



**SERYUM OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN
FUNGAL ÜRETİMİ**

Özge ÇAĞLAR

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Bilim Dalı
Doç. Dr. Mesut TAŞKIN
2017
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERYUM OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN FUNGAL ÜRETİMİ

Özge ÇAĞLAR

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
Biyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

SERYUM OKSİT NANOPARTİKÜLERİNİN FUNGAL ÜRETİMİ

Doç Dr. Mesut TAŞKIN danışmanlığında, Özge ÇAĞLAR tarafından hazırlanan bu çalışma 13 /07 /2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı – Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.**

Başkan: Doç.Dr. Mesut TAŞKIN

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Yağmur ÜNVER

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 03.08.2017 tarih ve 31 / 12 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SERYUM OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN FUNGAL ÜRETİMİ

Özge ÇAĞLAR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mesut TAŞKIN

Geleceğin umut vadeden teknolojilerinden biri olan ‘Nanoteknoloji’ , boyutları 1-100 nm arasında değişen nanopartikül olarak adlandırılan yapıların dizaynı, üretim ve karakterizasyonunu kapsayan, her geçen gün hızla gelişen interdisipliner bir bilim dalıdır. Nanopartiküllerin önemli bir sınıfını oluşturan metalik nanopartiküller optik, katalitik, elektronik ve biyoremediyasyon gibi pek çok alanda önemli uygulamalara sahiptir.

Bu çalışmada geçiş metal elementlerinin bir üyesi olan Seryum(Ce)’un nanopartikül formu olan CeO_{2-x} nanopartiküllerinin fungal *Fusarium oxysporum* ile ilk kez biyolojik sentezi gerçekleştirildi. Sentezlenen nanopartiküllerin, şekil, boyut ve yüzey enerjisi gibi yapı ve fonksiyonel özellikleri XRD, UV-vis spektroskopisi, SEM, FT-IR ve XPS analizleri ile belirlenmiştir.

2017, 72 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyonanoteknoloji, nanopartikül, seryum oksit (CeO_{2-x}), yeşil sentez, *Fusarium oxysporum*.

ABSTRACT

Master Thesis

FUNGAL PRODUCTION OF CERIUM OXIDE NANOPARTICLES

Özge ÇAĞLAR

Atatürk University
Faculty of Science Graduate School
Department of Genetic Sciences
Biotechnology Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mesut TAŞKIN

'Nanotechnology', one of the promising technologies in the future, is a rapidly developing interdisciplinary science that covers the design, production and characterization of structures called nanoparticles ranging in size from 1 to 100 nm. Metallic nanoparticles, which form an important class of nanoparticles, have many important applications in the field such as optics, catalysis, electronics, bioremediation. In this study, fungal biosynthesis of CeO_{2-x} nanoparticles of cerium (Ce), which is a member of transition metal elements, with fungal *Fusarium oxysporum* was performed for the first time. Information such as shape, size, surface energy, structural and functional properties of the synthesized nanoparticles have been verified by XRD, SEM, FT-IR, XPS and UV-vis analyses.

2017, 72 pages

Keywords: Bionanotechnology, nanoparticle, cerium oxide (CeO_{2-x}), green synthesis, *Fusarium oxysporum*.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisi, tecrübesi, sabrı, fedakarlığı ve hoşgörüsüyle her zaman yanımda ve hep en yakın destekcim olan çok değerli hocam Sayın Doç.Dr. Mesut TAŞKIN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca tezimin her aşamasında hiçbir yardım ve desteğini esirgemeyen ve her türlü imkanı sunan Sayın Doç. Dr. Önder METİN'e teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ'ye teşekkür ederim. Ayrıca nanopartikül karakterizasyonu analiz çalışmalarımnda teknik donanım, bilgi ve tecrübelerini paylaşan Sayın Dr. Sevda SARITAŞ'a ve Sayın Uzm. Ahmet Emre KASAPOĞLU'na teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca aynı ortam ve laboratuvarları paylaştığım DAYTAM (Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi)'daki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince gerekli yardımı ve desteği gösteren, hep yanımda olan sevgili arkadaşım Tuğba ORAK'a ve lisans eğitimimden bu yana her zaman yanımda olan, manevi desteğini hep hissettiğim sevgili arkadaşım Arş. Gör. Emine TORAMAN'a teşekkür ederim.

Ve her zaman benimle ağlayıp benimle gülen, dualarını her daim hissettiğim, hayatım boyunca en büyük rehberlerim olan canım ailem; babam Ziyeddin ÇAĞLAR'a ve annem Kadriye ÇAĞLAR'a, ablam Dilek ÇAĞLAR'a, kardeşlerim Sercan ÇAĞLAR ve Ercan ÇAĞLAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Özge ÇAĞLAR

Temmuz, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Kimyasal maddeler.....	32
3.1.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri	32
3.1.3. Stok solüsyonlar	34
3.2. Metodlar	34
3.2.1. Çalışılacak ortam ve malzemenin sterilizasyonu	34
3.2.2. Çalışmada kullanılacak küflerin izolasyonları	34
3.2.3. Seryum oksit nanopartikül üreten küf izolatlarının taranması	35
3.2.4. Mikrofungusun teşhisi	35
3.2.5. A6.2 izolatıyla farklı besiyerlerinde CeONPs üretiminin taranması.....	37
3.2.6. Seryum oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu.....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	40
4.1. Seryum Oksit Nanopartikül Üreten Küflerin İzolasyonu ve Taranması	40
4.2. A6.2 İzolatının Moleküler Teşhisi.....	41
4.3. Seryum Oksit Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu	42
4.3.1. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM).....	42
4.3.2. UV-vis spektrofotometri.....	48
4.3.3. X-Işını kırınımı (XRD).....	49
4.4.4. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	51
4.4.5. X-Işını fotoelektron spektroskopisi (XPS).....	52

5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	56
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	73



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
Ce	: Seryum
CeONPs	: Seryum oksit Nanopartiküller
FTIR	: Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
pH	: Power of Hydrogen
rpm	: Devir/ dakika
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
sp.	: Cins
TEM	: Trasmision Elektron Mikroskobu
UV-vis	: UV-görünür Spektrofotometri
XPS	: X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi
XRD	: X-ışını Kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Boyut ölçeği ile ilgili bazı örnekler	1
Şekil 1.2. Fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre nanomateryallerin sınıflandırılması.....	3
Şekil 1.3. Bazı metal nanopartiküller ve biyoteknolojideki uygulamaları.....	6
Şekil 1.4. Bir dendrimerin genel şekli	13
Şekil 1.5. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri	16
Şekil 1.6. Bottom up metoduyla nanopartikül sentezi	17
Şekil 1.7. CeO ₂ 'nin FCC yapısı	22
Şekil 4.1. GYP ve MEB sıvı besiyerlerinde geliştirilen A6.2 izolatı	40
Şekil 4.2. GYP ve MEB kültürlerinde geliştirilen A6.2 izolatına ait misellerin steril fizyolojik su içerisinde durumu (Ortama seryum asetiloasetonat eklenmemiş)	41
Şekil 4.3. GYP ve MEB kültürlerinde geliştirilen A6.2 izolatına ait misellerin steril fizyolojik su içerisinde seryum asetiloasetonat ile 3 günlük inkübasyon sonucundaki renk durumu.....	41
Şekil 4.4. Çoğaltılan 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S bölgesinin bant görüntüsü	42
Şekil 4.5. GYP kültüründe gelişen küf miselleri üzerindeki CeO _{2-x} nanopartiküllerinin SEM görüntüleri	45
Şekil 4.6. MEB kültüründe gelişen küf miselleri üzerindeki CeO _{2-x} nanopartiküllerinin SEM görüntüleri	48
Şekil 4.7. GYP ve MEB kültür sıvılarındaki CeO _{2-x} için UV-vis spektrofotometri sonucu.....	49
Şekil 4.8. GYP sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 tarafından biyosentezi gerçekleşen CeO _{2-x} için XRD sonucu.....	50
Şekil 4.9. MEB sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 tarafından biyosentezi gerçekleşen CeO _{2-x} için XRD sonucu.....	51
Şekil 4.10. GYP ve MEB için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO _{2-x} için FTIR analiz sonucu	52

Şekil 4.11. GYP besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO ₂ - x için seryum (Ce) atomuna ait XPS analiz sonucu	53
Şekil 4.12. GYP besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO ₂ - x için oksijen (O) atomuna ait XPS analiz sonucu.....	54
Şekil 4.13. MEB besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO ₂ - x için seryum (Ce) atomuna ait XPS analiz sonucu	54
Şekil 4.14. MEB besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO ₂ - x için oksijen (O) atomuna ait XPS analiz sonucu	55



ÇİZELGELER DİZİNİ

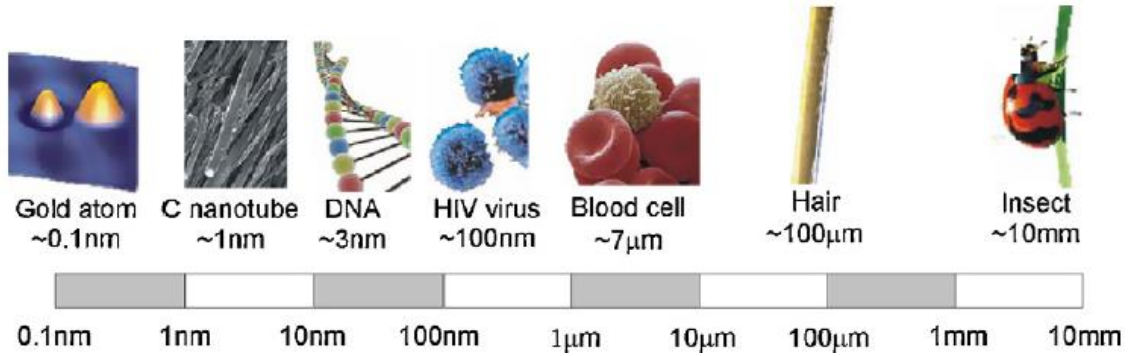
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	32
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri	32
Çizelge 3.3. Kullanılan stok solüsyonları	34
Çizelge 3.4. PCR reaksiyon karışım içeriği.....	36
Çizelge 3.5. PCR programı	37



1. GİRİŞ

Yunanca "cüce" anlamına gelen nano kelimesi bir ön ek olarak kullanıldığı zaman 10^{-9} 'u ifade etmektedir. 1 nanometre (nm) metrenin milyonda biri veya yaklaşık olarak yanayana dizilmiş üç atom uzunluğuna denk gelmektedir. Bir DNA molekülü 2.5 nm çapında, bir protein yaklaşık olarak 50 nm, bir grip virüsünün büyüklüğü ise 100 nm civarındadır. Nano materyallerin boyutu ise 100 nm'den daha azdır (Thakkar *et al.* 2009).

Nanoparikül; boyutları 1-100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) aralığındaki atomların sınıfına verilen addır (Gong *et al.* 2007). Nano ölçekteki araçlar insan hücrelerinden 100-10000 kat daha küçüktür.



Şekil 1.1. Boyut ölçeği ile ilgili bazı örnekler (Serrano *et al.* 2009)

Nanometre ölçeğindeki materyal, araç ve tekniklerin tümünü kapsayan bir terim olan nanoteknoloji nano ölçekteki boyut ve şekilleri kontrol ederek sistemlerin, araçların ve yapıların dizaynı, karakterizasyonu, üretim ve uygulaması olarak tanımlanabilir (Maynard 2006). Yeni bir endüstriyel devrim olarak düşünülen nanoteknoloji 21.yüzyılın en umut vadeci teknolojilerinden birini temsil etmektedir.

Nanoteknoloji terimi 1974’de Tokyo Science Üniversitesi Prof. Norio Taniguchi tarafından nanometre seviyesindeki materyallerin hassas imalatını tanımlamak için kullanmıştır (Webster 2007). Fizik profesörü Richard P Feynman "Alt kısımlarda daha fazla boşluklar var." cümlesiyle 1956’da nanoteknoloji kavramını tanımlamıştır.

Biyonanoteknoloji çevre dostu ve biyosentetik nanopartiküllerin gelişimi için biyoteknoloji ve nanoteknoloji arasındaki etkileşimlerle ortaya çıkan bir kavramdır (Rai *et al.* 2009).

Nanopartiküller hacimsel malzemelerle atom veya moleküller arasındaki boşlukta bir köprü görevi üstlendikleri için bilimsel açıdan yoğun ilgi görmektedirler. Bir malzeme, boyutundan farklı olarak sabit fiziksel özelliklere sahiptir. Fakat nano boyutta durum böyle değildir. Nano ölçekte çalışıldığı zaman iyi karakterize edilmiş birkaç hacimsel malzemenin çok daha farklı özellikler sergilediği görülmüştür. Antikor, reseptör, enzim gibi büyük biyolojik moleküllere kıyasla çok küçük olan bu partiküller biyomoleküllerle hem hücre yüzeyinde hem de hücre içinde eşsiz etkileşimler sunmaktadır (Cai *et al.* 2008).

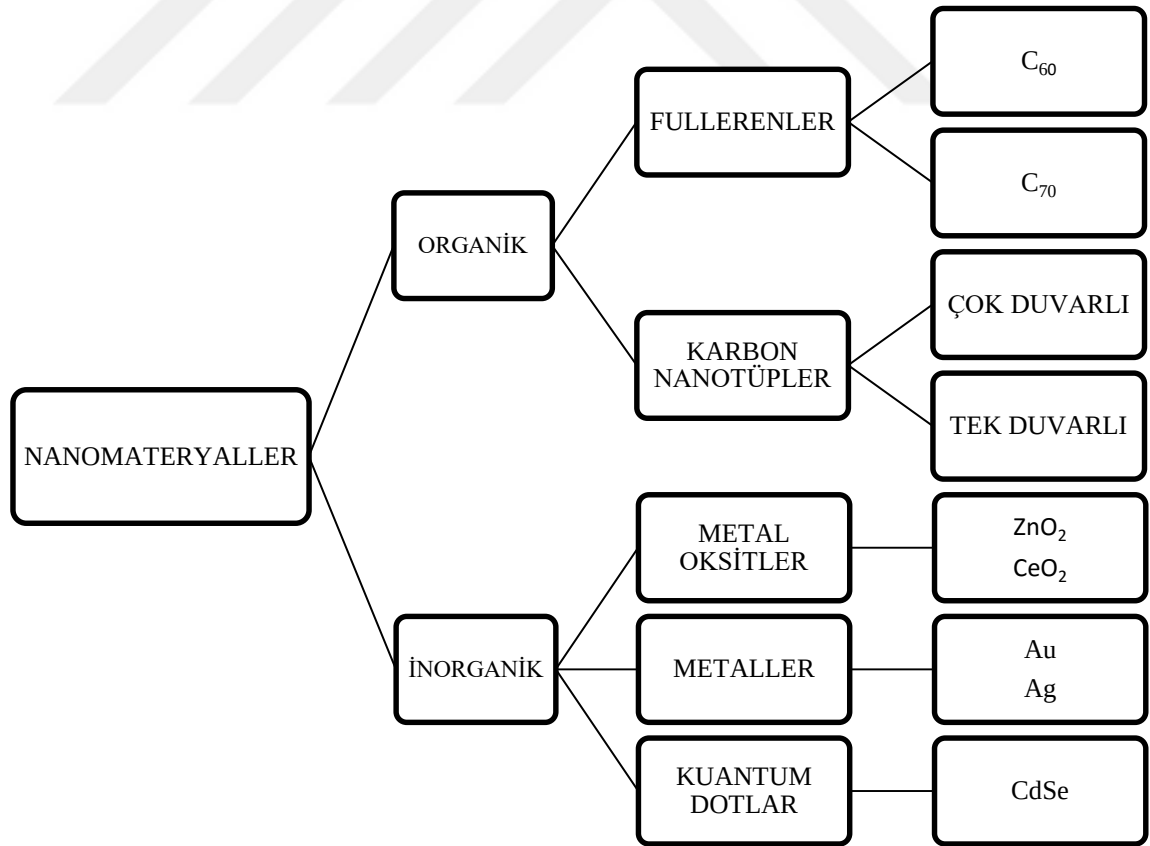
Nano yapıların çok yüksek en/boy oranına sahip olması da dahil olmak üzere bu durumu açıklayan pek çok sebep vardır (Thakkar *et al.* 2009). Nano ölçekteki bu materyallerin sahip olduğu eşsiz özellikleri nanopartiküllerin üretimi, karakterizasyon ve uygulamaları konusunda muazzam bir araştırma faaliyeti ortaya çıkarmıştır. Bazı araştırmacılar daha işlevsel, yeni özelliklere ya da gelişmiş fonksiyonlara sahip olan nanopartiküllerin üretim metodları için doğayı izlemektedir (Schröfel *et al.* 2014).

Uzay mühendisliği, nanoelektronik, tıbbi sağlık hizmetleri ve tüketim malları nanoteknoloji ve nanopartiküllerin potansiyel uygulama alanlarından sayılabilir (Gerber and Lang 2006; Singh *et al.* 2009).

Nanoteknolojinin ortaya çıkışı, potansiyel riskleri konusundaki tartışmaları da beraberinde gündeme getirmiştir (Nohynek *et al.* 2007). Bu yapıların toksikolojik ve

çevresel etkileri tam olarak bilinmediği için, partiküllerin sağlık ve çevreye olan etkileri, nanopartiküllerin hayat döngüsü, insan üzerindeki etkisi ve vücuda girişi, bu yeni malzemelerin güvenli olarak kullanılması için olası risk faktörlerinin daha iyi anlaşılmasını gerektirmektedir (Dreher 2004; Hoet *et al.* 2004; Oberdoörster *et al.* 2005a,b; Gwinn and Vallyathan 2006; Nel *et al.* 2006; NIOSH 2007; Epa 2007; Nasterlack *et al.* 2008).

Nanopartiküller genellikle "organik" ve "inorganik" olarak iki sınıfa ayrılırlar. Organik nanopartiküller karbon nanopartiküllerden oluşurken, inorganik nanopartiküller ise manyetik nanopartikülleri, soy metal nanopartikülleri (örneğin; altın ve gümüş) yarı iletken nanopartikülleri (titanyum oksit ve çiko oksit gibi) kapsar (Moghaddam *et al.* 2015).



Şekil 1.2. Fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre nanomateriyallerin sınıflandırılması (Perelta-Videa *et al.* 2011)

Karbon nanotüpleri (CNTs) neredeyse yirmi yıldan beri bilinen, nispeten yeni nanopartiküllerdendir. Karbon nanotüpleri (CNT'ler) ilk olarak 1952'de Radushkevich ve Lukyanovich tarafından tanımlanırken, 1976'da Oberlin tek (veya çift) duvarlı karbon nanotüpleri gözlemlemiştir. 1991'de ise Iijima C60 karbon molekülü imalatı için yeni bir buharlaştırma metodunun testi sırasında rastgele bir olayla çok duvarlı karbon nanotüpleri (MWNT) hazırlama prosesine ilişkin bilgi elde etmiştir (Prasek *et al.* 2011). Tek duvarlı nanotüp, 1-2 nm'lik bir iç çapa ve çoklu-duvarlı nanotüp (MWCNT) tabakaları arasında 0,36 nm mesafeye ve 2-25 nm çapa sahiptir. Bunların uzunluğu, 1 µm'den birkaç mikrometreye kadar değişir (Reilly 2007). Daha dayanıklı ve stabil yapılar olduğundan kararlı ilaç taşıyıcılarıdır. Antikorlar karbon nanotüplerine floresans ya da radyoaktif etiketleme metodlarıyla konjuge edilerek hücre ya da doku özgüllüğü sağlanabilir. Endositoz ya da hücre zarı yoluyla hücre içine girmektedirler. Karbon nanotüpleri yapısına amonyum veya karboksil grupları eklenerek suda daha çözünür hale getirilebilmektedirler. Peptitlerin, nükleik asitlerin ve diğer ilaç moleküllerinin taşınması için kullanılabilmektedirler (Reilly 2007). Hücre membranı boyunca DNA transportu gerçekleştirebilmelerinden ötürü gen terapisi içeren çalışmalarda kullanılmaktadırlar. Prato ve çalışma grubu yaptıkları çalışmada yalın DNA transferi ile karşılaştırıldığında nanotüpler vasıtasıyla β-galaktosidaz belirteç (marker) geninin daha fazla ekspresyonun gerçekleştiğini göstermişlerdir (Prato *et al.* 2008). Bu, gen aktarımı için kullanılan viral vektörlerle kıyaslandığında immünojenik olmayan bir avantaj sağlar. Küçük interfering RNA (siRNA) ile gen susturma çalışmaları, tümör hücrelerini seçecek şekilde düzenlenen bir kanser terapisi modeli olarak yapılmıştır. İşlevselleştirilmiş tek duvarlı karbon nanotüpleri, hedeflenen gen ekspresyonunu susturmak için siRNA ile birlikte kullanılabilir (Zhang *et al.* 2006). Serbest peptidlerle kıyaslandığı zaman karbon nano tüplerinin daha yüksek bir immünolojik tepki oluşturduğu gözlenmiştir. Bu özellik kullanılarak daha yüksek etkinlik gösteren aşılar üretilir. Ayrıca, nanotüplere bağlanan bileşiklerin, ELISA gibi tanı yöntemlerinin etkinliğini arttırdığı da saptanmıştır. Nano tüpler biyosensör dizaynında da yer alabilmektedirler (Pantarotto *et al.* 2003; Balasubramanian and Burghard 2006).

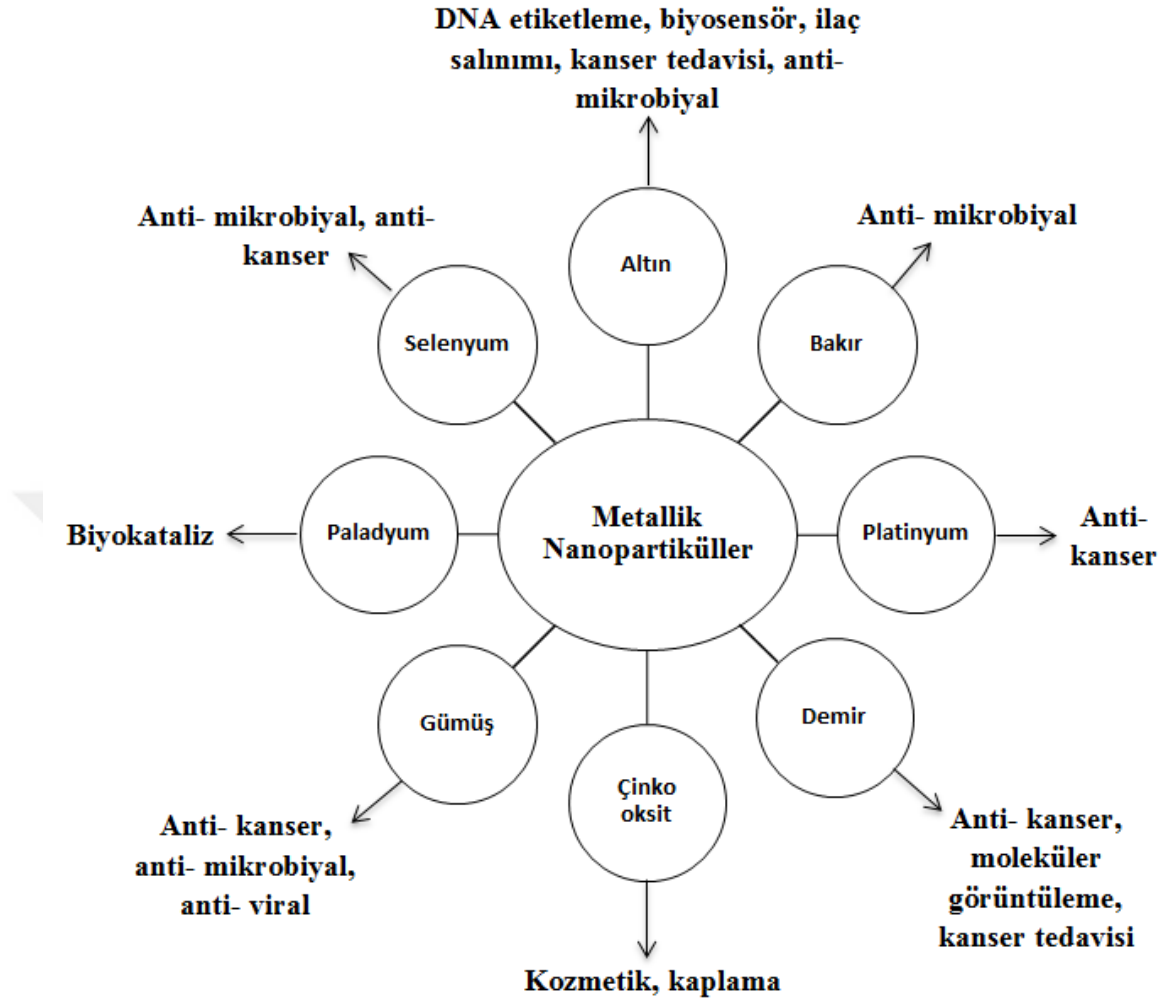
Fulleren; 1985’de keşfedilen, aynı zamanda ‘bukcy balls’ olarak da adlandırılan bir karbon allotropudur (Thakral and Mehta 2006). Kesilmiş yirmi yüzölçü oluşturacak biçimde düzenlemiş 60 karbon atomundan meydana gelen, 7 angstrom çapına sahip form fullerenlerin en yaygın formudur (Kratschmer *et al.* 1990). 20 altıgen ve 12 beşgen içeren bir futbol topunu andıran yapı son derece simetriktir (Taylor *et al.* 1990). Fullerenler antiviral, antibiyotik ve anti kanser ilaç taşıyıcılığı için araştırılmaktadır (Bosi *et al.* 2000; Tegos *et al.* 2005; Mroz *et al.* 2007; Ji *et al.* 2008). Ayrıca çekirdek yapıda çok sayıda konjuge çift bağ bulundurdıklarından serbest radikal temizleyiciler olarak kullanılabilirler. Bu yapılar serbest radikaller tarafından indüklenen mitokondriyel hasara karşı koruyucu özelliğe sahiptirler. Fullerenler ayrıca fotosensitizasyon esnasında reaktif oksijen türevleri üretebilirler. Bu özellik kanser tedavisinde uygulanabilir (Markovic and Trajkovic 2008).

