



T.C.
KONYA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



STOKİYOMETRİK OLMAYAN FeS₂ NANOPARTİKÜLLERİN
SENTEZİ VE ANTİBAKTERİYEL FOTOTERAPİ
UYGULAMALARINDA KULLANIMI

Ahmed AL-SARORI

YÜKSEK LİSANS

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Aralık-2024
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ahmed AL-SARORI tarafından hazırlanan “Stokiyometrik Olmayan FeS₂ Nanopartiküllerin Sentezi Ve Antibakteriyel Fototerapi Uygulamalarında Kullanımı” adlı tez çalışması 16/12/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Konya Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Çisem KIRBIYIK KURUKAVAK

.....

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi İsmail Cihan KAYA

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ARICI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mevlüt UYAN
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 222M393 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Ahmed AL-SARORI

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmed AL-SARORI

Konya Teknik Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İsmail Cihan KAYA

2024, 74 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Çisem KIRBIYIK KURUKAVAK
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ARICI
Dr. Öğr. Üyesi İsmail Cihan KAYA

Bakterilerdeki antibiyotik direnci, küresel ölçekte ciddi bir sorun teşkil etmekte olup, antibiyotik içermeyen antibakteriyel stratejilerin geliştirilmesine yönelik ilginin artmasına neden olmuştur. Son araştırmalar, özellikle fototermal, fotodinamik, gaz tedavisi ve kemoterapi gibi çeşitli yöntemleri birleştiren çok yönlü antibakteriyel terapilerin, artan antibakteriyel etkinlikleri nedeniyle dikkat çektiğini göstermektedir. Metal kalkojenit nanopartiküllerin hem fotodinamik hem de fototermal etki göstermesi ve farklı bakteri türlerine karşı etkili olması bu malzemeleri bu alanda ön plana çıkarmıştır.

Bu tez çalışmasında toksik olmayan, çevre duyarlı, hidrofilik ve hem fotodinamik hem de fototermal etki gösterdiği bilinen FeS₂ nanopartiküllerinin sıcak besleme yöntemi ile sentezlenmesi ve antibakteriyel özelliklerinin araştırılması üzerine odaklanılmıştır. Öncelikle, FeS₂ sentez parametreleri optimize edilmiş sonrasında farklı stokiometrilere FeS₂ nanopartikülleri sentezlenerek üretilen partiküllerin kristal yapı, morfoloji ve optik özellikleri detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Stokiyoimetrik olmayan FeS₂ nanopartikülleri, sentez sırasında öncül maddelerin (Fe kaynağı ve S kaynağı) molar oranları değiştirilerek elde edilmiştir. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) analizi, Fe kaynağı ile S kaynağı oranlarının 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12 olduğu örnekler için Fe/S oranlarının sırasıyla 1.012:2, 0.960:2, 0.905:2 ve 0.900:2 olduğunu ortaya çıkarmıştır. 808 nm yakın kızılötesi (NIR) ışık altında yapılan fototermal testler, Fe/S oranlarının 1.012:2, 0.960:2, 0.905:2 ve 0.900:2 olduğu numunelerde sıcaklığın sırası ile 48, 49, 51, ve 53 °C'lere çıktığını göstermiştir. Kristal içi kusur oranının artması fototermal etkiyi arttırırken, fotodinamik etkiyi azaltmıştır. Fe/S oranı 0.900:2 olan numune için fototermal dönüşüm verimi saf suda %44,3, fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) çözeltisinde ise %52,6 olarak hesaplanmıştır.

In vitro antibakteriyel aktivite testleri, stokiyoimetrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin, *Escherichia coli* (%98,00 inaktivasyon, 100 µg mL⁻¹) ve *Staphylococcus aureus* (%99,89 inaktivasyon, 125 µg mL⁻¹) karşısında ROS üretimi ve hipertermi etkisinin sinerjik etkilerinden dolayı güçlü antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu bulgular, stokiyoimetrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin, özellikle NIR ışığı altında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yüksek potansiyele sahip antibakteriyel malzemeler olarak değerlendirilebileceğini kanıtlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Sıcak besleme yöntemi, Stokiyoimetrik olmayan FeS₂, Antibakteriyel aktivite, Fototermal etki, Fotodinamik etki

ABSTRACT

MS THESIS

Ahmed AL-SARORI

**Konya Technical University
Institute of Graduate Studies
Department of Chemical Engineering**

Advisor: Asst. Prof. Dr. İsmail Cihan KAYA

2024, 74 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Çizem KIRBIYIK KURUKAVAK

Asst. Prof. Dr. Gökhan ARICI

Asst. Prof. Dr. İsmail Cihan KAYA

Antibiotic resistance in bacteria has become a critical global issue, prompting increased interest in the development of non-antibiotic antibacterial strategies. Recent studies have emphasized the importance of multifunctional antibacterial therapies particularly those integrating photothermal, photodynamic, gas therapy, and chemotherapy approaches due to their enhanced antibacterial efficacy. Among these, metal chalcogenide nanoparticles have gained prominence owing to their combined photothermal and photodynamic effects and their broad-spectrum antibacterial activity.

This thesis investigates the synthesis of FeS₂ nanoparticles via the hot-injection method and examines their antibacterial properties. FeS₂ nanoparticles were selected due to their non-toxic, environmentally friendly, hydrophilic nature, and dual photothermal and photodynamic activities. Initially, the synthesis parameters were optimized, followed by the production of FeS₂ nanoparticles with varying stoichiometries. The produced nanoparticles were thoroughly characterized in terms of their crystal structure, morphology, and optical properties. Non-stoichiometric FeS₂ nanoparticles were synthesized by altering the molar ratios of precursors (iron and sulfur sources) during the reaction. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis revealed Fe/S ratios of 1.012:2, 0.960:2, 0.905:2, and 0.900:2 for samples prepared with precursor molar ratios of 1:6, 1:8, 1:10, and 1:12, respectively. Photothermal tests conducted under 808 nm near-infrared (NIR) irradiation showed temperature increases of 48°C, 49°C, 51°C, and 53°C for the samples with Fe/S ratios of 1.012:2, 0.960:2, 0.905:2, and 0.900:2, respectively. An increase in crystal defect density was observed to enhance photothermal performance but reduce photodynamic efficacy. For the sample with an Fe/S ratio of 0.900:2, the photothermal conversion efficiency was calculated to be 44.3% in pure water and 52.6% in phosphate-buffered saline (PBS).

In vitro antibacterial activity tests revealed that non-stoichiometric FeS₂ nanoparticles exhibited strong antibacterial activity against *Escherichia coli* (98.00% inactivation at 100 µg/mL) and *Staphylococcus aureus* (99.89% inactivation at 125 µg/mL). This potent activity is attributed to the synergistic effects of reactive oxygen species (ROS) generation and hyperthermia. These findings indicate that non-stoichiometric FeS₂ nanoparticles hold significant potential as antibacterial agents, particularly for treating bacterial infections under NIR light irradiation.

Keywords: Hot-injection, Non-stoichiometric FeS₂ nanoparticles, Antibacterial activity, Photothermal effect, Photodynamic effect.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana her türlü desteği sunan, bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi İsmail Cihan KAYA'ya en içten duygularıyla teşekkür ederim. Ayrıca, tez konusunun belirlenmesinden sonuçların değerlendirilmesine kadar her aşamada titizlikle sunduğu önerilerle çalışmanın bilimsel değerini artıran Doç. Dr. Gülcihan GÜZEL KAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Her iki hocama çalışmanın zorluklarını aşmamda gösterdikleri sabır, teşvik edici yaklaşımları ve verdikleri motivasyondan ötürü müteşekkirim.

Çalışmalarım sırasında değerli bilgilerini bana sunan Prof. Dr. Hasan AKYILDIZ, Arş. Gör. Burak KIVRAK ve çalışma arkadaşlarım Abdurrahman MUSTAFA, Aybüke ŞENOL ve Arzu ÖCEBE 'ye teşekkürlerimi sunarım. Hayatım boyunca tüm şartlarda yanımda olan desteklerini her zaman hissettiğim aileme ve arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

AHMED AL-SARORI
KONYA 2025

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. FOTOTERAPİ	4
2.1. Fotodinamik Etki	5
2.2. Fototermal Etki	7
2.3. Fototerapi Uygulamalarında Kullanılan Malzemeler	10
3. ANTİBAKTERİYEL FOTOTERAPİ UYGULAMALARINDA METAL KALKOJENİTLER.....	14
3.1. FeS ₂	17
3.1.1. FeS ₂ kristal yapıları ve optik özellikleri	19
3.1.2. FeS ₂ sentezleme yöntemleri.....	20
3.1.3. Sıcak besleme yöntemi	21
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
4.1. Sıcak Besleme ile FeS ₂ Nanopartiküllerin Sentezi	24
4.2. Üretilen Nanoparçacıkların Karakterizasyonu.....	25
4.2.1. XRD ölçümleri.....	25
4.2.2. STEM ve TEM analizleri.....	25
4.2.3. XPS ölçümleri.....	25
4.2.4. UV-vis spektrofotometre ölçümleri	25
4.3. Fototermal Özelliklerinin İncelenmesi	26
4.4. Fotodinamik Özelliklerin İncelenmesi.....	27
4.5. In vitro Antibakteriyel Aktivite	28
4.6. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Belirlenmesi	29
4.7. In Vitro Sitotoksosite Testleri.....	30
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	31
5.1. Üretilen FeS ₂ Nanopartiküllerinin Morfolojik ve Yapısal Özellikleri.....	31
5.2. Üretilen Nanopartiküllerin Optik Özellikleri.....	36
5.3. Üretilen Nanopartiküllerin Fototermal Özellikleri	37
5.4. Üretilen Nanopartiküllerin Fotodinamik Özellikleri	42
5.5. Üretilen Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi	44
5.6. Üretilen FeS ₂ Nanopartiküllerinin Sitotoksitesi ve Biyolojik Ortamda	

Kararlılığı 49

6.1. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	50
6.1. Sonuçlar.....	50
6.2. Öneriler.....	51
KAYNAKLAR	52



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

$\cdot\text{OH}$	: Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$	: Singlet oksijen
Fe	: Demir
G^-	: Gram-negatif
G^+	: Gram-pozitif
η	: Verim
$\text{O}_2^{\cdot-}$	: Süperoksit
S	: Sülfür
T	: Sıcaklık

Kısaltmalar

CuS	: Bakır sülfür
DCFH-DA	: 2',7'-diklorofloresin diasetat
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
e^-h^+	: Elektron-boşluk
FDT	: Fotodinamik terapi
FeS_2	: Demir sülfür
FTT	: Fototermal terapi
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
HOMO	: En yüksek dolu orbitali
IFFT	: Ters hızlı Fourier dönüşümü
İB	: İletim bandı
KOB	: Koloni oluşturan birim
LSPR	: Lokalize yüzey plazmon rezonansı
LUMO	: En düşük boş orbital
MBC	: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MIC	: Minimum inhibisyon konsantrasyon
MoS_2	: Molibden disülfür
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NIR	: Yakın kızılötesi
NMNP	: Soy metal nanopartikülleri
PBS	: Fosfat tamponlu tuz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
STEM	: Taramalı geçirimli elektron mikroskobu
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
UV-vis	: Ultraviyole-görünür
VB	: Valans bandı
XPS	: X-ışını Fotoelektron spektroskopisi
XRD	: X-ışınları kırınımı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. FDT ve FTT'nin şematik gösterimi (Wei ve ark., 2020)	4
Şekil 2. 2. ROS oluşumu ile bakteriyel inhibisyonun şematik gösterimi (Mutalik ve ark., 2022)	5
Şekil 2. 3. Metal kalkojenitlerde NIR ışık altında a) yüzey plazmon salınımlarının oluşması b) ROS oluşum mekanizması	6
Şekil 2. 4. Fototermal etki oluşum mekanizmalarının şematik gösterimi, a) LSPR etkisi b) Yarı iletkenlerde elektron-boşluk çiftlerinin oluşumu ve yeniden birleşmesi c) Moleküllerde HOMO-LUMO uyarılması ve kafes titreşimini (Tee ve ark., 2022)	8
Şekil 2. 5. Plazmonik ısınmaya yol açan süreçlerin zaman ölçekleriyle birlikte LSPR şeması(Wang ve ark., 2024).....	9
Şekil 2. 6. Fototerapi antibakteriyel uygulamalarında kullanılan malzemelerin sınıflandırılması	11
Şekil 3. 1. FeS ₂ kristal yapısı: a) pirit b) markazit.....	20
Şekil 3. 2. Sıcak besleme yönteminde çekirdeklenme ve büyüme aşamalarının şematik gösterimi (Chen ve ark., 2020).....	22
Şekil 4. 1. Sıcak besleme yöntemiyle FeS ₂ nanopartiküllerinin sentezinin şematik gösterimi	24
Şekil 4. 2. Fototermal ölçümleri için şematik gösterimi.....	27
Şekil 4. 3. DCFH-DA'nın DCF'ye dönüşüm mekanizması	27
Şekil 4. 4. In-vitro antibakteriyel aktivite testi deney prosedürü.....	28
Şekil 5.1. a) Farklı reaksiyon sıcaklığında (FeCl ₂ .4H ₂ O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon süresi: 2 saat) ve b) farklı reaksiyon sürelerinde (FeCl ₂ .4H ₂ O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon sıcaklığı: 200 °C saat) sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin XRD desenleri	32
Şekil 5.2. a-c) Farklı reaksiyon sıcaklığında (FeCl ₂ .4H ₂ O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon süresi: 2 saat) ve d-f) farklı reaksiyon sürelerinde (FeCl ₂ .4H ₂ O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon sıcaklığı: 200 °C saat) sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin STEM görüntüleri.....	33
Şekil 5.3. FeS ₂ nanopartiküllerinin (FeCl ₂ .4H ₂ O derişimi: 0,4 M, reaksiyon süresi: 2 saat ve reaksiyon sıcaklığı: 240 °C saat) a) aydınlık alan TEM görüntüsü, b) SAED görüntüsü, c) partikül boyutu dağılımı, d) HRTEM görüntüsü ve e) IFFT görüntüsünden elde edilen çizgisel profil (IFFT görüntüsü Şekil 5(d) iç resimde verilmiştir.).....	34
Şekil 5.4. Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin a) XRD deseni, b) geniş aralıklı XPS spektrumu, c) Fe 2p enerji seviyesine ait XPS spektrumu ve d) S 2p enerji seviyesine ait XPS spektrumu	35
Şekil 5.5. Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin a) UV-vis-NIR absorpsiyon spektrumu ve b) Tauc grafiği	36
Şekil 5.6. FeS ₂ yapısında kusurun artması ile LSPR etkisinin ortaya çıkması	37
Şekil 5.7. a) Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin zamana karşı sıcaklık değişimi, b) NIR güç yoğunluğunun FeS ₂ nanopartiküllerinin fototermal özellikleri üzerine etkisi (Fe/S: 1/12 ve FeS ₂ derişimi: 1000 µg mL ⁻¹), c) FeS ₂ derişiminin FeS ₂ nanopartiküllerinin fototermal özellikleri üzerine etkisi (Fe/S: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²), d) FeS ₂ nanopartiküllerinin (Fe/S: 1/12) termal kamera görüntüsü (NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻² ve FeS ₂ derişimi: 1000 µg mL ⁻¹), e) FeS ₂ nanopartiküllerinin saf su içerisindeki 5 kez yapılan ısıtma-soğutma döngüsü ve f) zaman-ln(θ) eğrisi (Fe/S: 1/12, NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻² ve FeS ₂ derişimi: 1000 µg mL ⁻¹)	39
Şekil 5. 8. a) FeS ₂ nanopartiküllerinin zamana karşı sıcaklık değişimi, b) FeS ₂ nanopartiküllerinin PBS çözeltisi içerisindeki 5 kez yapılan ısıtma-soğutma döngüsü ve c) zaman-ln(θ) eğrisi (Fe/S: 1/12, NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻² ve FeS ₂ derişimi: 1000 µg mL ⁻¹)	41
Şekil 5.9. a) Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS ₂ nanopartiküllerinin DCFH-DA ile etkileşimi sonucu elde edilen floresans spektrumu (NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻² , malzeme derişimi: 1000 µg mL ⁻¹ ve dispersiyon ortamı: saf su) ve b) farklı derişime sahip FeS ₂ süspansiyonlarının DCFH-DA ile etkileşimi sonucu elde edilen floresans spektrumu (Fe/S oranı: 1/12, NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻² ve dispersiyon ortamı: PBS çözeltisi).....	42
Şekil 5.10. a) 1000 µg mL ⁻¹ ve b) 125 µg mL ⁻¹ derişime sahip FeS ₂ süspansiyonlarının PBS çözeltisi içerisindeki dağılımı (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²).....	43
Şekil 5.11. Farklı derişimlerdeki FeS ₂ nanopartiküllerinin <i>E. coli</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivitenin agar plaklar ile gösterimi (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²)	44
Şekil 5.12. Farklı derişimlerdeki FeS ₂ nanopartiküllerinin <i>S. aureus</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivitenin agar plaklar ile gösterimi (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²)	45

Şekil 5.13. Farklı derişimlerdeki FeS ₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında a) <i>E. coli</i> ve b) <i>S. aureus</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²)	46
Şekil 5.14. FeS ₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında çeşitli tuzaklayıcılar varlığında a) <i>E. coli</i> ve b) <i>S. aureus</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm ⁻²) ve c) muhtemel ROS oluşum mekanizmasının şematik gösterimi	48
Şekil 5.15. a) FeS ₂ nanopartiküllerinin L929 hücrelerine karşı gösterdiği in vitro sitotoksosite ve b) belirli aralıklarla PBS çözeltisinde dağıtılan FeS ₂ nanopartiküllerinin UV-Vis-NIR absorbans spektrumu	49

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2. 1. Fototermal malzemelerin dönüşüm mekanizmaları	13
Çizelge 3. 1. Sülfür esaslı kalkojenitlerin antibakteriyel fototerapi uygulamaları	15
Çizelge 3. 2. Farklı yapılara sahip FeS ₂ sentezleme yöntemleri	21
Çizelge 3. 3. Sıcak besleme yöntemi ile üretilen FeS ₂ nanoparçacıkları	22
Çizelge 4. 1. Üretim ve karakterizasyonda kullanılan kimyasal ve markaları	23
Çizelge 5. 1. FeS ₂ bazlı parçacıkların fototermal performanslarının karşılaştırılması	40



1. GİRİŞ

Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması bakteriyel enfeksiyonların hızla artışına neden olmaktadır (Jubair ve ark., 2021). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine bakıldığında Dünya çapında her yıl yaklaşık 700.000 insan bakteriyel hastalıklardan ölmektedir. Yanlış ve fazla antibiyotik kullanımı azaltılamaz veya antibiyotiklere alternatif yeni stratejiler geliştirilmezse 2050 yılında bu ölümlerin yılda 10 milyon civarında olacağı tahmin edilmektedir (Wang ve ark., 2020).

Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasıyla mevcut antibiyotiklerin etkisinin azalması birçok ilaç firmasının yeni antibiyotikler geliştirmesi ve antibiyotik üretimi konusunda çalışmalarını hızlandırmasına neden olmuştur. Ancak yeni antibiyotiklerin üretimi hem maliyetli hem de uzun bir süreçtir. Ayrıca bakteriler kısa sürede yeni üretilen antibiyotiklere karşı direnç kazandığı için yeni antibiyotiklerin üretimi geçici bir çözüm olmaktadır (Serri ve ark., 2019). Bu nedenle mevcut antibiyotiklerin bir arada kullanımı, antibiyotiklerin enkapsülasyonu veya spektrumlarının genişletilerek daha fazla bakteri türüne etkinin sağlanması gibi farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir (Mas ve ark., 2013).

Son zamanlarda bu tahmin edilebilir yaklaşımlara alternatif olarak, antibiyotiklerden bağımsız tasarlanabilen mikrodalga, sonodinamik, fototermal ve fotodinamik terapi sistemleri üzerine yoğun araştırmalar yürütülmektedir (Wang ve ark., 2020). Bunlar arasında diğerlerine kıyasla yan etkilerinin daha az olduğu bilinen ve bakterilerin çok hızlı bir şekilde öldürülmesine imkân veren fotodinamik ve fototermal terapilerin (FDT ve FTT) ön plana çıktığı görülmektedir. Bu iki yöntem genel olarak fototerapi başlığı altında değerlendirilse de kullanılan ışığa duyarlı nanopartiküllerin antibakteriyel aktivite mekanizmaları açısından oldukça farklı yöntemlerdir. FDT fotouyarım sonucu reaktif oksijen türlerinin (ROS: $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $^1\text{O}_2$) oluşumu sağlanarak bakterilerin hücre membranına, DNA'sına ve ribozomuna hasar verilmektedir. Diğer taraftan FTT, ışığa duyarlı malzemelerin ışığı absorplamasının ardından bölgesel bir ısı açığa çıkmaktadır (Liu ve ark., 2023). Bu ısının etkisiyle bakteri hücrelerinin ölümü gerçekleşmektedir. FDT'nin, dış membran yapısından dolayı Gram-negatif (G-) bakterilerin öldürülmesinde daha az etkili olduğu bilinmektedir (Ren ve ark., 2020). FTT'nin ise uzun süre yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilmesi sağlıklı hücrelere ve dokulara zarar verebilmektedir (Jiang ve ark., 2023). Bu nedenle hem fotodinamik hem de fototermal etkiyi bir arada gösteren malzemelerin antibakteriyel uygulamalarda

kullanılması ile daha düşük sıcaklıklarda ve kısa sürede farklı bakteri türleri etkili bir şekilde öldürülebilmektedir (Wu ve ark., 2021).

Fototerapi uygulamaları için kullanılan malzemeler; soy metaller, karbon esaslı malzemeler, organik malzemeler ve yarı iletken malzemeler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (Yang ve ark., 2019; Ma ve ark., 2021). Bunlar içerisinde yarı iletken metal kalkojenitler; ayarlanabilir optik bant aralığı, yüksek termal kararlılığı ve hem fotodinamik hem de fototermal etki göstermesi ile son zamanların popüler antibakteriyel malzemeleri arasında yerini almıştır (Terna ve ark., 2021). Araştırmalar özellikle CuS ve MoS₂ olmak üzere iki farklı bileşik üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak, nano boyuttaki CuS'in hidrofobik yapısına ek olarak bu kalkojenit bileşiğin düşük fototermal dönüşüm verimliliği nedeniyle iyi bir antibakteriyel aktivitenin elde edebilmesi için yüksek nanoparçacık konsantrasyonuna ve yüksek yoğunlukta ışığa ihtiyaç duyulmaktadır (Xiaomei ve ark., 2017). Diğer yandan, MoS₂ sadece hidrofobik olmakla kalmayıp aynı dalga boyunda fototermal ve fotodinamik aktiviteyi eş zamanlı olarak etkili bir şekilde gösterememektedir.

Literatür çalışmaları incelendiğinde dar optik bant aralığı (0,95 - 1,58 eV), yüksek taşıyıcı konsantrasyonu ve yüksek ROS oluşturma potansiyeli olan FeS₂'nin yukarıda bahsedilen malzemelere alternatif olabileceği görülmüştür (Yuan ve ark., 2020). Gösterdiği optoelektronik özellikler, bu malzemenin hem fotodinamik hem de fototermal etki gösterebileceğini kanıtlamaktadır. FeS₂'nin ilaç taşınımı, biyosensörler, kanser tedavisi ve antibakteriyel araştırmalar gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımıyla ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Ancak, literatürde FeS₂'nin ışık altında antibakteriyel aktivitesini ele alan çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Friedlander ve ark., 2015; Xie ve ark., 2021). Bunlardan ilki, 2015 yılında Friedlander ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada doğal FeS₂ mineralinin UV ışık altında ROS ile antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Friedlander ve ark., 2015). Bir diğer çalışmada ise TiO₂-FeS₂ nanokompozitleri üretilerek NIR ışık altında antibakteriyel aktivite gösteren kompozitlerin üretilmesi sağlanmıştır. Üretilen kompozitlerin NIR ışık altında aktivite göstermesi FeS₂ partiküllerin dar optik bant aralığı ile açıklanmıştır (Mutalik ve ark., 2020). Xi ve ark. yaptıkları çalışmada (2021), ultra küçük FeS₂ nanoparçacıkları ile dekore edilmiş karbon nanoküreler sentezlemiş ve fototermal dönüşüm verimliliğini %35 olarak hesaplamışlardır (Xi ve ark., 2021). Ancak, karbon nanokürelerin yüksek fototermal etki göstermesi FeS₂ nanoparçacıklarının fototermal dönüşüm verimliliği üzerindeki katkısını anlamayı zorlaştırmıştır. NIR ışık altındaki

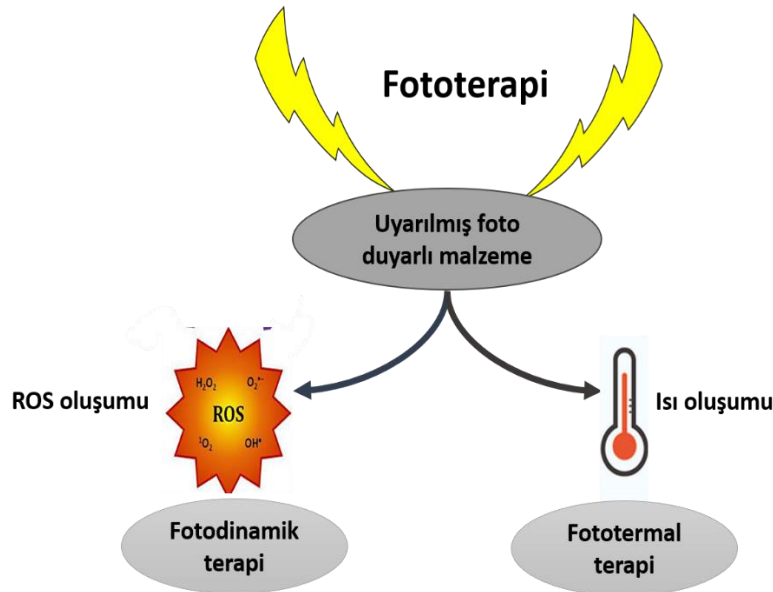
antibakteriyel aktivite testlerine dayanarak, Gram-pozitif (G^+) ve G^- bakterilere karşı iyi bir antibakteriyel etki gözlemlenmiş ve bu durum FeS_2 'nin hem fototermal dönüşüme katkısı hem de Fe^{2+} iyonlarının antibakteriyel aktivite göstermesi ile açıklanmıştır.

Diğer taraftan FeS_2 nanopartiküllerinin hem fototermal hem de fotodinamik etkilerinin incelendiği herhangi bir antibakteriyel fototerapi çalışması literatürde bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, öncelikle sıcak besleme yöntemiyle FeS_2 nanopartikül üretim parametrelerinin optimize edilmesine yönelik farklı sıcaklık ve sürelerde üretimler gerçekleştirilmiştir. Üretim parametrelerinin optimize edilmesi sonrası FeS_2 nanopartiküllerinin fototermal etkisinin arttırılmasına yönelik sentez başlangıç bileşenlerinin (Fe-kaynağı ve S kaynağı) miktarları değiştirilerek farklı stokiyometrilere FeS_2 üretimleri yapılmıştır. Bu yaklaşımla, antibiyotik kullanılmadan hem G^+ hem de G^- bakterilere karşı umut verici antibakteriyel aktivite sergileyen FeS_2 nanopartikülleri geliştirilmiştir.

2. FOTOTERAPİ

Işığın tıbbi amaçlı kullanımı 19. yüzyıla kadar uzanmaktadır. O günden bugüne optik bilimindeki gelişmeler ve ışığın özelliklerinin daha iyi anlaşılması tıbbi teknolojide önemli ilerlemelerin olmasını sağlamıştır. Bu alana olan ilgi, Niels Finsen'in 1903 yılında lupus vulgaris tedavisinde elde ettiği başarılı sonuçlar ile zirveye ulaşmış ve modern fototerapinin önünü açmıştır. 1960'lı yıllarda, şiddetli sarılık tedavisinde mavi ışık fototerapisinin geliştirilmesi ve kullanılması ile tıp tarihinde bir dönüm noktası yaşanmıştır. Bu tedavi sayesinde milyonlarca bebek ölümden kurtarılmıştır. Son yıllarda, fototerapinin kanser tedavisi, antibakteriyel/iltihap ve diğer biyomedikal uygulamalarda kullanımı üzerine yoğun bir şekilde çalışma yapılmaktadır (Roelandts, 2002; Chitgupi ve ark., 2017; Wang ve ark., 2022). Fototerapi, hastaların ışığa maruz bırakılması yoluyla uygulanan, tedavi edici etkileri artırmak amacıyla fotoduyarlı malzeme kullanılan bir tıbbi tedavi olarak tanımlanabilir (Nguyen ve ark., 2022; Ye ve ark., 2022).

