

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN TERMOFİLİK
***Geobacillus vulcani* 2CX VE ENZİMLERİ**
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

AHMED TUNÇ

TEMMUZ 2023

DİYARBAKIR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN TERMOFİLİK
Geobacillus vulcani 2CX VE ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİ

AHMED TUNÇ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM-ÖĞRETİM VE SINAV
YÖNETMELİĞİNİN BİR PARÇASI OLARAK

DİSİPLİNLERARASI NANOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALINDA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

TEMMUZ 2023

DİYARBAKIR

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN TERMOFİLİK *Geobacillus vulcani* 2CX VE ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Ahmed TUNÇ tarafından Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin bir parçası olarak hazırlanan bu çalışma, aşağıda bilgileri yazılı jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Disiplinlerarası Nanoteknoloji Ana Bilim Dalı**'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neslihan DALKILIÇ
Müdür, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Doç. Dr. Fatma MATPAN BEKLER
Danışman, **Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,**
Dicle Üniversitesi

Sınav Jürisi:

Prof. Dr. Kemal GÜVEN
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Dicle Üniversitesi

Doç. Dr. Fatma MATPAN BEKLER
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Dicle Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Israt JAHAN SİDDİK
Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu Sağlık Hizmetleri Anabilim Dalı
Mardin Artuklu Üniversitesi



Savunma Tarihi: 06 / 07 / 2023

(*) Sınav Jürisi kısmının birinci satırına Jüri Başkanının bilgilerini yazınız.

(**) Sınav Jürisi kısmının ikinci satırına Tez Danışmanının bilgilerini yazınız.

Hayat arkadaşım Bilge'ye



Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışmasında yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bahse konu bu kural ve ilkelerin gerektirdiği üzere, bu çalışmada özgün olmayan tüm bilimsel içerikleri kurallara uygun biçimde alıntılıyıp kaynak gösterdiğimi beyan ederim. Beyanıyla çelişen herhangi bir delil bulunduğu takdirde tüm sorumluluğu üstleneceğimi kabul ederim.

Ad, Soyad: Ahmed TUNÇ

İmza:

TEŞEKKÜR

Her zaman yüzünde tebessümü eksik etmeyen, çalışmamın her basamağında yardımlarını esirgemeyen, fikirlerimi sabırla dinleyen, laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve benim için en önemlisi gözümde kız çocuklarımıza örnek, güçlü, bir kadın profili çizen değerli bilim insanı danışmanım Doç. Dr. Fatma MATPAN BEKLER'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Çalışmalarımda laboratuvarını kullanmam için verdiği izinden dolayı Prof. Dr. Kemal GÜVEN'e minnetlerimi sunarım. Tezimi hazırlarken alan bilgisine başvurduğum, sevecen ve hayat dolu bilim insanı Prof. Dr. Bilsen TURAL' a ne kadar teşekkür etsem azdır.

Bilgi paylaşımı, analizleri yorumlama ve laboratuvar çalışmalarımda yardımları için Dr. Öğr. Üyesi Israt JAHAN SIDDIK'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezin her aşamasındaki yanımda olan birlikte çalışmaktan büyük bir keyif aldığım, Cemal DİRİ'ye teşekkür ederim. Analizlerimin çizim aşamalarında sunduğu destek için, Dr. Filiz KOYUNCU'ya teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarımda sahada sürekli benimle çalışan; Moleküler Biyoloji ve Genetik lisans bölümü öğrencileri bana göre bilim alanında geleceğin üç silahşörü, Muhammed Furkan AKDAĞ, Merve Nur TURAN ve Heja KARTAL'a teşekkürü borç bilirim.

Tezin yazım aşamasında tablo ve grafik çizimlerimde yardımlarını esirgemeyen yirmi iki yıllık kadim dostum Bilişim Teknolojileri Öğretmeni Veysi DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Yazar, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (DÜBAP), bu tez çalışması için sağladıkları finansal destek için (Proje No: 23.FEN.005) için teşekkürü bir borç bilir.

En önemlisi, kendime bazı zamanlar inanmasam da her zaman bana inandığı ve desteklediği için değerli hayat arkadaşım Bilge'ye şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1 Nanoteknoloji.....	4
2.2 Tarihçesi	5
2.3 Uygulama alanları	6
2.4 Nanopartiküllerin sınıflandırılması	8
2.4.1 Nanopartiküller.....	8
2.5 AgNP'lerin Özellikleri ve Etkileri	11
2.6 NP'lerin Potansiyel Toksik Etkileri	14
2.7 Termofiller	18
2.8 <i>Geobacillus</i>	19
2.8.1 <i>Geobacillus vulcani</i>	20
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	26
3.1 Kullanılan Kimyasallar.....	26
3.2 Kullanılan Aletler.....	26
3.3 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma	27
3.4 Bakterilerin Kültüre Alınması	27
3.5 Bakteriyel Suşların Nanopartiküllere Duyarlılıkları	27
3.6 AgNP'lerin Bakteriyel Morfoloji Üzerine Etkisi	28
3.7 AgNP ile Bakteriyel Biyokütlenin FT-IR Analizi	29
3.8 NP Stresi Varlığında Hücresel Canlılığın Değerlendirilmesi	29
3.9 NP kaynaklı Stres Altında Bakteriyel Hücrelerde Süperoksit Üretimi	30
3.10 AgNP'lerin Enzim Biyosentezi Üzerindeki Etkisi.....	30
3.11 AgNP'lerin Enzim Salgısına Etkisi.....	30
3.12 İstatiksel analizler	31

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1 <i>G. vulcani</i> 2Cx'in Fenotipik Karakterizasyonu	32
4.2 Bakteri Popülasyonu ve NP Toleransı/Hassasiyeti.....	32
4.3 AgNP'lerin Bakteriyel Morfoloji Üzerine Etkisi	35
4.4 AgNP ile Bakteriyel Biyokütlenin FT-IR Analizi	37
4.5 NP Stresi Varlığında Hücresel Canlılığın Değerlendirilmesi.....	40
4.6 NP kaynaklı Stres Altında Bakteriyel Hücrelerde Süperoksit Üretimini Ölçme	41
4.7 AgNP'nin Enzim Biyosentezi Üzerindeki Etkisi.....	43
4.8 AgNP'lerin Enzim Salgısına Etkisi.....	44
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	46
5.1 Sonuçlar	46
KAYNAKLAR.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Nanoteknolojinin zaman içinde değişimi.	5
Şekil 2.2 Nanoteknolojinin kullanım alanları.....	7
Şekil 2.3 Nanopartiküllerin sınıflandırılması	8
Şekil 2.4 Nanopartiküllerin sınıflandırılması	9
Şekil 2.5 Çeşitli metal nanopartiküllerin kullanım alanları	11
Şekil 2.6 AgNP'lerin uygulamaları	13
Şekil 2.7 AgNP'lerin aktivitelerinin şeması.....	17
Şekil 4.1. <i>G. vulcani</i> 2Cx Koloni görüntüsü	32
Şekil 4.2 AgNP konsantrasyonuna bağlı CFU değerleri.....	34
Şekil 4.3 AgNP'siz ortamda bakterinin TEM görüntüsü (Kontrol)	35
Şekil 4.4 500 µg mL ⁻¹ AgNP içeren ortamda bakterinin TEM görüntüsü.....	36
Şekil 4.5 AgNP içermeyen ortamda bakterinin FT-IR analiz görüntüsü.....	37
Şekil 4.6 500 µg mL ⁻¹ AgNP içeren ortamda bakterinin FT-IR analiz görüntüsü	38
Şekil 4.7 AgNP içeren ve içermeyen ortamdaki bakterinin FT-IR analiz görüntüsü.....	39
Şekil 4.8 AgNP konsantrasyonlarına maruz kalan <i>G. vulcani</i> 2Cx'nin hücresel canlılığının inhibisyonu.....	40
Şekil 4.9 AgNP konsantrasyonlarına maruz kalan <i>G. vulcani</i> 2Cx'nin hücresel canlılığının inhibisyonu.....	41
Şekil 4.10 <i>G. vulcani</i> 2Cx'in AgNP konsantrasyonlarına bağlı süperoksit radikallerinin/reaktif oksijen türlerinin üretilmesi.....	42
Şekil 4.11 <i>G. vulcani</i> 2Cx'in AgNP konsantrasyonlarına bağlı süperoksit radikallerinin/reaktif oksijen türlerinin türetilmesi.....	42
Şekil 4.12 AgNP konsantrasyonuna bağlı bakteri büyüme inhibisyonu.....	44
Şekil 4.13 AgNP konsantrasyonuna bağlı enzim sekresyonu	45

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 <i>Geobacillus</i> 'un türleri.....	20
Tablo 4.1 MIC ve MBC değerleri.....	33
Tablo 4.2 CFU değeri ve bakteri büyüme inhibisyonu.....	33

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
%	Yüzde
≤	Küçük eşit
μg	Mikrogram
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
°C	Santigrad derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
kV	Kilovolt
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
pH	Power of Hydrogene (hidrojenin gücü)
sn	Saniye
V	Volt

Kısaltma	Açıklama
ABD	Amerika Bileşik Devletleri
AFM	Atomik Kuvvet Miroskobu(Atomic Force Microscopes)
Ar-Ge	Araştırma ve geliştirme
ATR	Azaltılmış toplam yansıma
BM	Bazal Medium
BMA	Bazal Medium Agar
CFU	Colony Forming Unit (Koloni oluşturan birim)
CNT	Karbon nanotüpler
DMSO	Vedimetil sülfoksit
GSH	Glutathione
MBC	Minimum Bactericidal Concentration (En düşük bakterisidal konsantrasyon)
MBD	Molecular Beam Epitaxy (Moleküler Işın Epitaksi)
MIC	Minimum Inhibitory Concentration" (En düşük inhibe edici konsantrasyon)
MTT	3-(4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide
NAG	N-asetilglukozamin
NAM	N-asetilmuramik asit
NBA	Nutrient Broth Agar
NBT	Nitroblue tetrazolyum
NP	Nanopartikül
OD	Optik density
<i>o</i> -NPG	<i>o</i> -nitrofenil- β -D-galaktopiranosid
PBS	Phosphate-buffered saline (fosfat tamponlu salin)
ROS	Reactive Oxygen Species (reaktif oksijen türleri)
rpm	Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
SD	Standart sapma
SDS	Sodyum dodesil sülfat
UV	Ultra viyole

ÖZET

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN TERMOFİLİK *Geobacillus vulcani* 2CX VE ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Tunç, Ahmed

Yüksek Lisans, Disiplinlerarası Nanoteknoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatma Matpan Bekler

Temmuz 2023, 74 sayfa

Son yıllarda gerek endüstriyel sektörde gerekse ev uygulamalarında nanopartiküllerin kullanımının hızlı bir şekilde artması, bu tür malzemelerin doğaya daha fazla salınmasına neden olmuştur. Nanopartiküllerle tasarlanmış bu malzemelerin çevresel süreçler ve bunları gerçekleştiren organizmalar üzerindeki etkileri tam olarak ölçülememektedir. Bu bilgi boşluğu göz önünde alındığında bu çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda ($62,5-1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) gümüş nanopartiküllerin (AgNP), termofilik *Geobacillus vulcani* 2Cx bakterisinin büyümesi, hücre iç membran geçirgenliği, nanopartiküllerle etkileşimi, hücre morfolojisi, fizyolojik aktiviteleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *G. vulcani* 2Cx için artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak bakterilerin büyüme inhibisyonu incelendiğinde kontrole kıyasla $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında bakterilerin büyümesinde %71 iken $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %96 inhibisyon olduğu belirlenmiştir. Yapılan hücre morfolojisi (TEM deneyleri), NP ile etkileşim (FT-IR deneyleri) hücre duvarı, hücre zarı yapılarının ve hücredeki protein ve DNA yapısının bozunmuş olabileceğini göstermektedir. Artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığının azaldığı ve $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP konsantrasyonunda *G. vulcani* 2Cx %62'lik değeriyle en yüksek hücre canlılığını göstermektedir. *G. vulcani* 2Cx'in süperoksit üretimi ile ilgili 570 nm'deki spektral ölçümlerine bakıldığında, $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 1,6 iken $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,28 absorbans değerine sahip olduğu belirlendi. Nanopartiküllerin doza bağlı olarak süperoksit üretiminde önemli bir artışa neden olduğunu tespit edildi. Enzim biyosentezinin artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı, enzim aktivitesinin $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %41, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında ise %29 olduğu belirlendi. AgNP'nin enzim salgılanması üzerindeki etkisi incelendiğinde, kontrole kıyaslandığında *G. vulcani* 2Cx için enzim sekresyonunun $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %32 olduğu belirlendi. Bu nedenle, AgNP'lerin yakın ilişkili mikroorganizmalara uygulanması durumunda güçlü antibakteriyel etkiler gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: AgNP, β - galaktosidaz, *Geobacillus vulcani*, MIC, MTT, TEM

ABSTRACT

EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON THERMOPHILIC *Geobacillus vulcani* 2CX AND ITS ENZYMES

Tunç, Ahmed

Master of Science in Interdisciplinary Department of Nanotechnology

Supervisor: Doç. Dr. Fatma Matpan Bekler

July 2023, 74 pages

In recent years, the rapid increase in the use of nanoparticles both in the industrial sector and in home applications has caused such materials to be released into the nature more. The effects of these materials designed with nanoparticles on environmental processes and the organisms that perform them cannot be measured exactly. Considering this information gap, the effect of silver nanoparticles (AgNP) at various concentrations (62,5-1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) on the growth of thermophilic *Geobacillus vulcani* 2Cx bacteria, cell membrane permeability, interaction with nanoparticles, cell morphology, and physiological activities was aimed in this study. When the growth inhibition of bacteria due to increased AgNP concentration for *G. vulcani* 2Cx was examined and compared to the control, it was determined that the growth of bacteria was 71% in the presence of 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP while it was 96% in the presence of 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP. The cell morphology (TEM experiments) and interaction with NP (FT-IR experiments) show that the cell wall, cell membrane structures and the protein and DNA structure in the cell may be degraded. Cell viability decreased with increasing AgNP concentration and *G. vulcani* 2Cx showed the highest cell viability with 62% at 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP concentration. When the spectral measurements of *G. vulcani* 2Cx related to superoxide production at 570 nm were examined, it was determined that it had an absorbance value of 1,6 in the presence of $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP and 2,28 in the presence of 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP. It was determined that nanoparticles caused a significant increase in superoxide production depending on the dose and that the enzyme biosynthesis decreased with increasing AgNP concentration. Thus, the enzyme activity was 41% in the presence of 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP and 29% in the presence of 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP. When the effect of AgNP on enzyme secretion was examined, it was determined that the enzyme secretion for *G. vulcani* 2Cx was 32% in the presence of 250 mg mL^{-1} AgNP when compared to the control. Therefore, it was concluded that AgNPs could exert strong antibacterial effects when applied to closely related microorganisms.

Keywords: AgNP, β -galactosidase, *Geobacillus vulcani*, MIC, MTT, TEM

1. GİRİŞ

İnsan merak duygusu sayesinde diğer canlılardan ayrılır. Bu duygu, insanın çevresini anlamasını ve sorgulamasını uyararak, farkına varmadan bilime yolculuğunu başlatır. Bu sayede bilgi, bilim, teknoloji ve üretim artarak evrenin daha iyi anlaşılması sağlanır.

Nanoteknoloji kelimesi “Nano” ve “Teknoloji” kelimelerinden oluşmaktadır. Yunanca kökenli olan "Nano" kelimesi metrik sistemde bir metrenin milyarda biri anlamına gelen bir ölçü birimidir (Allhoff, vd., 2017). "Teknoloji" kelimesi de bilim ve mühendislik prensiplerini kullanarak pratik uygulamalara dönüştürme sürecidir. Bu iki kelimenin oluşturduğu bilim alanı olan “Nanoteknoloji” nano boyutlarda maddelerin incelendiği uygulamaların, sistemlerin bütünüdür (Çıracı, 2007; Ravichandran, 2010). Nanopartiküller, 1-100 nm boyutlarında karbon, metal oksitler veya diğer organik maddelerden oluşan, çeşitli şekillerde (içi boş, silindirik, küresel, konik, borulu, spiral, düz ve hatta düzensiz) olabilen, biyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikler gösterebilen parçacıklardır (Durán vd., 2016; Hasan, 2015; Machado vd., 2015;).

Biyolojik süreçlerin nano ölçekte anlaşılması, nanoteknolojinin gelişiminin arkasındaki güçlü itici güçtür (Salata, 2004). Nanopartiküller, ilaç ve gen iletimi, DNA analizi, proteinlerin saptanması, biyolojik moleküllerin ve hücrelerin saflaştırılması, patojenlerin tespiti, biyolojik etiketler, kanser araştırmaları gibi medikal uygulamalarda (Bruchez vd., 1998; Chan ve Nie, 1998; Edelstein vd., 2000; Mahtab vd., 1995; Yoshida ve Kobayashi, 1999), gıda paketlenme, raf ömrünü uzatma, mikrobiyal istila nedeniyle gıda israfını azaltma, biyoaktif maddeler ve nutrasötiklerin taşınması ve kontrollü salınımı gibi gıda endüstrisi uygulamalarında (Nile vd., 2020; Pradhan vd., 2015, Singh vd., 2017), UV koruma, anti-mikrobiyal, anti-statik, su geçirmezlik, yanmaz özelliklerde malzeme üretimi gibi tekstil endüstrisi uygulamalarında (Chakrabarty ve Jasuja 2022; Mariana, 2009, Sawhneyvd., 2008), UV koruması, daha derin cilt penetrasyonu, uzun süreli etki gösteren, artan renk sağlama gibi kozmetik uygulamalarında (Aziz vd., 2019, Gupta vd., 2022), arabaların, kamyonların, uçakların, teknelerin ve uzay araçlarının hafifletilmesi, beyzbol sopaları, tenis raketleri, bisikletler, motosiklet kaskları,

otomobil parçaları, valizler, elektrikli aletler gibi malzemelerin hafif, sert, dayanıklı ve esnek yapımı gibi endüstriyel uygulamalarda (National Nanotechnology Initiative, n.d.), güneş enerjisi yakalama, ve oksit yakıt pilleri üretimi ve hareket yoluyla enerji toplama özelliklerine sahip esnek nano ölçekli sensörler gibi enerji uygulamalarında (Chauhan vd., 2020; Hasan, 2015), kendi kendini temizleyebilen, kamera ve bilgisayar ekranları, elektronik, optik, pencere ve diğer yüzeylerde toz ve su tutmaz, buğu önleyici birçok farklı özellik sağlamada cam ve elektronik ekran uygulamalarında (National Nanotechnology Initiative, n.d.) kullanılmaktadır.

Son yıllarda, nanoteknolojinin gelişimiyle birlikte, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı AgNP'leri, tıp, antimikrobiyal uygulamalar, gıda ambalajları, elektronik malzeme, su arıtma, boyalar, kaplamalar gibi çeşitli endüstrilerde daha fazla dikkat çekmektedir (Markowska vd., 2013, Perez 2012; Zhang vd., 2016).

Nanopartikül üretim tesisleri ve nanopartikül içeren tüketici ürünlerinin son yıllarda hızla artmasıyla, nanopartiküller hızla çevreye salınmıştır. Bunun sonucuda nanopartiküllerin çeşitli prosesler ile su, toprak ve/veya hava ortamına girmeleri ile sonuçlanmaktadır (Ünşar ve Perendeci, 2016).

Nanopartiküllerin çevresel etkilerinin belirlenmesi için biyolojik organizmalar üzerindeki etkileri, toksisite potansiyelleri, çevre ortamlarındaki dağılımı ve stabilitesi gibi faktörlerin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Nanopartiküller, bakterilerin hücre duvarına ve zarına nüfuz edebilir ve önemli moleküler mekanizmaları bozarak hareket edebilir. NP'lerin antimikrobiyal özelliklerinin mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Hücre ölümüne neden olan önemli mekanizmalardan bazıları, partiküllerin (i) bakteri hücresine bağlanması, hücre zarı geçirgenliğini ve solunumunu bozması, (ii) NP'lerin yüzeyinden serbest metal iyonları salarak toksisiteye neden olması veya (iii) reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek oksidatif strese neden olması olarak düşünülmektedir (Ozdal ve Gurkok, 2022).

Yüksek sıcaklıklarda büyüeyebilen organizmalara termofiller denir. Güneş, endüstriyel, jeotermal veya biyolojik olarak ısıtılan ortamlarla ilişkilidir. Termofiller kardinal büyüme sıcaklıklarına göre genel olarak ve biraz keyfi olarak üç grupta

toplanır: hipertermofiller (75–113 °C), ekstrem termofiller (55–85 °C) ve termofiller (35–70 °C) olduğu saptanmıştır (Baker vd., 2001).

Bu nedenle bu çalışmada, farklı AgNP konsantrasyonlarının termofilik *Geobacillus vulcani* 2Cx'in yapısal bütünlüğü ve hayati fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji serüveni Dr. Feynman'ın 1959 yılındaki o meşhur 'Altta Daha Çok Yer Var' konuşmasıyla başlamıştır. Terim anlamına bakıldığında nano kelimesi "bir fiziksel büyüklüğün milyarda biri, "nanoteknoloji" kelimesi bir maddenin 1 ile 100 nanometre boyutlarındaki davranışlarını öğrenme ve yönetme bilimi olarak tanımlanmaktadır (Allhoff, 2009). Taniguchi 1974 yılında nanoteknolojiyi temelde malzemelerin moleküler veya atomik ölçekte ayrılması, deformasyonu ve sıkıştırılması olduğunu ileri sürmüştür (Lele, 2009).

