



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE *LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS*
ACS5 PROBİYOTİK BAKTERİSİ, PREBİYOTİĞİ, POSTBİYOTİĞİ İLE
SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN
ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hilal ERDEN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

AKSARAY, 2024

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 212330404 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Hilal ERDEN tarafından hazırlanan **YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE *LACTICASEİBACİLLUS RHAMNOSUS* ACS5 PROBİYOTİK BAKTERİSİ, PREBİYOTİĞİ, POSTBİYOTİĞİ İLE SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç.Dr. Tülden İNANAN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 07/06/2024

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Hilal ERDEN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince çalışma konumun seçiminde ve çalışmamın sonuçlanmasında beni yönlendiren, motive eden, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışamdaki antioksidan aktivite deneylerimi yapmamda bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Tülden İNANAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışamdaki hücre deneylerimi yapmam da bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN YEŞİLDAL'a teşekkür ederim.

Çalışmamda yapılan FT-IR analizlerini yorumlamamda bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Lalehan AKYÜZ'e teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yapmama olanak sağlayan Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne (ASÜBTAM) ve yöneticilerine teşekkür ederim.

Çalışmamın gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen, gerçek arkadaşlığın, dostluğun ne demek olduğunu bana hissettiren, bu zorlu süreçte motive olmamda ve ilerlemem de büyük payı olan arkadaşlarım Yaren DOĞRUL, Merve İlayda DOĞAN'a, motivasyon konuşmalarıyla ve pes etmeyen güçlü tavırlarıyla bize örnek olan arkadaşım Mehtap SANCAR KAYABAŞI'na teşekkür ederim

Maddi ve manevi her zaman yanımda olan, desteklerini benden esirgemeyen, benimle gülüp benimle ağlayan, bütün eğitim hayatım boyunca daima arkamda olan, kendimi geliştirmemde ve bugünlere ulaşmamda emeği olan canım annem Sare ERDEN'e, biricik kız kardeşim İrem ÇETİN'e, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Hilal ERDEN
AKSARAY, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Probiyotik	4
2.2 Prebiyotik	6
2.3 Postbiyotik	9
2.4 Ekzopolisakkaritler	11
2.5 Biyofilm	14
2.5.1 Yara patojenleri	16
2.6 Nanoteknoloji	17
2.7 Nanopartikül	19
2.7.1 Yukarıdan aşağıya yaklaşım ("Top-Down")	21
2.7.2 Aşağıdan yukarı yaklaşım ("Bottom-Up")	21
2.7.3 Kimyasal sentez	22
2.7.4 Yeşil sentez	23
2.8 Gümüş Nanopartiküller	25
2.8.1 Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etki mekanizması	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1 Materyal	29
3.1.1 Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri	29
3.1.2 Bakterilerin gelişme ortamları	30
3.1.3 Çalışmalarda kullanılan besiyerleri	30
3.2. Yöntem	32
3.2.1 Nanopartiküllerin sentezi	32
3.2.1.1 Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentezi	32
3.2.1.2 <i>L. rhamnosus</i> ACS5 canlı bakteri biyokütlesi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) sentezi	33
3.2.1.3 Bakteri kültür süpernatantı (postbiyotik aracılı) ile gümüş nanopartiküllerin (POST-AgNP) sentezi	36
3.2.1.4 Kimyasal sentez ile gümüş nanopartiküllerin (KİM-AgNP) sentezlenmesi	37
3.2.2 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonu	38
3.2.2.1 UV Görünür Alan (UV-Vis) spektroskopi analizi	38
3.2.2.2 Nanopartiküllerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) analizi	38
3.2.2.3 Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve enerji dağılım X-RAY spektroskopisi (EDS) analizi	39
3.2.2.4 Zeta potansiyel ve zeta boyut analizi	39

3.2.2.5 X-Işını difraksiyon (XRD) analizi	39
3.2.3 Nanopartiküllerin biyolojik aktivitesinin belirlenmesi	41
3.2.3.1 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	41
3.2.3.2 Nanopartiküllerin planktonik bakteri hücreleri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenmesi	42
3.2.3.3 Antibiyofilm aktivite analizi	43
3.2.3.4 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi	45
3.2.4 Gümüş nanopartiküllerin sitotoksik etkisinin belirlenmesi	45
3.2.5 İstatiksel değerlendirme	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	48
4.1 Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu	48
4.1.1 Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı sentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentezi ve karakterizasyonu	48
4.1.1.1 PRE-AgNP'lerin sentezi ve UV-vis analizi	48
4.1.1.2 PRE-AgNP'lerin FTIR analizi	49
4.1.1.3 PRE-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri	51
4.1.1.4 PRE-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri	53
4.1.1.5 PRE-AgNP'lerin XRD analizi	54
4.1.2 <i>L. rhamnosus</i> ACS5 canlı bakteri biyokütlesi kullanılarak gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) sentez ve karakterizasyonu	55
4.1.2.1 PRO-AgNP'lerin sentezi ve UV-VIS analizi	55
4.1.2.2 PRO-AgNP'lerin FTIR analizi	56
4.1.2.3 PRO-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri	57
4.1.2.4 PRO-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri	60
4.1.2.5 PRO-AgNP'lerin XRD analizi	61
4.1.3 Postbiyotik aracılı sentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (POST-AgNP) sentez ve karakterizasyonu	62
4.1.3.1 POST-AgNP'lerin sentezi ve UV-VIS analizi	62
4.1.3.1 POST-AgNP'lerin FTIR analizi	63
4.1.3.3 POST-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri	64
4.1.3.4 POST-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri	66
4.1.3.5 POST-AgNP'lerin XRD analizi	67
4.1.4 Kimyasal sentez ile üretilen gümüş nanopartiküllerinin (KİM- AgNP) sentez ve karakterizasyonu	68
4.1.4.1 KİM-AgNP'lerin sentezi ve UV-VIS analizi	68
4.1.4.2 KİM-AgNP'lerin FT-IR analizi	69
4.1.4.3 KİM-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri	70
4.2 Nanopartiküllerin Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi	72
4.2.1 Bakteri kültürü ile gümüş nanopartiküllerin sentezi için maksimum tolere edilebilen konsantrasyonun belirlenmesi	72
4.2.2 Kim-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi	74
4.2.3 Nanopartiküllerin planktonik bakteri hücreleri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenmesi	84
4.2.4 Antibiyofilm aktiviteleri belirlenecek patojenlerin biyofilm oluşturma kapasitelerinin mikropate yöntemi ile belirlenmesi	90

4.2.4.1 PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin Antibiyofilm Aktivitesi	91
4.2.5 Sentezlenen nanopartiküllerin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi	97
4.2.6 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi ...	100
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	109
KAYNAKLAR	113
ÖZGEÇMİŞ.....	138



YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE *LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS* ACS5 PROBİYOTİK BAKTERİSİ, PREBİYOTİĞİ, POSTBİYOTİĞİ İLE SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hilal ERDEN

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

ÖZET

Tez çalışmasında *Lacticaseibacillus rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile gümüş nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemiyle üretilmesi, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonlarının yapılarak antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca biyoyumlulukları belirlenmek üzere biyosentezlenen nanopartiküllere antioksidan (DPPH) ve sitotoksisite (MTT) deneyleri yapılmıştır. Yeşil sentez yöntemi ile prebiyotik (PRE-AgNP), probiyotik (PRO-AgNP), postbiyotik (POST-AgNP) nanopartikülleri sentezlenmiş ve ayrıca karşılaştırma amacıyla kimyasal yöntemle gümüş nanopartiküller (KİM-AgNP) sentezlenerek UV, FTIR, XRD, SEM, Zetapotansiyel ve zeta boyut analizleri ile karakterizasyonları yapılmıştır. Karakterize edilen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Bacillus cereus* ATCC 863 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 14053 mayası kullanılarak kuyu difüzyon metodu ile belirlenmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *S. epidermidis* ATCC 12228 (sırasıyla $8,32\pm0,11$, $6,55\pm0,44$, $6,18\pm0,23$ mm), *S. aureus* ATCC 25923 ($4,89\pm0,27$, $4,96\pm0,11$, $4,66\pm0,28$ mm) ve *E. coli* ATCC 11229'a ($3,82\pm0,99$, $5,19\pm0,07$, $4,38\pm0,96$ mm) karşı göstermiştir. *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. epidermidis* ATCC 12228 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 14053 mayasına karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antibiyofilm aktivitesini belirlemek için MİK ve MBK değerleri tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin biyofilmleri yok eden en son konsantrasyonu minimum biyofilm eradikasyon değeri olarak belirlenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin L929 fare fibroblast hücrelerine sitotoksik etkilerinin olmadığı ve hücre proliferasyonunu desteklediği, böylece biyoyumlu oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil sentez, gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal aktivite, antibiyofilm, probiyotik, prebiyotik, postbiyotik, sitotoksisite.

Temmuz, 2024; 138 sayfa

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITIES OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED WITH *LACTICASEIBACILLUS RHAMNOSUS* ACS5 PROBIOTIC BACTERIA, PREBIOTIC AND POSTBIOTIC BY GREEN SYNTHESIS METHOD

Hilal ERDEN

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

ABSTRACT

In the thesis study, it was aimed to produce silver nanoparticles with *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 bacteria, exopolysaccharide and postbiotic by green synthesis method, to characterize the synthesized silver nanoparticles and to investigate their antimicrobial and antibiofilm activities. In addition, antioxidant (DPPH) and cytotoxicity (MTT) tests were performed on the biosynthesized nanoparticles to determine their biocompatibility. Prebiotic (PRE-AgNP), probiotic (PRO-AgNP) and postbiotic (POST-AgNP) nanoparticles were synthesized by green synthesis method. Silver nanoparticles (KİM-AgNP) were also synthesized by chemical method for comparison and characterized by UV, FTIR, XRD, SEM, Zetapotential and zeta size analysis. Antimicrobial activities of the characterized silver nanoparticles were evaluated against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Bacillus cereus* ATCC 863 and *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 bacteria and *Candida albicans* ATCC 14053 yeast were designed with well diffusion method. PRE-AgNPs, PRO-AgNPs and POST-AgNPs showed the highest antimicrobial activity against *S. epidermidis* ATCC 12228 (8.32±0.11, 6.55±0.44, 6.18±0.23 mm, respectively), *S. aureus* ATCC 25923 (4.89±0.27, 4.96±0.11, 4.66±0.28 mm) and *E. coli* ATCC 11229 (3.82±0.99, 5.19±0.07, 4.38±0.96 mm). MIC and MBK values were determined to determine the antibiofilm activity of PRE-AgNP, PRO-AgNP and POST-AgNP against *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. epidermidis* ATCC 12228 bacteria and *C. albicans* ATCC 14053 yeast. The final concentration of nanoparticles that destroyed biofilms was determined as the minimum biofilm eradication value. It was determined that the synthesized silver nanoparticles had no cytotoxic effects on L929 mouse fibroblast cells and supported cell proliferation, thus being biocompatible.

Keywords: Green synthesis, silver nanoparticles, antimicrobial activity, antibiofilm, probiotic, prebiotic, postbiotic, cytotoxicity.

July, 2024; 138 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bakteriyel ekzopolisakkaritlerin sınıflandırılması (Angelin ve Kavitha, 2020' den uyarlanmıştır).	13
Şekil 2.2. Nanoyapılar için yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya sentez teknikleri (Abid vd., 2022' den uyarlanmıştır).	22
Şekil 2.3. Farklı organizmalar kullanılarak metal nanopartikül sentezi için mekanik yaklaşımın şematik gösterimi (Habibullah vd., 2021'den uyarlanmıştır).	25
Şekil 3.1. Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentez öncesinde (A) ve sentez sonrasında (B) oluşan görüntüsü.	32
Şekil 3.2. <i>L. rhamnosus</i> ACS5 bakterisinin 1 g ıslak biyokütlesinin görüntüsü.	33
Şekil 3.3. <i>L. rhamnosus</i> ACS5'in gümüş tolerans potansiyelini değerlendirmek için artan Ag ⁺ konsantrasyonlarına (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 mM) maruz bırakıldıktan sonra oluşan görüntüsü.	34
Şekil 3.4. <i>L. rhamnosus</i> ACS5 canlı bakterisi ile biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin sentez öncesi (A) ve sonrası (B) oluşan görüntüsü.	35
Şekil 3.5. <i>L. rhamnosus</i> ACS5 canlı bakterisi ile biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) yıkama sonrası yüksek (A), ve düşük (B) rpm' de santrifüj sonrası oluşan görüntüsü	35
Şekil 3.6. Gümüş nanopartiküllerin postbiyotik aracılı sentezinin (POST-AgNP) inkübasyon öncesi (A) ve sonrası (B) oluşan görüntüsü.	36
Şekil 3.7. Kimyasal yöntemle sentezlenen nanopartiküllerin tri-sodyum sitrat eklenmeden (A) ve eklendikten sonra (B) oluşan görüntüsü.	37
Şekil 4.1. PRE-AgNP'lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.	49
Şekil 4.2. L-EPS-ACS5'in FTIR spektrumu.	50
Şekil 4.3. PRE-AgNP'lerin FTIR spektrumu.	51
Şekil 4.4. PRE-AgNP'lerin (SEM) görüntüsü (50 000X).	52
Şekil 4.5. PRE-AgNP'lerin EDS kromatogramı.	52
Şekil 4.6. PRE-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.	53
Şekil 4.7. PRE-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.	54
Şekil 4.8. PRE-AgNP'lerin XRD kromatogramı.	55
Şekil 4.9. PRO-AgNP'lerin sentez sonrası UV-VIS spektrumu.	56
Şekil 4.10. PRO-AgNP'lerin FTIR spektrumu.	57
Şekil 4.11. PRO-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80 000x).	58
Şekil 4.12. PRO-AgNP'lerin SEM görüntüsü (30 000x).	59
Şekil 4.13. PRO-AgNP'lerin EDS kromatogramı.	59
Şekil 4.14. PRO-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.	61
Şekil 4.15. PRO-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.	61
Şekil 4.15. PRO-AgNP'lerin XRD kromatogramı.	62
Şekil 4.16. POST-AgNP'lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.	63
Şekil 4.17. POST-AgNP'lerin FT-IR spektrumu.	64
Şekil 4.18. POST-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80 000 x).	65
Şekil 4.19. POST-AgNP'lerin EDS kromatogramı.	65
Şekil 4.20. POST-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.	66
Şekil 4.21. POST-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.	67
Şekil 4.22. POST-AgNP'lerin XRD kromatogramı.	68
Şekil 4.23. KİM-AgNP'lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.	69

Şekil 4.24. KİM-AgNP'lerin FTIR spektrumu.	70
Şekil 4.25. KİM-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80 000x).....	71
Şekil 4.26. KİM-AgNP'lerin EDS kromatogramı.	71
Şekil 4.27. <i>L. rhamnosus</i> ACS5 bakterisinin gümüş iyonlarına karşı MTK değerinin belirlenmesi sonucu oluşan görüntüsü.	73
Şekil 4.28. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite sonuçları..	78
Şekil 4.29. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>P. aeruginosa</i> ATTC 27853 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	79
Şekil 4.30. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>S. enteritidis</i> ATTC 13076 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	80
Şekil 4.31. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>E. coli</i> ATTC 35218 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	80
Şekil 4.32. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>S. epidermidis</i> ATTC 12228 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	81
Şekil 4.33. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>L. monocytogenes</i> ATTC 7644 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	81
Şekil 4.34. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>B. cereus</i> RSKK 863 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	82
Şekil 4.35. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>S. aureus</i> ATCC 25923 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	82
Şekil 4.36. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>E. coli</i> ATCC 11229 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	83
Şekil 4.37. Sentezlenen nanopartiküllerin <i>E. coli</i> ATCC 11229 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.	83
Şekil 4.38. <i>C. albicans</i> ATCC 14053 mayasına karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü.	87
Şekil 4.39. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 bakterisine karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü.	88
Şekil 4.40. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 bakterisine karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü. .	89
Şekil 4.41. <i>S. epidermidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> ve <i>E. faecalis</i> mikroorganizmalarının (A) mikroplatede biyofilm oluşumları, (B) biyofilm yapma kapasitelerini gösteren görsel.....	91
Şekil 4.42. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228, <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 ve <i>C. albicans</i> ATCC 14053 mikroorganizmalarının mikroplatede biyofim oluşumlarını ve MİK-MBK değerlerini gösteren görsel.	94
Şekil 4.43. Mikroplatede biyofilm oluşumu (A), PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin biyofilmlere uygulandıktan sonra oluşan görüntüsü (B).....	95
Şekil 4.44. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228, <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 ve <i>C. albicans</i> ATCC 14053 mikroorganizmalarının minimum biyofilm eradikasyon değerlerini gösteren görsel.	96
Şekil 4.45. PRE-NP'lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.....	99
Şekil 4.46. PRO-NP'lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.	99
Şekil 4.47. POST-AgNP'lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.	100
Şekil 4.48. L929 sağlıklı fare fibroblast hücreleri üzerinde PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin sitotoksik etkisinin belirlendiği görüntüler.	104
Şekil 4.49. L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinin mikroskopik görüntüsü.	105