İnorganik nanopartiküller metal oksitler, metaller ve kuantum noktaları kapsayan nanopartiküllerden oluşmaktadır (Peralta-Videa *et al.* 2011).

İnorganik nanopartiküller son zamanlarda katalist, yarı iletken (Kumar *et al.* 2007), optik araç ve biyosensör (Anker *et al.* 2008), kontrast faktörü olarak kullanılmaktadır. Soy metal nanopartiküller gibi daha yüksek kalitede, fonksiyonel olarak esnek yapıya sahip bu biyokütle (bulk) nanopartiküllerinin oluşturulmasında artan bir ilgi mevcuttur (Moghaddam *et al.* 2015).

Pekçok farklı kullanım alanına ve çeşitliliğe sahip olan metalik nanopartiküller nanomateriyallerin önemli bir grubunu oluşturmaktadırlar.

Metalik NP’lerin uygulamaları, çeşitli biyomedikal amaçlardan (örneğin, antimikrobiyal kaplamalar, tıbbi görüntüleme ve ilaç verme) katalitik su arıtımı ve çevresel sensörlere kadar değişmektedir (Schrofel *et al.* 2014) Biyomedikalde metalik NP’lerin uygulama alanları ve bu alandaki büyümenin devamı için güçlü bir potansiyel bulunmaktadır.



Şekil 1.3. Bazı metal nanopartiküller ve biyoteknolojideki uygulamaları (Mittal *et al.* 2013)

Metallik NP'ler, anti-mikrobiyal işlevler için yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, gümüş NP'ler (AgNPs) yara örtüleri, kemik dolgu maddesi ve implantların yapımında kullanılmaktadır (Chaloupka *et al.* 2010). Altın (AuNPs) nanopartiküller tıbbi olarak uygun optik ve anti kanser özelliklere sahiptir. Manyetik nanopartiküller hedefli ilaç salınımı ve hipertermi uygulamalarında da umut vaat etmektedir (Schrofel *et al.* 2014). Titanyum, bakır ve özellikle altın ve gümüş gibi farklı metallik nanopartiküller anti-mikrobiyal, antiviral ve antifungal özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Ria *et al.* 2009). Bu metallik NP'ler gıda işlemede katkı maddesi, giyim ve tıbbi cihazlarda mikrop öldürücü özelliklerinden dolayı aktif olarak araştırılmaktadır (Jones and Hoek 2010). Bir nanopartikül *in vivo* olarak kullanıldığında normal dokularla uyumluluk

göstermesi önemli bir parametredir. Moulton ve arkadaşları çay yaprağı ekstraktlarıyla sentezledikleri AgNPs'inin insan keratinositleriyle muamele ettiklerinde hücre canlılığı ve zar bütünlüğünü değerlendirmek için mitokondriyal fonksiyonlarını değerlendirmişler ve sonuçlarda bu nanomateriyallerin toksik olmadığını, gelecekteki in vivo uygulamalarda umut vaadedici olduğunu belirtmişlerdir (Moulton *et al.* 2010). Mevcut çalışmalarda sentezi gerçekleştirilmiş NP'ler için çeşitli kanser hücre hatlarına karşı sitotoksitite çalışmaları yapılmıştır. İnsan meme kanser hücre hatlarından olan HBL-100 hücreleri sentezlenen AuNPs ile muamale edildiğinde bu hücrelerin apoptoza uğradıkları dikkat çekmiştir (Amarnath *et al.* 2011).

Manyetozomlar, bazı manyetotaktik bakteri türlerinde bulunan doğal olarak oluşan metalik nanopartiküllerdir. Bu zincirler, yaklaşık 20 manyetit kristallerinin lipit çift katmanı ile çevrenmesiyle oluşan zarsı prokaryotik yapılardır. Sun ve arkadaşları çalışmalarında bakteriyel manyetozomların ilaç salınım sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanıldığını göstermişlerdir (Sun *et al.* 2008).

Metalik nanopartiküller tıpta tanı ve teşhis alanında da önemli uygulamalara sahiptirler. Yapılar peroksit ve glikoz da dahil olmak üzere tıbbi olarak ilgili içerikleri teşhis edebilen kimyasal sensörlere dahil edilmiştir. Mubarak Ali ve arkadaşları yaptıkları çalışmada biyosentezledikleri AgNPs'inin genetik hastalıkların teşhisinde kullanım olanağı sunduğunu desteklemektedirler (Schrofel *et al.* 2014).

Metalik nanopartiküllerin optik özellikleri yüzyıllardır ilgi çekmektedir. Metalik NP'lerle ilişkili optik özellikler arasında yüksek veya düşük kırılma indisi, yüksek çözünürlük, yeni fotoluminesans özellikleri, fotonik kristaller ve plazmon rezonansı bulunmaktadır (Iskandar 2009). Nanofotonik çalışmalarda ışık kendinden daha küçük partiküllerle etkileşime girerek lokalize yüzey plazmon rezonansı ve boyuta bağlı yarı iletken bant aralığı gibi yeni yaklaşımlara yol açmıştır. Sentezlenmiş pek çok NP için literatürde optik özellikler rapor edilmiştir (Talapin *et al.* 2009). Fayaz sentezlediği metalik AgNP'lerin mavi turuncu ışık emisyonu gösterdiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada fungal orjinli, 320-520 nm arasında fotoluminesans özellik gösteren

nanomateriyallerin gelecek uygulamalarda işaretleme ve görüntüleme aracı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Modern lazer tıbbının en büyük problemi uygulanan ışınların operasyon bölgesi dışındaki önemli dokulara ulaşması ve istenmeyen durumların ortaya çıkmasıdır. Optik radyasyon sınırlaması olarak adlandırılan bir yöntemle ışınlanmış dokuların üzerine radyasyonun geri dönüşümlü olarak karartılmasını sağlayan boyalar yerleştirilerek bu durum çözülebilmektedir (Podgaetsky *et al.* 2004). Metalik nanopartiküller çeşitli kombinasyonlarla uygulandığı zaman optik radyasyon işlemini başarıyla gerçekleştirebilmektedirler. *Bacillus selenitireducens* kullanılarak hazırlanan bir nano çubuk olan tellirium NP'ler (TeNPs) organik bir kimyasal taşıyıcı ile kombine edildiğinde 532 ve 1064 nm'de mükemmel optik sınırlama gerçekleştiren yeni bir nanokompozit oluşturmaktadır. Bir diğer çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* ve *Escherichia coli*'de ekstrasellüler olarak Kadminyum tellurid kuantum dotlar (CdTeQD) sentezlenmiş ve yapıların büyüklüğe bağlı optik özellikleri değerlendirilmiştir. CdTeQDs nispeten küçük, suda yüksek çözünürlüğe sahip ve proteinle kaplı yapılardır. 488'den 551 nm'ye kadar fotoluminesens emisyonu sahip spektrofourometri ve UV-görünür spektroskopisiyle optik özellikler çalışılmıştır. Folik asitle fonksiyonel hale getirilen CdTeQDs in vitroda kanser hücrelerinin görüntülenmesi için kullanılmıştır (Bao *et al.* 2010). Bu çalışma QDs'ın biyogörüntüleme ve işaretlemede kullanılabileceği açıkça göstermiştir.

Ayrıca metalik nanopartiküller kanama bozukluğu ve diyabet gibi hastalıkların tedavisinde potansiyel uygulamaya sahiptir.

Metalik nanopartiküller çevresel remediasyon uygulamalarında biyolojik iyileştirme, biyoremediyasyon, metal biyosorpsiyonu gibi farklı uygulamalara sahiptirler. İndirgenme- yükseltgenme prosesleri genellikle hücresel metabolizmalar için kullanılır. Dolayısıyla diğer kimyasal bileşikleri indirgeyen ya da yükseltgeyen biyomoleküller canlı hücrelerde bol miktarda bulunmaktadır. Pek çok mikroorganizma çözülmeyen metalleri çevreden detoksifiye etmek amacıyla konsantre edebilmekte ve bu metalleri bağlayabilmektedir. Diğer biyolojik prosesler hatta cansız biyokütle bile elektron vericisinin oksidasyonu ile metal redüksiyonunu basitçe birleştirmektedir. Hücresel

metal redüksiyon ürünleri nanoyapılar olduğu için, çözeltilerdeki metallerin biyoremediyasyonu ve metalik nanopartiküllerin sentezi aslında yakından ilişkili proseslerdir (Hennebel *et al.* 2009). Alg, fungi, bakteri, maya biyokütlesi bazı biyolojik atık ve biyopolimerlerle birlikte değerli metalleri bağladığı ve konsantre ettiği bilinmektedir. Biyosorpsiyon olarak adlandırılan bu işlemler, çeşitli çözülmüş metallerin sulu çözeltiden geri kazanılması için kullanılan yaygın kimyasal yöntemlere göre maliyet açısından bir alternatif oluşturabilir. Metalleri mikroplarla bağlama ve konsantre etme mekanizmaları, doğal ortamlarda kapsamlı olarak incelenmiştir (Das 2010). Chakraborty ve arkadaşları siyanobakteri ve alglerin Au'yı bağlayıp konsantre edebileceğini ve AuNP'leri oluşturabileceğini göstermişlerdir.

İçme sularında doğal olarak bulunan arsenik (As) konsantrasyonunun toksik seviyelerde olması büyük bir sağlık problemidir. Selvakumar ve arkadaşları As (V) uzaklaştırılmasında bir AgNP sorbentinin geliştirilmesini umut verici bir çözüm olarak nitelendirmişlerdir. Çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae*'nin yeni bir suşunun indirgeme kabiliyeti, metali ayırmak için kullanılmıştır (Selvakumar *et al.* 2011). Son olarak ağır metale dirençli bir *Bacillus* suşunun manganezin remediasyonu ile eş zamanlı olarak manganoksit nanopartikülleri (MnO₂NPs) oluşturduğunu çalışmalarında Sinha ve arkadaşları göstermişlerdir (Sinha *et al.* 2011).

Ağırlığa göre geniş yüzey alanına sahip olmalarından dolayı, metalik NP'ler katalizde ve özellikle heterojen kataliz uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bunlar yüksek aktivite ve kararlılığa sahip olan seçici yapılardır. Metalik NPs'in katalizör olarak kullanılmasındaki en büyük dezavantajı ise maliyettir. Altın, platin ve paladyum da dahil olmak üzere katalizör metaller çok pahalıdır. Biyosentetik yaklaşımlar, değerli metalleri içeren atıkların biyosorpsiyonu yoluyla katalitik olarak aktif NP'ler üretilmesi temeline dayandırılmaktadır. Metalik NP'ler daha sonra katalitik dehalojenasyon, organik oksidasyon veya metal indirgemesi için kullanılabilir. Çevresel iyileştirme uygulamalarının çoğunda biyosentezi gerçekleştirilen katalizör paladyum (Pd)'dur (De Corte *et al.* 2012; Hennebel *et al.* 2012).

Çeşitli organizmaların değerli metal tuzlarını indirgeme, absorplama ve NP oluşturabilme özelliği, yakıt hücre veriminin çeşitli yönlerini geliştirmek için kullanılmıştır. Biyojenik NP'ler, H₂ yakıtını üretmek, yakıtın kimyasal oksidasyonunu katalize etmek ve güç geri kazanımı geliştirmek için kullanılmıştır. Birkaç araştırmacı , hipofosfitten katalitik H₂ üretimi için *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas putida* ve *Paracoccus denitrificans* bakteri suşlarından PdNPs'inin biyosentezini gerçekleştirmiştir (Bunge *et al.* 2010).

NP'ler, kimyasal reaksiyonları katalize etmek için yakıt hücrelerine dahil edilmiş ve elektrot yapımında da kullanılmıştır. *Desulfovibrio desulfuricans* kullanılarak platinyum (Pt) ve paladyum (Pd) nanopartikülleri üretilmiş ve kurutulan biyomateryal ticari bir yakıt hücresi içinde karbon kağıdı üretmek için aktif karbon tozu le karıştırılmıştır (Yong *et al.* 2002). Orozco ve arkadaşları iki farklı *E.coli* suşu kullanarak sentezledikleri PdNPs'nin yakıt hücresinde hem fermentasyon yoluyla hidrojen üretimi hem de H₂'nin enerjiye dönüştürebilme özelliğini çalışmışlardır (Orozco *et al.* 2010).

Temel elektrokimyasal olaylar nano bilim ve nanoteknoloji sayesinde daha iyi anlaşılabilir. Nanopartiküllerin sunduğu özellikler sayesinde sensörlerin ve elektrodların performansı geliştirilebilir ya da değiştirilebilir. Sentezi gerçekleştirilen metalik nanopartiküller için yüzey kimyası, biyoyumluluk ve elektrik iletkenliği gibi özellikleri detaylı olarak çalışılmıştır. (Pingarron *et al.* 2008) Nanoelektrokimyasal uygulamalarda AuNPs'i özel bir yer tutmaktadır. Çünkü bu materyaller biyomoleküllerin biyolojik aktivitelerini değiştirmeden immobilizasyonu için uygun substrat olma, elektrot yüzeyi ve biyomolekül arasında mükemmel elektron transferi sağlama gibi avantajlara sahiptirler. Bazı çalışmalarda elektrot yapımında kullanılan nanopartiküllerin elektrik iletim özellikleri incelenmiştir (Wang *et al.* 2009). Metalik nanopartiküllerin sahip olduğu eşsiz optik özellikleri kimyasal algılama için de kullanılabilir. *Solanum lycopersicum* bitki ekstraktı kullanılarak Ag ve Au metalleri indirgenmiştir. Sudaki Fe⁺³ ve Cu⁺⁴ gibi metal iyonlarının yüzey plazmon rezonans spektrumunda neden oldukları ince değişikliklerin algılanması yoluyla oluşturulan nanoyapılar saptanmıştır (Bindhu *et al.* 2014).

Manyetik nanopartiküllerin özellikleri ve ürünleri özel bir amaca uygun olacak şekilde manipüle ya da optimize edilebilir. Kundu ve arkadaşları Zn (çinko) ve Ni (nikel) tuzlarının varlığında magnetozomların boyut, sayı ve sıralanışlarındaki değişiklikleri tanımlarken; diğer araştırmacılar *Thermoanaerobacter* TOR-39 suşu ile çinko-ferrit NPs'inin oluşumunu göstermişlerdir (Kundu *et al.* 2009; Yeary *et al.* 2011).

Kuantum dotlar (QDs) 2-10 nm aralığında değişen boyutlara sahip, ışıkla uyarıldığı zaman floresans özellik gösteren nano kristal yapılardandır. QDs inorganik bir çekirdeğe ve biyomoleküllerin konjuge edildiği organik kaplamaya sahip olan, boyutlarına bağlı olarak değişen renklerdeki nanopartiküllerdir. Kuantum dotların biyomoleküllerle konjugasyonu çeşitli biyomarkırların hedeflenmesi için modüle edilebilir. Kanserin başlangıç noktasını ve fazını belirlemek için kullanılan kuantum dotlar melanoma, meme, akciğer, gastrointestinal kanseri gibi malignant tümörlere uygulanabilmektedir (Iga *et al.* 2007).

Nanoseller West and Halas tarafından hedefe yönelik tedavinin yeni modeli olarak geliştirilmiştir. Nanosheller bir çekirdek ve onun etrafını saran ince bir metalik kabuktan oluşur. Partiküller immünojenik metodlar kullanılarak istenen dokuya hedeflenebilmektedirler. Hirsh ve arkadaşları nanoshellerin termo özelliklerini göstermek için vücudu bir dış kaynağa maruz bırakıp kızıl ötesi ışınları absorblayan shells kullanmışlardır (Hirsch *et al.* 2003). Nanoshellerler elektromanyetik spektrumun NIR bölgesine maruz bırakıldığında ısınır ve dokunun bozulmasına neden olurlar. Bu durum *in vivo* ve *in vitro* deneylerde SK-BR-3 geninin ekspresyonunu gerçekleştiren insan meme kanseri hücresi HER2 ile çalışılmıştır. Nonspesifik IgG, PEG ve NIR ablasyonlu nanoshellerle tedavi edildikten sonra bile kontrol hücreleri canlılığını kaybetmemiştir (Lowery *et al.* 2006).

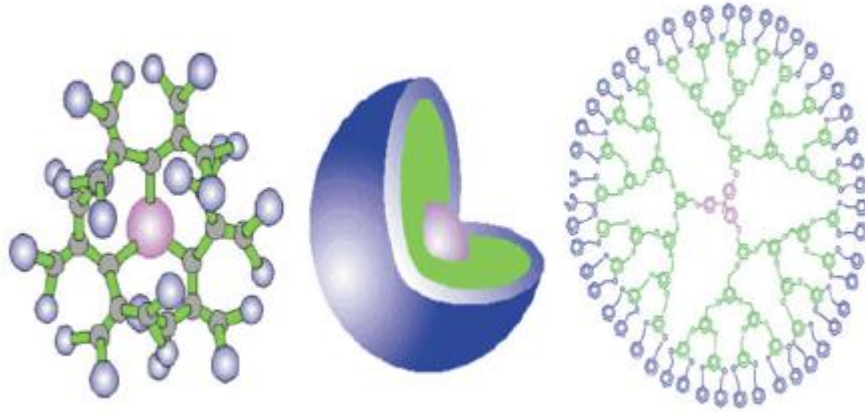
Kanser teröpatik ilaçlar 'nanobubbles' olarak da adlandırılan nano ölçekteki kabarcıkların içine yerleştirilebilir. Nanobubblelar oda sıcaklığında kararlıdır. Fizyolojik olarak ısıtıldığında bubblelar birleşir ve mikro kabarcıklar oluşur. Tümörlü dokuya hedeflenme ve ultrasonografi altında kontrollü ilaç salınımı gibi avantajları

vardır. Lipozomal nanobubblelar ve mikrobubbleların gen terapisi için etkili nonviral vektörler olarak rolleri araştırılmaktadır. Nanobubblelar ultrasonografi ile kombinlendiği zaman hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda gelişmiş gen transferi göstermektedirler (Klibanov 2006; Gao *et al.* 2008; Negishi *et al.* 2008; Suzuki *et al.* 2008).

Paramanyetik nanopartiküller tanı ve tedavi amaçlı araştırılıp çalışılmaktadırlar. Teşhiste paramanyetik demir oksit nanopartiküller manyetik rezonans görüntüleme tekniğinde kontrast ajanı olarak kullanılmaktadır. Geleneksel manyetik ajanlara kıyasla daha yüksek duyarlılık göstermektedirler. Bu nano yapılarla spesifik organ ve dokuların belirlenmesi mümkün kılınır (Cuenca *et al.* 2006). MRI görüntülemede demir oksit NPs'in kullanımı makrofajlar tarafından internalizasyon ve özgülük gibi sınırlamalar taşır (Peng *et al.* 2008). Paramanyetik nanopartiküllerin meme kanser hücrelerinde eksprese edilen HER2 ye spesifik antikörlerle konjugasyonu MRI görüntüleme tekniğinde kullanılarak tümör dokusu teşhis edilebilmektedir.

Nanozomlar, Raoul Kopelman ve grubunun tıbbi uygulamalarda hedefleme, tanı ve tedavi gibi çeşitli yaklaşımları birleştirmeyi hedefleyerek geliştirdikleri yapılardır. Nanozomlar özellikle merkezi sinir sistemindeki çeşitli tümörlerin tedavisi için geliştirilmektedir. Silika ile kaplanmış demir oksit nanopartikülleri polietilen glikon ile kaplanmış ve gadolinyum gibi hedefe spesifik antikör ve kontrast madde bağlanmıştır. Beyin dokusundaki tümöre spesifik hale getirmek için kullanılan hedefleme , partikülün hedef dokuya özel olarak bağlanmasına yardım ederken; kullanılan kontrast maddeler ise MRI görüntülemede daha iyi sonuçlar doğurmaktadır (Xu *et al.* 2003).

Dendrimerler; 1-10 nm boyutunda, çok sayıda fonksiyonel yan gruba sahip, küresel yapıdaki nanomoleküllerdir. Küresel şekli, her biri bir dal noktası oluşturan tüm bağlarının düzenli, katmanlı, dallanma desenindeki tekrar birimleriyle merkezi bir çekirdekten veya odak noktasından radyal olarak konumlanmasıyla ortaya çıkan bir iç yapıdır (Tomalia *et al.* 1985; Newkome *et al.* 1986; Fréchet *et al.* 2001).



Şekil 1.4. Bir dendrimerin genel şekli (Fréchet 2001)

Dendrimerler nano boyutu, globüler şekli ve çoklu karakter özelliklerinden ötürü pek çok uygulamada kullanım olanağı sağlamaktadırlar. Dendritik moleküller eşsiz özellikleriyle nano cihazlar, tek moleküllu nano reaktörler, antenler, optoelektronik, enerji toplama ve iletim için fonksiyonel diziler, teröpatik ya da tanı uygulamaları için nano boyutlu taşıyıcılar, moleküler işaretleme ve görüntüleme gibi alanlarda kullanılmaktadır (Fréchet 2003).

Lipozomlar, ilaç salınım cihazlarının orjinal modelleri olarak 1960'da geliştirilmiştir. Bunlar sıvı bir iç bölge ve etrafını saran çift zarlı lipit membrandan oluşan küresel partiküllerdir. Tek ya da çok katmanlı olabilmektedirler. Etkili ilaç salınım sistemleri olarak kullanılmaktadırlar. Geleneksel metodlarla kıyaslandığı zaman lipozomal ilaç salınım sistemleriyle kanser kemoteröpatik ilaçları ve toksik diğer kimyasal ilaçların salınımı daha etkin ve güvenli şekilde gerçekleşmektedir. Lipozomların en büyük sınırlandırması bağırsak makrofajları tarafından hızlı parçalanma ve temizlenmedir. Bu yüzden lipozomlarla taşınan ilaçların etki süresi kısadır (McCormack and Gregoriadis 1994). Gen terapisi, kistik fibrozis, diyabet de dahil olmak üzere pek çok genetik bozukluğun tedavisinde yeni bir yaklaşım modelidir (Davis and Cooper 2007; Niu *et al.* 2008). Genetik materyalin salınımda kullanılan viral vektörler istenmeyen bir immün yanıt ve güven kaygısı oluşturur. Bu gibi durumlardan ötürü naopartikül temelli gen terapisi gibi yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. 100 nm'den daha küçük boyuta

sahip lipozomlar hücrelere genetik materyalin salınımı amacıyla gen terapisinde kullanılabilmektedir.

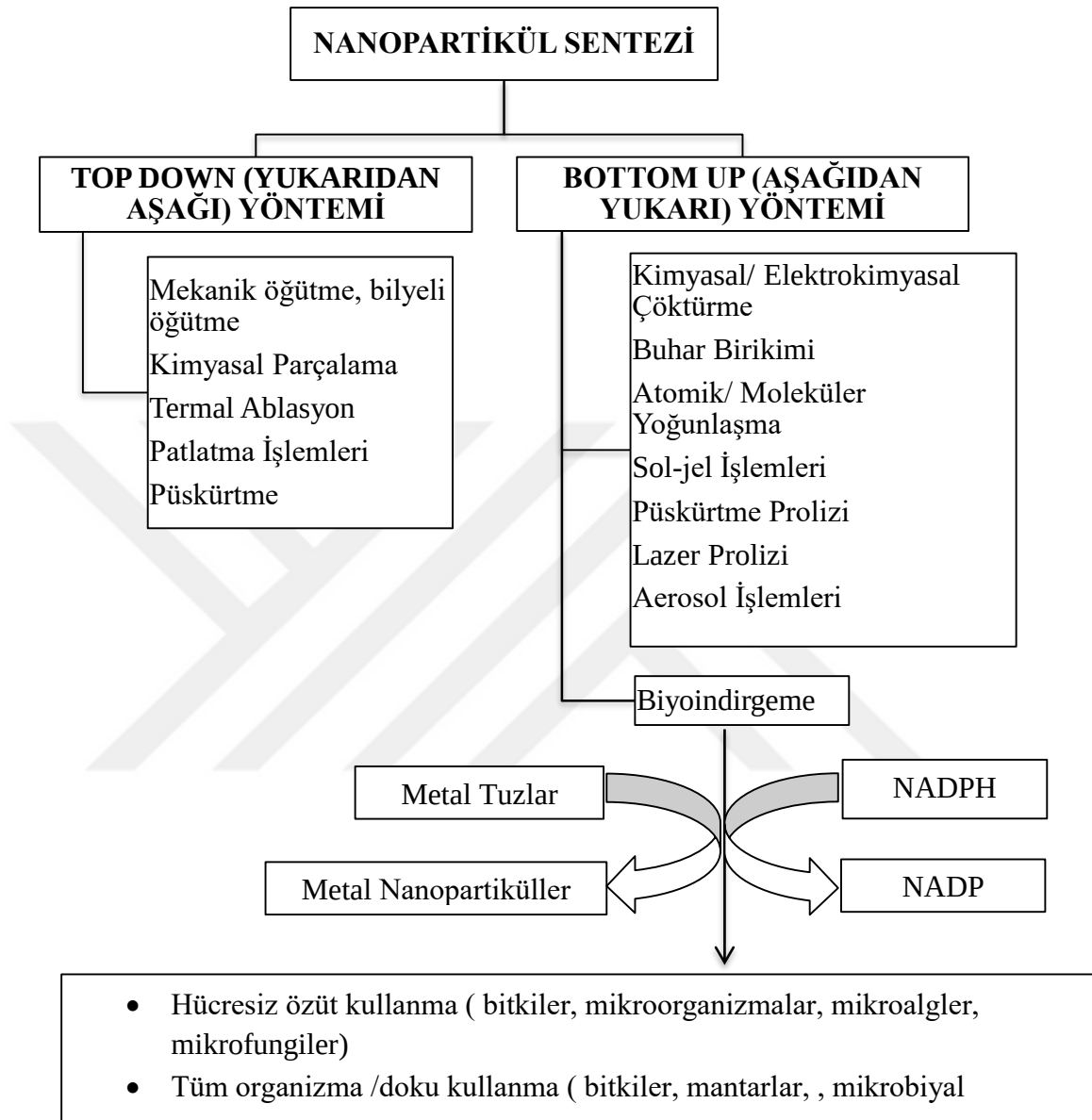
Nanoporlar Desai ve Ferrari tarafından 1997’de tasarlanan 20 nm çapında oldukça gözenekli partiküllerdir. Bu yoğun porlar oksijen, glikoz, insülin gibi maddelerin geçişine izin verirken; immünoglobülinler ve hücrelerin geçişine izin vermez (Desai *et al.* 1998). Nanoporlar transplantasyonu gerçekleştiren dokuyu alıcı immün sisteminden korumak için bir araç olarak kullanılabilmektedir (Leoni and Desai 2001).