Nanoboyuta bir malzemeyi indirgediğimizde artık makro boyuttaki özelliklerini taşımayıp; elektriksel, morfolojik, mekanik, elektromanyetik ve optik yapısı da değişir (Loos, 2015).

Nanopartikül, 1-100 nm boyutları olan parçacıklar veya tozlar nanopartikül olarak tanımlanır (Ateş, 2015). Bu parçacıkların boyutları çok küçük olduklarından dolayı bu tür malzemeler hacimsel yapılarına mukayese edildiğinde, uygun koşullar sağlandığında üstün özellikler göstermektedirler (Ateş ve Bahçeci, 2015).

1959 yılında fizikçi Dr. Feynman "There is Plenty of Room at the Bottom" başlıklı konuşmasında "malzeme ve cihazların moleküler boyutlarda üretilebileceği ve yeni amaçlar için kullanılabileceği" ifadesini kullanarak nanoteknoloji vizyonunu başlatmıştır (Şengil, 2010).

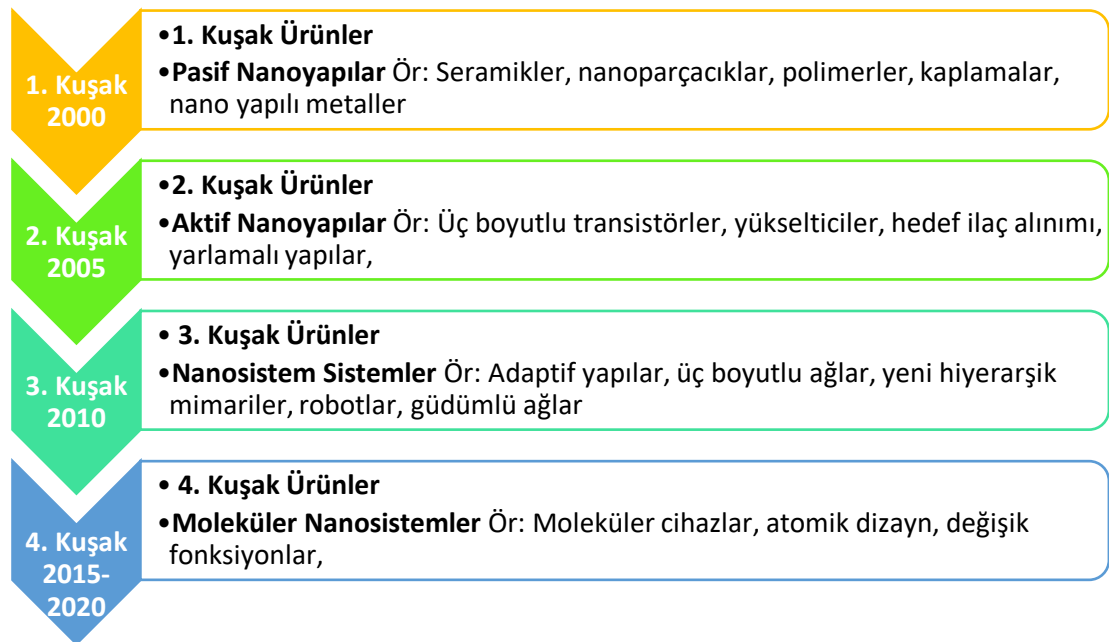
Nanopartiküllerin özelliklerini,

- Oldukça büyük yüzey alanı
- Kimyasal olarak oldukça hafif malzemeler
- Manyetik, optik, mekanik ve elektriksel özellikler
- Yapısal ve yapısal olmayan uygulama alanları
- 1-100 nm tanecik boyutu olarak sıralayabiliriz (Lines, 2008).

Nanopartiküllerin bu kadar çok üstün özelliklerin olması nanopartiküllerin boyutlarıyla beraber kontrol edilebilen morfoloji ve şekillerinin de etkisi vardır (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health, 2006).

2.2 Tarihçesi

Literatürde ilk kez nanoteknoloji kelimesini 1974 yılında Norio Taniguchi kullanmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)'nin buluşuyla 1981'de nanoteknoloji alanında ilerleme sağlanmıştır (Binnig, vd., 1982). İletken bir yüzeyde atomların yerleri değiştirilmesi SEM sayesinde olmuştur. Bu buluşları sayesinde 1986 yılında Rohrer H. ve Binnig G. Nobel Fizik ödülünü almışlar ve karbon nanotüpler aynı yıl keşfedilmiştir (Walkey vd., 2009). Bu gelişmeden sonra atomik kuvvet mikroskobu (AFM) keşfedilmiş ve bu keşifle yarı iletken nanokristallerin incelenmesi, sentezi ve özelliklerinin, belirlenmesi gibi önemli katkılar sağlamıştır (Yıldırım vd., 2010). Zaman içinde nanoteknolojinin zaman içindeki değişimi aşağıda Şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Nanoteknolojinin zaman içinde değişimi (Roco, 2005; Değiştirilerek düzenlenmiştir).

2.3 Uygulama alanları

Nanopartiküllerin kullanım alanları oldukça geniş bir alana sahiptir. Bazı önemli nanopartikül kullanım alanları şunlardır:

- **Tıp ve Sağlık:** Nanopartiküller tıpta ilaç taşıyıcı sistemlerde genellikle altın nanopartikülleri, lipozomlar, dendrimerler, polimerik olarak, kuantum noktaları, polimerik nanopartiküller ve polimerik konjugatlar miseller olarak kullanılmaktadır (Ekinci ve Özdemir, 2021). Kendine özgü paramanyetik, kimyasal özellikleri ve optik özellikleri sayesinde nanopartiküller beyin görüntülemesinde çözünürlüğü artırabilir. Beyin dokusu dışında oluşabilecek yan etkileri azaltabilmek için hedefe yönelik tedavi ile birlikte kullanılmalıdır (Kiraz vd., 2018). Örneğin, gen aktarması, ilaç salınımı, DNA yapısının işaretlenmesinde nanopartiküller kullanılabilir.
- **Elektronik:** Nanoteknoloji ürünü bilgisayarların nanoölçekte elektronik devre elemanlarının üretilen bilgisayar günümüz teknolojisi ile üretilen bilgisayarlardan boyutları daha küçük olmasına karşın, kapasite ve hız bakımından daha az enerji tüketmesi beklenmektedir (Ersöz vd., 2018). Elektronik alanında nanoboyutlarda transistör, diyot gibi malzemelerin kullanılmasını örnek verilebilir.
- **Malzeme Bilimi:** Nanoteknolojin temel taşı nanomalzemelerdir. Bu malzemeler bu boyutta ektriksel, manyetik, eşsiz ve optik özellikler taşırlar. Makro dünyada nomalzemeler bu boyutuyla diğer malzemelerden farklı davranmaları oldukça ilginçtir. Makro boyuttaki, bir malzeme nano boyuta geçtiğinde optik, manyetik ve güç/ağırlık oranı kayda değer biçimde değişmektedir (Rao vd., 2007). Örneğin; binaların dış cephe kaplamalarında anti-grafiti nano kaplama yapılabilir.
- **Enerji:** Kimyasal ve yeşil sentez kullanılarak nanopartiküllerin üretimi ile tehlikeli atık oluşumu büyük oranda azaltılıp, daha güvenilir, toksik olmayan ürünler elde edilerek enerji tüketimi ve veriminde önemli gelişmeler sağlanması mümkün olacaktır (Uslan, 2023). Örneğin; güneş enerji sistemlerinde nanofluidler kullanılabilir.

- Çevre: Çevrede daha düşük konsantrasyonlarda bulunan kirleticileri tespit etmek için nanopartiküller daha hassas ve seçici yeni algılama teknoloji uygulamalarında kullanılır. Su ve toprak kütleleri üzerine nanopartiküllerin çökmesiyle çevresel etkilere veya ikincil kontaminasyona neden olabilmektedir. Nanopartiküller çevreye salındığında kritik parametrelerin değerlendirilmesi, maruz kalma, çevreye taşınmalarıyla yapılır (Dağlıoğlu vd., 2016).
- Gıda: Günümüzde gıda sektöründe raf ömrü uzun ve kaliteli ürünler elde etmek için; tüketicilere yüksek kalitede, mikrobiyolojik açıdan güvenli, doğal, taze, koruyucu ve katkı maddesi içermeyen, nanoteknoloji çalışmalarına ağırlık verilmiştir. (Erdem ve Gülel, 2015). Gıdalardaki oksidatif bozulmayı önlemek için, nano boyutlu demir oksit kullanılabilir. Şekil 2.2’de nanoteknolojinin kullanım alanları şema ile özetlenmektedir:



Şekil 2.2 Nanoteknolojinin kullanım alanları (Özdoğan vd., 2006; Değiştirilerek düzenlenmiştir).

Birçok ülke nanoteknolojinin önemini fark etmiştir. Gelecekte nanoteknolojinin devletlerarası güç dengesinin belirleyicilerinden biri olarak düşündükleri için bu

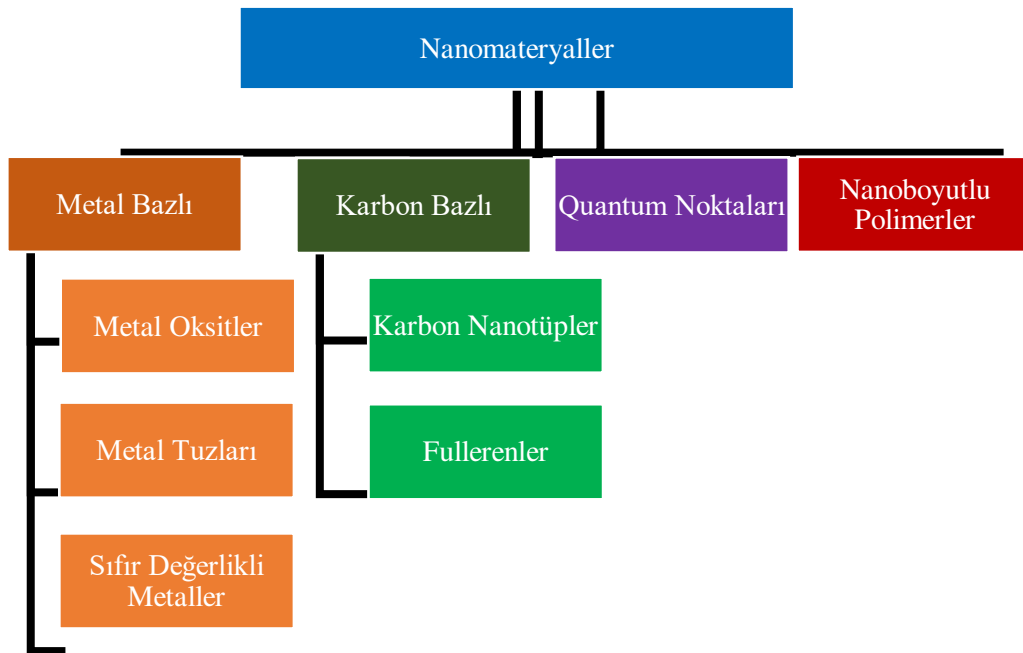
lkeler Ar-Ge yatırımları yapmaya başlamıştır. Nanoteknoloji alanında Amerika Birleşik Devletleri (ABD) önemli projeleri hayata geçirerek diğerk ülkelere öncülük etmektedir. Fransa, Japonya ve Almanya nanoteknoloji alanında Ar-Ge alışmaları için önemli bütçe ayırmışlardır. Nanoteknoloji alanında Fransa ve Almanya Ar-Ge merkezlerinin kurulması ve projelerin geliştirilmesini desteklemektedir (Resmi Gazete, 2017).

2.4 Nanopartiküllerin sınıflandırılması

2.4.1 Nanopartiküller

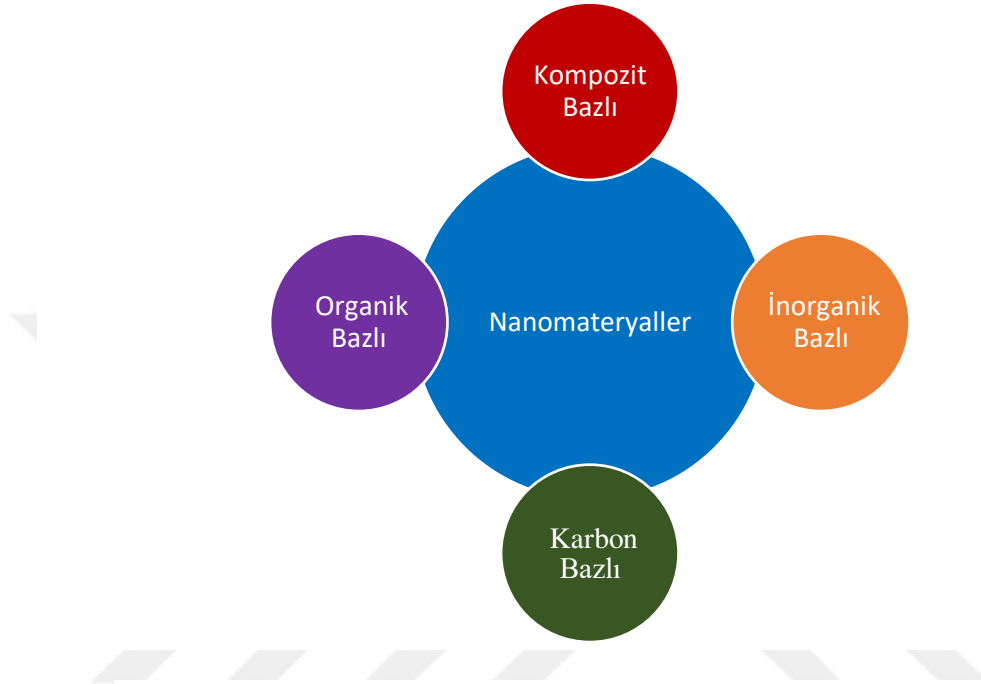
Mikro ve makro ölçekteki malzemelere göre nano boyuttaki materyallerin özellikleri, önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Nano boyutta malzemelerin sentezi ve üretim prosedürlerin gelişmesine her geçen gün talep hızla artmaktadır. Bilim ve teknolojiye yeni alanların gelişmesinde nanomalzemelerin büyük bir rolü vardır (Ra vd., 2004).

Nanomateryaller doğal veya insan yapımı olabilir (Buzea, 2007). Bu nanomalzelerden isteğ'e bağlı şekil ve boyutta üretilen materyaller insan yapımı nanomateryallerdir (Ellenbecker, 2015). Nanopartiküller, fiziksel, kimyasal, fizyolojik ve morfolojik özelliklerine göre şekilde sınıflandırılabilir. şekil 2.3'de en yaygın olarak kullanılan sınıflandırma gösterilmiştir.



şekil 2.3 Nanopartiküllerin sınıflandırılması (Hatami vd., 2016).

Literatürde nanopartikülleri, kompozit bazlı nanopartiküller, organik bazlı, inorganik bazlı nanopartiküller ve karbon bazlı nanopartikül olarak dörde ayıran sınıflandırmalarda mevcuttur. Şekil 2.4’ de nanopartiküllerin farklı bir sınıflandırılması verilmiştir.



Şekil 2.4 Nanopartiküllerin sınıflandırılması (Ealia, 2017, Değiştirilerek düzenlenmiştir).

Organik yapılı NP’ler, toksik olmayan biyo-bozunur nanoyapılardır. Organik yapılı NP’lere, lipozomlar, ferritin, misiller, denimerler vb. yapılar örnek verilebilir (Tiwari vd., 2008).

İnorganik NP’ler, karbon içermeyen nanometre ölçeğindeki inorganik parçacıklardır. Metal oksit ve metal bazlı NP’ler genellikle inorganik NP’ler olarak sınıflandırılmaktadır. Karbon NP’ler tamamen karbondan meydana gelmiştir. Bu tür nanopartiküllere örnek olarak; karbon nanotüpler (CNT), fullerenler ve karbon nanolifleri örnek verilmektedir (Filizler, 2019).

Genelde kompozit bazlı NP’ler daha karmaşık ve daha büyük tipte olan nanopartiküllerdir. Nano boyutta başka malzemelerle nanopartiküllerin birleştirilmesiyle üretilirler. Bu malzemeler; polimer, seramik, metal gibi malzeme formlarıyla herhangi bir karbon bazlı, organik bazlı ya da metal bazlı NP’ler ile

kombine olabilmektedirler. İsteğimiz şekilde nanaopartiküllerin her biri ana malzemeden farklı boyut, şekil ve davranış sergilemektedir (Jeevanandam vd., 2018).

Altmış veya daha fazla karbon atomu kafes hali fullerenleri oluşturur. Elektron ilgileri, elektriksel iletkenlikleri ve yapı özellikleri sayesinde fullerenleri ticari uygulama alanlarına sahiptir (Hatami vd., 2016).

Araştırmacıların ilgisini çekmeyi başaran yaklaşık yüz yıldan beri metal bazlı nanopartiküller, günümüzde mühendislik ve biyomedikal alanlarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu nanopartiküllere, nano boyutta üretilen altın (Au), kurşun (Pb), gümüş (Ag), çinko (Zn), demir (Fe), alüminyum (Al), bakır (Cu), kadmiyum (Cd), kobalt (Co) örnek verilebilir. 700 nm boyutunu aşmayan 10-70 nm arasında değişmekte olan metal nanopartiküller biyoteknolojide kullanılmaktadır (Mody vd., 2010).

1800'den fazla nano ürün piyasada mevcuttur. Bu nano ürünlerin %37'lik bölümünü metal oksit ve metal türevi nanopartiküllerdir. En çok kullanılan nanopartiküler ilk üçü; TiO₂, SiO₂ ve ZnO olarak sıralamak mümkündür (Vance vd., 2015).

2.4.1.1. Metal NP'ler

Günümüzde metal nanopartiküller ile biyomedikal, fizyokimyasal, tarımsal ve alanlarında çalışmalar yapılmaktadır. Karakteristik özellikleri sayesinde nanopartiküller spesifik ilaç salınımı, yara iyileşmesi, kanser tanı ve tedavisi, tıbbi görüntüleme, kozmetik, antimikrobiyal aktivite ve kimyasal sensörler gibi kullanım alanları mevcuttur (Singh vd., 2016). Çeşitli klasik kimyasal yöntemlerle metal nanopartiküller üretilmektedir. Ultrasonikasyon, aerosol teknolojileri, fotokimyasal redüksiyon, soljel, lazer ablasyonu, soltermal/hidrotermal gibi yöntemler bunlardan bazılarıdır (Kıyar, 2020). Metal nanopartiküller daha çok noktadan noktaya temas edebilme özelliklerini ince bir tabakaya ve güvenilir elektriksel bir rotaya sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Li vd., 2006). Metal nanopartiküllere altın, gümüş, palladyum, çinko, titanyum, demir, çinkoyu örnek verebiliriz (Abinaya vd., 2019).

Aşağıdaki şekil 2.5 ‘te bazı metal nanopartiküllerin kullanım alanları verilmiştir.



Şekil 2.5 Çeşitli metal nanopartiküllerin kullanım alanları (Mittal vd., 2013; Değiştirilerek düzenlenmiştir).

2.5 AgNP’lerin Özellikleri ve Etkileri

AgNP’ler, metal NP’ler içerisinde en dikkat çekici olanlardan biridir. AgNP’ler, mikrobiyal ve manyetik aktivite, optik polarizasyon, elektrik iletkenliği, kataliz gibi kendine has çeşitli özelliklere sahiptir. Bu nanopartiküller belirli ışık dalga boyunda farklı renklere sahiptir (Noguez, 2007). AgNP’ler partükül boyutu 1 ila 100 nm arasında değişen gümüş parçacıklardan oluşur (Mody vd., 2010). AgNP’leri, metal nanopartiküller arasında bakterisidal ve inhibitör etkilere sahip oldukları bilinmektedir (Cho vd., 2005).

AgNP’ler, bakteri içerisine geçebilir, hücre bakteri mebranına tutunabilirler. Bakteri hücrelerine girdiğinde AgNP’ler; hem protein içeren bileşiklerle hemde fosfor içeren DNA bileşiklerle etkileşime girmektedir. DNA’sını korumak için bu tür durumlarda bakteri düşük molekül ağırlıklı bir bölge oluşturur. Bu da gümüş iyonlarının bakterinin solunum zincirini etkileyerek denatüre olmasına sebep olmaktadır (Rai vd., 2009).

AgNP'ler, anti-bakteriyel aktivitetlerini hem nanometrik ölçeklerde hemde geliştirilmiş yeni özelliklerle göstermektedir. Literatürde AgNP'lerin antimikrobiyal etkiler incelendiğinde, mantar ve bakterilere karşı ve ayrıca HIV-1 virüsüne etki ettiği bildirilmiştir. (Hammamchi, 2019; Kittler vd., 2010; Navarro vd., 2008).

Geçmişten günümüze literatür kayıtlarında çeşitli nanopartiküllerin antimikrobiyal ajanlar olduğu ve özellikle bakterilere ve mantarlara karşı etkili tespit edilmiştir. Antimikrobiyal açıdan AgNP'leri diğer nanopartiküllerle mukayese ettiğimizde virüs, bakteri ve mantarlarda daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Kim vd., 2009; Ocsoy vd., 2013).