Şekil 4.50. L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinde MTT inkübasyonu sonucu formazan kristalinin oluşumu.....	105
Şekil 4.51. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerinin L929 hücrelerine karşı 24. saatteki MTT analiz sonuçları.	106
Şekil 4.52. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerinin L929 hücrelerine karşı 48. saatteki MTT analiz sonuçları.	107
Şekil 4.53. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerinin L929 hücrelerine karşı 72. saatteki MTT analiz sonuçları.	108



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan bakteriler ve suş kodları.....	29
Çizelge 3.2. Yeast Extract Pepton Dextrose (YEPD).	31
Çizelge 3.3. Biyofilm aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan formüller (Stepanović vd., 2007).	44
Çizelge 4.1. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite sonuçları (zon çapı, mm).	77
Çizelge 4.2. <i>L. rhamnosus</i> ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve kültür süpernatantı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin MİK ve MBK değerleri (µg/ml).	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DP	Polimerizasyon derecesi
EPS	Ekzopolisakkarit
g	Gram
GRAS	Genel Olarak Güvenli
HeP'ler	Heteropolisakkaritler
HoP'ler	Homopolisakkaritler
İBS	İrritabl Bağırsak Sendromu
keV	Kilo Elektron Volt
kob	Koloni Oluşturan Birim
KİM-NP	Kimyasal nanopartikül
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterileri
L-EPS	Liyofilize EPS
log	Logaritma
mL	Mililitre
mV	Milivolt
MRS	Man Rogosa ve Sharpe
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
NB	Nutrient Broth
nm	Nanometre
OD	Optik Dansite
pH	Asitlik Bazlık Birimi
PRE-AgNP	Prebiyotik nanopartikül
PRO-AgNP	Probiyotik nanopartikül
POST-AgNP	Postbiyotik nanopartikül
rpm	Dakikada Devir Sayısı
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
SF	Serum fizyolojik
sp	Species (türleri)
TSB	Tryptic Soy Broth
YEPD	Yeast Extract Pepton Dextrose
%	Yüzde
°C	Derece santigrat
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

1. GİRİŞ

İlaç direnci son yıllarda gelişmiş ve gelişmekte olan tüm ülkelerde ciddi bir sorun haline gelmektedir. Bu sorun bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanarak yeni mekanizmalar geliştirmesi gibi konuları gündeme getirmektedir. Bakteriler antibiyotiklerin etkisini azaltarak veya tamamen ortadan kaldırarak enfeksiyonları kontrol etme ve tedavi etme yeteneğini sınırlamaktadır. Antibiyotik direnci, çeşitli faktörlerin etkileşimi sonucunda gelişmektedir. Bunlar arasında aşırı ve yanlış kullanım, veterinerlik/tarım gibi alanlarda yaygın kullanım, antibiyotiklerin doğal ortamda bulunması, bakterilerin genetik mutasyonlar ve plazmitler aracılığıyla direnç genlerini aktarmaları yer almaktadır. Tüm bu etkiler hastalıklarda tedaviyi zorlaştırmakta ve maliyeti arttırmaktadır. Bu nedenle, antibiyotik direnci küresel bir sağlık sorunudur ve doğru kullanımı teşvik etmek, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesini sağlamak ve enfeksiyon kontrolü stratejilerini geliştirmek gibi çözümler üzerinde çalışılmaktadır.

Son yıllarda gümüş nanopartiküller antibiyotiklere alternatif antibakteriyel ajanlar olarak ortaya çıkmıştır (Bruna vd., 2021; Fatima vd., 2021; Kaiser vd., 2023). Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel özellikleri nedeniyle antibiyotik direnci ile mücadelede potansiyel bir çözüm olabileceği düşünülmektedir.

Gümüş nanopartiküllerin bakterilerin sentezlediği hücre dışı metabolitler ve biyoaktif bileşenlerle sentezlenmesi nanopartikülleri patojenlere karşı daha etkili hale getirmektedir. Çeşitli yöntem ve içerikle sentezlenen nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri son zamanlarda detaylı bir şekilde incelenmiş olsa da bu nanopartiküllerin insan sağlığına etkileri ve patojen bakteriler üzerindeki etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler henüz sınırlı kalmıştır. Bu nedenle *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması ve oluşan mekanizmaların değerlendirilmesi tez çalışmasının amacını oluşturmaktadır.

Nanopartiküllerin sentezinde kimyasal ve fiziksel yöntemler toksik özelliklerin artması veya yan etkilerin oluşması sebebiyle sağlık alanında kullanımı sınırlandırmaktadır. Bu nedenle toksik kimyasalların yerine alternatif yeşil sentez yöntemlerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu tez çalışmasında *Lactocaseibacillus*

rhamnosus ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemleriyle üretilmesi, antimikrobiyal ve antibiyofil aktivitelerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışması kapsamında *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 bakterisi (PRO-AgNP), ekzopolisakkariti (PRE-AgNP) ve postbiyotiği (POST-AgNP) ile gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi gerçekleştirilerek;

- ✓ Nanopartikül sentezinde toksik kimyasalların azaltılması antimikrobiyal ya da biyolojik ajan olarak kullanılabilmesi için önemli görülmektedir. Gümüş nanopartiküllerin sentezinde kullanılan geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemler bulunmakla birlikte tercih edilen yöntemde kullanılan kimyasal konsantrasyonu, süre ve enerjiye bağlı olarak elde edilen aktivite ve yan etkiler değişiklik göstermektedir. Minimum toksisite ve kısa zamanda yüksek antimikrobiyal etkinin sağlanması için yeşil sentez yöntemlerinin kullanılması,
- ✓ Sentezlenen nanopartiküllerin yapısal ve morfolojik özelliklerinin Ultraviyole Görünür Alan (UV-Vis) spektroskopisi, Fourier Dönüşümü Kızılötesi spektroskopik (FT-IR) analizi, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ve Enerji Dağılım X-RAY Spektroskopisi (EDS), zeta potansiyel ve zeta boyut analizi ve X-Işını Difraksiyon (XRD) analizi ile karakterize edilmesi,
- ✓ Yeşil sentez yöntemlerinin fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerine kıyasla antibiyotiklere alternatif antimikrobiyal ajan olarak kullanılması önem arz etmektedir. Gıda ve klinik patojenlere karşı gümüş yeşil sentezle sentezlenen (PRE-AgNP), (PRO-AgNP) ve (POST-AgNP) nanopartikülleri ile karşılaştırma için kimyasal sentez yöntemi kullanılan nanopartikülün (KİM-AgNP) antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi,
- ✓ Biyofilmlerle mücadele, mikroorganizmaların yok edilmesi açısından planktonik bakterilere kıyasla daha zordur. Bu nedenle biyofilmlerin yok edilmesi için etkili antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Yeşil sentez metoduyla sentezlenen PRE-AgNP, PROAg-NP ve POST-AgNP gümüş nanopartiküllerin antibiyofil aktivitelerinin belirlenmesi,
- ✓ Serbest radikaller, hücre hasarına, yaşlanmaya ve kansere yol açabilen moleküllerdir. Antioksidan özellik gösteren bileşikler, serbest radikalleri nötralize ederek hücreleri korur ve sağlıklı bir hücre fonksiyonunu

desteklemektedir. Gümüş nanopartiküllerin düşük konsatrasyonlarda kullanıldığında toksik etki göstermediği ve biyoyumlu bir malzeme olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, yeşil sentez metoduyla sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin (PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP) antioksidan özellikleri; DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivite ile belirlenmesi,

- ✓ Yara uygulamalarında kullanılacak malzemelerin biyoyumlu olması ve sitotoksik bir etki yaratmaması önemlidir. Yeşil sentez metoduyla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin biyoyumluluk testlerinin L-929 fare fibroblast hücreleri üzerinde araştırılması amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Probiyotik

Probiyotikler, yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalardır (Hotel ve Cordoba, 2013). Probiyotiklerin tanımı, bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun dengesini, spesifik etkilere ve açıkça tanımlanmış suşların immünomodülatör potansiyeline bağlı olarak geliştiren canlı ve aktif bir kültürden gelmektedir. Gıda maddelerinde, özellikle fermente gıdalarda sağlık açısından faydaları olan farklı türde probiyotikler kullanılmaktadır (Isolauri vd., 2004). Yararlı özelliklere sahip potansiyel probiyotik kaynakları olan türler çoğunlukla *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* cinslerine aittir ve bu türlerin bazıları güçlü anti-inflamatuar özellikler sergilemektedir (Isolauri vd., 2004; Vera-Santander vd., 2023). Genel olarak güvenli (GRAS) statüsünde kabul edilen bu cinsler, kolonda baskın ve yararlı mikroorganizmalardır. Herhangi bir önemli yan etki yaratmadan bağırsakta amplifikasyona uygundur (Moradi vd., 2021). Probiyotiklerin insanda sağlık açısından fayda sağlayabilmesi için probiyotığın cinsine ve türüne göre sayısının (10^6 - 10^8 cfu/g) belirli bir miktarın üzerinde olması gerekmektedir (Minelli ve Benini, 2008).

Tüketiciler beslenmenin sağlık üzerindeki etkisinin giderek daha fazla farkına varmakta ve bu bağlamda probiyotik sektörü, piyasadaki fonksiyonel gıdaların en hızlı büyüyen sektörlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bunun nedeni, probiyotikli gıdaların uzun raf ömrü (asitlenme ve pH'nın düşürülmesi nedeniyle), organoleptik özelliklerin iyileştirilmesi (doku, tat ve aroma üretimi), artan besin değeri gibi arzu edilen belirli özellikleri içermeleri ve tüketiciye sağlık açısından fayda sağlamalarıdır (Vera-Santander vd., 2023). Probiyotikler etkilerini genellikle gastrointestinal sistemde, bağırsakta kolonize olarak ve bağırsak mikrobiyotasını etkileyerek göstermektedir. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen organik asitler (laktik, asetik ve propiyonik asitler) gibi çeşitli bileşikler, büyüme ortamının pH'ını düşürerek patojenlerin büyümesini engellemekte, faydalı bakterilerin üremesini teşvik ederek doğal bağışıklık tepkisini uyarmakta ve savunma mekanizmasının güçlenmesini sağlamaktadır (Vivek vd., 2023).

Probiyotiklerin mide ortamındaki düşük pH'lara tolerans gösteren ve bağırsağa canlı olarak ulaşabilen suşlarından probiyotik takviyesi seçmek önemlidir. Probiyotik kültürlerinin bağırsağa salınmadan önce mideden geçerken korunması için probiyotiklerin enterik kaplı kapsüller halinde alınması gerektiği önerilmektedir (Rajam ve Subramanian, 2022).

Mahmoud vd. (2020) *Lactobacillus plantarum*'un kapsüllemesi için aljinat bazlı kapsülleyici ajanlar oluşturmak için farklı kombinasyonlar halinde skim milk, dekstrin, denatüre peynir altı suyu proteini ve kitosan kullanılmıştır. *L. plantarum*'un hayatta kalma yeteneği, farklı ısı işlemlere maruz bırakıldıktan sonra, depolama sırasında ve simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında ekzopolisakkarit gibi farklı biyoaktif bileşiklerin üretimi ve bakterinin canlılığı açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar, depolama için soğutma/dondurma koşulları ve simüle edilmiş bağırsak/mide koşulları altında skim milk-aljinat bazlı kapsüllemenin bakteri canlılığını 3 ay boyunca koruduğunu, kapsülleme ajanının hemen hemen tüm stres koşulları altında *L. plantarum*'un hayatta kalma kabiliyetini önerilen doz seviyesinde koruyan en umut verici kapsülleyici kombinasyon olduğunu, aynı zamanda mikrokapsülasyonun hapsedilmiş hücrelerin metabolik aktivitesini etkilemediğini ve biyoaktif bileşiklerin üretiminde önemli bir fark olmadığını da ortaya koymuştur.

Probiyotik gıdalar, bazı yaygın bağırsak enfeksiyonlarını önlemede, uzun süre kullanılan antibiyotik tedavisinden sonra kaybolan bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinde, uzun seyahat ve bozulan rutinlerden kaynaklanan sindirim bozukluklarını iyileştirmede özellikle ilgi çekmektedir. Süt bazlı diyetlerde laktoz sindirimine yardımcı olarak, bebeklerin egzama veya kolik vakalarında da kullanımları önerilmektedir (Dıma vd., 2022). Klinik araştırmalardan elde edilen sonuçlarla desteklenen yararlı sağlık etkileri arasında probiyotiklerin, enfeksiyon ve antibiyotikle ilişkili ishal, kabızlık, inflamatuvar bağırsak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, laktoz intoleransı, alerji ve atopik gibi bağırsak hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde kullanımı yer almaktadır (Dahiya ve Nigam, 2022). Kronik kabızlık, dünya çapında klinik fonksiyonel gastrointestinal hastalıklar arasında yer alan, gastroenterolojinin önemli konusudur ve nüfusun %2-27' sinde sıklıkla görülebilmektedir. Hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilen, büyük bir sosyal ve ekonomik yüke neden olabilen oldukça

yaygın ve maliyetli rahatsızlık olarak görülmektedir. Kabızlık tedavisi için yaş ortalaması 39,9 ile 43,1 arasında değişen kadınların ağırlıklı olduğu hastalar ile yapılan bir çalışmada, ($3 \times 10^9/8 \times 10^9$ kob) kombinasyon halinde uygulanan probiyotik suşların (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium animalis*) 30 gün boyunca günde bir kez alındığında, fonksiyonel bağırsak kabızlığında iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (Mitelmão vd., 2022).

Probiyotiklerin tedavi yöntemi olarak kullanıldığı yaygın bağırsak hastalıklarından biri olan İrritabl Bağırsak Sendromu (İBS) hastalarda karın rahatsızlığı/ağrısı, değişen bağırsak fonksiyonu ile karakterizedir. İBS'nin nedenleri tam olarak anlaşılmamış olsa da, artan kanıtlar bağırsak mikrobiyotasının patofizyolojisinde ve semptom oluşumunda potansiyel bir rol oynadığını göstermektedir (Sánchez vd., 2017). Niu ve Xiao (2020) İBS'li hastalarda probiyotiklerin etkinliği ve güvenliğine ilişkin sistematik bir inceleme ve meta-analiz gerçekleştirmiştir. Bu araştırmacılar çalışmalarında tek tür, çoklu tür ve çoklu suş şeklinde probiyotikli fermente ürün, içecek ve kapsüller ile tedavi yöntemlerini uyguladıklarında, probiyotiklerin hem ikili bir ölçüm olarak genel semptomlarda hem de karın ağrısı, şişkinlik ve şişkinlik skorlarında iyileşme açısından İBS'ye karşı etkili olduğunu göstermişlerdir.