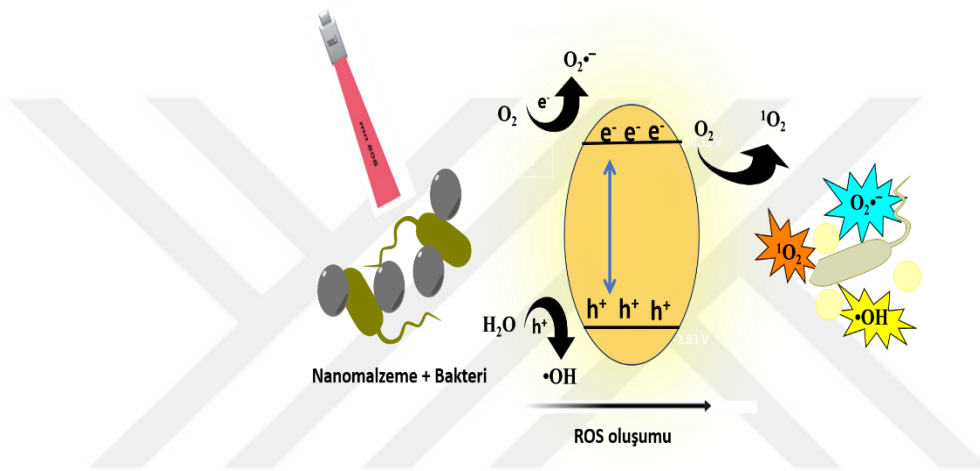
Son dönemlerde, antibakteriyel fototerapinin bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirildiği görülmektedir. Bu yöntem, bilenen antibiyotiklere kıyasla daha az yan etkilere ve geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliklere sahip olması nedeniyle dikkat çekmektedir (Zhao ve ark., 2021; Zhu, 2023). Fototerapi Şekil 2.1'de gösterildiği gibi, temel olarak FDT ve FTT terapi olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. FDT, ROS kullanımıyla gerçekleştirilirken, FTT termal enerji (ısı) kullanılarak uygulanır.



Şekil 2.1. FDT ve FTT'nin şematik gösterimi (Wei ve ark., 2020)

2.1. Fotodinamik Etki

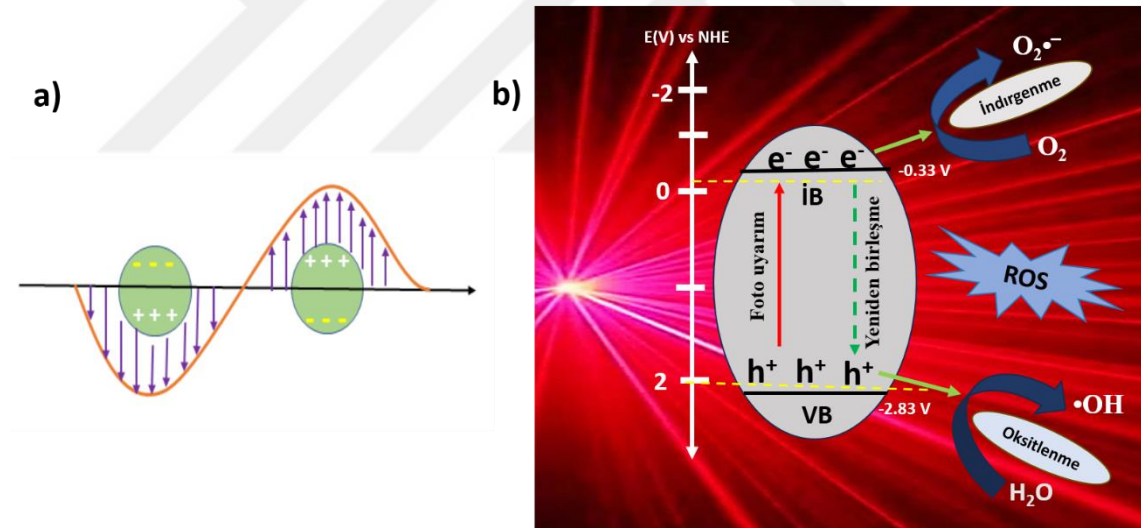
FDT’de Şekil 2.2’de gösterildiği gibi fotouyarım sonucu ROS ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $^1\text{O}_2$) oluşumu sağlanarak bakterilerin hücre membranına, DNA’sına ve ribozomuna hasar verilmektedir. FDT, antibiyotiklere karşı direnç gösteren hastalık yapan bakterileri etkili bir şekilde öldürme potansiyeli ve bakterilerin geleneksel antibiyotik tedavisine karşı hızla geliştirebileceği ilaç direnci riskini önemli ölçüde azaltma özelliği sayesinde araştırmacılar tarafından yoğun ilgi görmektedir (Calin ve ark., 2006; Liu ve ark., 2015).



Şekil 2.2. ROS oluşumu ile bakteriyel etkinin şematik gösterimi

Fotodinamik etki gösteren malzemeler; fotoduyarlı moleküller, metal nanopartiküller ve inorganik yarı iletkenler olmak üzere gruplandırılabilir. Kanserli hücre tedavisinde ve antibakteriyel uygulamalarda üzerine en çok çalışılan fotodinamik malzemeler porfirinler, ftalosiyaninler ve fenotiyazinler gibi fotoduyarlı moleküller olmuştur. Fakat bu moleküllerin çözünürlüğünün kısıtlı olması, elektromanyetik dalga spektrumunda düşük dalga boylarında aktif olması ve sentezlerinin maliyetli olması kullanımlarını kısıtlamaktadır (Escudero ve ark., 2021; Zhao ve ark., 2021). Bir diğer fotodinamik özellik gösteren grup metal nanopartiküllerdir. Şekil 2.3 (a)’da şematik olarak gösterildiği gibi metal nanopartiküllerin belirli bir dalga boyunda ışık ile etkileşimi sonucu Lokalize Yüzey Plazmon Rezonansı (LSPR) olarak bilinen, metal yüzeyindeki elektronların topluca salınımı gerçekleşmektedir. Bu etki sonucu, metal nanopartikül yüzeyine adsorplanmış olan O_2 molekülüne hızlı bir şekilde elektron transferi gerçekleşebilmekte ve $^1\text{O}_2$ radikali oluşabilmektedir. LSPR etkisinin gözlemlendiği dalga boyu doğrudan metal nanopartiküllerin boyutları ile ilişkilidir (SS dos Santos ve ark.,

2021). Bu alanda genelde Au ve Ag gibi değerli metal nanopartiküller kullanılmaktadır ve bu da maliyetleri arttırmaktadır. Son grup ise inorganik yarı iletken malzemelerdir. Bu malzemelerde, Şekil 2.3 (b)'de gösterildiği gibi fotouyarım sonucu malzemenin valans bandında (VB) bulunan elektronlar iletim bandına (İB) geçmekte ve VB'da elektron boşlukları oluşmaktadır. İB'ye geçen elektronlar O_2 'yi $O_2^{\bullet-}$ 'ye indirgemekte, VB'da oluşan elektron boşlukları ise H_2O 'yu oksitleyerek $\bullet OH$ radikali oluşmasını sağlamaktadır. Oluşan bu radikaller katalitik reaksiyonlar ile diğer ROS'lara dönüşebilmektedir. Genelde fotokatalitik uygulamalarda kullanılan metal oksit malzemeler fotodinamik etkisinden dolayı hem *in vitro* hem de *in vivo* antibakteriyel uygulamalarda denenmiştir. Bunlara örnek olarak TiO_2 , ZnO ve WO_3 verilebilir; fakat bu malzemeler geniş bant aralığından dolayı sadece UV ışık altında etkili olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, dar optik bant aralığı ile NIR ışık altında da fotodinamik etki gösteren ve düşük maliyetli CuS , Ag_2S , MoS_2 ve WS_2 gibi metal kalkojenit malzemeler dikkat çekmiştir (Tang ve ark., 2021).



Şekil 2. 3. Metal kalkojenitlerde NIR ışık altında **a)** yüzey plazmon salınımlarının oluşması ve **b)** ROS oluşum mekanizması

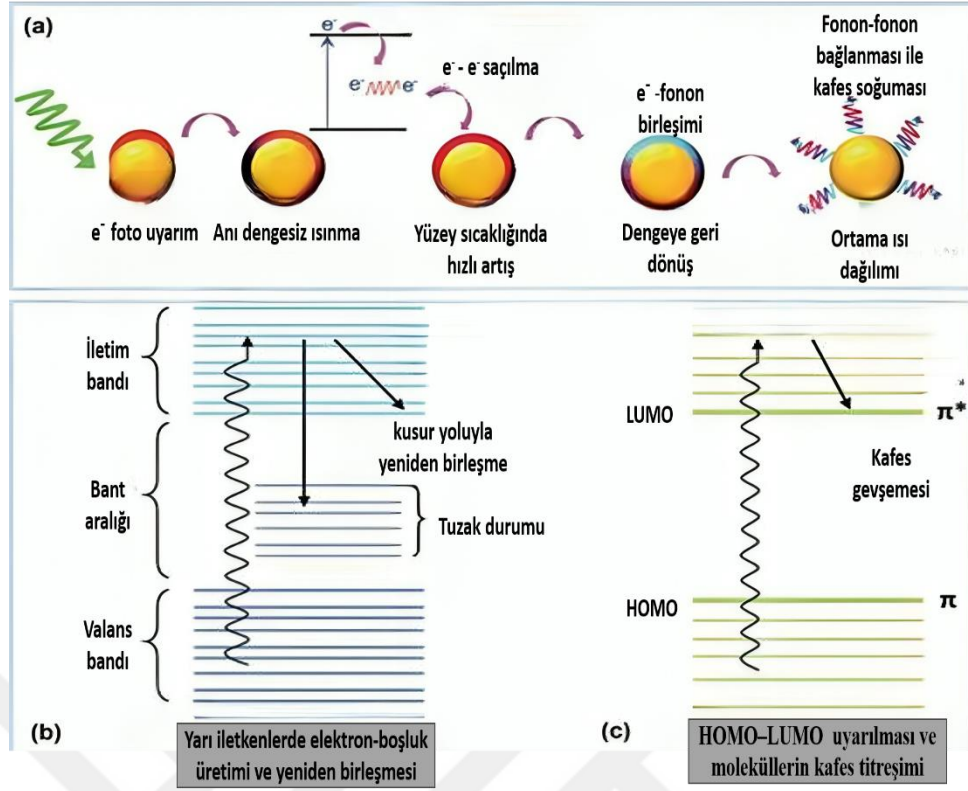
Yukarıda yazılanlara ek olarak FDT'nin hızlı ve son derece etkili bir tedavi yöntemi olduğu söylenebilir; çünkü uygulandığı anda ROS üretilmekte ve dağıtılmaktadır. ROS bakterilerle hızlı bir şekilde etkileşime girerek etkin bir aktivite sağlamaktadır. Ancak, farklı membran yapılarından dolayı FDT, *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi G^- bakterilerde, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) gibi G^+ bakterilere kıyasla daha az etkilidir (Ren ve ark., 2020). Bununla beraber, enfeksiyon bölgesindeki yüksek

glutasyon konsantrasyonları ve hipoksik mikro ortam, ROS oluşumuna bağlı FDT'nin bakterilere karşı etkinliğini sınırlayabilmektedir (Kou ve ark., 2017).

2.2. Fototermal Etki

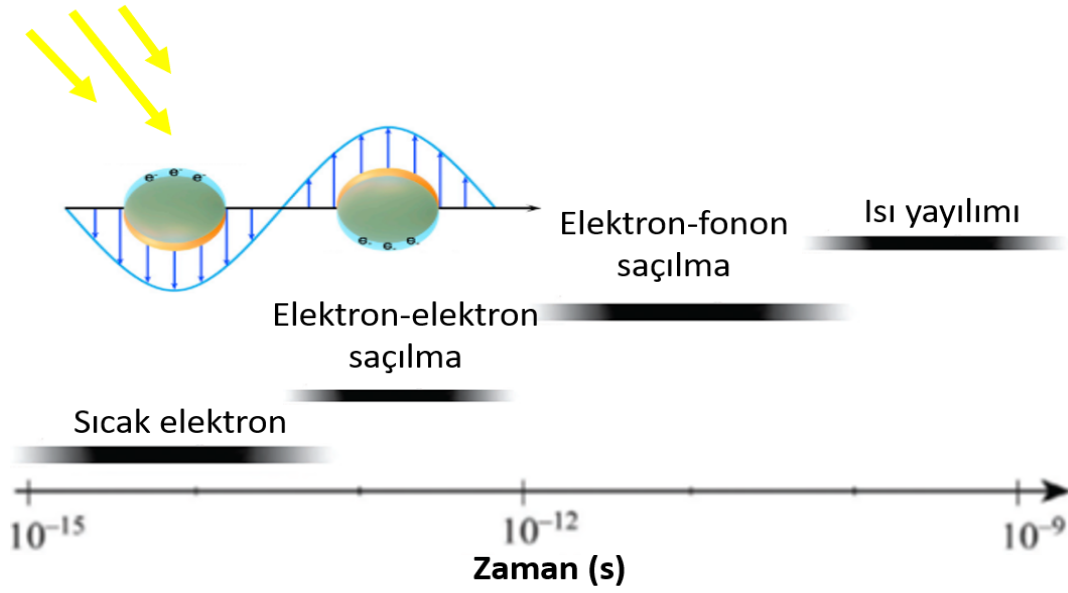
Işıktan ısıya enerji transferi, doğada çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik tepkimelerde yaygın olarak görülür ve doğanın temel süreçlerinden birini oluşturmaktadır. Fototermal dönüşüm olarak adlandırılan bu süreçte, malzemeler ışığı soğurucu olarak işlev görmekte ve ışık enerjisini etkili bir şekilde ısıya dönüştürmektedir. Bu dönüşüm, belirli nanomalzemelerde son derece verimli olup üretilen termal enerji, lokalize sıcaklık artışlarına neden olmakta ve çeşitli uygulamalarda kullanılabilmektedir. Bu uygulama alanları arasında atık su arıtımı, petrol sızıntısı temizliği, nem yakalama, buharlaşma sırasında enerji toplama, sterilizasyon, buz çözme ve fototermal tedavi bulunmaktadır (Zhao ve ark., 2019; Cui ve ark., 2023).

FTT, fototermal etkiye dayanan umut verici bir kanser ve antibakteriyel tedavi tekniğidir. Antibakteriyel uygulamalarda, FTT ile ışık enerjisi ısıya dönüştürülmekte ve bakterinin dış membranını yırtılması, protein yapısının bozulması ve geri dönüşü olmayan bakteriyel hasar gibi etkiler oluşturmaktadır (Xu ve ark., 2019). İdeal fototermal malzemeler, mükemmel fototermal dönüşüm verimliliğine sahip olmalı, iyi biyoyumluluk göstermeli ve belirli bir dalga boyunda ışığı soğurabilmelidir (Li ve ark., 2022). Özellikle, yakın kızılötesi bölgede ışığı soğurması tercih edilmektedir. Bunun sebebi yakın kızıl ötesi bölgesindeki ışığın, insan dokularına iyi bir şekilde nüfuz ederken normal dokulara minimal zarar vermesidir (Liu ve ark., 2023). Bu malzemeler, sitotoksik olmamalı veya bağışıklık tepkisini tetiklememelidir. Ayrıca, bazı hedefleme yaklaşımlarında kan ve sağlıklı dokulardan hızla temizlenmeli ve yüksek fotostabiliteye sahip olmaları gerekmektedir (Chitgupi ve ark., 2017; Li ve ark., 2024). Fototermal malzemeler genellikle plazmonik malzemeler, yarı iletken malzemeler, polimerik malzemeler ve karbon esaslı malzemeler olmak üzere dört ana kategoride sınıflandırılmaktadır. Bu malzemelerde fototermal dönüşüm mekanizması değişiklik göstermektedir. Genel olarak, gözlemlenen mekanizmalar Şekil 2.4'te görüldüğü üzere LSPR etkisi, yarı iletkenlerde elektron-boşluk (e^-h^+) üretimi ve yeniden birleşmesi, HOMO–LUMO (en yüksek işgal edilmiş moleküler orbital – en düşük işgal edilmemiş moleküler orbital) uyarılması ve moleküllerin kafes titreşimidir (Xu ve ark., 2020).



Şekil 2.4. Fototermal etki oluşum mekanizmalarının şematik gösterimi, **a)** LSPR etkisi, **b)** yarı iletkenlerde elektron-boşluk çiftlerinin oluşumu ve yeniden birleşmesi ve **c)** moleküllerde HOMO-LUMO uyarılması ve kafes titreşimi (Tee ve ark., 2022)

LSPR, gelen fotonlar ile malzemenin iletkenlik bandı arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıkmaktadır (Hammond ve ark., 2014). Gelen ışığın frekansı ile malzemedeki delokalize elektronların salınım frekansı arasındaki uyum, elektronların toplu uyarılmasını ve sıcak elektronların oluşumunu tetiklemektedir (Chen ve ark., 2019). Kısaca LSPR, bir yüzey plazmonunun rezonans frekansına ulaşarak ışık ile etkileşime girmesidir. Bu etkileşim, ışımalı ve ışımasız olmak üzere iki farklı şekilde enerji kaybetmektedir. Işımalı süreç, genellikle plazmonun elektriksel alanını güçlendirirken, ışımasız süreç ise sıcak elektron oluşumuna ve malzemenin ısınmasına neden olmaktadır. Malzemeye gelen bütün ışık enerjisi ısıya dönüştürülemez ve ısı oluşumu ani değildir. Şekil 2.5'te gösterildiği gibi sıcak elektron oluşumu, elektron- elektron saçılması, elektron fonon saçılması ve ısı yayılımı adımlarından oluşmaktadır. LSPR frekansı, esas olarak nanoparçacıkların boyutuna, şekline, malzeme özelliklerine ve çevreleyen ortama bağlıdır (Rai ve ark., 2016; Liang ve ark., 2021). Bu mekanizma ile fototermal etki, soy metaller, geçiş metalleri ve bazı inorganik yarı iletkenlerde görülmektedir.



Şekil 2.5. Plazmonik ısınmaya yol açan süreçlerin zaman ölçekleriyle birlikte LSPR şeması (Wang ve ark., 2024)

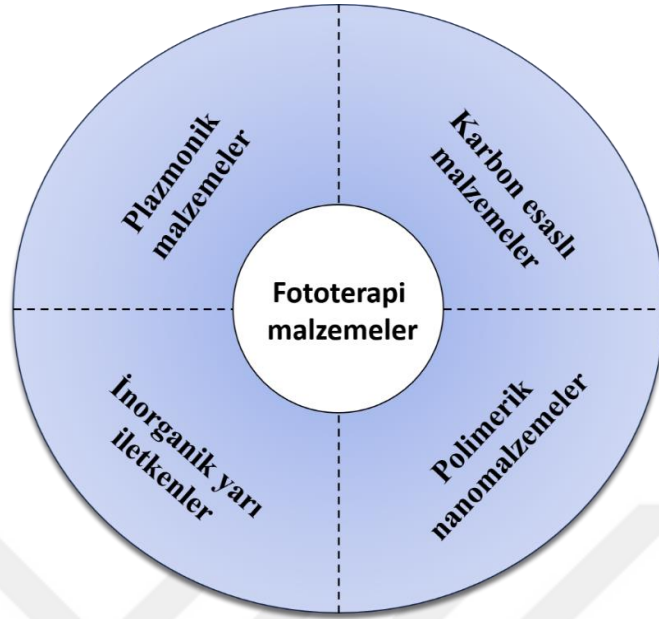
Yarı iletken malzemelerde görülen bir diğer mekanizma ise fotouyarım sonucu oluşan elektronların ışımasız yeniden birleşmesidir. Şekil 2.4 (b)'de görülebileceği üzere yarı iletken bir malzeme ışıkla uyarıldığında, bant aralığı ile aynı veya daha büyük enerjiye sahip fotonları soğurur, bu da VB elektronların İB geçmesine neden olmaktadır. Bu olay sonucu VB'de elektron boşlukları oluşmaktadır. Fotouyarım sonucu uyarılan elektronların geri VB pozisyonuna dönmesi ile foton oluşurken (ışımali yeniden birleşme), optik bant aralığı içindeki kusurlu bölgelerde tuzaklanmaları ile fonon oluşmaktadır (ışımasız yeniden birleşme). Işımasız yeniden birleşme sonrasında taşıyıcıların enerjilerini kristal latise aktarması ile ısı serbest kalmaktadır. Bunun sonucu latisteki termal enerji artmakta ve bu sıcaklık artışına neden olmaktadır. Oluşan ısı miktarı, malzemenin ışığı soğurma kapasitesine ve ışımasız yeniden birleşme oranına göre değişmektedir. Bu mekanizma yarı iletken metal oksit ve metal kalkojenit malzemelerde gözlenmektedir. Bu malzemelerin fototermal etkisi çeşitli katkılama larla bant aralığının daraltılması veya malzeme içindeki krisal yapı kusur oranlarının arttırılarak ışımasız yeniden birleşme oranlarının modifiye edilmesi ile geliştirilebilmektedir (Tang ve ark., 2022). Karbon esaslı ve polimer malzemeler de NIR ışığı güçlü bir şekilde soğurma ve latisteki titreşimler ile fotonları ısıya dönüştürme kapasitesine sahiptir. Bu malzemelerde Şekil 2.4 (c)'de görülebileceği üzere fotouyarım sonucu HOMO seviyesinden LUMO seviyesine elektron aktarımları gerçekleşmektedir. Fotouyarım sonucu LUMO seviyesine geçen bu elektronlar enerjisinin bir kısmını

çevredeki atomların titreşimlerine (fononlar) aktarmakta ve daha düşük bir enerji seviyesine geçmektedir. Elektron-fonon etkileşimi olarak adlandırılan bu olay sonrası malzemede ısı artışı gözlemlenmektedir. Bu mekanizma karbon nanotüp, grafen, karbon siyahı gibi karbon esaslı malzemeler ve polianilin, poli(3,4-etilendioksitiyofen); polistiren sülfonat (PEDOT:PSS), polipirol, polidopamin gibi polimer esaslı malzemelerde gözlemlenmektedir (Yin ve ark., 2022; Li ve ark., 2023).

2.3. Fototerapi Uygulamalarında Kullanılan Malzemeler

Yukarıda da bahsedildiği ve Şekil 2.6'da görülebileceği üzere antibakteriyel fototerapi uygulamalarında kullanılan malzemeler dört ana kategoride sınıflandırılabilir. Bunlar, plazmonik malzemeler, karbon esaslı malzemeler, polimerik malzemeler ve inorganik yarı iletkenlerdir. Fototerapi uygulamalarında üzerinde uzun süredir çalışılan malzemeler plazmonik metal nanoparçacıklardır. Bu malzemeler FTT ve antibakteriyel uygulamalar dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal alanlarda büyük potansiyele sahiptir. Özellikle soy metal nanopartiküller (SMNP'ler), basit sentez yöntemleri ve yüksek fotoduyarlılık gibi avantajlarından dolayı antimikrobiyal alanda büyük ilgi görmektedir (Ye ve ark., 2022). Üzerine en çok çalışılan soy metal, Au nanopartikülleridir. Küresel Au nanopartikülleri genelde 500-550 nm arasındaki dalga boyunda LSPR etkisi gösterebilirken, partikül boyutu ve şeklinde yapılan değişimlerle LSPR etkisini NIR bölgede de göstermesi sağlanabilmektedir. Bugüne kadar, nanoçubuk, nanokafes, nanoplaka, nanoyıldız gibi birçok morfolojide Au nanopartikülleri üretilerek, bu nanoyapıların optik özellikleri modifiye edilmiş NIR ışık altında yüksek fototermal etki gösteren malzemeler geliştirilmiştir (Liu ve ark., 2023). Yapılan çalışmalarda kullanılan konsantrasyonlar, ışık şiddetleri, kullanılan dalga boyları düşünüldüğünde çalışmaları doğrudan birbiri ile karşılaştırmak doğru olmamakla birlikte çoğu çalışmada Au nanopartikülleri kullanılarak NIR ışık altında 60 °C üzerine çıkılmıştır. Fakat, Au nanopartiküllerin fototermal kararlılığının düşük olması ve NIR ışık altında morfolojisini kaybedebilmesi kullanımını sınırlandırmaktadır (Mutalik ve ark., 2023). Son yıllarda bu malzemenin diğer fototermal/fotodinamik malzemeler ile veya antibiyotikler ile kullanımı üzerine çalışmalar da hız kazanmıştır. Soy metallerin fototerapi uygulamalarında asıl etkisinin fototermal olduğu bilinmektedir; fakat, daha önce de bahsedildiği gibi bu malzemeler NIR ışık altında fotodinamik etki göstererek ROS da oluşturabilmektedir. Bu malzemelerin en büyük dezavantajı fototerapi

uygulamalarında kullanılan diğer malzemelere kıyasla maliyetli olmasıdır (Yu ve ark., 2024) .



Şekil 2.6. Antibakteriyel fototerapi uygulamalarında kullanılan malzemelerin sınıflandırılması

Bir diğer grup ise karbon esash malzemelerdir. Bu gruba, karbon siyahı, karbon fiberler, karbon nanotüpler ve grafen gibi malzemeler girmektedir. Bu malzemeler soy metallere kıyasla düşük maliyetlidir, kararlıdır ve farklı dalga boylarında yüksek fototermal dönüşüm verimi gösterirler. Özellikle karbon nanotüplerin NIR ışık altında yüksek soğurum yaptığı ve fototermal uygulamalar için en ideal malzemelerden biri olduğu bilinmektedir (Neelgund ve Oki, 2018). Diğer taraftan bu malzemenin toksik ve hidrofobik olması biyomedikal uygulamalarda kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle, bu alanda kullanılma potansiyelini arttırmak için uygulanan en etkili yöntem yüzeyinin kimyasal modifikasyonudur. Karbon nanotüplerin yanı sıra, grafit, grafen ve grafen oksit (GO) gibi malzemeler de yaygın olarak fototermal uygulamalarda kullanılmaktadır (Li ve ark., 2023). Fakat, bu malzemeler de FTT’de orijinal hallerinde, *in vitro/vivo* ortamlarında zayıf bakteri seçiciliği ve orta derecede antibiyofilm aktivitesi sergilemektedir. Bu nedenle bu malzemeler, bakterileri hedefleyebilen ve bakteri biyofilmleriyle daha etkili bir şekilde mücadele edebilen ek yüzey fonksiyonel grupları veya nanomalzemelerle birleştirilmektedir (Liu ve ark., 2023).

Polimerik nanomalzemeler fototermal uygulamalarda üzerine en çok çalışılan malzeme gruplarından bir tanesidir. Bu malzemeler biyoyumlu olmaları ve umut vadeden fototermal özellikleri ile dikkat çekmişlerdir (Sarathkumar ve ark., 2023). Bunlar

içerisinde PANI özellikleri en iyi anlaşılanlardan bir tanesidir. Bu malzeme yüksek fototermal etki göstermesine rağmen farklı pH koşullarında zamanla fototermal özelliklerini kaybedebilmektedir (Ju ve ark., 2015). PEDOT:PSS'nin farklı malzemelerle kaplanması veya nanokompozitlerinin oluşturulması hem fototermal hem de fotodinamik etki gösteren platformlar geliştirilmesini sağlamıştır. Örneğin, Lee ve ark., PEDOT:PSS nanopartiküllerini indisiyonin yeşili ile kaplamış ve bu platforma bakterileri hedefleme özelliği kazandırmak için PEG/glutaraldehit ile birleştirmiştir. Üretilen bu platform %71,1 gibi oldukça yüksek fototermal dönüşüm verimi, çok iyi fotokararlılık, düşük toksisite ve ~%99 gibi kayda değer oranda antibakteriyel aktivite göstermiştir (Li ve ark., 2015). Bir diğer çalışmada ise PEDOT: PSS ve agaroz kullanılarak hidrojel üretilmiştir. Üretilen bu hidrojellerin sıcaklığı NIR ışık altında çok hızlı bir şekilde artmıştır (24 s'de 24,5 °C). 808 nm dalga boyuna sahip ışık altında ($2,0 \text{ W cm}^{-2}$) 2 dk'de gerçekleştirilen antibakteriyel çalışmada hem *E. coli* hem de *S.aureus* bakterilerinin tamamen dezenfekte edildiği rapor edilmiştir (Ko ve ark., 2019). Polimerik fototermal malzemeler ile umut vadeden fototerapi platformları üretilmiş olmasına rağmen, bu polimerlerin üretimi sırasında molekül ağırlığının kontrol edilmesinde sıkıntılar yaşanması, biyolojik ortamda düşük çözünürlüğü ve bazı koşullarda kararsız olmaları dezavantajları olarak sayılmaktadır (Wang ve ark., 2020).