Nano ölçekte gelişmiş işlevsel malzemeler geliştirmek için fizik, kimya ve malzeme bilimi gibi farklı bilimsel disiplinlerdeki araştırmacıları bir araya getiren multi disiplinli alana nanoteknoloji denir. Biyolojik ve fizikokimyasal özellikleri olan nanomalzemelerin, son derece geniş yüzey alanı/hacim oranı nedeniyle dökme malzemelerden önemli ölçüde farklılık gösterir. Nanoteknolojideki son gelişmeler sayesinde biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarla yeni ve farklı nanomalzeme türlerinin sentezine alan açar. Metal nanopartiküller, bunların arasında, görüntüleme, algılama ve benzersiz optik özelliklere sahip ilaç iletimi, amaçları için nanotıp alanında büyük ilgi odağı olmuştur. Özellikle AgNP'ler, mantar önleyici, bakteri öldürücü, mükemmel elektriksel iletkenlik ve kimyasal stabilite, özellikler dâhil olmak üzere birçok çekici özellik gösterebilmektedirler. Bu özellikler sayesinde AgNP'ler kornea nakli, kanser terapileri, yara örtüleri, sağlık ürünleri, kozmetik, tekstil, katalizörler, gıda paketlenme filmleri, su arıtma, elektronik cihazlar, vb. alanlarda çekici uygulamaları vardır (Liao vd., 2019). Şekil 2.6'da AgNP'lerin uygulamaları gösterilmiştir.



Şekil 2.6 AgNP'lerin uygulamaları (Liao vd., 2019, Değiştirilerek düzenlenmiştir).

Çevre, sağlık endüstrisi, biyomedikal alanlarda, ev eşyalarında, gıda depolamalarında eşsiz özelliklere sahip olan AgNP'lerin biyolojik uygulamalarından bazılarıdır (Zhang vd., 2016).

Çevre uygulamalarında:

Su arıtma: Antimikrobiyal etkileri nedeniyle AgNP'ler, su arıtma süreçlerinde virüs ve bakterileri ve etkisiz hale getirilmesinde kullanılabilir (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004).

- Hava arıtma: Hava filtrelerinde AgNP'ler, kullanılarak zararlı gazlar ve partiküllerin giderilmesinde etkili olabilir (Li vd., 2008).

Tekstil uygulamalarında:

- Antibakteriyel tekstiller: Tekstil ürünlerine AgNP'ler entegre edilerek bakteriyel büyümeyi engelleyerek kötü kokuları azaltabilir (Hassan vd., 2018).

- UV engelleyici tekstiller: Tekstil yüzeylerine AgNP'ler, uygulandığında UV ışınlarının geçişini azaltarak güneş koruması sağlanabilir (Čuk vd., 2021).

Sağlık hizmetleri ve biyomedikal uygulamalarda:

- Antibakteriyel yüzeyler: hastane ortamlarında ve medikal cihazlarda AgNP'ler, antibakteriyel yüzeylerin oluşturulmasında kullanılabilir (Morones vd., 2005).
- İlaç taşıyıcı sistemler: ilaçların hedeflenen bölgelere ulaştırılmasında yardımcı olması için AgNP'ler, ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilir (Shrivastava vd., 2009).

Gıda uygulamalarında:

- Gıda paketlenme: Gıda ambalaj malzemelerinde AgNP'ler kullanılarak, mikroorganizma büyümesini inhibe ederek gıdaların raf ömrünü uzatabilir (Rai vd., 2009).
- Gıda dezenfeksiyonu: Gıda yüzeylerinin dezenfeksiyonunda AgNP'ler kullanılarak, mikrobiyal kontaminasyonu azaltabilir (Rai vd., 2009).

Kataliz işlemlerinde:

- Katalitik aktivite: Katalitik reaksiyonlarda AgNP'ler kullanılarak, organik bileşiklerin dönüşümünde etkili olabilir. Yakıt hücreleri: Yakıt hücrelerinde AgNP'ler kullanılarak enerji dönüşüm verimliliğini artırabilir (Zhang vd., 2022).

Yukarıdaki örneklerden anlaşılacağı gibi AgNP'lerin çeşitli uygulama alanlarında potansiyel olarak görülebilir.

2.6 NP'lerin Potansiyel Toksik Etkileri

Geniş bir araştırma alanına sahip olan nanopartiküllerin toksik etkileri nanopartikülün boyutuna, kompozisyonla maruz kalma süresine, yüzey özelliklerine, kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değişiklik arz edebilir (Donaldson vd.,

Seaton, 2012, Nel vd., 2006). Nanopartiküllerin canlılar üzerinde etkisi, bir birçok etkiye bağlı olarak değişebilmektedir. Bu etkilerden bazıları şunlardır:

- **Biyolojik Etkileşim:** Bakteriyle temas eden nanopartiküller, hücre zarından geçerek, hücrenin işlevini ve şeklini bozarak bakterilerde protein, ribozom, elektrolit denge bozukluklar, enzim inhibisyonu, oksidatif stres ve lizozomlar gibi temel bileşenlerinin işlevlerini kaybetmesine sebep olmaktadır (Shrivastava ve Dash, 2009; Yang vd, 2009)
- **Toksisite:** Hücrelere zarar verebilecek toksik özelliklere sahip bazı nanopartiküller, hücre zarını geçerek sitoplazmaya veya hücre çekirdeğine girebilmesiyle, DNA hasarı, oksidatif stres veya hücre ölümü gibi olayları tetikleyebilmektedir (Fadeel ve Garcia-Bennett, 2010; Nel vd., 2006).
- **Biyolojik Dağılım:** Vücuda giren nanopartiküllerin dağılımı da önemli bir faktördür. Nanopartiküllerden bazılarının kan dolaşımı aracılığıyla farklı organlara yayılabildiği ve burada birikim yapabildiği tespit edilmiştir. Böyle durumlarda yüksek miktarda veya uzun süreli maruz kalma durumunda organlarda potansiyel etkilere neden olabileceği anlamına gelebilmektedir (Halamoda-Kenzaoui ve Léonard, 2015).
- **Biyomedikal Uygulamalar:** Biyomedikal alanda nanopartiküller, çeşitli uygulamalara sahiptir. Buna örnek olarak nanopartiküller ilaç taşıyıcı olarak kullanıldıklarında, ilaçların hedeflenen bölgelere ulaşmasını sağlayarak tedavinin etkinliğini arttırabildiği gözlemlenmiştir. Görüntüleme tekniklerinde nanopartiküller kullanılarak hastalıkların teşhisinde ve izlenmesinde önemli roller üstlenebilirler (Fadeel ve Garcia-Bennett, 2010).

Son yıllarda nanoteknolojinin kullanım alanının hızlı gelişmeyle nanopartiküllerin potansiyel toksik etkileriyle yapılan araştırmalar artmıştır. Bu etkileri, nanopartikülün kompozisyonuna ve maruz kalma süresine, boyutuna, şekline, fiziksel, kimyasal ve yüzey özelliklerine, boyutuna, bağlı olarak değişebilmektedir (Nel vd., 2006).

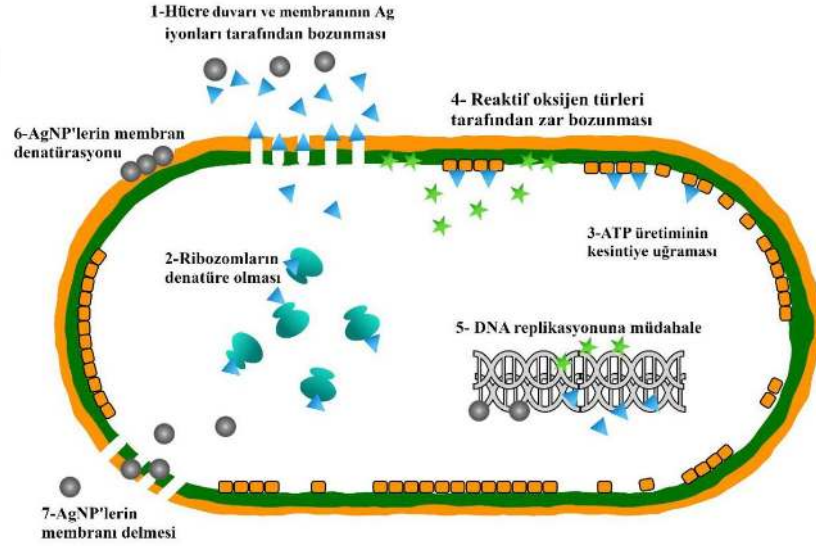
Nanopartiküllerin potansiyel toksik etkilerinden bazıları şunlardır:

- Karaciğer ve dalak gibi organlarda nanopartiküllerin taşınması, bu organlarda çeşitli lezyonlar oluşmasına sebep olabilmektedir.
- Nanopartiküller küçük boyutlarından dolayı, lenfatik ve lenfatik sistem içerisinde dolaşarak, organ ve dokulara yerleşebilirler.
- Nanopartiküllerin dolaşım sistemine girmesiyle, kalp hastalıkları, aritmi, ateroskleroz, kan pıhtılaşması, kardiyak ölüm gibi durumlara sebep olabilmektedir.
- Bazı nanopartiküller boyutundan ve kompiziyonundan dolayı organel hasarı veya oksidatif stres oluşturarak geri dönüşümsüz hasarlar meydana getirebilmektedir.
- Solunum yoluyla alınan nanopartiküllerin bronşit, akciğer kanseri, amfizem ve astım, bronşit gibi hastalıklarla ilişkili olabileceği belirtilmektedir.
- Kolon kanseri ve Crohn hastalığının gastrointestinal sisteme giren nanopartiküllerin, ilişkili olduğu literatürde belirtilmiştir (Demirtaş Korkmaz, 2012).

Gümüş metalinin çok iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Antibakteriyel etki açısından umut verici nanomalzemeler arasında bulunan, AgNP'leri bu özelliğini artan kimyasal aktivitelerin, kristalografik yüzey yapıları ve geniş yüzey/hacim oranlarına borçludur (Morones vd., 2005). AgNP'lerin antibakteriyel etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Şekil 2. 7'de AgNP'lerin için farklı antibakteriyel işleyişler önerilmiştir.

AgNP'ler, Ag iyonlarını sürekli olarak serbest hale bırakabilme özelliğine sahiptirler. Kükürt proteinleri ve elektrostatik çekim etkileşimleri vasıtasıyla bu iyonlar hücre çeperi ve sitoplazmik membrana yapışıp, zarın geçirgenliğini arttırabilir. Bunun sonucunda bakterinin bütünlüğü bozulabilir. Bakteri hücrelerine giren serbest gümüş iyonları solunum enzimlerini işlevsiz hale getirir. Solunum hücreleri işlevsiz hale gelen bakteri hücreleri ATP sentezi yapamama ve reaktif oksijen türlerini üretememe durumuna düşebilir. Hücre çoğalmasındaki sorunlar, DNA replikasyonundaki sorunlar ve en önemlisi bakterinin ölmesi gibi istenmeyen durumlarının sebebi DNA'nın yapı taşlarından olan kükürt ile fosfor iyonlarının birbiriyle olan

etkileşimden kaynaklanabilir. Gümüş iyonları sitoplazmada ribozomları işlevsiz hale getirerek ribozomların protein üretememesine de sebep olabilirler (Altuner, 2014; Cansız ve Kırmusaoğlu, 2018; Yin vd., 2020).



Şekil 2.7 AgNP'lerin aktivitelerinin şeması (Yin vd., 2020).

Nano boyutları sayesinde bakterinin hücre çeperine etki eden AgNP'ler, hücre zarının yapısını değiştirebilirler. Hücre yüzeyine yapışan AgNP'ler, hücre çeperinde çukurlar oluşturarak birikir. Bu birikmenin sonucunda hücre zarı işlevsiz hale gelmesine neden olabilir ve durum hücre ölümüyle bile sonuçlanabilir (Çelebi, 2022).

Saf topraktaki NP'lerin mikroorganizmalar ve enzimler üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir. Toprakta birikmesi ve bulunması nedeniyle AgNP'lerin toprak ekosistemi üzerindeki etkileriyle ilgili araştırma projeleri son yıllarda revaştadır. Toprakla AgNP'lerin kontaminasyonu toprakta bulunan çok sayıda mikroorganizmayı etkileyebilmekte ve bunun sonucunda toprak mikroorganizmalarının enzimleri dolaylı olarak etkilenmektedir. Toprağın AgNP kontaminasyonu birçok biyojeokimyasal süreçte mikrobiyal olarak aracılık edilen besin döngüsü potansiyel olarak görülmektedir. Gümüş tiyol bileşikler ve toprak organik maddesi için yüksek afinitiyeye sahiptir. Bu özelliği sayesinde AgNP'lerin amino asitler açısından zengin toprak enzimleri üzerinde dolaylı etkileri ve toprak

mikroorganizmaları üzerinde doğrudan etkileri olduğu düşünülmektedir (Esirgenler, 2022).

2.7 Termofiller

Dünyadaki yaşamı destekleyen bilinen sıcaklık aralığı açısından son 50 yılda çok şey değişti. 45 °C'nin üzerindeki ve bazı durumlarda 100 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda gelişen mikroorganizmalar olan termofiller, volkanik bölgeler, kaplıcalar, kompost yığınları ve cevher yatakları dâhil olmak üzere pek çok yerden izole edilmiş ve evrimsel önemleri açısından incelenmiştir (Blumer-Schuette ve Kelly, 2023).

Termofiller ile ilgili literatürlere geçen ilk bilgiler, 1960'larda Thomas Brock'un (1985) Yellowstone Milli Parkı'ndaki öncü çalışmasıyla başlamıştır. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda Jannasch, Stetter vd., tarafından termal özelliklere sahip derin deniz hidrotermal menfezlerinde yüksek sıcaklıkta yaşayabilen çok çeşitli mikroorganizmaların keşfedilmesiyle bu alandaki ilgi artmıştır (Keller ve Zengler, 2004).

Yüksek sıcaklıkta çalıştırılan endüstriyel işlemlerde amilaz, aminotransferazlar, glukoamilazlar, glutamat sentetaz, izomeraz, ksilanazlar, proteaz, pullulanazlar gibi çeşitli ekstreozimleri kullanılmaktadır. Termofiller, bu enzimlerin kaynağı olduğundan endüstriyel işlemler için birçok faydalı özellik sergiler (Angelin ve Kavitha, 2022). *Clostridium* spp., *Thermoanaerobacter* spp., *Caldicellulosiruptor* spp., *Thermococcus* spp., *Geobacillus* spp. gibi çeşitli farklı cinslerden termofilik bakteriler mezofilik bakterilere göre hızlı büyüme, düşük kontaminasyon riskleri, endüstriyel proseslere uyum sağlama ve termostabil enzimler üretme yeteneği gibi bir takım avantajlara sahiptir. Bu cinsler arasında *Geobacillus*, özellikle hemiselüloz ve nişastanın parçalanmasındaki katabolik çok yönlülüğü ve hızlı büyüme oranları, biyoyakıt veya kimyasal üretim için ikinci nesil biyorafineriler olarak kullanılma potansiyeline sahip olmalarından dolayı biyoteknolojide kullanılan en popüler termofiller arasındadır (Vavitsas vd., 2022).

Bazı termofiller, ağır metal iyonlarının veya metallerin toksisitesi gibi stresleri bastırmak için belirli savunma mekanizmalarına başvurma becerisini geliştirmiştir. Bazıları, yüksek metal iyon konsantrasyonlarında bile hayatta kalabilir ve

büyüyebilir ve büyük miktarlarda metalik katyonları bağlama yeteneğine sahiptir (Tiquia-Arashiro ve Rodrigues, 2016). Bu nedenle de son yıllarda özellikle biyodegradasyon ve nanoteknoloji alanlarında termofillerin kullanımı artmıştır.

2.8 *Geobacillus*

Geobacillus, *Ge.o.ba.cil'us*. Gr. n. *Gêthe Earth*; L. dim. n. *bacillus* küçük çubuk; N.L. masc. n. *Geobacillus* earth or soil small rod şeklinde sınıflandırılmıştır.

Geobacillus cinsi, başlangıçta *Bacillus* olarak sınıflandırılırken 2001 yılında Nazina, vd., tarafından yeni bir cins olarak kabul edilmiş, 35–75 °C sıcaklık aralığında büyüeyebilen zorunlu termofilik bakterilerdir (Novik vd., 2018). Genel özelliklerine bakıldığında, Gram-pozitif, aerobik veya fakültatif olarak anaerobik olup, sıcaklığa, radyasyona ve kimyasallara karşı dayanıklı olmalarını sağlayan sporları oluşturan, çubuk şekilli hücrelerdir. Endosporlar terminalde veya hafifçe şişmiş veya şişmemiş subterminal olarak, hücreler tek tek veya kısa zincirler halinde bulunur ve hareketlidir, peritriköz kamçı kullanırlar veya hareketsizdirler. Büyüme için sıcaklık aralığı 35–75 °C (optimum 55–65 °C'de) optimum pH değerleri 6.0–8.5'tir (Logan vd., 2015; Najar ve Thakur, 2020). Habitatlarına bakıldığında, sadece ekvatorial çöller veya doğal olarak oluşan jeotermal ve hidrotermal kaynaklar gibi yalnızca gezegenin en sıcak bölgelerinden değil aynı zamanda topraklardan ve soğuk okyanus çökeltilerinden bile her yerden izole edilebilirler (Setlow, 2006). Caccamo vd., (2000) deniz hidrotermal bacalarından elde ettikleri örneklerden termofilik bakterileri *Bacillus vulcani* olarak adlandırdılar, Nazina vd., (2001) yaptıkları çalışmalarda, kültürel ve fizyolojik özellikleri inceleyerek ve yağ asidi bileşimi ile DNA-DNA benzerliğini belirleyerek, 16S rRNA gen dizisi analizi, elektron mikroskobu analizleriyle benzersiz fizyolojik ve morfolojik özellikleriyle yeni bir taksonun tanımlanması ve bunun için *Geobacillus* adını önerdiler. Nazina vd., (2004) *B. vulcani* tanımlamasının *Geobacillus vulcani* comb. nov. olarak değişmesini önerdiler. Daha sonraları Coorevits vd., (2012), *Geobacillus* cinsinin altı türünün (*G. stearothermophilus*, *G. jurassicus*, *G. toebii*, *G. thermodenitrificans* ve *G. thermodenitrificans* ve *G. thermoglucosidans* (nom. corrig., eski adı *thermoglucosidasius*) tanımıyla birlikte değişiklikler sağladılar.

Şimdiye kadar tanımlanmış ve GenBank’a kaydı yapılan *Geobacillus*’lar ile ilgili Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Ayrıca *Geobacillus mahadia*, *Geobacillus proteinophilus*, *Geobacillus thermoparaaffinivorans*, *Geobacillus tropicalis*, *Geobacillus uralicus* yeni eklenen türlerdir.

Tablo 2.1 *Geobacillus* ’un türleri (Matpan Bekler, 2017)

Tür
<i>Geobacillus anatolicus</i>
<i>Geobacillus bogazici</i>
<i>Geobacillus caldxylosilyticus</i> DSM 12041T
<i>Geobacillus debilis</i> DSM 16016T
<i>Geobacillus galactosidasius</i> DSM 18751
<i>Geobacillus gargensis</i> DSM 15378
<i>Geobacillus icigianus</i>
<i>Geobacillus jurassicus</i> DSM 15726T
<i>Geobacillus kaue</i>
<i>Geobacillus kaustaphilus</i> DSM 7263T
<i>Geobacillus lituanicus</i> DSM 15325T
<i>Geobacillus pallidus</i>
<i>Geobacillus sterothrophilus</i> DSM 22T
<i>Geobacillus subterraneus</i> DSM 13552T
<i>Geobacillus tepidamans</i>
<i>Geobacillus thermoantarcticus</i> DSM 9572T
<i>Geobacillus thermocatenulatus</i> DSM 730T
<i>Geobacillus thermodenitrificans</i> DSM 465T
<i>Geobacillus thermoglucosidasius</i> DSM 2542T
<i>Geobacillus thermoleovorans</i> DSM 5366T
<i>Geobacillus toebii</i> DSM 13551
<i>Geobacillus uzensis</i> DSM 13551
<i>Geobacillus vulcani</i> DSM 13174
<i>Geobacillus zalihae</i> DSM 18318T

Geobacillus ’ların termostabil katalizör kaynağı olmaları, biyoyakıt oluşturmaları ve biyoremediasyon metodolojilerinin bileşenleri olmaları biyoteknolojik ve endüstriyel kullanımlar için bu mikroorganizmaları çekici kılmaktadır (Najar ve Thakur, 2020).

2.8.1 *Geobacillus vulcani*

G. vulcani adlandırmasında “vulcani”, ilk olarak sığ bir deniz hidrotermal menfezinden izole edildiği Volcano Adası’nı (Scilya’nın kuzeyindeki Aeolian adaları, Güney İtalya) temsil etmektedir.

Genel özellikleri diğer *Geobacillus* türleri ile benzerlik göstermekte olup, Gram pozitif, çubuk şeklinde, aerobik, hareketli ve endospor oluşturan hücrelere sahip termofilik bakterilerdir. 37–72 °C sıcaklık aralığında ve optimum 60 °C sıcaklıkta pH

5.5 ile 9.0 arasında ve optimal olarak pH 6.0'da büyüyebilir. NaCl toleransı %3'e kadar olup optimum %2 olarak belirtilmiştir. Başlıca hücresel yağ asitleri iso-C_{17:0}, iso-C_{15:0}, iso-C_{16:0}, C_{18:0} ve anteiso-C_{17:0}. DNA G+C içeriği %53,0 mol'dür (Caccamo vd., 2000; Nazina vd., 2004).