2.2 Prebiyotik

Yaşamın tüm aşamalarında mikrobiyal etkileşimlerin modülasyonu yoluyla insan sağlığının iyileştirilmesi; tüketiciler, gıda üreticileri ve sağlık uzmanları için önemi giderek artan bir kavramdır. Mikrobiyotayı modüle eden diyet müdahaleleri arasında birçok fermente gıda ve lif açısından zengin diyet rejimlerinin yanı sıra probiyotikler ve prebiyotikler yer almaktadır (Swanson vd., 2020). Prebiyotikler ilk kez Gibson ve Roberfroid (1995) tarafından, kolondaki bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini veya aktivitesini seçici olarak uyarak konakçının sağlığını iyileştiren, sindirilmeyen bir gıda bileşeni olarak tanımlanmıştır. Mevcut prebiyotik kavramı ise sindirim sisteminin üst kısmından sindirilmeden geçen ve kalın bağırsakta kolonileşen, sağlığı teşvik eden, bakterilerin büyümesini ve aktivitesini uyaran sindirilmeyen gıda bileşenlerini veya maddelerini ifade etmektedir. Prebiyotik kavramı 1995'ten bugüne kadar birçok kez tartışılmış ve geliştirilmiştir. Ancak bugüne kadarki tanımların çoğu, prebiyotiklerin sağlığı teşvik eden taksonomik gruplar veya faydalı metabolik

aktiviteler için 'spesifik' veya 'seçici' olması gerektiği konusunda anlaşmıştır (Bindels vd., 2015). Prebiyotikler yapısal afiniteye göre değil, gastrointestinal mikrobiyotadaki belirli yararlı bakterilerin (probiyotikler) büyümesini veya aktivitesini destekleme potansiyeline göre kategorize edilmektedir (Fei vd., 2023). Bir bileşiği prebiyotik olarak sınıflandırmak için bazı kriterler kullanılmaktadır. Bunlar:

- (i) Midenin asidik pH'sına dayanıklı olmalı.
- (ii) Memeli enzimleri tarafından hidrolize edilmemeli ve ayrıca gastrointestinal kanalda emilmemeli.
- (iii) Bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilmeli ve bağırsak bakterilerinin büyümesi veya aktivitesini seçici olarak uyaramemelidir (Gibson vd., 2010).

Tüm prebiyotikler lif olmasına rağmen, tüm lifler prebiyotik olarak değerlendirilmemektedir. Lifi karbonhidrat türevi gıdaları prebiyotiklerden ayırmak için gerekli tanım Codex Alimentarius Komisyonu tarafından Kasım 2008'de Beslenme ve Özel Diyet Kullanımlarına Yönelik Gıdalar (CCNFSDU) Kodeks Komitesi'nin onaylanması yönündeki tavsiyesine dayanarak Haziran 2009'da kabul edilmiştir. Tanımda, insanların ince bağırsağında endojen enzimler tarafından hidrolize edilmeyen üç karbonhidrat polimeri kategorisi listelenmiştir. Ancak tanım, polimerizasyon derecesi (DP) 3 ila 9 aralığında olan karbonhidratların dahil edilmesini ulusal otoritelerin takdirine bırakarak, 'sağlığa faydası olan fizyolojik etki(ler)i' tanımlanmamış olarak yapılmıştır (Howlett vd., 2010).

Prebiyotikler, kolondaki probiyotik mikroorganizmaların aktivitesini uyarak konakçı sağlığına fayda sağlayan, sindirilmeyen diyet lifleridir. Laktuloz, galakto-oligosakkaritler, frukto-oligosakkaritler, ksilo-oligosakkaritler, malto-oligosakkaritler, inülin ve hidrolizatları iki ila on şeker biriminden oluşan yaygın olarak kullanılan bazı prebiyotiklerdir. Bu prebiyotiklerin son ürünleri olan asetat, bütirat ve propiyonat, konakçı organizmalar için enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (LeBlanc vd., 2017). Doğal prebiyotik kaynakları olarak hindiba, soğan, sarımsak, kuşkonmaz, enginar, muz, domates gibi bitki kaynaklarından bunlar az miktarda elde edilebilmektedir. Rafine şeker moleküllerinin yanı sıra, peynir altı suyu, buğday ve pirinç samanı, şeker kamışı küspesi gibi tarımsal, endüstriyel atıklar

kullanılarak da prebiyotikler sentezlenebilir ve bu da üretim sürecini daha ekonomik hale getirmektedir (Panesar vd., 2014).

İnsanda genel olarak mikrobiyotanın kompozisyonunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar, konağın fizyolojik koşullarındaki (örneğin, yaş, stres ve sağlık durumu) ve çevresel koşullardaki (örneğin, diyet ve antibiyotik tedavisi) değişiklikleri içermektedir. Bazı hastalıklara, hastalığa neden olan tek bir mikroorganizmanın varlığından ziyade, mikrobiyotayı oluşturan mikroorganizmalar arasındaki dengesizlik (disbiyoz) neden olabilmektedir. Mikrobiyal disbiyoz ile ilişkili hastalıkların örnekleri arasında otoimmün ve alerjik hastalıklar, obezite, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) ve diyabet yer alır (Clemente vd., 2012). Bazı bağırsak mikroorganizmalarının sağlığı teşvik eden özelliklerinin tanınması, faydalı mikrobiyota bileşimi ve metabolizması için en uygun ortamı sağlamak amacıyla diyetle dayalı müdahaleleri teşvik etmiştir (De Jesus Raposo vd., 2016). Gastrointestinal sistemin düzenlenmesini sağlamak, bağırsak mikrobiyotasını modüle etmek ve genel sindirim sağlığını teşvik etmek için bakteriyel ekzopolisakkaritler doğal, faydalı ve umut verici bir yol oluşturmaktadır (Abarquero vd., 2023).

Xu vd. (2022) *Lactobacillus helveticus* LZ-R-5- ve *Lactobacillus pentosus* LZ-R-17 kaynaklı ekzopolisakkaritlerin (LHEPS ve LPEPS) *in vitro* sindirim ve fermantasyon davranışlarını araştırmıştır. Sonuçlar, LHEPS'in simüle edilmiş tükürük ve gastrointestinal sindirime dirençli olduğunu, insan bağırsak mikrobiyotası tarafından tüketilebilir ve kültürlerde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un çoğalmasını teşvik ettiğini, yüksek seçicilik indeksi değerleri sergiledikleri için α -glukan ve β -glukana kıyasla daha güçlü bifidojenik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, LPEPS'in 48 saatlik fermantasyon sırasında LHEPS'e kıyasla daha yüksek laktik asit ve asetik asit içeriğine ulaşmış olduğunu ve böylece daha yüksek miktarda toplam SCFA elde ettiğini göstermişlerdir. *L. helveticus* LZ-R-5 ve *L. pentosus* LZ-R-17'den elde edilen EPS fraksiyonlarının potansiyel prebiyotik özelliğini ve insan bağırsak sağlığını faydalı bir şekilde iyileştirmek için yeni fonksiyonel gıda prebiyotikleri olarak geliştirilebileceğini bildirmişlerdir.

Gao vd. (2022) *Bacillus thuringiensis*'ten izole edilen hücre dışı polisakarit BPS-1 ekzopolisakaritinin prebiyotik potansiyelini ve *in vitro* değerlendirilmesini araştırmıştır. BPS-1'in sitotoksitesini İnsan kolon kanseri hücre dizisi (LoVo) ve

insan normal kolonik epitel hücre dizisi (HcoEpiC) hücre hatlarına karşı değerlendirmişler. BPS-1 ayrıca *in vitro* fermantasyon modelinde insan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki potansiyel etkileri açısından da incelemişlerdir. Sağlıklı insan dışkı bakterilerinin 48 saatlik anaerobik fermantasyonu sırasında BPS-1, kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini önemli ölçüde arttırdığını ve faydalı bakteri türlerinin göreceli bolluğunu arttırdığını bildirmişlerdir. *Bacillus thuringiensis* tarafından üretilen BPS-1'in prebiyotik potansiyelinin olduğunu ve gıda endüstrisindeki uygulaması için bir temel oluşturacağını göstermişlerdir.

2.3 Postbiyotik

Hücre canlılığının, probiyotiğin sağlığa fayda sağlaması açısından önemli olduğu uzun süredir kabul edilmektedir. Ancak cansız mikroorganizmaların, bunların hücre bileşenlerinin ve metabolitlerinin sağlığı etkileyebileceği de tartışılmaktadır (Vinderola vd., 2022). Çalışmalar ışığında bakteri metabolitlerinin birçok bağırsak hastalığının tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Venegas vd., 2019). Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği (ISAPP) bu metabolitleri tanımlamak için, "cansız mikroorganizmaların veya bunların bileşenlerinin konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan preparatı" olduğunu belirten "postbiyotik" tanımı önermiştir (Salminen vd., 2021).

Postbiyotikler, fermantasyon sırasında matriste üretilen düşük moleküler ağırlıklı ve sağlığı geliştirmek için kullanılabilen fonksiyonel biyoaktif bileşikleridir. Postbiyotik terimi, mikrobiyal fermantasyon bileşenlerinin tümü için genel terim olarak kabul edilmektedir (Wegh vd., 2019). Bu nedenle postbiyotikler; metabolitler, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), mikrobiyal hücre fraksiyonları, fonksiyonel proteinler, hücre dışı polisakkaritler (EPS), hücre lizatları, teikoik asit, peptidoglikan türevli muropeptitler ve pili tipi yapılar dahil olmak üzere birçok farklı bileşeni içerebilmektedir (Nataraj vd., 2020).

Son yıllarda insan vücudunda kolonize olan kommensal bakterilerin sağlığın ve birçok patolojik durumun önemli belirleyicileri olduğu kabul edilmiştir. Biyoaktif ürünlerin sentezi, diyet bileşiklerinin metabolizması, immün uyarım yoluyla immün modülasyon dahil olmak üzere çok sayıda işleve sahiptirler. Mikrobiyota popülasyonundaki disbiyoz, çeşitli kanser türleri ve nörodejeneratif hastalıklar da

dahil olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Sharma ve Shukla, 2016). Probiyotikler, prebiyotikler ve postbiyotiklerden kaynaklanan bağırsak mikrobiyotası ve mikrobiyom-konakçı etkileşimlerini hedeflemek, çeşitli hastalıkların etkili tedavisi fırsat olmaktadır (Jastrzab vd., 2021).

Kolorektal Kanser (KRK) insanlarda en sık görülen kanserler arasında üçüncü sırada olup, hem kolon hem de rektumu (kalın bağırsak) etkileyen, dünyada kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (Siegel vd., 2019). Cousin vd. (2016) *Propionibacterium freudenreichii* ITG-P9'dan gelen metabolitlerin (propiyonat ve asetat), mitokondri üzerinde etkili olan SCFA'ların üretimi ve salınması yoluyla HT29 insan kolorektal kanser hücrelerinde intrinsik apoptosisi indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, Tümör Nekroz Faktörü ile ilgili Apoptoz İndükleyici Ligand (TRAIL) ile kombinasyon halinde SCFA'ların, pro-apoptotik gen ekspresyonunu (TRAIL-R2/DR5) arttırdığını, anti-apoptotik gen ekspresyonunu (FLIP, XIAP) azalttığını bildirmiştir.

Lactobacillus acidophilus, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus reuteri* ve *Saccharomyces boulardii*'nin hücre içermeyen süpernatantları ve bu probiyotikler tarafından üretilen metabolitlerin, insan kolon epitelyal HT-29 hücrelerinde PGE-2 ve IL-8'in ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyebildiği tespit edilmiştir. Elde edilen postbiyotiklerin, insan makrofajları tarafından IL-1 β , IL-6, TNF- α ve IL-10 üretimini farklı şekilde modüle ettiği, bunun da anti-inflamatuar aktiviteye işaret ettiği bildirilmiştir. Postbiyotiklerin doğuştan gelen veya adaptif bağışıklık sistemini uyarmada, bağırsak mukozal bariyerinin bütünlüğünü korumada ve probiyotiklerin etkileri gibi antimikrobiyal bileşiklerle patojenleri antagonize etmede rol oynadıkları için esas olarak immünomodülatör aktivitelerle de ilişkilendirmişlerdir (De Marco vd., 2018; Yeşilyurt vd., 2021).

Probiyotik bakterilerden türetilen çeşitli bileşenler ve moleküller, postbiyotiklerde işlendikten sonra da varlığını sürdürmekte ve konak sağlığına farklı şekillerde katkıda bulunmaktadır. Postbiyotiklerdeki bileşenlerin faydalı etkilerini ve mekanizmalarını keşfetmek için elde edilen bileşenler hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda santrifüjleme ve ultrafiltrasyon teknikleriyle ayrıştırılıp, saflaştırılarak uygulanmaktadır (Dinić vd., 2017; Zhong vd., 2022). Postbiyotikler, endüstriyel işlemler ve depolama sırasında uzun süre stabiliteyi koruyabilmektedir, bu da onları

probiyotiklere göre uygulama için daha uygun hale getirmektedir. Böylece işleme sırasında ürünlerdeki postbiyotik miktarının kesin olarak kontrol edilmesi mümkün olmaktadır (Zhong vd., 2022).

Postbiyotiklerin etki şekli, probiyotik bakterilerin salgıladığı metabolitlerin varlığından dolayı probiyotiklere benzetilmektedir. Ancak son zamanlarda canlı bakterilerin kullanımı mikroorganizma ile ilişkili moleküler modellerin varlığı nedeniyle hasta için bazı riskler oluşturabilmektedir. İnflamatuvar gastrointestinal hastalıkları gibi durumlarda, probiyotikler yerine bağırsak homeostazisini teşvik etmek için gıda takviyeleri olarak postbiyotikler önerilmiştir. Bu nedenle postbiyotiklerin, probiyotiklerin faydalı etkilerini taklit ederken canlı bakterilerin uygulanmasının risklerini de ortadan kaldırdığı düşünülmektedir (Mayorgas vd., 2021; Tsilingiri vd., 2012). Postbiyotiklerin gastrointestinal sistemdeki fonksiyonları için beş etki mekanizması öne sürülmektedir. Bunlar;

- (i) Yerleşik mikrobiyotanın modülasyonu,
- (ii) Epitelyal bariyer fonksiyonlarının geliştirilmesi,
- (iii) Lokal ve sistemik bağışıklık tepkilerinin modülasyonu,
- (iv) Sistemik metabolik tepkilerin modülasyonu ve
- (v) Sinir sistemi yoluyla sistemik sinyalleme olarak bildirilmiştir (Salminen vd., 2021).

2.4 Ekzopolisakkaritler

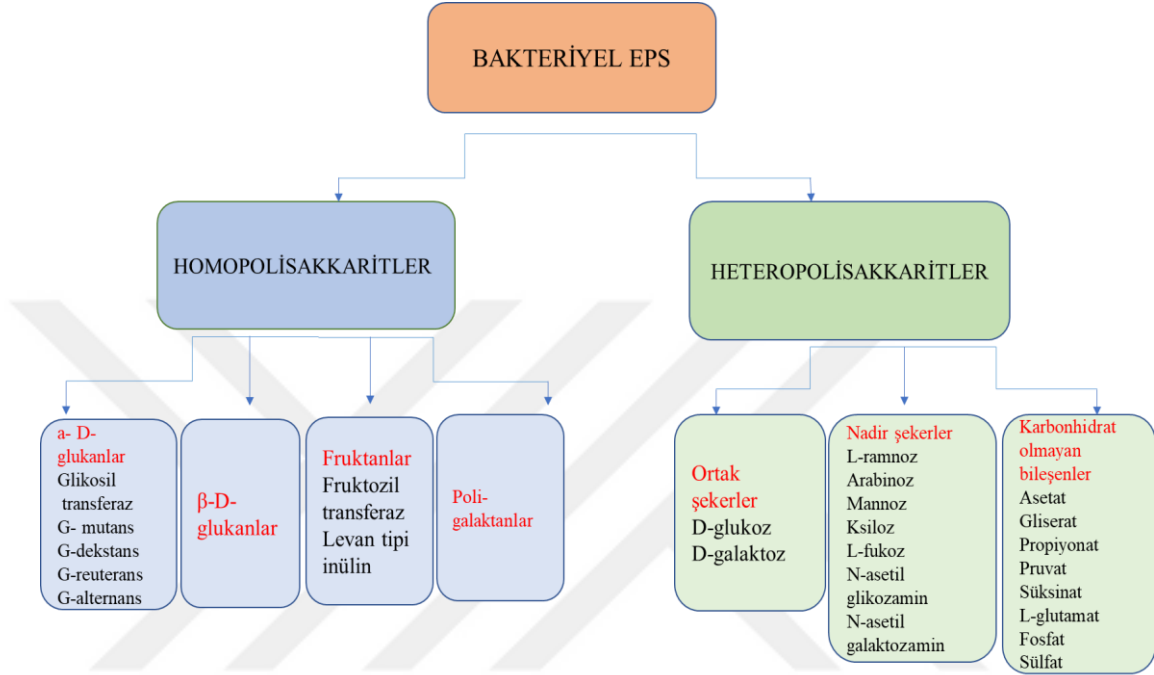
Ekzopolisakkaritler (EPS), bakteriler, mayalar, algler ve mantarlar gibi mikroorganizmaların metabolik süreçleri tarafından sentezlenen, çözünür veya çözünmeyen hücre dışı polimerik maddelerdir (Ziadi vd., 2018). Hücre yüzeyi ile gevşek bir şekilde ilişkili olan veya hücre dışı ortama salınan polisakkaritlerdir. EPS'ler, hücre dışı biyofilm matrisinin oluşumuna katkı sağlayan ana bileşenlerden biridir. Sadece bakterileri olumsuz çevresel etmenlerden korumada değil, aynı zamanda mikrobiyal hücrelerin katı yüzeylere tutunmasında da önemli bir rol oynamaktadır. Mikroorganizma tarafından dış ortama slime şeklinde salgılanır veya hücre yüzeyine bir kapsül oluşturacak şekilde (kapsüller EPS) yapışmaktadır (Oleksy ve Klewicka, 2018). Bakteri hücresinin en dış katmanında oluşur ve çevreyle doğrudan etkileşime aracılık ederek hücreyi koruyacak bir mekanizma sağlamaktadır (Daba vd.,

2021). Abiyotik veya biyotik strese, rekabete, pH'a, sıcaklığa, toksik bileşiklerin (safra tuzları, hidrolize edici enzimler, lizozim, mide ve pankreas enzimleri, metal iyonları, antibiyotikler) etkisinin hafifletilmesine, bağışıklık tepkisinin ve faj saldırısının önlenmesi gibi mikroorganizmalara yararlı özellikler sağlamaktadır (Abdalla vd., 2021). Mikrobiyal hücreyi koruyucu bu mekanizmalar göz önüne alındığında, ekzopolisakkaritler gıda ve ilaç endüstrileri için fizikokimyasal özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir. Bununla birlikte emülsifikasyon, tekstüre etme, tatlandırma, jelleştirme, su bağlama kapasitesi veya biyoaktif özellikler gibi yapısal özelliklerinden dolayı EPS'nin gıda endüstrisindeki uygulamalarına odaklanılmaktadır (Jurášková vd., 2022).