Fototermal uygulamalarda kullanılan inorganik yarı iletkenler; metal oksitler ve metal kalkojenitler olarak iki gruba ayrılabilir. Bu malzemeler düşük maliyetleri, kolay sentezlenebilirlikleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle fototermal dönüşüm için olağanüstü adaylardır (Cui ve ark., 2023). Organik yarı iletkenlere kıyasla daha kararlıdır. Katkılama, partikül boyutunda değişiklik ve morfoloji modifikasyonu ile bu malzemelerin bant aralıkları ayarlanabilmekte ve NIR bölgesinde yüksek soğurum elde edilebilmektedir (Chen ve ark., 2019). Metal oksitler içinde; MoO_3 , Fe_3O_4 , WO_3 ve Co_3O_4 gibi malzemeler ön plana çıkmaktadır. Bu malzemelerde oluşturulan oksijen boşlukları LSPR etkisini artırmakta ve NIR bölgede yüksek soğurum elde edilmesini sağlamaktadır. Bu malzemeler bugüne kadar birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanılmış olmasına rağmen, nispeten geniş bant aralığına sahip olmaları ve oksijen kusur oranının üretim yöntemine göre farklılık göstermesi fototermal dönüşüm verimini azaltmaya yönelik etkiler yapabilmektedir. Birçok metal kalkojenit dar bant aralığına sahiptir ve NIR bölgede yüksek soğurum yapmaktadır. Bunlara CuS , MoS_2 , WS_2 , Ag_2S , Bi_2S_3 ve FeS_2 gibi malzemeler örnek olarak verilebilir. Bu malzemeler, yüksek fototermal dönüşüme ek olarak yüksek termal kararlılık, toksik olmama, düşük maliyetli yöntemler ile kolaylıkla

üretilebilme, NIR ışık altında fotodinamik ve kemodinamik etki gösterme gibi özellikleri ile de dikkat çekmiştir (Xu ve ark., 2019). Yukarıda anlatılanlardan da yola çıkarak fototerapi uygulamalarında kullanılan malzemelerin fototermal etki mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları Çizelge 2.1’de özetlenmiştir. Çizelgeden de görülebileceği üzere maliyet, performans ve kararlılık gibi özellikleri dikkate alındığında inorganik yarı iletkenler diğer malzemelere kıyasla ön plana çıkmaktadır. Bunlar içerisinde de çalışmalar özellikle metal kalkojenitler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Çizelge 2.1. Fototermal malzemelerin dönüşüm mekanizmaları (Cui ve ark., 2023)

Malzemeler	Mekanizmalar	Avantajları	Dezavantajlar
Plazmonik metal nanopartiküller	LSPR etkisi	Ayarlanabilir plazmon rezonansı ve geniş bir aralıkta soğurum	Yüksek üretim maliyeti, lokal sıcaklık artışının kontrol edilememesi, çözünme ve kimyasal reaksiyona yatkınlık
İnorganik yarı iletkenler	e^-h^+ çiftlerinin ışımasız rekombinasyonu ve LSPR etkisi	Kolay sentez, düşük toksisite ve NIR bölgesinde yüksek soğurum katsayıları	Yüksek dozlarda aglomerasyon
Karbon esaslı malzemeler	Lokalize π elektronlarının ışımasız gevşemesi	Yüksek kimyasal stabilite ve geniş bant aralığında soğurum	Biyolojik ortamlarda zayıf çözünürlük, yüksek doza ihtiyaç duyulması nedeniyle aglomerasyon ve toksisite riskleri
Polimerler esaslı malzemeler	Lokalize π elektronlarının ışımasız gevşemesi	Çok yönlü moleküler tasarım, NIR ışığının güçlü soğurumu ve iyi biyouyumluluk	Fotostabilite düşüklüğü, çözünürlük sınırlamaları ve düşük fototermal dönüşüm verimliliği

3. ANTİBAKTERİYEL FOTOTERAPİ UYGULAMALARINDA METAL KALKOJENİTLER

Yarı iletken metal kalkojenitler ayarlanabilir optik bant aralığı, yüksek termal kararlılığı ve hem fotodinamik hem de fototermal etki göstermesi ile son zamanların popüler antibakteriyel malzemeleri arasında yerini almıştır (Han ve ark., 2024). Çizelge 3.1’de fotodinamik ve fototermal etkiyi bir arada gösterme yeteneğine sahip metal kalkojenitlerin kullanıldığı antibakteriyel aktivite çalışmaları verilmiştir. Malzemenin özellikleri dışında kullanılan ışığın güç yoğunluğu ve uygulama süresi de fototerapinin etkinliğini değiştirmektedir (Yang ve ark., 2019; Wang ve ark., 2020). Bu nedenle yapılan çalışmaları doğrudan birbirleri ile karşılaştırmak doğru olmayacaktır; fakat, Çizelge 3.1’de de görülebileceği üzere birçok sülfür (S) esaslı metal kalkojenitin, özellikle NIR ışık altında antibakteriyel aktivite sergileyebildiği tespit edilmiştir. Bu konudaki araştırmaların büyük çoğunluğunun CuS nanopartikülleri üzerine odaklandığı görülmektedir. Fototermal ve fotodinamik özellik gösteren CuS’in kanser ve tümör tedavisinde nanopartikül formunda kullanımı daha eskilere dayansa da antibakteriyel uygulamalara yönelik kullanımı ilk olarak 2015 yılında gerçekleştirilmiştir; fakat, bu çalışmada CuS nanopartiküllerinin ışık altında antibakteriyel etkisi incelenmemiştir (Wang ve ark., 2015). CuS nanopartiküllerinin NIR ışık altında antibakteriyel etkisinin incelendiği ilk çalışma 2017 yılında rapor edilmiştir (Dai ve ark., 2017). CuS nanopartiküllerinin hidrofobik özelliği nedeniyle fotodinamik ve fototermal etkinin bakterilere yeterli bir şekilde ulaşmadığı ve bu malzemelerin yüzey modifikasyonuna ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. CuS nanopartiküllerinin yüzeyi kuarterner amin grupları ile modifiye edilerek antibakteriyel etkisi ve aktivite mekanizması araştırılmıştır. Fototermal dönüşüm verimi rapor edilmemiş olmakla birlikte üretilen nanopartiküllerin hem fotodinamik hem de fototermal etki göstererek *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *B. amyloliquefaciens* gibi bakterilere karşı etkin ve tekrar büyümelerine engel olduğu gözlemlenmiştir. Aynı yıl yapılan bir başka çalışmada CuS nanopartiküllerinin sıgır serum albümini ile modifikasyonu yapılmış ve 980 nm dalga boyuna sahip 1,59 W cm⁻² lazer ışığı altında fototermal dönüşüm verimi %25,68 olarak belirlenmiştir (Huang ve ark., 2017). 980 nm dalga boyuna sahip lazer ışığı altında yürütülen antibakteriyel aktivite çalışmaları sonucunda *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerinin %80’inin inhibe edildiği görülmüştür.

Çizelge 3.1. S-esaslı kalkojenitlerin antibakteriyel fototerapi uygulamaları

Malzeme/ Kullanım miktarı	Sentez yöntemi	Modifikasyon	Fototermal verim (%)	Antibakteriyel aktivite	Referans
MoS ₂ (100 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	Polietilen glikol/H ₂ O ₂	43,72 (808 nm, 1,0 W cm ⁻² , 20 dk)	<i>B. subtilis</i> (%100,00) <i>E. coli</i> (%97,00)	(Yin ve ark., 2016)
CuS (50 µg mL ⁻¹)	Biyomineralizasy on	Sığır serum albumini	24,68 (980 nm, 1,59 W cm ⁻² , 45 dk)	<i>S. aureus</i> (%51,90) <i>E. coli</i> (%58,30)	(Huang ve ark., 2017)
MoS ₂ (200 µg mL ⁻¹)	Sıvı faz eksfolasyon	N,N'-di-sek bütıl- N,N'-dinitroso-1,4- fenilendiamin	- (808 nm, 1,0 W cm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%97,20) <i>E. coli</i> (%98,90) <i>E. faecalis</i> (%98,00)	(Gao ve ark., 2018)
Ag ₂ S (2000 µg mL ⁻¹)	-	WS ₂	33,00 (808 nm, 0,5 W cm ⁻² , 20 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,93) <i>E. coli</i> (%99,84)	(Lin ve ark., 2019)
Bi ₂ S ₃ (200 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	Zn doplanmış g- C ₃ N ₄	27,60 (808 nm, 0,8 W cm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,20) <i>E. coli</i> (%99,60)	(Li ve ark., 2019)
Bi ₂ S ₃ (140 µg mL ⁻¹)	Poliol sentezi	Au nanoçubuk	35,30 (808 nm, 3,0 W cm ⁻² , 2 dk)	<i>S. aureus</i> (%100,00) <i>E. coli</i> (%100,00)	(Wang ve ark., 2020)
MoS ₂ (80 µg mL ⁻¹)	-	Polietilenimin	23,80 (808 nm, 1,0 W cm ⁻² , 2 dk)	<i>S. aureus</i> (%78,70) <i>E. coli</i> (%100,00)	(Cao ve ark., 2020)
CuS (200 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	Polietilen glikol/g- C ₃ N ₄	59,64 (808 nm, 1,0 W cm ⁻² , 20 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,00) <i>E. coli</i> (%99,00)	(Liu ve ark., 2020)
CuS (500 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	Ti ₃ C ₂ T _x MXene	- (808 nm, 1,5 W cm ⁻² , 30 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,10) <i>E. coli</i> (%99,60)	(Wu ve ark., 2021)
FeS ₂ (500 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	Carbon nanoküre	35,00 (808 nm, 2,5 Wcm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (5,50 log azalma) <i>E. coli</i> (6,00 log azalma)	(Xi ve ark., 2021)
CuS (100 µg mL ⁻¹)	Solvotermal sentez	Grafen nano duvarlar	48,00 (808 nm, 0,4 Wcm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,9) <i>E. coli</i> (%99,9)	(Bai ve ark., 2022)
MoS ₂ (25 µg mL ⁻¹)	-	Gümüş nanopatikül	26,29 (808 nm, 0,6 W cm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,9) <i>E. coli</i> (%99,9)	“(Lv ve ark., 2023)
CuS (50 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	-	55,41 (808 nm, 1,4 W cm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,9)	(Zhang ve ark., 2023)
CuS (30 µg mL ⁻¹)	Sülfürleme	NH ₂ -MIL-88B(Fe) ve trifenilamin-tetrazin	48,07 (808 nm, 1,2 W cm ⁻² , 5 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,9) <i>E. coli</i> (%99,9)	(Lou ve ark., 2024)

WS ₂ (32 µg mL ⁻¹)	Hidrotermal	S siyahı	- (808 nm, 1 W cm ⁻² , 5 dk)	<i>S. aureus</i> (%97,95) <i>E. coli</i> (%66,95)	(Aksoy Çekceoglu ve ark., 2024)
MoS ₂ (32 µg mL ⁻¹)				<i>S. aureus</i> (%97,95) <i>E. coli</i> (%92,5)	
FeS ₂	Sıcak besleme	-	52,6 (808 nm, 2,5 W cm ⁻² , 10 dk)	<i>S. aureus</i> (%99,89) <i>E. coli</i> (%98,0)	Bu çalışma

Bu öncü çalışmaların ardından CuS nanopartiküllerinin NIR ışık altında antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi ve performansının geliştirilmesi üzerine çalışmaların arttığı görülmektedir. Ancak yapılan çalışmalara baktığımızda CuS'in fototermal dönüşüm veriminin hala düşük olduğu ve bu nedenle hem terapi için kullanılacak lazerin güç yoğunluğunun hem de kullanılan malzeme miktarının yüksek olduğu söylenebilir. Bu alanda üzerine yoğun bir şekilde çalışılan bir diğer malzeme ise MoS₂'dir. Ancak, bu malzemenin bant aralığının, üretim yöntemine göre farklılık göstermesi ve hidrofobik olması gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (Chen ve ark., 2022). Bunlara ek olarak fotodinamik ve fototermal etkiyi farklı dalga boylarındaki ışık altında daha etkili gösterdiğini rapor eden çalışmalar yapılmıştır (Feng ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2019). Antibakteriyel fototerapi uygulamalarında dokuda daha derine nüfuz edebilen ve kan hücreleri ile su tarafından daha az soğurulan NIR ışık tercih edilmektedir. Bu nedenle MoS₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında hem fotodinamik hem de fototermal etki göstermesi için fotoduyarlı başka bir malzeme ile birlikte kullanılması gerekmektedir (Li ve ark., 2019).

Metal kalkojenit yarı iletkenlerde fototermal etki genel olarak iki farklı mekanizma üzerinden açıklanmaktadır. Bunlar daha önce de bahsedildiği ve Şekil 2.3'te gösterildiği gibi fotouyarım sonucu yüzey plazmon salınımlarının meydana gelmesi ve oluşan elektronların kristal yapı içindeki kusurlu bölgelerle ışımasız olarak yeniden birleşmesi sonucu fonon üretimidir (Xu ve ark., 2020; Chen ve ark., 2022). Bu nedenle yüzey plazmon salınımlarının ve fotouyarım sonucu oluşan yüklerin ışımasız yeniden birleşme oranlarının artırılması ile açığa çıkacak ısı ve fototermal dönüşüm verimi artırılabilir. Yarı iletken malzemelerde yüzey plazmon salınımları taşıyıcı konsantrasyonu; ışımasız yeniden birleşme ise fotouyarım sonucu oluşacak e⁻-h⁺ miktarı ve kristal yapı kusur oranı ile ilişkilendirilmektedir (Luther ve ark., 2011; Xu ve ark., 2020). Bu nedenle; optik bant aralığının daraltılması, taşıyıcı konsantrasyonu ve kristal yapı kusur oranının artırılması ile fototermal dönüşüm verimi artırılabilir.

Fotodinamik etki ise malzemenin optik bant aralığı değerinden daha büyük enerjiye sahip fotonlar ile malzemenin uyarılması sonucu üretilen elektron ve boşlukların ROS oluşturmaları ile gerçekleşmektedir (Şekil 2.3). ROS oluşumunu, bant aralığı değerine ek olarak malzemenin VB ve İB pozisyonları da etkilemektedir. Fotouyarım sonucu oluşacak olan elektronların $O_2^{\cdot-}$ radikali oluşturabilmesi için malzemenin İB pozisyonunun yani oluşan elektronların indirgenme potansiyelinin $O_2/\cdot O_2^-$ standart redoks potansiyeline (-0,33 V vs NHE) kıyasla daha negatif olması gerekmektedir. Fotouyarım sonucu oluşacak boşlukların $\cdot OH$ radikali oluşturabilmesi için ise malzemenin VB pozisyonunun $H_2O/\cdot OH$ (2,38 V vs NHE) standart redoks potansiyeline kıyasla daha pozitif olması beklenmektedir. Yukarıda bahsedilenlerden yola çıkarak bugüne kadar yoğun bir şekilde çalışılan malzemelere (CuS ve MoS₂) kıyasla optik bant aralığı dar, taşıyıcı konsantrasyonu yüksek ve ROS oluşturma potansiyeli daha fazla olan malzemelerin üretilmesi ile fotodinamik ve fototermal etkinin geliştirilebilmesi mümkündür. Böylece lazer güç yoğunluğu, fototerapi için kullanılan malzeme miktarı ve lazer ışığına maruz kalınan süreler azaltılarak fototerapi yöntemi daha zararsız hale getirilebilir. Bu nedenle son yıllarda bu malzemelere alternatif olabilecek yeni malzemelerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar hız kazanmıştır (Li ve ark., 2019; Wang ve ark., 2021; Wen ve ark., 2021; Wu ve ark., 2021). $O_2^{\cdot-}$ radikali oluşumu için uygun bant pozisyonuna sahip olan ve dar optik bant aralığından dolayı CuS ve MoS₂'ye kıyasla NIR ışık altında fotouyarım sonucu daha fazla e^-h^+ çifti oluşturma imkânı olan FeS₂'nin, bu malzemelere kıyasla fotodinamik etkisinin daha yüksek olacağı ön görülebilir (Bant aralıkları: CuS: ~1,87 eV, MoS₂: ~1,9 eV, FeS₂: ~1,3 eV) (Han ve ark., 2021). Ayrıca FeS₂'nin taşıyıcı konsantrasyonunun CuS'in taşıyıcı konsantrasyonu ile benzer olması (10^{18} - 10^{22} cm⁻³) ve stokiometrideki yapılacak değişikliklerle kolayca arttırılabilmesi, NIR ışık altında gerçekleşecek yüzey plazmon salınımlarının modifiye edilebileceğini ve buna bağlı olarak fototermal dönüşüm veriminin daha da geliştirilebileceğini göstermektedir (Gong ve ark., 2019; Kaur ve ark., 2020). Bunlara ek olarak bu malzemenin toksik olmaması, biyouyumlu olması, istenilen morfoloji ve boyutlarda kolaylıkla üretilmesi gibi avantajları da bulunmaktadır.

3.1. FeS₂

FeS₂ en yaygın S mineralinden bir tanesidir. Dünya çapında bol bulunması, toksik olmaması ve düşük ham madde maliyetine sahip olması, ucuz Fe ve S kaynaklarından elde edilmesi nedeniyle dikkat çekmektedir. Daha da önemlisi dar optik bant aralığına

sahip olması, yüksek ışık soğurumu ve umut vadeden elektronik özellikleri ile ön plana çıkmıştır. Bu özellikler, FeS₂'yi yüksek enerjili bataryalar için elektrot malzemeleri, medikal uygulamalar, yarı iletken cihazlar ve fotovoltaiik güneş hücreleri dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar için potansiyel bir inorganik malzeme haline getirmiştir (Xian ve ark., 2016; Choi ve ark., 2021).

Nano boyutlu FeS₂, çok yönlü fizikokimyasal özellikleri, enzim benzeri katalitik kapasiteleri, yüksek kararlılıkları ve biyoyumlulukları sayesinde biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahiptir. FeS₂ nanopartikülleri bugüne kadar kataliz, tümör tedavisi, ilaç taşıma ve biyosensörler gibi pek çok alanda kullanılmıştır (Kaur ve ark., 2020). Bu malzemelerin sunduğu avantajlar: (1) Fe ve S'ün biyolojik sistemlerdeki doğal rollerinden dolayı yüksek biyoyumluluk, (2) nano boyutlu FeS₂'lerin fototermal ve manyetik özellikleri, (3) ilaç taşıma kapasitesini artıran nanoyapılar ve geniş yüzey alanı, (4) hidrojen peroksit, ROS ve çeşitli katalitik reaksiyonlarla hastalık tedavisini sağlayan, enzim benzeri işlev gören özellikleri ve çeşitli kimyasal maddelere karşı yüksek reaktivitedir. (Yuan ve ark., 2020; Shan ve ark., 2022).

FeS₂ nanopartiküllerinin ışık altında ROS oluşumu ile antibakteriyel etki gösterdiğini ispatlayan ilk çalışma 2015 yılında yayımlanmıştır (Friedlander ve ark., 2015). Bu çalışmadan sonra FeS₂ nanopartiküllerinin antibakteriyel etki gösterdiği birkaç farklı araştırma grubu tarafından da rapor edilmiştir (Gao ve ark., 2018; Pasha ve ark., 2019). Bunlardan en önemlisi 2020 yılında yapılan TiO₂-FeS₂ nanokompozitinin antibakteriyel aktivitesinin incelendiği çalışmadır (Mutalik ve ark., 2020). Bu çalışmada elde edilen nanokompozitin FeS₂ nanopartikülleri sayesinde NIR ışık altında da ROS üretebildiği ve antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. 2021 yılında yayımlanan bir diğer çalışmada ise karbon nanokürelerin etrafı FeS₂ nanopartikülleri ile dekore edilmiş ve bu yapının fototermal dönüşüm verimi %35 olarak belirlenmiştir (Xi ve ark., 2021). Diğer taraftan, karbon zaten tek başına yüksek fototermal etki gösterdiğinden, FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal dönüşüme etkisi tam olarak ortaya konulamamıştır. Ancak üretilen bu malzemenin hem G⁻ hem de G⁺ bakterilerin inhibisyonunda oldukça etkili olduğu görülmüştür. NIR ışık altındaki yüksek antibakteriyel etki, fototermal etki ile ısınma ve Fe²⁺ iyonların salımı ile açıklanmıştır.

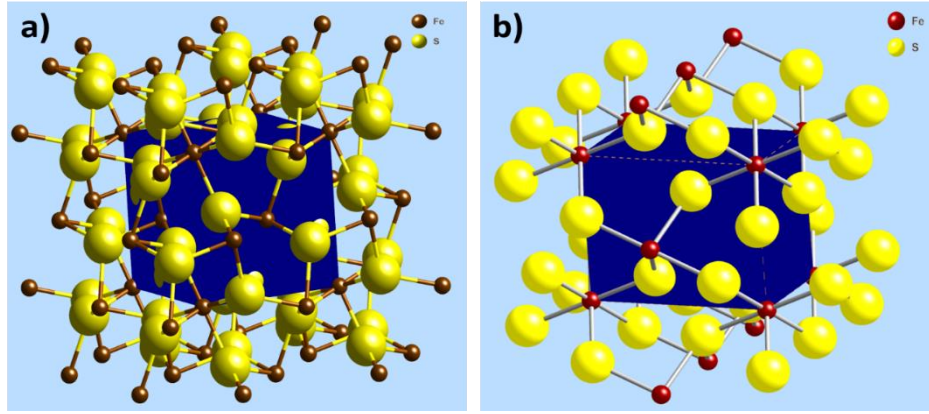
FeS₂ nanopartikülleri ilk defa 2016 yılında FTT uygulamalarında tümör tedavisi amacıyla kullanılmıştır (Meng ve ark., 2016). Yapılan çalışmada 350 nm boyutlarında üretilen ve PEGilasyon işlemine tabi tutulan FeS₂ nanopartikülleri için fototermal dönüşüm verimi %33,1 olarak tespit edilmiştir. Buna ek olarak, lazer ışığı açılıp

kapatılarak yapılan kararlılık çalışmalarında bu malzemenin lazer ışığı altında kararlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonrası, farklı araştırma grupları tarafından FeS₂ nanopartiküllerinin tümör ve kanser tedavisine yönelik fototermal çalışmaları yapılmış ve %49,5 gibi oldukça yüksek bir fototermal dönüşüm verimi değerine ulaşılmıştır (Xiao ve ark., 2020). Yukarıda anlatılanlardan yola çıkarak FeS₂ nanopartiküllerinin hem fotodinamik hem de fototermal etki gösterdiği net bir şekilde görülmektedir. Ayrıca FeS₂ nanopartiküllerinin Fe²⁺ iyonlarının salımı ile kemodinamik etki ile de antibakteriyel etki gösterdiği bilinmektedir.

3.1.1. FeS₂ kristal yapıları ve optik özellikleri

FeS₂ bileşiği, başlıca iki kristal yapıya sahiptir: kübik pirit ve ortorombik markazittir. Pirit yapısı, sodyum klorür (NaCl) benzeri kübik bir dizilime sahiptir (Moehring ve ark., 2020). Bu yapıda Fe²⁺ ve S²⁻ iyonları, sırasıyla Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarına benzer pozisyonlarda yer alır. Pirit yapısında her bir Fe²⁺ iyonu, altı S atomu tarafından oktahedral olarak çevrelenirken, her bir S atomu üç Fe²⁺ iyonu ve bir diğer S atomu tarafından tetrahedral olarak çevrelenir. Piritin latis parametresi a=b=c=0,54 nm olup, Fe-S ve S-S bağ uzunlukları sırasıyla 0,23 nm ve 0,21 nm'dir (Qin ve ark., 2018). Diğer yandan, FeS₂'nin markazit formu ortorombik olup FeS₂ yarı kararlı bir çeşidi olarak kabul edilir ve yapısal birimlerin birbirine bağlanma ve düzenlenme şekli bakımından piritte göre farklılık gösterir. FeS₂'nin farklı yapısal formları, çeşitli uygulamalar için ilgi çekici bir malzeme haline getiren farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere katkıda bulunur (Kaur ve ark., 2020).

FeS₂'nin kristal yapıları, pirit ve markazit, kararlılıkları ve oluşum koşulları açısından önemli farklılıklar sergiler. Kübik kristal sistemine sahip olan pirit, standart koşullar altında daha kararlı bir form olup, doğada yaygın olarak bulunur. Bu yapının kararlılığı Fe²⁺ iyonlarının S atomlarıyla simetrik oktahedral koordinasyonu sayesinde yüksektir. Buna karşılık, ortorombik yapıya sahip markazit, yarı kararlı bir yapıdır ve genellikle daha düşük sıcaklıklar veya değişen basınç gibi farklı çevresel koşullar altında oluşur. Markazitteki Fe ve S atomlarının farklı geometrik düzenlemeleri, özellikle belirli kimyasal ortamlarda daha yüksek reaktivite gibi farklı fiziksel özelliklere yol açar. Her iki FeS₂ formu da yarı iletken özellikler gösterir; ancak, piritin bant yapısı, çoğunlukla Fe d-orbitallerinin katkısıyla oluşan yüksek bir VB yoğunluğuna sahiptir, bu da bu bileşiği elektronik uygulamalar için ilginç bir malzeme haline getirir (Yuan ve ark., 2020).



Şekil 3.1. FeS₂ bileşiğinin kristal yapısı: a) pirit ve b) markazit

FeS₂, olağanüstü optik özellikler sergileyerek fotovoltaik uygulamalar için umut verici bir aday haline gelmiştir. Genellikle dolaylı geçiş için yaklaşık 0,95 eV ve doğrudan geçiş için biraz daha yüksek olan 1,03 eV civarında dar bir bant aralığına sahiptir. Kuvvetli kuantum sınırlama nedeniyle küçük boyutta (2–30 nm) stokiometrik FeS₂ nano parçacıklarda 1,0–1,58 eV arasında maviye kaymış bir bant aralığı rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2016). Buna karşılık, kuantum sınırlamanın artık önemli olmadığı 50–150 nm boyut aralığında daha büyük stokiometrik FeS₂ parçacıklarda soğurum spektrumunda kırmızıya kayma gözlemlenmiştir. Yüzey/arayüzey kusurlarının FeS₂ parçacıklarda taşıyıcı katkısı sağladığı hipotezi öne sürülmekle birlikte, gözlemlenen geniş bant ışık soğurumundan sorumlu mekanizma ve bu durumun LSPR etkisiyle olan ilişkisi henüz netlik kazanmamıştır (Gong ve ark., 2019). Ayrıca FeS₂ 10⁵ ile 10⁶ cm⁻¹ arasında değişen yüksek bir optik soğurum katsayısına sahiptir. Bu durum görünür ve NIR ışık spektrumunun önemli bir bölümünü verimli bir şekilde yakalamasını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2016; Trinh ve ark., 2017). Ek olarak malzemenin yüksek elektron hareketliliği, hem n-tipi hem de p-tipi yarı iletken olarak kullanılabilmesi ve uzun azınlık taşıyıcı ömrü, potansiyel fotovoltaik cihazlarda etkinliğini artırır. Ayrıca bu malzemenin dar optik bant aralığı değeri, yüksek optik soğurum katsayısı ve toksik olmaması antibakteriyel fototerapi uygulamaları için önemli bir aday olmasını sağlamaktadır.