Respirositler; yani hipotetik olarak yapay kırmızı kan hücreleri, kırmızı kan hücresi olarak işlev görebilen fakat çok daha etkin olan nano cihazlardır (Rapoport *et al.* 2007). Bunlar doğal kırmızı kan hücrelerine kıyasla birim hacim başına 236 kat daha fazla oksijen desteği sağlama kapasitesine sahiptir. Çevresel değişiklikleri algılayabilen yüzeylerindeki sensörler sayesinde oksijen giriş çıkışını düzenlemektedirler.

Mikrobivorlar; kandaki mikropları yaklamak için tasarlanmış, teorik olarak dolaşım sistemindeki beyaz kan hücreleridir (Freitas 2005). Normal kan hücrelerinden daha yüksek fagositoz etkinliğine sahip olmaları beklenmektedir.

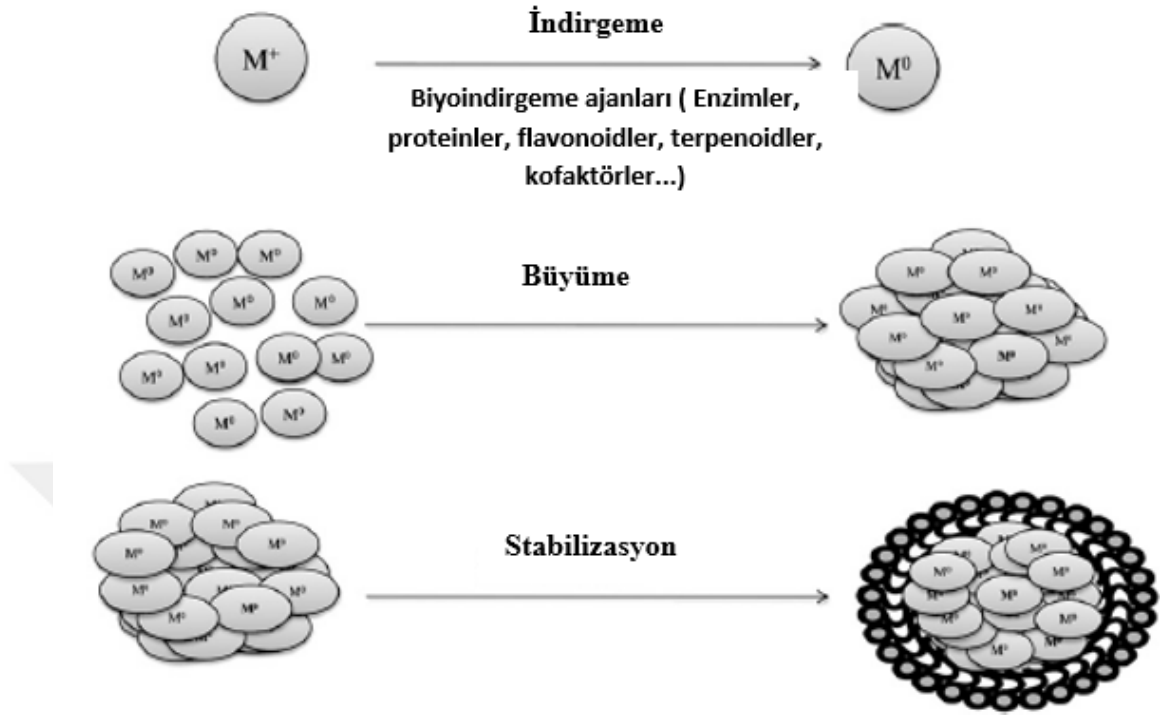
Doğal ya da yapay nanomateriyallerin uygun fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu onların esas özelliklerini belirlemek için önemlidir (Ju-nam and Lead 2008). Faz saflığı, parçacık ve küme boyutu, yüzey kimyası, çözünürlük, yük ve kristallik, homojenlik, kararlılık, reaktivite, biyodürlenabilirlik nanoyapıların farklı ortamlardaki potansiyel uygulamalarını aydınlatmada gereklidir (Kahru and Dubourguier 2009). Mevcut durumda çeşitli alet ve teknikler partikül karakterizasyonu için kullanılmaktadır (Stone *et al.* 2010). Nanopartiküller genellikle boyut, şekil, yüzey alanı ve dağılım gibi özellikleriyle karakterize edilmektedir (Jiang *et al.* 2009). Bu özelliklerin homojenitesi pek çok uygulama için önemlidir. Partiküllerin karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılan teknikler; UV-görünür spektrofotometri, dinamik ışık saçılımı (DLS), taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD) ve enerji

dağılımlı spektroskopi (EDS) şeklinde sıralanabilir (Sepeur 2008; Shahverdi *et al.* 2011). UV- görünür spektrofotometri yaygın olarak kullanılan tekniklerdendir (Pal *et al.* 2007). Genellikle 300-800 nm aralığındaki ışık dalgalarıyla 2-100 nm boyutuna sahip metal nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılmaktadır (Feldheim and Foss 2002). 400-450 nm'de gümüş (Huang and Yang 2004) ve 500-550 nm arasındaki dalga boylarında ise altın nanopartiküller (Shankar *et al.* 2004) spektrofotometrik absorpsiyon ölçümleri ile karakterize edilebilmektedir. Dinamik ışık saçılımı (DLS) sıvıda süspanse olarak bulunan nanopartiküllerin yüzey enerjisi ve boyut dağılımını karakterize etmek için kullanılmaktadır (Jiang *et al.* 2009). Karakterizasyonda yaygın olarak kullanılan bir diğer yöntem elektron mikroskobudur (Cao 2004). Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) nanometreden mikrometre boyutuna kadar morfolojik karakterizasyon için kullanılır (Schaffer *et al.* 2009). TEM, SEM'e kıyasla 1000 kat daha yüksek çözünürlüğe sahiptir (Eppler *et al.* 2000) FTIR yüzey kimyasının tanımlanması için tercih edilmektedir (Chithrani *et al.* 2006). Nanopartiküllerin yüzeyine yapışmış fonksiyonel organik gruplar (örneğin; karboksil, hidroksil vb.) ve diğer yüzey kimyasal kalıntıları FTIR kullanılarak tespit edilebilir. XRD nanopartiküllerin kristal yapısının karakterizasyonu ve faz identifikasyonunda tercih edilmektedir (Sun *et al.* 2000). X ışınları materyale nüfuz eder ve oluşan kırınım modeli standartlarla karşılaştırılarak yapısal bilgiler sağlanır. Yaygın olarak enerji dağılımlı spektroskopi (EDS) kullanılarak metal nanoparçacıkların elementel bileşimi belirlenmektedir (Strasser *et al.* 2010). Parçacık yüzey morfolojisini üç boyutlu ve yüksek çözünürlüklü olarak ölçmek için atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılır. AFM hava veya sıvı ortamda uygulanır ve NP'ler ile AFM ucu arasındaki Van der Waals etkileşimine dayanır (Ju-nam and Lead 2008). Nanopartiküllerin sentez yöntemleri genel olarak "top down (yukarıdan aşağı)" ve "bottom up (aşağıdan yukarı)" yaklaşımları olarak iki kategoriye ayrılabilir (Sepeur 2008). Top-down sentezinde uygun başlangıç materyalinin boyutu küçültülerek partikül üretilir (Meyers *et al.* 2006). Boyut küçültme çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Yukarıdan aşağıya doğru üretim yöntemleri, ürünün yüzey yapısında bir takım hatalara sebep olur. Nanoparçacıkların yüzey kimyası ve diğer fiziksel özellikleri partikülün yüzey yapısına bağlı olduğundan bu yöntem büyük sınırlamaya sebep olur (Thakkar *et al.* 2010).



Şekil 1 .5. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri (Mittal *et al.* 2013)

Bottom up sentezinde nanopartiküller atom, molekül gibi daha küçük partiküllerin katılımıyla oluşur (Mukherjee *et al.* 2011). İlk aşamada nanopartikülün yapıtaşları olan nanoyapı blokları oluşturulur. Daha sonra partikülün oluşturulması yolunda bu yapılar birleştirilir (Thakkar *et al.* 2010). Bottom up sentezi çoğunlukla biyolojik ve kimyasal metodlara dayanır.



Şekil 1.6. Bottom up metoduyla nanopartikül sentezi (Mittal *et al.* 2013)

Biyolojik sentez metodlarının yaygın olarak mikroorganizmalara dayandığı pek çok çalışmada bildirilmiştir (Sastry *et al.* 2003; Gericke and Pinches 2006; Mohanpuria *et al.* 2008; Korbekandi *et al.* 2009; Sanghi and Verma 2010; Kaler *et al.* 2011; Li *et al.* 2011; Luangpipat *et al.* 2011; Dhillon *et al.* 2012). Mikrobiyal sentez kolaylıkla ölçülebilir, çevreye zararsızdır ve tıbbi uygulamalar için mikrobiyal sentez ürünlerinin kullanımı uygundur. Ancak mikroorganizmaların üretimi genellikle bitki özütlerinin üretiminden daha pahalıdır. Bitki ekstraktlarıyla partikül sentezi, ekstraktların oda sıcaklığında metal tuz solüsyonlarıyla basitçe karıştırılmasına dayanmaktadır. Reaksiyon bir kaç dakika içinde tamamlanır. Altın, gümüş ve pekçok diğer metal partiküllerin sentezi bu yöntemle gerçekleştirilmektedir (Li *et al.* 2011).

Bitkilerle partikül sentezinde yaşayan bitkilerle veya bitki özütünün tümüyle gerçekleştirilebileceği de rapor edilmiştir (Gardea-Torresdey *et al.* 2003; Park *et al.* 2011).

Artan endüstrileşme ve şehirleşme zararlı ve istenmeyen birçok madde meydana getirerek çevreye zarar vermektedir. Mikroorganizmalar su ve toprak da dahil olmak üzere çevre kirliliğinin pek çoğuna maruz kalmaktadırlar. Bu kirleticiler (ki bunların pek çoğu metal iyonlarıdır) biyobozunmaz ve kalıcıdır. Doğada toksistiteye sebep olurlar ve mikrobiyal büyümeyi inhibe ederler.

Buna rağmen, yüksek metal iyonu konsantrasyonunda bile mikroorganizmalar, metal stresle savaşılabilmek yetenekleri nedeniyle hayatta kalabilir ve büyüyebilirler. Akış sistemleri; indirgeme veya oksidasyon yoluyla çözünürlük ve toksisitenin değiştirilmesi; biyosorpsiyon; biyoakümülyasyon; ekstraselüler kompleksleşme veya metallerin çökmesi ve spesifik metal taşıma sistemlerinin olması gibi sistemler içerirler (Beveridge *et al.* 1997; Bruins *et al.* 2000) Bu metal-mikrop etkileşimleri biyoremediyasyon, biyomineralizasyon, biyosüzme ve mikrobiyal korezyon alanları da dahil olmak üzere farklı biyoteknolojik uygulamalarda önemli bir role sahiptir. Bununla birlikte, sadece kısa bir süre önce mikroorganizmaların kadmiyum sülfür, altın ve gümüş gibi metalik nanopartiküllerin sentezi için potansiyel bir biyofabrikası olduğu keşfedilmiştir. Mikroorganizmalar çevreye zararlı ve toksik olan bu metalleri sahip oldukları mekanizmalarla doğal kimyasal yapılarını değiştirerek nanopartikül formuna getirirler ve böylece toksik olmaktan çıkarırlar (Pantidos and Horsfall 2014). Metalik nanopartiküllerin sentezi için fiziksel ve kimyasal birkaç metod olmasına rağmen, daha basit, ekonomik ve çevre dostu bir sentez teknolojisi geliştirmek amacıyla bu alandaki araştırmacılar biyolojik sistemlere yönelmiştir (Bhainsa and D'Souza 2006).

Nanopartiküllerin sentezinde en sık kimyasal teknikler kullanılmaktadır. Bu yöntemler düşük maliyette ve büyük hacimlerde çalışma imkanı sunar. Fakat metodlarda toksik çözücüler kullanılmakta ve kullanılan kimyasallardan kaynaklanabilecek kontaminasyonlar sentezlenen partiküllerin tıbbi uygulamadaki potansiyel kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır (Li *et al.* 2011). Daha yaygın uygulamalar için toksik olmayan yeni sentez metodlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da potansiyel olarak biyolojik teknikler kullanılarak başarılabilmektedir (Pantidos and Horsfall 2014).

Bir çok bakteri, fungi ve bitki metalik nanopartikül sentezi için çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Suresh *et al.* 2004; Bhainsa and D’Souza 2006; Song and Kim 2009). Nanopartiküllerin biyolojik sentezinde intrasellüler ya da ekstrasellüler sentez, büyüme sıcaklığı, inkübasyon süresi, sentezlenen ürünün saflaştırma oranı ve kolaylığı gibi parametreler önemli rol oynamaktadır. Doğru biyolojik sentez metodunu belirlemek bir takım değişkenlere bağlı olabilir. Mikroorganizmalar az sayıda metale karşı direnç gösterebildikleri için bu değişkenlerden en önemlisi araştırılan metalik partikülün tipidir. Fakat bilim adamları aynı mikroorganizmada birçok partikülün sentezini gerçekleştirmek adına biyolojik sentez metodlarına yoğunlaşmışlardır (Edmundson *et al.* 2014). Sentezin diğer bir tipi olan biyosorbsiyonda su veya toprak örneğindeki metal iyonları hücre duvarı yoluyla mikroorganizmaya bağlanır. Belli bakteri, fungi ve bitkiler metal iyonlarını bağlayan modifiye hücre duvarı ya da peptidlere sahiptir. Böylece metal iyonlarından nanopartikül formunda daha kararlı kompleksler oluştururlar (Yong *et al.* 2002; Deplanche *et al.* 2010).

Metallik nanopartiküller pek çok alanda potansiyel uygulamaya sahip olmasından ötürü her geçen gün artan bir öneme sahiptir. Bu nedenle metalik nanopartiküllerin çevre dostu ve ucuz sentezi araştırılmaktadır. Pek çok mikroorganizma partikül sentezi gerçekleştirme yeteneğindedir. İstenen partikül için optimum şartlara sahip olan sentez metodunun geliştirilmesi gerekmektedir.

Araştırmacılar metalik nanopartiküllerin sentezi için çoğunlukla prokaryotlara odaklanmaktadır. Ekstrem çevre şartlarına adapte olabilmelerinden dolayı , bakteriler çalışmalar için iyi bir seçimdir. Ayrıca ucuz besiyerinde kültüre alınabilme, manipüle edilebilme ve hızlı büyüme gibi önemli avantajlara sahiptirler. Sıcaklık, oksijen oranı, inkübasyon gibi büyüme şartları kolaylıkla kontrol edilebilir. He ve arkadaşları kültür ortamındaki değişen pH’ın farklı boyut ve şekillere sahip nanopartikül üretimine sebep olduğunu belirtmektedirler (He *et al.* 2007). Farklı boyut ve şekle sahip NPs optik, katalistik, anti-mikrobiyal gibi özellikleri farklı uygulamalarda yer aldığı için kontrol edilebilen bu parametreler büyük öneme sahiptir. *Escherichia coli* kullanılarak ekstrasellüler olarak Pt (platinyum) ve Pd (paladyum) NPs (Deplanche *et al.* 2010),

Rhodopseudomonas capsulata'da ekstrasellüler AuNPs (He *et al.* 2007), *Bacillus licheniformis* intrasellüler AgNPs (Schlüter *et al.* 2014), *Bacillus sphaericus* JG-A12 mikroorganizması kullanılarak U, Cu, Pb, Al, Cd NPs redüksiyon ve biyopsorbisyon metodları kullanılarak ekstrasellüler (Das *et al.* 2014) olarak üretilen nanopartiküllere örnek verilebilmektedir (Pantidos and Horsfall 2014).

Bilim insanları bakteri ve fungusların partikül sentezinde kullanılmasına yoğun bir ilgi göstermelerine rağmen sadece son on yılda yeşil sentez metodlarında bitki ya da bitki ekstraktlarının kullanımı konusunda çalışmalar artmıştır (Narayanan and Sakthivel 2011; Iravani and Zolfaghari 2013; Mittal *et al.* 2013). Bu alandaki çalışmalar umut vadeden sonuçlar sunmaktadır. Bakteri ya da funguslar yerine bitki ya da bitki ekstraktlarının kullanılması patojenitenin varlığını da ortadan kaldırmaktadır. *Coriolus versicolor* (Ahmad *et al.* 2002), *Aspergillus flavus* (Saha *et al.* 2010), *Jatropha curcas* latex (Thapa *et al.* 2004), *Acalypha indica* yaprak ekstrakt A (Krishnaraj *et al.* 2010) ile ekstrasellüler AgNPs sentezi gerçekleştirildiği literatürde belirtilmiştir.

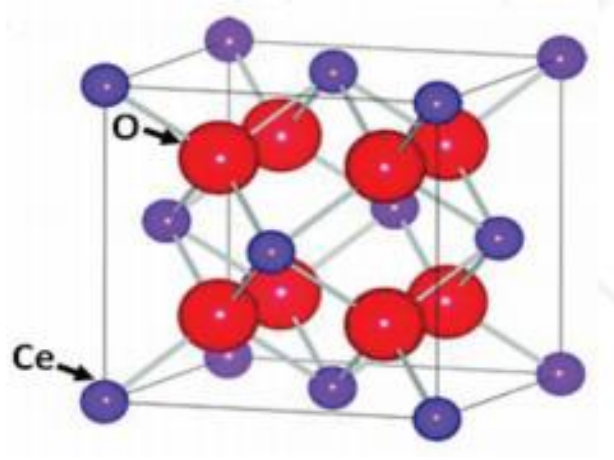
Nanopartiküllerin üretiminde fungusların kullanılması bakterilerin kullanılmasına kıyasla bir takım avantajlara sahiptir. Proseslerin istenen amaca uygun olarak küçültüp-büyütülebilmesi, ekonomik uygulanabilirlik, misel varlığının sunduğu artmış yüzey alanı dikkate alınması gereken önemli avantajlar arasında sıralanabilir (Sanghi and Verma 2009). Fungusların bakterilerden daha fazla protein üretebilmeleri de nanopartikül sentezinin verimini arttırmaktadır.

Anti-mikrobiyal, elektronik gibi çeşitli endüstrilerde yoğun olarak yer almasından dolayı AgNPs bilim insanları tarafından çalışıp araştırılmaktadır (Rai *et al.* 2009; Ummartyotin *et al.* 2012). Metalik nanopartiküllerin sentezinde (özellikle AgNPs) *Fusarium oxysporum* çok çalışılmıştır. 5-15 nm boyutlarına sahip saf AgNPs sentezlenmiş ve bu partiküller fungus tarafından proteinlerle kaplanarak daha kararlı hale getirilmiştir. Daha önceki tüm çalışmalarda Au ve AgNPs için yalnızca intrasellüler sentez gerçekleştirilmişken, *Fusarium oxysporum* ile gerçekleştirilen ekstrasellüler fungal partikül sentezi çok büyük bir ilerlemedir (Ahmad *et al.* 2003). Ayrıca kültür

ortamina uygun tuz eklendiği zaman *Fusarium oxysporum* ile kadminyum sülfid (CdS), kurşun sülfür (PbS), çinko sülfür (ZnS), molibden sülfür (MoS) gibi partiküller sentezlanmıştır (Ahmad *et al.* 2002). *F.oxysporum* dışında *Pediococcus pentosaceus* (Shahverdi *et al.* 2007) ve *Aspergillus fumigatus* (Bhainsa and D'Souza 2006) ile AgNPs, *Neurospora crassa* (Sanghi and Verma 2009) ile PtNPs, *Verticillium sp.*(Ramanathan *et al.* 2013) AuNPs sentezi örnek verilebilir.

Seryum dioksit (CeO_2 / ceria), seryumun en kararlı oksidi olarak kabul edilmektedir. Seryum, lantanid serisinin ikinci ve en reaktif elemanıdır. Doğada elektropozitif olan seryum, Ce^{3+} ve Ce^{4+} ikili oksidasyon durumunda bulunmaktadır. Ce^{4+} oksidasyon durumu genelde elektronik yapısından dolayı Ce^{3+} 'dan daha kararlı olduğu kabul edilmektedir. Ce^{4+} [Xe] 4f0 elektron yapısıyla Ce^{3+} için [Xe] 4f1'e kıyasla daha boş olduğu için daha kararlıdır. Seryum genellikle seryum dioksit (CeO_2) ve seryum seskuoksit (Ce_2O_3) olarak adlandırılan iki tür oksit yapısında bulunabilir ancak daha geniş bir bağlamda, seryum seskoksit (Ce_2O_3)'e karşı daha yüksek kararlılığı nedeniyle seryum dioksit (CeO_2) olarak kullanılmaktadır.

Florit bir yapıya (FCC) sahip olan seryum dioksitin sitokiyometrik yapısında kübik yapının merkezinde dört oksijen atomu bulunurken, merkezi oksijenleri çevreleyen eşgüdümlü sekiz seryum molekülü vardır Şekil 1.7'de kırmızı ile oksijen atomları ve mavi ile seryum temsil edilmektedir. Seryum, köşeleri oksijen atomları tarafından işgal edilen tetrahedronun ortasındadır (Malavasi *et al.* 2010).



Şekil 1.7. CeO₂'nin FCC yapısı (Malavasi *et al.* 2010)

Teknolojik olarak önemli bir fonksiyonel malzeme olan seryum, birçok farklı alanda dikkat çekici uygulamalara sahiptir.

Seryum (Ce) bakırdan ve kalaydan (sırasıyla 66.5 ve 60 ppm) çok daha fazla bulunan bir elementtir (Ahrens 1995; Lide 2007). Çok miktarda olması bu malzemeyi çeşitli sektörlerde geniş uygulamalarla teknolojik olarak önemli hale getirmiştir. Yüksek absorpsiyon katalizörü (Kaspar *et al.* 1999), düşük sıcaklıkta su-gaz kayması (WGS) reaksiyonu (Fu *et al.* 2003), oksijen sensörleri (Jasinski *et al.* 2003), oksijen permeasyon membranı sistemleri (Kaspar *et al.* 1999; Yin *et al.* 2006), yakıt pilleri (Park *et al.* 2000; Sun *et al.* 2010), cam parlatma malzemeleri (Feng *et al.* 2006), elektrokromik ince film uygulaması (Ozer 2001), biyoteknoloji, çevre kimyası ve tıbbi uygulamalar (Tarnuzzer *et al.* 2005; Asati *et al.* 2009) seryumun mevcut uygulama alanlarından sayılabilmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Correa-Llantén *et al.* (2013) tarafından termofilik bakteri *Geobacillus* sp.'nin ID 17 soyu tarafından altın nanopartiküllerin üretimi rapor edilmiştir. Bu çalışmada Au^{+3} 'e maruz bırakılan hücreler renksizken reaksiyon sonunda yoğun bir mor renge döndüğü gözlemlenmiştir. Bu renk değişikliğinin, hücre içi altın nanopartiküllerinin birikimine işaret ettiği kanısına varılmıştır. Parçacık bileşiminin elemental içeriği, TEM ve EDX analizleri kullanılarak doğrulanmıştır. Partiküllerin hücre içi lokalizasyonu ve partikül büyüklüğü TEM ile belirlenmiştir ve boyutları 5-50 nm arasında değişen baskın yarı altıgen şeklindeki iki farklı partikül tipi olduğu gösterilmiştir. Nanopartiküllerin çoğunun boyutunun 10-20 nm arasında olduğunu rapor etmişlerdir. FTIR analiz ile altın nanopartiküllerinin yüzey kimyası karakterize edilmiştir. Bu analiz sonunda biyosentezlenmiş altın nanopartiküllerinin yüzeyinde bir çeşit protein varlığı fikrini ortaya çıkarmıştır. Altın nanoparçacıklarının sentezinde yer alan redüktaz aktivitesinin daha önce başka mikroorganizmalarda bulunduğu rapor edilmiştir. NADH'yi substrat olarak kullanmalarına bağlı bu azalma ID 17 soyunda test edilmiştir. Mikroorganizmanın ham ekstraktları, NADH'ye bağlı Au^{+3} indirgenmesini katalize edebilir. Yaptıkları çalışmanın sonuçları doğrultusunda, altın nanoparçacıklarının ID 17 soyu tarafından biyosentezinde, bu biyolojik dönüşümün bir kofaktör olarak enzimler ve NADH aracılı olduğunu kuvvetle ortaya koymaktadır.

Sharma *et al.* (2012) nanopartikül biyosentezi konusunda çok araştırılmamış deniz mikroorganizmaları üzerinde araştırma yapmışlardır. Çalışmalarında deniz mikroorganizmalarının, yüksek tuz konsantrasyonunu tolere etme konusundaki ve farklı metal iyonlarının toksisitesinden kaçabilmelerindeki yeteneklerinden faydalanmışlardır. Bunun yanında deniz suyunun doğadaki en zengin altın kaynaklarından biri olduğunu çalışmalarında belirtmişlerdir. Bu nedenle, deniz bakterilerini AuNP biyosentezi için nano-fabrika olarak kullanma ihtimali üzerinden araştırmalarını yapmışlardır. Çalışmalarında deniz bakterilerini, altın nanopartikül (AuNPs) üretimi için kullanmışlardır. $HAuCl_4$ solüsyonunun, polifazik taksonomi ile karakterize edilen yeni bir *Marinobacter pelagius* suşunun tüm hücrelerine maruz kalması üzerine, yaklaşık 10

nm boyutlu kararlı, tek dağılımlı AuNP oluşumu gözlemişlerdir. Sentezlenen nanopartiküllerin TEM, DLS ve UV-görünür spektroskopi ile karakteristik analizini gerçekleştirmişlerdir.