Çok çeşitli besin kaynaklarını kullanarak, farklı alanlarda kullanılan polimerlerin biyosentezini yapan, özellikle bakteri kaynaklarından elde edilen mikrobiyal polisakkaritler, araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Büyüme özellikleri ve çok çeşitli substratlardan yararlanma yetenekleri nedeniyle bitki ve hayvan kaynaklı polisakkaritlere göre daha uygun maliyetli alternatiflerdir. Endüstriyel atıklar gibi düşük maliyetli substratları kullanarak kısa sürede biyoteknolojik işlemlerle büyük miktarlarda üretilabilmektedirler. Bakteriyel ekzopolisakkaritler, olağanüstü malzeme (çekme mukavemeti, gözenek ve ağ boyutu, şişme) ve reolojik özellikleri sayesinde biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda polisakkaritlerin bir kategorisi olarak güçlü bir yer edinmiştir (Ahuja vd., 2023; Netrusov vd., 2023).

Ekzopolisakkaritler farklı türdeki bakteriler tarafından üretilen glikosidik bağlarla bağlı şekerlerden oluşan yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerdir. İlaç salınımında, ilaç salım taşıyıcısı ve doku mühendisliği ile rejeneratif tıpta yapı malzemesi, biyomateryallerin üretimi gibi alanlarda psödoplastik, viskoz ve hidrate doğası sayesinde kullanılabilir (Rehm, 2010; Schmid vd., 2015). EPS temel olarak, protein, nükleik asit, üronik ve humik asit gibi organik makromoleküllerden oluşmaktadır (Sheng vd., 2020). Bakteriyel ekzopolisakkaritler, çeşitli monosakaritler, açıl ve diğer süstitüentleri içeren karmaşık bir polimer grubudur (Sutherland., 1972). Dallanmış, tekrar eden şeker veya şeker türevlerinden oluşmaktadır. Bu şeker birimleri, değişken oranlarda başlıca glukoz, galaktoz, mannoz, N-asetil glukozamin, N-asetil galaktozamin ve ramnoz (Patel vd., 2012). D-glukoz, D-galaktoz, D-fruktoz, D-ksiloz, D-riboz ve L-arabinoz, EPS'nin yapısında bulunan yaygın şeker

gruplarıdır. Ancak farklı bakteriyel izolatlardan elde edilen EPS'lerin yapısında, L-fukoz, L-ramnoz ve üronik asit gibi EPS yapısında nadir bulunan şekerlerin de tespit edildiği bildirilmiştir (Angelin ve Kavitha, 2020). Genel olarak bakteriyel EPS'ler, homopolisakkaritler (HoP'ler) ve heteropolisakkaritler (HeP'ler) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Bakteriyel ekzopolisakkaritlerin sınıflandırılması (Angelin ve Kavitha, 2020' den uyarlanmıştır).

Homopolisakaritler (HoPS), glikoz (glukanlar), fruktoz (fruktanlar) veya galaktoz (poligalaktan) gibi bir nötr monosakarit tipi içermektedir. Laktik asit bakterileri (LAB), arasında bağlantı tipine ve bağda yer alan karbonun konumuna bağlı olarak bir alt sınıflandırma oluşturulmuştur. Heteropolisakkaritler ise (HePS), üç ila sekiz monosakarit, monosakarit türevleri veya ikame edilmiş monosakaritlerden, dallanmış veya dallanmamış tekrarlayan alt birimlerden oluşan bir omurgadan meydana gelen karmaşık polimerlerdir. HoPS'nin tersine, HePS'nin tekrarlayan birimleri hücre içinde sentezlenmekte ve hücre dışında polimerize edilmektedir (Torino vd., 2015).

Çok yönlü uygulamaları ile mikrobiyal metabolitlerin farmasötik, biyomedikal, kozmetik, gıda, tarım ve çevre bilimi alanlarında kullanımları giderek

yaygınlaşmaktadır. Polisakkarit bazlı malzemelerin son zamanlarda yeniden keşfedilmesi, yeni biyolojik aktiviteleri teşvik etmek ve/veya biyomalzemelerin nihai özelliklerini değiştirmek amacıyla kimyasal modifikasyonlara olanak sağlamaktadır (Zhou vd., 2019). Gıda ve farmasötiklerde emülgatörler, stabilizatörler, bağlayıcılar, jelleştirici maddeler, yağlayıcılar ve koyulaştırıcı maddeler olarak çok çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır (Schmid vd., 2015). Ekzopolisakkaritler biyobozunurluk, biyouyumluluk, biyoyapışkanlık, mekanik ve kimyasal direnç, şişme ve jelleşme gücü gibi sahip oldukları özelliklerle yeni polimerik malzeme kaynakları olarak ortaya çıkmış ve bu özelliklerle giderek ekonomik olarak rekabetçi hale gelmiştir. Biyo-nanoteknolojinin gelişimi ekzopolisakkaritleri ilaç keşfi ve terapötik geliştirmede giderek daha önemli bir faktör haline getirmektedir.

1980'lerin başında biyobozunur polimerlerin ortaya çıkışı bunların ilaç formülasyonlarında kullanımını hızlandırmıştır (Sung ve Kim, 2020). Anti-kanser, yara iyileşmesi, anti-aging ve UV koruyucu özellikler gösteren çeşitli polisakkaritler nanopartikül sentezi, hidrojel ve ilaç taşıyıcısı işlevlerinde yapısal biyomateryaller olarak kullanılmaktadır. LAB tarafından üretilen EPS'lerin antiviral (Kanmani vd., 2018), inflamatuvar etkinin düzenlenmesi (Kim vd., 2018), immünomodülatör (You vd., 2020), antioksidan (Rani vd., 2018), antikanser (Sheng vd., 2022), antiülser (Yang vd., 2023), anti- biyofilm (Tarannum vd., 2024) ve kolesterol düşürücü (Bhat ve Bajaj 2018) etkileri gibi çok sayıda fonksiyonel özellik ve sağlık yararıyla ilişkili olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Şimdiye kadar, farklı bakteri türlerinden ekstrakte edilen birçok EPS, jelleştirme, emülsifiye etme, stabilize etme, tekstüre etme ve ilaçların formülasyonunda güçlendirici ajan olarak kullanılmıştır (Sutherland, 2001). Ayrıca, EPS'lerin toksik olmama, biyouyumluluk ve daha kolay bozunma gibi özellikleri, çeşitli *in vivo* deneylerde EPS'lerin uygun biyomateryaller olmalarını sağlamıştır (Nwodo vd., 2012).

2.5 Biyofilm

Bakteriler hemen hemen her yüzeye tutunarak gelişebilmekte ve yapısal açıdan karmaşık topluluklar oluşturabilmektedir. Biyofilm oluşturma yeteneği bakterilerin kendilerini çevresel faktörlere karşı korumada en belirgin özelliğidir.

Biyofilmler, kendi kendine üretilen hücre dışı matris tarafından bir arada tutulan çok hücreli topluluklardır. Farklı bakterilerin biyofilm oluşturmak için kullandığı mekanizmalar genellikle çevresel koşullara ve spesifik tür özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (López vd., 2010). Biyofilmler, insanlarda enfeksiyonların %65'inde ve kronik enfeksiyonların %80'inde rol oynamaktadır (Jamal vd., 2018; Sims vd., 2020). Fiziksel ve kimyasal karmaşıklıkları ile birlikte antibiyotik direncine sebep olan kalıcı hücrelerin varlığı biyofilmlerin tedavisini zorlaştırmaktadır. Dış plağı, kronik orta kulak iltihabı, kronik sinüzit, nativ kapak endokarditi ve kistik fibrozdaki kronik hava yolu enfeksiyonları gibi biyofilmle ilişkili enfeksiyonlar, hastalara ciddi sıkıntılar ve topluma ağır mali yük getirmektedir. Ayrıca, implantlar ve cihazlar üzerinde mikrobiyal tutunma ve biyofilm oluşumu idrar yolu, perkütan, deri altı, yumuşak doku, gözler, dolaşım sistemi ve kemikler dahil olmak üzere tüm nozokomiyal enfeksiyonların %50'den fazlasına neden olmaktadır (Weinstein ve Darouiche, 2001; Neoh vd., 2012).

Bakteriyel biyofilm protein, polisakkarit ve ekstraselüler DNA'dan oluşan, ekstraselüler polimerik madde (EPS)'de yer alan birleşik bakteri topluluklarından oluşmaktadır (Flemming vd., 2016). Olgun bir biyofilm içindeki bakteriler, planktonik hücrelere göre genellikle antibiyotiklere karşı daha güçlü direnç göstermektedir. Biyofilmdeki EPS, biyofilmi dış ortamdaki antibiyotiklerden ve dezenfektanlardan korumak için fiziksel bir bariyer sağlarken, biyofilmdeki bakteri hücreleri quorum sensing mekanizmasıyla (çoğunluk algılaması) birbirleriyle verimli iletişim kurarak ilaç direnci oluşturmaktadır (Zhao vd., 2018). Uygulamada tek tek bakterilere kıyasla biyofilmleri tedavi etmek için 1000 kata kadar antibiyotik dozajının gerekli olduğu bununda çoklu antibiyotik direncine neden olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, çoklu antibiyotik direncinin neden olduğu biyofilmleri tedavi etmek için yeni ve güçlü stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Biyofilmin neden olduğu bu zorluğun üstesinden gelmek için, katyonik moleküller, suda çözünür konjuge polimerler, proteazlar, DNaz, D-amino asitler, nanopartiküller ve fotoaktif malzemeler gibi biyofilm bozulması ve ayrılması için çeşitli malzemeler geliştirilmiştir (He vd., 2021). Antimikrobiyal stratejiler, canlı biyofilmlerin oluşumunu etkili bir şekilde önlemektedir. Ancak yüzey, biyosidal etkiyi tehlikeye atabilen, daha fazla bakteri tutunması ve biyofilm gelişimi için bir koşullandırma

katmanı görevi görebilir ve yapışan ölü bakteriler tarafından kirlenmiş halde kalabilmektedir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için, kirlenmeyi önleyici yüzeyler, kirlenme direncini ve antimikrobiyal özellikleri arttıran, bakterileri öldüren, ölü hücrelerin ve kalıntıların verimli bir şekilde uzaklaşabileceği geri dönüşümlü sistemler geliştirilebilir (Yu vd., 2013).

2.5.1 Yara patojenleri

Bakteriler tüm açık yaralarda bulunur ve yaralar, konak savunması aşıldığında klinik olarak enfekte olmaktadır. Yara enfeksiyonlarının ilk belirtileri arasında artan kızarıklık, ödem, sıcaklık ve ağrı bulunmaktadır. Bir yara enfeksiyonu uygun şekilde yönetilmezse, bakteriler sistemik dolaşıma girerek hastaların bakteriyemik veya sepsisemik hale gelmesine neden olmaktadır (Ng ve Leow, 2015). Yara enfeksiyonları genellikle antibiyotik uygulamasıyla tedavi edilebilir; ancak günümüzde artan yüksek düzeyde antibiyotik direnci nedeniyle bu her zaman etkili olamamaktadır. Birçok enfeksiyonun geleneksel antimikrobiyal tedaviye dirençli olmasında mikrobiyal biyofilmlerin büyük ölçüde sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Hoiby vd., 2010). Yara enfeksiyonlarında biyofilme en çok bulunan patojenler, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak bildirilmiştir (Scales ve Huffnagle, 2013). *Staphylococcus epidermidis*, koagülaz negatif stafilokokların en önemli temsilcisidir ve insan derisinde en fazla kolonize olan mikroorganizma olarak bilinmektedir (Kloos ve Musselwhite, 1975). Uzun süre zararsız olarak görülen *S. epidermidis* hastane kaynaklı ve cihazla ilişkili enfeksiyonların en sık nedeni olarak tanımlanmış, bu nedenle önemli fırsatçı patojen haline gelmiştir. *S. epidermidis*, konak savunmasına karşı koruma sağlayan bir dizi molekül üretmektedir. Spesifik olarak, ekzopolisakkarit polisakarit hücrelerarası adezin (PIA) gibi birçok protein ve ekzopolimer insan antimikrobiyal peptidlerinin aktivitesini inhibe etmektedir. Aynı ekzopolisakkarit *S. epidermidis* biyofilminin oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, son araştırmalar *S. epidermidis*'te bağışıklıktan kaçınma ve biyofilm gelişiminde birden fazla işlevi olan ve sitolitik olabilen, fenolde çözünen modüllerin adında pro-enflamatuar peptit ailesi tanımlamıştır (Otto, 2012). *P. aeruginosa* su, toprak ve sebzelerde doğal olarak bulunan gram negatif fırsatçı patojen olarak bilinmektedir (Abdelghany vd 2012). Hastalarda travma, cerrahi, büyük bir yara veya yerleşik cihazın varlığı gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla *P. aeruginosa* kolonizasyonu

ve devamında enfeksiyonu meydana gelebilmektedir. *P. aeruginosa*, nozokomiyal ve solunum ilişkili pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, yanık yaraları ve kan dolaşımı enfeksiyonlarında en sık görülen patojenlerdendir (Weber vd., 2007; Cross vd., 1983). Akut enfeksiyona ek olarak bağışıklığı baskılanmış hastalarda, kronik akciğer enfeksiyonu, kistik fibroz hastaları ve kemoterapi alan kişilerde de *P. aeruginosa* enfeksiyonlara neden olmaktadır (Abdelghany vd., 2012). *S. epidermidis* kaynaklı ve psödomonal hastalıkları tedavi etmek için kullanılan yaygın antibiyotikler kısa yarı ömre, düşük biyoyararlanıma, ototoksosite ve nefrotoksosite gibi yan etkilere neden olabilmektedir (Tange vd., 1995).