3.1.2. FeS₂ sentezleme yöntemleri

FeS₂'nin nano boyutlarda, saf bir şekilde ve istenilen morfolojide üretilmesi biyoteknolojik uygulamalar için kritik öneme sahiptir. Geçtiğimiz yüzyılda, FeS₂ yapılarının boyutunun, şeklinin ve yüzey özelliklerinin kontrol edilmesine yönelik çeşitli

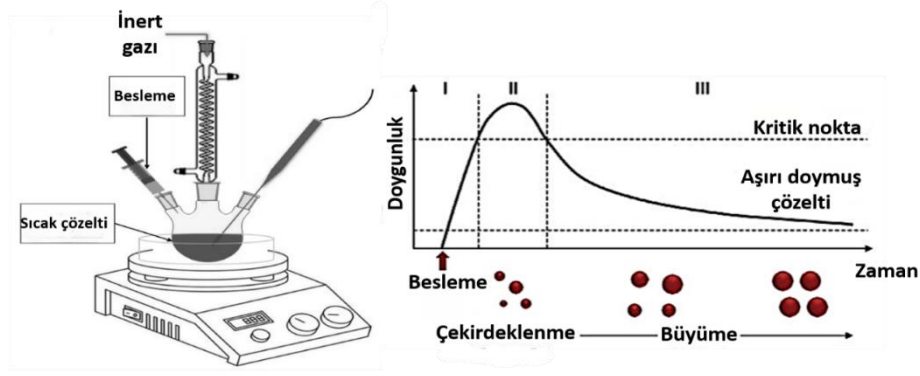
sentez yöntemleri geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. FeS₂'nin çeşitli yapılarda (0D, 1D, 2D ve 3D) sentezlenebilmesi için bugüne kadar bir çok yöntem kullanılmış ve bunlar Çizelge 3.2'de özetlenmiştir (Qin ve ark., 2018). En önemli sentez yöntemleri arasında hidrotermal, solvotermal ve sıcak besleme gibi yaş kimyasal teknikler bulunmaktadır. Bu yaş kimyasal yaklaşımlar FeS₂'nin morfolojisinin kontrol edilmesinde son derece etkilidir. Bu yöntemler kullanılarak çeşitli formlarda mikron boyutlu parçacıklardan 200 nm altındaki nanoparçacıklara kadar FeS₂'ler üretilebilmektedir (Zhu ve ark., 2014; Xian ve ark., 2016; Trinh ve ark., 2017). Sıcak besleme yöntemi farklı morfolojilerde ve boyutlarda nanoparçacıkların sentezlenmesinde etkin bir yöntemdir. Bu özellik, antibakteriyel aktivite gibi uygulamalar için faydalı olan geniş yüzey alanına sahip nano yapıların oluşturulmasında önemli bir avantaj sunmaktadır. (Ge ve ark., 2014; Wang ve ark., 2022).

Çizelge 3.2. Farklı yapılara sahip FeS₂ sentezleme yöntemleri (Qin ve ark., 2018)

Yapı	Kullanılan yöntemler
0D	Sol- gel, elektro-biriktirme, kimyasal buhar biriktirme, sprey piroliz, hidrotermal, solvotermal, sıcak besleme ve ultrasonik ışınlama
1D	Solvotermal, direk termal sülfidasyon, şablon sentezi
2D	Kimyasal buhar biriktirme
3D	Mikrodalga destekli poliol

3.1.3. Sıcak besleme yöntemi

Sıcak besleme yöntemi, aynı zamanda kolloidal yöntem olarak da bilinen nanopartiküllerin boyut ve şekil açısından kontrollü bir şekilde sentezlenmesine olanak tanıyan bir tekniktir. Şekil 3.2'de gösterildiği gibi bu yöntemin en önemli avantajlarından biri, hızlı çekirdeklenme süreci sayesinde partikül büyümesinin anında durdurulabilmesi ve bu sayede homojen boyutta nanopartiküllerin elde edilebilmesidir (Kulpa-Greszta ve ark., 2021). Yüksek sıcaklık kullanımı, kaliteli kristal yapılarının oluşmasına katkı sağlamakta ve bu da özellikle optik ve elektronik uygulamalar için büyük önem taşımaktadır (Soni ve ark., 2021). Bunun yanı sıra, bu yöntemde kullanılan kimyasalların toksik veya pahalı olmaması, özellikle pirit nanopartiküllerin sentezinde önemli bir avantaj sunmaktadır.



Şekil 3.2. Sıcak besleme yönteminde çekirdeklenme ve büyüme aşamalarının şematik gösterimi (Chen ve ark., 2020)

Sıcak besleme yönteminin birkaç farklı varyasyonu geliştirilmiştir; ancak, temel prensip genellikle bir A çözeltisinin hazırlanması ve bu çözeltinin, yüksek sıcaklıkta tutulan ikinci bir B çözeltisine enjekte edilmesiyle başlamaktadır. Enjeksiyondan sonra karışım belirli bir süre karıştırılmakta ve AB adı verilen yeni bir çözelti oluşmaktadır. Bu süreç tamamlandıktan sonra, AB çözeltisi uygun çözücüler kullanılarak temizlenmektedir. Temizleme işlemi, istenmeyen bileşenlerden arındırmayı ve tek fazlı bir ürün elde edilmesini sağlamaktadır. Çizelge 3.3'te sıcak besleme yöntemi ile FeS₂ nanopartiküllerinin üretimine yönelik yapılan önemli çalışmalar derlenmiş ve sentez parametrelerinin partiküllerin morfolojisini ve boyutunu nasıl etkilediği gösterilmiştir. Çizelgede görüldüğü üzere çalışmalar 220-230 °C aralığında ve 1/6 Fe/S oranlarında gerçekleştirilmiş. Kullanılan S kaynağı, Fe kaynağı, S enjeksiyonunun yapıldığı sıcaklık, sentez sıcaklığı ve sentez süresi gibi parametreler partikül morfolojisi ve boyutlarını değiştirmiştir.

Çizelge 3.3. Sıcak besleme yöntemi ile üretilen FeS₂ nanoparçacıkları

Fe kaynağı	S kaynağı	Fe / S	Sıcaklık °C	Morfoloji ve Boyut (nm)	Kaynak
FeCl ₂ + Oleylamin	S + Oleylamin	1/6	220	Küp (60-200)	(Bi ve ark., 2011)
FeCl ₂ + Oleylamin	S + Oleylamin	1/7,5	230	Küp (60)	(Khan ve ark., 2014)
FeCl ₂ + Oktadesilamin	S + Oleylamin	1/6	220	Küre (20-45)	(Trinh ve ark., 2017)
FeCl ₂ + Oktadesilamin	S + Difenil eter	1/6	220	Oval (-)	(Sharma ve ark., 2024)
FeCl ₂ + Oleylamin	S + Difenil eter	1/6 - 1/12	240	Küre (20-25)	Bu çalışma

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında, FeS₂ nanopartiküllerinin sentezi için sıcak besleme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle üretilen nanopartiküller, yukarıda belirtilen avantajlara sahip olup, fototerapi uygulamalarında kullanılacak FeS₂ nanopartikül sentezi için en uygun yöntem olarak değerlendirilmektedir. Sıcak besleme yönteminde sentez sıcaklığı, derişim ve süre gibi parametrelerin, elde edilen nanopartiküllerin morfolojisini nasıl etkilediği ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. İstenilen morfoloji elde edildikten sonra, Fe-kaynağı/S-kaynağı mol oranı (1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12) değiştirilerek farklı stokiyometrilere Fe_xS₂ (x:0,9-1) nanopartikülleri sentezlenmiştir. Stokiyometrinin, nanopartiküllerin optik özellikleri ile fototermal ve fotodinamik verimlilik üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Son olarak üretilen FeS₂ nanopartiküllerinin G⁻ ve G⁺ bakterilere karşı *in vitro* antibakteriyel etkinliği test edilmiştir. Üretim sürecinde kullanılan kimyasalların markaları, özellikleri ve kullanım amaçları Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

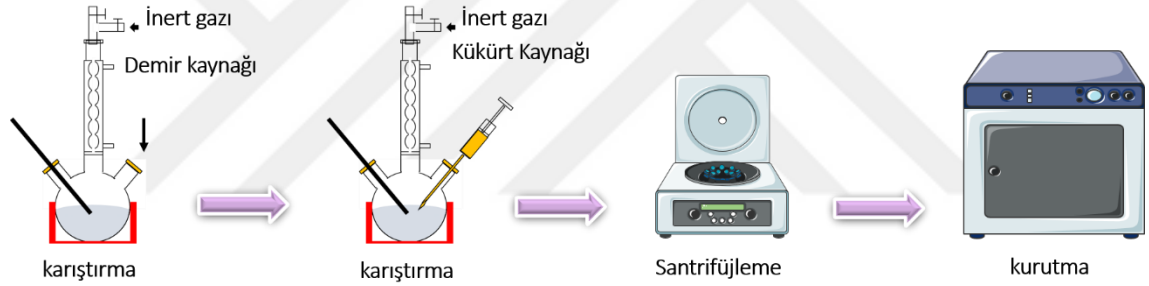
Çizelge 4.1. Üretim ve karakterizasyonda kullanılan kimyasal ve markaları

Kimyasal Malzemeler	Marka/saflık	Amaç
Demir (II) klorür tetrahidrat (FeCl ₂ .4H ₂ O)	Sigma Aldrich, %99	Demir kaynağı
S tozu	Sigma Aldrich, %99	S-kaynağı
Oleilamin	Sigma Aldrich, %70	Çözücü (FeCl ₂ .4H ₂ O)
Difenil eter	Sigma Aldrich, %99	Çözücü (S)
2',7'-diklorofloresin diasetat (DCFH-DA)	Sigma Aldrich, %97	Hücre içi serbest radikallerin belirlenmesi
Fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisi (pH 7.4)	Sigma Aldrich, %99	Antibakteriyel aktivite ve fototermal ölçümleri
Kloroform ve metanol	Tekkim, %99	Tozların saflaştırma işlemi
Mueller-Hinton besiyeri	Merck	Antibakteriyel aktivite testlerinde
Mueller-Hinton agar	Merck	Antibakteriyel aktivite testlerinde

4.1. Sıcak Besleme ile FeS₂ Nanopartiküllerin Sentezi

FeS₂ nanopartiküllerinin üretimi, Şekil 4.1’de şematik olarak gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle S ve Fe başlangıç bileşenleri üç boyunlu balonlarda sırası ile difenil eter ve oleylamin içinde inert atmosferde çözülmüştür. İkinci olarak, demir çözeltisi istenilen sıcaklığa ulaştığında S çözeltisi hızlı bir şekilde içine enjekte edilmiştir. Son olarak, solüsyon ortam sıcaklığına soğutulduktan sonra, çökelti santrifüjleme yoluyla yıkanıp toplanmıştır. Bu noktadan yola çıkarak optimum sentez koşulunu belirleyebilmek amacıyla aşağıda belirtilen sistematik bir çalışma yapılmıştır.

- 0,4 M FeCl₂.4H₂O derişiminde 180 °C, 200 °C, 220 °C ve 240 °C’de 2 saat sentez
- 0,4 M FeCl₂.4H₂O derişiminde 10 dakika, 1 saat, 2 saat ve 4 saat sentez



Şekil 4.1. Sıcak besleme yöntemiyle FeS₂ nanopartiküllerinin sentezinin şematik gösterimi

Optimum sentez koşulu belirlendikten sonra FeS₂ nanopartiküllerin taşıyıcı konsantrasyonu ve kristal içi kusur oranını arttırarak fototermal etkiyi arttırmaya yönelik farklı stokiyometrilere FeS₂ nanopartikülleri sentezlenmiştir. Gong ve ark. (2019) yaptığı çalışmada sentez sırasında farklı oranlarda Fe ve S kaynağı kullanılarak FeS₂ stokiyometrisinin başarılı bir şekilde modifiye edilebileceğini rapor etmiştir (Gong ve ark., 2019). Bu çalışmadan yola çıkarak yukarıda bahsedilen FeS₂ sentez yöntemi üzerinden Fe-kaynağı/S-kaynağı oranı 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12 olarak değiştirilip farklı stokiyometrilere Fe_xS₂ (x:0,9-1) sentezi yapılmıştır.

4.2. Üretilen Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Sıcak besleme yöntemi ile üretilen nanopartiküllerin yapısal, morfolojik, optik özellikleri ve elementel analizi; X-ışını kırınımı (XRD), taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM), UV-vis. Spektrofotometresi ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

4.2.1. XRD ölçümleri

XRD analizi ile üretilen malzemelerin kristal yapısı ve faz dağılımı incelenmiştir. Bunun için Bruker D8 Advance marka cihaz kullanılmıştır. Ölçümler, Cu K α ışın kullanılarak 20° – 60° aralığında 2° dk⁻¹ tarama hızıyla gerçekleştirilmiştir.

4.2.2. STEM ve TEM analizleri

Üretilen nanopartiküllerin morfolojik karakterizasyonları ZEISS Gemini 500 marka STEM ve FEI TALOS F200S marka TEM cihazları ile gerçekleştirilmiştir. Malzemelerin parçacık boyutu dağılımı, TEM görüntülerinden Image J programı kullanılarak belirlenmiştir. Bunlara ek olarak yüksek çözünürlüklü TEM (HRTEM) görüntülerinden düzlemler arası mesafe değerleri hesaplanmış ve seçilmiş alan elektron kırınımı (SAED) analizi ile kristal yapı belirlenmiştir. HRTEM görüntüleri GATAN yazılımı ile analiz edilmiştir.

4.2.3. XPS ölçümleri

Malzemedeki elementlerin oranını ve değerlik durumlarını incelemek için XPS (Thermo Scientific K-Alpha) analizi yapılmıştır. Element yüzdelerinin hesaplanmasında CASAXPS programı kullanılmıştır.

4.2.4. UV-vis spektrofotometre ölçümleri

Malzemelerin optik soğurum spektrumları, 400 - 1000 nm dalga boyu aralığında UV-vis-NIR spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) kullanılarak elde edilmiştir. Örneklerin 808 nm dalga boyundaki ekstinksiyon katsayısı (ϵ) değeri Lambert-Beer yasasına göre belirlenmiştir: $A(808) = \epsilon LC$. Burada A, 808 nm dalga boyundaki absorbans; L, ışık yolu uzunluğu (1 cm) ve C, nanopartiküllerin konsantrasyonu (0,05 g L⁻¹) anlamına gelmektedir. FeS₂ nanopartiküllerinin stabilitesi PBS çözeltisinde

incelenmiştir. Stabilité çalışmaları, belirli aralıklarla nanopartiküllerin absorbansının kontrol edilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

Üretilen malzemelerin optik özelliklerine ek olarak kararlılıkları da soğurum spektrumu ölçümleri ile belirlenmiştir. PBS çözeltisinde dağıtılan partiküllerin soğurum spektrumları belirli aralıklar ile ölçülmüş ve spektrumun değişimi incelenerek partiküllerin kararlılığı tespit edilmiştir.

4.3. Fototermal Özelliklerinin İncelenmesi

Tez kapsamında, uygun sıcaklıkta (maksimum 50 °C) en yüksek fototermal dönüşüm verimini (denklem 1) elde etmek amacıyla farklı parametrelerin optimizasyonu yapılmıştır. Bu parametreler arasında NIR güç yoğunluğu (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 ve 2,5 W cm⁻²), ışınlama süresi (2, 4, 6, 8 ve 10 dk) ve hem PBS çözeltisi hem de saf su içinde hazırlanan FeS₂ derişimi (50, 75, 100, 125, 250, 500 ve 1000 µg mL⁻¹) yer almaktadır. Saf su ve PBS çözeltisi, kontrol grubu olarak kullanılmış ve sıcaklık değişimleri Şekil 4.2’de gösterildiği üzere kızılötesi kamera ile kaydedilmiştir. Ayrıca, FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal kararlılığını belirlemek amacıyla optimum koşullarda 808 nm lazer ışığı altında beş kez ısıtma-soğutma döngüsü uygulanmıştır.

$$\eta = \frac{hA\Delta T_{mak} - Q_s}{I(1 - 10^{-A\lambda})} \quad (1)$$

h: ısı aktarım katsayısı

A: ölçüm yapılan kabın yüzey alanı

ΔT_{mak} : maksimum sıcaklık değeri için sıcaklık farkı

Q_s : ölçüm yapılan sıvının oluşturduğu ısı

I: lazer gücü

$A\lambda$: malzemenin 808 nm dalga boyundaki absorbans değeri

hA değerini belirlemek için sırasıyla denklem 2, 3 ve 4 kullanılmıştır (Soysal ve ark., 2022). τ değeri $t - \ln\theta$ grafiğinden elde edilmiştir.

$$\theta = \frac{T - T_{ortam}}{T_{mak} - T_{ortam}} \quad (2)$$

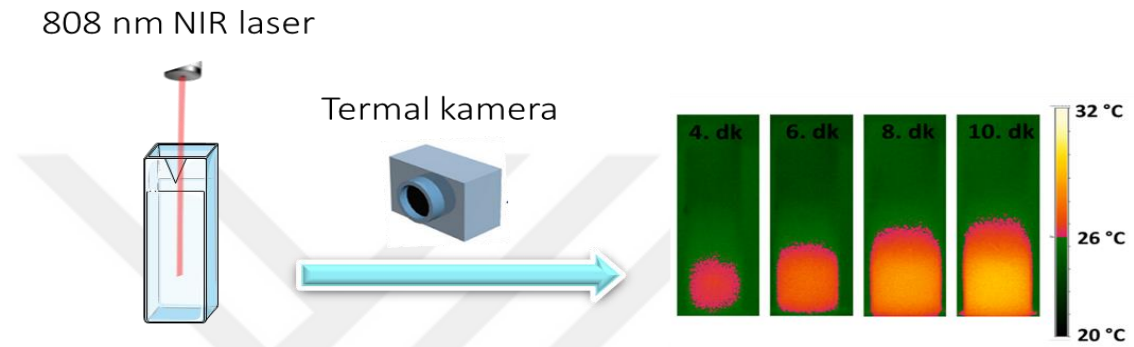
$$t = -\tau \ln \theta \quad (3)$$

$$hA = \frac{mC_p}{\tau} \quad (4)$$

θ : boyutsuz değer

m : ölçüm yapılan sıvının kütlesi

C_p : ölçüm yapılan sıvının ısı kapasitesi



Şekil 4.2. Fototermal ölçümlerinin şematik gösterimi

4.4. Fotodinamik Özelliklerin İncelenmesi

Hücre içi serbest radikallerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi DCFH-DA kullanılarak yapılan floresans spektroskopisi ölçümleridir. Şekil 4.3'te verilen dönüşüm mekanizmasında da görüldüğü gibi floresan olmayan DCFH-DA, difüzyon ile hücre membranından hücre içine geçer ve esteraz enzimleri vasıtasıyla DCFH-DA'nın floresan olmayan ara ürün DCFH'ye hidrolizi gerçekleşir (deasetilasyon). Hücre membranından herhangi bir şekilde geçemeyen DCFH ortamda bulunan reaktif türler tarafından oksitlenir ve floresan bir bileşik olan 2',7'-diklorofloresine (DCF) dönüşür (Žalnėravičius ve ark., 2021). Floresans spektroskopisi ölçümleri ile belirlenebilen DCF'den kaynaklı pik şiddeti, ROS miktarı ile doğrudan orantılıdır.

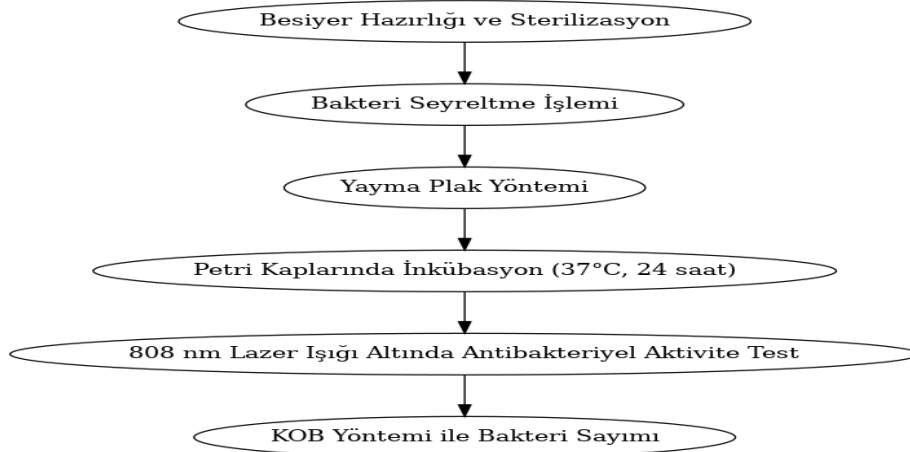


Şekil 4.3. DCFH-DA'nın DCF'ye dönüşüm mekanizması

Tez kapsamında da üretilen malzemeler için ROS tayini, DCFH-DA kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Lin ve ark., 2019). Ancak hücre ortamı dışında esterase olmadan destilasyon reaksiyonu gerçekleşmeyeceği için DCFH-DA'nın DCFH'ye dönüşümü için NaOH çözeltisi kullanılmıştır. İlk olarak NaOH çözeltisinin, 0,001 M DCFH-DA çözeltisi ile karanlık ortamda (destilasyon reaksiyonunun tamamlanması için) 30 dk karıştırılmasıyla DCFH çözeltisi elde edilmiştir (Zhao ve ark., 2021). Ardından FeS₂ PBS çözeltisi içerisinde dağıtılmasıyla hazırlanan farklı derişimlerdeki süspansiyonlardan (1000, 125 ve 100 µg mL⁻¹) alınıp DCFH ile karıştırılmıştır. Son olarak kontrol grubu olan PBS çözeltisi ve hazırlanan süspansiyonlar optimum koşullarda 808 nm lazer ışığı altında ve lazer ışığı uygulanmadan bekletilmiştir. ROS varlığında DCFH'nin DCF'ye dönüşümü sonucu floresans spektroskopisi ölçümleri ile DCF tespiti yapılmıştır (uyarma dalga boyu: 365 nm; emisyon dalga boyu: 525 nm).

4.5. In Vitro Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite testlerinde, G⁻ (*E. Coli*) ve G⁺ (*S. aureus*) bakterileri kullanılmıştır. Deneyin başlangıcında, bakterilerin aktifleştirilmesi amacıyla 21 g Mueller-Hinton besiyeri, 1 L saf su içerisinde çözölmüş ve besiyer çözeltisi elde edilmiştir. Elde edilen bu çözelti, otoklavda 121°C'de 15 dk sterilize edilmiştir. Bakteri kültüürü, Mueller-Hinton besiyerine ekilip, 37 °C'de inkübe edilmiştir. Antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılacak bakteri büyüme ortamları ise 38 g Mueller-Hinton agar besiyerinin 1 L saf su içinde çözölmesiyle hazırlanmıştır. Agar besiyer çözeltisi de benzer şekilde, otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edilmiştir.



Şekil 4.4. In vitro antibakteriyel aktivite testi deney prosedürü

PBS çözeltisi, insan vücudu sıvısını taklit eden değerli tampon bir çözeltidir (pH 7,4) (Velásquez-Hernández ve ark., 2019). İçerdiği iyon derişimi vücut sıvısına oldukça yakın, pH değerinin sabit kalmasını sağlayan ve hücre içi ve dışı ozmotik basıncı dengede tutan PBS çözeltisi hücre bütünlüğünün ve canlılığının devam ettirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle biyoteknolojik ve tıbbi uygulamalarda yaygın bir şekilde tercih edilen PBS çözeltisi hücre hasarına, toksisiteye ve herhangi bir çökelmeye neden olmadığı için bu tez kapsamında antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılmıştır (Martin ve ark., 2006).

Antibakteriyel aktivite testleri için yayma plak yöntemi kullanılmıştır (Guzel Kaya ve ark., 2020). İnkübasyon sonucu elde edilen bakteri, derişimi 10^8 koloni oluşturan birim (KOB) mL^{-1} olacak şekilde PBS çözeltisinde seyreltilmiştir. Seyreltme işlemi ile farklı derişimlerde (1000, 500, 250, 125, 100, 75 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) hazırlanacak olan süspansiyonlar 37 °C’de 30 dk inkübe edilmiştir. Her bir süspansiyondan 100 μL alınarak içerisinde Mueller-Hinton agar besiyeri bulunan petri kaplarına aktarılmıştır. Petri kapları 1 gün boyunca 37 °C’de inkübe edildikten sonra koloni oluşturan birim (KOB) yöntemi ile bakteri sayımı yapılmıştır. Bakteri sayısı (KOB, %) denklem 5 kullanılarak hesaplanmıştır. Malzemelerin lazer ışığı altındaki antibakteriyel aktivitesi de farklı derişimlerde hazırlanan süspansiyonların optimum koşullarda 808 nm lazer ışığı altında bekletilmesinin ardından yukarıda bahsedilen prosedürün uygulanmasıyla belirlenmiştir.

$$KOB = \frac{KOB_{\text{örnek}}}{KOB_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (5)$$

Aktif radikal türlerinin tuzaklayıcı testleri, bakterinin FeS_2 süspansiyonlarına eklenmesinden sonra antibakteriyel aktivitedeki değişiklikleri gözlemleyerek kritik reaktif türleri değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Elektron için potasyum dikromat (Cr^{6+} , 0,1 mM), boşluk için $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (1 mM), süperoksit radikali için 4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-okzil (TEMPOL, 1 mM) ve hidroksil radikali için 2-propanol (1 mM) tuzaklayıcı olarak kullanılmıştır.

4.6. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Belirlenmesi

FeS_2 nanopartiküllerinin MIC değeri, agar dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. *In vitro* antibakteriyel aktivite testlerinde olduğu gibi farklı konsantrasyonlardaki (0,001-

250 µg mL⁻¹) 900 µL malzeme, 100 µL bakteri ile karıştırılmıştır. Sadece bakteri içeren PBS çözeltisi kontrol olarak hazırlanmıştır. Süspansiyonlar, 10 dk boyunca NIR lazer ışınına maruz bırakılmış ve her bir 100 µL'lik süspansiyon Mueller-Hinton agar plakalarına yayılmıştır. Son olarak, agar plakaları 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. MIC, log (materyal konsantrasyonu) vs antibakteriyel aktivite eğrisinden, GraphPad Prism'de Gompertz fonksiyonu kullanılarak hesaplanmıştır. FeS₂ nanopartiküllerinin MBC değeri, agar plakası üzerindeki bakterilerin %99,9'unun öldürüldüğü en düşük malzeme derişimi olarak belirlenmiştir (Mogana ve ark., 2020).

4.7. In Vitro Sitotoksisite Testleri

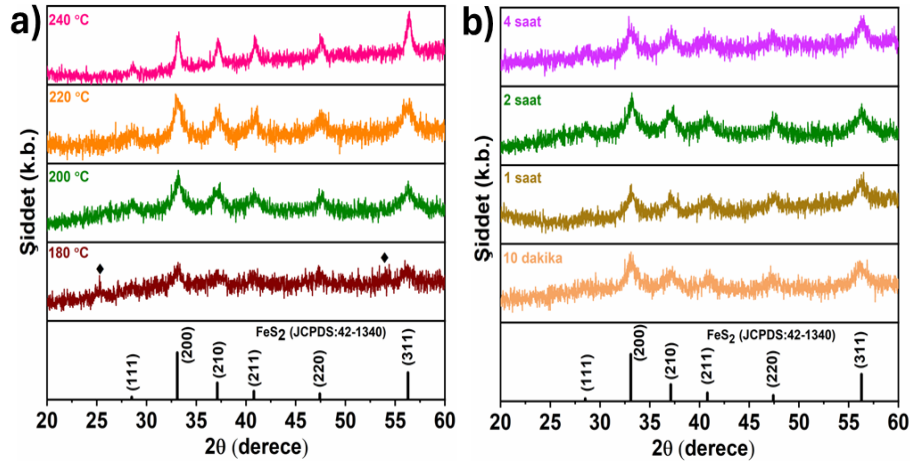
FeS₂ nanopartiküllerinin biyoyumluluğu *in vitro* sitotoksisite testleri ile araştırılmıştır. Fare embriyonik fibroblast (L929) hücreleri (Türkiye ŞAP Enstitüsü) kullanılarak 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) testi gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, hücreler %10 fetal sığır serumu + %1 penisilin/streptomisin içeren besiyerinde %5 CO₂ atmosferinde 37 °C'de 24 saat boyunca kültüre edilmiştir. Hücreler (10⁴ hücre/kuyu) 96 kuyucuklu plakaya ekildikten sonra 37 °C'de (5% CO₂) 24 saat inkübe edilmiştir. İkinci aşamada, FeS₂ nanopartikülleri nihai konsantrasyonları 25, 50, 75, 100, 150 ve 300 µg mL⁻¹ olacak şekilde hücre ortamına eklenmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyu içerisindeki ortam çıkarılmış ve her kuyu PBS çözeltisi ile yıkanmıştır. Her bir kuyuya 50 µL MTT çözeltisi (%0,5 mg mL⁻¹) eklenmiş ve 3 saat inkübasyon yapılmıştır. Kuyucuklara 100 µL dimetil sülfoksit eklenmeden önce hücre ortamı çıkarılmıştır. Son olarak absorbans değerleri ELISA Reader ile belirlenmiş ve FeS₂ nanopartikülleri içermeyen kontrol grubu ile karşılaştırılarak hücre canlılığı hesaplanmıştır.