Sınıflandırılması aşağıdaki gibi yapılmaktadır:

Domain: Bacteria

Şube: Firmicutes

Sınıf: Bacilli

Takım: Bacillales

Aile: Bacillaceae

Cins: *Geobacillus*

Tür: *Geobacillus vulcani*

Özellikle bakteriler, farklı metalleri immobilize etme ve mobilize etme yeteneğine sahiptir ve bazı durumlarda metal iyonlarını azaltabilir ve metalleri nanometre ölçeğinde çökeltebilirler. İstenilen boyut ve morfolojiye sahip nanopartiküllerin sentezine yol açabilen bakterilerin kullanılmasıyla üretim sürecinin optimize edilmesi kolaylaştırılmıştır. Bakteriler, ağır metal iyonlarını indirgeme yeteneklerinden dolayı nanopartikül sentezi için arzu edilen adaylar arasındadır.

Nanopartiküller, fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılarak elde edilebilir, ancak bu teknolojiler doğaya son derece zararlıdır ve büyük miktarlarda yan bileşikler üretir (örneğin, sodyum borohidrit ve *N, N*-dimetilformamid). Bu nedenle, nanopartiküllerin elde edilmesi için alternatif teknolojilere ihtiyaç vardır (Cekuolyte vd., 2023). Bakterilerin kullanılmasıyla nanopartiküllerin sentezi “yeşil kimya” olarak adlandırılan çevre dostu bir yöntemdir. Bazı termofilik bakteriler, altın veya gümüş gibi metal nanopartiküllerin hücre dışı üretimi için büyük ölçüde kullanılmaktadır (Chauhan vd., 2020). Bu alanda, özellikle *Geobacillus* 'ların NP biyosentezi ile ilgili yapılan önceki çalışmalar aşağıda özetlenmiştir:

Fayaz vd., (2011), *Geobacillus stearothermophilus* tarafından gümüş ve altın nanopartiküllerinin biyosentezi üzerine çalışmalar yapmıştır. TEM mikrografi sonucunda çoklu dağılmış parçacık şeklinde AgNP'lerin, tek dağılmış şekilde altın nanopartiküllerin oluştuğunu belirlemişlerdir.

Correa-Llantén vd., (2013), termofilik bakteri *Geobacillus* sp. ID17 suşu tarafından altın nanopartiküllerin üretimi konusunda yaptıkları çalışmada hücre içi lokalizasyon ve partikül boyutu, 5 ila 50 nm arasında değişen, baskın yarı-altıgen şekle sahip iki farklı partikül tipini gösteren nanopartikül üretimini TEM ile doğrulamışlardır.

Correa-Llantén vd., (2014), *Geobacillus wiegelii* GWE1 suşunun 40 ve 160 nm arasında selenyum nanopartiküllerinin biyosentezi üzerinde çalışmalar yapmışlardır. pH ve sıcaklığı modüle ederek biyolojik olarak sentezlenmiş nanopartiküllerin boyutunu ve şeklini modüle edilebileceğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Cekuolyte vd., (2023), dört farklı *Geobacillus* suşunda ekstraselüler AgNP sentezi konusunda çalışmalar yapmışlardır. Mezofilik bakterileri nanopartikül sentez maliyetlerini düşük sıcaklık kullanılarak azaltsa da elde edilen AgNP'lerin istenmeyen ürünler üretebilen ve/veya patojen olabilen mezofilik mikroorganizmalarla kontamine olma riskini de arttırdığını ve AgNP sentezi için *Geobacillus* gibi termofilik bakterilerin kullanılmasının, kontaminasyondan korumaya ve diğer mikrobiyolojik yan ürünlerin miktarını azaltmaya yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Ghasemi vd., (2018), *G. stearothermophilus*'u gümüş nitrattan (AgNO_3) AgNP'ler üretmek için bakteri sporlarını kullanmışlardır. Elde edilen spor bileşenli nanopartiküllerin şekil, boyut analizlerini ve antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir.

Kumar vd., (2020), *Geobacillus* sp.'den elde edilen ekstraselüler selenyum-NP biyosentezini araştırmışlardır. Biyosentezlenen nanopartiküllerin, UV-görünür spektrofotometri, transmisyon elektron mikroskobu ile birlikte seçilen alan elektron kırınımı, fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi ve enerji dağıtıcı X-ışını spektroskopisi ile karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Küresel nanopartiküllerin çapları 30 ila 60 nm aralığında olduğunu ve antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında genellikle patojen türlere karşı etkisi üzerinde durulmuştur.

Wiglusz vd., (2012), AgNP'nin Gram-pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus*, Gram-negatif bakteri olan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. AgNP'nin MIC değerleri 1500 mg mL^{-1} ve MBC değerleri 0, 9–3, 7 mg mL^{-1} olarak bildirmişlerdir.

Agnihotri vd., (2014), AgNP'lerin *E. coli*, *Bacillus subtilis* ve *S. aureus* için daha küçük nanopartiküllerin (5 nm) kullanıldığı MIC deneylerinde 20, 60 ve 70 $\mu\text{g/mL}$ değerinde sonuçlar elde ederken, daha büyük nanopartiküllerin (100 nm) kullanıldığı MIC deneylerinde 110, 160 ve 200 $\mu\text{g/mL}$ arasında sonuçlar elde etmişlerdir. Partikül boyutlarının etkisini belirlemişlerdir.

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinden dolayı endüstriyel ve tıbbi proseslerde nanomalzemelerin kullanımı her geçen yıl artmaktadır. Aynı zamanda, bakterinin çoğunun antibiyotiğe dirençli hale gelmesi önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu durumdan dolayı çalışmalar nanopartiküllerin bakterilerin solunum, merkezi metabolizma, hareketlilik, sporlanma veya kromozom yoğunlaşması gibi süreçleri üzerindeki etkilerini göstermeye yoğunlaşmıştır. Bununla ilgili yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir:

Pal vd., (2007), AgNP'lerin *E. coli*'ye etkilerini araştırmışlardır. Üçgen şekilli AgNP'lerin daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlemişlerdir.

Cui vd., (2012), AuNP'lerin *E. coli*'ye karşı membran potansiyelini çökerterek, ATPaz fonksiyonunu inhibe edip ATP seviyelerini düşürerek ve ribozom alt biriminin tRNA'ya bağlanmasını inhibe ederek antibakteriyel özellikler gösterdiğini göstermişlerdir.

You vd., (2012), AgNP'lerin β -galaktosidazın karboksil ve tiyol gruplarıyla etkili bir şekilde etkileşime girdiği, hücre içi biyolojik fonksiyonları inhibe ettiği ve hücre ölümüne yol açtığını belirlemişlerdir.

Slomberg vd., (2013), reaktif bir serbest radikal olan nitrik oksidin (NO), antibakteriyel direnci geliştirme riskini azaltan bakteriyel biyofilmleri yok etmede

etkili olduğu, NO salan silika nanopartiküllerin Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa* ve Gram-pozitif *S. aureus* biyofilmlerine karşı etkinliğini, partikül boyutunun ve şeklinin etkisini değerlendirmişlerdir. Çubuk benzeri parçacıkların NO ilemede küresel parçacıklardan daha etkili olduğunu ve biyofilm boyunca daha büyük antibakteriyel etkilere neden olduğunu bulmuşlardır.

Ivask vd., (2014), AgNP'lerden salınan pozitif yüklü iyonların, *E. coli'nin* bakteriyel elektron taşıma zincirinin normal işlevine müdahale etme eğiliminde olduğunu ve böylece reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu kolaylaştırdığını göstermiştir.

Avalos vd., (2016), farklı boyutlarda üretilmiş AgNP'lerin, DNA iplik kırılmalarına ve oksidatif DNA hasarına nedeni araştırmışlardır ve nanopartiküllerin doza bağlı olarak ROS'ta önemli bir artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Ali vd., (2017), AgNP'lerin *P. aeruginosa*'da proteazlar, elastazlar ve piyosiyenin gibi virülans faktörlerinin sentezini inhibe ettiği bildirmişlerdir.

Eymard-Vernain vd., (2018), toprak bakterisi olan *Bacillus subtilis*'in n-TiO₂ ve n-ZnO'de maruz bırakıldığında merkezi metabolizma ve fizyolojik durumun etkilendiği, Gram pozitif bakterilerde yatay gen transferini etkilendiğini ve antibiyotiğe dirençli bakterilerin görünümü üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini belirlemişlerdir.

Ramanathan vd., (2018), AgNP ile kaplanan *Solanum trilobatum* ekstraktın, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri türleri ve mantar türleri üzerinde antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bildirilmişlerdir.

Qais vd., (2020), *Carum copticum* kullanılarak yeşil sentezlenen AgNP'nin *P. aeruginosa*, *S. Marcescens* ve *C. Violaceum*, Quorum Sensing tarafından düzenlenen virülans ajanlarını başarıyla inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Manzoor vd., (2021), *Psidium guajava*'nın yaprak ekstresi ile işlenerek platin nanopartiküllerini sentezleyerek Gram pozitif olan *B. cereus*, Gram negatif olan *P. aeruginosa*, *K. Pneumonia* ve *E. coli*'ye karşı etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında NP'lerin etkisinin Gram-negatif suşlar üzerinde Gram-pozitif organizmalara göre önemli ölçüde daha belirgin olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamız, daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında AgNP'lerin *Geobacilluslar* üzerinde biyolojik etkilerinin belirlenmesi konusunda çalışma bulunmamasından dolayı ilk olma özelliğindedir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Çalışmamızda besi yeri hazırlamak için Bazal Medium (BM) hazırlandı. Bunun için maya özütü (Merck/Germany), pepton (Sigma/Germany), sodyum klorür (Carlo Erba/İtalya) ve katı besi yeri için ilaveten agar (Fluka/USA) kullanıldı. Bakterilerin stoktan üretilmesi için Nutrient Broth (NB) ve Nutrient Broth Agar (NBA) (Merck/Germany) kullanıldı.

Nanopartikül olarak gümüş (AgNP) (chemPUR/Germany) kullanılmıştır. Nanopartikül %99,5 saflıkta, 35 nm boyutunda, küresel morfolojide ve gri toz görünümüne sahip özelliktedir.

Enzim deneylerinde tampon hazırlamak için Na_2HPO_4 (İsolab/Germany), NaH_2PO_4 (İsolab/Germany), sekresyon deneylerinde sodyum dodesil sülfat (SDS) (Merck/Germany), aktivitesini belirlemek için *o*-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid (*o*NPG) (Sigma/Germany), ve Na_2CO_3 (Merck/Germany) kullanıldı.

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM), hücresel canlılık ve bakteri hücrelerinde süperoksit üretimi deneylerinde fosfat tamponlu salinden (PBS 1x) (Bioshop/Canada) kullanıldı.

Hücresel canlılık deneylerinde MTT 3-(4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) (Sigma/Germany) ve dimetil sülfoksit (DMSO), bakteri hücrelerinde süperoksit üretimi deneylerinde nitroblue tetrazolium (NBT) (Serva/Germany) kullanıldı.

3.2 Kullanılan Aletler

Bu çalışmada kullanılan aletlerden, bakterilerin stoklanması ve örneklerin saklanması için -40 °C derin dondurucu (Antech/Türkiye), besi yeri ve çözeltilerin hazırlanması için dijital göstergeli hassas terazi (DaihanBiomedical/Güney Kore), pH metre (Hanna Instruments/Rusya), manyetik karıştırıcı (LibraBiochrom/İngiltere), vortex (Grant-bio/İngiltere), sterilizasyon için otoklav (Hirayama/Japonya) ve kuru hava sterilizatörü (Blu-Lab/Türkiye) kullanıldı. Bakterilerin besi ortamına aktarılmasında

mikropipetler (Ependorf/Almanya), steril kabin (Biobase/Çin), bakterilerin üretilmesi için sıcak su banyosu (Jencons/İngiltere) ve inkübatör (Mipro/Çin) kullanıldı. Spektral ölçümler için spektrofotometre (LibraBiochrom/İngiltere), ayırma işlemlerinde soğutmalı santrifüj (Nuve/Türkiye) kullanıldı. Ayrıca hücre morfolojisi ile ilgili Transmisyon Elektron Mikroskopunda (TEM) (Jeol), hücrelerin FT-IR için kurutulmasında vakumlu etüv (Nükleon NVE-27PL/Türkiye), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi analizi (FT-IR) spektrofotometre cihazında (Perkin ElmerSpectrum 100) hücresel canlılık ve bakteri hücrelerinde süperoksit üretimi için mikropilokoku okuyucuda (Multi ScanGo, Thermo) ölçüldü.

3.3 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Bu çalışmada, Diyarbakır Çermik sıcak su kaynağından (38° 8' 27.2544" N, 39° 28' 46.6068" E) izole edilip tanımlaması yapılan *G. vulcani* 2Cx (Gen Bank erişim kodu: MT350132) (Matpan Bekler vd., 2020) suşu kullanılmıştır.

3.4 Bakterilerin Kültüre Alınması

Çalışmada kullanılan *G. vulcani* 2Cx bakterisinin kültürasyonu için, Dicle Üniversitesi Moleküler Genetik, Mikrobiyal Biyoteknoloji ve İmmünoloji Araştırma Laboratuvarında -40 °C'de gliserol içeren stoktan alınıp NBA besiyerine yayma şeklinde ekimi yapılarak etüvde 50 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda katı kültürden tek koloni seçimiyle NB sıvı besiyerine öze yardımı ile inokülasyon yapılarak çalkalamalı su banyosunda 50 °C'de 24 saat inkübe edildi. Elde edilen sıvı bakterileri kültürü çalışmada kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

3.5 Bakteriyel Suşların Nanopartiküllere Duyarlılıkları

G. vulcani 2Cx suşu Bazal Medium (BM: 0.4 g L⁻¹ maya özütü, 1 g L⁻¹, pepton, 1 g L⁻¹ sodyum klorür) ve Bazal Medium Agar'da (BMA: BM: 0.4 g L⁻¹ maya özütü, 1 g L⁻¹, pepton, 1 g L⁻¹ sodyum klorür ve 15 g L⁻¹ agar) 55 °C'de, pH 7.0 üretildi. Bu bakterinin AgNP hassasiyetleri/dirençlerini belirlemek için BM sıvı besi yerinde optimum üreme koşullarında üretilerek gecelik (12 saat) kültür elde edildi. 15 mL'lik steril tüplere BM besi yeri ve çeşitli konsantrasyonlarda (62,5; 125; 250; 500;1000 ppm) AgNP eklendi ve gecelik kültürden eşit miktarda bakteri (0,1 mL) içerecek

şekilde inokülasyon yapılarak 24 saat çalkalamalı inkübatörde (120 rpm'de) 50 °C'de inkübe edildi. Bakteri eklenmeyen farklı konsantrasyonlardaki AgNP ve içerisinde NP bulunmayan bakterilerin ürettiği besi ortamı kontrol olarak kullanıldı. İnkübasyon sonunda tüm test örnekleri spektrofotometrede 600 nm'de ölçüm yapılarak absorbans değeri elde edildi. 0,1 mL bakteri kültürlerinden yarı katı BMA ortamına düzgün bir şekilde yayıldı ve yukarıda bahsedildiği gibi inkübasyona bırakıldı besiyerindeki tüm hücreleri öldüren minimum NP dozu MBC olarak belirlendi. MIC, bakteri üremesini maksimum düzeyde (%99) önleyen NP'lerin en düşük dozu olarak tanımlandı ve hücre canlılığı CFU mL⁻¹ olarak sayıldı ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$CFU (mL^{-1}) = \frac{(koloni\ sayısı \times seyreltme\ faktörü)}{kaplanmış\ hacim\ (mL)} \quad (3.1)$$

Burada;

“CFU” koloni oluşturan birimin değeridir.

3.6 AgNP'lerin Bakteriyel Morfoloji Üzerine Etkisi

G. vulcani 2Cx optimum büyüme koşullarında sıvı BM içinde yetiştirildi. Kültivasyondan sonra hücre yoğunluğu spektrofotometrede 600 nm'de ölçülen absorbans değerleri kullanılarak 10⁸⁻⁹ CFU mL⁻¹'de tutuldu. Bakteri için belirlenen MIC değerlerinde (500 µg mL⁻¹) AgNP konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan sıvı BM besiyerinde 50 °C'de 24 saat çalkalamalı inkübatörde kültüre edildi. NP'lerle muamele edilen hücreleri elde etmek için kültür 10 000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Peletler, steril 10 mM fosfat tamponlu salinden (PBS: 1x) pH 7.2 ile üç kez yıkandı. Numuneleri TEM analizine hazırlamak için her bir hücre süspansiyonundan küçük bir miktar dikkatlice bakır ızgaralara damla damla yerleştirildi. Akabinde ızgaralar birkaç saat oda sıcaklığında doğal olarak kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra hazırlanan numuneler TEM görüntüleme için hazır. AgNP'lerin neden olduğu hücresel hasar, GATAN marka 782 ES500W kamera sistemi ile donatılmış Jeol marka (model JEM-1010) TEM kullanılarak gözlemlendi. Gözlem sürecini kolaylaştırmak için hız voltajı 120 kV'a yükseltildi.

3.7 AgNP ile Bakteriyel Biyokütlenin FT-IR Analizi

Materyallerin yüzey fonksiyonel gruplarını niteliksel olarak belirlemek için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi analizi (FT-IR) yapıldı. Bunun için *G. vulcani* 2Cx BM sıvı besiyerinde 50 °C'de 24 saat üretildi ve ardından 500 µg mL⁻¹ konsantrasyonda AgNP eklendi. 24 saatlik inkübasyonun ardından, hem NP ile muamele edilmiş hem de muamele edilmemiş bakteri kültürleri, pelet elde etmek için santrifüjlendi. 2,5 mg biyokütle, vakum inkübatörü kullanılarak 60 °C'de vakum altında kurutuldu. Yüzey fonksiyonel gruplarının nitel olarak belirlenmesine yönelik FT-IR spektrumları, Azaltılmış toplam yansıma (ATR) sisteminde 16 cm⁻¹ çözünürlüğünde ve 20 taramada 4000 ile 450 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında FT-IR spektrofotometre cihazında (Perkin ElmerSpectrum 100) kaydedildi.

3.8 NP Stresi Varlığında Hücresel Canlılığın Değerlendirilmesi

G. vulcani 2Cx optimum büyüme koşullarında sıvı BM içinde yetiştirildi. Kültivasyondan sonra hücre yoğunluğu spektrofotometrede 600 nm'de ölçülen absorbans değerleri kullanılarak 10⁸⁻⁹ CFU mL⁻¹'de tutuldu. Bakteri için belirlenen konsantrasyonlarda (62,5-1000 µg mL⁻¹) AgNP konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan sıvı BM besiyerinde 50 °C'de 12 saat çalkalamalı inkübatörde kültüre edildi. Daha sonra bakteri kültürleri hücre canlılığı açısından MTT kullanılarak değerlendirildi. 5 mg mL⁻¹ 3-(4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) stok solüsyonu 10 mM PBS (pH 7.2) ile hazırlanarak steril edildi. 500 µL hücre süspansiyonu hacmi, 1.5 mL'lik ayrı ayrı mikrosantrifüj tüplerine dikkatlice aktararak üzerine 50 µL MTT solüsyonu eklendi ve vorteksenerek düzgün karışması sağlandı. Tüpler daha sonra 50 °C sıcaklıktaki su banyolu çalkalayıcıya yerleştirildi ve 1 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra bakteri kültürleri 10 000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek pelet toplandı. Elde edilen peletlerin üzerine 500 µL %100 DMSO eklendi. Tüpler, kristalleşmiş formazanın çözülmesi için tekrar 30 °C'de 30 dk daha inkübe edildi. Daha sonra, bir mor renk sergileyen 200 µL'lik bir süpernatant hacmi, 96 oyuklu bir plakanın ayrı oyuklarına dikkatlice aktarıldı ve her deney iki kez tekrarlandı. Örnekler 570 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucu (Multi ScanGo, Thermo) kullanılarak ölçüldü. Hücre

canlılığının yüzdesi, absorbans değerlerine göre aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi:

$$\text{Hücre canlılığı (\%)} = \frac{\text{NP ile işlem gören hücrelerin absorbansı}}{\text{Kontrol hücreleri}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.9 NP kaynaklı Stres Altında Bakteriyel Hücrelerde Süperoksit Üretimi

Süperoksit anyonlarının oluşumunu değerlendirmek için bakteri kültürü farklı konsantrasyonlarda ($62,5\text{-}1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) AgNP'lere maruz bırakıldı. AgNP eklenmeyen bakteri kültürleri pozitif kontrol, fosfat tamponlu salinden (PBS) oluşan örnekler negatif kontrol olarak kullanıldı. Kontrol grubu da dâhil olmak üzere 12 saatlik inkübasyonun ardından her örnek için, $200 \mu\text{L}$ 'lik hücre süspansiyonu, 96 oyuklu bir plakanın ayrı oyuklarına titizlikle aktarıldı ve üzerine $20 \mu\text{L}$ nitroblue tetrazolyum (NBT: 8 mg mL^{-1}) eklendi ve 50°C 'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hücreler tarafından salınan süperoksit anyonları (O_2^-) NBT ile reaksiyona girerek koyu mavi renkli formazan birikintilerinin değerini belirlemek için spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü.