Candida albicans, insanlarda hastalığa neden olan maya türlerindendir. İnsanlar da gastrointestinal (GI) sistemde, üreme sisteminde, ağız boşluğunda ve ciltte asemptomatik olarak kolonize olmaktadır (Achkar ve Fries, 2010; Ganguly ve Mitchell, 2011). Sağlıklı ve bağışıklık sistemi baskılanmamış bireylerde *C. albicans* genellikle zararsız ve yerel mikrobiyotanın diğer üyeleriyle dengede bulunmaktadır. Bununla birlikte, antibiyotik kullanımı, stres, başka tür bir mikroorganizma tarafından gerçekleşen enfeksiyon ile pH değişikliği gibi konakçı mikrobiyotasındaki değişiklikler, konakçının immün yanıtındaki değişiklikleri tetikleyerek *C. albicans*'ın aşırı çoğalmasına ve enfeksiyona neden olmaktadır (Calderone ve Fonzi, 2001; Wenzel, 1995). Pamukçuk, vajinal mantar enfeksiyonları, pişik gibi yüzeysel mukozal ve dermal enfeksiyonlara kadar büyük ölüm oranlarına sahip (bazı vakalarda %40'a yaklaşan) hematogen olarak yayılmış enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde (AIDS'li olanlar veya antikanser veya bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler görenler gibi) ve tıbbi cihaz implantasyonu olan sağlıklı kişilerde, idrar ve santral venöz kateterler, kalp pilleri, mekanik kalp kapakçıkları, eklem protezleri bulunan kişilerde ciddi tablolara sebep olabilmektedir (Nobile ve Johnson, 2015).

2.6 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğindeki malzemenin çeşitli bilim dalları ve uygulamalar için modifikasyonunu ve yönetimini içeren, teknolojik gelişim için devrim niteliğinde olan bir amacı temsil etmektedir. Nanoteknoloji, kelimenin tam anlamıyla, moleküllerden atomlara, atomlardan mikron altına kadar değişen boyutlarda maddeyi kimyasal, fiziksel ve biyolojik olarak etkileyen sistemlerin üretimini, uygulamasını ve

elde edilen nanomateriyallerin daha büyük sistemlere entegrasyonunu içermektedir. Nanoteknoloji, biyolojik, fiziksel ve kimyasal bilimlerin temel özelliklerini birleştiren bir süreçtir ve bu süreçler nanometre ölçeğinde gerçekleşmektedir. Fiziksel olarak boyut küçültülmekte; kimyasal olarak yeni bağlar ve kimyasal özellikler oluşturulmaktadır. Üretilen nano ölçekte malzemeler ilaç yükleme ve taşıma sistemleri gibi birçok biyolojik sürece olanak sağlamaktadır (Malik vd., 2023).

“Nanometre” kavramı ilk olarak 1925 Nobel Kimya Ödülü sahibi Richard Zsigmondy tarafından ortaya atılmıştır. Nanometre terimini özellikle parçacık boyutunu karakterize etmek ve mikroskop kullanarak altın kolloidler gibi parçacıkların boyutunu ölçmek için ilk kez kullanmıştır (Zsigmondy, 1996). Modern nanoteknolojinin ise fikir babası 1965 Nobel Fizik Ödülü sahibi Richard Feynman' dır. Caltech'te düzenlenen 1959 Amerikan Fizik Derneği toplantısında “Altta Bolca Yer Var” başlıklı bir konferans veren Feynman, maddeyi atomik düzeyde manipüle etme kavramını ortaya atmış ve araştırmacıları bu yönde düşünmeye sevk etmiştir (Toumey, 2008). Japon bilim adamı olan Iijima'nın karbon nanotüpleri geliştirmesiyle nanoteknoloji bilimi, daha da ilerlemiştir (Hulla vd., 2015; Iijima, 1991). Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde oluşturulan benzersiz özellikler sebebiyle 21. yüzyılın başlarındaki kritik araştırma alanlarından biri haline gelmiştir. Bilgi teknolojisi, enerji, çevre bilimi, tıp, iç güvenlik, gıda güvenliği ve ulaşım gibi pek çok teknoloji ve endüstri sektörünü de önemli ölçüde geliştirmeye devam etmektedir. Nanoboyutun benzersiz manipüle edilme özellikleri, araştırmacılara nanoparçacıkları ilaç dağıtımı, görüntü kontrast maddeleri veya tanı amaçlı olarak rasyonel tasarlama ve kullanma yeteneği sağlamaktadır (Morawski vd., 2004; Quintana vd., 2002; Tegenfeldt vd., 2004). Bu kazanılan yeteneklerin görüntüleme, biyoenformatik ve sistem biyolojisindeki ilerlemelerle bir araya gelmesi, biyolojinin en zorlu biyokimyasal ve genetik sorunlarından bazılarının üstesinden gelme konusunda muhteşem bir umut vaat etmektedir. Her ne kadar bugün biyoloji bir dizi teknolojik gelişmeden faydalanyor olsa da, çok azı temel araştırma, ilaç geliştirme ve klinik tıpta nanoteknoloji kadar yön değiştirici potansiyele sahip olabilmektedir. Nano boyutlu alanda, biyomoleküllerin tam ölçeğinde faaliyet gösteren nanoteknoloji, çok çeşitli araçlar ve uygulamalar sunmaktadır. Hücreleri hedeflemek, ilaçları malzemelere bağlamak, biyomoleküler süreçleri görüntülemek, terapötik ajanlara karşı moleküler tepkileri algılamak ve sinyal iletmek, cerrahi süreçleri yönlendirmek için nanomalzemeleri tasarlamak ve

değiştirmek konusundaki benzersiz özgürlük, ilaç geliştirme, tıbbi teşhis ve klinik uygulamalara olanak sağlamak nanoteknolojinin sunduğu muazzam imkanları oluşturmaktadır (McNeil, 2005).

Nanometre ölçeğinde nesnelerin, moleküler düzeydeki nesnelerden oldukça farklı kuvvetlerin kontrolü altında, kendi kendine düzen ve davranışlara sahip olduğu bilinmektedir. Bu benzersiz davranışların ve süreçlerin daha iyi anlaşılmasıyla, insan yaşamının kalitesini arttırmaya yönelik yeni yaklaşımlar mutlaka geliştirilecektir. Nanoteknolojinin potansiyel uygulamalarını tam anlamıyla anlamak ve ayrıntılı olarak tartışmak, alanın genişliği ve çeşitliliği açısından mümkün olmayacaktır. Ancak şüphesiz nanoteknolojinin en büyük değerlerinden biri yeni ve etkili tıbbi tedavilerin geliştirilmesi olacaktır. Araştırmacılar teşhis ve tarama amaçlı nanoparçacıkların geliştirilmesi, yapay reseptörler, nanogözenekler kullanılarak DNA dizilimi, benzersiz ilaç dağıtım sistemlerinin üretimi, gen terapisi uygulamaları ve doku mühendisliğinin etkinleştirilmesi dahil olmak üzere nanoteknolojinin tıptaki potansiyeline odaklanmaktadır (Emerich ve Thanos, 2003).

2.7 Nanopartikül

Nanopartiküller (NP), 1 ila 100 nanometre (nm) aralığında boyuta sahip (metrenin milyarda biri, 10^{-9}), partiküllü dispersiyonlar veya katı partiküller olarak tanımlanmaktadır. Bazı araştırmacılar 10 ila 1000 nm boyuta sahip parçacıkları nanopartikül olarak adlandırmışlardır (Garnett ve Kallinteri, 2006; Kadian, 2018; Suganeswari vd., 2011). Nanopartiküller küçük boyutları, yüksek yüzey/hacim oranı, yüksek yüzey reaktivitesi, çözünürlüğü ve çok işlevsellik gibi benzersiz özelliklerinden dolayı çeşitli ileri uygulama alanları için öneme sahiptirler (Concórdio-Reis vd., 2023). Tıp, biyoteknoloji, kimya, enerji, elektronik, biyomedikal, tarım, çevre vb. gibi çok çeşitli alanda potansiyel göstermektedirler (Schröfel vd., 2014). NP'ler antibiyotiklerin dağıtımında (Wu vd., 2021), bulaşıcı hastalıkların tedavisinde (Walvekar vd., 2019; Rodrigues vd., 2019), hedefe yönelik ilaç dağıtımında (Mariadoss vd., 2020), yapay implantlarda (Qin vd., 2021) ve bu uygulamalara ek olarak antibakteriyel yüzeylerin geliştirilmesinde (Piktel vd., 2021) yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda, küçük ve büyük moleküller için partikül iletim sistemlerini kullanarak hedefe yönelik ilaç iletimi önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Nanopartiküller çeşitli ilaç moleküllerinin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini değiştirmek ve geliştirmek için fiziksel bir yaklaşım oluşturmaktadır. Nanopartikülün partikül boyutu ve yüzey karakteristiği, hem pasif hem de pasif olmayan ilaç moleküllerini iletmek için kolayca manipüle edilebilmektedir. Geleneksel yöntemlere göre spesifik olmayan ilaç alımını ve yan etkileri azaltarak, ilacın hedeflenen bölgeye verilmesine ve kontrollü dağıtımına olanak sağlanmaktadır. Sistemik dolaşımdaki ilaç varlığı *in vivo* olarak, ilacın seçilen bölgelere erişimini kısıtlamak, ilacı etki bölgesine kontrollü ve sürekli bir hızda iletmek için kullanılmaktadır. Bir taşıma sistemi olarak nanopartiküllerin dizayn edilmesindeki ana hedefler, ilacın terapötik olarak en uygun oranda ve dozda bölgeye özgü etkisini elde etmek için, partikül boyutunu, yüzey özelliklerini ve farmakolojik olarak aktif ajanların salınımını kontrol eden modelleri tasarlamaktır (Suganeswari vd., 2011).

Nanopartiküller, metalik, seramik, polimerik veya biyolojik olarak birçok farklı malzemeden oluşabilmektedir. Yüksek yüzey alanı, üstün katalitik aktivite, fonksiyonel çeşitlilik, biyomedikal uygulamalar için uygunluk, yüksek saflık, homojenlik ve yüksek hızda tepkime soy metalleri diğer malzemelere göre avantajlı kılmaktadır. Soy metaller, ilk Mısır uygarlıklarına kadar uzanan tarihiyle, sanat eserleri, madeni paralar ve mücevherlerin yapımında çok uzun bir süredir insanlar tarafından kullanılmaktadır. Bu metaller, yerkabuğunda daha az bulunmaları sebebiyle genellikle diğer metallerden daha yüksek maliyetlidirler. Sağlam yapıları ve aşırı korozyon ve oksidasyon koşullarına karşı dirençleri nedeniyle havacılık, otomotiv, kimya, enerji, elektrik ve elektronik endüstrilerinde ve daha da önemlisi sağlık hizmetlerinde; cerrahi ekipmanlardan görüntülemede kontrast arttırıcılara kadar, yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Atom numarası sırasına göre; rutenyum (Ru), rodyum (Rh), paladyum (Pd), gümüş (Ag), osmiyum (Os), iridyum (Ir), platin (Pt) ve altını (Au) kesin olarak tanımlanmamış ancak nanopartikül sentezinde geçici liste olarak verilmiştir (Azharuddin vd., 2019). Çinko (Zn), Titanyum (Ti), Titanyum Dioksit (TiO₂), Nikel (Ni), Demir(II) Oksit/ferrik oksit (FeO), Bakır (Cu), Kobalt (Co), Palladyum (Pd), Baryum (Ba), Kadmiyum Sülfür (CdS) ve Platin (Pt) nanopartikül sentezinde yaygın

olarak kullanılan bileşik, metaloksit ve metallerdir (Vaseghi vd., 2018). Gerek teknolojik gelişmeler gerekse de metal nanopartiküllerin benzersiz özelliklerinden dolayı nanomalzemelerin hızla artan kullanımları yeni uygulama alanlarında yerini almaya devam etmektedir. Bu geniş kullanım alanları ve malzemelerin çeşitliliği açısından metalik nanoparçacıkların sentezlenmesi için etkili indirgeyici ve stabilize edici maddelerin keşfine büyük önem verilmektedir. Nanopartiküllerin sentezlenmesi için kullanılan iki temel strateji bulunmaktadır. Bu terimler, nanomaddelerin fiziksel sentezinde ve karakterizasyonunda kullanılan yöntemlerin genel bir tanımını sağlamaktadır (Şekil 2.2).

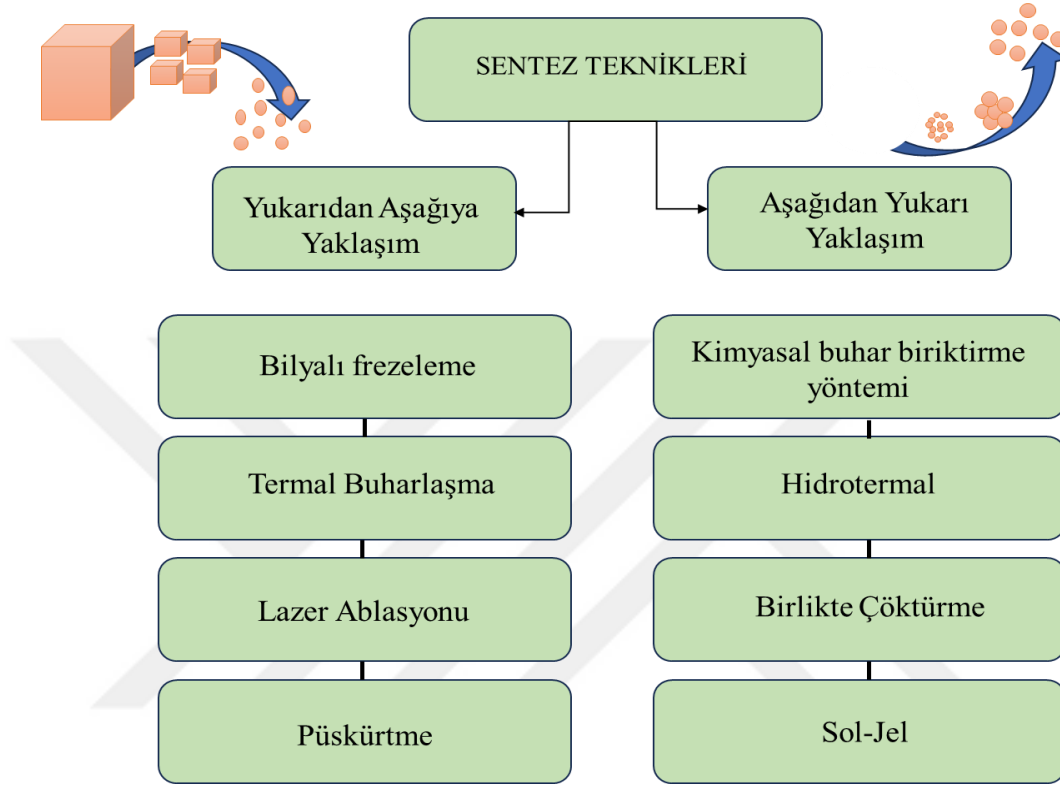
2.7.1 Yukarıdan aşağıya yaklaşım ("Top-Down")

Bu yaklaşım genellikle daha büyük ölçekli yapıların nano ölçekte boyutlara indirgenmesi için kullanılmaktadır. Büyük bir yapıyı parçalayarak ya da işleyerek daha küçük boyuttaki yapıların oluşturulmasını içermektedir. Bir malzemenin istenen düzen ve şekle getirilmesi için dışarıdan kontrol edilen kesme, frezeleme ve şekillendirme mekanik öğütme veya litografi, gibi işlemlerle küçük parçalara ayrılması bu yaklaşıma örnek gösterilebilir (Abedini vd., 2013). Yukarıdan aşağıya yaklaşımların kullanımı basit olmasına rağmen, düzensiz şekilli ve son derece küçük parçacıkların üretilmesinde etkisiz oldukları bildirilmiştir (Davies vd., 2017). Uygun parçacık boyutunu ve şeklini elde etmedeki zorluk bu yaklaşımın dezavantajı olarak belirtilmiştir (Košević vd., 2019). Piroliz, nanolitografi, termoliz ve radyasyona bağlı yöntemler gibi çeşitli fiziksel yöntemler bu kategoriye girmektedir (de Oliveira vd., 2020; Lusker vd., 2011).

2.7.2 Aşağıdan yukarı yaklaşım ("Bottom-Up")

Aşağıdan yukarıya yaklaşım, pH, sıcaklık, iyonik/kovalent bağlanma, konsantrasyondan etkilenen kimyasal sentez, kendi kendine birleşme veya konumsal birleşmeyi içeren geniş bir yapıyı kapsamaktadır (Alqadi vd., 2014). Atomik veya moleküler ölçekte başlayarak daha karmaşık yapıların oluşturulmasını içermektedir. Kimyasal reaksiyon aracılığıyla, atom veya moleküller birleştirilerek nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem genellikle daha homojen ve belirli özelliklere sahip nanopartiküller elde etmek için tercih edilmektedir. Yapıcı teknik aşağıdan yukarıya yaklaşımı tanımlamak için kullanılmaktadır (Indiarto vd.,

2022). Aşağıdan yukarıya yöntem, yukarıdan aşağıya yöntemin tam tersidir. İyi tanımlanmış şekli, boyutu ve kimyasal bileşimi olan nanomalzemeler, yapı taşları olarak atomların ve moleküllerin büyümesi ve kendiliğinden birleşmesi yoluyla oluşmaktadır (Ranoszek vd., 2017).



