Galdiero, “Silver nanoparticles as potential antibacterial agents”, Molecules, vol:20, pp:8856-8874, 2015, DOI:10.3390/molecules20058856.
- [35] Kathirvel Maruthai, Kommoju Vallayyachari, Thirumurugan Ravibalan, Sheryl Ann Philip, Antony V. Samrot, Muthuraj Muthuraj, “Antibacterial Activity of the Silver Nanoparticles against Escherichia coli and Enterobacter sp”, Progress in Bioscience And Bioengineering, vol:1, no:1, pp: 29–35, 2017.

- [36] Xueting Yan, Bin He, Lihong Liu, Guangbo Qu, Jianbo Shi, Ligang Hu, Guibin Jiangab “Antibacterial mechanism of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*: proteomics approach”, *The Royal Society of Chemistry Metallomics*, vol: 10, pp: 557—564, 2018, DOI: 10.1039/c7mt00328e.
- [37] Yun'an Qing, Lin Cheng, Ruiyan Li, Guancong Liu, Yanbo Zhang, Xiongfeng Tang, Jincheng Wang, He Liu, Yanguo Qin, “Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification”, *Technologies International Journal of Nanomedicine*, vol: 13, pp: 3311–3327, 2018, DOI: 10.2147/IJN.S165125.
- [38] Catalina Marambio-Jones, Eric M. V. Hoek, “A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment”, *Journal of Nanoparticle Research*, vol:12, pp:1531-1551, 2010, DOI: 10.1007/s11051-010-9900-y.
- [39] Liya Guod, Weiyong Yuanc, Zhisong Lua, Chang Ming Li, “Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol:439, pp: 69-83, 2013, DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.12.029.
- [40] “Işık Tayfı nedir?”, <http://www.bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/isik-tayfi-nedir>, (Erişim tarihi: 29.11.2018).
- [41] “Visible light”, https://science.nasa.gov/ems/09_visiblelight, (Erişim tarihi: 30.09.2020).
- [42] Robert L. Boylestad, Louis Nashelsky, “Işık yayan diyotlar”, *Elektronik Cihazlar ve Devre Teorisi*, Ed. Adnan Köksal, 10. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2013, sayfa:41-48.
- [43] Ahmet Bayrak, “Desing and optimitazion of a radon field monitor based on silicon PIN photodiode”, *Yüksek Lisans Tezi, Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*, 2012.

- [44] Gholam Reza Mahdavinia, Ali Afzali, Hossein Etemadi, Hossein Hoseinzadeh, "Magnetic/pH-sensitive nanocomposite hydrogel based carboxymethyl cellulose –g-polyacrylamide/montmorillonite for colon targeted drug delivery", *Nanomedicine Research Journal*, vol:2, no:2, pp:111-122, 2017, DOI: 10.22034/NMRJ.2017.58964.1058.
- [45] Mohammad Taghi Taghizadeh, Narges Sabouri, "Biodegradation behaviors and water adsorption of poly (vinyl alcohol)/starch/carboxymethyl cellulose/clay nanocomposites", *International Nano Letters*, vol: 3, Article number: 51, 2013, DOI: 10.1186/2228-5326-3-51.
- [46] "Maleic acid", <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Maleic-acid> (Erişim tarihi:01.06.2020).
- [47] Rayleigh L., "On the scattering of light by small particles", *Philos Magazine*, vol:275, pp:447-454, 1871.
- [48] Z.B. Wang, B.S. Luc'yanchuk, M.H. Hong, Y. Lin, T.C. Chong, "Energy flow around a small particle investigated by classical Mie theory", *Physical Review B*, vol:70, 2004, DOI: 10.1103/PhysRevB.70.035418.
- [49] Geoffrey C. Bond, "Microscopic metals", *Metal-Catalysed Reactions of Hydrocarbons*, Springer Science Business Media, New York, 2005 pp:36.
- [50] Ji Eun Song, Ji Hoon Park, Ju A. La, Seyeon Park, Min Kuk Jeong, Eun Chul Cho, "Use of fluorescence signals generated by elastic scattering under monochromatic incident light for determining the scattering efficiencies of various plasmonic nanoparticles", *The Royal Society of Chemistry*, 2016, DOI: 10.1039/c6an00399k.
- [51] May Hlaing, Bellsabel Gebear-Eigzabher, Azael Roa, Aristides Marcano, Daniela Radu, Cheng-Yu Lai, "Absorption and scattering cross-section extinction values of silver nanoparticles", *Optical Materials*, vol:58, pp:439-444, 2016, DOI: 10.1016/j.optmat.2016.06.013.