Saifuddin *et al.* (2009) ortaya koydukları çalışmada, gümüş (Ag) gibi soy metallerin metalik nano yapılarının sentezi için hızlı, basit ve "yeşil" olan, *Bacillus subtilis* kültür supernatantı ve mikrodalga kombinasyonunu kullanarak yeni bir kombinasyon sentezi yaklaşımı kullanmışlardır. Yüzey aktif madde veya yumuşak şablonun yokluğunda su içinde *Bacillus subtilis*'in kültür supernatantının ve gümüş iyonlarının mikrodalga ışınlamaya maruz kalması sonucu gümüş nanopartiküllerin oluşumuna yol açtığını keşfetmişlerdir. Gümüş nanoparçacıklarının boyut olarak 5-60 nm aralığında olduğunu gözlemlemişlerdir. Nanoparçacıkların yapısını UV-vis spektroskopi ve TEM cihazlarıyla incelemişlerdir. Bu yöntemle nanoparçacıkların oluşumunun son derece hızlı olduğunu, toksik kimyasallar gereksinim duyulmadığını ve nanopartiküllerin birkaç ay boyunca kararlı kalabildiğini ortaya koymuşlardır.

Durán *et al.* (2005) araştırmalarında, *Fusarium oxysporum* mantarının çeşitli suşları tarafından metal nanopartiküllerin hücre dışı üretimini gerçekleştirmişlerdir. Birkaç *Fusarium oxysporum* suşuna maruz bırakıldığında sulu gümüş iyonlarının solüsyonda indirgenmesi, dolayısıyla gümüş hidrosol oluşumuna yol açtığını gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri gümüş nanopartiküllerin boyutlarının 20-50 nm aralığında olduğunu ölçmüşlerdir. Metal iyonlarının indirgenmesi nitrata bağımlı bir redüktaz ve bir mekik quinon hücre dışı işlemi ile gerçekleşir. Birçok teknik uygulama için nanoparçacıkların fungal biyosentezine dayanan bu nanoteknolojik tasarımın potansiyelleri, anti bakteriyel materyal olarak yüksek potansiyelleri de dahil olmak üzere önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Yazdi *et al.* (2013) makalelerinde, selenyum bakımından zenginleştirilmiş *Lactobacillus*'un, kanser taşıyan hayvanların ömrünü uzatmak için kullanılabilen bir immünostimülatör ajan olarak bildirildiğini vurgulamışlardır. Laktik asit bakterilerinin selenyum iyonlarını elementel selenyum nanopartiküllerine (SeNPs) indirgeyebildiğini ve hücre içi boşluklara yerleştirebildiğinin daha önceden bilindiğini söylemişlerdir. Bu çalışmalarında, kanser taşıyan farelerde bağışıklık tepkilerinin arttırılması için iki

bilinen immünohistimulatörü yani laktik asit bakteri (LAB) ve SeNPs birlikte uygulamışlardır. Öncelikle kırk beş dişi BALB / c faresi, her biri 15 fareyi içeren üç test ve kontrol grubuna ayırmışlardır. Test farelerine, SeNP ile zenginleştirilmiş *Lactobacillus brevis* veya *Lactobacillus brevis* ile birlikte tümör indüksiyonundan önce 3 hafta oral olarak uygulamışlardır. Bundan sonra deney süreci, yedi gün / üç gün kapalı üç döngüde gözlemlemiştir. Kontrol grubuna aynı fosfat tamponu salin (PBS) verilmiş ve çalışma boyunca tümör büyümesi kaliper yöntemi kullanılarak takip etmişlerdir. Çalışmanın sonunda dalak hücre kültürü hem NK sitotoksitesite analizi hem de sitokinler ölçümünü yapabilmek için gerçekleştirmişlerdir. Gecikmiş tip hipersensitivite (DTH) yanıtını 72 saat sonra tümör antijeninin geri çağırılmasından sonra denemişlerdir. Serum laktat dehidrogenaz (LDH) ve alkalın fosfat (ALP) düzeylerini ölçmüşlerdir ve histopatolojik analiz için farelerin karaciğerlerini çıkarmışlardır. SeNP-zenginleştirilmiş *L. brevis* verilen farelerde NK sitotoksitesitesi ve DTH yanıtlarında belirgin artışa ek olarak yüksek IFN- γ ve IL-17 seviyeleri ölçmüşlerdir. Ayrıca bu gruptaki farelerde karaciğer tümör metastazının ömrü ve tümör gerilemesi, kontrol fareleriyle veya *L.brevis* tek başına uygulanan farelerle karşılaştırmışlardır.

Korbekandi *et al.* (2011) çalışmalarında *Lactobacillus casei* 'nin biyotransformasyonlarını kullanarak gümüş nanopartikül sentezinin optimizasyonu ve bu mikroorganizma içerisinde nanoparçacık sentezinin yerinin incelenmesini amaçlamışlardır. Enzim indüör olarak kültürde AgNO₃ (0,1 mmol L⁻¹) varlığı ve reaksiyon karışımında elektron donörü olarak glikoz (56 mmol L⁻¹) nanopartikül üretimi üzerinde pozitif etkilere sahip olduğunu gözlemlemiştir. AgNO₃ (substrat olarak) konsantrasyonunu 6 mmol L⁻¹'e kademeli olarak arttırılmasının nanopartikül üretimini de arttırdığını belirlemiştir. Ayrıca biyokütleyi arttırma, nanoparçacıkların üretimini de arttırmıştır. Biyosentezlenmiş gümüş nanoparçacıklarının; neredeyse küresel, tekli (25-50 nm) ya da kümeli (100 nm) olduğunu, biyokütlenin yüzeyine bağlanmış ya da hücrelerin için ve dışında bulunduklarını ortaya koymuşlardır.

Singh *et al.* (2013) çalışmalarında, *Padina gymnospora* kullanılarak altın nanopartiküllerin hücre dışı biyosentezini denemişler ve kısa sürede altın nanopartiküllerinin hızla oluşumunun gerçekleştiğini gözlemlemiştir. Altın içeren

ikincil sulu ortamın UV-vis spektrum analizi altın nanopartiküllerin plazmon emilimine karşılık gelen 527 nm'de pik gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Taramalı elektron mikroskopisi ile yaptıkları analiz sonucu iyi bir şekilde dağılmış altın nanopartikülleri oluştuğunu göstermişlerdir. Kahverengi algin FTIR spektrumu analizi ile, algal polisakkaridlerde bulunan hidroksil gruplarının altının biyolojik redüksiyonunda görev aldığını doğrulamışlardır. AFM analizi ile parçacık boyutlarının (53-67 nm) ve parçacık pürüzlülüğünün ortalama yüksekliğinin (60.0 nm) sonuçlarını göstermişlerdir. Altın nanoparçacıklarının X-ışını kırınımı (XRD) spektrumu, altın nanopartiküllerine karşılık gelen Bragg yansımalarını sergilemişlerdir. Biyolojik altın nanoparçacık sentezinin bu çevre dostu yöntemi, tıbbi uygulamalar yanında, kozmetik, gıdalar ve tüketici ürünleri gibi doğrudan insan vücuduna temas eden çeşitli ürünlerde de uygulanabilir olduğunu belirtmişlerdir.

Goswami *et al.* (2013) çalışmalarında *Penicillium citrinum* MTCC 9999 biyo kütlesi kullanılarak oda sıcaklığında pH 5.0'de kararlı gümüş nanobiyo-konjugatların (SNBC'ler) yeni bir çevre dostu hücre dışı sentezini ilk kez göstermişlerdir. Tipik İletim Elektron Mikroskopisi (TEM) ile yaptıkları görüntüleme ile nano-parçacıkların boyutunun 20-30 nm aralığında olduğunu ortaya koymuşlardır. Gerçekleştirdikleri FTIR analizi ayrıca biyomoleküllerin stabilizasyona karıştığını gösterdi. SNBC'ler hem Gram pozitif (*Bacillus subtilis*) hem de Gram negatif bakterilere karşı (*Escherichia coli*) güçlü antibakteriyel etki göstermelerinin yanında. *Schizosaccharomyces pombe*'ye karşı değerlendirildiğinde güçlü antifungal aktivite gösterdiğini de ortaya koymuşlardır.

Kumar *et al.* (2015) çalışmalarında *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 fermantasyon ortamında inoküle etmişler ve 12 saat boyunca 30°C'de farklı pH koşullarında inkübe etmişlerdir. 0,02 molar konsantrasyon, pH 7'de Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı iyi antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Gümüş nanoparçacıkların sentezini UV-Vis spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu ve Fourier Dönüşümü Kızılötesi analizi ile araştırmışlardır. Sentezlenen AgNP'lerin ebatlarının 198 ile 595 nm arasında değişen boyutlarda olduğunu belirlemişlerdir. Sentezlenen nanoparçacıkların sitotoksitesi, A549 adenokarsinoma akciğer kanseri hücre hattına karşı incelemişlerdir. 100 µl'de %83.23 aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Khan and Ahmad (2013) çalışmalarında CeO_2 nanopartiküllerinin termofilik fungus *Humicola* sp. kullanılarak ilk kez fungal biyosentezi gerçekleştirmişlerdir. *Humicola* sp. sulu çözelti halindeki seryum (III) nitrat hegzahidrat ($\text{CeN}_3\text{O}_9 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) öncül maddesine maruz bırakıldığında Ce(III) ve Ce (IV) oksidasyon durumundaki karışık CeO_2 NPs'nin ekstrasellüler formda oluşumu gözlemlemişlerdir. 12-20 nm boyutuna sahip olan küresel partiküller fungal proteinlerle kaplandığı için yığılma göstermemektedirler. Kaplama proteinleri ROS oluşumu sağlayarak hastalıkların klinik tedavisi için suda dağılabilir hale geldikleri tespit edilmiştir. Son derece kararlı, yüksek floresan özelliğe sahiptirler. Sentezlenen nanoparçacıklar UV-vis spektroskopisi, Fotolüminesans spektroskopisi (PL), İletim Elektron Mikroskopisi (TEM), Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), X-Işını Kırınımı (XRD) ve X-Işını Fotoemiyon Spektroskopisi (XPS) ile karakterize edilmiştir.

Arumugam *et al.* (2015) CeO_2 nanopartikülü *Gloriosa superba* bitki ekstraktı ile biyolojik olarak sentezlemişlerdir. Parçacıkların XRD analiziyle küp yapısında olduğu gözlemlenmiştir. Elementlerin Ce(1s), O (1s) ve Ce (3d) oksidasyon durumları, XPS ile teyit edilmiş, TEM görüntüleri, NP'lerin küresel bir şekle ve 5 nm parçacık boyutuna sahip olduğunu göstermiştir. Ce-O gerilme bantları sırasıyla FT-IR ve Raman spektrumlarından 451 cm^{-1} ve 457 cm^{-1} 'de belirtilmiştir. Çalışmada CeO_2 NP'lerin bant aralığı, UV-görünür spektrumdan 3.78 eV olarak hesaplanırken,. fotolüminesans ölçümlerinden, sekiz farklı bandın oluşturduğu geniş emisyon bulunmuştur. Bir dizi bakteri suşuna karşı gerçekleştirilen antibakteriyel araştırmalar, Gram pozitif (G+) bakterilerin NP'lere göre Gram negatif (G-) bakterilere göre nispeten daha hassas olduğunu göstermiştir.

Priya *et al.* (2014) Aloevera olarak da bilinen *Aloe barbadensis miller* yaprak ekstraktları ile sıvı formdaki Seryum (III) nitrat hegzahidrat ($\text{Ce(NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) öncül maddesini kullanarak ortalama 63.3 nm boyutunda düzgün küresel şekilli CeO_2 NP'leri ürettiklerini bildirmişlerdir.

Kargara *et al.* (2015) oldukça basit bir prosesle, çevre dostu, biyo-organik agaroz polimer esaslı 10 nm boyutundaki CeO₂NP sentezini bildirilmişlerdir. Bilim insanları 200°C'nin üzerindeki NP'lerin kübik florit yapısı ile yüksek homojenliğe sahip olduğunu ve farklı konsantrasyonlarda L929 hücre dizisinde belirgin bir sitotoksik etki göstermediğini, dolayısıyla tıpta farklı alanlarda uygulanabilir olduğunu gözlemlemişlerdir.

Dutta *et al.* (2016) çalışmalarında seryum nitrat öncül maddesi ile stabilize edici ajan Aloe vera yaprağı özütü kullanılarak basit bir şekilde 2-3 nm boyutlarında seryum oksit nanopartiküllerinin (CeONPs) sentezi gerçekleştirmişlerdir. CeONPs'de Ce (III) ve (IV) oksidasyon durumlarını içerirken, daha yoğun olarak Ce(+3) formundaki partiküller bulunmaktadır. Ce (III) O → Ce (IV) O → Ce (III) O'nun siklik dönüşümünde H₂O₂ ile tepkimeye girerek CeONP'ler için devamlı bir antioksidan özelliği sağlanmaktadır. Üstelik, kristal yapının sahip olduğu yüksek oksijen defekti, daha yüksek antioksidan etkinliğe sahip parçacıkların oluşumuna neden olmaktadır. CeONP'nin fare sinir hücrelerindeki bağlanntı kaybına neden olan H₂O₂ gibi hücre iç reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu ve fare sinir hücrelerindeki bağlanntı kaybını nötralize ettiği görülmüştür. Bu nedenle, CeONP gelecekte bir anti-oksidan ilaç olarak potansiyel olarak kullanılabilir

Kannan (2014) seryum oksit nanopartikülünün sentezi, *Acalypha indica* yaprak ekstraktından seryum oksit nanopartikülünün sentezini gerçekleştirmiştir. Sentezlenen nanopartikülün yapısal olarak doğrulamasında X-ışını kırınımı (XRD), Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Enerji Dağılımlı X-ışını (EDX) ve İletim Elektron Mikroskopu (TEM) kullanılarak karakterize edilmiştir. Analiz sonuçları biyosentezlenmiş CeO₂ nanopartikülünün, 25-30 nm arasında partikül boyutuna sahip, kristal bir materyal olduğunu açıkça göstermektedir. CeO₂ nanopartikülünün Ce-O-Ce asimetrisinin gerilmesine ilişkin bilgiler için ileri analiz Fourier Transform infrared spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır. Termogravimetrik ve diferansiyel tarama kalorimetresi analizleri, seryum oksit nanoparçacıklarının termal özelliklerini belirlenmiştir. Antibakteriyel çalışmalar sentezlenmiş CeO₂ kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Bu sonuç, gram pozitif ve gram negatif bakterilerde artan bir antibakteriyel özelliği gözlenmiştir.

Nadaroğlu *et al.* (2017) biyoindirgeme yöntemi ile seryum nanoparçacıklarının sentezini ve anti oksidatif etkinliğini gösterdikleri çalışmalarında *Euphorbia* (*Euphorbia amygdaloides*) sulu özütü indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak kullanılmıştır. Seria NP'lerinin kantitatif oluşumunu izlemek için ultraviyole görünür (UV-vis) absorpsiyon spektroskopisi kullanılmıştır. Ayrıca elde edilen ceria NP'lerin detaylı özelliklerine taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ışını kırınımı (XRD) ve ileten elektron mikroskobu (TEM) kullanarak ulaşılmıştır. Sentezlenmiş seryum (III) oksit Ce_2O_3 NP'ler renksiz soluk sarı seryumdan (III) açık sarı seryuma (IV) görsel renk değişikliği ile kaydedilmiş ve UV-vis spektroskopisini kullanarak bant 345 nm'de doğrulanmıştır. Hazırlanan NP'lerin ortalama çapı yaklaşık 8.6 - 10.5 nm'dir. Ek olarak, sentezlenmiş Ce_2O_3 NP'leri, ferrik indirgeyici antioksidan gücü, kuprik indirgeyici antioksidan kapasitesi, demir iyonları kenetleme aktivitesi ve 2, 2'-azinobis 3- etilbenzotiazol-6'ya karşı antioksidan ve anti-bakteriyel etkinlikler için test edildirilmiştir. Ticari uygulamalar için potansiyel antioksidan ve anti-bakteriyel Ce_2O_3 NP'lerin üretiminde *Euphorbia* (*E. amygdaloides*) ekstraktının etkili bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Malleshappa *et al.* (2015) yaptıkları çalışmada küresel şekilli CeO_2 nanopartikülleri, *Leucas aspera* (LA) yaprak özütü ile biyolojik olarak sentezlemişlerdir. Biyosentezlenmiş NP'ler XRD, SEM, UV-Visible teknikleri ile karakterize edilmiştir. Bu çalışmada NP'lerin fotoluminesans (PL), fotokataliz ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. XRD desenleri ve Rietveld analizi kübik florit yapıyı doğrulamıştır. SEM sonuçları ile, NP'lerin morfolojisinin, reaksiyon kaşımındaki LA yaprak özütünün konsantrasyonundan büyük ölçüde etkilendiğini belirtirken, NP'lerin bant boşluğu enerjisinin 2.98-3.4 eV aralığında olduğu gösterilmiştir. NP'lerin fotokatalitik aktivitesi, UV-A ve Güneş ışığı ışınlaması altında Rhodamine-B'nin (RhB) renksizleştirilmesi ile değerlendirilmiştir. CeO_2 NP'leri, CIE koordinatları (0.14, 0.22) ve ortalama sıcaklık değeri ~148.953 K olan yoğun mavi emisyon göstermektedir. Dolayısıyla mevcut

NP'ler, serin LED'ler için oldukça yararlıdır. Hem UV-A hem de Güneş ışığı ışığı CeO_2 NP'lerin üstün fotokatalitik aktivite gözlenmiştir. Ayrıca, sentezlenen CeO_2 , *Escherichia coli* (EC) ve *Staphylococcus aureus*'ya karşı belirgin antibakteriyel etki sergilemektedir. Bu bulgular, çeşitli uygulamalar için çok fonksiyonlu malzeme olarak CeO_2 NP'lerin kullanım olanağını göstermektedir

Kim and Chung (2016) çalışmalarında geliştirilmiş antioksidan aktivitesi olan Levan kaplı seryum oksit nanopartikülleri (LCNP'ler) başarıyla sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir. Levan ve türevleri, antioksidan, anti inflamasyon ve anti-tümör özelliklerine bağlı biyomedikal uygulamalar için uygundur. LCNP'ler levan ile bir kap ve green sentez sistemi kullanılarak sentezlenmiştir. Nanoparçacıkların üretimi için levan stabilize edici ve indirgeyici bir madde olarak rol oynamaktadır. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) analizi, LCNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiştir. Nanopartiküllerin morfolojisi ve boyutu, transmisyon elektron mikroskopisi (TEM) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) ile teyit edilmiştir.. LCNP'leri karalı ve suda iyi çözünme özelliğine sahiptirler. Levanın seryum oksit nanoparçacıklarla konjugasyonu, antioksidan aktivitesini artırmıştır. Dahası, LCNP'lerin H_2O_2 ile uyarılan NIH3T3 hücrelerine uygulanmasından sonra ROS seviyesinin düştüğü gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, LCNP'lerin ROS kaynaklı hastalıkların tedavisinde yararlı olduğunu göstermektedir.

Maqbool *et al.* (2016) *Olea europaea* bitki ekstraktlarıyla CeONPs'lerinin green sentezini gerçekleştirmişlerdir. *O. europaea* ekstraktı , seryum nitratın indirgenmesini sağlamaktadır. Biyosentezlenen partiküllerin XRD analizleriyle tek tip küresel bir şekilde olduğu, TEM ve SEM görüntülerinde ortalama 24 nm boyutta , saf kübik yapıya sahip olduğu belirtilmiştir. UV-vis spektroskopisinde CeO_2 nanopartiküllerinn 315 nm'de karakteristik absorbansa sahip olduğu teyit edilmiştir. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi gerilme frekansının 459 cm^{-1} 'deki gerilme frekanslarını ve NP'lerin üretimi için doğal bileşenlerin kullanıldığını göstermiştir. Termal gravimetrik analiz, bitki ekstraktında bulunan biyoaktif moleküller ile CeO_2 NP'lerin başarılı bir şekilde kaplanmasını öngörmektedir. Antimikrobiyal çalışmalarda CeO_2 NPs, bakteri ve fungal

suşlara karşı belirgin inhibisyon zonu oluşturduğunu ortaya koymuştur. Green sentezlenmiş NP'lerin bitki ekstraktından daha yüksek aktiviteleri biyomedikal uygulamada etkili bir şekilde kullanılabileceği sonucuna göstermektedir. Ayrıca, seryum tuzunun bitki özütü ile indirgenmesi, kimyasal sentez üzerine çevresel etkiyi azaltacaktır.

Kowshik *et al.* (2003) çalışmalarında büyümenin log fazındaki MKY3 maya suşu 1mM çözünür gümüş ile muamele ederek ekstrasellüler olarak 20-50 nm boyutuna sahip AgNPs üretimi gerçekleştirmişlerdir. Nanoparçacıklar, numunenin diferansiyel eritilmesine dayanan yeni bir yöntem geliştirerek seyreltik süspansiyondan ayrılmıştır. Optik absorpsiyon, transmisyon elektron mikroskobu, x-ışını kırınımı ve x-ışını fotoelektron spektroskopisi araştırmaları, metalik (elemental) gümüş nanopartiküllerin oluştuğu doğrulanmıştır. Nanoparçacıkların hücre dışı sentezi, büyük miktarlarda sentezleme ve kolay akış aşağı işleme prosesi açısından oldukça avantajlı olabileceği belirtilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal maddeler

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasallar	Üretici
Agar-Agar	Fluca
Malt Ekstrakt	Sigma
Patates Glikoz Agar	Sigma
Patates Dekstroz Agar	Sigma
Balık Peptonu	Sigma
Granüle Maya Ektraktı	Sigma
D(+) Glikoz Monohidrat	Sigma
Gliserol	Sigma
Etanol	Sigma
Malt Ekstrakt Broth	Fluca
NaCl	Sigma
EDTA	Sigma

3.1.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan laboratuvar gereçleri

Kullanılan Gereç	Modeli
Pastör Fırını	Memmert IPP 55
Etüv	Memmert UN 55
Buzdolabı	Beko

Çizelge 3.2. (devam)

X- ışını Fotoelektron Spektroskopisi	Specs TM
Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR)	Vertex 70v
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Zeiss Gemini Sigma 300
UV-görünür spektrofotometri (UV-vis)	Shimadzu UV-vis 3600
X-ışını kırınımı (XRD)	PANalytical empyrean
+4°C Buzdolabı	LIEBHERR
Otoklav	Hirayama
PH Metre	Schott pH-Meter CG840
Saf su cihazı	Barnstead Easy Pure UV/UF
Soğutmalı santrifüj	Hermle Z 323 K(Germany)
Çeker Ocak	TOLKİM
Spektrofotometre	Shimadzu UV-3600 Plus
Vorteks	Fisons whırlı-mixer
Agaroz jel elektroforez Tankı	BIO RAD
Jel görüntüleme sistemi	Bio-Rad
PCR	ProFlex™ 3x32-Well PCR
Mikro santrifüj	Hettich
Steril Kabin	ESCO Laminer Flow Cabinet
Çalkalayıcı İnkübatör	ZHWY-200D
Hassas terazi	Gecavery (UK)
Otomatik pipet	Eppendorf
Magnetik karıştırıcı	Chilten Hotplate Magmetic Stirrer HSBI

3.1.3. Stok solüsyonlar

Çizelge 3.3. Kullanılan stok solüsyonları

Solüsyon	İçeriği
1 M HCl	7.67- 8 ml (%36.5- 38'lik HCl), 100 ml dH ₂ O
1 M NaOH	4 g NaOH, 100ml dH ₂ O
%70 EtOH	%99.5 Etanol (70ml /100ml) dH ₂ O (30ml / 100 ml)
%0.9 NaCl	100 ml dH ₂ O 0.9 gr NaCl
50X TAE	2 M Tris : 242 gram, 1 M Asetat : 57,1 ml 100 mM EDTA : 0,5 M EDTA (pH: 8)

3.2. Metodlar

3.2.1. Çalışılacak ortam ve malzemenin sterilizasyonu

Kullanılacak tüm cam malzemeler, pipet uçları, besiyerleri ve solüsyonlar 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi.

3.2.2. Çalışmada kullanılacak küflerin izolasyonları

Çalışmada kullanılacak olan mikrofunguslar (küfler) Erzurum çevresindeki farklı toprak örneklerinden izole edilmiştir. Bunun için farklı ortamlardan alınan toprak örnekleri önceden steril edilmiş örnek kapları içerisine alınarak laboratuvara getirilmiş ve en kısa sürede bu örneklerden izolasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. İzolasyon işlemleri sırasında toprak örneklerinin ilk olarak 1 g'ı 10 ml steril fizyolojik su içerisine alınmış ve 5 dk süreyle karıştırılmıştır. Elde edilen süspansiyonun daha sonra 10⁻⁴'e kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyon örneklerinin 0.5 ml'si laminar kabin içerisinde maltt ekstrakt agar besiyeri (MEA) üzerine steril bir eküvyon yardımıyla yayılmıştır. Ekim yapılan petrilere daha sonra 30°C'de 7 gün süreyle inkübasyona

bırakılmıştır. Bu süre içerisinde petriler üzerinde gelişen 34 adet küf kolonileri yeni besiyerlerinde alt kültüre alınarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar daha sonra kullanılmak üzere yatık agar kültürüne ve gliserole alınarak buzdolabında saklanmıştır.