3.10 AgNP'lerin Enzim Biyosentezi Üzerindeki Etkisi

G. vulcani 2Cx bakterisinin ekstraselüler β -galaktosidaz sentezini belirlemek için önceden belirlenen MIC değerlerinde AgNP konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan sıvı BM'ye bakteri ekimi yapılarak çalkalamalı inkübatörde 50°C 'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra belirli miktarda kültür (650 mL) örneği $0,1 \text{ M}$ sodyum fosfat ($\text{pH } 7.0$) ile süspanse edildi ve $0,01$ sodyum dodesil sülfat (SDS) ilave edilerek 37°C 'de 10 dk inkübe edildi. Örneklerle 60 mM oNPG ilave edilerek 50°C 'de 10 dk daha bekletildi ve süre sonunda Na_2CO_3 ilavesiyle reaksiyon durduruldu. Enzim aktivitesi 405 nm 'de spektrofotometrede ölçüldü.

3.11 AgNP'lerin Enzim Salgısına Etkisi

Bunun için bakteri, 2% laktoz içeren BM besiyerinde yukarıda açıklandığı gibi 12 saat üretildi. Elde edilen 12 saatlik gecelik (erken büyüme fazında) kültürlerdeki bakteri hücreleri, $10\,000 \text{ rpm}$ 'de 10 dk santrifüjleme ile ayrıldı. Peletler, $0,01 \text{ M}$

NaCl içeren 0,02 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7.5) süspanse edildi. Hücre yoğunluğu 10^{8-9} CFU mL⁻¹'de tutulacak şekilde 500 µL hücre süspanasyonu 250, 500, 1000 µg mL⁻¹ konsantrasyonlardaki AgNP bulunan BM sıvı besi yerine ekim yapıldı. Karışım, çalkalamalı bir inkübatörde (100 rpm) 50 °C'de 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda 10 000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek elde edilen süpernatantlardaki hücre dışı β -galaktosidaz aktivitesi oNPG kullanılarak yukarıda bahsedildiği gibi gerçekleştirildi ve spektrofotometrede 405 nm'de ölçülerek test edildi. AgNP bulunmayan BM besi yerinde aynı koşullarda ve eş zamanlı üretilen örneklerden elde edilen enzim aktivitesi kontrol olarak kullanıldı.

Enzim inhibisyonunu belirlemek için NP içermeyen sıvı BM'de optimum koşullar altında bakteri kültürleri üretildi ve kültürlerin santrifüjlenmesiyle süpernatantlar elde edildi. Daha sonra süpernatanta 500 µL 0,02 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.5) ve 500 µg mL⁻¹ AgNP eklendi ve 50 °C'de 30 dk inkübe edildi. Bu süre sonunda oNPG eklenerek 50 °C'de 15 dk reaksiyon gerçekleştirildi. Enzim aktivitesi 405 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. NP eklenmemiş numune kontrol olarak kullanıldı ve bağıl aktivite hesaplandı.

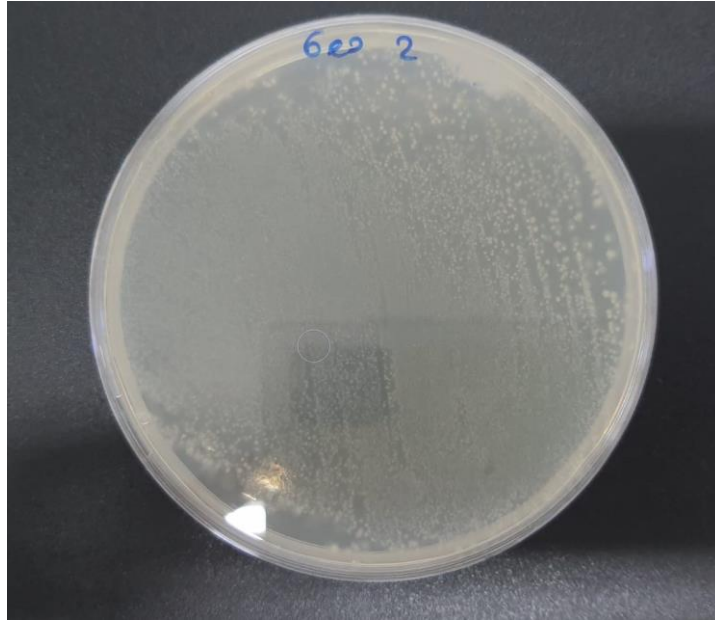
3.12 İstatiksel analizler

Yapılan deneyler üçlü tekrar olarak yapılmıştır ve elde edilen verilerde gruplar arasındaki farkın ve bu farkın hangi gruptan kaynaklandığının belirlenmesi için ANOVA ile varyans analizi yapıldı. Kontrol grupları ile deney grupları arasındaki farkın belirlenmesinde eşlenmiş örneklerde t-testi uygulandı. Verilerin analizinde IBM SPSS Statistics, version 29.0.0.0 paket programı kullanıldı. Şekillerde gösterilen veriler, ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 *G. vulcani* 2Cx'in Fenotipik Karakterizasyonu

Bu çalışmada kullanılan *G. vulcani* 2Cx, Çermik (Diyarbakır) Sıcak su kaynağından izole edilmiş morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve 16S rRNA analizleri yapılmıştır. Fenotipik özelliklerine bakıldığında bakterinin Gram pozitif, çubuk şeklinde, hareketli, sporlu olduğu, koloni morfolojisi incelendiğinde küçük, yuvarlak, mat ve krem renkli olduğu (Şekil 4.1), optimum üreme koşullarının 36 saatte, 50-70 °C arasında (optimum 50 °C), ve pH 6.0-9.0 arasında (optimum 7.0'de) olduğu belirtilmiştir (Matpan Bekler vd., 2020).



Şekil 4.1. *G. vulcani* 2Cx Koloni görüntüsü

4.2 Bakteri Popülasyonu ve NP Toleransı/Hassasiyeti

Önceki çalışmalarda *Geobacillus* ile ilgili nanopartikül sentezine yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalara bakıldığında, AuNP biyosentezi için *Geobacillus* sp. strain ID17 (Correa-Llantén vd., 2013), *G. stearothermophilus* (Fayaz vd., 2011), AgNP biyosentezi için *Geobacillus* spp. (Cekuolyte vd., 2023), *G. stearothermophilus* (Ghasemi vd., 2018), *Geobacillus* sp. 18, *Geobacillus* sp. 25, *Geobacillus* sp. 95 ve *Geobacillus* sp. 612 (Čekuolytė 2019), SeNP biyosentezi için *Geobacillus* sp. (Kumar vd., 2020) kullanıldığı görülmektedir. Ancak bu çalışmalarda yeşil biyosentez amaçlanmış ve nanopartiküllerin biyolojik etkilerinin

Geobacillus üzerine etkisini gösteren çalışma bulunmamaktadır. *G. vulcani* 2Cx, çeşitli konsantrasyonlarla (62,5–1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) AgNP eklenen kültüre özgü besiyerinde büyütüldüğünde diferansiyel direnç/hassasiyet davranışı gösterdiği belirlenmiştir. AgNP'nin *G. vulcani* 2Cx, etkisi MIC ve MBC değerleri Tablo 4.1'de gösterilmektedir.

Tablo 4.1 MIC ve MBC değerleri

Bakteri	AgNP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	MIC	MBC
<i>G. vulcani</i> 2Cx	1000	1500

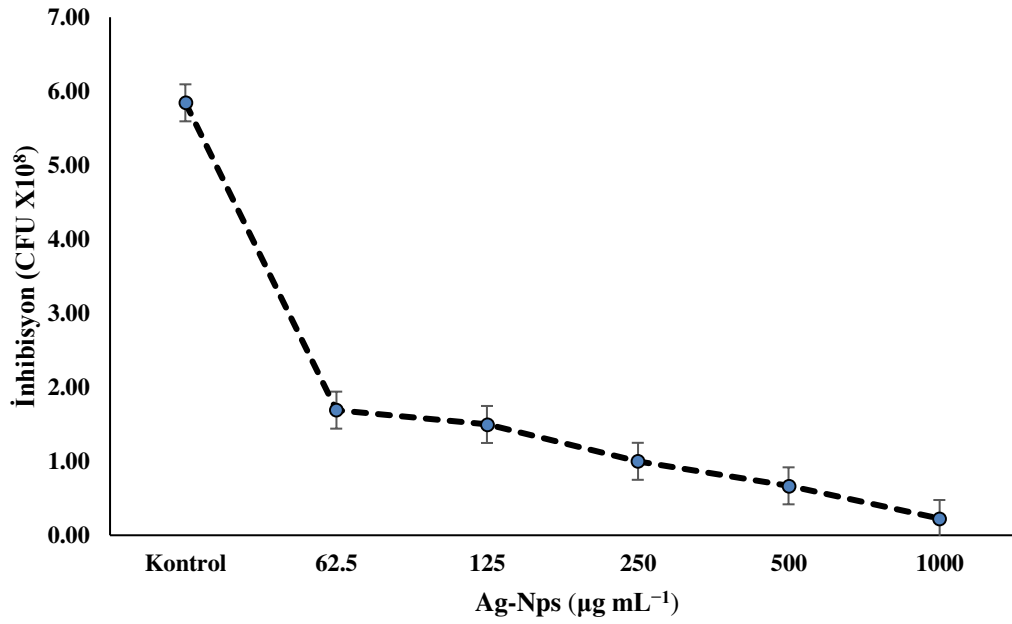
MIC, bakteri üremesini maksimum düzeyde (%99) önleyen en düşük AgNP dozu olarak tanımlandı. MBC değeri sıvı besi yerindeki tüm hücreleri öldüren minimum AgNP dozu kabul edildi. Tablo 4.1'e göre *G. vulcani* 2Cx için MIC değeri 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ iken MBC değeri 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.2'de artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak bakterilerin büyüme inhibisyonunu göstermektedir. Kontrol ile kıyaslandığında 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında bakterilerin büyümesinde %71,125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %74,250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %83,500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %88,5 ve 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %96 inhibisyon olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.2 CFU değeri ve bakteri büyüme inhibisyonu

AgNP konsantrasyonu ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CFU değeri	İnhibisyon (%)
Kontrol	$5,84 \times 10^8 \pm 0,5$	0
62,5	$1,69 \times 10^8 \pm 0,4$	71
125	$1,50 \times 10^7 \pm 0,2$	74
250	$1 \times 10^7 \pm 0,2$	83
500	$0,67 \times 10^7 \pm 0,7$	88,5
1000	$0,23 \times 10^7 \pm 0,4$	96

Şekil 4.1'e göre *G. vulcani* 2Cx için 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda AgNP varlığında kontrole göre keskin bir düşüş olurken, bakteri üremesi 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'e kadar yavaş bir şekilde azalmıştır.



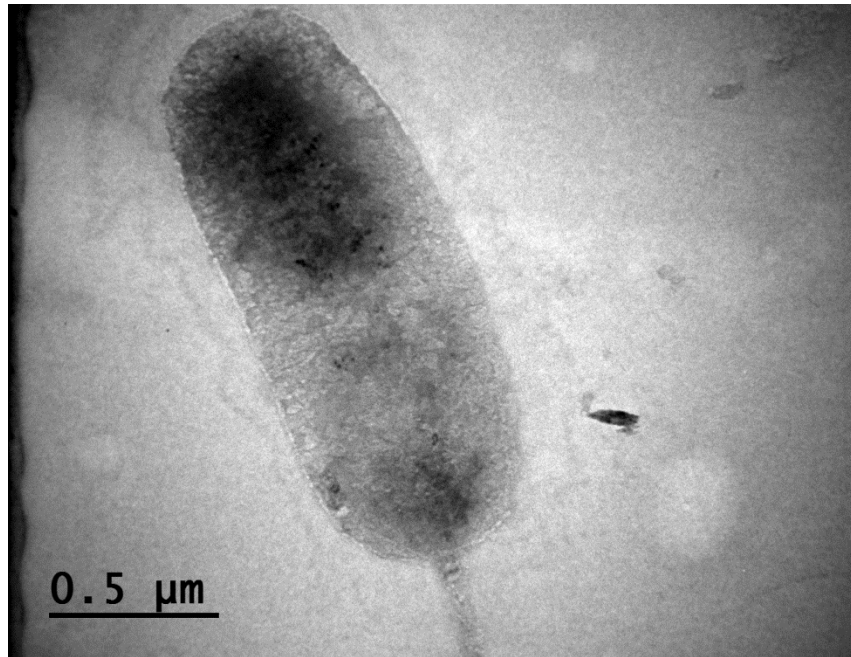
Şekil 4.2 AgNP konsantrasyonuna bağlı CFU değerleri

AgNP'ler, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı oldukça antibakteriyel etki göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda Gram-pozitif bakteri modeli olarak *S. aureus* ATCC 6538, Gram-negatif bakteri modeli olarak *E. coli* ATCC 11229 ve *K. pneumoniae* ATCC içinetkileri incelendiğinde AgNP'nin MIC değerleri $1500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve MBC değerleri $0,9\text{--}3,7 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirtilmiştir (Wigluszvd., 2012). Agnihotri vd., (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada elde edilen MIC, *E. coli* suşu, *Bacillus subtilis* ve *S. aureus* içindaha küçük nanopartiküllerde (5 nm) $20, 60$ ve $70 \mu\text{g mL}^{-1}$ daha büyük nanopartiküllerde (100 nm) $110, 160$ ve $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ arasında değiştiği ve incelenen tüm suşlar için bakterisidal konsantrasyonların 30 ila $140 \mu\text{g mL}^{-1}$ arasında olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, inhibe edici büyüme (MIC) veya bakterisidal aktivite (MBC) ile ilgili kesin mekanizma henüz tam olarak açıklanamamıştır. Mevcut deneysel kanıtlar, AgNP'lerin boyut ve yüzey gibi fizikokimyasal özelliklerini göz önünde bulunduran, bunların etkileşime girmesine ve hatta hücre duvarları veya zarlarından geçmesine ve hücre içi bileşenleri doğrudan etkilemesine izin veren farklı mekanizmaları destekler (Bruna vd., 2021). Literatürlerde, AgNP'lerin antibakteriyel etkileriyle ilgili temel üç mekanizmanın olduğu görülmektedir. Bu mekanizmaları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

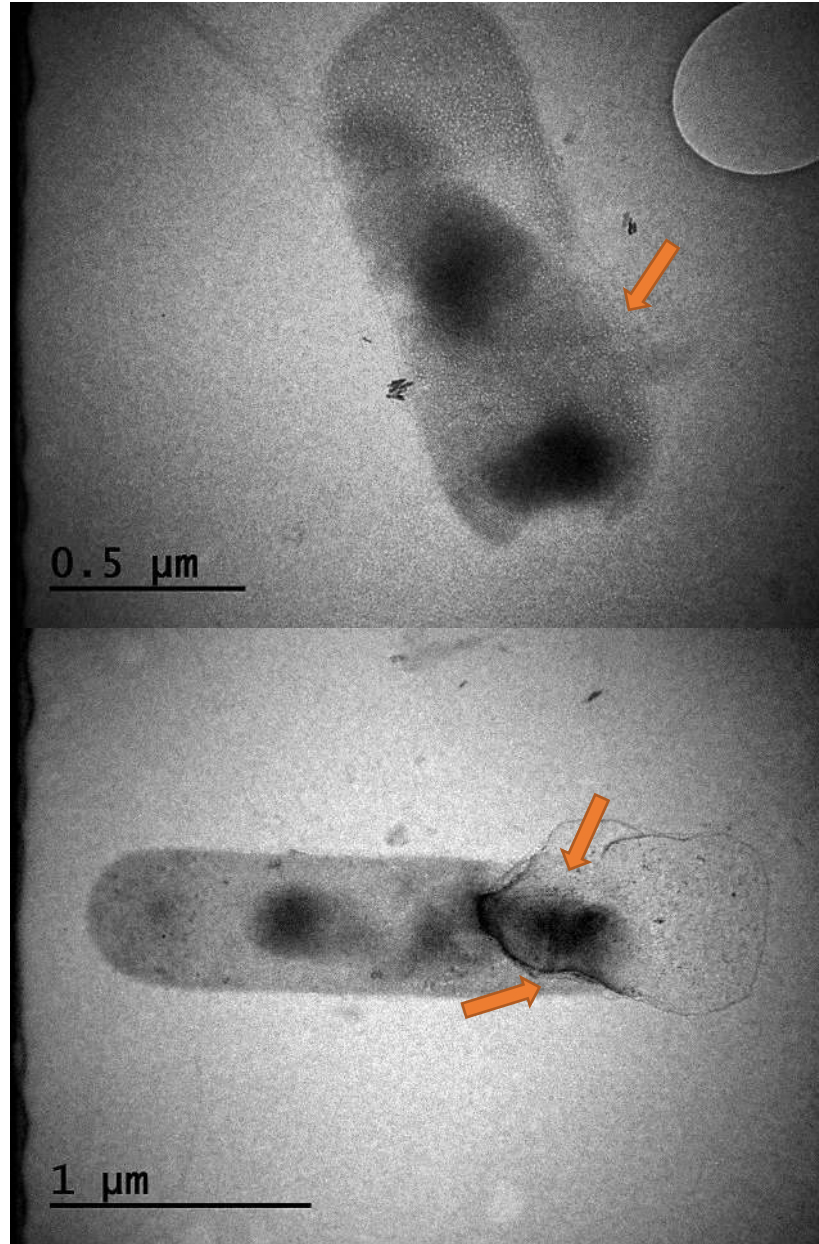
- Birinci mekanizma, AgNP'lerin dış zara nüfuz edebildikleri için zar seviyesinde hareket ettiğini, nanopartiküllerin hücreye yapışmasının hasar oluşturduğu, zar geçirgenliğini arttırdığı ve hücresel içeriğin sızmasına neden olduğu iç zarda biriktiği ve ayrıca bakteri hücre duvarındaki kükürt içeren proteinlerle etkileşime girebildiği ve hücre duvarının yapısının bozulmasına neden olduğuyla ilgilidir (Ivask vd., 2014, Seong ve Lee, 2017).
- İkinci mekanizma, NP'lerin yapısını ve geçirgenliğini değiştirerek sadece hücre zarını kırıp geçebileceğini değil, aynı zamanda DNA ve proteinler gibi hücre içi içerikte bulunan kükürt veya fosfor ile etkileşime girme eğilimine sahip olabileceği, reaktif oksijen türlerini ve serbest radikalleri indükleyen enzimlerdeki tiol grupları ile etkileştiği, hücre içi hasar oluşturup apoptoz yolunu aktive edebileceği ile ilgilidir.
- Üçüncü mekanizma ise, büyüklükleri ve yükleri nedeniyle nanopartiküllerden gümüş iyonlarının salınmasıdır (Bruna vd., 2021; Seil ve Webster 2012; Quinteros vd., 2016).

4.3 AgNP'lerin Bakteriyel Morfoloji Üzerine Etkisi

Nanopartiküllerin bakterilerin yüzeyine bağlanma durumları ve etkileri Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Merkezi Laboratuvarında TEM ile belirlendi.



Şekil 4.3 AgNP'siz ortamda bakterinin TEM görüntüsü (Kontrol)



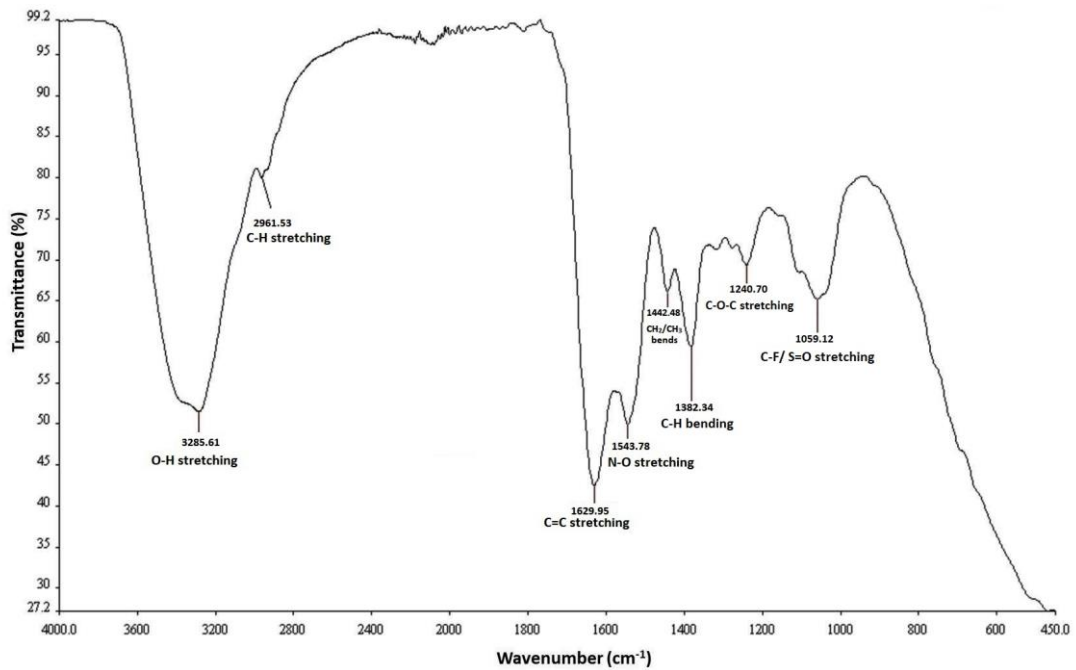
Şekil 4.4 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamda bakterinin TEM görüntüsü

Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te görüldüğü üzere kontrole kıyaslandığında AgNP içeren ortamda nanopartiküllerin bakterinin hücre duvarı ve hücre zarına zarar verdiği ve hücre içeriğinin dışa doğru akarak bütünlüğünün bozulduğu görülmektedir. Ayrıca bu sonuçlar, yaptığımız MIC ve MBD deneylerini doğrulamaktadır.