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu bölümde, yapılan tez çalışması kapsamında üretilen FeS₂ nanopartiküllerinin analiz sonuçları derlenmiş ve in vitro antibakteriyel aktiviteleri detaylı bir şekilde araştırılmıştır.

5.1. Üretilen FeS₂ Nanopartiküllerinin Morfolojik ve Yapısal Özellikleri

Antibakteriyel fototerapi gibi uygulamalar için saf ve homojen boyut dağılımına sahip partiküllerin üretilmesi gerekmektedir. Bu gereksinim doğrultusunda sıcak besleme yöntemi kullanılarak kübik kristal yapıya sahip FeS₂ (pirit) nanopartiküllerinin sentez koşulları optimize edilmiştir. Dört farklı sıcaklıkta (180, 200, 220 ve 240 °C’de 2 saat süreyle) ve dört farklı reaksiyon süresinde (200 °C’de 10 dakika, 1 saat, 2 saat ve 4 saat) sentezlenen örneklerin XRD desenleri Şekil 5.1 (a) ve (b)’de gösterilmektedir. Karşılaştırma amacıyla grafiklerin alt kısmında JCPDS kartı 42-1340’a dayanan referans çizgi pozisyonları da verilmiştir. Şekil 5.1 (a)’da referans çizgilerinin üzerinde görülen desen, 180 °C’de 2 saatte sentezlenen nanopartiküllere aittir. XRD sonuçlarına göre piklerin standart çizgilerle eşleşmesi, belirtilen koşullar altında kübik FeS₂ fazının oluştuğunu net bir şekilde ortaya koymaktadır. Fakat, arka plan gürültüsü yüksek olup, piklerin geniş ve düşük yoğunlukta olduğu görülmekte, bu da kristal kalitesinin düşük olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kübik pirit fazına ek olarak ortorombik FeS₂ (markazit) de tespit edilmiştir (~25,2° ve ~53°’deki pikler, elmas sembolü ile gösterilmiştir). Şekil 5.1. (a)’da görüldüğü gibi sentez sıcaklığının arttırılması ile empürite fazına ait pikler kaybolmuş ve FeS₂ fazına ait piklerin şiddeti artmıştır, diğer bir ifadeyle saf pirit fazı 200 °C, 220 °C ve 240 °C’de başarıyla elde edilmiştir. Ayrıca, 240 °C’de 2 saatte sentezlenen örneğe ait kırınım deseni diğer desenlerle karşılaştırıldığında, elde edilen piklerin şiddetinin arttığı ve daraldığı görülmektedir. Bu durum sentez sıcaklığının artması ile malzemenin kristalinitesinin ve kristalit boyutunun arttığını göstermektedir. X’Pert HighScore Plus yazılımı kullanılarak Scherrer formülü üzerinden yapılan hesaplamalar sonucunda, (200), (210) ve (311) düzlemleri için elde edilen piklerden ortalama kristalit boyutları 200 °C, 220 °C ve 240 °C’de sentezlenen örnekler için sırasıyla 7,1 nm, 8,0 nm ve 17,4 nm olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuç da sentez sıcaklığının artışı ile kristalit boyutunun arttığını kanıtlamıştır.

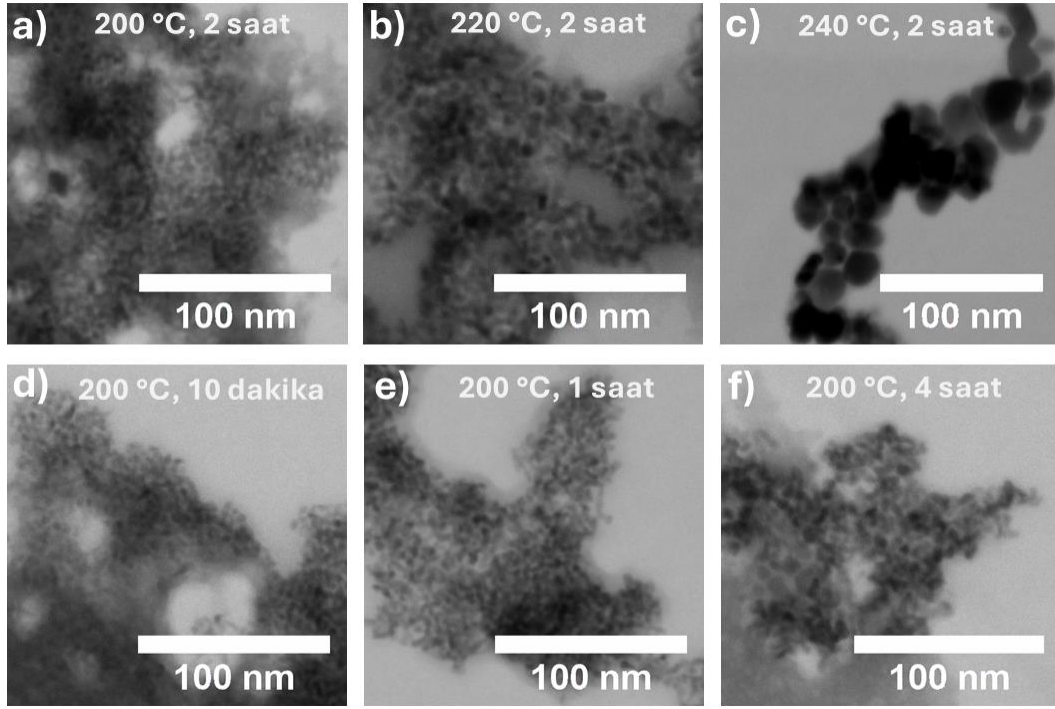


Şekil 5.1. a) Farklı reaksiyon sıcaklığında ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ derişimi: 0,4 M ve reaksiyon süresi: 2 saat) ve **b)** farklı reaksiyon sürelerinde ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ derişimi: 0,4 M ve reaksiyon sıcaklığı: 200 °C saat) sentezlenen FeS_2 nanopartiküllerinin XRD desenleri

200 °C sıcaklıkta farklı sürelerde (10 dk, 1 saat, 2 saat ve 4 saat) sentezlenen örneklerle ait desenler Şekil 5.1 (b)'de görüldüğü gibi neredeyse aynıdır. Bu durum, reaksiyon süresinin FeS_2 nanopartiküllerinin faz oluşumu üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını açıkça göstermektedir. Farklı reaksiyon süreleri için herhangi bir safsızlık fazına ait kırınım piki gözlemlenmemiştir. Ayrıca, bu desenlerdeki (200), (210) ve (311) düzlemlerine ait piklere Scherrer formülü uygulanarak ortalama kristalit boyutları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bu örneklerin ortalama kristalit boyutları birbirine oldukça yakın olup 7-8 nm aralığında değişmektedir. Bu sonuç sentez süresinin kristalit boyutu ve malzeme kristalinitesine etkisinin kısıtlı olduğunu göstermiştir.

Üretilen partiküllerin morfolojik özellikleri öncelikle STEM analizi ile incelenmiştir. Farklı sıcaklıklarda üretilen örneklerin STEM görüntüleri Şekil 5.2 (a)-(c)'de gösterilmektedir. Şekil 5.2 (a) ve (b)'de verilen görüntülerden açıkça görüldüğü üzere 200 °C ve 220 °C reaksiyon sıcaklıklarında elde edilen partiküller yüksek derecede aglomerasyona eğilimlidir. Bu nedenle sentezlenen FeS_2 partiküllerinin doğru boyutunu belirlemek oldukça zordur; ancak, bu görüntüler üzerinde Image J programı kullanılarak yapılan ölçümler, bu iki örnek için ortalama boyutun yaklaşık 3-8 nm olduğunu göstermiştir. Reaksiyon sıcaklığının 240 °C'ye yükseltilmesi, partikül boyutunda belirgin bir artışa neden olmuş ve boyut yaklaşık 25 nm'ye ulaşmıştır. Bu bulgular, XRD desenlerinden hesaplanan kristalit boyutları ile uyum içindedir. Ayrıca, nanopartiküllerin küresel morfoloji sergilediği gözlemlenmiştir. Partikül boyutunun artan reaksiyon süresiyle belirgin bir şekilde değişmediği Şekil 5.2 (d)-(f)'de sunulan görüntülerden anlaşılmaktadır. Bu nanopartiküller de oldukça küçük olup 3-8 nm aralığındadır. Sonuç

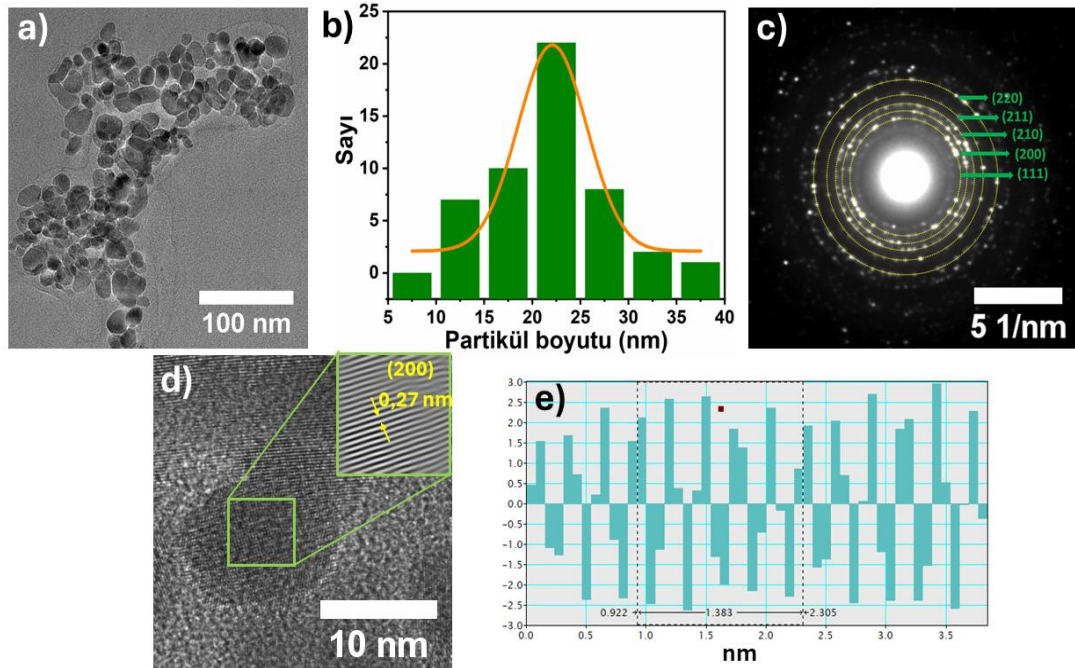
olarak, FeS₂ nanopartiküllerinin üretimi için optimum sentez koşulu, 240 °C'de 2 saat olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.2. a-c) Farklı reaksiyon sıcaklığında (FeCl₂.4H₂O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon süresi: 2 saat) ve **d-f)** farklı reaksiyon sürelerinde (FeCl₂.4H₂O derişimi: 0,4 M ve reaksiyon sıcaklığı: 200 °C saat) sentezlenen FeS₂ nanopartiküllerinin STEM görüntüleri

Optimum koşullarda (240 °C, 2 saat) sentezlenen nanopartiküllerin morfolojisi ve kristal yapısına ilişkin detaylı analizler TEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. TEM görüntüsü ve nanopartiküllerin istatistiksel boyut dağılımı sırasıyla Şekil 5.3 (a) ve (b)'de gösterilmektedir. TEM görüntüsüne dayalı hesaplamalara göre, nanopartiküllerin boyutları 10-35 nm arasında değişmektedir. Bununla birlikte, partiküllerin büyük çoğunluğu 20-25 nm boyut aralığında bulunmuştur. Bu partiküllerden alınan seçilmiş alan elektron kırınımı (SAED) deseni Şekil 5.3 (c)'de verilmiştir. Gözlemlenen beş net halka sarı renkle işaretlenmiştir. Bu parlak halkalar, FeS₂'nin (111), (200), (210), (211) ve (220) kristal düzlemlerine atfedilmiş olup saf pirit fazının oluşumunu kanıtlamaktadır. Ayrıca, tek bir nanopartikülün yüksek çözünürlüklü TEM (HRTEM) görüntüsü Şekil 5.3 (d)'de gösterilmiştir. Bu HRTEM görüntüsünü iyileştirmek amacıyla GATAN yazılımı kullanılarak ters hızlı Fourier dönüşümü (IFFT) görüntüsü elde edilmiş ve Şekil 5.3 (d)'de iç resim olarak sunulmuştur. Buna ek olarak, ilgili IFFT görüntüsünden elde edilen doğrusal profiller, düzlem arası mesafe (d) değerini hesaplamak için kullanılmıştır. IFFT görüntüsünden (Şekil 5.3 (d) iç resim) kafes çizgileri kolaylıkla belirlenmiştir. Bu

bulgular, FeS₂ nanopartiküllerinin yüksek derecede kristal yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, doğrusal profilden hesaplanan kafes aralığı 0,27 nm olup bu değer FeS₂'nin (200) düzlemleri arasındaki mesafeye karşılık gelmektedir.

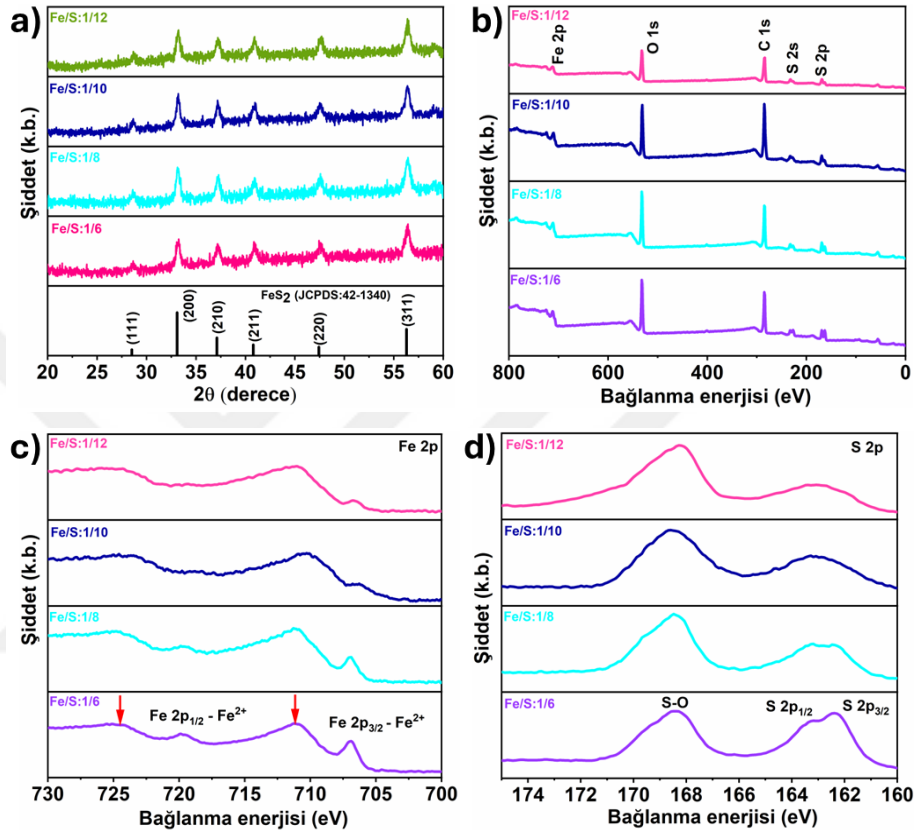


Şekil 5.3. FeS₂ nanopartiküllerinin (FeCl₂.4H₂O derişimi: 0,4 M, reaksiyon süresi: 2 saat ve reaksiyon sıcaklığı: 240 °C saat) **a)** aydınlık alan TEM görüntüsü, **b)** SAED görüntüsü, **c)** partikül boyutu dağılımı, **d)** HRTEM görüntüsü ve **e)** IFFT görüntüsünden elde edilen çizgisel profil (IFFT görüntüsü Şekil 5(d) iç resimde verilmiştir.)

FeS₂ nanopartiküllerinin optimum sentez koşullarının belirlenmesinin ardından (reaksiyon süresi: 2 saat ve reaksiyon sıcaklığı: 240 °C), Fe-kaynağı/S-kaynağı mol oranı (1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12) değiştirilerek farklı stokiyometrilere Fe_xS₂ (x:0,9-1) nanopartikülleri sentezlenmiştir. Farklı Fe/S mol oranlarında sentezlenen FeS₂ nanopartiküllerinin XRD desenleri Şekil 5.4 (a)'da gösterilmiştir. Desenlerde yalnızca kübik pirit fazına karşılık gelen pikler gözlemlenmiş ve herhangi bir safsızlığa ait pik tespit edilmemiştir.

Farklı stokiyometrilere üretilen nanopartiküllerin kimyasal bileşenleri ve bağ durumları hakkında bilgi edinmek için XPS analizi gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllere ait genel XPS tarama spektrumu Şekil 5.5 (b)'de verilmiştir. Genel spektrum, sentezlenen partiküllerde Fe ve S elementlerinin varlığını doğrulamıştır. Buna ek olarak ~532 eV civarında gözlemlenen O 1s piki, FeS₂ nanopartiküllerinin yüzey oksidasyonuna atfedilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Casa XPS programı, farklı stokiyometride

sentezlenen örneklerdeki Fe/S element oranını hesaplamak için kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, Fe-kaynağı/S-kaynağı oranları 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12 olan sentezlerde Fe/S oranı sırasıyla 1.012:2, 0.960:2, 0.905:2 ve 0.900:2 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuç üretim sırasında S oranının değiştirilmesi ile Fe-noksan FeS₂ nanopartiküllerin üretilmediğini kanıtlamıştır.



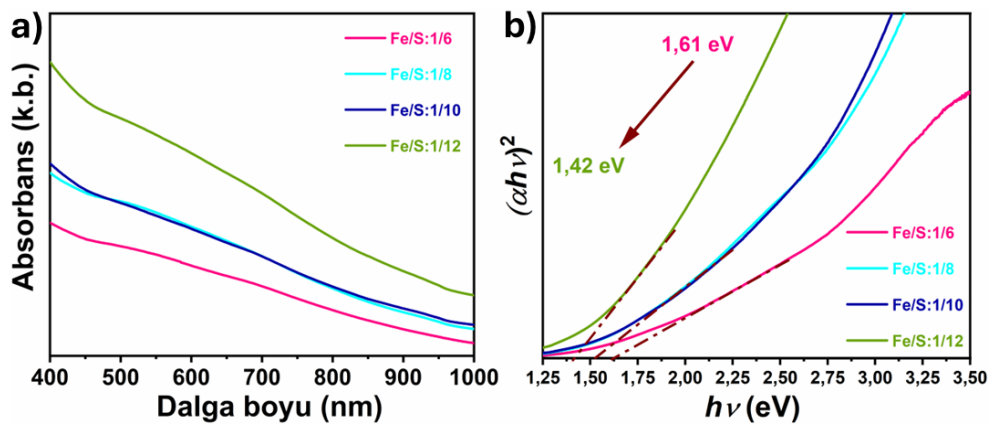
Şekil 5.4. Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS₂ nanopartiküllerinin **a)** XRD deseni, **b)** geniş aralıklı XPS spektrumu, **c)** Fe 2p enerji seviyesine ait XPS spektrumu ve **d)** S 2p enerji seviyesine ait XPS spektrumu

Genel spektruma ek olarak, Fe 2p ve S 2p'nin çekirdek seviyesi spektrumları incelenmiştir. İlgili XPS spektrumları sırasıyla Şekil 5.4 (c) ve (d)'de verilmiştir. Şekil 5.4 (c)'de ~707 eV ve ~720 eV civarında gözlemlenen iki pik, FeS₂ fazından kaynaklanan Fe²⁺ durumlarına bağlıdır; ancak, kırmızı ok ile gösterilen iki geniş bant yüzeyde oluşan demir oksit bileşiklerinden kaynaklı Fe³⁺ iyonları ile ilişkilendirilmiştir (Wang ve ark., 2018). Bu durum, nanopartiküllerin yüzeylerinde Fe²⁺'nin Fe³⁺'e oksitlenmesini işaret etmektedir. S 2p orbitalleri 2p_{1/2} ve 2p_{3/2} olarak iki farklı enerji seviyesinde yer almakta olup, aralarında yaklaşık 1,2 eV'lik bir ayrım bulunmaktadır. Bu nedenle, S 2p spektrumunda ~162,4 eV ve ~163,4 eV'de gözlemlenen iki pik FeS₂'deki S'e atfedilebilir (Şekil 5.4 (d)). Ayrıca, tüm örneklerde S 2p spektrumunda ~168,2 eV civarında güçlü bir

pik gözlemlenmiş olup, bu pik yüzeydeki SO_4^{2-} iyonlarından kaynaklanmaktadır. Bu gözlemler, tüm stokiometrik oranlar için pirit fazının oluştuğunu ancak önemli bir yüzey oksidasyonu ile birlikte gerçekleştiğini ortaya koymaktadır; bu durum literatürde de rapor edilmiştir (Meng ve ark., 2016). Ek olarak, Fe 2p ve S 2p spektrumlarındaki piklerin göreceli şiddetlerinin, Fe-kaynağı/S-kaynağı oranları 1/6'dan 1/12'ye değiştikçe azaldığı/genişlediği belirgindir. Bu durum, Fe/S oranındaki değişime bağlı olarak yapısal düzensizlik ve kusurlardaki değişimle ilişkilendirilebilir.

5.2. Üretilen Nanopartiküllerin Optik Özellikleri

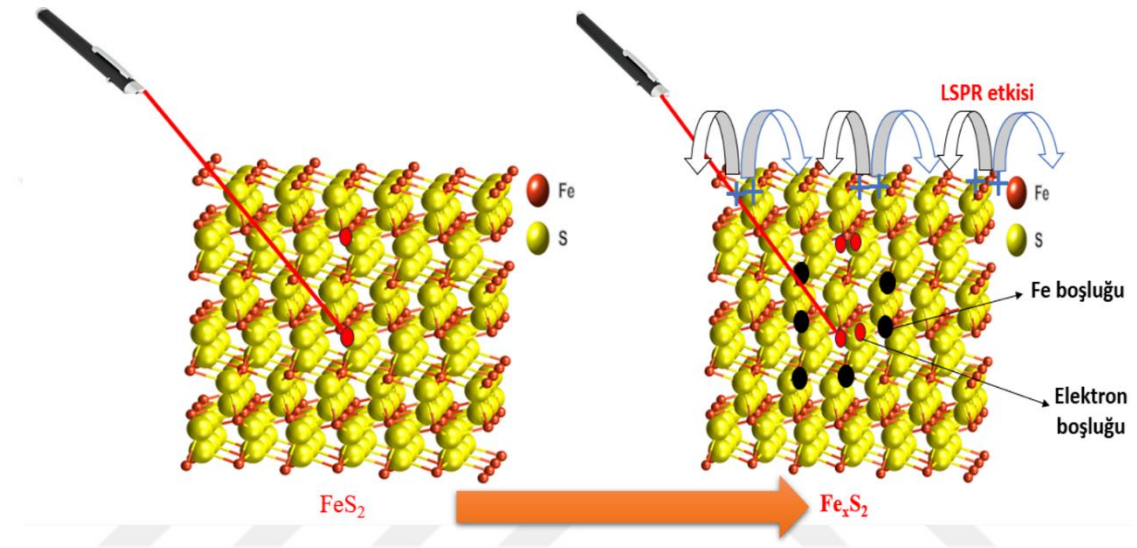
FeS_2 nanopartiküllerinin optik özellikleri üzerindeki stokiometri etkisini anlamak amacıyla numunelerin optik soğurum ölçümleri 400-1000 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.5 (a)'da görüldüğü üzere Fe-kaynağı/S-kaynağı oranının 1/6'dan 1/12'ye düşürülmesiyle soğurum yoğunluğu ve soğurum şiddeti artmıştır. Ayrıca, 808 nm dalga boyunda Fe-kaynağı/S-kaynağı oranı 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12 olan numuneler için sırasıyla soğurum katsayısı (ϵ) 3,01, 3,79, 3,874 ve 5,619 $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Mol oranının 1/6'dan 1/12'ye değiştirilmesinin bir sonucu olarak FeS_2 'deki S oranının artması, yapıda daha fazla Fe eksikliği oluşumunu sağlamış ve bu da ilgili numunelerin optik soğurumunu arttırmıştır. Stokiometrideki değişimle NIR bölgede soğurumun artması LSPR etkisinin artmasından kaynaklı olabilmektedir (Luther ve ark., 2011).



Şekil 5.5. Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS_2 nanopartiküllerinin a) UV-vis-NIR absorpsiyon spektrumu ve b) Tauc grafiği

Bu durum Şekil 5.6'da gösterildiği gibi pirit yapısındaki Fe-boşlukları (V_{Fe})'nın varlığıyla VB'na katkılanan elektron boşluklarından olabilir (Gong ve ark., 2019). Bir diğer ifade ile FeS_2 üretimi sırasında V_{Fe} oluşturulması malzeme de boşluk

konsantrasyonu ve buna bağlı LSPR etkisinin artmasını sağladığı yorumu yapılabilir. Ayrıca, numunelerin optik bant aralığı Şekil 5.5 (b)'de gösterildiği gibi Tauc grafiği kullanılarak soğurum spektrumlarından belirlenmiştir. FeS₂ nanopartiküllerinin bant aralığı, Fe-kaynak/S-kaynak oranındaki azalmayla 1,61 eV'den 1,42 eV'ye düşmüştür. Bu sonuç, Fe-noksanlığının yalnızca soğurum yoğunluğunu artırmakla kalmayıp aynı zamanda spektral genişleme sağladığını da göstermektedir. Literatür çalışmalarında da benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür (Gong ve ark., 2019; Heiba ve ark., 2020; Heiba ve ark., 2021).



Şekil 5.6. FeS₂ yapısında kusurun artması ile LSPR etkisinin ortaya çıkması

5.3. Üretilen Nanopartiküllerin Fototermal Özellikleri

Stokiyometrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin (Fe/S oranı: 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12) NIR ışığa (808 nm) karşı fototermal tepkileri Şekil 5.7 (a)'da gösterilmiştir. Ölçümler, ortam koşullarında 2,5 W cm⁻² NIR güç yoğunluğu ve 1000 µg mL⁻¹ nanopartikül derişimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık artışı, ısınım süresi ile orantılı olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, aynı koşullarda suyun (FeS₂ nanoparçacıkları olmadan) sıcaklık değişimi de karşılaştırma amacıyla gösterilmiştir. Görüldüğü gibi, saf suyun sıcaklık artışı 10 dk sonunda ihmal edilebilir düzeyde (~ 4 °C) kalmıştır. Dolayısıyla, NIR ışık altında süspansiyonlarda gözlemlenen sıcaklık artışı, dağıtılmış FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal etkisine atfedilebilir.