3.2.3. Seryum oksit nanopartikülü üreten küf izolatlarının taranması

Tarama deneyleri için küf izolatları ayrı ayrı ilk olarak malt ekstrakt agar besiyerinde 30°C’de 7 gün süreyle aktifleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda petriler üzerinde gelişen 34 farklı küf miselinden steril bir lanset yardımıyla yaklaşık 1 cm x 1 cm ebatında bir parça kesip çıkarılarak 250 ml’lik erlen içerisindeki 100 ml malt ekstrakt broth (MEB) besiyerlerine laminar kabin içerisinde aktarılmıştır. (Malt Extract Broth besiyeri 20gr/L malt extract, 5gr/L fish pepton içerecek şekilde hazırlanıp pH’sı 5.6’ya ayarlanmıştır. Ağzı pamukla kapatılan besiyerleri otoklavda steril edildikten sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.) Erlenler daha sonra çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiş ve 150 rpm çalkalama hızında ve 30°C’de 3 gün süreyle gelişmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kültürlerde oluşan misel biyomasları 5000 rpm’de 5 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Her küf için elde edilen misel biyoması steril fizyolojik su ile yıkandıktan sonra bu biyomasın 10 g’ı (ıslak ağırlık olarak) 250 ml’lik erlen içerisindeki 100 ml steril fizyolojik su içerisine aktarılmıştır. Ardından her erlene 0.03 g /100 ml Seryum asetilasetonat (cerium acetylacetonate) eklenmiş ve kültürler 150 rpm çalkalama hızında ve 30°C’de 3 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre boyunca kültürlerdeki renk değişimleri takip edilmiştir. Ayrıca sürenin sonunda erlenler etüve aktararak 80°C’de kurutma işlemine tabi tutulmuştur.

3.2.4. Mikrofungusun teşhisi

Topraktan izolasyonu gerçekleştirilen küfler erlen içinde seryumasetiloasetonata maruz bırakılmış ve A6.2 olarak adlandırılan tüpte turuncu-sarı renginden mor-siyah rengine hızlı bir geçiş gözlemlenmiştir. Kolorometrik olarak kültür sıvısındaki bu değişim nanopartikül biyosentezi için bir indikatör niteliği taşımaktadır.

A6.2 izolatının moleküler karakterizasyonu 18S-ITS1-5.8SITS2- 28S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirildi. A6.2 numaralı izolat, 100 ml patates dekstrozu broth (PDB) besiyerinde 25°C de, 120 rpm de, 2 gün boyunca inkübe edildi. Bu sürenin sonunda elde edilen taze biyokütle, homojenizasyona tabi tutulduktan sonra ticari bir DNA izolasyon kiti kullanılarak firma tarafından sağlanan protokole göre genomik DNA elde edildi. Ardından genomik DNA bütünlüğü ve saflığı açısından %1'lik agaroz jelde 80 V'da 60 dakika boyunca yürütülerek değerlendirildi.

Hedef bölgenin amplifikasyonu için, fungusların moleküler tanılamasında yaygın olarak kullanılan ITS1-5.8s-ITS2 ribozomal DNA bölgesini hedef alan ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White vd. 1990) primerleri kullanılarak çoğaltım yapıldı. Bu amaçla, ITS bölgesinin amplifikasyonu için, Çizelge 3.4'de belirtilen PCR reaksiyon içeriği ile Çizelge 4.4'de gösterilen PCR programı kullanılmıştır.

PCR ürünleri %0.8'lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde 100 bp DNA markırı ile 80 V'da 50 dakika boyunca yürütüldükten sonra ticari bir PCR ürünü saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırıldı ve her iki primer ile çift yönlü DNA dizi analizi yaptırıldı. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN 2.2.26+ programı kullanılarak, GenBank'ta (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Zhang vd. 2000) olan türlerle karşılaştırıldı ve sekans verilerinin girişi gerçekleştirildi. Çizelge 3.4'de belirtilen bileşenler sırasıyla 0,2 ml'lik PCR tüpüne aktarıldıktan sonra Çizelge 3.5'de belirtilen şartlarda amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. PCR reaksiyon karışım içeriği

Reaksiyon Karışım İçeriği	Miktar
10X PCR buffer	5 µl
MgCl ₂	3 µl
dNTPs	2 µl
Forward primer	2 µl

Çizelge 3.4. (devam)

Reverse primer	2 µl
Kalıp DNA	4.5 µl
Taq DNA Polimeraz	0.5 µl
ddH ₂ O	31 µl
Toplam	50 µl

Çizelge 3.5. PCR programı

Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
1	95	2
35	94	1
35	55	2
35	72	3
1	72	10
1	4	∞

Ardından amplifiye edilen DNA fragmentleri, %1 lik 1xTAE tamponu ile agaroz jelde yürütülerek üründe istenen bölgenin varlığı teyit edildikten sonra ürün çift yönlü olarak ticari bir firma aracılığıyla dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen baz dizileri online olarak birleştirilerek tek bir nükleotid dizisi elde edildikten sonra BLASTN 2.2.26+ (Zhang *et al.* 2000) programı ile GenBank'ta bulunan ribozomal sekanslar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Son olarak, izolatlara ait baz dizileri NCBI GenBank'a kaydedilerek her biri için erişim numarası alınmıştır.

3.2.5. A6.2 izolatıyla farklı besiyerlerinde CeONPs üretiminin taranması

Ön denemeler sonucu kantitatif olarak reaksiyonu gerçekleştirdiği belirlenen A6.2 izolatı MEB (Malt Extract Broth; 20 gr/L malt ekstrakt, 5 gr/L balık peptonu, pH 5.6 olarak dizayn edilmiştir.) ve GYP (Glikoz- Yeast extract- Pepton; 30 gr/L glikoz, 4 gr/L

yeast extract, 4 gr/L balık pepton, pH 5.6) olarak 250 ml'lik erlenlerde 100 ml olacak şekilde hazırlanıp otoklavda steril edilmiş besiyerlerine bir lanset yardımıyla, yaklaşık 1cm x 1cm ebatlarında MEA kültüründen alınarak aktarılmıştır. 3 gün süreyle çalkalayıcı inkübatörde 150 rpm çalkalama hızında, 30°C'de misel büyümesi sağlanmıştır. Belirtilen süre sonunda kültür ortamından misellerin alınması amacıyla 5000 rpm'de 5 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatant ortamdan uzaklaştırılmış ve pelet olarak çöken miseller, içerisinde 100 ml steril fizyolojik su (%0.9'luk) bulunan 250 ml'lik erlenlere 10 g (ıslak ağırlık olarak) olacak şekilde aktarılmıştır. Her bir erlene 0.03 g seryumasetiloasetonat eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 150 rpm 30°C'deki çalkalayıcı inkübatöre yerleştirilmiş ve nanopartikül biyosentezinin taranması amacıyla 3 gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.6. Seryum oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu

Sentezlenen CeO_{2-x} nanopartiküllerin karakterizasyonunda ilk olarak izolatların seryum öncülüyle muamele edildikten sonra kültür ortamında meydana gelen renk değişimleri dikkate alınmıştır. Bu sebeple detaylı analiz çalışmalarına A6.2 ile devam edilmiştir. Biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküllerin karakterizasyonu XRD, SEM, UV-vis spektroskopisi, TEM, XPS ve FT-IR ile gerçekleştirilmiştir.

Zeiss (Sigma 300) SEM cihazında A6.2'ye ait hem MEB hem de GYP kültür örnekleri için InLens dedektör kullanılarak farklı büyütme katsayıları altında CONPs'in morfolojik yapıları hakkında bilgiler sağlamıştır. Tek tip olmayan, farklı morfolojilere sahip partiküller miseller yüzeyine yapışık halde ya da ayrı, tek tek ya da yığılımlı olarak karışık bir durumda olduğu görülmüştür.

0.1 nm maksimum çözünürlüğe sahip Shimadzu (UV-vis 3600) spektrofotometri kullanılarak gerçekleştirilen UV-vis analizinde kültür sıvılarından (GYP ve MEB olarak ayrı ayrı) 1.5 ml örnek alınarak 200-1200 nm aralığında UV-vis spektrofotometrik tarama yapılmıştır. Maksimum piklerin gözlemlendiği değerler için partikül enerjisi hesaplanmıştır

Biyosentezi gerçekleştirilmiş CONPs kristal yapısını tayin etmek için XRD analizleri gerçekleştirilmiştir. XRD paterni, 10°- 90° arasında 2θ aralığında nikel monokromatör ile Cu Kα radyasyonu (λ=1.54060 Å) kullanılmış ve sentezlenen CONP'lerin ortalama kristalit boyutu Scherrer's formülü $[D = 0.9\lambda / \beta \cos\theta]$ kullanılarak hesaplanmıştır.

FTIR analizyle moleküller arası etkileşimler, partikülün kimyasal bağlarına ilişkin temel olabilecek bilgiler sağlanmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Seryum Oksit Nanopartikül Üreten Küflerin İzolasyonu ve Taranması

Farklı toprak örnekleri ile tamamlanan izolasyon işlemleri sonucunda 34 farklı küf izole edilmiştir. İzolatların CeONP üretme yetenekleri açısından taraması amacıyla 3 günlük küf kültürlerinden yukarıda belirtilen miktarda alınan miseller CeONP öncülü seryum asetilasetonat ile muamele edilmiştir. A6.2 olarak kodlanan izolatin NP öncülü ile etkileşime girdiğini kültür sıvısında meydana gelen hızlı renk değişimi ile göstermiştir. Literatürde partikül sentezinin işareti olarak kabul edilen renk değişimi reaksiyonun gerçekleştiği yönünde bir ipucu sağlamıştır ve çalışmanın bundan sonraki aşamalarına kültür sıvısındaki turuncu-sarıdan mor-siyaha dönen rengiyle A6.2 izolatıyla devam edilmiştir.



Şekil 4.1. GYP ve MEB sıvı besiyerlerinde geliştirilen A6.2 izolatı

a) GYP besiyerinde kültüre alınmış 3 günlük A6.2 izolatı. b) MEB besiyerinde kültüre alınmış 3 günlük A6.2 izolatı



Şekil 4.2. GYP ve MEB kültürlerinde geliştirilen A6.2 izolatına ait misellerin steril fizyolojik su içerisinde durumu a) 3 günlük GYP kültüründen alınan A6.2 misellerinin steril fizyolojik su içindeki durumu (Ortama seryum asetiloasetonat eklenmemiş) b) 3 günlük MEB kültüründen alınan A6.2 misellerinin steril fizyolojik su içindeki durumu (Ortama seryumasetiloasetonat eklenmemiş)

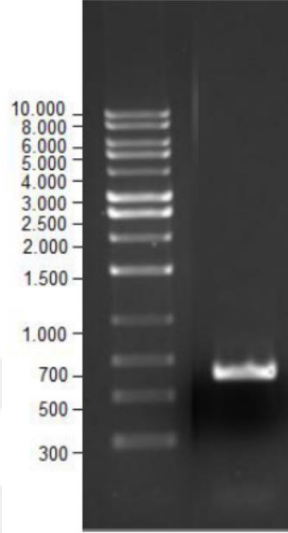


Şekil 4.3. GYP ve MEB kültürlerinde geliştirilen A6.2 izolatına ait misellerin steril fizyolojik su içerisinde seryum asetiloasetonat ile 3 günlük inkübasyon sonucundaki renk durumu a) GYP sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 kültürü. b) MEB sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 kültürü

4.2. A6.2 İzolatının Moleküler Teşhisi

A6.2 kodlu izolatın moleküler karakterizasyonu 18S-ITS1- 5.8S-ITS2-28S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirildi. Bu amaçla elde edilen Genomik DNA'da ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak hedef bölgenin çoğaltılması sağlandı. Şekil 4.4'de PCR ile amplikasyonu sağlanan gen bölgesinin agaroz jel elektroferoz sonucu elde edilen bant

görüntüsü gösterilmiştir. Sonuçlara göre bu izolatın *Fusarium oxysporum* mikrofungusu olduğu tespit edilmiştir.



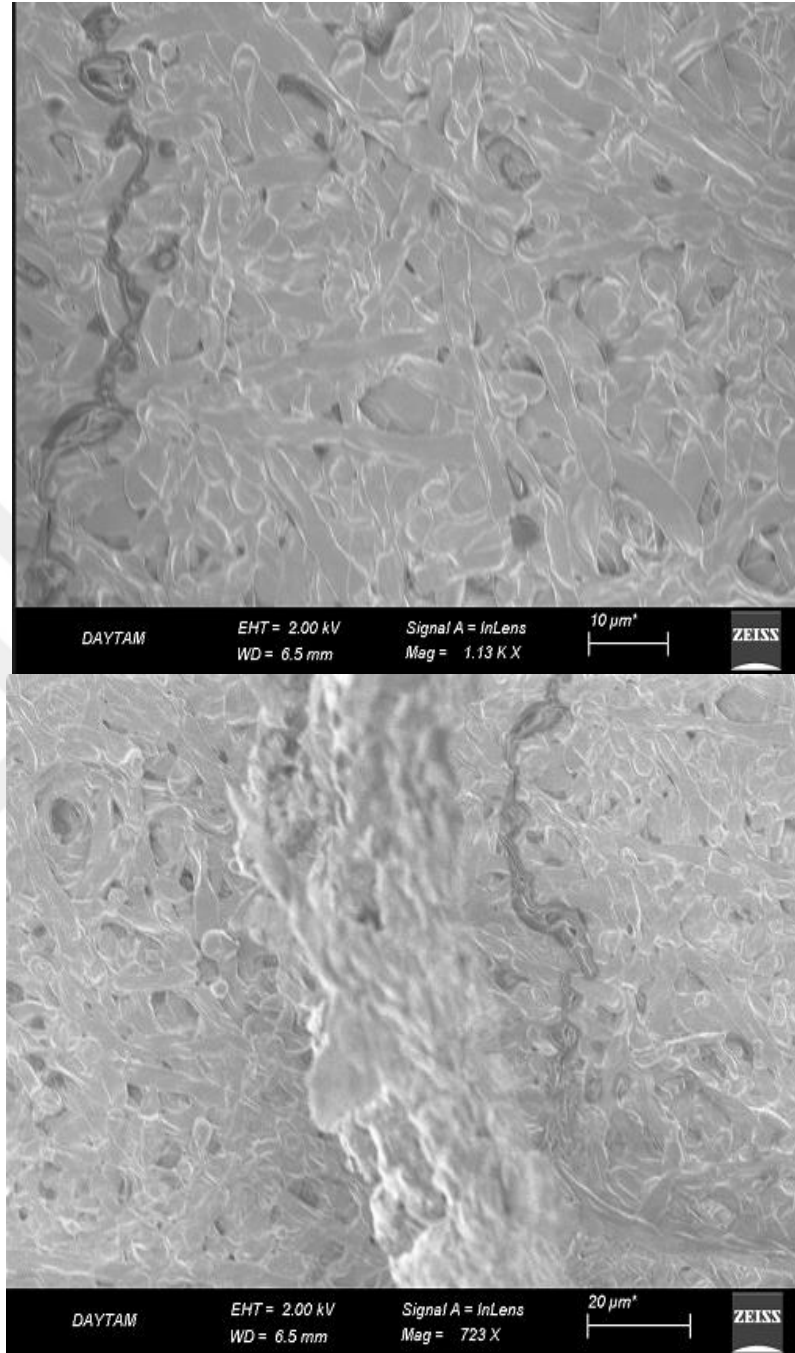
Şekil 4.4. Çoğaltılan 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S bölgesinin bant görüntüsü

4.3. Seryum Oksit Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

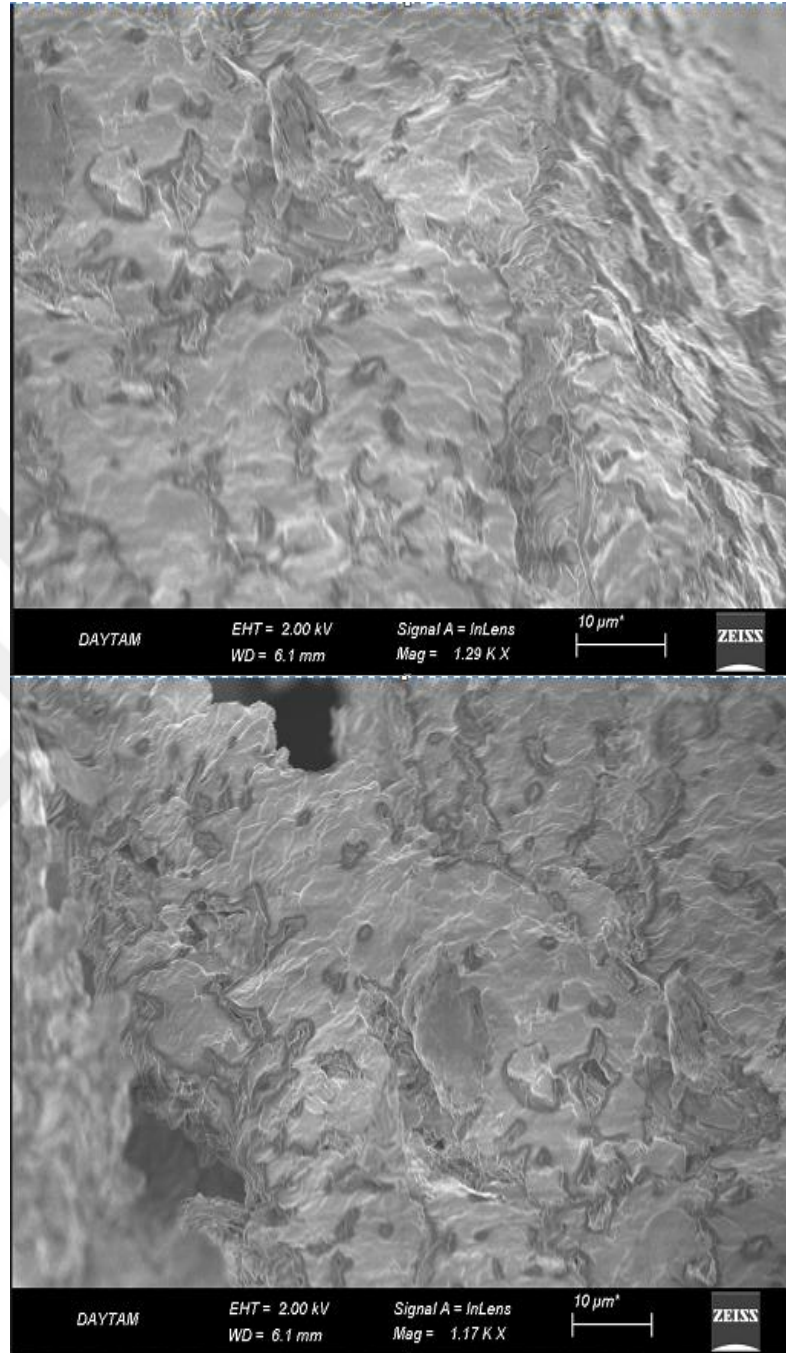
Nanopartiküllerin karakterizasyonu XRD, SEM, UV-vis spektroskopis, XPS ve FTIR analizleri ile şekil, boyut, enerji ve etkileşim içinde olduğu moleküller gibi detaylı özellikleri araştırılmıştır.

4.3.1. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

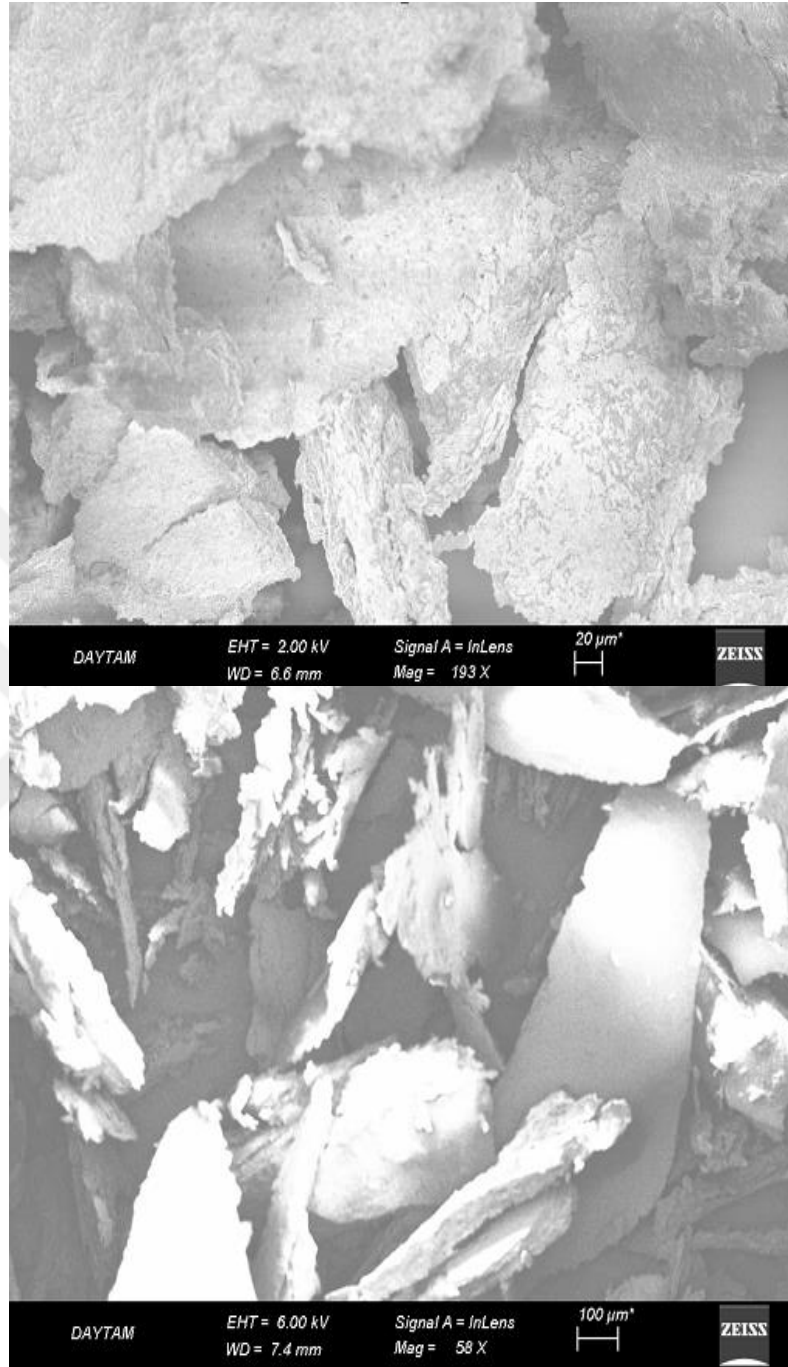
Sonuçlar GYP ve MEB için Şekil 4.5’de ve Şekil 4.6’da gösterilmiştir.



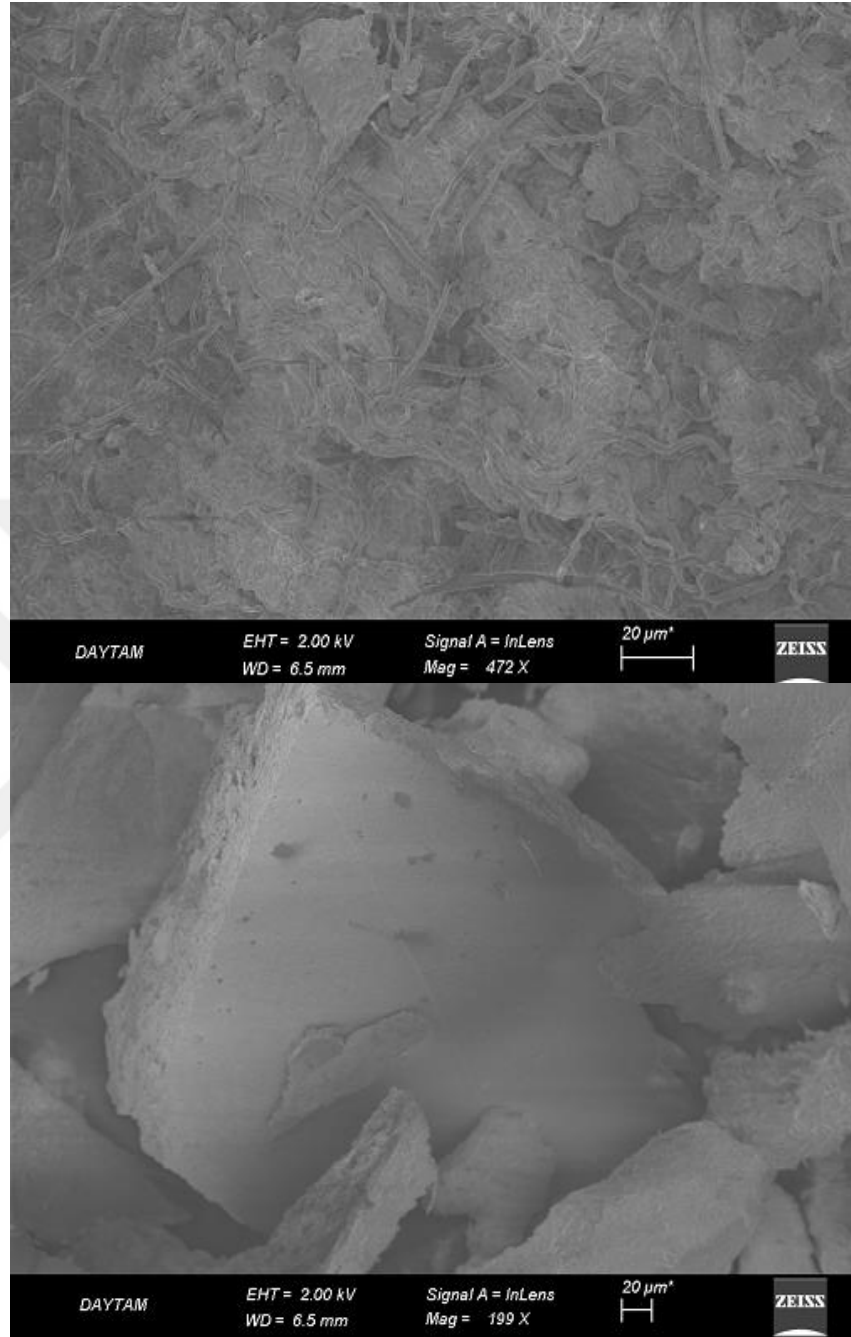
Şekil 4.5. (devam)