Hücre duvarının yapısının Gram pozitif ve Gram negatiflerde farklılık göstermesi nanopartiküllerin etkisini değiştirmektedir. Hücre duvarındaki porinler veya lipopolisakkaritlerin varlığı AgNP'lerin sitoplazmaya penetrasyonunu kolaylaştırmaktadır (Pal vd., 2007). Pozitif yüklü gümüş iyonları ile karboksil, fosfat ve amino grupları nedeniyle hücre zarının negatif yüklü yüzeyi arasındaki elektrostatik etkileşim nedeniyle AgNP'lerin bakteri hücre duvarına bağlanma yeteneğinin arttığı, daha sonra içine nüfuz ederek hücre zarında yapısal değişikliklere ve sonuç olarak geçirgenliğine neden olmaktadır (Mihaylova 2020). Ayrıca Nano parçacıkların şekillerinin de etkileşimde farklı etkiler gösterdiği buna bağlı olarak etkin spesifik temas alanı daha geniş olan küre şeklinde olan nano parçacıkların, bakteri hücresi ile daha yakın temas sağlayarak çubuk veya tel şeklindeki nano parçacıklara göre daha fazla hasara neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Gao vd., 2013; Hong vd., 2016).

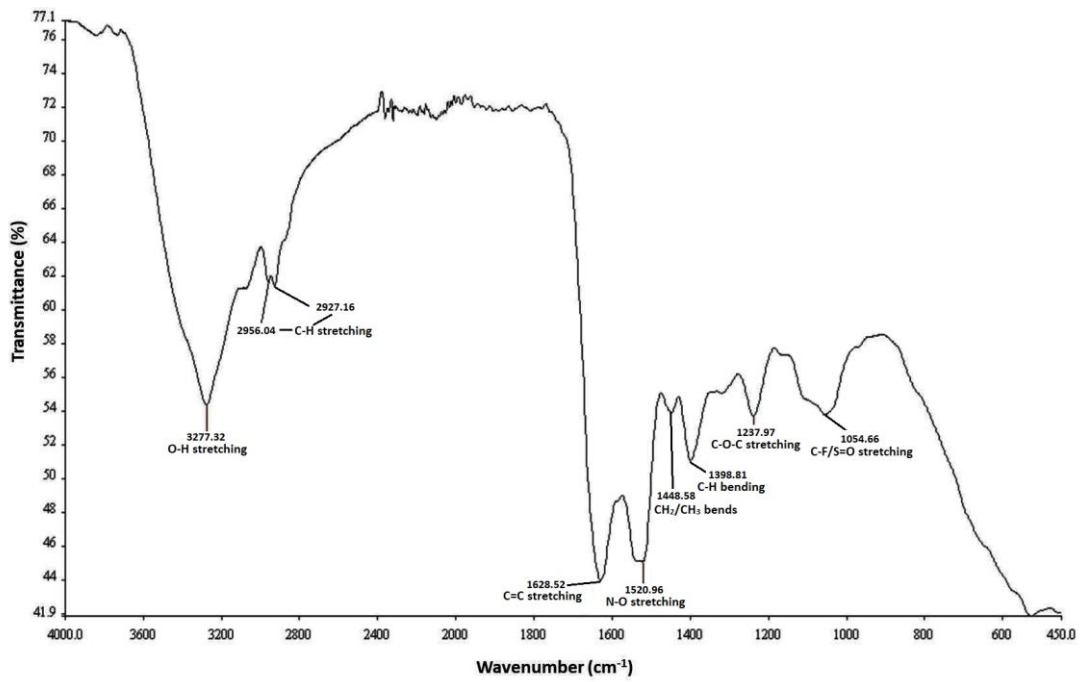
4.4 AgNP ile Bakteriyel Biyokütlenin FT-IR Analizi

G. vulcani 2Cx'in hem NP ile muamele edilmiş hem de muamele edilmemiş kültürleri, kullanılarak yüzey fonksiyonel gruplarının nitel olarak belirlenmesine yönelik FT-IR spektrumları kaydedildi.



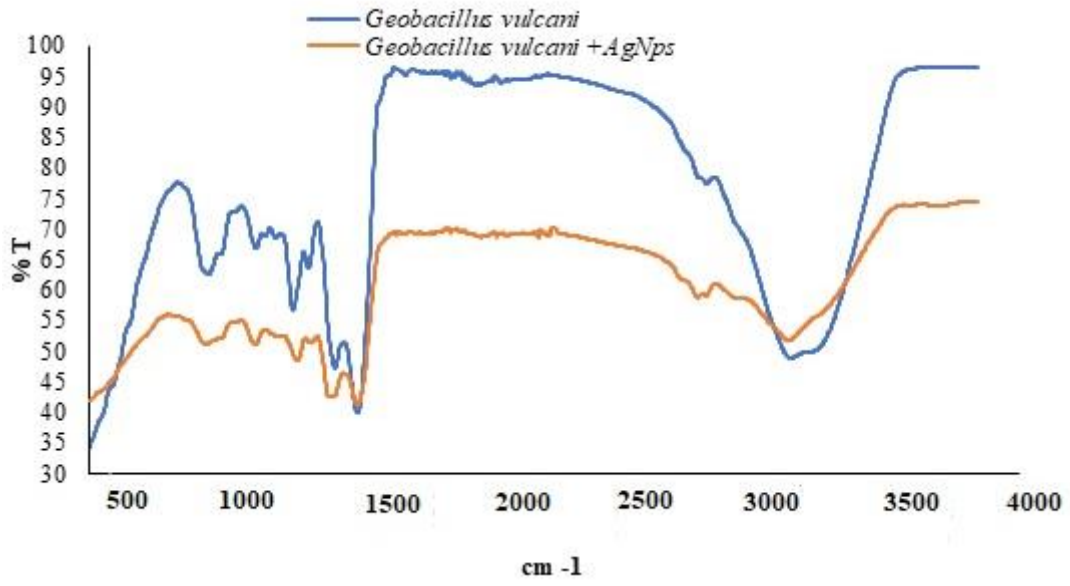
Şekil 4.5 AgNP içermeyen ortamda bakterinin FT-IR analiz görüntüsü

Şekil 4.5'te AgNP içermeyen ortamdaki bakterilerin FT-IR spektrumları görülmektedir. Spektrum incelendiğinde 1629 cm^{-1} 'de orta $\text{C}\equiv\text{C}$ gerilme titreşimi, 1543 cm^{-1} 'de güçlü N-Ogerilme titreşimi ve 1442 cm^{-1} 'de orta CH_2 ve/veya CH_3 kıvrımları aromatik halka gerilme titreşimi, 1382 cm^{-1} 'de orta alkan C-H bükmesi; 1240 cm^{-1} 'de eter, alkol ve ester kaynaklanan C-O gerilme ya da ester yapısında bulunan C-O-C asimetrik gerilme, 1010 cm^{-1} 'de eter ya da ester yapısında bulunan C-O-C asimetrik gerilme, 1059 cm^{-1} 'de güçlü C-F gerilmesi; karbon-flor germe; alkil ve aril halojenürler, güçlü $\text{S}=\text{O}$ gerilme görülmektedir.



Şekil 4.6 $500\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamda bakterinin FT-IR analiz görüntüsü

Şekil 4.6'da $500\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamdaki bakterilerin FT-IR spektrumları görülmektedir. Spektrum incelendiğinde 3277 cm^{-1} 'de zayıf ve geniş O-H gerilmesi; alkol veya diğer molekül içi bağlar, 2956 cm^{-1} 'de orta $\text{C}\equiv\text{H}$ gerilme titreşimi, 1628 cm^{-1} 'de orta $\text{C}\equiv\text{C}$ gerilme titreşimi 1520 cm^{-1} 'de güçlü N-O gerilme titreşimi ve 1448 cm^{-1} 'de orta CH_2 ve/veya CH_3 kıvrımları aromatik halka gerilme titreşimi, 1398 cm^{-1} 'de orta alkan C-H bükmesi, 1237 cm^{-1} 'de C-O-C asimetrik gerilme, 1054 cm^{-1} 'de güçlü C-F gerilmesi; karbon-flor germe; alkil ve aril halojenürler, güçlü $\text{S}=\text{O}$ gerilme görülmektedir.



Şekil 4.7 AgNP içeren ve içermeyen ortamdaki bakterinin FT-IR analiz görüntüsü

Şekil 4.7’de AgNP içeren ve içermeyen ortamdaki bakterilerin FT-IR spektrumları görülmektedir. AgNP içermeyen ortamdaki bakterilerin (kontrol) spektrumu mavi ile gösterilmektedir. 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamdaki bakterilerin spektrumu turuncu ile gösterilmiştir. Spektrumlar kıyaslandığında AgNP içeren ortamda geçirgenlik yüzdeliğinin kontrole göre azaldığı görülmektedir.

G. vulcani 2Cx Gram pozitif bir bakteridir. Gram-pozitif bakteriler hücre duvarının %40-80’ini oluşturan kalın bir peptidoglikan tabakasına sahiptir. Birincil yapıları, penta- veya tetrapeptitler ile bağlanan paralel zincirlerle $\beta(1 \rightarrow 4)$ glikosidik bağlarla birleştirilen alternatif N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM) kalıntılarından oluşur. Gram-pozitif hücre duvarları ayrıca peptidoglikan tabakasına kovalent olarak bağlı teikoik asitler içerir. Spektrum incelendiğinde önceki çalışmalarla kıyaslanınca, 3277 cm^{-1} ’de zayıf ve geniş O-H gerilmesi; alkol veya diğer molekül içi bağlar ve protein titreşimlerini (Melin vd., 2000), 2956 cm^{-1} ’de proteinlerdeki orta $\text{C}\equiv\text{H}$ gerilme titreşimi (Maquelin vd., 2002), 1628 cm^{-1} ’de proteinlerdeki orta $\text{C}=\text{C}$ gerilme titreşimi (Özek vd., 2014), 1520 cm^{-1} ’de güçlü N-O gerilme titreşimi ve 1448 cm^{-1} ’de lipitlerdeki orta CH_2 ve/veya CH_3 kıvrımları aromatik halka gerilme titreşimi (Kamnev vd., 2008) görülmektedir.

FT-IR spektrumlarında genellikle α -heliks tipi protein ikincil yapısı spektrumda 1655-1658 cm^{-1} 'de bir bantla gösterilmektedir (Jackson vd., 1997; Saraeva vd., 2022).

Membran lipitleri FT-IR spektrumlarında 2854 cm^{-1} ve 2924 cm^{-1} 'deki bantlar olarak temsil edilir, bu simetrik ve asimetrik CH_2 germe modlarına karşılık gelir ve lipitlerin açıl zincirlerinin bozukluğunu ve aralarındaki etkileşimleri gösterebilir (Szalontai vd., 2000; Saraeva vd., 2022).

$\approx 1124 \text{ cm}^{-1}$ ve 1082 cm^{-1} 'deki C-C ve PO_2 simetrik gerilmeyle ilgili bantlar, nükleik asitlerdeki moleküllerin titreşimlerini gösterir. 966 cm^{-1} 'deki bant, nükleik asitlerin RNA ve DNA omurgası C-C esnemesi ile ilişkilidir ve frekans kayması olmadan tüm spektrumlardaki varlığı, DNA'nın β -sarmal formunda olduğunu, ancak belki de metal iyonları ile etkileşime girerek esnekliğin azaldığını gösterir (Banyay vd., 2003; Saraeva vd., 2022). Yaptığımız çalışmadan elde edilen verilerde FT-IR spektrumlarında kontrol grubuna göre kaymalar meydana geldiği görülmekte bu da daha önce yaptığımız MIC, MBD ve TEM görüntülerini destekler nitelikte hücre duvarı, hücre zarı yapılarının ve hücredeki protein ve DNA yapısının bozunmuş olabileceğini göstermektedir.

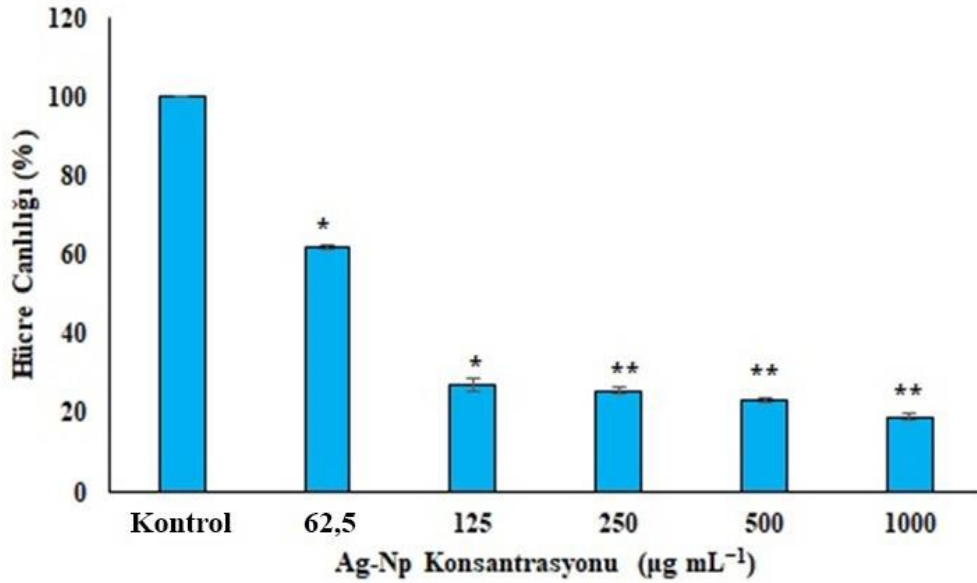
4.5 NP Stresi Varlığında Hücresel Canlılığın Değerlendirilmesi

G. vulcani 2Cx'in hem NP ile muamele edilmiş hem de muamele edilmemiş kültürleri NP stresiyle hücresel canlılığı MTT testi ile değerlendirilmiştir. Şekil 4.8'de görüldüğü gibi dehidrogenaz aktivitesi ile ilgili olarak belirgin bir mor rengin oluşması karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.8 AgNP konsantrasyonlarına maruz kalan *G. vulcani* 2Cx'nin hücresel canlılığının inhibisyonu. Mor rengin azalan yoğunluğu, bakteri hücrelerinin metabolik aktivitesindeki azalmayı ifade eder.

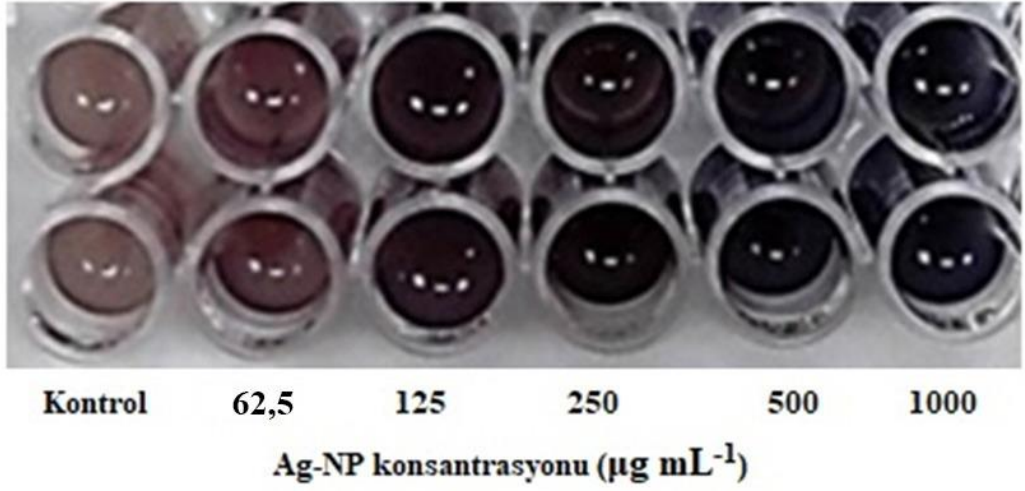
Kontrol grubunda en yüksek hücresel aktivite ve en koyu renk elde edilirken artan NP miktarına bağlı olarak renk yoğunluğundaki azalma görülmektedir bu da bakteri hücrelerinin metabolik aktivite kaybını temsil etmektedir. *G. vulcani* 2Cx'in AgNP'lerin artan konsantrasyonuna ($62,5-1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) bağlı olarak, metabolik aktivitesi, hücre canlılığı yüzdesi (%) ile Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığının azaldığı ve $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP konsantrasyonunda *G. vulcani* 2Cx %62'lik değeriyle en yüksek hücre canlılığını göstermektedir.



Şekil 4.9 AgNP konsantrasyonlarına maruz kalan *G. vulcani* 2Cx'nin hücresel canlılığının inhibisyonu. * işaretleri $*P \leq 0,0132$ ve $**P \leq 0,0033$ 'da anlamlı farkı gösterir.

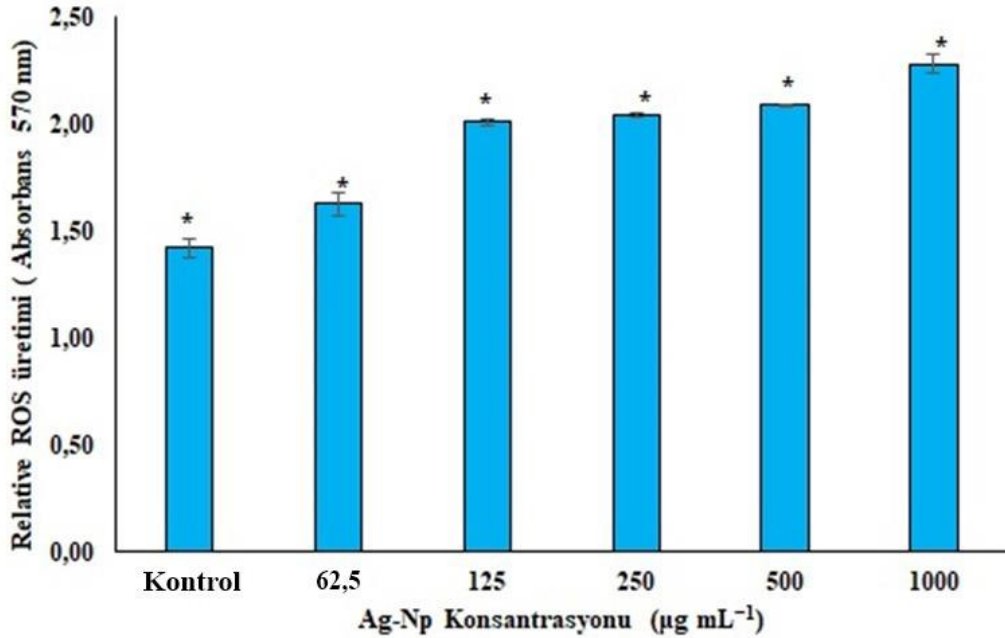
4.6 NP kaynaklı Stres Altında Bakteriyel Hücrelerde Süperoksit Üretimini Ölçme

G. vulcani 2Cx'in hem NP ile muamele edilmiş hem de muamele edilmemiş kültürleri AgNP etkisiyle nitro mavi tetrazolyumun (NBT) formazana indirgenmesini kolaylaştıran reaktif oksijen türlerinin (ROS) veya O_2^- radikallerinin üretimin incelendi. Şekil 10'da görüldüğü gibikontrol grubunda en düşük süperoksit radikali üretimi ve en açık renk elde edilirken artan NP miktarına bağlı olarak renk yoğunluğunda koyulaşma görülmektedir bu da bakteri hücrelerinin süperoksit radikali üretiminin artışı temsil etmektedir.



Şekil 4.10 *G. vulcani* 2Cx'in AgNP konsantrasyonlarına bağlı süperoksit radikallerinin/reaktif oksijen türlerinin üretilmesi. 96 oyuklu plakalarda hücre içi olarak geliştirilen mavi renkli formazanın varlığı, artan süperoksit radikali üretimine ifade etmektedir.

G. vulcani 2Cx'in ROS üretimi ile ilgili 570 nm'deki spektral ölçümlerine bakıldığında, 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 1,6; 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,01; 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,04; 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,09 ve 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,28 absorbans değerine sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 *G. vulcani* 2Cx'in AgNP konsantrasyonlarına bağlı süperoksit radikallerinin/reaktif oksijen türlerinin üretilmesi. * işaretleri $P \leq 0,0004$ 'te anlamlı farkı gösterir.