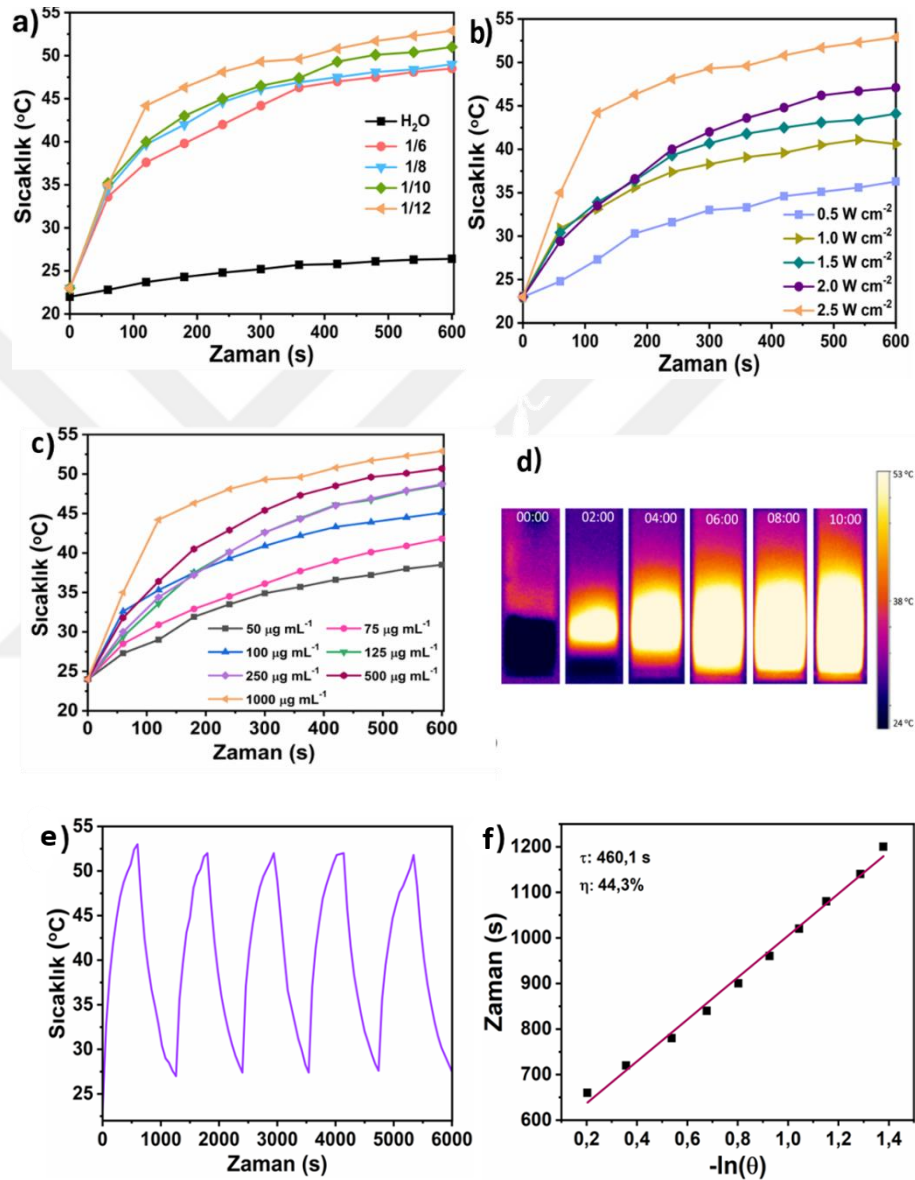
Sıcaklık artışının iki kademede olduğu gözlemlenmiştir. Işık kaynağı açıldığında, tüm örneklerde sıcaklık ilk aşamada (0-130 s) hızla yükselmiştir. Daha sonra, eğimde bir yavaşlama meydana gelmiş ve izin verilen maruz kalma süresi içinde maksimum

sıcaklığa kademeli olarak ulaşılmıştır. Tüm örneklerdeki ısınma hızlarında benzer bir düşüş gözlemlenmiş olup bu durum yüzeylerden çevreye ısı kaybı ve sistemin doyum sıcaklığına ulaşmasıyla açıklanabilir. Fe/S oranı 1/6, 1/8, 1/10 ve 1/12 olan örneklerde 10 dk sonunda sıcaklığın sırasıyla 48, 49, 51 ve 53 °C'ye ulaştığı kaydedilmiştir. Nanopartiküllerin azalan Fe/S oranı ile artan fototermal aktivite sergilediği net bir şekilde görülmektedir. Başka bir ifade ile, en yüksek sıcaklık, Fe-noksanlığı en yüksek olan numunede (Fe-kaynağı/S-kaynağı oranı: 1/12) elde edilmiştir. Aynı nanopartiküllerin, diğerlerine kıyasla ışığı ısıya dönüştürme kapasitesinin de daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum iki farklı mekanizma ile açıklanabilir. İlk mekanizma, yapıda oluşan Fe boşlukları nedeniyle FeS₂ nanopartiküllerinin taşıyıcı yoğunluğunun artmasıyla meydana gelen LSPR etkisidir. İkinci mekanizma ise Fe-noksanlığı ile birlikte FeS₂ nanopartiküllerinin kristal yapı kusur oranlarının artması ve buna bağlı bant aralığında oluşan tuzak seviyelerinin oluşması ile ışımasız yeniden birleşme olasılığının artmasıdır (Cui ve ark., 2020; Wen ve ark., 2021).

En iyi fototermal özelliklere sahip numune stokiometrisi belirlendikten sonra bu numunenin performansı farklı ışık şiddeti altında da test edilmiştir. FeS₂ derişimi 1000 µg mL⁻¹ olarak ayarlanmıştır. 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 ve 2,5 W cm⁻² NIR ışık şiddetinde elde edilen ısınma eğrileri, Şekil 5.7 (b)'de gösterilmiştir. Beklendiği gibi elde edilebilecek maksimum sıcaklık uygulanan güç yoğunluğuna bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bu eğrilerden görüldüğü üzere, 0,5 W cm⁻² NIR ışık altında sıcaklık yalnızca 36 °C'ye ulaşırken 2,5 W cm⁻² NIR ışıktaki 53 °C'ye kadar çıkmıştır. Dolayısıyla, ışık şiddetinin ısıtma özellikleri üzerindeki etkisinin son derece önemli olduğu söylenebilir. Yukarıda da belirtildiği gibi, yarı iletkenlerde fototermal etkiden sorumlu ana mekanizmalardan biri, fotouyarım sonucu ortaya çıkan elektronların ve boşlukların kristal kusurlarında ışıınımsız yeniden birleşmesi ile ilgilidir. Bu nedenle, ışık yoğunluğundaki azalma, e⁻-h⁺ çiftlerinin miktarında bir düşüşe, dolayısıyla ışıınımsız yeniden birleşme hızının ve lokalize ısının azalmasına yol açmıştır.

Işık şiddetine ek olarak FeS₂ derişiminin fototermal özelliklere etkisi incelenmiştir. 2,5 W cm⁻² NIR güç yoğunluğu ile uyarılan örneklerden elde edilen ısınma eğrileri Şekil 5.7 (c)'de gösterilmiştir. En düşük nanopartikül derişimi olan 50 µg mL⁻¹ ile maksimum 38 °C sıcaklığa ulaşılmıştır. Daha yüksek derişimlerde ise sıcaklıklar sırasıyla 75, 100, 125, 250, 500 ve 1000 µg mL⁻¹ derişime sahip süspansiyonlar için 42, 45, 49, 49, 51 ve 53 °C olarak kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, daha yüksek derişimlerin ışık-madde etkileşimleri için daha fazla aktif bölge sağladığını ve buna bağlı olarak nanopartiküller

üzerinde artan bir ısıtma etkisinin oluştuğunu göstermektedir. Yukarıdaki bulgular, sentezlenen stokiyometrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal davranışının Fe/S mol oranı, ışık şiddeti ve malzeme derişiminin kontrol edilerek geniş bir aralıkta değiştirilebileceğini ortaya koymaktadır. Bu durum, değişen gereksinimlere sahip fototermal tedavi uygulamaları açısından önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilir.



Şekil 5.7. a) Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS₂ nanopartiküllerinin zamana karşı sıcaklık değişimi, **b)** NIR güç yoğunluğunun FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal özellikleri üzerine etkisi (Fe/S: 1/12 ve FeS₂ derişimi: 1000 µg mL⁻¹), **c)** FeS₂ derişiminin FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal özellikleri üzerine etkisi (Fe/S: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²), **d)** FeS₂ nanopartiküllerinin (Fe/S: 1/12) termal kamera görüntüsü (NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻² ve FeS₂ derişimi: 1000 µg mL⁻¹), **e)** FeS₂ nanopartiküllerinin saf su içerisindeki 5 kez yapılan ısıtma-soğutma döngüsü ve **f)** zaman-ln(θ) eğrisi (Fe/S: 1/12, NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻² ve FeS₂ derişimi: 1000 µg mL⁻¹)

Şekil 5.7 (d)'de verilen sıcaklık dağılım görüntüsü, kızılötesi kamera ile alınmış olup süspansiyonun (Fe/S oranı: 1/12, NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻², FeS₂

konsantrasyonu: $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) zamana bağılı termal görüntülerini temsil etmektedir. Zamanla ortalama sıcaklıktaki artış belirgindir. Isınma, süspansiyonun orta kısmından başlayarak süspansiyon geneline yayılmıştır. Bu da sıcaklık artışını ve ısının düzgün bir şekilde dağılımını göstermektedir.

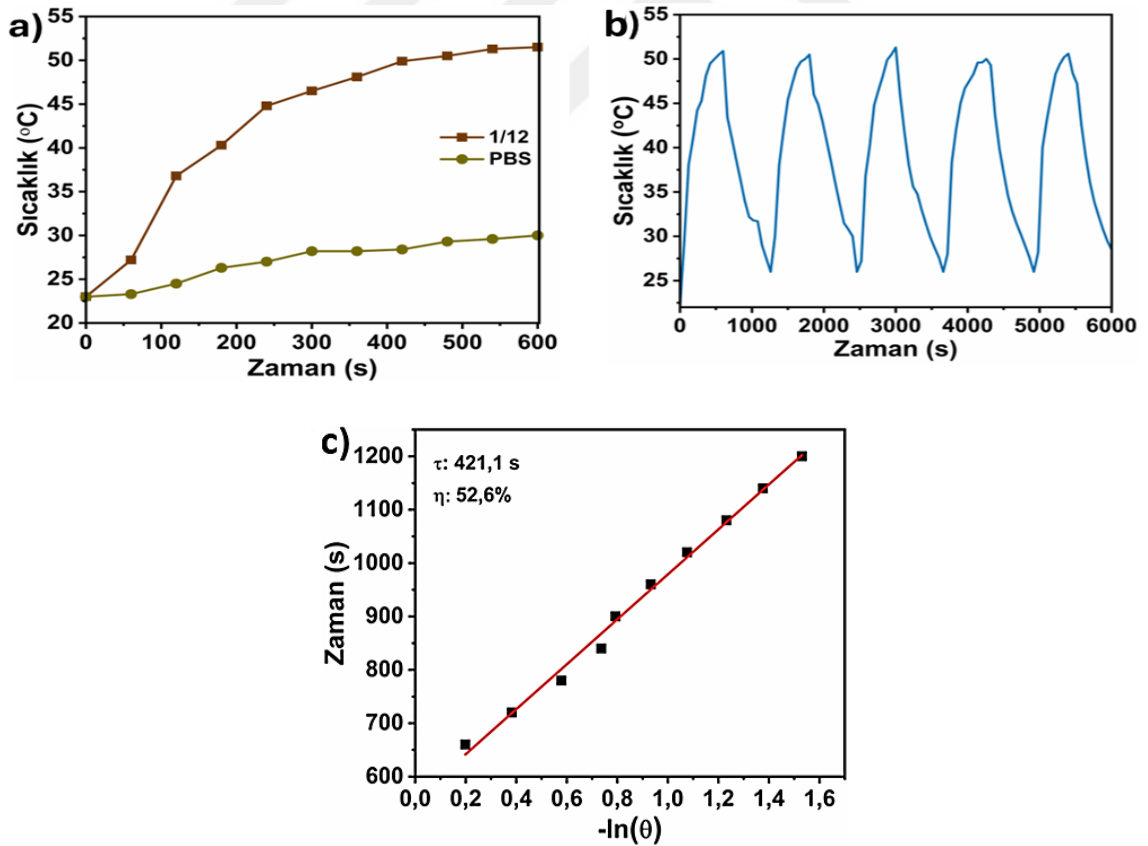
Nanopartiküllerin fototermal kararlılığı, beş tekrarlı NIR ışığı açma/kapatma döngüsü kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar, ışık şiddeti $2,5 \text{ W cm}^{-2}$, Fe/S oranı 1/12 ve nanopartikül derişimi $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ olan durumda Şekil 5.7 (e)'de gösterilmiştir. Tepe değerlerinden açıkça görüldüğü üzere, her ısıtma döngüsü için neredeyse sabit bir sıcaklığa ulaşılmıştır, bu da sentezlenen stokiyometrik olmayan FeS_2 nanopartiküllerinin iyi bir fototermal kararlılığa sahip olduğunu göstermektedir. Kayıt altına alınan maksimum sıcaklık ve geçen ışınlama süresi dikkate alınarak ısıtma hızı yaklaşık $0,05 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, her açma/kapatma döngüsü için numune benzer bir soğuma davranışı sergilemiş olup, bu durum tepe noktalarının alt genişliğinden anlaşılabilir. Numunenin soğuma sıcaklığı verilerinden elde edilen doğrusal regresyon eğrisi saf suda elde edilmiş ve Şekil 5.7 (f)'de gösterilmiştir. Saf suda τ değeri ve fototermal dönüşüm verimliliği sırasıyla 460,1 s ve %44,3 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5.1. FeS_2 bazlı malzemelerin fototermal performanslarının karşılaştırılması

Malzeme	Fototermal Dönüşüm Verimliliği (%)	Uygulama	Kaynak
FeS_2 /karbon	35	Antibakteriyel terapi	(Xi ve ark., 2021)
FeS_2 parçacıklar (350 nm)	33,1	Tümörün tanısı ve tedavisi	(Meng ve ark., 2016)
Gözenekli karbon ile kaplanan FeS_2	27,1	Tümör tedavisi	(Wu ve ark., 2020)
$\text{Bi}_2\text{S}_3/\text{FeS}_2$	38,7	Tümör tedavisi	(Xiong ve ark., 2019)
L-Bütiyonin-sülfoksimin (BSO) ile modifiye edilmiş FeS_2	49,5	Kanser tedavisi	(Xiao ve ark., 2020)
Stokiyometrik olmayan FeS_2	52,6	Antibakteriyel fototerapi	Bu çalışma

Bu çalışmada üretilen stokiyometrik olmayan FeS_2 nanopartiküllerinin fototermal performansı literatürde çeşitli uygulamalar için fototerapi ajanı olarak kullanılan FeS_2 esaslı malzemelerle karşılaştırılarak Çizelge 5.1'de sunulmuştur. Çizelge 5.1'de görüldüğü üzere, FeS_2 bazlı malzemelerin fototermal dönüşüm verimlilikleri şu şekilde rapor edilmiştir: FeS_2 nanoparçacıklarıyla dekore edilmiş karbon küreler için %35; 350 nm boyutundaki FeS_2 partikülleri için %33,1; boşluklu gözenekli karbon kaplı FeS_2

nanoparçacıkları için %27,2; folik asit ile modifiye edilmiş $\text{Bi}_2\text{S}_3/\text{FeS}_2$ nanoparçacıkları için %38,7 ve L-Büthionin-sülfoksimin (BSO) ile modifiye edilmiş FeS_2 için %49,5'tir. Bu değerler, bu çalışmada kullanılan stokiyometrik olmayan FeS_2 örneklerinin herhangi bir modifikasyon yapılmadan diğer literatür çalışmalarına kıyasla yüksek bir fototermal dönüşüm verimliliği sergilediğini göstermektedir. Bu çalışmada FeS_2 nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi planlandığı için FeS_2 nanopartiküllerinin PBS çözeltisi içerisinde de fototermal özellikleri incelenmiştir. Şekil 5.8 (a)'da Fe/S oranı 1/12 olan FeS_2 nanopartiküllerinin zamana karşı sıcaklık değişimi gösterilmiştir. $2,5 \text{ W cm}^{-2}$ NIR ışık altında 10 dk bekletilen FeS_2 nanopartiküllerinin sıcaklığı $51,5 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye ulaşmıştır. FeS_2 nanopartiküllerinin PBS çözeltisi içerisinde 5. kez yapılan ısıtma-soğutma döngüsü (Şekil 5.8 (b)) sonucunda sıcaklığının hala $51,5 \text{ }^\circ\text{C}$ civarında olması FeS_2 nanopartiküllerinin PBS çözeltisi içerisinde de oldukça kararlı olduğunu göstermiştir. Şekil 5.8 (c)'de gösterilen zaman- $\ln(\theta)$ eğrisi yardımıyla FeS_2 nanopartiküllerinin PBS çözeltisindeki fototermal dönüşüm verimi %52,6 olarak belirlenmiştir.



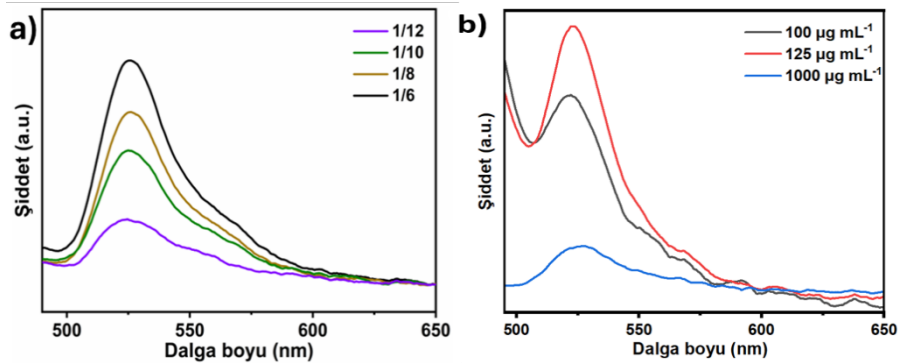
Şekil 5. 8. a) FeS_2 nanopartiküllerinin zamana karşı sıcaklık değişimi, **b)** FeS_2 nanopartiküllerinin PBS çözeltisi içerisindeki 5 kez yapılan ısıtma-soğutma döngüsü ve **c)** zaman- $\ln(\theta)$ eğrisi (Fe/S: 1/12, NIR güç yoğunluğu: $2,5 \text{ W cm}^{-2}$ ve FeS_2 derişimi: $1000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$)

5.4. Üretilen Nanopartiküllerin Fotodinamik Özellikleri

Üretilen nanopartiküllerin fotodinamik etki gösterip göstermediği DCFH-DA molekülü kullanılarak yapılan fotolüminesans ölçümleri ile belirlenmiştir. DCFH'nin ROS tarafından oksitlenmesi ile yeşil floresans yayılımı yapan DCF'nin oluştuğu bilinmektedir. Buradan yola çıkarak, farklı stokiyometrilere üretilen nanopartiküller ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) DCFH solüsyonuna eklenerek 10 dk NIR ışık altında ($2,5 \text{ W cm}^{-2}$) tutulmuş ve daha sonra 365 nm ışık ile uyarılarak fotolüminesans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Farklı stokiyometrilere üretilen nanopartiküllerin kullanılarak gerçekleştirildiği ölçümlerin spektrumları Şekil 5.9 (a)'da verilmiştir. Spektrumlardan da görülebileceği üzere bütün numunelerde 525 nm'de emisyon piki gözlemlenmiştir. Fakat emisyon pikinin şiddeti sentezde kullanılan S miktarı arttıkça düşmüştür.

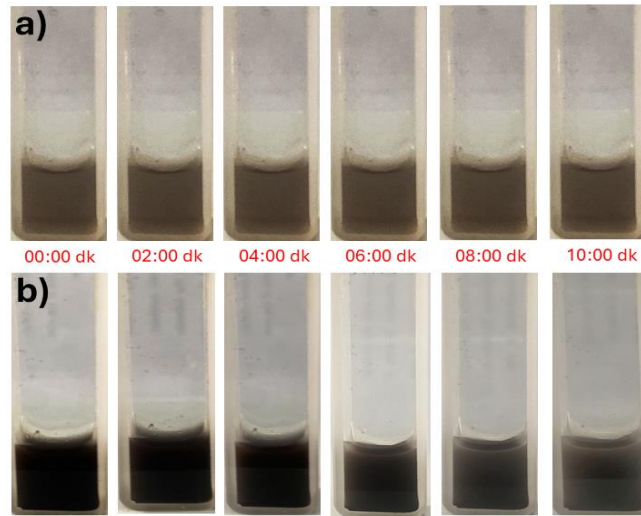
En yüksek şiddet, en yüksek Fe/S öncü madde oranına (yani, 1/6) sahip numunede elde edilmiştir ve bu, diğer stokiyometrilere kıyaslandığında daha yüksek miktarda ROS oluşumunu işaret etmektedir. S bazlı metal kalkojenitlerle ilgili birçok çalışmada belirtildiği üzere, ROS oluşumu genellikle iki ana mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir (Tang ve ark., 2021):

- Fotouyarım sonucu oluşan boşlukların (h^+) su ile reaksiyona girerek $\bullet\text{OH}$ radikallerini oluşturması
- Elektronların (e^-) O_2 molekülleriyle etkileşime girmesi sonucunda $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikallerinin meydana gelmesi



Şekil 5.9. a) Farklı Fe/S oranında sentezlenen FeS_2 nanopartiküllerinin DCFH-DA ile etkileşimi sonucu elde edilen floresans spektrumu (NIR güç yoğunluğu: $2,5 \text{ W cm}^{-2}$, malzeme derişimi: $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve dispersiyon ortamı: saf su) ve **b)** farklı derişime sahip FeS_2 süspansiyonlarının DCFH-DA ile etkileşimi sonucu elde edilen floresans spektrumu (Fe/S oranı: 1/12, NIR güç yoğunluğu: $2,5 \text{ W cm}^{-2}$ ve dispersiyon ortamı: PBS çözeltisi)

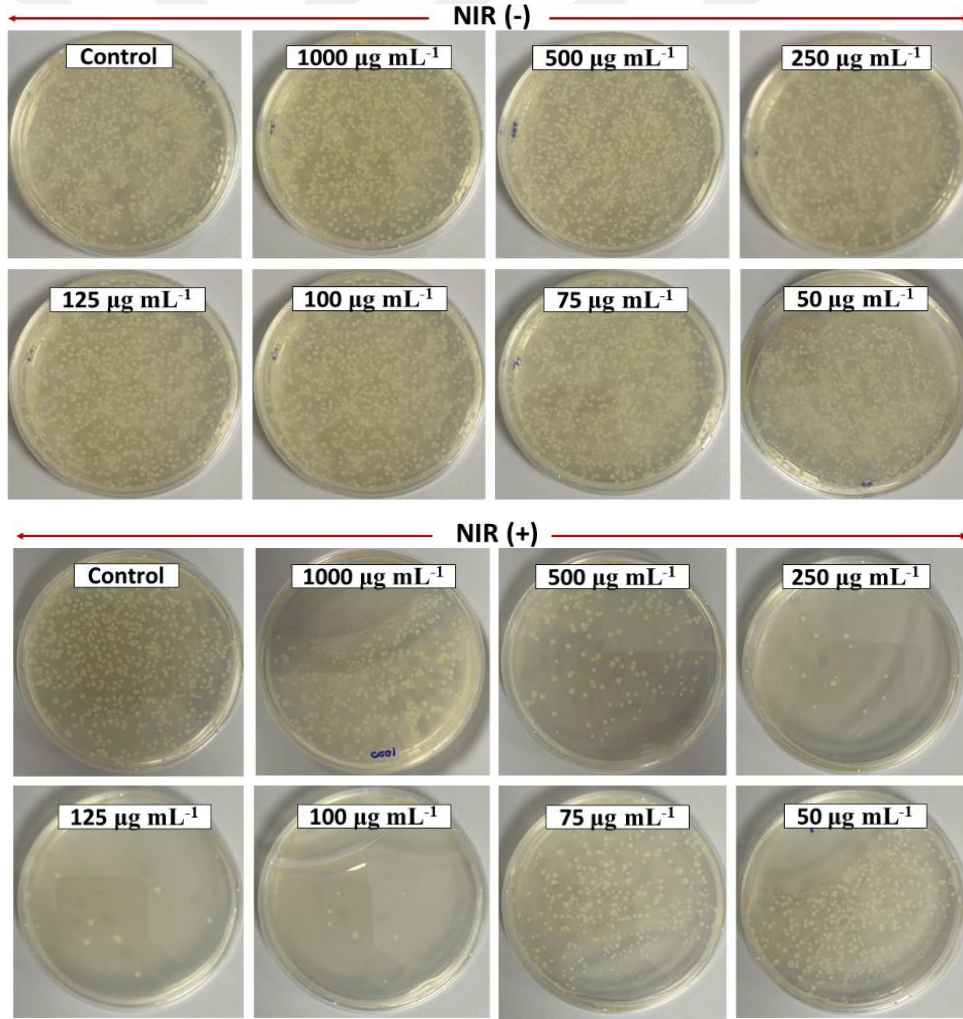
Bir diğer ifade ile fotouyarım sonucu oluşan e^- ve h^+ çiftleri ROS oluşumunu sağlamaktadır. En düşük ROS veriminin Fe-noksanlığı yüksek olan numunede (yani, Fe/S öncü oranı: 1/12) gözlemlenmesi, bu numunenin kristal yapısında yüksek sayıda kusur oluşumu nedeniyle fotouyarım sonucu ortaya çıkan e^-h^+ çiftlerinin ışımasız yeniden birleşme olasılığının artmasına bağlanabilir. Daha önce belirtildiği gibi, yarı iletkenlerde kusur oranı arttıkça bant aralığında tuzak seviyeleri oluşmakta bu da ışımasız yeniden birleşmeye neden olmaktadır. Işımasız yeniden birleşme oranının artması fotodinamik etkiyi sınırlamaktadır. Sonuç olarak, yapılan ölçüm sonucu FeS_2 nanopartiküllerinin fotodinamik etki gösterdiği kanıtlanmış ve kristal yapı kusur oranının artması ile fotodinamik etkisinin azaldığı gözlemlenmiştir. Diğer taraftan ışımasız yeniden birleşme oranının artması Şekil 5.7 (a)'da da gözlemlendiği üzere fototermal etkiyi arttırmaktadır. Stokiyometrinin etkisine ek olarak, FeS_2 konsantrasyonunun fotodinamik olaya etkisi incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda FeS_2 partikülleri kullanılarak gerçekleştirilen fotoluminesans ölçümleri Şekil 5.9 (b)'de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği üzere FeS_2 derişiminin azalması ile emisyon pikinin şiddetinde keskin bir artış gözlemlenmiştir. Derişimin $1000 \mu g mL^{-1}$ 'den $125 \mu g mL^{-1}$ 'e düşmesi ile emisyon pikinin şiddetindeki artış, aglomerasyonun azalmasından kaynaklı olabilir. Şekil 10'da görülebileceği üzere $1000 \mu g mL^{-1}$ derişiminde hazırlanan solüsyon aglomerasyondan dolayı zaman ile çökerken $125 \mu g mL^{-1}$ derişime sahip solüsyonda herhangi bir çökme gerçekleşmemektedir. Diğer taraftan derişimin daha fazla azalması ile emisyon pikinin şiddetindeki azalma fotouyarım sonucu oluşan e^-h^+ çiftlerinin azalmasından kaynaklı olabilir.