Şekil 2.2. Nanoyapılar için yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya sentez teknikleri (Abid vd., 2022’ den uyarlanmıştır).

2.7.3 Kimyasal sentez

Kimyasal indirgeme, nanopartiküllerin su veya organik çözücüler içinde stabil, kolloidal dispersiyonlar halinde hazırlanması için en sık uygulanan yöntem olarak bilinmektedir (Lukhmyrina vd., 2020). Ana prosedür, metal iyonlarının çözelti içinde indirgeyici bir ajan kullanılarak indirgenmesi prensibine dayanmaktadır. Son yıllarda, nanopartiküllerin sentezi için poliol yöntemi ve sıvı-sıvı yöntemi de dahil olmak üzere birçok kimyasal yöntem bildirilmiştir (Szczyglewska vd., 2023; Vandana vd., 2021). Ancak, basitliği nedeniyle kimyasal indirgeme yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Abou vd., 2010). Kimyasal teknikte, reaktan molar konsantrasyonu, dağıtıcı konsantrasyonu ve reaktan besleme hızı üzerinde daha kolay kontrol

sağlanarak nanopartiküllerin boyutlarının, şekillerinin ve partikül boyutu dağılımının daha doğru düzenlenmesi sağlanmaktadır. Partikül boyutu dağılımında kritik bileşen olarak indirgeyici madde seçiminin olduğu bildirilmiştir (Dimitrijević vd., 2014). Kullanılan indirgeyici maddenin türü partikül boyutu, şekli ve dağılımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilmektedir (Oliveira vd., 2005). İndirgeyici madde eklendiğinde metal öncülleri indirgenmeye uğramakta ve metal tuzunun indirgenmesi, indirgeyici maddenin reaktivitesinin, metalin redoks potansiyeliyle eşleştirilmesini gerektirmektedir. Sentez işlemi sırasında aşırı yüksek reaksiyon hızı, hızlı bir şekilde çok sayıda metal çekirdeği oluşturmakta ve bu da çok küçük partiküllerin üretilmesine neden olmaktadır. Ayrıca reaksiyon hızı aşırı yavaşsa, partiküller aglomere (topaklanma) olmaktadır (Chou ve Ren, 2000; Taguchi vd., 2008). Yüzey aktif maddelerin uygulanması gibi modern gelişmeler morfolojik özelliklerin uygun şekilde düzenlenmesini kolaylaştırmıştır. Ancak, bu değişkenler çökeltme sürecini etkilediğinden, pH, reaktan ve iyon konsantrasyonları ile sıcaklık gibi deneysel parametrelerin doğru kontrolünün yapılması gerekmektedir (Suriati vd., 2014). Üretilen nanomalzemelerin kalitesi; titreşim, karıştırma hızı, ışığa maruz kalma ve cam eşyaların temizliği gibi çeşitli çalışma değişkenlerinden etkilenmektedir (Abid vd., 2022). Ayrıca reaktanların çökeltme hızları birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunda, proses çalışmaz ve kirleticiler nihai ürüne çökelebilmektedir. Kimyasal olarak çökeltilen nanopartiküller, birden fazla kimyasalın kullanılmasını gerektirmenin ve potansiyel olarak tehlikeli atık üretmenin yanı sıra, nihai ürünlerin saflığını en üst düzeye çıkarmak için tipik olarak stabilizatörler ve çeşitli işlem sonrası teknikler gerektirmektedir (Kolahalam vd., 2019; Sagadevan vd., 2018). Bu nedenle, toksik kimyasallar kullanmadan nanopartikül sentezi için çevre dostu ve uygun maliyetli prosedürlere ihtiyaç duyulmaktadır (Yaqob vd., 2020; Wang vd., 2021).

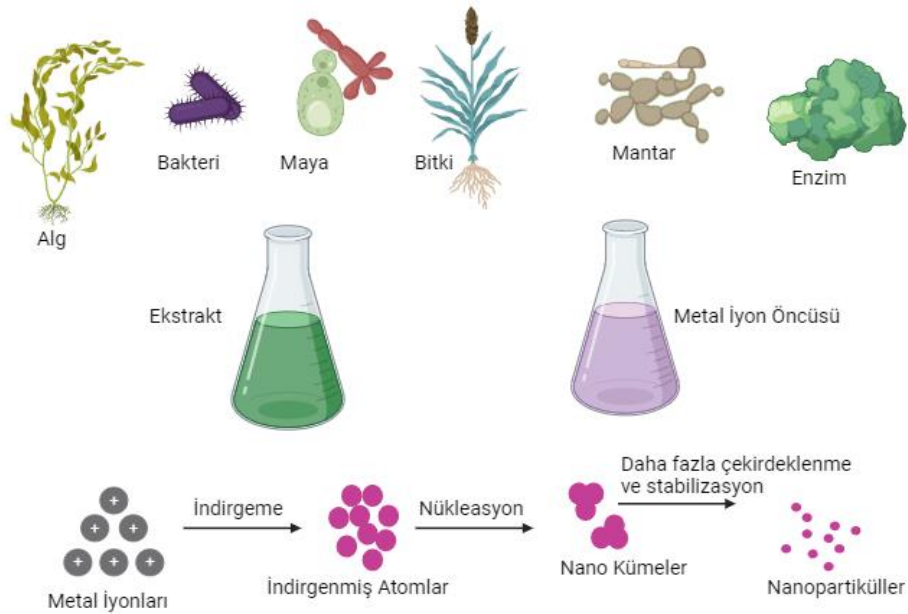
2.7.4 Yeşil sentez

Biyolojik sentez veya yeşil sentez esas olarak bitki özleri, algler, mantarlar, mayalar, bakteriler, bakteri kültür süpernatantları ve ekzopolisakkaritlerin kullanıldığı yöntemler olarak bilinmektedir. Bu yöntemde toksik olmayan reaktifler ve prosedürler kullanılarak hem çevre dostu hem de uygun maliyetli sentez metodu sunulmaktadır (Dikshit vd., 2021). Büyük ölçekli sentezlerde ölçeklendirilebilir olması sebebiyle kimyasal ve fiziksel sentez yöntemlerine göre daha fazla tercih edilmektedir (Asif,

2021). Nanopartikül sentezlerinde kullanılan kimyasal yöntemler, yüzeyde emilen ve farmasötik uygulamalarda kullanıldığında ciddi etkilere neden olabilen bazı toksik kimyasalları içermektedir (Karunakaran vd., 2023). Buna karşılık yeşil sentez, diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında yüksek basınç, enerji, sıcaklık ve toksik kimyasalların kullanımını gerektirmemektedir. Farklı organizmalar kullanılarak metal nanopartikül sentezi için kolektif, mekanik yaklaşımın şematik bir gösterimi Şekil 2.3'te gösterilmiştir.

Sentez prosedürleri için toksik olmayan kimyasalların ve çevre dostu materyallerin kullanımı, farmasötik ve diğer biyomedikal uygulamalarda biyouyumluluğun birçok avantajını sunmaktadır. Nanopartiküllerin sentezi, soy metallerin tuz öncülleri ile biyomateriyallerin karıştırılmasıyla başlatılmaktadır. Metal tuzu öncülünün nanopartiküllere indirgenmesi, başlangıçta koloidal çözeltide renk değişiminin gözlemlenmesiyle doğrulanabilmektedir (Sriramulu vd., 2020). Bakteriler, düşük saflaştırma maliyetleri, yüksek verimleri ve bakım kolaylıkları nedeniyle nanopartikül sentezi için diğer mikroorganizmalara göre daha çok tercih edilmektedir (Dikshit vd., 2021; Sriramulu vd., 2020). Mikrobiyal sentez sürecinde nanopartiküller, biyomoleküller tarafından metalik iyonların oksidasyonu/indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. İndirgenme süreci enzimler, şekerler, karbonhidratlar, yüzey proteinleri ve mikrobiyal hücreler tarafından salgılanan metabolitler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, nanopartiküllerin sentez süreçleri her mikroorganizma türü için farklılık göstermekte ve mikroorganizma bazlı nanopartikül sentezinin mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır (Dikshit vd., 2021). Bazı araştırmacılara göre gümüş nanopartiküllerin (AgNP) bakteri kaynaklı hücre dışı veya hücre içi sentezi, gümüşün DNA veya sülfür içeren proteinler tarafından indirgenmesi yoluyla gerçekleşmektedir (Feng vd., 2000; Prabhu vd., 2012). Ayrıca bazı bakteri ve mantarlarda ise sentezin nitrata bağlı redüktaz veya karboksilik grup tarafından gerçekleştirildiği bildirilmiştir (Sabri vd., 2016; Vaidyanathan vd., 2010). Biyolojik fabrikalar gibi davranan mikroorganizmalar yoluyla nanopartiküllerin sentezlenmesi, çok çeşitli boyut, şekil, bileşim ve fizikokimyasal özelliklere sahip nanopartiküllerin sentezlenmesi için temiz, toksik olmayan ve çevre dostu bir yöntem sunmaktadır (Shah vd., 2015). Bitki bazlı nanomateriyallerde ise proteinler, alkaloidler, flavonoidler, indirgeyici şekerler, polifenoller, terpenoidler vb. gibi çeşitli bileşiklerin varlığı, metal tuzlarından nanopartiküllerin sentezi için indirgeyici ve kapatıcı ajanlar olarak görev

yapmalarını sağlamaktadır (Aromal ve Philip, 2012; Kuppusamy vd., 2016). Bununla birlikte, son yıllarda çalışmaların çoğu nanopartiküllerin sentezi için bitkilerin aktif olmayan kısımlarının toz veya ekstrakt olarak kullanılmasına odaklanmıştır (Soni vd., 2021; Nande vd., 2021). Bitkilerin yaprak, çiçek, meyve, kök, lateks, tohum ve tohum kabuğu gibi çeşitli kısımları metalik nanopartiküllerin sentezi için kullanılmaktadır (Bagheri vd., 2023). Genel olarak bitkilerin ağır metalleri hem biriktirme hem de detoksifike etme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Devi vd., 2023; Ejaz vd., 2023). Bu sayede bitki bazlı, çevre dostu sentez teknikleri kullanılarak metal nanopartiküller oluşturma hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak çeşitli metotları bulunmaktadır (Mohamad vd., 2013). Gardea-Torresdey vd. (2002), altın bakımından zengin bir agar sisteminde yetiştirilen canlı yonca bitkilerinin altın nanoparçacıklarının hücre içi oluşumunu göstermiştir. Bu araştırma canlı bitkiler tarafından altın nanoparçacıklarının oluşumuna ilişkin ilk bilgileri sunmaktadır.



Şekil 2.3. Farklı organizmalar kullanılarak metal nanopartikül sentezi için mekanik yaklaşımın şematik gösterimi (Habibullah vd., 2021'den uyarlanmıştır).

2.8 Gümüş Nanopartiküller

Gümüş doğal olarak oluşan, yumuşak, parlak bir geçiş metalidir ve iyonize formunun (Ag^{+1}) tıpkı diğer metaller gibi antimikrobiyal özelliklere sahip element olarak

bilinmektedir (Żyro vd., 2023). Eski çağlardan beri insanlar gümüşü yiyecekleri koruma, takı, madeni para, su arıtma ve son zamanlarda endüstriyel veya elektriksel amaçlar için kullanmışlardır (Barillo ve Marx, 2014). Bilinçli yada bilinçsiz insanların gümüşü, gıdaları ve eşyaları mikroorganizmalardan dolayısıyla da hastalık riskinden korunmak için kullanmış olduğu açıkça görülmektedir. Perslerin savaş zamanı erzaklarını gümüş fiçilerde saklamaları ve savaşlara gümüş kaplarda kaynatılmış su götürmeleri bu durumu kanıtlamaktadır (Alexander, 2009). Bu fenomenin ilk bilimsel açıklaması 1869'da *Aspergillus niger*'in gümüş kaplarda üreyemediğini kaydeden Raulin tarafından yapılmıştır (Clement ve Jarrett, 1994). Gümüşün en eski tıbbi ve tedavi amaçlı kullanımının ise M.Ö. 1500 yılında Çin'deki Han hanedanlığı tarafından kaydedildiği düşünülmektedir (Sim vd., 2018).

Gümüş nitrat (AgNO_3) en yaygın gümüş tuzlarından biri olarak bilinen renksiz ve kokusuz çözeltilidir. Gümüş nitrat çözeltisi tıpta yaraları, özellikle de yanık yaralarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmıştır (Moir ve Serra, 2012). On dokuzuncu yüzyılın sonlarına doğru zührevi hastalıkların tedavisinde ve yeni doğanların gözlerini, annelerden doğum sırasında bulaşabilecek gonore (belsoğukluğu) etmeninden korumak için %1 gümüş nitrat çözeltisi içeren göz damlaları halinde uygulandığı bildirilmiştir (Gao vd., 2018). Geniş antibakteriyel aktivite yelpazesi, bakteriyel direnç eksikliği ve düşük toksisitesi nedeniyle, uzun süredir tıbbi kullanım için popüler bir antimikrobiyal ajan olmuştur. 1950'lerde penisilin ve diğer antibiyotiklerin keşfedilmesiyle gümüş nitratin kullanımı destekleyici role indirgenmiştir (Atiyeh vd., 2007). Ancak günümüzde antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımı ve buna bağlı olarak bakterilerde gelişen ilaç direnci gelişmekte olan tüm ülkelerdeki en ciddi, tehdit edici ve yaygın sorunlardan biri haline gelmeye başlamıştır. Çoklu ilaca karşı bakteriyel direnci azaltmak için etkili antiseptik ajan olarak gümüş eski popülerliğini yeni modifikasyonlarla tekrar kazanma yolunda nanopartiküller olarak karşımıza çıkmaktadır. AgNP'lerin ilgi çekici fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri, son yıllarda çeşitli davranışlarının incelenmesine olan ilginin keskin bir şekilde artmasına neden olmuştur (Zhang vd., 2016) Yüzey plazmon rezonansı, elektrik direnci ve toksisite açısından da benzersiz özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Sharma vd., 2009). Bu özelliklere dayanarak, yara örtülerinde antimikrobiyal ajanlar, antikanser ajanlar, elektronik cihazlar ve su arıtma gibi çeşitli amaçlar için özelliklerini ve potansiyel uygulamalarını araştırmak için yoğun çalışmalar yürütülmüştür (Syafiuddin

vd., 2017). Gümüş nanopartiküller sentez yöntemlerine göre farklı boyut, şekil, morfoloji ve hatta stabiliteye sahip olabilmektedir (Ge vd., 2014; Talapko vd., 2020). Bu özellikler stabilizatörler ve etraflarındaki indüktörlerle etkileşimlerinin yanı sıra reaksiyonun hızına da bağlı olmaktadır. Son yıllarda farklı sentez yöntemleri ve stabilizatörlere bağlı olarak düzlemsel, üçgen, beşgen, altıgen, yuvarlak yüzeyli nanopartiküller ile üç boyutlu kübik, piramit, çubuk, küresel veya küresel olmayan nanopartiküllerin sentezi bildirilmiştir (Al-Ghamdi ve Mahmoud, 2013; Khodashenas ve Ghorbani, 2019; Sung vd., 2013). Boyutuna, şekline ve kimyasal ortamına göre nanopartiküllerin optik, elektronik, manyetik ve katalitik özellikleri değişmektedir. Ayrıca boyut ve şekillerindeki farklılık antimikrobiyal aktivitelerini de etkilemektedir. Olfati vd. (2021) tarafından *Calendula officinalis* özütü kullanılarak küresel gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin küçük boyutlu (18-24 nm) olduğu ancak patojen bakteriler üzerinde aktivitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir.

Thiruvengadam ve Bansod (2020) tarafından sodyum borohidrit (NaBH_4) ile kimyasal sentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu 18,31 nm olarak bulunmuştur. Yüzey merkezli kübik yapıya sahip nanopartiküllerin *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı sırasıyla 19 mm ve 17 mm'lik inhibisyon zonları gözlenmiştir.