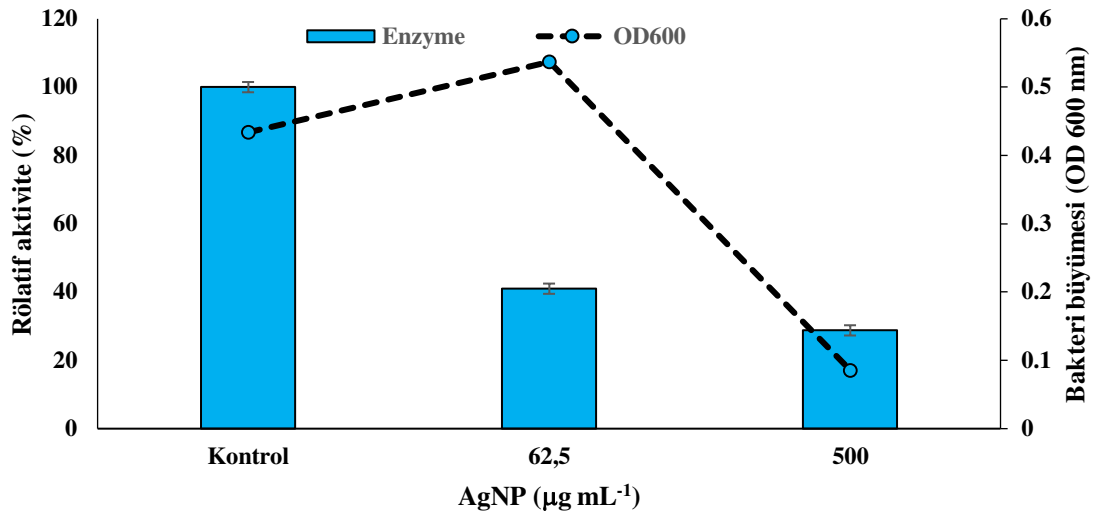
Genellikle kolayca iyonlaşan gümüş parçacıklarının hücreyi Truva atı mekanizmasıyla etkileyebileceğine inanılır. Gümüş iyonları, çeşitli hücresel

metabolik süreçleri baskılar, beslenmeyi engeller, gen ekspresyonunu değiştirir, ATP üretimini etkiler, solunum zinciri dehidrogenazlarının inaktive eder, özellikle protein ve enzimlerin disülfid bağları ve tiyol grupları ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile hücresel oksidatif stres oluşturur. ROS, hücre zarına zarar vererek diğer serbest radikallerin oluşumuna izin veren zardaki yağ asitlerinin çift bağlarını oksitler (Cakić vd., 2016; Fahmy vd., 2019, Mikhailova 2020).

Ayrıca AgNP'lerin antibakteriyel mekanizması, yüksek seviyelerde ROS ve hidrojen peroksit, süperoksit anyon, hidroksil radikali üretme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Hücrelerde üretilen ROS normal şartlar altında sınırlıdır ve antioksidan sistemler (glutatyon: GSH, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonu) tarafından elimine edilebilir. AgNP'lerin antibakteriyel etkisi, solunum zincirini sitokrom oksidaz ve NADH-süksinat dehidrogenazları bloke etmesiyle hücrelerin solunumunu ve büyümesini engelleyen aşırı ROS üretiminden kaynaklanmaktadır. Artan ROS, apoptoz benzeri bir tepkiye, lipid peroksidasyonuna, GSH'nin tükenmesine ve DNA hasarına yol açar (Ramalingam vd., 2016, Su vd., 2009; Yuan vd., 2017). Avalos vd., (2016), nanopartiküllerin doza bağlı olarak ROS'ta önemli bir artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ivask vd., (2014), AgNP'lerden alınan pozitif yüklü iyonların, *E. coli*'nin bakteriyel elektron taşıma zincirinin normal işlevine müdahale etme eğiliminde olduğunu ve böylece reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu kolaylaştırdığını göstermiştir.

4.7 AgNP'nin Enzim Biyosentezi Üzerindeki Etkisi

Çalışmada kullanılan *G. vulcani* 2Cx'nin ekstraselüler β -galaktosidaz sentezini belirlemek için, 62,5 ila 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında AgNP kullanılarak hazırlanan sıvı BM'de 50 °C'de çalkalamalı inkübatörde 24 saat boyunca ayrı ayrı kültüre edilen örneklerden enzim aktivitesi ölçüldü. Şekil 4.12, bakteriyel büyüme grafiğini ve enzim biyosentezini göstermektedir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamda bakteri üremesinin %19,8 azaldığı görülmektedir. Enzim biyosentezinin artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Enzim aktivitesinin 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %41; 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında ise %29 olduğu belirlendi.

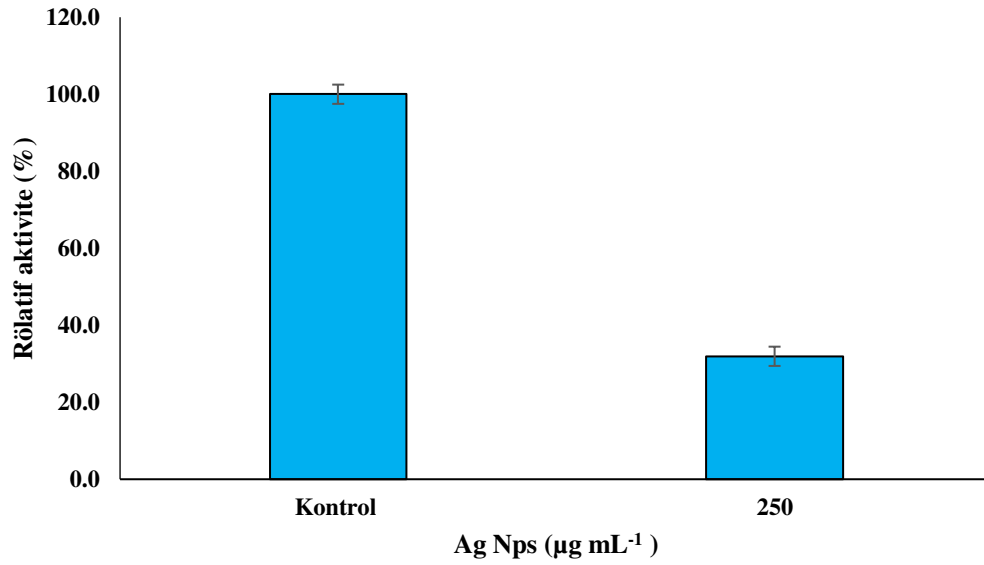


Şekil 4.12 AgNP konsantrasyonuna bağlı bakteri büyüme inhibisyonu

AgNP'lerin β -galaktosidazın karboksil ve tiyol gruplarıyla etkili bir şekilde etkileşime girdiği, hücre içi biyolojik fonksiyonları inhibe ettiği ve hücre ölümüne yol açtığı da tahmin edilmektedir (Youvd., 2012). AgNP'lerin β -galaktosidazın enzimatik ve biyosentezi üzerindeki etkileri, 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 'ye kadar incelenmiştir. Enzim biyosentezine etkisinin, 50 ve 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonlarda %59 ila %55'i arasında değişim gösterdiği, 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 'de enzim biyosentezinin büyük oranda etkilendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca küçük parçacık boyutlarının daha büyük parçacıklardan daha fazla toksisite gösterdiği belirtilmiştir (Kong vd., 2020).

4.8 AgNP'lerin Enzim Salgısına Etkisi

Ekstraselüler β -galaktosidaz sekresyonunu belirlemek için %2 laktoz içeren BM'de yetiştirilen bakteriler santrifüj edilerek tamponla yıkandı, ardından hücre süspansiyonları 250, 500, 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP ile 4 saat muamele edildi ve enzim aktivitesi ölçüldü. NP eklenmemiş numuneler kontrol olarak kullanıldı. Şekil 4.13, AgNP'nin enzim salgılanması üzerindeki etkisini göstermektedir. Kontrolle kıyaslandığında *G. vulcani* 2Cx için enzim sekresyonunun 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %32 olduğu belirlendi.



Şekil 4.13 AgNP konsantrasyonuna bağlı enzim sekresyonu

Kong vd., (2020) yaptıkları çalışmada, 50 ve 200 µg mL⁻¹ küçük ve büyük boyutlu AgNP varlığında β-galaktosidaz aktivitesinin küçük boyutlu parçacık kullanımında %92'den %28'e keskin bir şekilde düştüğünü, büyük parçacık kullanımında ise aktivitede %89'dan %77'ye hafif bir düşüş gözlemlendiğini, 1000 µg mL⁻¹'de, enzimatik aktivitenin küçük parçacık kullanımında %14±1,1 (%86 toksisite) ve büyük parçacık kullanımında ise %58±%2,1 (%42 toksisite) olduğunu, enzimatik aktivite için hesaplanan EC50 değerlerinin 148 µg mL⁻¹ ve 1170 µg mL⁻¹ olarak bildirmişlerdir.

AgNP'lerin bakteri hücre duvarı ve zarının yüzeyine yapışma, hücre içine nüfuz etme ve hücre içi organellerin ve biyomoleküllerin bozulmasına neden olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Dakal vd., 2016). AgNP'lerin, dış zarla etkileşime girerken proteinlere bağlanarak oksijen, fosfor, nitrojen veya kükürt atomları içeren elektronik donörlerle kompleksler oluşturabilir. Şimdiye kadar en iyi açıklanan AgNP etkileşimi tiyol grupları ile ilgilidir. Aynı zamanda AgNP, disülfid bağları ve aktif bölge blokajı ile etkileşerek zara bağlı enzimlerin ve proteinlerin inaktivasyonuna yol açar (Holt ve Bart 2005).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Mevcut çalışmada, AgNP'nin *G. vulcani* 2Cx'e biyolojik etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Sonuçlar bir dizi MIC, MBD, TEM, FT-IR, MTT, NBT, enzim biyosentez, sekresyon testleri vb. yapılarak değerlendirildi. Antimikrobiyal aktivite, çeşitli konsantrasyonlarda ($62,5-1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) AgNP kullanılarak bakterinin morfolojisindeki değişikliklerle kanıtlandı. *G. vulcani* 2Cx için artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak bakterilerin büyüme inhibisyonu incelendiğinde kontrole kıyasla $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında bakterilerin büyümesinde %71; $125 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %74; $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %83; $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %89 ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %96 inhibisyon olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, AgNP'ler, nanopartiküller yakın ilişkili mikroorganizmalara uygulanırsa güçlü antibakteriyel etkiler gösterebilir.

Yapılan TEM deneylerinde, kontrole kıyaslandığında AgNP içeren ortamda nanopartiküllerin bakterinin hücre duvarı ve hücre zarına zarar verdiği ve hücre içeriğinin bozulduğu görülmektedir. Ayrıca bu sonuçlar, yaptığımız MIC ve MBD deneylerini doğrulamaktadır. Ayrıca, FT-IR spektrumlarında kontrol grubuna göre kaymalar meydana geldiği görülmekte bu da daha önce yaptığımız MIC, MBD ve TEM görüntülerini destekler nitelikte hücre duvarı, hücre zarı yapılarının ve hücredeki protein ve DNA yapısının bozunmuş olabileceğini göstermektedir.

Artan AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığının azaldığı ve $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP konsantrasyonunda *G. vulcani* 2Cx %62'lik değeriyle en yüksek hücre canlılığını göstermektedir. *G. vulcani* 2Cx'in süper oksit üretimi ile ilgili 570 nm'deki spektral ölçümlerine bakıldığında, $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 1,6; $125 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,01; $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,04; $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,09 ve $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında 2,28 absorbans değerine sahip olduğu belirlendi. Nanopartiküllerin doza bağlı olarak süper oksit üretiminde önemli bir artışa neden olduğunu tespit edildi.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP içeren ortamda bakteri üremesinin %19,8 azaldığı görülmektedir. Enzim biyosentezinin artan AgNP konsantrasyonuna

bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Enzim aktivitesinin $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %41; $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında ise %29 olduğu belirlendi. AgNP'lerin β -galaktosidazın karboksil ve tiyol gruplarıyla etkili bir şekilde etkileşime girdiği, hücre içi biyolojik fonksiyonları inhibe ettiği ve hücre ölümüne yol açtığı da tahmin edilmektedir. AgNP'nin enzim salgılanması üzerindeki etkisi incelendiğinde, kontrolle kıyaslandığında *G. vulcani* 2Cx için enzim sekresyonunun $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ AgNP varlığında %32 olduğu belirlendi. AgNP, disülfid bağları ve aktif bölge blokajı ile etkileşerek zara bağlı enzimlerin ve proteinlerin inaktivasyonuna yol açtığı sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abinaya, M., Vaseeharan, B., Divya, M., Sharmili, A., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., & Benelli, G. (2018). Bacterial exopolysaccharide (EPS)-coated ZnO nanoparticles showed high antibiofilm activity and larvicidal toxicity against malaria and Zika virus vectors. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 93-103.
- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances*, 4(8), 3974-3983.
- Ali, S. G., Ansari, M. A., Khan, H. M., Jalal, M., Mahdi, A. A., & Cameotra, S. S. (2017). Crataeva nurvala nanoparticles inhibit virulence factors and biofilm formation in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of basic microbiology*, 57(3), 193-203.
- Allhoff, F. (2009). The coming era of nanomedicine. *The American Journal of Bioethics*, 9(10), 3-11.
- Allhoff, F., Lin, P., & Moore, D. (2017). *Nanoteknoloji Nedir ve Neden Önemlidir? Bilimden Etiğe*. Ankara, Türkiye: TÜBİTAK Yayınları.
- Altuner, E. E. (2014). Nano kremlerin üretimi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 4(1), 52-57.
- Angelin, J., & Kavitha, M. (2022). Molecular mechanisms behind the cold and hot adaptation in extremozymes. In *Extremozymes and their Industrial Applications* (pp. 141-176). A.B.D. Academic Press.
- Ateş, H. (2015). Nano parçacıklar ve nano teller. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri dergisi Part C*, 3(1), 437 – 442.
- Ateş, H., & Bahçeci, E. (2015). Nano malzemeler için üretim yöntemleri. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology*, 3(2), 483-499.
- Avalos, A., Haza, A. I., Mateo, D., & Morales, P. (2016). Interactions of manufactured silver nanoparticles of different sizes with normal human dermal fibroblasts. *International wound journal*, 13(1), 101-109.
- Aziz, Z. A. A., Mohd-Nasir, H., Ahmad, A., Mohd. Setapar, S. H., Peng, W. L., Chuo, S. C., Khatoon, A., Umar, K., Yaqoob, A. A., & Mohamad Ibrahim, M. N. (2019). Role of nanotechnology for design and development of cosmeceutical: application in makeup and skin care. *Frontiers in chemistry*, 7, 739.
- Baker, G. C., Gaffar, S., Cowan, D. A., & Suharto, A. R. (2001). Bacterial community analysis of Indonesian hot springs. *FEMS Microbiology Letters*, 200(1), 103-109.
- Banyay, M.; Sarkar, M.; Gräslund, A. A library of IR bands of nucleic acids in solution. *Biophys. Chem.* 2003, 104, 477–488.
- Binnig G, Rohrer H. (1982). Scanning Tunneling microscopy. *Helvetica Physica Acta*;55, 726-735.
- Blumer-Schuette, S. E., & Kelly, R. M. (2023). Thermophiles, Origin of. *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00096-7>.

- Bruchez Jr, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., & Alivisatos, A. P. (1998). Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *science*, 281(5385), 2013-2016.
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202.
- Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71.
- Caccamo, D., Gugliandolo, C., Stackebrandt, E., & Maugeri, T. L. (2000). *Bacillus vulcani* sp. nov., a novel thermophilic species isolated from a shallow marine hydrothermal vent. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(6), 2009-2012.
- Cakić, M., Glišić, S., Nikolić, G., Nikolić, G. M., Cakić, K., & Cvetinov, M. (2016). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of dextran sulphate stabilized silver nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, 1110, 156-161.
- Cansız, E. İ., & Kirmusaoğlu, S. (2018). Nanoteknolojide nano gümüşün antibakteriyel özelliği. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1, 119-130.
- Čekuolytė, K. (2019). Sidabro nanodalelių, gautų po *Geobacillus* genties bakterijų indukuotos sintezės, priešmikrobinio poveikio analizė (Yüksek lisan tezi), Vilnius Universitesi: Vilnius.
- Cekuolyte, K., Gudiukaite, R., Klimkevicius, V., Mazrimaite, V., Maneikis, A., & Lastauskiene, E. (2023). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Produced Using *Geobacillus* spp. *Bacteria. Nanomaterials*, 13(4), 702.
- Chakrabarty, S., & Jasuja, K. (2022). Applications of nanomaterials in the textile industry. In *Nanoscale Engineering of Biomaterials: Properties and Applications* (pp. 567-587). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Chan, W. C. W., & Nie, S. (1998). Quantum dots for ultrasensitive biological detection. *Science*, 281, 2016-2018.
- Chauhan, R., Deshmukh, S., & Khatri, N. (2020). Microbial production of metal nanoparticles and their antimicrobial activity. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(4), 1039-1046.
- Cho, K. H., Park, J. E., Osaka, T., & Park, S. G. (2005). The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*, 51(5), 956-960. doi:10.1016/j.electacta.
- Coorevits, A., Dinsdale, A. E., Halket, G., Lebbe, L., De Vos, P., Van Landschoot, A., & Logan, N. A. (2012). Taxonomic revision of the genus *Geobacillus*: emendation of *Geobacillus*, *G. stearothermophilus*, *G. jurassicus*, *G. toebii*, *G. thermodenitrificans* and *G. thermoglucosidans* (nom. corrig., formerly ‘thermoglucosidasius’); transfer of *Bacillus thermantarcticus* to the genus as *G. thermantarcticus* comb. nov.; proposal of *Caldibacillus debilis* gen. nov., comb. nov.; transfer of *G. tepidamans* to *Anoxybacillus* as *A. tepidamans* comb. nov.; and proposal of *Anoxybacillus caldiproteolyticus* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(Pt_7), 1470-1485.

- Correa-Llantén, D. N., Muñoz-Ibacache, S. A., Castro, M. E., Muñoz, P. A., & Blamey, J. M. (2013). Gold nanoparticles synthesized by *Geobacillus* sp. strain ID17 a thermophilic bacterium isolated from Deception Island, Antarctica. *Microbial cell factories*, 12(1), 1-6.
- Correa-Llantén, D. N., Muñoz-Ibacache, S. A., Maire, M., & Blamey, J. M. (2014). Enzyme involvement in the biosynthesis of selenium nanoparticles by *Geobacillus wiegelii* strain GWE1 isolated from a drying oven. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, 8(6), 637-641.
- Cui, Y., Zhao, Y., Tian, Y., Zhang, W., Lü, X., & Jiang, X. (2012). The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials*, 33(7), 2327-2333.
- Čuk, N., Šala, M., & Gorjanc, M. (2021). Development of antibacterial and UV protective cotton fabrics using plant food waste and alien invasive plant extracts as reducing agents for the in-situ synthesis of silver nanoparticles. *Cellulose*, 28, 3215-3233.
- Çelebi, M. E. (2022). Okside amilozlu gümüş nanopartiküllerin topikal antibiyotiklerle *Staphylococcus aureus* kökenlerine karşı sinerjik etkisi (Yüksek lisans tezi) Balıkesir Üniversitesi: Balıkesir.
- Çıracı, S. (2007). 21. yüzyılda yeni bir sanayi devrimi: Nanoteknoloji. *Bilim ve Ütopya*, 152, 4-10.
- Dağlıoğlu, Y., Kabakcı, D., & Akdeniz, G. (2016). Nanoteknoloji/Nanopartikül, Çevre Ve Bal Arıları Arasındaki İlişki. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 8(1), 22-27.
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in microbiology*, 7, 1831.
- Demirtaş Korkmaz, F. (2012). Titanyum dioksit ve Çinko oksit nanopartiküllerinin in vitro insan lenfositlerindeki genotoksik etkilerinin incelenmesi (Doktora tezi) Gazi Üniversitesi: Ankara.
- Donaldson, K., & Seaton, A. (2012). A short history of the toxicology of inhaled particles. *Particle and fibre toxicology*, 9, 1-12.
- Durán, N., Durán, M., De Jesus, M. B., Seabra, A. B., Fávaro, W. J., & Nakazato, G. (2016). Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 12(3), 789-799.
- Ealias, A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 263: 032019.
- Edelstein, R. L., Tamanaha, C. R., Sheehan, P. E., Miller, M. M., Baselt, D. R., Whitman, L., & Colton, R. J. (2000). The BARC biosensor applied to the detection of biological warfare agents. *Biosensors and Bioelectronics*, 14(10-11), 805-813.
- Ekinci, M., & Derya, İ. Ö. (2021). Nanoteranostikler. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 45(1), 131-155.