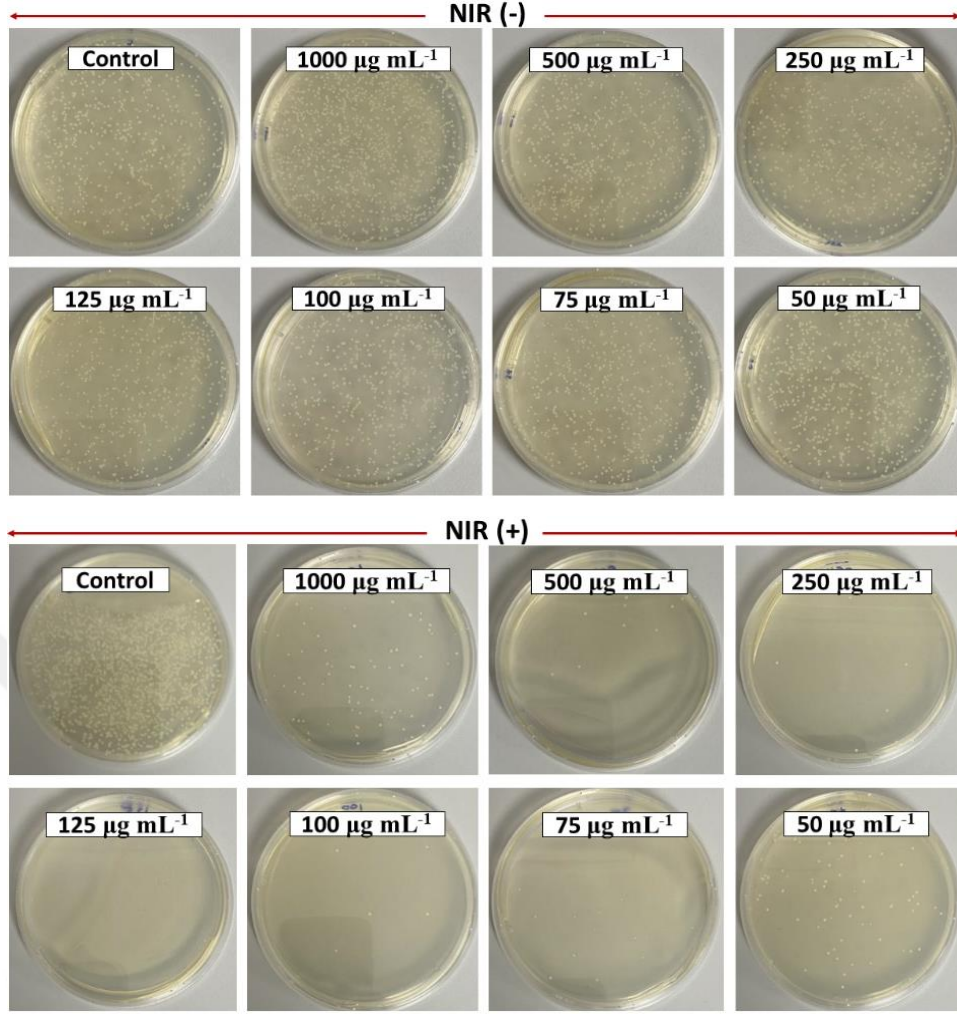
Şekil 5.10. a) $1000 \mu g mL^{-1}$ ve **b)** $125 \mu g mL^{-1}$ derişime sahip FeS_2 süspansiyonlarının PBS çözeltisi içerisindeki dağılımı (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: $2,5 W cm^{-2}$)

5.5. Üretilen Nanopartiküllerin Antibakteriyel Aktivitesi

En yüksek fototermal verimliliğe sahip FeS₂ nanopartiküllerinin (Fe kaynağı/S kaynağı oranı: 1/12) *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı gösterdiği *in vitro* antibakteriyel aktivite yayma plak yöntemi ile incelenmiştir. Aktivite testleri, farklı derişimlerde hazırlanan FeS₂ süspansiyonları (50-1000 µg mL⁻¹) ile gerçekleştirilmiştir. NIR ışık uygulanmadığı durumda test edilen FeS₂ nanopartiküllerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı herhangi bir aktivite göstermediği belirlenmiştir. Buna karşın, NIR (NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²) ışık altında 10 dk bekletilen FeS₂ süspansiyonlarının umut vadeden antibakteriyel aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Bu durum, inkübasyon sonrasında NIR ışınımına maruz bırakılan *E. coli* ve *S. aureus* kolonilerine ait agar plak görüntülerinden (sırasıyla Şekil 5.11 ve 5.12) açıkça görülmektedir.

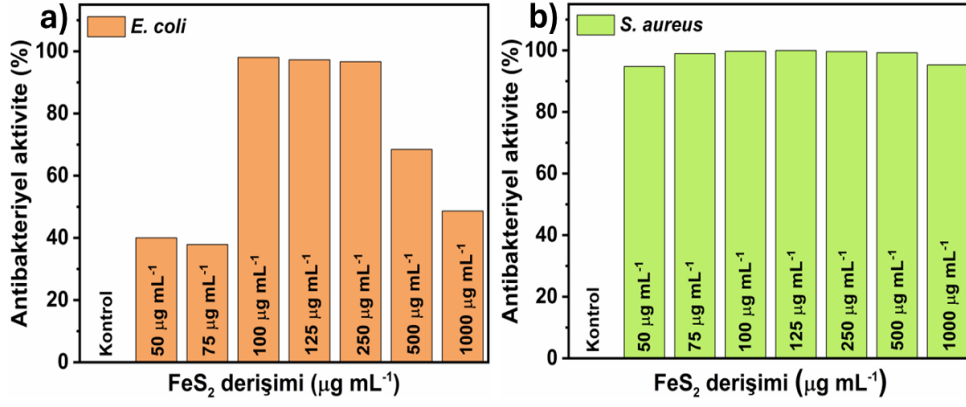


Şekil 5.11. Farklı derişimlerdeki FeS₂ nanopartiküllerinin *E. coli* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivitenin agar plaklar ile gösterimi (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²)



Şekil 5.12. Farklı derişimlerdeki FeS₂ nanopartiküllerinin *S. aureus* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivitenin agar plaklar ile gösterimi (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²)

FeS₂ nanopartiküllerinin derişime bağılı olarak *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite sırasıyla Şekil 5.13 (a) ve (b)'de sunulmuştur. *S. aureus* bakterisi, FeS₂ nanopartiküllerinin düşük derişimlerinde bile neredeyse tamamen inaktive edilmiştir. Örneğin, 125 µg mL⁻¹ FeS₂ süspansiyonunun antibakteriyel aktivitesi %99,89 olarak belirlenmiştir. *S. aureus* bakterisine karşı elde edilen aktiviteyle kıyaslandığında, *E. coli* bakterisine karşı daha düşük bir antibakteriyel aktivite gözlenmiştir (100 µg mL⁻¹ FeS₂ derişiminde (%98,00)). Bu durum, G⁻ bakterinin dış membran yapısı nedeniyle çeşitli antibakteriyel ajanlara karşı daha dirençli olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Epand ve ark., 2016). Şekil 5.7 (c)'de görüldüğü gibi 100 ve 125 µg mL⁻¹ FeS₂ süspansiyonlarının sıcaklığı, NIR ışık altında 10 dk içinde sırasıyla 45 ve ~48 °C'ye ulaşmıştır. Bu sebeple, burada sunulan FeS₂ nanopartikülleri, düşük derişimlerde bile antibakteriyel fototerapi uygulamaları için umut verici bir malzeme olarak önerilebilir.



Şekil 5.13. Farklı derişimlerdeki FeS₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında **a)** *E. coli* ve **b)** *S. aureus* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²)

Yukarıda verilen sonuçların ardından, FeS₂ nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivite mekanizmasının fototermal ve FDT'nin birleşimiyle açıklanabileceğini belirtmek mümkündür. Bölgesel hipertermi (~50 °C), bakterilerin proteinlerinin denatürasyonuna neden olarak bakterilerin yok edilmesini sağlamaktadır (Li ve ark., 2018). Ayrıca, sıcaklık artışı, bakteri zarının geçirgenliğini artırarak fotodinamik özellikleri sinerjik bir şekilde etkilemektedir. Diğer bir ifadeyle, yüksek geçirgenliğe sahip bakteri membranı, ROS'un bakteri membranından kolayca geçişini sağlamakta ve protein yapısının, DNA'nın ve bakteri membranının tahrip olmasına yol açmaktadır. Bu çalışmada, özellikle *E. coli* bakterisi için FeS₂ nanopartiküllerinin yüksek derişimlerinde antibakteriyel aktivitede bir azalma tespit edilmiştir. Nanopartikül-saf su süspansiyonları için sıcaklık artışının FeS₂ konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu bulunmuş olmasına rağmen (Şekil 5.7 (c)), PBS çözeltisinde yüksek FeS₂ derişimlerinde (örneğin, 1000 µg mL⁻¹) ROS üretim yeteneğinin azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 5.9 (b)). Bu durum muhtemelen, derişim arttıkça nanopartiküllerin aglomerasyon eğiliminin artmasından kaynaklanmaktadır.

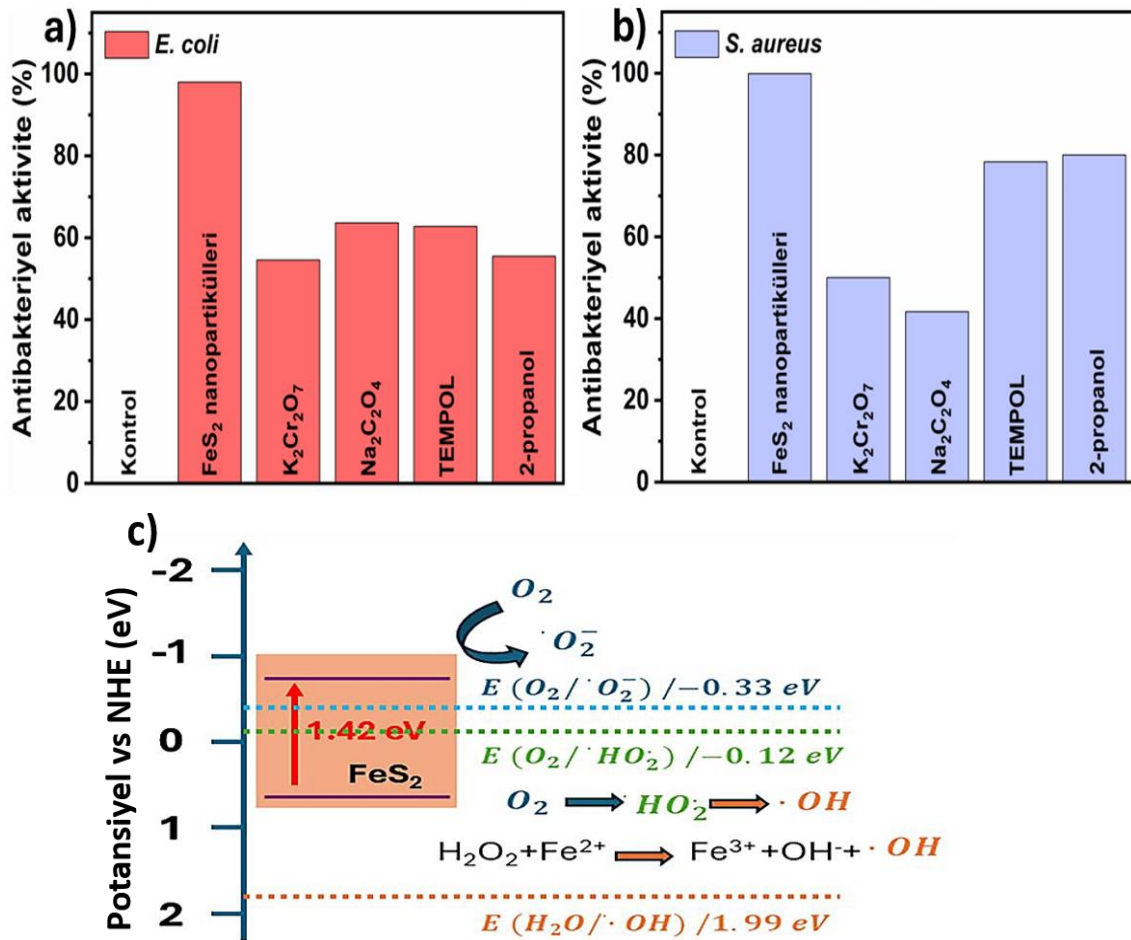
Aglomerasyon, zamanla partiküllerin çökmesine yol açmaktadır. Bu durum, Şekil 5.10 (a) ve (b)'de sunulan FeS₂-PBS süspansiyonlarının dijital görüntülerinden açıkça görülmektedir. Bu süspansiyonlar 125 µg mL⁻¹ ve 1000 µg mL⁻¹ nanopartikül derişimlerinde hazırlanmıştır. Zamanla düşük derişime sahip süspansiyonun rengi neredeyse aynı kalırken, yüksek derişime sahip süspansiyonun rengi siyahtan griye dönmüştür. Bu, 1000 µg mL⁻¹ FeS₂ nanopartikülleri kullanılarak hazırlanan süspansiyon için nanopartiküllerin kısmen çöktüğünü göstermektedir. Çökme reaksiyonu, ışıkla etkileşime giren nanopartikül yüzey alanını azaltarak uyarılmış numunenin ROS üretimini muhtemelen sınırlamıştır. Benzer şekilde, literatürde partikül boyutu ve şekline bağlı olarak ROS üretimindeki azalmanın yanı sıra aglomerasyon olgusunun da rapor

edildiği bilinmektedir. Ayrıca, G^- bakterilerde dış membran yapısı nedeniyle FDT'nin daha az etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, yüksek FeS_2 derişimlerinde ROS üretimindeki azalmaya ve membranın daha güçlü yapısına bağlı olarak 500 ve 1000 $\mu g mL^{-1}$ derişimlerinde gerçekleştirilen testlerde *E. coli* bakterisine karşı daha düşük antibakteriyel aktivite elde edilmiştir (sırasıyla %68,4 ve %48,6)

FeS_2 nanopartiküllerinin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) (gözle görülür bakteri büyümesini engelleyen en düşük madde konsantrasyonu), agar dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır (Chen ve ark., 2023). FeS_2 nanopartiküllerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı MIC değerleri sırasıyla 86,6 ve 46,0 $\mu g mL^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bazı metal kalkojenitlerin MIC değerleriyle karşılaştırıldığında (CuSe: *E. coli* (5000 $\mu g mL^{-1}$) ve *S. aureus* (78,13 $\mu g mL^{-1}$), CuS: *E. coli* (312,5 $\mu g mL^{-1}$) ve *S. aureus* (78,13 $\mu g mL^{-1}$) (Mbawana-Ntshanka ve ark., 2021), ZnS: *E. coli* (150 $\mu g mL^{-1}$) ve *S. aureus* (100,0 $\mu g mL^{-1}$))(Baruah ve ark., 2019), FeS_2 nanopartiküllerinin oldukça düşük madde konsantrasyonlarında inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) yani %99,9 oranında bakteriyi öldüren en düşük konsantrasyonun, *E. coli* ve *S. aureus* için sırasıyla 150,0 ve 110,0 $\mu g mL^{-1}$ olduğu belirtilmiştir (Mogana ve ark., 2020).

Fotodinamik etkinin antibakteriyel aktivite üzerindeki etkisini daha detaylı açıklamak için antibakteriyel aktivite testleri sırasında çeşitli tuzaklayıcı kimyasallar varlığında antibakteriyel aktivite testleri yapılmıştır. 808 nm NIR ışık altında elektron tuzaklayıcı olarak potasyum dikromat (Cr^{6+} , 0.1 mM), boşluk tuzaklayıcı olarak $Na_2C_2O_4$ (1 mM), $\cdot O_2^-$ radikal tuzaklayıcı olarak 4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil (TEMPOL, 1 mM) ve $\cdot OH$ radikal tuzaklayıcı olarak 2-propanol (1 mM) kullanılarak *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı bir dizi antibakteriyel aktivite testi gerçekleştirilmiştir. Farklı tuzaklayıcıların FeS_2 nanopartiküllerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı gösterdiği antibakteriyel aktiviteye etkisi tuzaklayıcılar varlığında Şekil 5.14'(a) ve (b)'de gösterilmiştir. Her bir tuzaklayıcının varlığında hem *E. coli* hem de *S. aureus* bakterilerinin antibakteriyel aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, *S. aureus* bakterisinin inaktivasyonunda elektron ve boşlukların *E. coli* bakterisine kıyasla daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, G^+ bakterilerin dış membranlarının olmaması nedeniyle nano malzemelerle daha kolay etkileşime girmesi üzerinden açıklanabilir. Yarı iletkenlerde üretilen elektron ve boşlukların bakterilerle doğrudan etkileşimlerinin yanı sıra, oluşan $\cdot O_2^-$ ve $\cdot OH$ radikallerinin de her iki bakteri türünün inaktivasyonunda etkili olduğu açıktır. FeS_2 nanopartiküllerinin fotodinamik

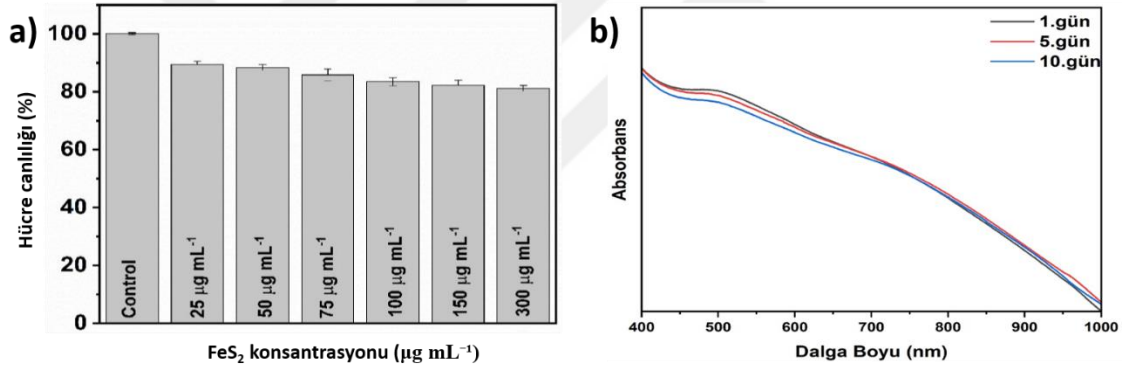
mekanizmasını daha iyi anlamak için literatürdeki hesaplamalara dayalı olarak FeS₂'ye ait yaklaşık enerji bant diyagramları, olası redoks potansiyelleri ve reaksiyonlar Şekil 5.14 (c)'de gösterilmiştir. Şematik gösterimde de belirtildiği gibi, FeS₂'de fotouyarım sonucu oluşan elektronlar, FeS₂'nin İB pozisyonu potansiyelinin O₂/O₂⁻ redoks potansiyeline göre daha negatif olması nedeniyle O₂'yi ·O₂⁻'ye indirgerken, fotouyarım sonucu oluşan elektron boşluklarının VB pozisyonundan dolayı H₂O'yu doğrudan oksitlemesi mümkün değildir. Bu nedenle, bakterilerin inaktivasyonunda etkili olduğu tuzaklayıcı testleri ile kanıtlanmış ·OH radikallerinin, literatürde belirtildiği gibi ışııkla tetiklenen ·O₂⁻ radikalleri veya Fenton reaksiyonu (kemodinamik etki) aracılığıyla oluşmuş olması muhtemeldir (Pan ve ark., 2020).



Şekil 5.14. FeS₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında çeşitli tuzaklayıcılar varlığında **a)** *E. coli* ve **b)** *S. aureus* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite (Fe/S oranı: 1/12 ve NIR güç yoğunluğu: 2,5 W cm⁻²) ve **c)** muhtemel ROS oluşum mekanizmasının şematik gösterimi

5.6. Üretilen FeS₂ Nanopartiküllerinin Sitotoksitesi ve Biyolojik Ortamda Kararlılığı

FeS₂ nanopartiküllerinin sitotoksitesi, L929 hücre hattı üzerinde MTT testi kullanılarak 24 saat boyunca incelenmiştir. FeS₂ derişimine bağı hücre canlılığı Şekil 5.15 (a)'da gösterilmiştir. Çok düşük FeS₂ derişimlerinde hücre canlılığı yaklaşık %90 olarak tespit edilmiştir. Artan malzeme derişimi ile hücre canlılığında kısmi bir azalma gözlenmiştir. Daha yüksek antibakteriyel aktivitenin gözleendiğı 100 ve 150 µg mL⁻¹ derişimlerinde hücre canlılığı yaklaşık %83 olarak belirlenmiştir. ISO 10993-5 standardına (in vitro sitotoksite testleri) göre sitotoksite; sitotoksik olmayan (> %80), zayıf sitotoksite (%80-60), orta dereceli sitotoksite (%60-40) ve güçlü sitotoksite (< %40) olarak sınıflandırılmaktadır (Ruiz ve ark., 2020). Bu noktadan yola çıkarak hücre canlılığının %80'den fazla olduğı FeS₂ nanopartiküllerinin sitotoksik olmayan malzemeler olduğı öngörölmüştür.



Şekil 5.15. a) FeS₂ nanopartiküllerinin L929 hücrelerine karşı gösterdiği *in vitro* sitotoksite ve **b)** belirli aralıklarla PBS çözeltisinde dağıtılan FeS₂ nanopartiküllerinin UV-Vis-NIR absorbans spektrumu

Antibakteriyel uygulamalarda kullanılan nanopartiküllerin kararlılığı önemli bir parametredir. Bu çalışmada, tüm antibakteriyel testler PBS çözeltisinde gerçekleştirildiğı için FeS₂ nanopartiküllerinin PBS çözeltisindeki kararlılığı incelenmiştir. FeS₂ nanopartiküllerinin kararlılığı, nanopartiküllerin belirli aralıklarla ölçülen absorbans değerleri üzerinden araştırılmıştır. Elde edilen UV-Vis-NIR absorpsiyon spektrumları Şekil 5.15 (b)'de gösterilmiştir. Onuncu günün sonunda elde edilen spektrumun, ilk gün spektrumu ile neredeyse aynı olduğı gözlemlenmiş ve bu durum, nanopartiküllerin biyolojik ortamda oldukça kararlı olduğunu kanıtlamıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında FeS₂ nanopartikülleri, sıcak besleme yöntemi kullanılarak sentez parametrelerinin optimize edilmesiyle sentezlenmiştir. XRD ve STEM analizlerinin sonuçlarına göre, optimum sentez koşulları 240 °C reaksiyon sıcaklığı ve 2 saatlik süre olarak belirlenmiştir. Stokiyometrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin fototermal özellikleri, 808 nm NIR ışık altında 10 dk boyunca farklı NIR güç yoğunlukları ve FeS₂ süspansiyon derişimleri kullanılarak değerlendirilmiştir. 2,5 W cm⁻² ışık yoğunluğunda, 1000 µg mL⁻¹ malzeme derişiminde ve 0,9/2 Fe/S oranıyla maksimum 53 °C sıcaklığa ulaşılmıştır. Gözlemlenen sıcaklık artışı, kusur oluşumu ve serbest taşıyıcıların üretilmesi sonucunda sırasıyla ışımasız yeniden birleşme ve LSPR etkilerine bağlanmıştır. Ayrıca, nanopartiküller NIR ışık altında açma/kapama döngüleri sırasında mükemmel fototermal kararlılık sergilemiştir. Fototermal dönüşüm verimi yüksek Fe eksikliği gösteren malzeme için saf suda %44,2 ve PBS çözeltisinde %52,6 olarak hesaplanmıştır. Bu verimlerin literatürde bildirilen diğer FeS₂ bazlı fototermal malzemelere kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, nanopartiküllerin ROS üretim kapasitesinin, Fe/S oranındaki azalmaya bağlı azaldığı tespit edilmiştir. Bu ters ilişkinin, daha kusurlu yapı nedeniyle e⁻-h⁺ çiftlerinin ışımasız yeniden birleşme olasılığının artışına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sentezlenen nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesini incelemek amacıyla *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri kullanılarak yayma plak yöntemi uygulanmıştır. Optimum koşullar altında FeS₂ nanopartikülleri oldukça yüksek bir antibakteriyel etki göstermiştir; 100 µg mL⁻¹ derişimde *E. coli* için %98,00, 125 µg mL⁻¹ derişimde ise *S. aureus* üzerinde %99,89 inaktivasyon sağlanmıştır. Bu antibakteriyel etkinin, protein yapılarının denatürasyonu ve bakterilerdeki DNA'nın inaktivasyonu ile ilişkili olduğu, bunun da fotoaktif nanopartiküllerin sıcaklık artışı ve ROS oluşturmaları sonucu gerçekleştiği belirlenmiştir. Spesifik roller farklılık gösterse de ·O₂⁻, ·OH, e⁻ ve h⁺ türlerinin tamamının bakteriyel inaktivasyon sürecine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma FeS₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında hem G⁺ hem de G⁻ bakterilerin inaktivasyonunda oldukça etkili olduğunu gösterilmiştir.

6.2. Öneriler

Bu tez çalışması kapsamında, stokiyometrik ve stokiyometrik olmayan FeS₂ nanopartiküllerinin NIR ışık altında antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen nanopartiküllerin hem fototermal hem de fotodinamik etki gösterdiğini açıkça ortaya koymuştur. Bununla birlikte, nanopartiküllerin boyutlarının çok küçük (20-25 nm) olması, aglomerasyona yüksek derecede yatkın olmalarına ve yüksek konsantrasyonlarda hızla çökelmelerine yol açmıştır. Bu durumunun fotodinamik ve fototermal özelliklerini olumsuz yönde etkilediği gözlemlenmiştir. Bu sorunun giderilmesi amacıyla, FeS₂ nanopartiküllerinin yüzey modifikasyonu yapılarak yüzey yükü düzenlenebilir ve bu sayede elektrostatik itme kuvvetleri oluşturularak aglomerasyonun önüne geçilebilir. Alternatif olarak, nanopartiküllerin polimer ile kaplanması, partiküller arası temasları azaltarak aglomerasyonu engelleyebilir. Ayrıca, sentezlenen nanopartiküllerin dar bant aralığı, uyarılan e⁻-h⁺ çiftlerinin yeniden birleşmesine yol açmakta ve bu durum fotodinamik etkinliği olumsuz etkilemektedir. Bu yeniden birleşmeyi engellemek için başka bir yarı iletken ile heteroyapı oluşturulabilir.

KAYNAKLAR

- Aksoy Çekceoglu, I.I., Eroglu, Z., Genc Acar, E.I., Kaya, H.M., Aslan, E., Metin, O.n., Hatay Patir, I., 2024, Superb Photo-Antibacterial/Antibiofilm Activities of BP/WS₂ and BP/MoS₂ Nanocomposites under Near-Infrared Irradiation, *ACS Applied Nano Materials*, 7 (13), 15720-34.
- Bai, Q., Liang, M., Wu, W., Zhang, C., Li, X., Liu, M., Yang, D., Yu, W.W., Hu, Q., Wang, L., 2022, Plasmonic nanozyme of graphdiyne nanowalls wrapped hollow copper sulfide nanocubes for rapid bacteria-killing, *Advanced Functional Materials*, 32 (20), 2112683.
- Baruah, J.M., Kalita, S., Narayan, J., 2019, Green chemistry synthesis of biocompatible ZnS quantum dots (QDs): their application as potential thin films and antibacterial agent, *International Nano Letters*, 9 (2), 149-59.
- Bi, Y., Yuan, Y., Exstrom, C.L., Darveau, S.A., Huang, J., 2011, Air stable, photosensitive, phase pure iron pyrite nanocrystal thin films for photovoltaic application, *Nano letters*, 11 (11), 4953-7.
- Calin, M., Parasca, S.J.J.o.O., materials, a., 2006, Photodynamic therapy in oncology, 8 (3), 1173.
- Cao, W., Yue, L., Khan, I.M., Wang, Z., 2020, Polyethylenimine modified MoS₂ nanocomposite with high stability and enhanced photothermal antibacterial activity, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 401 112762.
- Chen, C., Kuang, Y., Hu, L.J.J., 2019, Challenges and opportunities for solar evaporation, 3 (3), 683-718.
- Chen, F., Luo, Y., Liu, X., Zheng, Y., Han, Y., Yang, D., Wu, S., 2022, 2D molybdenum sulfide-based materials for photo-excited antibacterial application, *Advanced healthcare materials*, 11 (13), 2200360.
- Chen, S., Li, Z., Gu, Z., Ban, X., Hong, Y., Cheng, L., Li, C., 2023, A new micro-agar dilution method to determine the minimum inhibitory concentration of essential oils against microorganisms, *Journal of Microbiological Methods*, 211 106791.
- Chen, Y., Chen, K., Fu, J., Yamaguchi, A., Li, H., Pan, H., Hu, J., Miyauchi, M., Liu, M., 2020, Recent advances in the utilization of copper sulfide compounds for electrochemical CO₂ reduction, *Nano Materials Science*, 2 (3), 235-47.
- Chitgupi, U., Qin, Y., Lovell, J.F.J.N., 2017, Targeted nanomaterials for phototherapy, 1 (1), 38.
- Choi, H., Seo, J.Y., Uhm, Y.R., Sun, G.M., Kim, C.S., 2021, Crystalline structure and magnetic properties of pyrite FeS₂, *AIP Advances*, 11 (1).