Acharya vd. (2021) tarafından kimyasal indirgeme yöntemiyle küresel, çubuk, üçgen ve altıgen şekilli gümüş nanopartiküller sentezlenmiş, seçilmiş gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada inhibisyon aktivitesine göre farklı morfolojilerdeki gümüş nanopartiküllerden küresel nanopartiküllerin *Klebsiella pneumoniae*'yı diğer nanopartiküllerden daha hızlı öldürdüğü bildirilmiştir.

Li vd. (2022) gümüş iyonlarının (Ag^+) n-bütülin ile yerinde indirgenmesi yoluyla mezogözenekli silika nanoparçacıkları ve gümüş nanoçubukların sentezi bildirilmiştir. Birleştirilmiş silika nanoparçacıkları ve gümüş nanoçubukların verimli ve tekrarlanabilir fototermal dönüşüm yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir. Birleştirilmiş nanokompozitlerinin jelatin ile karıştırılmasıyla da yeşil renkli silika nanoparçacıkları ve gümüş nanoçubukları içeren bir hidrojelin sentezi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bu fototermal özellik sayesinde nispeten düşük nanokompozit konsantrasyonu içeren

hidrojel ile *Escherichia coli* bakterisine karşı %99'un üzerinde bakteri inhibisyon aktivitesi tespit edilmiştir.

2.8.1 Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etki mekanizması

Gümüş nanopartiküllerin bakterisidal aktivitesinin, stabilitesinin ve biyouyumluluğunun boyutlarına bağlı olduğu bildirilmiştir (Dakal vd., 2016). Küçük boyutlu olan nanopartiküllerin büyük olanlara kıyasla daha fazla bakterisidal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu durum nanopartiküllerin hücre zarlarıyla daha fazla birleşmelerine olanak tanıyan daha yüksek bir yüzey-nanopartikül hacim oranı ile ilişkilendirilmiştir (Shang vd., 2014). Gümüşün mikroorganizmalara karşı etki mekanizması üç şekilde olabilmektedir. Bunlar

- i. Gümüş katyonlarının bakterilerin hücre duvarına nüfuz ederek peptidoglikanlarla reaksiyona girmesi (Jung vd., 2008),
- ii. Gümüş nanopartiküllerin bakteri hücrelerine bağlandıktan sonra serbest iyonların salınımıyla ortaya çıkan oksidatif stres (Möhler vd., 2018; Tang ve Zheng, 2018),
- iii. Gümüş'ün hücreye girdikten sonra DNA'ya zarar vermesi ve transkripsiyonun inhibisyonu (Mathur vd., 2018) olarak bildirilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri

Bu çalışmada aktiviteleri belirlenmek üzere sentezlenen gümüş nanopartikülleri üretmek için kullanılan probiyotik suş *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 bakterisi, antimikrobiyal aktivite ve antibiyofilm aktivite çalışmalarında test bakterisi olarak kullanılan mikroorganizmalar Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde yer alan mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan bakteriler ve suş kodları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan bakteriler ve suş kodları.

Bakteriler	Kodları
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Bacillus cereus</i>	RSKK 863
<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 13076
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11229
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218
<i>Candida albicans</i>	ATCC 14053
<i>Enterococcus faecalis</i>	RI11
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	ACS5

3.1.2 Bakterilerin gelişme ortamları

Tez çalışmasında test bakterisi olarak kullanılan mikroorganizmaların geliştirilmesi ve aktifleştirilmesinde; *E. coli* ATCC 11229, *E. coli* ATCC 35218, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* RSKK 863, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enteritidis* ATCC 13076 bakterileri için Nutrient Broth (NB, Merck) besiyeri, *L. monocytogenes* ATCC 7644 için Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyeri, *L. rhamnonsus* ACS5 ve *E. faecalis* RI11 bakterileri için Man Rogosa ve Sharpe (MRS) besiyeri veya MRS Agar besi ortamları ve *C. albicans* ATCC 14053 mayası için Yeast Extract Pepton Dextrose (YEPD) kullanılmıştır. Bakterilere uygun besiyerlerine %2 oranında bakteri ekimi yapılmış ve 37°C'de 18-24 saat geliştirilen kültürler (*C. albicans* ATCC 14053 ve *B. cereus* RSKK 863 için 30°C), en az iki kez aktifleştirildikten sonra çalışmaya alınmıştır. Çalışmalarda kullanılan bakterilerin saflıkları Gram boyama yapılarak mikroskopik olarak incelenerek kontrol edilmiştir.

3.1.3 Çalışmalarda kullanılan besiyerleri

L. rhamnonsus ACS5 bakterisinin geliştirilmesinde ticari MRS (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri tartılarak üzerlerine 1000 mL deiyonize su ile tamamlanmış ve manyetik karıştırıcı yardımıyla tamamen homojen hale getirilmiştir.

Besiyerlerinin pH'ı 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak $6,8 \pm 0,2$ ayarlanarak otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilerek çalışmalarda kullanılmıştır. Katı besiyeri hazırlamak için %1,5 oranında agar kullanılmıştır.

C. albicans ATCC 14053 mayasının geliştirilmesi için YEPD besiyeri içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir. Besiyeri içerisindeki malzemeler tartılarak üzerlerine 1000 mL distile su eklenerek, manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Besiyerinin pH'ı 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak $6,8 \pm 0,2$ ayarlanarak otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilerek çalışmalarda kullanılmıştır. Katı besiyeri hazırlamak için %1,5 oranında agar kullanılmıştır (Schimz ve Holzer, (1979)).

Çizelge 3.2. Yeast Extract Pepton Dextrose (YEPD).

Bileşenler	Miktar (g/L)
Pepton	20
Maya ekstraktı	10
Dekstroz	20

Çalışmalarda kullanılan serum fizyolojik çözeltisi (SF) %0,875 oranında NaCl tartılıp saf su içerisinde çözülerek, otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilerek elde edilmiştir.

Fosfat tamponu (PBS), 8,0 g NaCl, 5,2 g K₂HPO₄, 7,1 g Na₂HPO₄ ve 2,0 g KCl tartılarak bir miktar distile suda çözülmüş ve son hacmi distile su ile 1000 mL’ye tamamlanarak manyetik karıştırıcıda homojen hale gelinceye kadar karıştırılıp, pH 7,20 ± 0,02’ye ayarlanarak hazırlanmıştır.

Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan 1 mM AgNO₃, 0.1 M’lık stok çözeltisinden (Bilen Teknik) steril saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

TÜBİTAK 120Z573 kodlu proje tarafından desteklenen proje kapsamında *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinden izole edilerek liyofilize hale getirilen bakteriyel ekzopolisakarit (EPS) Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde yer alan mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiş ve nanopartikül sentezinde prebiyotik olarak kullanılmıştır.

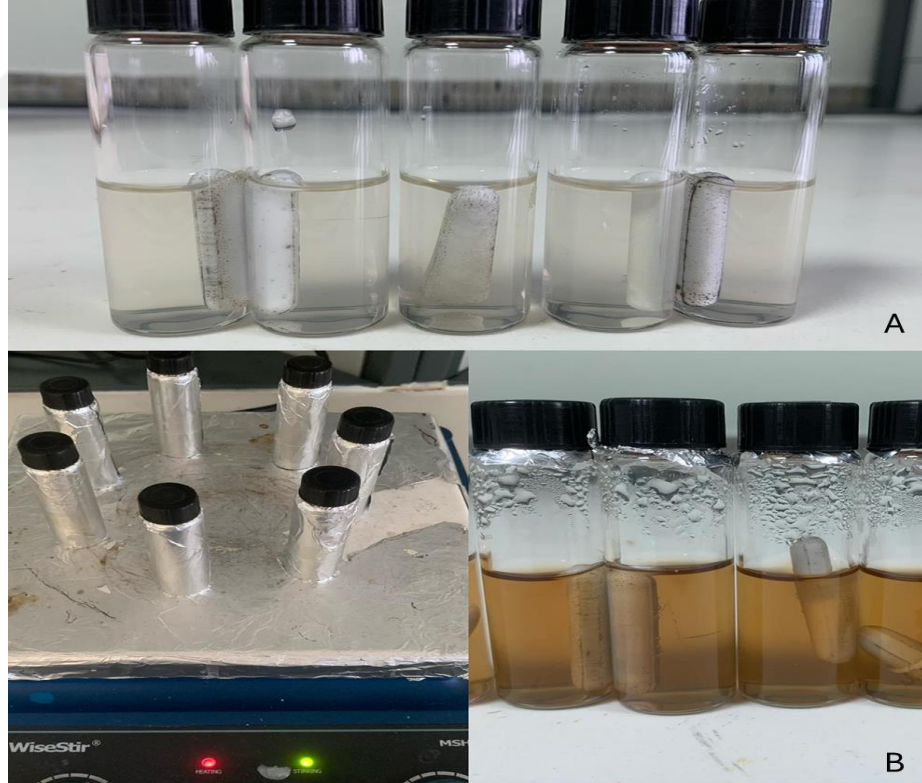
Kimyasal nanopartikül sentezinde kullanılan tri-sodyumsitrat %5’lik olacak şekilde 0,25 gr tartılarak 5 ml steril saf su ile hazırlanarak kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Nanopartiküllerin sentezi

3.2.1.1 Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentezi

L-EPS-ACS5 ile gümüş nanopartikül sentezi Concórdio-Reis vd. (2023) tarafından uygulanan metoda göre yapılmıştır. L-EPS-ACS5 ile gümüş nanopartikül sentezinde, 100 mL deiyonize su içerisinde 100 mg L-EPS-ACS5 çözülerek pH, NaOH (0,1 M) ile ~9'a ayarlanmıştır. Daha sonra 5 mL 1 mM'lik nihai Ag^{2+} konsantrasyonu için EPS çözeltisine 50 μ L stok $AgNO_3$ çözeltisi (100 mM) ilave edilmiş ve karışım ışıktan korunarak 80°C'de 6 saat inkübe edilmiştir. Sarımsı-kahverengi rengin görünümü Ag^+ 'nın AgNP'ye indirgendiğini göstermiştir (Şekil 3.1). Sentezlenen PRE-AgNP'lerin sıvı halinden UV-vis analizleri (Beckman Coulter Du 730) yapılmıştır. 20.000 rpm de 30 dk santrifüjlenerek 2 kez steril saf su ile yıkanmıştır ve 37°C'de etüvde bir gece kurumaya bırakılmıştır.

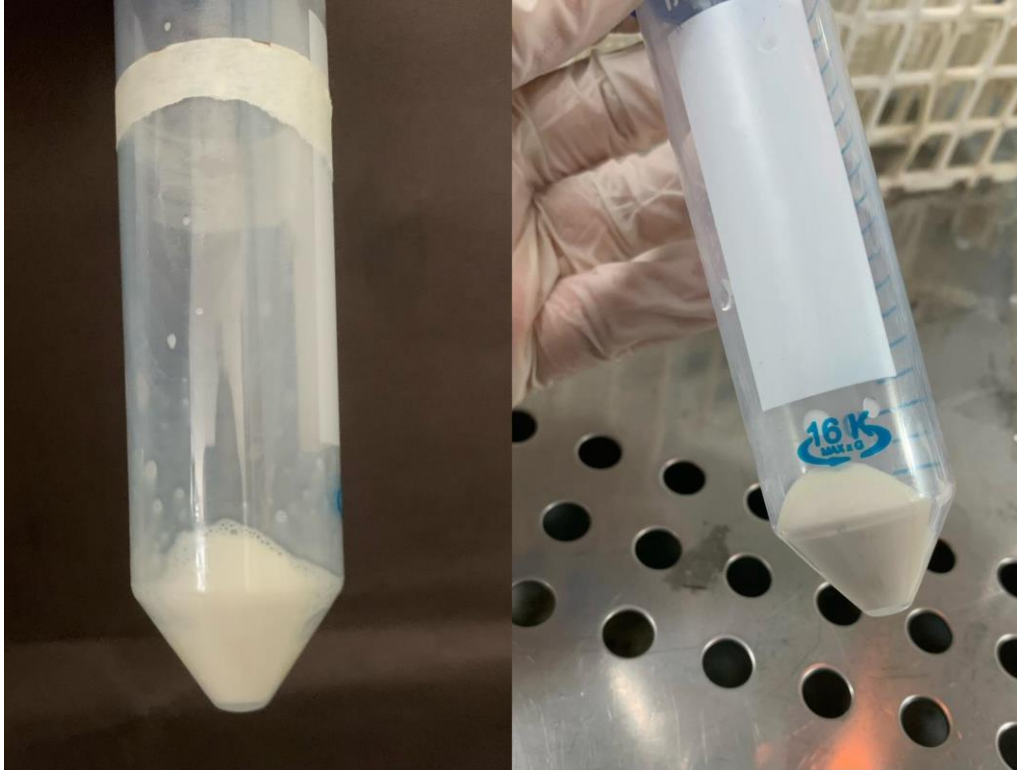


Şekil 3.1. Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentez öncesinde (A) ve sentez sonrasında (B) oluşan görüntüsü.

3.2.1.2 *L. rhamnosus* ACS5 canlı bakteri biyokütlesi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) sentezi

Bakteri kültürü ile gümüş nanopartiküllerin sentezi için maksimum tolere edilebilen konsantrasyonun belirlenmesi

L. rhamnosus ACS5 bakterisinin gümüş iyonlarına karşı maksimum tolere edilebilir konsantrasyon (MTK) değerini belirlemek için ACS5 suşunun yaklaşık 1 g ıslak biyokütlesi (Şekil 3.2) (mL başına $1,2 \times 10^6$ kob/mL) 10 mL sulu gümüş iyonu (Ag^+) çözeltisi içinde süspanse edilmiştir. *L. rhamnosus* ACS5 gümüş tolerans potansiyelini değerlendirmek için artan Ag^+ konsantrasyonuna (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 mM) maruz bırakılmıştır (Şekil 3.3.). Süspansiyon gece boyunca 37 °C'de inkübe edilmiş ve hücre canlılığı nokta damlatma (spot plating) tekniği ile belirlenmiştir. Kısaca, bakteri süspansiyonu seri olarak seyreltilmiş ve ardından her bir tüp için bir MRS agar üzerine damlatılmıştır. MTK, bakterilerin büyümesini engelleyen maksimum Ag^+ konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır. MTK sonucu, sonraki çalışmada biyosentez işlemi için kullanılmıştır (Mohd Yusof vd., 2020a).



Şekil 3.2. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin 1 g ıslak biyokütlesinin görüntüsü.

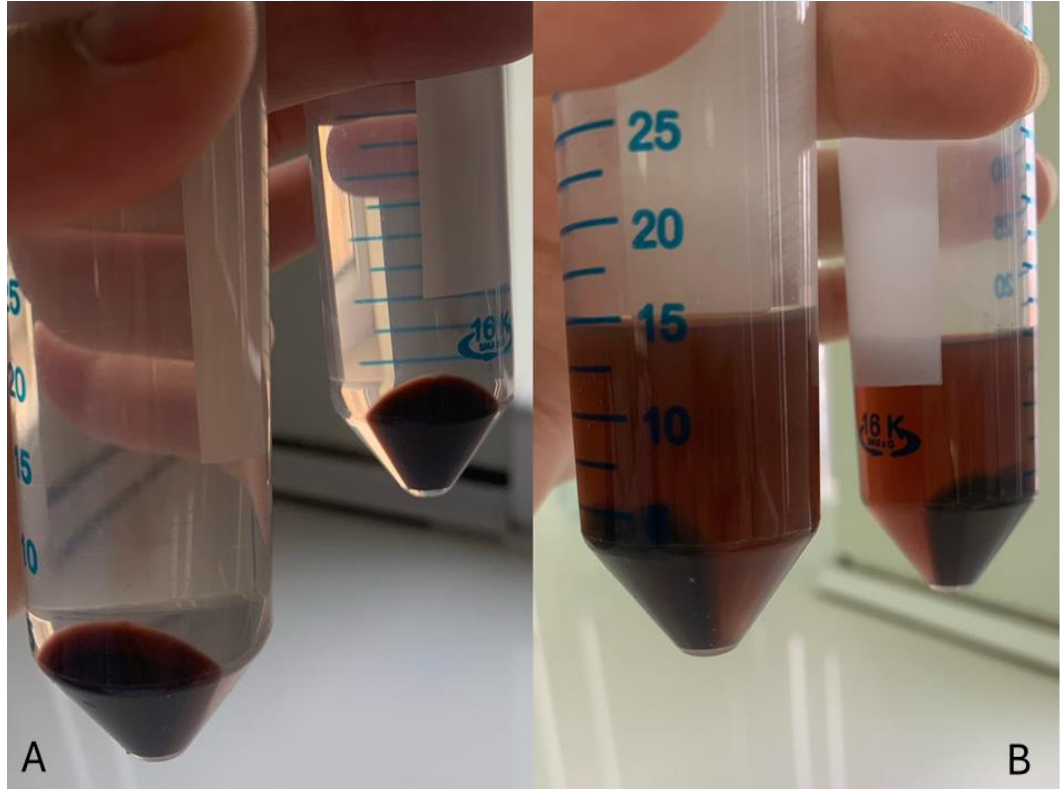


Şekil 3.3. *L. rhamnosus* ACS5'in gümüş tolerans potansiyelini değerlendirmek için artan Ag⁺ konsantrasyonlarına (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 mM) maruz bırakıldıktan sonra oluşan görüntüsü.