- Elechiguerra, J. L., Burt, J. L., Morones, J. R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H. H., & Yacaman, M. J. (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 3, 1-10.
- Ellenbecker, M. J., & Tsai, C. S. J. (2015). *Exposure assessment and safety considerations for working with engineered nanoparticles*. New York, John Wiley & Sons.
- Ersöz, M., Işıtan, A., & Balaban, M. (2018). *Nanoteknoloji 1: Nanoteknolojinin temelleri*, Denizli: Bilal Ofset Matbaacılık.
- Esirgenler, B. (2022). Jelatin ile Modifiye Edilmiş Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinin ve Uçucu Yağlar ile Sinerjisinin Araştırılması (Doktora tezi). Necmettin Erbakan Üniversitesi: Konya
- Eymard-Vernain, E., Coute, Y., Adrait, A., Rabilloud, T., Sarret, G., & Lelong, C. (2018). The poly-gamma-glutamate of *Bacillus subtilis* interacts specifically with silver nanoparticles. *PLoS One*, 13(5), e0197501.
- Fadeel, B., & Garcia-Bennett, A. E. (2010). Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 62(3), 362-374.
- Fahmy, H. M., Mosleh, A. M., Abd Elghany, A., Shams-Eldin, E., Serea, E. S. A., Ali, S. A., & Shalan, A. E. (2019). Coated silver nanoparticles: Synthesis, cytotoxicity, and optical properties. *RSC advances*, 9(35), 20118-20136.
- Fayaz, A. M., Girilal, M., Rahman, M., Venkatesan, R., & Kalaichelvan, P. T. (2011). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using thermophilic bacterium *Geobacillus stearothermophilus*. *Process Biochemistry*, 46(10), 1958-1962.
- Filizler, B. (2019). Magnetit nanopartikülün *su mercimeği* (*Lemna sp.*) bitkisinde toksisite analizleri (Yüksek lisans tezi) Ege Üniversitesi: İzmir
- Gao, M., Sun, L., Wang, Z., & Zhao, Y. (2013). Controlled synthesis of Ag nanoparticles with different morphologies and their antibacterial properties. *Materials Science and Engineering: C*, 33(1), 397-404.
- Ghasemi, S. M., Dormanesh, B., Hosseini Abari, A., Aliasghari, A., & Farahnejad, Z. (2018). Comparative characterization of silver nanoparticles synthesized by spore extract of *Bacillus subtilis* and *Geobacillus stearothermophilus*. *Nanomedicine Journal*, 5(1), 46-51.
- Gupta, V., Mohapatra, S., Mishra, H., Farooq, U., Kumar, K., Ansari, M. J., Aldawsari, F. A., Alalaiwe, A.M., Mirza, M. A. & Iqbal, Z. (2022). Nanotechnology in cosmetics and cosmeceuticals—a review of latest advancements. *Gels*, 8(3), 173.
- Halamoda-Kenzaoui, B., & Léonard, D. (2015). Impact of nanoparticles on the immune system. *RSC Advances*, 5(70), 56880-56891.
- Hammamchi, H. (2019). Biyolojik Yollar ile Sentezlenen Organik/İnorganik Nanopartiküllerin Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi ve Tedavi Amaçlı Kullanımları.(Doktora Tezi).Hacettepe Üniversitesi: Ankara.

- Hasan, S. (2015). A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences*, 4(ISC-2014), 9-11.
- Hassan, B. S., Islam, G. M. N., & Haque, A. N. M. A. (2019). Applications of nanotechnology in textiles: A review. *Advanced Research in Textile Engineering*, 4(2), 1038.
- Hatami, M., Kariman, K., & Ghorbanpour, M. (2016). Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Science of the total environment*, 571, 275-291.
- Holt K.B., Bard A.J.(2005). Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: An electrochemical and scanning electro-chemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag⁺ *Biochemistry*. 44,3214–13223.
- Hong, X., Wen, J., Xiong, X., & Hu, Y. (2016). Shape effect on the antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized via a microwave-assisted method. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 4489-4497.
- Ivask, A., ElBadawy, A., Kaweeteerawat, C., Boren, D., Fischer, H., Ji, Z., Chang, C. H., Liu, R., Tolaymat, T., Telesca, D., Zink, J. I., & Godwin, H. A. (2014). Toxicity mechanisms in *Escherichia coli* vary for silver nanoparticles and differ from ionic silver. *ACS nano*, 8(1), 374-386.
- Jackson, M.; Sowa, M.G.; Mantsch, H.H. Infrared spectroscopy: A new frontier in medicine. *Biophys. Chem.* 1997, 68, 109–125
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K. T., & Manna, A. C. (2008). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS microbiology letters*, 279(1), 71-76.
- Kamnev, A. A. (2008). FTIR spectroscopic studies of bacterial cellular responses to environmental factors, plant-bacterial interactions and signalling. *Spectroscopy*, 22(2-3), 83-95.
- Keller, M., & Zengler, K. (2004). Tapping into microbial diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 141-150.
- Kıyar, Ş. (2020). Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinde Nanopartikül Boyut Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi:Konya
- Kim, K. J., Sung, W. S., Moon, S. K., Choi, J. S., Kim, J. G., & Lee, D. G. (2008). Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J Microbiol Biotechnol*, 18(8), 1482-1484.
- Kiraz, M., Çevik, S., Demirel, A., Gergin, Y. E., & Özdemir, Ö. (2018). Nanoteknoloji ve Nanonöroşirürji. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 28(3), 264-272.
- Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Koller, M., & Epple, M. (2010). Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. *Chemistry of materials*, 22(16), 4548-4554.

- Kong, I. C., Ko, K. S., & Koh, D. C. (2020). Evaluation of the Effects of Particle Sizes of Silver Nanoparticles on Various Biological Systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8465.
- Kumar, A., Prasad, B., Manjhi, J., & Prasad, K. S. (2020). Antioxidant activity of selenium nanoparticles biosynthesized using a cell-free extract of *Geobacillus*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 102(10), 556-567.
- Lele, A. (2009). Role of Nanotechnology in defence. *Strategic Analysis*, 33(2), 229-241.
- Li, L., Fan, M., Brown, R. C., Van Leeuwen, J., Wang, J., Wang, W., Li, X., Zhou, D., Zhang, H., & Zhang, P. (2006). Synthesis, properties, and environmental applications of nanoscale iron-based materials: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(5), 405-431.
- Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., & Alvarez, P. J. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water Research*, 42(18), 4591-4602.
- Liao, C., Li, Y., & Tjong, S. C. (2019). Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 449.
- Lines, M. G. (2008). Nanomaterials for practical functional uses. *Journal of Alloys and Compounds*, 449(1-2), 242-245.
- Logan, N. A., Vos, P. D., & Dinsdale, A. (2015). *Geobacillus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-26.
- Loos, M. (2015). Nanoscience and nanotechnology, Chapter 1. In *Carbon Nanotube Reinforced Composites*. Oxford: William Andrew Publishing, 1-36.
- Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. *Science of the Total Environment*, 533, 76-81.
- Mahtab R, Rogers JP, Murphy CJ (1995) Protein-sized quantum dot luminescence can distinguish between "straight", "bent", and "kinked" oligonucleotides. *Journal of the American Chemical Society*. 1995, 117: 9099-9100.
- Manzoor, S., Bashir, D. J., Imtiyaz, K., Rizvi, M. M. A., Ahamad, I., Fatma, T., Agarwal, N. B., Aura, I. & Samim, M. (2021). Biofabricated platinum nanoparticles: therapeutic evaluation as a potential nanodrug against breast cancer cells and drug-resistant bacteria. *RSC advances*, 11(40), 24900-24916.
- Maquelin, K.; Kirschner, C.; Choo-Smith, L.P.; van den Braak, N.; Endtz, H.P.; Naumann, D.; Puppels, G.J. (2002) Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy. *Journal of Microbiological Methods*, 51, 255–271
- Mariana R (2009). Nanotechnology in Textile Industry. Fascicle of Textiles, Leatherwork, Editura *Universității din Oradea*. XVI: 83
- Markowska, K., Grudniak, A. M. & Wolska, K. I. (2013). Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4), 523- 530.

- Matpan Bekler, F. (2017). Türkiye'deki Dibekli Sıcak Su Kaynağından Termofilik *Geobacillus* sp. DB2 Suşunun Fizyo-Biyokimyasal Karakterizasyonu ve 16S rRNA Sekanslaması. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 7(1), 63-71.
- Matpan Bekler, F., Yalaz, S., Güven, K., & Güven, R. G. (2020). Isolation and characterization of thermophilic bacteria from Hot spring in Çermik, Diyarbakır. 3. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), 19 - 20 April 2020 Ankara, Turkey. (Sözlü Full-Text Bildiri) Proceeding Book pp:132-139.
- Melin, A. M., Perromat, A., & Délérís, G. (2000). Pharmacologic application of Fourier transform IR spectroscopy: In vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 57, 160-168.
- Mikhailova EO. Silver Nanoparticles: Mechanism of Action and Probable Bio-Application. *Journal of Functional Biomaterials*. 2020 Nov 26;11(4):84.
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology advances*, 31(2), 346-356.
- Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A., & Mody, H. R. (2010). Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2(4), 282.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
- Najar, I. N., & Thakur, N. (2020). A systematic review of the genera *Geobacillus* and *Parageobacillus*: their evolution, current taxonomic status and major applications. *Microbiology*, 166(9), 800-816.
- National Nanotechnology Initiative. (n.d.). About Nanotechnology: Applications of Nanotechnology. Erişim tarihi: (01/06/2023), URL: <https://www.nano.gov/about-nanotechnology/applications-nanotechnology>
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., & Behra, R. (2008). Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science & Technology*, 42(23), 8959-8964.
- Nazina, T. N., Lebedeva, E. V., Poltarau, A. B., Tourova, T. P., Grigoryan, A. A., Sokolova, D. S., Lysenko, A. M., & Osipov, G. A., & Osipov, G. A. (2004). *Geobacillus gargensis* sp. nov., a novel thermophile from a hot spring, and the reclassification of *Bacillus vulcani* as *Geobacillus vulcani* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(6), 2019-2024.
- Nazina, T. N., Tourova, T. P., Poltarau, A. B., Novikova, E. V., Grigoryan, A. A., Ivanova, A. E., Ivanova, A. E., Lysenko, A. M., Petrunka, V. V., Osipov, G. A., Belyaev, S. S., & Ivanov, M. V. (2001). Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uezoniensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G.*

- th. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(2), 433-446.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622-627.
- Nile, S. H., Baskar, V., Selvaraj, D., Nile, A., Xiao, J. ve Kai, G. (2020). Nanotechnologies in food science: applications, recent trends and future perspectives. *Nano-Micro Letters*, 12(1), 45
- Noguez, C. (2007). Surface plasmons on metal nanoparticles: the influence of shape and physical environment. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(10), 3806-3819.
- Novik, G., Savich, V., & Meerovskaya, O. (2018). *Geobacillus* Bacteria: potential commercial applications in industry, bioremediation, and bioenergy production. In *Growing and handling of bacterial cultures*. IntechOpen.
- Ocsoy, I., Paret, M. L., Ocsoy, M. A., Kunwar, S., Chen, T., You, M., & Tan, W. (2013). Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *ACS nano*, 7(10), 8972-8980.
- Ozdal, M., & Gurkok, S. (2022). Recent advances in nanoparticles as antibacterial agent. *ADMET and DMPK*, 10(2), 115-129.
- Ozek, N. S., Bal, I. B., Sara, Y., Onur, R., & Severcan, F. (2014). Structural and functional characterization of simvastatin-induced myotoxicity in different skeletal muscles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(1), 406-415.
- Özdoğan, E., Demir, A., & Seventekin, N. (2006). Nanotechnology and Its Applications in Textile Industry. *Textile and Apparel*, 16(3), 159-168.
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6), 1712-1720.
- Perez, M. (2012). The Effects of Silver Nanoparticles on Wastewater Treatment and *Escherichia Coli* Growth. (Yüksek lisan tezi) Florida Eyalet Üniversitesi: Florida
- Pradhan, N., Singh, S., Ojha, N., Srivastava, A., Barla, A., Rai, V., & Pandey, A. C. (2015). Facets of nanotechnology as seen in food processing, packaging, and preservation industry. *BioMed Research International*, 365672. doi: 10.1155/2015/365672.
- Qais, F. A., Shafiq, A., Ahmad, I., Husain, F. M., Khan, R. A., & Hassan, I. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Carum copticum*: Assessment of its quorum sensing and biofilm inhibitory potential against gram negative bacterial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 144, 104172.
- Quinteros, M. A., Cano Aristizábal, V., Dalmasso, P. R., Paraje, M. G., & Páez, P. L. (2016). Oxidative stress generation of silver nanoparticles in three bacterial genera and its relationship with the antimicrobial activity. *Toxicology in Vitro*, 36, 216-223.

- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, 27(1), 76-83.
- Ramalingam, B., Parandhaman, T., & Das, S. K. (2016). Antibacterial effects of biosynthesized silver nanoparticles on surface ultrastructure and nanomechanical properties of gram-negative bacteria viz. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(7), 4963-4976.
- Ramanathan, S., Gopinath, S. C., Anbu, P., Lakshmipriya, T., Kasim, F. H., & Lee, C. G. (2018). Eco-friendly synthesis of *Solanum trilobatum* extract-capped silver nanoparticles is compatible with good antimicrobial activities. *Journal of Molecular Structure*, 1160, 80-91.
- Rao, C. N. R., Müller, A., & Cheetham, A. K. (Eds.). (2007). *Nanomaterials Chemistry: Recent Developments and New Directions*. New York, John Wiley & Sons.
- Raó, R., Müller, A., & Cheetham, K. (2004). *The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*. New York, John Wiley & Sons.
- Ravichandran, R. (2010). Nanotechnology applications in food and food processing: innovative green approaches, opportunities and uncertainties for global market. *International Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry*, 1(2), P72-P96.
- Resmi Gazete, (2017). Türkiye Nanoteknoloji Stratejisi ve Eylem Planı (2017-2018) (Karar No: 2017/23). Yüksek Planlama Kurulu: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/09/20170919-23.pdf>.
- Roco, M. C. (2005). International perspective on government nanotechnology funding in 2005. *Journal of Nanoparticle Research*, 7, 707-712.
- Saka, E., & Gülel, G. T. (2015). Gıda endüstrisinde nanoteknoloji uygulamaları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(2), 52-57.
- Salata, O. V. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of nanobiotechnology*, 2(1), 1-6.
- Saraeva, I.; Tolordava, E.; Yushina, Y.; Sozaev, I.; Sokolova, V.; Khmelnitskiy, R.; Sheligyna, S.; Pallaeva, T.; Pokryshkin, N.; Khmelenin, D.; et al.(2022) Direct Bactericidal Comparison of Metal Nanoparticles and Their Salts against *S. aureus* Culture by TEM and FT-IR Spectroscopy. *Nanomaterials*, 12, 3857
- Sawhney APS, Condon B, Singh KV, Pang SS, Li G , Hui D (2008) Modern Applications of Nanotechnology in Textiles. *Text Res J* 78(8): 731-739
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) (2006). The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious produc. European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General.
- Seil J.T., Webster T.J. Antimicrobial applications of nanotechnology: Methods and literature. *Int. J. Nanomed.* 2012;7:2767–2781.

- Seong, M., & Lee, D. G. (2017). Silver nanoparticles against *Salmonella enterica* serotype typhimurium: role of inner membrane dysfunction. *Current microbiology*, 74, 661-670..
- Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 514-525.
- Shrivastava, S., & Dash, D. (2009). Applying nanotechnology to human health: revolution in biomedical sciences. *Journal of Nanotechnology*, 2009.
- Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P., & Dash, D. (2009). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(22), 225103.
- Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599.
- Singh, T., Shukla, S., Kumar, P., Wahla, V., Bajpai, V. K., & Rather, I. A. (2017). Corrigendum: Application of nanotechnology in food science: Perception and overview. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2517.
- Slomberg, D. L., Lu, Y., Broadnax, A. D., Hunter, R. A., Carpenter, A. W., & Schoenfisch, M. H. (2013). Role of size and shape on biofilm eradication for nitric oxide-releasing silica nanoparticles. *ACS applied materials & interfaces*, 5(19), 9322-9329.
- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182.
- Su, H. L., Chou, C. C., Hung, D. J., Lin, S. H., Pao, I. C., Lin, J. H., Huang, F. L., Dong, R. X. & Lin, J. J. (2009). The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. *Biomaterials*, 30(30), 5979-5987.
- Szalontai, B., Nishiyama, Y., Gombos, Z., & Murata, N. (2000). Membrane dynamics as seen by Fourier transform infrared spectroscopy in a *Cyanobacterium*, *Synechocystis* PCC 6803: the effects of lipid unsaturation and the protein-to-lipid ratio. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1509(1-2), 409-419.
- Şengil, A. Z. Teknolojik değişim süreci: Nanoteknoloji ve nanotıp. *Sağlık Düşüncesi Ve Tıp Kültürü Dergisi*, 15, 84-87
- Tiquia-Arashiro, S., & Rodrigues, D. F. (2016). *Extremophiles: applications in nanotechnology* (p. 193). New York, NY, USA:: Springer International Publishing.
- Tiwari, D. K., Behari, J., & Sen, P. (2008). Application of nanoparticles in waste water treatment. *World Appl Sci J*, 3(3), 417-433.
- Uslan, O. (2023). Nanoteknoloji ve nanoteknolojinin tarımda uygulama alanları (Yüksek lisans tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi: Tekirdağ

- Ünşar, E. K., & Perendeci, N. A. (2016). Nanopartiküllerin çevresel akıbetleri ve anaerobik parçalanma prosesine etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22(6), 503-512.
- Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella Jr, M. F., Rejeski, D., & Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), 1769-1780.
- Vavitsas, K., Glekas, P. D., & Hatzinikolaou, D. G. (2022). Synthetic Biology of Thermophiles: Taking Bioengineering to the Extremes?. *Applied Microbiology*, 2(1), 165-174.
- Walkey C, Sykes EA, Chan WC.(2009) Application of semiconductor and metal nanostructures in biology and medicine.*Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:701-7.
- Wiglusz, R. J., Kedziora, A., Lukowiak, A., Doroszkiewicz, W., & Strek, W. (2012). Hydroxyapatites and europium (III) doped hydroxyapatites as a carrier of silver nanoparticles and their antimicrobial activity. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 8(4), 605-612.
- Yang, W., Shen, C., Ji, Q., An, H., Wang, J., Liu, Q., & Zhang, Z. (2009). Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. *Nanotechnology*, 20(8), 085102.
- Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., 2010, Moleküler Biyoloji Bölüm 16 Biyoteknoloji ve Biyoinformatik s. 625-632, ISBN 978-9944-77-184-9.
- Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International journal of nanomedicine*, 2555-2562.
- Yoshida J, Kobayashi T. (1999). Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes. *J MagnMagn Mater*, 194, 176-184.
- You, C., Han, C., Wang, X., Zheng, Y., Li, Q., Hu, X., & Sun, H. (2012). The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity. *Molecular biology reports*, 39, 9193-9201.
- Yuan, Y. G., Peng, Q. L., & Gurunathan, S. (2017). Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from mastitis-infected goats: an alternative approach for antimicrobial therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 569.
- Zhang, H., Lu, Y., Zhang, Q., Yang, F., Hui, A., & Wang, A. (2022). Structural evolution of palygorskite-rich clay as the nanocarriers of silver nanoparticles for efficient improving antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 652, 129885.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyad, Ad

Tunç, Ahmed

Web sayfası
(Research Gate,
Academia, vs.)

Researchgate:<https://www.researchgate.net/profile/Ahmed-Tunç>
OrcID: 0000-0001-6552-2211

Eğitim Bilgileri

Derece	Kurum	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Disiplinlerarası Nanoteknoloji A.B.D	2023
Lisans	İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği	2005
Lise	Ergani Lisesi	1998

İş Deneyimi

Dönem (Yıl)	Şirket, Kurum	Görev
2005-2023	MEB	Öğretmen

Yabancı Dil

Yayınlar

Tunç, A., Matpan Bekler, F., Güven, K., & Jahan, I. (2023). Effects of silver nanoparticles on thermophilic *Geobacillus vulcani* 2CX and its enzymes. 4. Uluslararası Dicle Bilimsel Araştırmalar ve İnovasyon Kongresi..International Dicle Scientific Research and Innovation Congress, 18-19 Nisan 2023 Diyarbakır. (Sözlü sunum, Özet Bildiri) Abstract Book 306.

Özel İlgiler

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ BENZERLİK BİLDİRİMİ FORMU

Öğrencinin Adı, Soyadı	Ahmed Tunç		
Öğrenci No	21827006		
Ana Bilim Dalı	Disiplinlerarası Nanoteknoloji		
Program Türü	Proje ☐	Yüksek Lisans ☒	Doktora ☐
Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Doç. Dr. Fatma Matpan Bekler		
(Varsa) II. Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)			
Tez Başlığı	GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN TERMOFİLİK <i>Geobacillus vulcani</i> 2CX VE ENZİMLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ		
RAPOR BİLGİLERİ			
Raporlama Aşaması	Tez Savunma Sınavı öncesi		
Sayfa Sayısı	74		
Raporlama Tarihi	11.07.2023		
Benzerlik Oranı (%)	%11		

Yukarıda bilgileri verilen tez çalışmamın toplam 74 sayfalık kısmına ilişkin, 11/07/2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin isimli intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 11 olarak tespit edilmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☐Başlangıç Bölümleri (Kabul ve Onay sayfası, Teşekkür sayfası, Özet/Abstract) hariç
- ☒Kaynaklar hariç
- ☐Alıntılar hariç/dâhil
- ☐Diğer (Açıklayınız)

Tezimin benzerlik oranı, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İntihal Raporu Uygulama Esaslarında belirtilen üst sınır benzerlik oranını aşmamaktadır. Benzerlik oranım üst sınır benzerlik oranının altında olsa dahi aksinin tespit edilmesi durumunda her türlü yasal sorumluluğu kabul ettiğimi ve hukuki sonuçlarına razı olduğumu bildirir, gereğini arz ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Ahmed Tunç
Tarih: 11/07/2023
İmza:

Danışman Adı, Soyadı: Doç. Dr. Fatma Matpan Bekler	İmza:
Tarih:	
Ana Bilim Dalı Başkanı Adı, Soyadı: Prof. Dr. Bilsen Tural	İmza:
Tarih:	