- [52] H.C. van de Hulst, "Light scattering by small particles" Dover Publications Inc, New York, 1981.
- [53] M.A. Noginov, G. Zhu, M. Bahoura, J. Adegoke, C. Small, B.A. Ritzo, V.P. Drachev, V.M. Shalaev, "The effect of gain and absorption on surface plasmons in metal nanoparticles", *Applied Physics B*, vol:86, pp:455-460, 2007, DOI: 10.1007/s00340-006-2401-0.
- [54] Benjamin J. Wiley, Sang Hyuk Im, Zhi-Yuan Li, Joeseeph McLellan, Andrew Siekkinen, Younan Xia, "Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis", *J. Phys. Chem. B*, vol: 110, pp: 15666-15675, 2006, DOI: 10.1021/jp0608628.
- [55] J. Helmlinger, C. Sengstock, C. Groß-Heitfeld, C. Mayer, T. A. Schildhauer, M. Köller M. Epple, "Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects", *RSC Advances*, vol: 6, pp:18490-18501, 2016, DOI: 10.1039/C5RA27836H.
- [56] [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_\(Boundless\)/13%3A_Antimicrobial_Drugs/13.5%3A_Measuring_Drug_Susceptibility/13.5A%3A_Minimal_Inhibitory_Concentration_\(MIC\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Boundless)/13%3A_Antimicrobial_Drugs/13.5%3A_Measuring_Drug_Susceptibility/13.5A%3A_Minimal_Inhibitory_Concentration_(MIC)), (Erişim tarihi:19.01.2020).
- [57] Jung-Chang Kunga, Yi-Jhen Chen, Yu-Ching Chiang, Chung-Lin Lee, Yuan-Ting Yang-Wang, Chun-Cheng Hung, Chi-Jen Shih, "Antibacterial activity of silver nanoparticle (AgNP) confined mesoporous structured bioactive powder against *Enterococcus faecalis* infecting root canal systems", *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2018, DOI: 10.1016/j.jnoncrysol.2018.06.030.
- [58] Shekhar Agnihotri, Soumyo Mukherji, Suparna Mukherji, "Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy", *The Royal Society of Chemistry*, vol: 4, pp: 3974–3983, 2014, DOI: 10.1039/c3ra44507k.
- [59] Mohammad Jalal, Mohammad Azam Ansari, Mohammad A. Alzohairy, Syed Ghazanfar Ali, Haris M. Khan, Ahmad Almatroudi, Kashif Raees, "Biosynthesis of Silver

- Nanoparticles from Oropharyngeal *Candida glabrata* Isolates and Their Antimicrobial Activity against Clinical Strains of Bacteria and Fungi” , *Nanomaterials* (Basel), vol: 8, pp: 586, 2018, DOI: 10.3390/nano8080586.
- [60] Samson O. Aisida, Kenneth Ugwu, Paul A. Akpa, Assumpta C. Nwanya, Paul M. Ejikeme, S. Botha, Ishaq Ahmad, M. Maaza, Fabian I. Ezema, “Biogenic synthesis and antibacterial activity of controlled silver nanoparticles using an extract of *Gongronema Latifolium*”, *Materials Chemistry and Physics*, vol: 237, 2019, DOI: 10.1016/j.matchemphys.2019.121859.
- [61] Balasubramanian Malaikozhundan, Baskaralingam Vaseeharan, Sekar Vijayakumar, Raja Sudhakaran, Narayanan Gobi, Ganesan Shanthini, “Antibacterial and Antibiofilm Assessment of *Momordica charantia* Fruit Extract Coated Silver Nanoparticle”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2016, DOI: 10.1016/j.bcab.2016.09.007.
- [62] Balan Banumathi, Baskaralingam Vaseeharan, Thenmozhi Chinnasamy, Sekar Vijayakumar, Marimuthu Govindarajan, Naiyf S. Alharbi, Shine Kadaikunnan, Jamal M. Khaled, Giovanni Benelli, “*Euphorbia rothiana*-Fabricated Ag Nanoparticles Showed High Toxicity on *Aedes aegypti* Larvae and Growth Inhibition on Microbial Pathogens: A Focus on Morphological Changes in Mosquitoes and Antibiofilm Potential Against Bacteria”, *Clust Sci*, vol: 28, pp: 2857–2872, 2017, DOI:10.1007/s10876-017-1263-4.
- [63] Sagar Katva, Satyajeet Das, Harpreet Singh Moti, Anupam Jyoti, Sanket Kaushik, “Antibacterial synergy of silver nanoparticles with Gentamicin and Chloramphenicol against *Enterococcus faecalis*” *Pharmacogn Mag.*, vol:13, pp: 828–833, 2017, DOI: 10.4103/pm.pm_120_17.
- [64] Melisa Adibelli, Elif Özçelik, Gönül S. Batıbay, Tülin Özbek Arasoğlu, Nergis Arsu, “A facile and versatile route for preparation AgNp nanocomposite thin films via thiol-acrylate photopolymerization: Determination of antibacterial activity”, *Progress in Organic Coatings*, vol: 143, 2020, DOI: 10.1016/j.porgcoat.2020.105620.
- [65] Jalal M, Ansari MA, Alzohairy Ma, Ali SG, Khan HM, Almatroudi A, Siddiqui MI,

“Anticandidal activity of biosynthesized silver nanoparticles: effect on growth, cell morphology, and key virulence attributes of *Candida* species”, vol:14, pp:4667-4679, 2019, DOI:10.2147/IJN.S210449.

- [66] Daissy Paredes, Claudia Ortiz, Rodrigo Torres, “Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial effect of Ag nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7 and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, International Journal of Nanomedicine, vol:9, pp: 1717–1729, 2014, DOI: 10.2147/IJN.S57156.
- [67] Tanmoy Dutta, Narendra Nath Ghosh, Asoke P. Chattopadhyay, Mahuya Das, “Chitosan encapsulated water-soluble silver bionanocomposite for size-dependent antibacterial activity”, Nano-Structures & Nano-Objects, vol:20, 2019, DOI: 10.1016/j.nanoso.2019.100393.