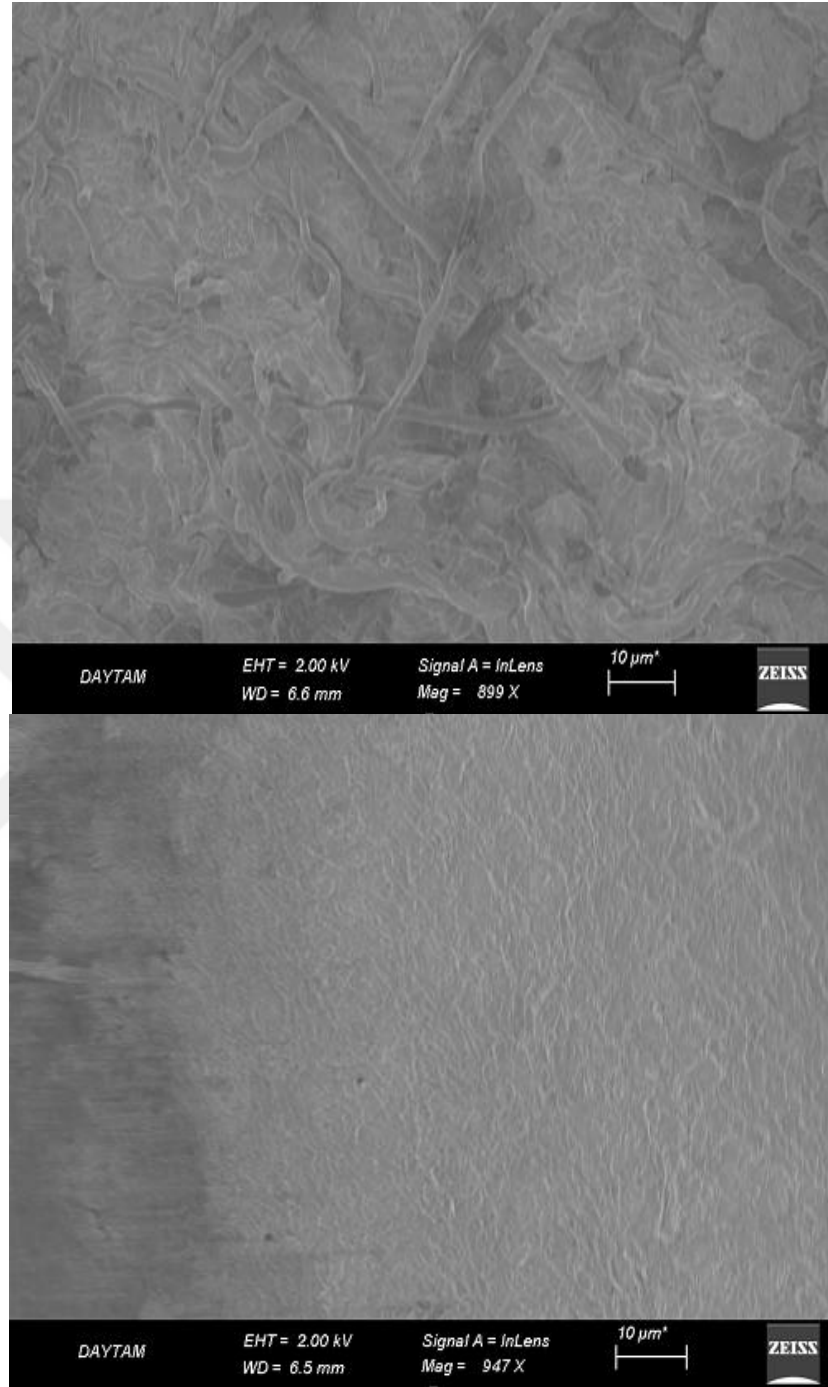
Şekil 4.5. (devam)



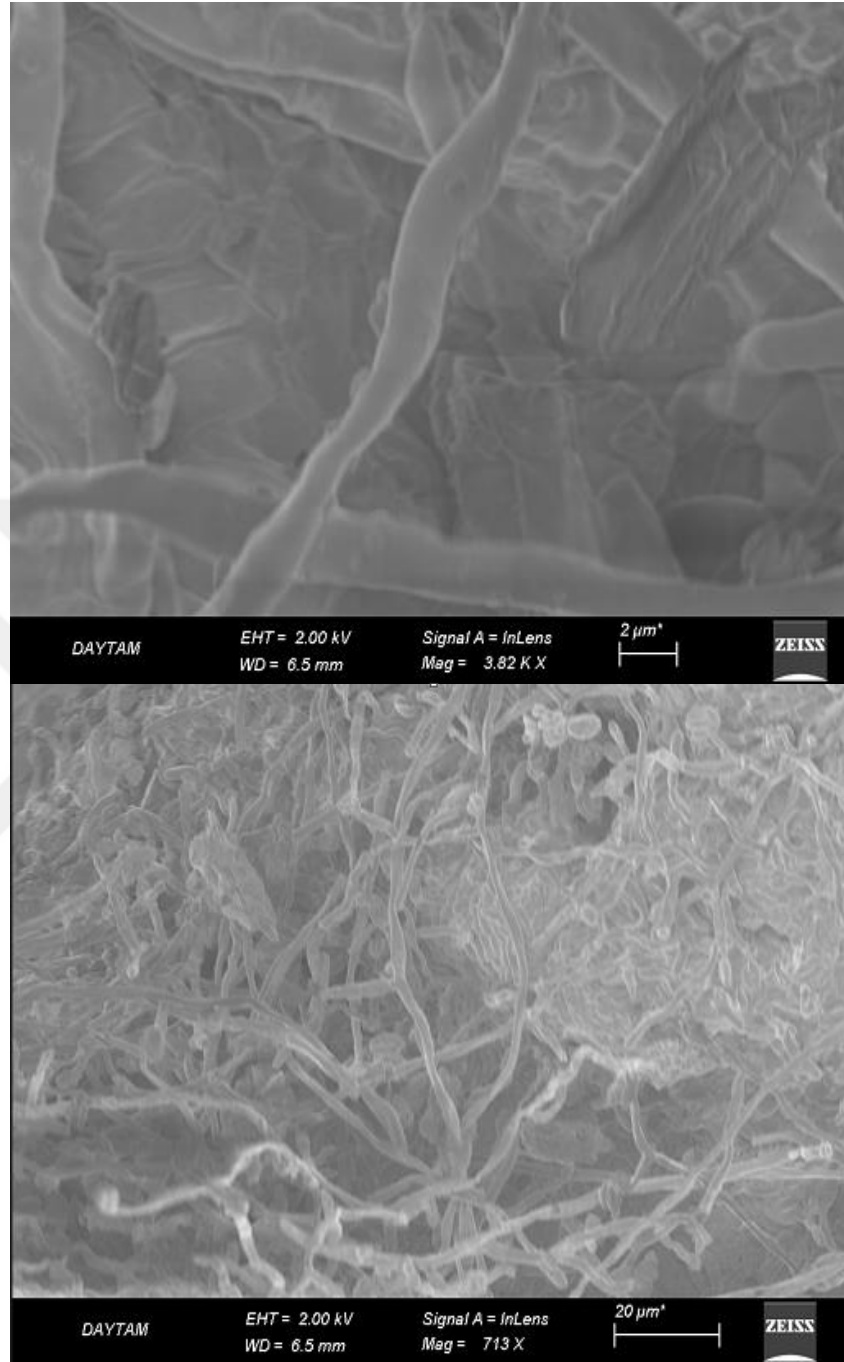
Şekil 4.5. GYP kültüründe gelişen küf miselleri üzerindeki CeO_{2-x} nanopartiküllerinin SEM görüntüleri



Şekil 4.6. (devam)



Şekil 4.6. (devam)

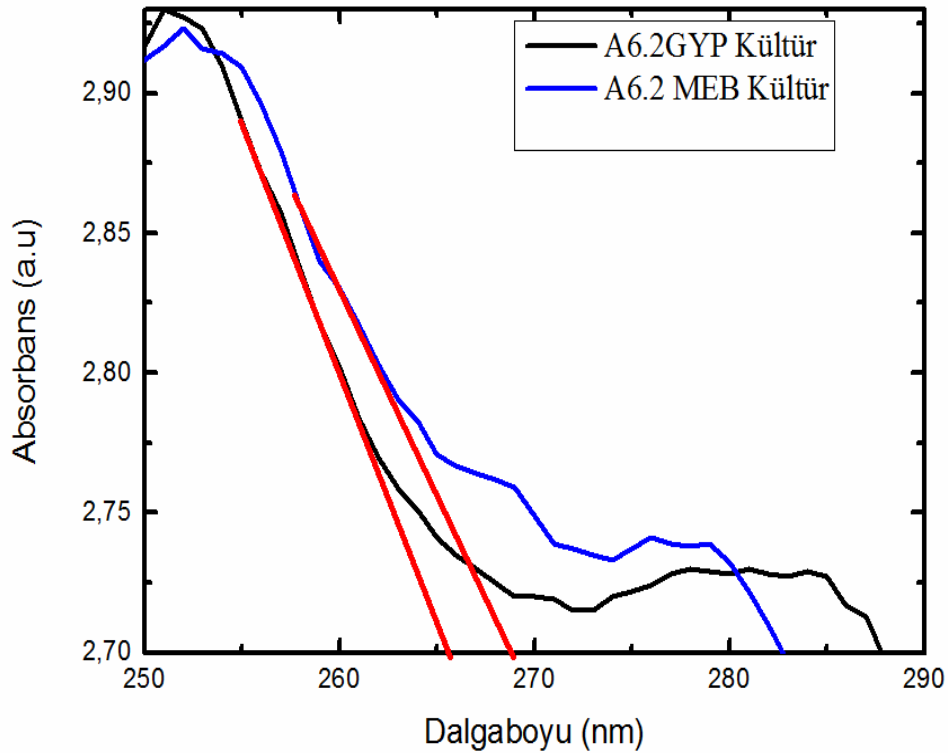


Şekil 4.6. MEB kültüründe gelişen küf miselleri üzerindeki $\text{CeO}_2\text{-x}$ nanopartiküllerinin SEM görüntüleri

4.3.2. UV-vis spektrofotometri

SEM görüntülerinin ardından farklı kültür sıvılarında geliştirilen misellerin

biyosentezini sağladığı nanopartiküller için UV-vis spektrofotometrik analiz 200-800 nm aralığındaki dalgaboyunda gerçekleştirildi. GYP kültür sıvısı içinde bulunan nanopartiküller için maksimum absorbans değeri 265.2 nm’de gözlenirken; MEB ortamındaki nanopartiküller için maksimum absorbans değeri 268.7 nm’dedir. UV-vis sonucundan elde edilen dalgaboyları kullanılarak farklı kültür sıvılarında bulunan CeONPs’nin bant aralığı sırasıyla 4.79 eV ve 4.62 eV olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.7’de UV-vis spektroskopisi sonuçları GYP ve MEB örnekleri için gösterilmiştir.

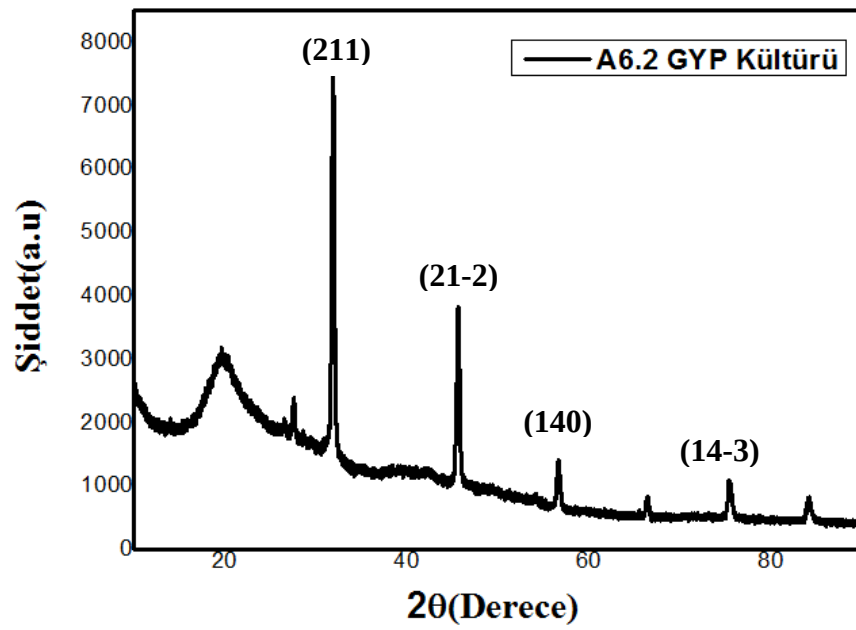


Şekil 4.7. GYP ve MEB kültür sıvılarındaki CeO_{2-x} için UV-vis spektrofotometri sonucu

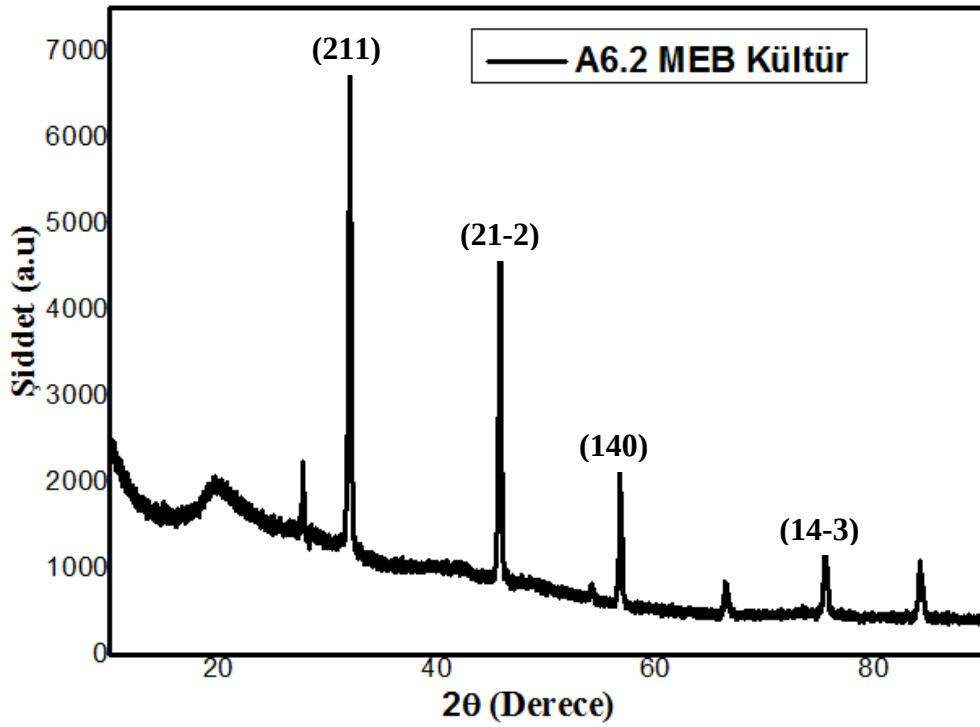
4.3.3. X-Işını kırınımı (XRD)

Hem GYP hem de MEB ortamlarında sentezlenen seryum oksit nanopartiküllerinin alınan toz XRD deseninin sonuçlarına göre kübik kristal yapıda CeO₂ yapısına ait açılardan sapmalar meydana geldiği gözlemlendi. XRD sonuçları oluşan seryum oksit

nanopartiküllerinin literatürde bilinen CeO_2 yapısında değil, oksijen eksiliği gözlenen CeO_{2-x} (ICSD 01-071-0567 kart numarasına sahip) rhombohedral kristal yapıdaki nanopartiküllerin oluştuğunu göstermektedir. Saf kübik kristal yapı göstermeyen bu partiküllerin kristal boyutu Scherrer formülü ($D = 0.9 \lambda / \beta \cos \theta$) kullanılarak ortalama kristal boyutu 45-50 nm olarak hesaplanmıştır. XRD analiz sonuçları Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da GYP ve MEB sıvı besiyerleri için sırasıyla gösterilmiştir.



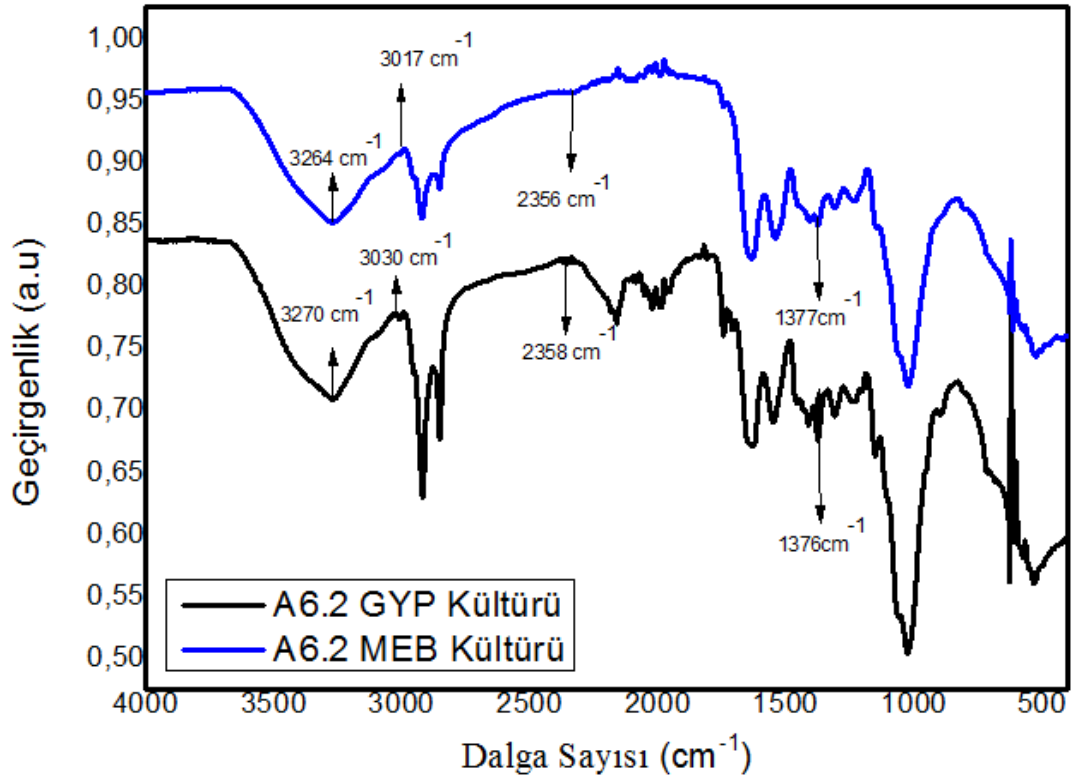
Şekil 4.8. GYP sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 tarafından biyosentezi gerçekleştiren CeO_{2-x} için XRD sonucu



Şekil 4.9. MEB sıvı besiyerinde geliştirilen A6.2 tarafından biyosentezi gerçekleşen CeO_{2-x} için XRD sonucu

4.4.4. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

FTIR analizlerinde $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ aralığında ile GYP ve MEB kültürleri incelenmiştir. Bu incelemelerde CeO_{2-x} nanopartikülleri ve etikleşimde olduğu fonksiyonel kimyasal yapılara ait bilgiler elde edilmiştir. Daha önce CeO_2 NPs için yapılan bir green sentez çalışmasında Ce-O gerilme bandı 400 cm^{-1} , O-Ce-O gerilme bandı $2358-1394 \text{ cm}^{-1}$ 'de, alkol ve sudan kaynaklanan titreşim bandının $3750-3000 \text{ cm}^{-1}$, karboksilik gruplara ait gerilme bandı 1647 cm^{-1} olarak gözlemleneceği belirtilmiştir. (Arumugam *et al.*, 2015). Buna göre FTIR sonucunda O-Ce-O gerilme bandı GYP ve MEB kültür örnekleri için sırasıyla $2358-1376 \text{ cm}^{-1}$ ve $2356-1377 \text{ cm}^{-1}$ görülmektedir. Kübik kristal CeO_2 partiküllerinin gerilme bandından sapmalar mevcut olduğu FTIR sonucunda da gösterilmiştir. GYP ve MEB için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için FTIR analiz sonucu Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

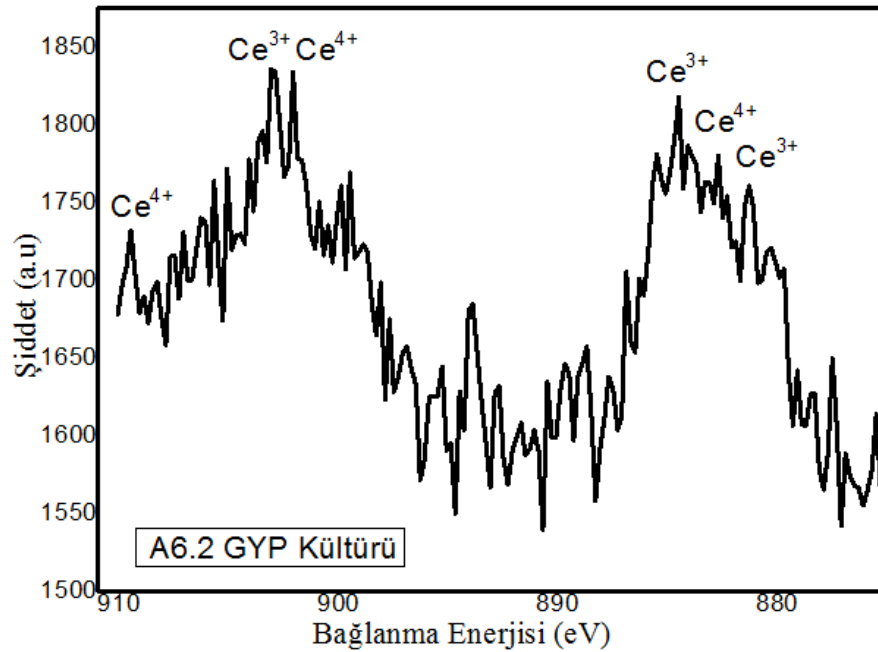


Şekil 4.10. GYP ve MEB için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için FTIR analiz sonucu

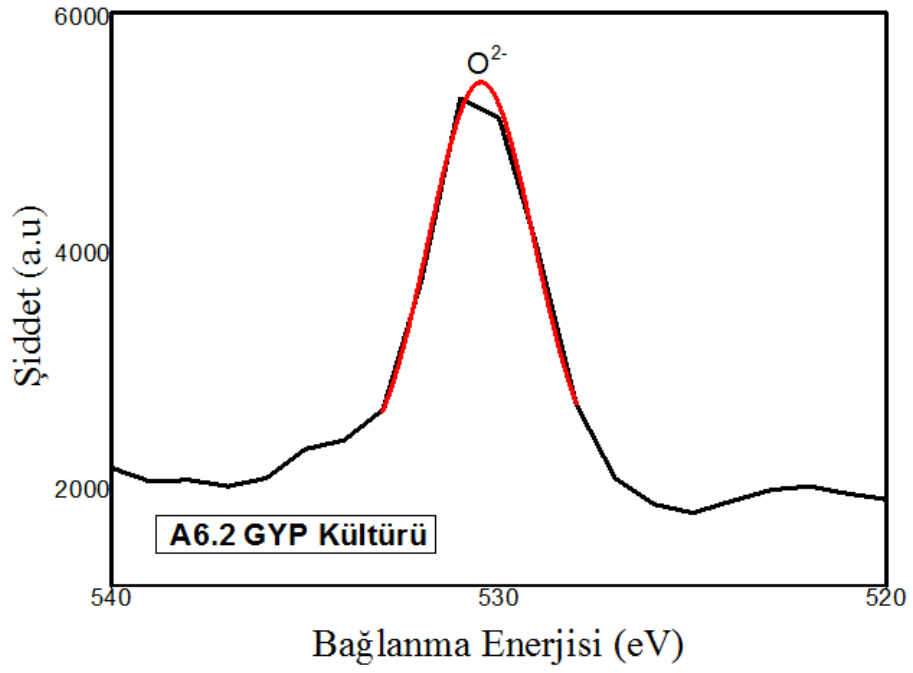
4.4.5. X-Işını fotoelektron spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) analizi; Ce ve O atomlarının oksidasyon basamaklarının ve varsa CeO_{2-x} NP'lerin yüzey kompozisyonunu araştırmak için gerçekleştirildi. GYP sıvı besiyerinde büyütülen misellerin biyosentezini gerçekleştirdiği CeO_{2-x} 'leri için 882.6, 902.2 ve 909.4 eV'da gözlenen bağlanma enerjileri, Ce(IV) $3d_{3/2}$ ve Ce(IV) $3d_{5/2}$ alt kabuk seviyelerine karşılık gelmektedir. Diğer taraftan 881.3, 884.5 ve 903.0 eV bağlanma enerjilerinde gözlenen pikler ise, Ce(III) $3d_{3/2}$ ve Ce(III) $3d_{5/2}$ alt kabuk orbitallerine aittir. Yani GYP sıvı besiyerinde büyütülen misellerin biyosentezini gerçekleştirdiği seryum oksit nanopartikülleri Ce(III) ve Ce(IV) oksidasyon basamaklarının karışımıdır. MEB sıvı besiyerinde ise bu değerler Ce(IV) $3d_{3/2}$ ve Ce(IV) $3d_{5/2}$ için bağlanma enerjisi 883.3, 902.2, 906.7 ve 909.1 eV; Ce(III) $3d_{3/2}$ ve Ce(III) $3d_{5/2}$ 'ye denk gelen bağlanma enerjileri ise 880.3,

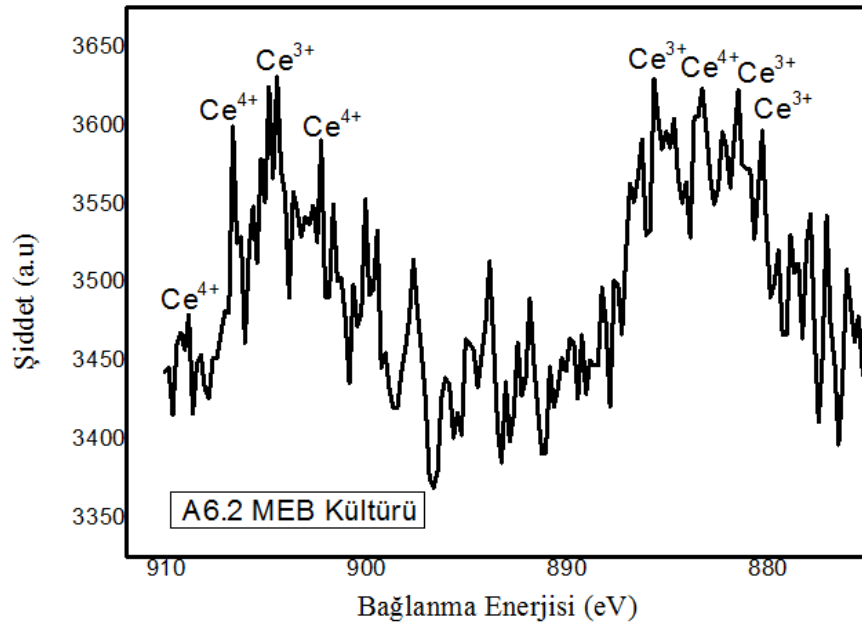
881.5, 885.7 ve 904.4 eV’da kaydedilmiştir. Oksijen atomu için bağlanma enerjileri GYP besiyerinde geliştirilen misellerin biyosentezlediği NP örnekleri için 530.4 eV iken MEB için bağlanma enerjisi 531.5 ve 535.4 eV olarak görülmektedir. Bu da iki farklı ortamda sentezi gerçekleştirilen seryum oksit nanopartiküllerinde farklı oksijen atomu bağlanmalarının varlığını işaret etmektedir. Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de GYP ve MEB sıvı besiyerinde büyütülen misellerle biyosentezi gerçekleştirilen CeONP’deki Ce ve O elementleri için bağlanma enerjileri gösterilmiştir. Ayrıca XPS analiz sonuçları GYP ve MEB sıvı besiyerinde geliştirilen küf miselleriyle gerçekleştirilen nanopartikül biyosentezi sonunda kültür ortamlarında mevcut olan atom yüzdelelerini GYP sıvı besiyerinde O (oksijen) 1s orbitali %17.8, C (karbon) 1s orbitali %81.6, Ce (seryum) 3d $5/2$ alt kabuk orbitalleri %0.5 oranında bulunurken; MEB sıvı besiyerinde bu değerler O (oksijen) 1s orbitali %18.68, C (karbon) 1s orbitali %78.73, Ce (seryum) 3d $5/2$ alt kabuk orbitalleri %0.15 ve N (azot) 1s orbitali için %2.42 olarak göstermiştir.