- Cui, Q., Yuan, H., Bao, X., Ma, G., Wu, M., Xing, C., 2020, Synergistic photodynamic and photothermal antibacterial therapy based on a conjugated polymer nanoparticle-doped hydrogel, *ACS Applied Bio Materials*, 3 (7), 4436-43.
- Cui, X., Ruan, Q., Zhuo, X., Xia, X., Hu, J., Fu, R., Li, Y., Wang, J., Xu, H., 2023, Photothermal nanomaterials: A powerful light-to-heat converter, *Chemical Reviews*, 123 (11), 6891-952.
- Cui, X., Ruan, Q., Zhuo, X., Xia, X., Hu, J., Fu, R., Li, Y., Wang, J., Xu, H.J.C.R., 2023, Photothermal nanomaterials: a powerful light-to-heat converter, 123 (11), 6891-952.
- Dai, X., Zhao, Y., Yu, Y., Chen, X., Wei, X., Zhang, X., Li, C., 2017, Single continuous near-infrared laser-triggered photodynamic and photothermal ablation of antibiotic-resistant bacteria using effective targeted copper sulfide nanoclusters, *ACS applied materials & interfaces*, 9 (36), 30470-9.
- Epand, R.M., Walker, C., Epand, R.F., Magarvey, N.A., 2016, Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858 (5), 980-7.
- Escudero, A., Carrillo-Carrión, C., Castillejos, M.C., Romero-Ben, E., Rosales-Barrios, C., Khiar, N.J.M.C.F., 2021, Photodynamic therapy: photosensitizers and nanostructures, 5 (10), 3788-812.
- Feng, Z., Liu, X., Tan, L., Cui, Z., Yang, X., Li, Z., Zheng, Y., Yeung, K.W.K., Wu, S., 2018, Electrophoretic deposited stable chitosan@ MoS₂ coating with rapid in situ bacteria-killing ability under dual-light irradiation, *Small*, 14 (21), 1704347.
- Friedlander, L.R., Puri, N., Schoonen, M.A., Wali Karzai, A., 2015, The effect of pyrite on Escherichia coli in water: proof-of-concept for the elimination of waterborne bacteria by reactive minerals, *Journal of water and health*, 13 (1), 42-53.
- Gao, Q., Zhang, X., Yin, W., Ma, D., Xie, C., Zheng, L., Dong, X., Mei, L., Yu, J., Wang, C., 2018, Functionalized MoS₂ nanovehicle with near-infrared laser-mediated nitric oxide release and photothermal activities for advanced bacteria-infected wound therapy, *Small*, 14 (45), 1802290.
- Ge, H., Hai, L., Prabhakar, R.R., Ming, L.Y., Sritharan, T., 2014, Evolution of nanoplate morphology, structure and chemistry during synthesis of pyrite by a hot injection method, *RSC advances*, 4 (32), 16489-96.
- Gong, M., Ewing, D., Casper, M., Stramel, A., Elliot, A., Wu, J.Z., 2019, Controllable synthesis of monodispersed Fe_{1-x} S₂ nanocrystals for high-performance optoelectronic devices, *ACS applied materials & interfaces*, 11 (21), 19286-93.
- Guzel Kaya, G., Medaglia, S., Candela-Noguera, V., Tormo-Mas, M.Á., Marcos, M.D., Aznar, E., Deveci, H., Martínez-Máñez, R.J.P., 2020, Antibacterial Activity of Linezolid against Gram-Negative Bacteria: Utilization of ε-poly-L-lysine capped silica xerogel as an activating carrier, 12 (11), 1126.

- Hammond, J.L., Bhalla, N., Rafiee, S.D., Estrela, P.J.B., 2014, Localized surface plasmon resonance as a biosensing platform for developing countries, 4 (2), 172-88.
- Han, H., Yang, J., Li, X., Qi, Y., Yang, Z., Han, Z., Jiang, Y., Stenzel, M., Li, H., Yin, Y., 2021, Shining light on transition metal sulfides: New choices as highly efficient antibacterial agents, *Nano Research*1-23.
- Han, M., Sun, W., Chen, Y., Li, H., 2024, The fabrication of the photothermal antibacterial platform for bacterial infectious skin wound healing: A review, *Molecular Systems Design & Engineering*.
- Heiba, Z.K., Albassam, A., Mohamed, M.B., 2020, Effect of Zn/S non-stoichiometric ratio on the structural, optical and electronic properties of nano-ZnS, *Applied Physics A*, 126 (6), 479.
- Heiba, Z.K., Mohamed, M.B., Farag, N.M., Badawi, A., 2021, Structural, optical, and electronic characteristics of non-stoichiometric nanocadmium sulfide, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 32 9517-30.
- Huang, J., Zhou, J., Zhuang, J., Gao, H., Huang, D., Wang, L., Wu, W., Li, Q., Yang, D.-P., Han, M.-Y., 2017, Strong near-infrared absorbing and biocompatible CuS nanoparticles for rapid and efficient photothermal ablation of gram-positive and-negative bacteria, *ACS applied materials & interfaces*, 9 (42), 36606-14.
- Jiang, Z., Jiang, Z., Jiang, Y., Cheng, Y., Yao, Q., Chen, R., Kou, L., 2023, Fe-involved nanostructures act as photothermal transduction agents in cancer photothermal therapy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*113438.
- Ju, E., Dong, K., Liu, Z., Pu, F., Ren, J., Qu, X., 2015, Tumor microenvironment activated photothermal strategy for precisely controlled ablation of solid tumors upon NIR irradiation, *Advanced Functional Materials*, 25 (10), 1574-80.
- Jubair, N., Rajagopal, M., Chinnappan, S., Abdullah, N.B., Fatima, A., 2021, Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR), *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021 (1), 3663315.
- Kaur, G., Kaur, M., Thakur, A., Kumar, A., 2020, Recent progress on pyrite FeS₂ nanomaterials for energy and environment applications: synthesis, properties and future prospects, *Journal of Cluster Science*, 31 (5), 899-937.
- Khan, M.A., Sarker, J., Lee, S., Mangham, S.C., Manasreh, M., 2014, Synthesis, characterization and processing of cubic iron pyrite nanocrystals in a photovoltaic cell, *Materials Chemistry and Physics*, 148 (3), 1022-8.
- Ko, Y., Kim, J., Jeong, H.Y., Kwon, G., Kim, D., Ku, M., Yang, J., Yamauchi, Y., Kim, H.-Y., Lee, C., 2019, Antibacterial poly (3, 4-ethylenedioxythiophene): poly (styrene-sulfonate)/agarose nanocomposite hydrogels with thermo-processability and self-healing, *Carbohydrate polymers*, 203 26-34.

- Kou, J., Dou, D., Yang, L.J.O., 2017, Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications, 8 (46), 81591.
- Kulpa-Greszta, M., Tomaszewska, A., Dziedzic, A., Pązik, R., 2021, Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology, *RSC advances*, 11 (34), 20708-19.
- Li, C., Cheng, Y., Li, D., An, Q., Zhang, W., Zhang, Y., Fu, Y., 2022, Antitumor applications of photothermal agents and photothermal synergistic therapies, *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (14), 7909.
- Li, L., Liu, Y., Hao, P., Wang, Z., Fu, L., Ma, Z., Zhou, J., 2015, PEDOT nanocomposites mediated dual-modal photodynamic and photothermal targeted sterilization in both NIR I and II window, *Biomaterials*, 41 132-40.
- Li, M., Li, L., Su, K., Liu, X., Zhang, T., Liang, Y., Jing, D., Yang, X., Zheng, D., Cui, Z., 2019, Highly effective and noninvasive near-infrared eradication of a *Staphylococcus aureus* biofilm on implants by a photoresponsive coating within 20 min, *Advanced Science*, 6 (17), 1900599.
- Li, M., Liu, X., Tan, L., Cui, Z., Yang, X., Li, Z., Zheng, Y., Yeung, K.W.K., Chu, P.K., Wu, S., 2018, Noninvasive rapid bacteria-killing and acceleration of wound healing through photothermal/photodynamic/copper ion synergistic action of a hybrid hydrogel, *Biomaterials science*, 6 (8), 2110-21.
- Li, Y., Liu, X., Tan, L., Cui, Z., Jing, D., Yang, X., Liang, Y., Li, Z., Zhu, S., Zheng, Y., 2019, Eradicating multidrug-resistant bacteria rapidly using a multi functional g-C₃N₄@ Bi₂S₃ nanorod heterojunction with or without antibiotics, *Advanced Functional Materials*, 29 (20), 1900946.
- Li, Y., Qi, H., Geng, Y., Li, L., Cai, X.J.C., Biointerfaces, S.B., 2024, Research progress of organic photothermal agents delivery and synergistic therapy systems, 113743.
- Li, Y., Shi, Y., Wang, H., Liu, T., Zheng, X., Gao, S., Lu, J.J.C.E., 2023, Recent advances in carbon-based materials for solar-driven interfacial photothermal conversion water evaporation: assemblies, structures, applications, and prospective, 5 (11), e331.
- Liang, C., Zhang, Y., Zhang, B., Liu, X.-M., Gao, G.-L., Cao, J., Xu, P.J.F.i.C., 2021, Plasmonic heating-promoted photothermal synthesis of α -cyanoacrylonitriles over Au/h-BN catalysts, 9 732162.
- Lin, Y., Han, D., Li, Y., Tan, L., Liu, X., Cui, Z., Yang, X., Li, Z., Liang, Y., Zhu, S., 2019, Ag₂S@ WS₂ heterostructure for rapid bacteria-killing using near-infrared light, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (17), 14982-90.
- Lin, Y., Han, D., Li, Y., Tan, L., Liu, X., Cui, Z., Yang, X., Li, Z., Liang, Y., Zhu, S.J.A.S.C., Engineering, 2019, Ag₂S@ WS₂ heterostructure for rapid bacteria-killing using near-infrared light, 7 (17), 14982-90.

- Liu, H., Xing, F., Zhou, Y., Yu, P., Xu, J., Luo, R., Xiang, Z., Rommens, P.M., Liu, M., Ritz, U.J.M., Design, 2023, Nanomaterials-based photothermal therapies for antibacterial applications, 112231.
- Liu, X., Li, X., Shan, Y., Yin, Y., Liu, C., Lin, Z., Kumar, S.S., 2020, CuS nanoparticles anchored to gC₃N₄ nanosheets for photothermal ablation of bacteria, *RSC advances*, 10 (21), 12183-91.
- Liu, Y., Qin, R., Zaat, S.A., Breukink, E., Heger, M.J.J.o.c., research, t., 2015, Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections, 1 (3), 140.
- Lou, C., Zhu, L., Yang, F., 2024, NH₂-MIL-88B@ TP-TA@ CuS for photothermal catalytic synergistic antibacterial activity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 242 114094.
- Luther, J.M., Jain, P.K., Ewers, T., Alivisatos, A.P., 2011, Localized surface plasmon resonances arising from free carriers in doped quantum dots, *Nature materials*, 10 (5), 361-6.
- Lv, J., Li, B., Luo, T., Nie, C., Pan, W., Ge, X., Zheng, J., Rui, Y., Zheng, L., 2023, Selective photothermal therapy based on Lipopolysaccharide aptamer functionalized MoS₂ nanosheet-coated gold nanorods for multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection, *Advanced healthcare materials*, 12 (15), 2202794.
- Ma, T., Zhai, X., Huang, Y., Zhang, M., Zhao, X., Du, Y., Yan, C., 2021, A smart nanoplatform with photothermal antibacterial capability and antioxidant activity for chronic wound healing, *Advanced healthcare materials*, 10 (13), 2100033.
- Martin, N., Pirie, A., Ford, L., Callaghan, C., McTurk, K., Lucy, D., Scrimger, D.J.S., Society, j.j.o.t.F.S., 2006, The use of phosphate buffered saline for the recovery of cells and spermatozoa from swabs, 46 (3), 179-84.
- Mas, N., Galiana, I., Mondragón, L., Aznar, E., Climent, E., Cabedo, N., Sancenon, F., Murguía, J.R., Martínez-Máñez, R., Marcos, M.D., 2013, Enhanced efficacy and broadening of antibacterial action of drugs via the use of capped mesoporous nanoparticles, *Chemistry-A European Journal*, 19 (34).
- Mbewana-Ntshanka, N., Moloto, M., Mubiayi, P., 2021, Antimicrobial activity of the synthesized of copper chalcogenide nanoparticles, *Journal of Nanotechnology*, 2021 (1), 6675145.
- Meng, Z., Wei, F., Ma, W., Yu, N., Wei, P., Wang, Z., Tang, Y., Chen, Z., Wang, H., Zhu, M., 2016, Design and synthesis of “all-in-one” multifunctional FeS₂ nanoparticles for magnetic resonance and near-infrared imaging guided photothermal therapy of tumors, *Advanced Functional Materials*, 26 (45), 8231-42.
- Moehring, N., Fort, M., McBride, J., Kato, M., Macdonald, J., Kidambi, P., 2020, In situ observations of thermally induced phase transformations in iron sulfide

- nanoparticles, *Materials Today Advances*, 6 100057.
- Mogana, R., Adhikari, A., Tzar, M., Ramliza, R., Wiart, C., 2020, Antibacterial activities of the extracts, fractions and isolated compounds from canarium patentinervium Miq. against bacterial clinical isolates, *BMC complementary medicine and therapies*, 20 1-11.
- Mutalik, C., Hsiao, Y.-C., Chang, Y.-H., Krisnawati, D.I., Alimansur, M., Jazidie, A., Nuh, M., Chang, C.-C., Wang, D.-Y., Kuo, T.-R., 2020, High UV-VIS-NIR light-induced antibacterial activity by heterostructured TiO₂-FeS₂ nanocomposites, *International journal of nanomedicine* 8911-20.
- Mutalik, C., Saukani, M., Khafid, M., Krisnawati, D.I., Widodo, Darmayanti, R., Puspitasari, B., Cheng, T.-M., Kuo, T.-R., 2023, Gold-based nanostructures for antibacterial application, *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (12), 10006.
- Neelgund, G.M., Oki, A., 2018, Advancement in photothermal effect of carbon nanotubes by grafting of poly (amidoamine) and deposition of CdS nanocrystallites, *Industrial & engineering chemistry research*, 57 (23), 7826-33.
- Nguyen, V.-N., Zhao, Z., Tang, B.Z., Yoon, J.J.C.S.R., 2022, Organic photosensitizers for antimicrobial phototherapy, 51 (9), 3324-40.
- Pan, C., Ou, M., Cheng, Q., Zhou, Y., Yu, Y., Li, Z., Zhang, F., Xia, D., Mei, L., Ji, X., 2020, Z-scheme heterojunction functionalized pyrite nanosheets for modulating tumor microenvironment and strengthening photo/chemodynamic therapeutic effects, *Advanced Functional Materials*, 30 (3), 1906466.
- Pasha, A.M.K., Hosseini, M., Fakhri, A., Gupta, V.K., Agarwal, S., 2019, Investigation of photocatalytic process for iron disulfide-bismuth oxide nanocomposites by using response surface methodology: structural and antibacterial properties, *Journal of Molecular Liquids*, 289 110950.
- Qin, H., Jia, J., Lin, L., Ni, H., Wang, M., Meng, L., 2018, Pyrite FeS₂ nanostructures: Synthesis, properties and applications, *Materials Science and Engineering: B*, 236 104-24.
- Rai, V., Srivastava, A., Mukherjee, C., Deb, S.J.I.J.o.P., 2016, Localized surface plasmon resonance and refractive index sensitivity of vacuum-evaporated nanostructured gold thin films, 90 107-16.
- Ren, Y., Liu, H., Liu, X., Zheng, Y., Li, Z., Li, C., Yeung, K.W.K., Zhu, S., Liang, Y., Cui, Z.J.C.R.P.S., 2020, Photoresponsive materials for antibacterial applications, 1 (11).
- Roelandts, R.J.J.o.t.A.A.o.D., 2002, The history of phototherapy: something new under the sun?, 46 (6), 926-30.
- Ruiz, A., Lucherelli, M.A., Murera, D., Lamon, D., Ménard-Moyon, C., Bianco, A., 2020,

- Toxicological evaluation of highly water dispersible few-layer graphene in vivo, *Carbon*, 170 347-60.
- Sarathkumar, E., Anjana, R.S., Jayasree, R.S., 2023, Nanoarchitectonics of photothermal materials to enhance the sensitivity of lateral flow assays, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 14 (1), 988-1003.
- Serri, A., Mahboubi, A., Zarghi, A., Moghimi, H.R., 2019, PAMAM-dendrimer enhanced antibacterial effect of vancomycin hydrochloride against gram-negative bacteria, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 22 10-21.
- Shan, Y., Lu, W., Xi, J., Qian, Y., 2022, Biomedical applications of iron sulfide-based nanozymes, *Frontiers in Chemistry*, 10 1000709.
- Sharma, P., Edappadikkunnummal, S., Eguavoen, K.N., Thomas, S., Karak, S., 2024, Refining iron pyrite nanomaterials: advancing optical applications with DMII Treatment and Co-alloying, *ACS Applied Nano Materials*, 7 (16), 19153-62.
- Soni, A.K., Joshi, R., Ningthoujam, R.S., 2021, Hot injection method for nanoparticle synthesis: basic concepts, examples and applications, *Handbook on Synthesis Strategies for Advanced Materials: Volume-I: Techniques and Fundamentals* 383-434.
- Soysal, F., Çıplak, Z., Getiren, B., Gökalp, C., Yıldız, N., 2022, Fabrication of polypyrrole enveloped reduced graphene oxide/iron oxide and determination of its photothermal properties, *Materials Research Bulletin*, 150 111792.
- SS dos Santos, P., MMM de Almeida, J., Pastoriza-Santos, I., CC Coelho, L., 2021, Advances in plasmonic sensing at the NIR—A review, *Sensors*, 21 (6), 2111.
- Tang, Y., Qin, Z., Yin, S., Sun, H., 2021, Transition metal oxide and chalcogenide-based nanomaterials for antibacterial activities: an overview, *Nanoscale*, 13 (13), 6373-88.
- Tang, Z., Ma, D., Chen, Q., Wang, Y., Sun, M., Lian, Q., Shang, J., Wong, P.K., He, C., Xia, D., 2022, Nanomaterial-enabled photothermal-based solar water disinfection processes: Fundamentals, recent advances, and mechanisms, *Journal of Hazardous Materials*, 437 129373.
- Tee, S.Y., Win, K.Y., Goh, S.S., Teng, C.P., Tang, K.Y., Regulacio, M.D., Li, Z., Ye, E., 2022, Introduction to photothermal nanomaterials.
- Terna, A.D., Elemike, E.E., Mbonu, J.I., Osafire, O.E., Ezeani, R.O., 2021, The future of semiconductors nanoparticles: Synthesis, properties and applications, *Materials Science and Engineering: B*, 272 115363.
- Trinh, T.K., Pham, V.T.H., Truong, N.T.N., Kim, C.D., Park, C., 2017, Iron pyrite: Phase and shape control by facile hot injection method, *Journal of Crystal Growth*, 461 53-9.

- Velásquez-Hernández, M.d.J., Ricco, R., Carraro, F., Limpoco, F.T., Linares-Moreau, M., Leitner, E., Wiltsche, H., Rattenberger, J., Schröttner, H., Frühwirth, P.J.C., 2019, Degradation of ZIF-8 in phosphate buffered saline media, 21 (31), 4538-44.
- Wang, B., Xu, Y., Shao, D., Li, L., Ma, Y., Li, Y., Zhu, J., Shi, X., Li, W., 2022, Inorganic nanomaterials for intelligent photothermal antibacterial applications, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10 1047598.
- Wang, D.-Y., Li, C.-H., Li, S.-S., Kuo, T.-R., Tsai, C.-M., Chen, T.-R., Wang, Y.-C., Chen, C.-W., Chen, C.-C., 2016, Iron pyrite/titanium dioxide photoanode for extended near infrared light harvesting in a photoelectrochemical cell, *Scientific reports*, 6 (1), 20397.
- Wang, H.-Y., Hua, X.-W., Wu, F.-G., Li, B., Liu, P., Gu, N., Wang, Z., Chen, Z., 2015, Synthesis of ultrastable copper sulfide nanoclusters via trapping the reaction intermediate: potential anticancer and antibacterial applications, *ACS applied materials & interfaces*, 7 (13), 7082-92.
- Wang, K., Guo, W., Yan, S., Song, H., Shi, Y., 2018, Hierarchical Co-FeS₂/CoS₂ heterostructures as a superior bifunctional electrocatalyst, *RSC advances*, 8 (50), 28684-91.
- Wang, Q., Bowen, C.R., Valev, V.K., 2024, Plasmonic-pyroelectric materials and structures, *Advanced Functional Materials*, 34 (21), 2312245.
- Wang, S., Hu, T., Wang, G., Wang, Z., Yan, D., Liang, R., Tan, C., 2021, Ultrathin CuFe₂S₃ nanosheets derived from CuFe-layered double hydroxide as an efficient nanoagent for synergistic chemodynamic and NIR-II photothermal therapy, *Chemical Engineering Journal*, 419 129458.
- Wang, W.-N., Pei, P., Chu, Z.-Y., Chen, B.-J., Qian, H.-S., Zha, Z.-B., Zhou, W., Liu, T., Shao, M., Wang, H., 2020, Bi₂S₃ coated Au nanorods for enhanced photodynamic and photothermal antibacterial activities under NIR light, *Chemical Engineering Journal*, 397 125488.
- Wang, X., Zhu, L., Gu, Z., Dai, L.J.N., 2022, Carbon nanomaterials for phototherapy, 11 (22), 4955-76.
- Wang, Y., Meng, H.-M., Song, G., Li, Z., Zhang, X.-B., 2020, Conjugated-polymer-based nanomaterials for photothermal therapy, *ACS Applied Polymer Materials*, 2 (10), 4258-72.
- Wang, Y., Yang, Y., Shi, Y., Song, H., Yu, C., 2020, Antibiotic-free antibacterial strategies enabled by nanomaterials: progress and perspectives, *Advanced Materials*, 32 (18), 1904106.
- Wei, G., Yang, G., Wang, Y., Jiang, H., Fu, Y., Yue, G., Ju, R.J.T., 2020, Phototherapy-based combination strategies for bacterial infection treatment, 10 (26), 12241.
- Wen, S., Wu, T., Long, H., Ke, L., Deng, S., Huang, L., Zhang, J., Tan, S., 2021,

- Mechanism insight into rapid photodriven sterilization based on silver bismuth sulfide quantum dots, *ACS applied materials & interfaces*, 13 (18), 21979-93.
- Wu, F., Zhang, Q., Zhang, M., Sun, B., She, Z., Ge, M., Lu, T., Chu, X., Wang, Y., Wang, J., 2020, Hollow porous carbon coated FeS₂-based nanocatalysts for multimodal imaging-guided photothermal, starvation, and triple-enhanced chemodynamic therapy of cancer, *ACS applied materials & interfaces*, 12 (9), 10142-55.
- Wu, Q., Tan, L., Liu, X., Li, Z., Zhang, Y., Zheng, Y., Liang, Y., Cui, Z., Zhu, S., Wu, S., 2021, The enhanced near-infrared photocatalytic and photothermal effects of MXene-based heterojunction for rapid bacteria-killing, *Applied Catalysis B: Environmental*, 297 120500.
- Xi, J., An, L., Huang, Y., Jiang, J., Wang, Y., Wei, G., Xu, Z., Fan, L., Gao, L., 2021, Ultrasmall FeS₂ nanoparticles-decorated carbon spheres with laser-mediated ferrous ion release for antibacterial therapy, *Small*, 17 (13), 2005473.
- Xian, H., Zhu, J., Liang, X., He, H., 2016, Morphology controllable syntheses of micro- and nano-iron pyrite mono- and poly-crystals: a review, *RSC advances*, 6 (38), 31988-99.
- Xiao, S., Lu, Y., Feng, M., Dong, M., Cao, Z., Zhang, X., Chen, Y., Liu, J., 2020, Multifunctional FeS₂ theranostic nanoparticles for photothermal-enhanced chemodynamic/photodynamic cancer therapy and photoacoustic imaging, *Chemical Engineering Journal*, 396 125294.
- Xiaomei, D., Yu, Z., Yunjian, Y., Xuele, C., Xiaosong, W., Xinge, Z., Chaoxing, L., 2017, Single Continuous Near-Infrared Laser-Triggered Photodynamic and Photothermal Ablation of Antibiotic-Resistant Bacteria Using Effective Targeted Copper Sulfide Nanoclusters.
- Xie, Y., Qian, Y., Li, Z., Liang, Z., Liu, W., Yang, D., Qiu, X., 2021, Near-infrared-activated efficient bacteria-killing by lignin-based copper sulfide nanocomposites with an enhanced photothermal effect and peroxidase-like activity, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9 (18), 6479-88.
- Xiong, Y., Sun, F., Liu, P., Yang, Z., Cao, J., Liu, H., Liu, P., Hu, J., Xu, Z., Yang, S., 2019, A biomimetic one-pot synthesis of versatile Bi₂S₃/FeS₂ theranostic nanohybrids for tumor-targeted photothermal therapy guided by CT/MR dual-modal imaging, *Chemical Engineering Journal*, 378 122172.
- Xu, D., Li, Z., Li, L., Wang, J.J.A.F.M., 2020, Insights into the photothermal conversion of 2D MXene nanomaterials: synthesis, mechanism, and applications, 30 (47), 2000712.
- Xu, J.-W., Yao, K., Xu, Z.-K., 2019, Nanomaterials with a photothermal effect for antibacterial activities: an overview, *Nanoscale*, 11 (18), 8680-91.
- Xu, W., Liu, H., Zhou, D., Chen, X., Ding, N., Song, H., Ågren, H., 2020, Localized surface plasmon resonances in self-doped copper chalcogenide binary nanocrystals

- and their emerging applications, *Nano Today*, 33 100892.
- Yang, Z., Sun, Z., Ren, Y., Chen, X., Zhang, W., Zhu, X., Mao, Z., Shen, J., Nie, S., 2019, Advances in nanomaterials for use in photothermal and photodynamic therapeutics, *Molecular medicine reports*, 20 (1), 5-15.
- Ye, L., Cao, Z., Liu, X., Cui, Z., Li, Z., Liang, Y., Zhu, S., Wu, S.J.J.o.A., Compounds, 2022, Noble metal-based nanomaterials as antibacterial agents, 904 164091.
- Yin, Q., Zhang, J., Tao, Y., Kong, F., Li, P.J.C., 2022, The emerging development of solar evaporators in materials and structures, 289 133210.
- Yin, W., Yu, J., Lv, F., Yan, L., Zheng, L.R., Gu, Z., Zhao, Y., 2016, Functionalized nano-MoS₂ with peroxidase catalytic and near-infrared photothermal activities for safe and synergetic wound antibacterial applications, *ACS nano*, 10 (12), 11000-11.
- Yu, S., Xia, G., Yang, N., Yuan, L., Li, J., Wang, Q., Li, D., Ding, L., Fan, Z., Li, J., 2024, Noble metal nanoparticle-based photothermal therapy: Development and application in effective cancer therapy, *International Journal of Molecular Sciences*, 25 (11), 5632.
- Yuan, Y., Wang, L., Gao, L., 2020, Nano-sized iron sulfide: Structure, synthesis, properties, and biomedical applications, *Frontiers in Chemistry*, 8 818.
- Žalneravičius, R., Klimas, V., Paškevičius, A., Grincienė, G., Karpicz, R., Jagminas, A., Ramanavičius, A.J.J.o.C., Science, I., 2021, Highly efficient antimicrobial agents based on sulfur-enriched, hydrophilic molybdenum disulfide nano/microparticles and coatings functionalized with palladium nanoparticles, 591 115-28.
- Zhang, G., Han, X., Bian, W., Zhan, J., Ma, X., 2016, Facile synthesis and high formaldehyde-sensing performance of NiO–SnO₂ hybrid nanospheres, *RSC advances*, 6 (5), 3919-26.
- Zhang, X., Zhang, C., Yang, Y., Huang, X., Hang, R., Yao, X., 2019, Light-assisted rapid sterilization by a hydrogel incorporated with Ag₃PO₄/MoS₂ composites for efficient wound disinfection, *Chemical Engineering Journal*, 374 596-604.
- Zhang, Z., Wen, J., Zhang, J., Guo, D., Zhang, Q., 2023, Vacancy-modulated of CuS for highly antibacterial efficiency via photothermal/photodynamic synergetic therapy, *Advanced healthcare materials*, 12 (1), 2201746.
- Zhao, R., Zhou, Y., Dong, Y., Dong, S., Zhang, F., Zhou, J., He, F., Gai, S., Yang, P., 2021, Ball-milling fabrication of BiAgOS nanoparticles for 808 nm light mediated photodynamic/photothermal treatment, *Chemical Engineering Journal*, 411 128568.
- Zhao, X., Liu, J., Fan, J., Chao, H., Peng, X., 2021, Recent progress in photosensitizers for overcoming the challenges of photodynamic therapy: from molecular design to application, *Chemical Society Reviews*, 50 (6), 4185-219.

- Zhao, Y., Dunn, A., Lin, J., Shi, D., 2019. Photothermal effect of nanomaterials for efficient energy applications. In: Novel nanomaterials for biomedical, environmental and energy applications. Eds: Elsevier, p. 415-34.
- Zhu, L., 2023, The applications of nanomaterials in phototherapy against cancer, *Highlights in Science, Engineering and Technology*, 45 122-8.
- Zhu, L., Richardson, B.J., Yu, Q., 2014, Controlled colloidal synthesis of iron pyrite FeS₂ nanorods and quasi-cubic nanocrystal agglomerates, *Nanoscale*, 6 (2), 1029-37.