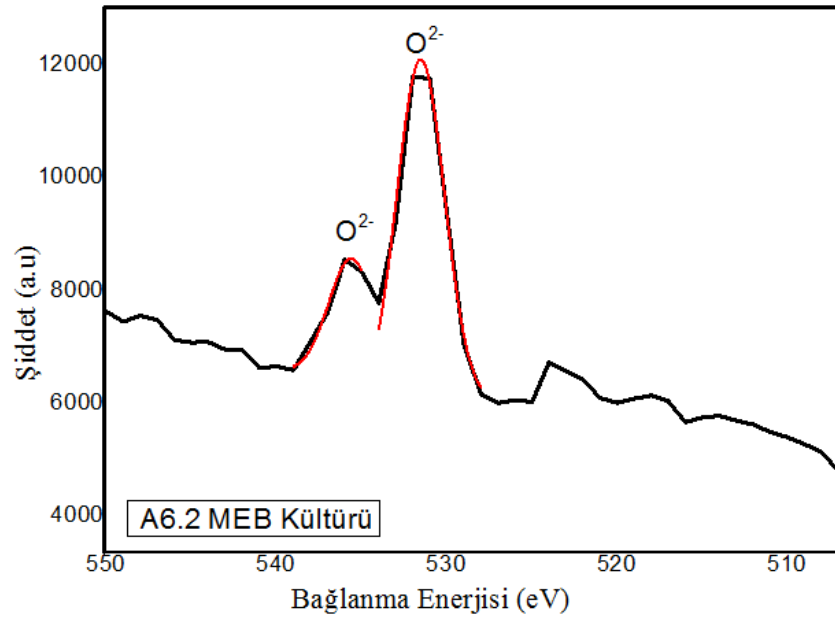
Şekil 4.11. GYP besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için seryum (Ce) atomuna ait XPS analiz sonucu



Şekil 4.12. GYP besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için oksijen (O) atomuna ait XPS analiz sonucu



Şekil 4.13. MEB besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için seryum (Ce) atomuna ait XPS analiz sonucu



Şekil 4.14. MEB besiyeri için A6.2 miselleriyle biyosentezi gerçekleştirilen CeO_{2-x} için oksijen (O) atomuna ait XPS analiz sonucu

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nanoteknoloji bilimsel araştırma alanlarından en hızlı büyüyenler arasındadır ve çok çeşitli alanlarda önemli uygulamalara sahiptir. Uygulama alanları için yaklaşık iki milyon işçi gücü gerektirir (Roco 2005). Nanoboyutlu materyaller halihazırda kozmetik, güneş koruyucuları, farmasötikler, leke tutmayan giysiler, spor malzemeleri, otomobil katalitik konvertörleri, diş yapıştırma, temizlik ürünleri, yara bakımı için özel giysiler gibi piyasada bulunan pek çok üründe kullanılmaktadır. Bu materyallerin pek çoğu için ilaç salınım sistemleri, nanotıp, çevre remediasyonu ve hücre görüntüleme gibi umut vaad eden gelecek uygulamalarda hızlı ilerleme beklenmektedir. Her yıl piyasaya yeni nanomateriyaller giriş yapmaktadır (Woodrow Wilson International Center for Scholars 2007). Gelecek yıllarda daha fazla üretici ve tüketici nanomalzemelerle etkileşim içinde olacaktır.

Nanopartiküller optik, kimyasal, fotoelektrokimyasal ve elektronik özelliklerinden dolayı dünya çapında dikkat çekmektedirler (Chandrasekharan and Kamad 2000; Peto *et al.* 2002; Krolikowska *et al.* 2003; Kumar *et al.* 2003).

Son yıllarda metalik nanoparçacıklara ve sentezlerine olan ilgi büyük ölçüde artmıştır. Bu durum kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak metalik nanopartikül üretimi için sayısız metot geliştirilmesine neden olmuştur. Bununla birlikte, zehirli kimyasalların kullanımı ve yüksek enerji gereksinimi gibi dezavantajlar, bu yöntemlerin yaygın şekilde uygulanmasını zorlaştırmaktadır (Pantidos and Horsfall 2014).

Nanopartikül sentezlemenin alternatif bir yolu, bakteri, maya, fungi ve bitkiler gibi canlı organizmaları kullanmaktır. Biyolojik sistemler, sürdürülebilir kaynak, verimli ve ucuz bir sentez yöntemi sağlamak amacıyla araştırılmıştır. Birçok farklı biyolojik şasi metal iyonlarının metalik nanoparçacıklar üretirken toksik etkilerine karşı direnç göstermeleri bakımından incelenmiştir.

Biyolojik nanopartikül üretimini bir başka deyişle "green (yeşil) sentez" yöntemi, düşük enerji ihtiyacı ve düşük maliyetlerle sulu koşullarda partikül sentezi yapılmasına olanak tanıyan umut verici bir yaklaşımdır. Bakterin fungus veya bitkiler gibi diğer biyolojik sistemlere kıyasla kültüre edilmesi nispeten daha ucuzdur ve yüksek bir büyüme oranına sahiptir. Onların manipülasyon ve genetik mühendisliği ile optimize edilme kolaylığı, s nanopartiküllerin kısa vadede biyosentezi için tercih edilen organizma olarak bitkiler ve funguslara karşı avantaj sağlar. Alternatif olarak funguslar, nanopartikül sentez oranını artıracak çok yüksek miktarda protein salgılayabilme yeteneğindedir. Ayrıca funguslar bakterilere kıyasla çok daha yüksek bir yüzey alanı sağlayan misellere sahiptir ve bu alan metal iyonlarının metalik nanoparçacıklara dönüşümünü arttırmak için avantaj sağlar. Funguslar ayrıca hücre dışı nanopartikül üretildiklerinde alt işlem (saflaştırma) kolaylığı sağlamaktadır ve bu sayede nanopartiküller ortamdan daha yüksek verimle alınabilir. Ölçeklenebilirlik, ticari üretim durumunda dikkate alınacak bir diğer faktördür. Nanopartikül üretiminde funguslar bakterilere ve diğer biyolojik yapılara kıyasla büyük ölçekli reaktörlerde daha kolay kullanım olanağı sunmalarından ötürü uzun vadede green sentez çalışmaları için en uygun biyosentez ajanı olduğuna karar verilebilir (Pantidos and Horsfall 2014).

Seryum nanopartikülleri için farklı kimyasal sentez metodları çalışılmıştır. Ancak kimyasal sentezin maliyet, biyoyumluluk, toksite gibi önemli parametrelerde sınırlandırmalar taşıması CeONPs'i için green (yeşi) sentez metodlarını daha avantajlı kılmaktadır.

Yapılan tez çalışmasında metalik nanopartiküllerin önemli bir üyesi olan seryum nanopartiküllerinin hızlı ve güvenli sentezi gerçekleştirilmiştir.

Seryum oksit nanopartiküllerinin (CeONPs) çeşitli özellikleri, bilim insanlarını CeONP'leri kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için bir terapötik madde olarak takip etmeye teşvik etmektedir. İn vitro ve in vivo çalışmalar, CeONPs'inin kanser hücreleri için toksik olduğu, metastazı engellediğini ve kanser hücrelerini radyasyon terapisine duyarlı hale getirdiğini göstermiştir. Bununla birlikte,

CeONPs'i normal dokulara minimal toksik etki gösterirler ve çeşitli reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine karşı koruma sağlarlar. Radyasyondan korunmayı sağlayan CeONP'inin antioksidan özellikleri, bu partiküllerin diyabet ve maküla dejenerasyonu gibi ROS birikimi ile karakterize edilen diğer bozuklukların potansiyel bir tedavisi olarak araştırılmasına da neden olmuştur. Bu parçacıkların alınması, tutulması ve temizlenmesi ile ilgili kritik bilgiler eksik olsa da ve in vitro toksisite ile ilgili çelişkili raporlar mevcut olsa da, CeONP'lerin çeşitli uygulamalarına yönelik araştırmaların çoğunda umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Wason and Zhao 2013).

Litertür araştırmalarında CeO₂ nanopartiküllerine ait birkaç biyolojik sentez çalışması saptanmıştır. Sayıca çok az olan bu çalışmaların neredeyse tamamı bitki ve ekstraktlarıyla gerçekleşmiştir.

Tamamlanan bu tez çalışmasında partikül biyosentezini gerçekleştiren fungi (A6.2) *Fusiarum oxysporum* olarak teşhis edilmiştir. Literatür araştırmalarında *Fusiarum oxysporum* ile Ag, Au, CdS, Pt nanopartiküllerinin sentezi bilim insanları tarafından bildirilmiştir. Ag, Au, CdS, Pt gibi metalik nanopartiküllerin bir üyesi CeONPs'nin bu mikrofungusun hiçbir türüyle daha önce biyosentezi gerçekleştirilmemiştir.

Tez çalışmasında kullandığımız fungal *Fusiarum oxysporum* yoğun bir misel yapısına sahiptir. Yüzey alanını artıran bu misel varlığı sayesinde *Fusiarum oxysporum* seryum oksit nanopartikül öncül maddesi ile daha fazla etkileşim kurmuştur.

Tıbbi ve biyolojik olarak pek çok uygulamada potansiyel olacak bu partiküllerin minimal toksik etki ve maksimum çevre dostu bir yöntem olan green sentez ile fungal biyosentezi tıbbi uygulamadaki toksite ve sınırlandırmaları ortadan kaldırabilecektir.

Besiyeri içeriğinin partikül biyosentezini etkileyip etkilemediğini saptamak amacıyla GYP ve MEB olarak adlandırılan iki farklı besiyeri dizayn edilmiş ve biyosentez deneyleri tekrarlanmıştır. Kolorimetrik olarak sonuçlar incelendiğinde iki besi ortamına salınan partiküller arasında büyük bir fark görülmemekle birlikte ileri karakterizasyon

çalışmalarında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Literatürde CeONPs'nin UV-vis analizlerinde taramalar genellikle 200-600 nm arasında gerçekleştirilmektedir. Bitki ekstraktlarıyla gerçekleştirdikleri çalışmada Moqbool *et al.* (2016) CeONPs için UV-vis spektrumunda maksimum absorbanası 315 nm'de kaydetmişlerdir. Arumugam *et al.* (2015) UV-vis için maksimum absorbanası 486 nm'de kaydetmişler ve her iki çalışmada bu değerlere bağlı olarak hesaplanan bant aralığı dalgaboyu ile ters orantılı olarak değişiklik göstermektedir. Tez çalışmasında *Fusiarum oxysporum*'un miselleri GYP ve MEB olarak iki farklı besiyerinde büyütüldü. Farklı kültür ortamlarında farklı gelişim gösteren bu miseller partiküllerin biyosentezini gerçekleştirebildi. Kolorometrik olarak kültür sıvılarında MEB besiyerinde gelişen miseller GYP besiyerinde gelişen misellere nazaran daha koyu görülmektedir. Besiyeri içeriğinin CeO_{2-x} nanopartiküllerinin biyosentezine olan bu etkisi UV-vis spektrumda GYP ve MEB besiyerleri için sırasıyla maksimum pik değeri 265.6 ve 268.7 nm ve enerjiler ise 4.79 eV, 4.62 eV olarak yansımıştır. Bu sonuçtan besiyeri kompozisyonunun partikül enerjisini etkileyebildiği sonucuna varılabilir.

SEM görüntülerinde tek tip olmayan CeONPs şekil ve dağılımları belirli bir homojenite göstermediği görüldü.

Priya *et al.* (2014) çalışmalarında kaydettikleri XRD sonucunda (111), (200), (220), (311), (222), (400), (331) ve (420) olarak belirledikleri Miller indislerine (h,k,l) denk gelen 28.57, 33.13, 47.5, 56.38, 59.07, 69.5, 76.7 ve 79.09 2θ açılarında biyosentezledikleri nanopartiküllerinin kristal yapısının FCC kübik, CeO_2 yapısındaki Ce(IV)'e ait olduğunu göstermişleridir. *Fusiarum oxysporum* ile gerçekleştirilen tez çalışmamızda ise belirtilen bu 2θ açılarında bir takım kaymalar görüldü. (211), (21-2), (140), (14-3) sabitlerini karşılayan 27.83, 32.19, 46.29, 54.77 2θ açılara denk gelen rombohedral kristal yapıdaki CeO_{2-x} partiküllerinin sentezlendiği teyit edilmiştir. GYP ve MEB misellerinin gerçekleştirdiği biyosentezin XRD analiz sonuçlarında bir farklılık bulunmaması kristal yapıya kültür ortamının kayda değer bir etki etmediğini göstermektedir. Ayrıca her iki durum için de 2θ açılarının yardımıyla partiküllerin 45-50 nm ortalama boyuta sahip olduğu belirlendi.

Partikülün yüzey kimyasına ilişkin bilgiler sunan FTIR sonucu literatür çalışmalarında baz alınan CeO_2 gerilme bandını gösteren $2358\text{-}1394\text{ cm}^{-1}$ (Arumugam *et al.*, 2015) frekans aralığından sapmalar GYP ortamı için $2358\text{-}1356\text{ cm}^{-1}$ aralığı ve MEB için ise $2356\text{-}1377\text{ cm}^{-1}$ aralığı olarak belirlenmiştir. GYP ve MEB için CeO_{2-x} 'den alınan FTIR sonuçları farklı noktalarda alınan titreşimlerin ortamda etkileşim içinde olan moleküllerden kaynaklanabileceği fikrini oluşturmuştur. Priya *et al.*, (2014) yeşil sentezini sağladıkları CeO_2 nanopartikülleri için FTIR sonuçlarında 1417.73 , 1653.03 , 1384.98 , 1151.54 , 879.57 , 624.96 cm^{-1} frekanslarının alken, karboksil, alkan, alkil halojenürlerin sahip olduğu -C-H , C=O , -C-H , C-F , =C-H ve C-Cl gibi fonksiyonel gruplara denk geldiğini belirtmişlerdir. GYP ve MEB için CeO_{2-x} 'den alınan FTIR sonuçları farklı noktalarda alınan titreşimlerin ortamda etkileşim içinde olan başka moleküllerden kaynaklanabileceği fikrini oluşturmuştur.

Korsvik *et al.* (2006) Ce(IV) oksidasyon durumunda bulunan CeO_2 nanopartikülleri için $\text{Ce } 3d_{3/2}$ alt kabuk orbitalinde bağlanma enerjisinin $895\text{-}910\text{ eV}$ ve $\text{Ce } 3d_{5/2}$ 'de ise $875\text{-}895\text{ eV}$ aralığında olabileceğini belirtmişler ve Ce(III) oksidasyon durumu için bağlanma enerjilerini 880.2 , 885.0 , 899.5 , 903.5 eV ; Ce(IV) oksidasyon durumunda ise bağlanma enerjilerini 882.1 , 888.1 , 898.0 , 900.9 , 906.4 ve 916.4 eV merkezli bantlara denk geldiğini göstermişlerdir. Yapılan tez çalışmasında CeO_{2-x} nanopartikülleri için XPS analizi iki farklı besiyerinde geliştirilen miseller aracılığıyla sentezlenen partikül örnekleri için yapılmıştır. Ce ve O atomlarının CeO_2 kübik simetrisinde sahip oldukları bağlanma enerjilerinden sapmalar olduğu görülmüştür. XPS analizlerinde GYP için $\text{Ce(IV)} 3d_{3/2}$ ve $\text{Ce(IV)} 3d_{5/2}$ alt kabuk seviyelerine karşılık gelen enerji değerleri 882.6 , 875.5 , 877.5 , 899.9 , 902.2 , 905.1 , 909.4 eV ve $\text{Ce(III)} 3d_{3/2}$ ve $\text{Ce(III)} 3d_{5/2}$ alt kabuk seviyelerinde ise bu değerler 881.3 , 884.5 , 903.0 eV şeklindedir. MEB için $\text{Ce(IV)} 3d_{3/2}$ ve $\text{Ce(IV)} 3d_{5/2}$ alt kabuk seviyelerinde enerji değerleri 883.3 , 900.1 , 902.2 , 906.7 , 909.1 eV iken $\text{Ce(III)} 3d_{3/2}$ ve $\text{Ce(III)} 3d_{5/2}$ için 880.3 , 881.5 , 885.7 , 904.4 eV şeklindedir. Literatürde O atomu için 530 eV olarak belirtilen bağ enerjisi çalışmada GYP besiyeri örneğinde 530.4 eV olarak, MEB'de ise 531.5 ve 535.4 eV olarak hesaplanmıştır.

Tüm bu nanopartikül biyosentezi ve karakterizasyonu çalışmalarının sonucunda CeO_2 kübik kristal yapının sahip olması gereken kübik kristal yapı, mevcut 2θ açıları, bant enerjisi, alt kabuk bağlanma enerjisinde meydana gelen farklılıklar CeO_2 değil CeO_{2-x} yapısındaki nanopartiküllerin biyosentezinin gerçekleştiğini göstermiştir.



KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M.I., *et al.* 2002. Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *J Am Chem Soc.*, 124: 12108-12109.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M.I., *et al.* 2003. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28: 313-318.
- Ahrens, T.J., 1995. *Global Earth Physics: Handbook of Physical Constants*. American Geo- physical Union, Washington DC.
- Amarnath, K., Mathew, N., Nellore, J., Siddarth, C., Kumar, J., 2011. Facile synthesis of biocompatible gold nanoparticles from *Vitis vinifera* and its cellular internalization against HBL-100 cells. *Cancer Nanotechnol.*, 2:121–32.
- Arumugam, A., Karthikeyan, C., Hameed., Gopinath, K., Gowri, A.S.H.S., Karthika, V., 2015. Synthesis of cerium oxide nanoparticles using *Gloriosa superba* L. leaf extract and their structural, optical and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C* ., 49; 408–415.
- Asati, A., Santra, S., Kaittanis, C., Nath, S., Perez, J.M., 2009. Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, 48: 2308– 2312. doi:10.1002/anie.200805279.
- Balasubramanian, K., Burghard, M., 2006. Biosensors based on carbon nanotubes. *Anal Bioanal Chem.*, 385 : 452-68.
- Bao, H., Lu, Z., Cui, X., Qiao, Y., Guo, J., Anderson, J.M., *et al.* 2010. Extracellular microbial synthesis of biocompatible CdTe quantum dots. *Acta Biomater.*, 6:3534–41.
- Beveridge, T.J., Hughes, M.N., Lee, H., Leung, K.T., Poole, R.K., Savvaidis, I., Silver, S., Trevors, J.T., 1997. Metal–microbe interactions: contemporary approaches, *Adv. Microb. Physiol.*, 38 : 177–243.
- Bhainsa, K.C. and D’Souza, S.F., 2006. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47 : 160–164.
- Bindhu, M.R., Umadevi, M., 2014. Silver and gold nanoparticles for sensor and antibacterial applications. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc.*, 128:37–45
- Bosi, S., Da, R.T., Castellano, S., Banfi, E., Prato, M., 2000. Antimycobacterial activity of ionic fullerene derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.*, 10 : 1043-5.
- Bruins, R.M., Kapil, S., Oehme, S.W., 2000. Microbial resistance to metal in the environment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 45: 198–207.
- Bunge, M., Sobjerg, L.S., Rotaru, A.E., Gauthier, D., Lindhardt, A.T., Hause, G., *et al.* 2010. Formation of palladium(0) nanoparticles at microbial surfaces. *Biotechnol Bioeng.*, 107:206–15.
- Cai, W., Gao, T., Hong, H., Sun, J., 2008 Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology. *Nanotechnol Sci Appl.*, 1: . doi:10.2147/NSA.S3788.
- Cao, G., 2004. *Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties and applications*. London: Imperial College Press.

- Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M., 2010. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends Biotechnol.*, 28:580–8.
- Chandrasekharan, N., Kamat, P.V., 2000. Improving the photoelectrochemical performance of nanostructured TiO₂ films by adsorption of gold nanoparticles *J Phys Chem B.*, 104:10851–10857.
- Chithrani, B.D., Ghazani, A.A., Chan, W.C.W., 2006. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett.* 6:662–8.
- Correa-Llanté, D.N., Muñoz-Ibacache, S.A., Castro, M.E., Muñoz, P.A., Blamey, J.A., 2013. Gold nanoparticles synthesized by *Geobacillus* sp. strain ID17 a thermophilic bacterium isolated from Deception Island, Antarctica *Microbial Cell Factories*, 12:75.
- Cuenca, A.G., Jiang, H., Hochwald, S.N., Delano, M., Cance, W.G., Grobmyer, S.R., 2006. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics. *Cancer*, 107 : 459 66.
- Das, N., 2010. Recovery of precious metals through biosorption – a review. *Hydrometallurgy*, 103:180–9.
- Das, V., Thomas, R., Varghese, R., Soniya, E.V., Mathew, J., *et al.* 2014. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. *3 Biotech.*, 4: 121-126.
- Davis, P.B., Cooper, M.J., 2007. Vectors for airway gene delivery. *AAPS J* 9 : E11-7.
- De Corte, S., Hennebel, T., De Gussemé, B., Verstraete, W., 2012 Boon N. Biopalladium from metal recovery to catalytic applications. *Microb Biotechnol.*, 5: 5–17.
- Deplanche, K., Caldelari, I., Mikheenko, I.P., Sargent F., Macaskie, L.E., 2010. Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic Pd(0) nanoparticles by bioreduction of Pd(II) using *Escherichia coli* mutant strains. *Microbiology*, 156: 2630-2640.
- Desai, T.A., Chu, W.H., Tu, J.K., Beattie, G.M., Hayek, A., Ferrari, M., 1998. Microfabricated immunoisolating biocapsules. *Biotechnol Bioeng.* 57 : 118-20.
- Dhillon, G.S., Brar, S.K., Kaur, S., Verma, M., 2012. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Crit Rev Biotechnol.*, 32:49 73.
- Dreher, K.L., 2004. Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. *Toxicol Sci.* 77:3–5.
- Durán, N., Marcato, P.D., Alves, O.L., I.H. De Souza, G., Esposito, E., 2005. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, 3:8 doi:10.1186/1477-3155-3-8.
- Dutta, D., Mukherjee, R., Patra, M., Banik, M., Dasgupta, R., Mukherjee, M., Basu, T., 2016. Green synthesized cerium oxide nanoparticle: A prospective drug against oxidative harm. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 1;147:45-53.
- E.P.A., 2007. Nanotechnology white paper. Prepared for the U.S. Environmental Protection Agency by members of the Nanotechnology Workgroup, a group of EPA's Science Policy Council Science Policy Council U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.

- Edmundson, M.C., Capeness, M., Horsfall, L., 2014. Exploring the potential of metallic nanoparticles within synthetic biology. *N Biotechnol.*, 31: 572-578.
- Eppler, A.S., Rupprechter, G., Anderson, E.A., Somorjai, G.A., 2000. Thermal and chemical stability and adhesion strength of Pt nanoparticle arrays supported on silica studied by transmission electron microscopy and atomic force microscopy. *J Phys Chem B.*, 104:7286–92.
- Feldheim, D.L., Foss, C.A., 2002 *Metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Feng, X.D., Sayle, D.C., Wang, Z.L., Paras, M.S., Santora, B., Sutorik, A.C., Sayle, T.X.T., Yang, Y., Ding, Y., Wang, X.D., Her, Y.S., 2006. Converting ceria polyhedral nanoparticles into single-crystal nanospheres. *Science*, 312, 5779:1504–1508.
- Fréchet, J., Tomalia, M. J., D. A., 2001. *Dendrimers and Other Dendritic Polymers* Eds.; Wiley Series in Polymer Science; Wiley: Chichester, England.
- Freitas, Jr. R.A., 2005. Microbivores : artificial mechanical phagocytes using digest and discharge protocol. *J Evol Technol.*, 14 : 1-52.
- Fu, Q., Saltsburg, H., Flytzani-Ötephanopoulo. M., 2003. Active nonmetallic Au and Pt species on ceria-based water–gas shift catalysts. *Science*, 301,5635: 935–938.
- Gao, Z., Kennedy, A.M., Christensen, D.A., 2008. Rapoport NY. Drugloaded nano/microbubbles for combining ultrasonography and targeted chemotherapy. *Ultrasonics*, 48 : 260-70.
- Gardea-Torresdey, J.L., Gomez, E., Peralta-Videa, J.R., Parsons, J.G., Troiani, H., Jose-Yacaman, M., 2003 . Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, 19:1357–61.
- Gerber, C., Lang, H.P., 2006. How the doors to the nano-world were opened. *Nat Nanotech.*, 1:3–5.
- Gericke, M., Pinches, A., 2006. Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83:132–40.
- Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., *et al.* 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18:604–11.
- Goswami, A.M., Sarkar, T.S., Ghos S.H., 2013. An Ecofriendly synthesis of silver nano-bioconjugates by *Penicillium citrinum* (MTCC9999) and its antimicrobial effect. *AMB Express*, 3:16.
- Gwinn, M.R., Vallyathan, V., .2006 Nanoparticles: health effects—pros and cons. *Environ Health Perspect*, 114:1818–1825.
- He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., *et al.* 2007 . Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulata*. *Materials Letters*, 61: 3984-3987.
- Hennebel, T., De Gusseme, B., Boon, N., Verstraete, W., 2009. Biogenic metals in advanced water treatment. *Trends Biotechnol.*, 27:90–8.
- Hennebel T., De Corte, S., Verstraete, W., Boon, N., 2012. Microbial production and environmental applications of Pd nanoparticles for treatment of halogenated compounds. *Curr Opin Biotechnol.*, 23:555–61.
- Hirsch, L.R., Stafford, R.J., Bankson, J.A., Sershen, S.R., Rivera, B., Price, R.E., *et al.* 2003. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 : 13549-54.

- Hoet, P.H.M., Bru¨ske-Hohfeld, I., Salata, O.V., 2004. Nanoparticles— known and unknown health risks. *J Nanobiotechnol.*, 2:12.
- Huang, H., Yang, X., 2004. Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles:a green method. *Carbohydrate Res.*, 339:2627–31.
- Iga, A.M., Robertson, J.H., Winslet, M.C., Seifalian, A.M., 2007. Clinical potential of quantum dots. *J Biomed Biotechnol.*, 76087-97.
- Iravani, S., Zolfaghari, B., 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. *Biomed Res Int.*, 639725.
- Iskandar, F., 2009. Nanoparticle processing for optical applications – a review. *Adv Powder Technol.*, 20:283–92.
- Jasinski, P., Suzuki, T., Anderson, H.U., 2003. Nanocrystalline undoped ceria oxygen sensor. *Sensors and Actuators B Chemical.*, 95, 1 :73–77.
- Ji, H., Yang, Z., Jiang, W., Geng, C., Gong, M., Xiao, H., *et al.* 2008. Antiviral activity of nano carbon fullerene lipidosome against influenza virus in vitro. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.*, 28 : 243-6.
- Jiang J., Oberdörster G., Biswas P., 2009. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *J Nanopart Res.*, 11:77–89.
- Ju-Nam, Y., Lead, J.R., 2008. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications, *Sci. Total Environ.*, 400 ; 396–414.
- Kahru, A., Dubourguier, H.C., 2009. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*, 269 ; 105–119.
- Kaler, A., Nankar, R., Bhattacharyya, M.S., Banerjee, U.C., 2011. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Candida viswanathii*. *J Bionanosci.* 5:53–8.
- Kannan, S.K., 2014. A Green Approach for the Synthesis of a Cerium Oxide Nanoparticle: Characterization and Antibacterial Activity. *International Journal of Nanoscience*, 03;13.
- Kargara, H., Ghasemi, F., Darroudid, M., 2015. Bioorganic polymer-based synthesis of cerium oxide nanoparticles and their cell viability assays. *Ceram Int* 41:1589–1594.
- Kaspar, J., Fornasiero, P., Graziani, M., 1999. Use of CeO₂-based oxides in the three-way catalysis. *Catalysis Today*. 50, 2: 285–298.
- Khan, S.A., Ahmad, A., 2013. Fungus mediated synthesis of biomedically important cerium oxide nanoparticles. *Materials Researc Bulletin.* 48;10: 4134-4138.
- Kim, S.J., Chung, B.H., 2016. Antioxidant activity of levan coated cerium oxide nanoparticles. *Carbohydr Polym* 150; 400-7.
- Klibanov, A.L., 2006. Microbubble contrast agents : targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications. *Invest Radiol* .41 : 354-62.
- Korbekandi, H., Iravani, S., Abbasi, S., 2009. Production of nanoparticles using organisms. *Crit Rev Biotechnol.* 29:279–306.
- Korbekandi, H., Iravanib, S., Abbasi, S., 2012. Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus casei* subsp. *J Chem Technol Biotechnol.*, 87: 932–937.

- Korsvik, C., Patil, S., Seal, S., Self, W.T., 2007. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chem. Commun.*, 1056–1058.
- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K., Paknikar, K.M., 2003. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology* 14: 95–100.
- Kratschmer, W., Lamb, L.D., Fostiropoulos, K., Hoffman, D.R., 1990. Solid C60 : a new form of carbon. *Nature*. 347 : 354-8.
- Krishnaraj, C., Jagan, E.G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P.T., *et al.* 2010. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids Surf B Biointerfaces* 76: 50-56.
- Krolikowska, A., Kudelski, A., Michota, A., Bukowska, J., 2003. SERS studies on the structure of thioglycolic acid monolayers on silver and gold. *Surf Sci.* 532:227–232.
- Kumar, A., Mandal, S., Selvakannan, P.R., Parischa, R., Mandale, A.B., Sastry, M., 2003. Investigation into the interaction between surface-bound alkylamines and gold nanoparticles. *Langmuir*. 19:6277–6282.
- Kumar, P.S., Balachandran, C., Duraipandiyar, V., Ramasamy, D., Ignacimuthu, S., Al-Dhabi, N.A., 2015. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 and its antibacterial and cytotoxic properties *Appl Nanosci.*, 5:169–180.
- Kundu, S., Kale, A.A., Banpurkar, A.G., Kulkarni, G.R., Ogale, S.B., 2009. On the change in bacterial size and magnetosome features for *Magnetospirillum magnetotacticum* (MS-1) under high concentrations of zinc and nickel. *Biomaterials*. 30:4211–8.
- Leoni, L., Desai, T.A., 2001. Nanoporous biocapsules for the encapsulation of insulinoma cells : biotransport and biocompatibility considerations. *IEEE Trans Biomed Eng* . 48 : 1335-41.
- Li, X., Xu, H., Chen, Z.S., Chen, G., 2011. Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications. *Journal of Nanomaterials* 2011: 1-16.
- Li, X., Xu, H., Chen, Z.S., Chen, G., Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *J Nanomater* [article 270974].
- Lide, D., 2007. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Publishing Co., Boca Raton, FL. 88th edn.
- Lowery, A.R., Gobin, A.M., Day, E.S., Halas, N.J., West, J.L., 2006. Immunonanoshells for targeted photothermal ablation of tumor cells. *Int J Nanomedicine*. 1 : 149-54.
- Luangpipat, T., Beattie, I.R., Chisti, Y., Haverkamp, R.G., 2011. Gold nanoparticles produced in a microalga. *J Nanopart Res* .13:6439–45.
- Malavasi, L., Fisher, C.A.J., Islam, M.S., 2010. Oxide-ion and proton conducting electrolyte materials for clean energy applications: structural and mechanistic features. *Chemical Society Reviews*. 39(11): 4370–4387.
- Mallesappa, J., Nagabhushana, H., Sharma, S.C., Vidya, Y.S., Anantharaju, K.S., Prashantha, S.C., Prasad, B.D., Naika, H.R., Lingaraju, K., Surendra, B.S., 2015. *Leucas aspera* mediated multifunctional CeO₂ nanoparticles: Structural,

- photoluminescent, photocatalytic and antibacterial properties. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 149:452-62.
- Maqbool, Q., Nazar, M., Naz, S., Hussain, T., Jabeen, N., Kausar, R., Anwaar, S., Abbas, F., Jan, T., 2016. Antimicrobial potential of green synthesized CeO₂ nanoparticles from *Olea europaea* leaf extract. *Int J Nanomedicine.* 11:5015-5025.2016 .
- Marambio-Jones, C., Hoek, E.M.V., 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res.*12:1531–51.
- Markovic, Z., Trajkovic, V., 2008. Biomedical potential of the reactive oxygen species generation and quenching by fullerenes (C₆₀). *Biomaterials.* 29 : 3561-73.
- Maynard, A.D., 2006. Nanotechnology: a Research Strategy for Addressing Risk. Project on Emerging Nanotechnologies. Woodrow Wilson International Center for Scholars, June 2006. At: [http://www.nanotechproject.org/file download/77](http://www.nanotechproject.org/file%20download/77)
- McCormack, B., 1994. Gregoriadis G. Drugs-in-cyclodextrins-inliposomes– a novel concept in drug-delivery. *Int J Pharm.* 112 : 249-58.
- Meyers, M.A., Mishra, A., Benson DJ., 2006. Mechanical properties of nanocrystalline materials. *Prog Mater Sci.*51:427–556.
- Mittal, A.K., Chisti, Y., Banerjee, U.C., 2013. Research review paper Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances* 31 : 346–356.
- Moghaddam, A.B., Namvar, F., Moniri, M., Tahir, P.Md., Azizi, S., and Rosfarizan, Mohamad, R., 2015. Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications. *Molecules.*20, 16540-16565 www.mdpi.com/journal/molecules.
- Mohanpuria, P., Rana, N.K., Yadav, S.K., 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *J Nanopart Res.* 10:507–17.
- Moulton, M.C., Braydich-Stolle, L.K., Nadagouda, M.N., Kunzelman, S., Hussain, S.M., Varma, R.S., 2010. Synthesis, characterization and biocompatibility of “green” synthesized silver nanoparticles using tea polyphenols. *Nanoscale.*2: 763–70.
- Mroz, P., Pawlak, A., Satti, M., Lee, H., Wharton, T., Gali, H., *et al.* 2007. Functionalized fullerenes mediate photodynamic killing of cancer cells : Type I versus Type II photochemical mechanism. *Free Radic Biol Med* . 43 : 711-9.
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S.R., Khan, M.I., 2011. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Lett.*, 1: 515–9.
- Nadaroğlu, H., Onem, H., Gungor, A., 2017. Green synthesis of Ce₂O₃ NPs and determination of its antioxidant activity. *IET Nanobiotechnol.* 11;4 :411-419.
- Narayanan, K.B., Sakthivel, N., 2011. Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Adv Colloid Interface Sci* 169: 59-79.
- Nasterlack, M., Zober, A., Oberlinner, C., 2008. Considerations on occupational medical surveillance in employees handling nanoparticles. *Int Arch Occup Environ Health* 81:721–726

- Negishi, Y., Endo, Y., Fukuyama, T., Suzuki, R., Takizawa, T., Omata, D., *et al.* 2008. Delivery of siRNA into the cytoplasm by liposomal bubbles and ultrasound. *J Control Release* .132 : 124-30.
- Nel, A., Xia, T., Maññler, L., Li, N., 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311:622–627
- Newkome, G.R., Moorefield, C.N., Voñgtle, F., 1986. *Dendritic Molecules: Concepts, Syntheses, Perspectives*; VCH: Weinheim,
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (2007) Progress toward safe nanotechnology in the workplace—a report from the NIOSH Nanotechnology Research Center. DHHS (NIOSH) Publication No 2007-123, available on line: <http://www.cdc.gov/niosh>
- Nikolaos, P., Horsfall, L.E., 2014. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles by Bacteria, Fungi and Plants. *Nanomedicine & Nanotechnology*. *Nanomed Nanotechnol.* 5: 5 <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000233>
- Niu, L., Xu, Y.C., Dai, Z., Tang, H.Q., 2008. Gene therapy for type 1 diabetes mellitus in rats by gastrointestinal administration of chitosan nanoparticles containing human insulin gene. *World J Gastroenterol.*; 14 : 4209 -15.
- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C., Roberts, M.S., 2007. Grey Goo on the Skin? Nanotechnology, Cosmetic and Sunscreen Safety. *Critical Reviews in Toxicology*, 37:251 277.
- Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro- Riviere, N., Warheit, D., Yang, H., 2005b. A report from the ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group .Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle Fibre Toxicol.*, 2:8
- Oberdörster, G., Oberdörsters, E., Oberdörster, J., 2005a. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 113:823–839
- Orozco, R., Redwood, M., Yong, P., Caldelari, I., Sargent, F., Macaskie, L., 2010. Towards an integrated system for bio-energy: hydrogen production by *Escherichia coli* and use of palladium-coated waste cells for electricity generation in a fuel cell. *Biotechnol Lett.*, 32:1837–45.
- Ozer, N., 2001. Optical properties and electrochromic characterization of sol–gel deposited ceria films. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 68 (3–4): 391–400.
- 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 bacteriu *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.*, 73:1712–20.
- Pantarotto, D., Partidos, C.D., Graff, R., Hoebeke, J., Briand, J.P., Prato, M., *et al.* 2003. Synthesis, structural characterization, and immunological properties of carbon nanotubes functionalized with peptides. *J Am Chem Soc*, 125 : 6160-4.
- Pantidos, N. and Horsfall, L.E., 2014. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles by Bacteria, Fungi and Plants. *Nanomedicine & Nanotechnology*. *Nanomed Nanotechnol*, 5:5 <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000233>
- Park, S.D., Vohs, J.M., Gorte, R.J., 2000. Direct oxidation of hydrocarbons in a solid oxide fuel cells. *Nature* , 404: 265–267.

- Park, Y., Hong, Y.N., Weyers, A., Kim, Y.S., Linhardt, R.J., 2011. Polysaccharides and phytochemicals: a natural reservoir for the green synthesis of gold and silver nanoparticles. *IET Nanobiotechnol*, 5:69–78.
- Peng, X.H., Qian, X., Mao, H., Wang, A.Y., Chen, Z., Nie, S., *et al.* 2008. Targeted magnetic iron oxide nanoparticles for tumor imaging and therapy. *Int J Nanomedicine*, 3 : 311-21.
- Peralta-Videa, J.R., Zhao, L., Lopez-Moren, M.L., Guadalupe de la Rosad., Hong, J., Gardea-Torresdey, J.L., 2011. Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008–2010. *Journal of Hazardous Materials*, 186: 1–15
- Peto, G., Molnar, G.L., Paszti, Z., Geszti, O., Beck, A., Guczi, L., 2002. Electronic structure of gold nanoparticles deposited on SiOx/Si(100). *Mater Sci Eng C*, 19:95–99.
- Pingarron, J.M., Yanez-Sedeno, P., Gonzalez-Cortes, A., 2008. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. *Electrochim Acta* ,53:5848–66.
- Podgaetsky, V.M., Kopylova, T.N., Tereshchenko, S.A., Reznichenko, A.V., Selishchev, S.V., 2004. Laser-limiting materials for medical use. *Proc Soc Photo-Opt Ins*, 5261:183–91
- Prasek, J., Drbohlavova, J., Chomoucka, J., Hubalek, J., Jasek, O., Adam, V., Kizek, R., 2011. Methods for carbon nanotubes synthesis—review. *J. Mater. Chem.*, 21, 15872
- Prato, M., Kostarelos, K., Bianco, A., 2008. Functionalized carbon nanotubes in drug design and discovery. *Acc Chem Res*, 41 : 60-8.
- Priya, G.S., Kanneganti, A., Kumar, K.A., Rao, K.V., Bykkam, S., 2014. Biosynthesis of Cerium oxide nanoparticles using *Aloe barbadensis miller* gel. *Int J Sci Res Publ*, 4:2250–3153
- Rai M., Yadav A., Gade A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27 : 76–83
- Ramanathan, R., Field, M.R., O’Mullane, A.P., Smooker, P.M., Bhargava, S.K., *et al.* 2013. Aqueous phase synthesis of copper nanoparticles: a link between heavy metal resistance and nanoparticle synthesis ability in bacterial systems. *Nanoscale*, 5: 2300-2306.
- Rapoport, N., Gao, Z., Kennedy, A., 2007. Multifunctional nanoparticles for combining ultrasonic tumor imaging and targeted chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*, 99 : 1095-106.
- Reilly, R.M., 2007. Carbon nanotubes : potential benefits and risks of nanotechnology in nuclear medicine. *J Nucl Med*, 48 : 1039-42.
- Roco, M.C., 2005. Environmentally responsible development of nanotechnology. *Environ Sci Technol.*, 39:106A–112A.
- Saha, S., Pal, A., Kundu, S., Basu, S., Pal, T., 2010. Photochemical green synthesis of calcium alginate-stabilized Ag and Au nanoparticles and their catalytic application to 4-nitrophenol reduction. *Langmuir*, 26: 2885-2893.
- Saifuddin, N., Wong, C. W. and A. A., Nur, Yasumira, A.A., Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Culture Supernatant of Bacteria with Microwave Irradiation, 6, 1: 61-70.
- Sanghi, R., Verma, P., 2009. Biomimetic synthesis and characterisation of protein capped silver nanoparticles. *Bioresour Technol*, 100: 501-504.

- Sanghi, R., Verma, P., 2010. Microbes as green and eco-friendly nanofactories. *Green Chem Environ Sustainable*, 15:315–39.
- Sastry, M., Ahmad, A., Khan, M.I., Kumar, R., 2003. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Curr Sci.*, 85:162–70.
- Schaffer, B., Hohenester, U., Trugler, A., Hofer, F., 2009. High-resolution surface plasmon imaging of gold nanoparticles by energy-filtered transmission electron microscopy. *Phys Rev B*, 79. [article 041401].
- Schlüter, M., Hentzel, T., Suarez, C., Koch, M., Lorenz, W.G., *et al.* 2014. Synthesis of novel palladium(0) nanocatalysts by microorganisms from heavy-metalinfluenced high-alpine sites for dehalogenation of polychlorinated dioxins. *Chemosphere*, 117C: 462-470.
- Schrofel, A., Kratošova, G., Šafařík, I., Šafaříkova, M., Raška, I., Shor, L.M., 2014. Applications of biosynthesized metallic nanoparticles – A review. *Acta Biomaterialia*, 10: 4023–4042
- Selvakumar, R., ArulJothi, N., Jayavignesh, V., Karthikaiselvi, K., Antony, G.I., Sharmila, P.R., *et al.* 2011. As(V) removal using carbonized yeast cells containing silver nanoparticles. *Water Res.*, 45:583–92.
- Sepeur, S., 2008. Nanotechnology: technical basics and applications. Hannover: Vincent.;
- Serrano, E., Rus, G., García-Martínez, J., 2009. Nanotechnology for sustainable energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Shah S., 2016. The nanomaterial toolkit for neuroengineering. *Shah Nano Convergence*, 3:25.
- Shahverdi, A.R., Minaeian, S., Shahverdi, H.R., Jamalifar, H., Nohi, A.A., 2007, Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of *Enterobacteria*: A novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42: 919-923.
- Shahverdi, A.R., Shakibaie, M., Nazari, P., 2011. Basic and practical procedures for microbial synthesis of nanoparticles. In: Rai M, Duran N, editors. *Metal nanoparticles in microbiology*. Berlin: Springer, p. 177–97
- Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M., 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J Colloid Interface Sci.*, 275:496–502.
- Sharma, N., Pinnaka, A.K., Raje, M., Ashish, F.N.U., Bhattacharyya, M.S., Choudhury, A.R., Sharma, *et al.* 2012. Exploitation of marine bacteria for production of gold nanoparticles *Microbial Cell Factories*, 11:86.
- Singh, M., Kalaivani, R., Manikandan, S., Sangeetha, N., Kumaragur, A.K., 2013. Facile green synthesis of variable metallic gold nanoparticle using *Padina gymnospora*, a brown marine macroalga *Appl Nanosci*, 3:145–151.
- Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G.J.S., *et al.* 2009. NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30:3891–914.
- Sinha, A., Singh, V.N., Mehta, B.R., Khare, S.K., 2011. Synthesis and characterization of monodispersed orthorhombic manganese oxide nanoparticles produced by *Bacillus* sp. cells simultaneous to its bioremediation. *J Hazard Mater*, 192:620–7.
- Song, J.Y., Kim, B.S., 2009. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess Biosyst Eng.*, 32: 79-84.

- Stone, V., Nowack, B., Baun, A., Brink, N., Kammer, F., Dusinaska, M., Handy, R., Hankin, S., Hasselov, M., Joner, E., Fernandes, T.F., 2010. Nanomaterials for environmental studies: classification, reference material issues, and strategies for physic-chemical characterization, *Sci. Total Environ*, 408:1745–1754.
- Strasser, P., Koh, S., Anniyev, T., Greeley, J., More, K., Yu, C., 2010. Lattice-strain control of the activity in dealloyed core–shell fuel cell catalysts. *Nat Chem.*, 2:454–60.
- Sun C.W., Hui R., Roller J., 2010. Cathode materials for solid oxide fuel cells: a review. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 14, 7 :1125–1144.
- Sun, J.B., Duan, J.H., Dai, S.L., Ren, J., Guo, L., Jiang, W., *et al.* 2008. Preparation and antitumor efficiency evaluation of doxorubicin-loaded bacterial magnetosomes: magnetic nanoparticles as drug carriers isolated from *Magnetospirillum gryphiswaldense*. *Biotechnol Bioeng*, 101:1313–20.
- Sun, S., Murray, C., Weller, D., Folks, L., Moser, A., 2000. Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *Science*, 287:1989–92.
- Suresh, K., Prabakaran, S.R., Sengupta, S., Shivaji, S., 2004. *Bacillus indicus* sp. nov., an arsenic-resistant bacterium isolated from an aquifer in West Bengal, India. *Int J Syst Evol Microbiol*, 54: 1369-1375.
- Suzuki, R., Takizawa, T., Negishi, Y., Utoguchi, N., Maruyama, K., 2008. Effective gene delivery with novel liposomal bubbles and ultrasonic destruction technology. *Int J Pharm*, 354 : 49-55.
- Talapin, D.V., Lee, J.S., Kovalenko, M.V., Shevchenko, E.V., 2009. Prospects of colloidal nanocrystals for electronic and optoelectronic applications. *Chem Rev.*, 110:389–458.
- Tarnuzzer, R.W., Colon, J., Patil, S., Seal, S., 2005. Vacancy engineered ceria nanostructures for protection from radiation-induced cellular damage. *Nano Letters*, 5: 2573–2577.
- Taylor, R., Hare, J.P., Abdul-Sada, A.K., Kroto, H.W., 1990. Isolation, separation and characterisation of the fullerenes C₆₀ and C₇₀: the third form of carbon. *J Chem Soc Chem Commun*, 20 : 1423-5.
- Tegos, G.P., Demidova, T.N., Arcila-Lopez, D., Lee, H., Wharton, T., Gali, H., *et al.* 2005. Cationic fullerenes are effective and selective antimicrobial photosensitizers. *Chem Biol.*, 12 : 1127-35.
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S., Parikh, R.Y., 2010. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6,2:257-62
- Thakral, S., Mehta, R.M., 2006. Fullerenes : an introduction and overview of their biological properties. *Indian J Pharm Sci*, 68 : 13-9.
- Thapa, D., Palkar, V.R., Kurup, M.B., Malik, S.K., 2004. Properties of magnetite nanoparticles synthesized through a novel chemical route. *Materials Letters*, 58: 2692-2694.
- Tomalia, D.A., Baker, H., Dewald, J., Hall, J.M., Kallos, G., Martin, R., Ryder, J., 1985. *Polym J*, 17, 117.
- Ummartyotin, S., Bunnak, N., Juntaro, J., Sain, M., Manuspiya, H., 2012. Synthesis of colloidal silver nanoparticles for printed electronics. *Comptes Rendus Chimie*, 15: 539-544.

- Wang, Y., He, X., Wang, K., Zhang, X., Tan, W., 2009. Barbated Skullcup herb extract-mediated biosynthesis of gold nanoparticles and its primary application in electrochemistry. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 73:75–9.
- Webster, T.J., 2007. IJN's second year is now a part of nanomedicine history! *Int J Nanomedicine*, 1, 1-2.
- White, T.J., Bruns, T., Lee S, Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA, 315–322.
- Woodrow Wilson International Center for Scholars. 2007 Nanotechnology Consumer Products Inventory. Available: <http://www.nanotechproject.org/consumerproducts>
- Xu, H., Yan, F., Monson, E.E., Kopelman, R., 2003. Room-temperature preparation and characterization of poly (ethylene glycol)- coated silica nanoparticles for biomedical applications. *J Biomed Mater Res A*, 66 : 870-9.
- Yazdi, M.H., Mahdavi, M., Setayesh, N., Esfandiyar, M., Shahverdi, A.R., 2013. Selenium nanoparticle-enriched *Lactobacillus brevis* causes more efficient immune responses in vivo and reduces the liver metastasis in metastatic form of mouse breast cancer. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21:33.
- Yeary, L.W., Moon, J.W., Rawn, C.J., Love, L.J., Rondinone A.J., Thompson J.R., *et al.* 2011. Magnetic properties of bio-synthesized zinc ferrite nanoparticles. *J Magn Magn Mater*, 323:3043–8.
- Yin, X., Hong, L., Liu, Z.L., 2006. Oxygen permeation through the LSCO-80/CeO₂ asymmetric tubular membrane reactor. *Journal of Membrane Science*, 268, 1 : 2–12.
- Yong, P., Rowson, A.N., Farr, J.P.G., Harris, I.R., Mcaskie, L.E., 2002. Bioaccumulation of palladium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 55, 593-601.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W., 2000. Greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7, 203–214.
- Zhang, Z., Yang, X., Zhang, Y., Zeng, B., Wang, S., Zhu, T., *et al.* 2006. Delivery of telomerase reverse transcriptase small interfering RNA in complex with positively charged single-walled carbon nanotubes suppresses tumor growth. *Clin Cancer Res.*, 12, 4933-9.

ÖZGEÇMİŞ

19.02.1992 yılında İstanbul’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul Rıfat Ilgaz İlköğretim Okulu’nda tamamladı. 2006-2010 yılları arasında İstanbul Halil Akkanat Çok Programlı Lisesi’nde lise öğrenimini tamamladı. 2011-2015 yılları arasında Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü lisans eğitimini tamamladıktan sonra aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Biyoteknoloji Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Ağustos 2015- Temmuz 2017 tarihleri arasında yüksek lisans eğitimini tamamladı.