Potansiyel probiyotik olan *L. rhamnosus* ACS5 suşunun yaklaşık 2 g ıslak biyokütlesi, 1 mM AgNO₃ konsantrasyonu içeren 100 mL sterilize deiyonize su içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyon daha sonra etüvde 150 rpm çalkalama ile 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin ardından, elde edilen koyu kahverengi çözelti, biyokütleyi ve biyosentezlenmiş AgNP'leri toplamak için 30 dakika boyunca 18000 × g santrifüjlenmiştir (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Koyu kahverengi, toplanan biyokütle saf su ile yıkanmıştır ve sterilize deiyonize su içinde yeniden süspanse edilmiştir. Biyosentezlenmiş AgNP'leri elde etmek için süspansiyon, biyokütle hücrelerini parçalamak üzere ultrasonikasyon döngülerine (5'er dk 3 kez) tabi tutulmuş ve süspansiyon içinde dağılmış PRO-AgNP'leri elde etmek için 15 dakika boyunca 2800×g' de santrifüjlenmiştir. Biyosentezlenmiş PRO-AgNP'lerin sıvı kısmından UV-vis analizleri (Beckman Coulter Du 730) yapılarak, kolloidal formundan kuru bir toz formu elde etmek için 37 °C'de 24 saat kurutmaya bırakılmıştır (Fakher ve Kashi, 2021; Mohd- Yusof vd., 2020a).



Şekil 3.4. *L. rhamnosus* ACS5 canlı bakterisi ile biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin sentez öncesi (A) ve sonrası (B) oluşan görüntüsü.



Şekil 3.5. *L. rhamnosus* ACS5 canlı bakterisi ile biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) yıkama sonrası yüksek (A), ve düşük (B) rpm' de santrifüj sonrası oluşan görüntüsü

3.2.1.3 Bakteri kültür süpernatantı (postbiyotik aracılı) ile gümüş nanopartiküllerin (POST-AgNP) sentezi

Potansiyel probiyotik olan *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin stok kültüründen 5 mL'lik MRS broth besiyerine %2'lik ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktifleştirilmiştir. İnkübasyon sonrası aktif kültürler 50 mL MRS broth besiyerine %2' oranında inoküle edilerek 37°C'de 200 rpm'de çalkalayıcı inkübatörde 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 10.000 rpm'de 12 dakika santrifüj (GYROZEN 1848R) yapılarak hücre pelleti uzaklaştırılmıştır. Elde edilen hücresiz süpernatant 22 µm disposable filtre (Isolab) ile steril edilmiştir. Aseptik koşullarda 1 mM AgNO₃'ün mutlak konsantrasyonu, 100 mL hücre filtratına ilave edilerek 37°C'de 150 rpm'de çalkalayıcı inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yalnızca hücre filtratı (AgNO₃ olmadan) aynı koşullarda inkübe edilerek kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyondan sonra soluktan koyu kahverengiye doğru renk değişimi gözlenmesi POST-AgNP'lerin sentezini doğrulayan faktör olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.6). Sentezlenen POST-AgNP'lerin sıvı kısmından UV-vis analizleri yapılarak 14.000 rpm de 30 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen pellet 2 kez saf su ile yıkanarak 37 °C'de 24 saat kurutmaya bırakılmıştır (Saravanan vd., 2018).



Şekil 3.6. Gümüş nanopartiküllerin postbiyotik aracılı sentezinin (POST-AgNP) inkübasyon öncesi (A) ve sonrası (B) oluşan görüntüsü.

3.2.1.4 Kimyasal sentez ile gümüş nanopartiküllerin (KİM-AgNP) sentezlenmesi

Yeşil sentez yoluyla sentezlenen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin biyoaktivite deneylerinde aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla kimyasal yöntemle sentezlenen nanopartikülün kontrol grubu olarak kullanılması düşünülmüştür. Bu amaçla gümüş nanopartiküllerin kimyasal sentezi 1 mM gümüş nitrat (AgNO_3) ve %1 tri-sodyum sitrat (Merck) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Toplam 100 mL 1 mM AgNO_3 kaynama noktasına kadar ısıtılarak üzerine 5 mL %1 tri-sodyum sitrat damla damla ilave edilerek çözelti kuvvetlice manyetik karıştırıcı (Wisestire MSH-20A) ile 100°C 'de karıştırılmıştır. Çözeltinin renk değişimi açıkça görülene kadar (sarımsı kahverengi) ısıtılarak karıştırmaya devam edilmiştir. Oluşan renkli çözelti ısıtıcı tabladan çıkarılarak oda sıcaklığına kadar karıştırılmaya devam edilmiştir (Şekil 3.7). Sentezlenen nanopartiküllerin sıvı kısmından UV-vis analizleri yapılarak 20.000 rpm'de 30 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen pellet 2 kez saf su ile yıkanarak 37°C 'de 24 saat kurutmaya bırakılmıştır (Murei vd., 2020).



Şekil 3.7. Kimyasal yöntemle sentezlenen nanopartiküllerin tri-sodyum sitrat eklenmeden (A) ve eklendikten sonra (B) oluşan görüntüsü.

3.2.2 Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonu

Karakterizasyon, nanopartiküllerin morfolojisini, yüzey kimyasını, yüzey alanını ve doğasındaki etkileşimleri belirlemek için önemli bulunmaktadır (Almatroudi, 2020). Bu sebeple bu tez çalışmasında sentezlenen gümüş nanopartiküllerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonları için UV, FTIR, XRD, SEM, zeta potansiyel ve zeta boyut analiz teknikleri kullanılmıştır.

3.2.2.1 UV Görünür Alan (UV-Vis) spektroskopisi analizi

Nanomalzemelerin spesifik konsantrasyon, boyut ve agregasyon durumu gibi UV-görünür absorbans özelliklerini tespit etmek için kullanılmaktadır. Özellikle gümüş gibi metal nanopartiküller görünür bölgede güçlü bir emilim gösteren yüzey plazmon rezonans (SPR) bandına sahiptirler. SPR bandı, boyuta, şekle, bileşime, agregasyon durumuna ve ayrıca yüzey yakınlığı içindeki kırılma indisi değişikliklerine bağlı olarak değişebilen bir dizi faktöre duyarlılık gösterebilmektedir (Sapsford vd., 2011; Schwartzberg ve Zhang, 2008).

Sentezi gerçekleştirilen PRE-AgNP, PRO-AgNP, POST-AgNP ve KiM-AgNP gümüş nanopartiküllerin 200-700 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapılarak (Beckman Coulter Du 730) yüzey plazmon zirvesinin belirlendiği bölgeye kadar (200-700 nm) değerler kaydedilmiştir.

3.2.2.2 Nanopartiküllerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) analizi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, temel fonksiyonel grupların belirlenmesi ve sentezlenen nanopartiküllerde serbest amin grupları, sistein kalıntıları veya karboksil gruplarının elektrostatik çekim yoluyla spesifik olarak bağlandığı biyomoleküllerin karakterize edilmesi için kullanılmaktadır. Kızıl ötesi ışığın numuneden geçirilerek numune molekülleri tarafından absorbe edilmesi ve numune tarafından saçılan kızılötesi ışığın spektral bileşenlerinin tespit edilmesi mantığıyla çalışmaktadır. Sonuç olarak elde edilen spektrumlar numunedeki farklı moleküler emilimleri temsil etmektedir. Numune içeriğindeki kimyasal bağların ve fonksiyonel grupların farklılığına göre

emilimler değişmektedir (Dutta, 2017). Bu teknik gümüş nanopartiküllerin biyosentezinde, AgNO_3 'ün AgNP 'lere indirgenmesindeki, biyolojik moleküllerin rolünün uygun maliyetli ve basit bir yöntemini sunmaktadır (Patil ve Chougale, 2021). Biyosentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP, POST-AgNP) FT-IR analizleri Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ASÜBTAM) hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılım X-RAY spektroskopisi (EDS) analizi

SEM analizi, nanopartiküllerin moleküler düzeyde görüntülenmesini sağlayan bir yöntemdir. Nanopartiküllerin boyut, şekil ve yüzey morfolojisini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. EDS analizi ise sentezlenen nanopartiküllerin yüzeysel element kompozisyonunun belirlenerek genel bir elementel haritasının yapılmasını sağlayan bir yöntemdir (Jabbar vd., 2021). Biyosentezi gerçekleştirilen (KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP, POST-AgNP) gümüş nanopartiküllerin SEM-EDS analizleri ASÜBTAM tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4 Zeta potansiyel ve zeta boyut analizi

Zeta potansiyel ve zeta boyut analizi sentezlenen nanoparçacıkların boyutu, ortalama çapı ve yüzey yükünün belirlenmesini sağlamaktadır (Tiwari vd., 2022). Biyosentezi gerçekleştirilen (PRE-AgNP, PRO-AgNP, POST-AgNP) gümüş nanopartiküllerin analizleri Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.5 X-Işını difraksiyon (XRD) analizi

X-ışını kırınımı (XRD) tipik olarak malzemelerin kristal yapısı hakkında bilgi sağlamak için kullanılan bir yöntemdir. Doku iskeleleri ve nanobiyokonjugat gibi katmanlı malzemelerin biyolojik matrisleri içerisine gömülü nano boyutlu

malzemeleri karakterize etmek için de sıklıkla kullanılmaktadır (Sapsford vd., 2011). Sentezlenen nanopartiküllerin (PRE-AgNP, PRO-AgNP, POST-AgNP) XRD analizleri Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.



3.2.3 Nanopartiküllerin biyolojik aktivitesinin belirlenmesi

3.2.3.1 Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. enteritidis* ATCC 13076, *B. cereus* ATCC 863 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 bakterileri ile *C. albicans* ATCC 14053 mayası üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon metodu ile belirlenmiştir (Arifin vd., 2020). KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. enteritidis* ATCC 13076, *B. cereus* ATCC 863 bakterileri için Nutrient Broth(NB) ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 bakterisi için Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 37°C'de, *C. albicans* ATCC 14053 mayası ise YEPD broth besiyerinde 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak geliştirilmiştir. İki kez aktifleştirilen kültürler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek iki kez serum fizyolojikle yıkanarak, yoğunluğu Mc Farland 0.5'e ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanan kültürlerden seyreltimler yapılarak Nutrient Agar (NA), Tryptic Soy Agar (TSA) ve YEPD agar besiyerlerine ekilerek 37°C'de 24 saat (maya için 30°C'de) inkübasyona bırakılarak canlı mikroorganizma sayısı kob/mL olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite testlerinde kültür yoğunluğu yaklaşık 10^5 - 10^6 kob/mL olan seyreltimler kullanılmıştır. Yoğunluğu ayarlanan kültürlerden besiyerlerine dökme plak yöntemi ile %2'lik ekimler yapılarak petrilerde ki agarların donması sağlanarak 0.6 cm genişliğinde kuyular açılmıştır. Kuyulara KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin hazırlanan akuatik çözeltilerinden 100 µg içerecek şekilde eklenerek 4°C' de 45 dakika bekletilerek difüze olması sağlanarak, petriler uygun sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kuyuların etrafında oluşan inhibisyon zonları kumpas ile ölçülerek (mm) KİM-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel ve antifungal aktivitesi karşılaştırılmalı olarak belirlenmiştir (Saravanan vd., 2018).

3.2.3.2 Nanopartiküllerin planktonik bakteri hücreleri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenmesi

PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri NB ve YEPD broth besiyerlerinde iki kat seyreltmeli mikrodilüsyon yöntemi antibiyofilm deneyinde kullanılacak olan *P. aeruginosa* ATCC 27853, ve *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterileri ve *C. albicans* ATCC 14053 mayası kullanılarak belirlenmiştir (NCCLS, 2006). MİK ve MBK değerleri, 96 kuyucuklu steril mikrotelater kullanılarak test edilmiştir. Test bakterileri NB ve YEPD broth besiyerlerinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak geliştirilmiştir. İki kez aktifleştirilen bakteriyel kültürlerin optik yoğunlukları (OD) aynı besiyerlerinde 600 nm de $0,5 \pm 0,02$ OD'ye ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanan bakteri kültürlerinden seri dilüsyonlar hazırlanarak canlı bakteri sayısının tespit edilmesi için 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda yaklaşık 10^5 - 10^6 kob/mL olan seyreltim tespit edilerek MİK ve MBK deneylerinde kullanılmıştır. Nanopartiküller 1/2 oranında steril deiyonize suda dilüsyonları (1000, 500, 250, 125, 62,50; 31,25; 15,62; 7,8; 3,9; 1,95; 0,975 µg/mL) yapılarak 96'lık mikrotelaterlere 100 µL eklenmiştir. Başlangıç konsantrasyonu olarak nanopartiküllerin 2000 µg/mL'lik derişimi kullanılmıştır. Mikrotelaterdeki her bir kuyuya yoğunlukları ayarlanan test bakterilerinden 100 µL eklenerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Yoğunluğu ayarlanan test bakterilerinden kuyulara 200 µL eklenerek aynı koşulda inkübasyona bırakılarak çalışmada pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Aynı koşullarda 200 µL besiyeri içeren kuyularda negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyondan sonra görülebilir üremenin gözlenmediği konsantrasyon en düşük inhibisyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir (ChroMate). Antibakteriyel etkinliğin gözle görülebilir olarak belirlenmesi için MİK deney setinden her bir test grubundan 10 µL NA ve YEPD agar besiyerlerine nokta damlatma yöntemi ile ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda NA ve YEPD agar besiyerlerinde koloni oluşumu görülmeyen konsantrasyon (%99.9 ölüm etkinliği) en düşük bakterisidal konsantrasyon (MBK) olarak belirlenmiştir (Koo vd., 2000).

3.2.3.3 Antibiyofilm aktivite analizi

Test mikroorganizmalarının biyofilm aktivitelerinin mikrolate yöntemi ile belirlenmesi

Biyofilm yapma yetenekleri belirlenmek istenen *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterileri ile *C. albicans* ATCC 14053 mayasının biyofilm yapma oranları mikrolate yöntemi ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Mikrolate yönteminde test edilecek olan patojen mikroorganizmalarının OD'leri 620 nm dalga boyunda $0,5 \pm 0,02$ olarak ayarlanmıştır. Bu çalışmada steril boş besiyeri kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ayrıca zayıf biyofilm aktivitesi tespit edilen *E. faecalis* RI11 suşu da test edilmiştir (. OD'leri ayarlanan mikroorganizmalar ve kontrol grupları 96 kuyucuklu mikrolate kuyularına 200 µL eklenmiş ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Biyofilm oluşumunu tespit etmek için, inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra kuyulardaki sıvı faz uzaklaştırılmıştır. Kültür ortamından oluşabilecek kalıntıları temizlemek amacıyla kuyular steril SF (%0,875) ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kuyular 200 µL %95'lik metanol ile 15 dk. fikse edilmiştir. Ardından kuyuların içerisinde bulunan metanol uzaklaştırılmış ve kuruma işlemi için plak oda sıcaklığında 45 dk. bekletilmiştir. Biyofilmi boyama işlemi için her kuyuya 200 µL %1'lik kristal viyole solüsyonu eklenmiş ve 45 dk. bekletilmiştir. Boyama işleminin ardından, boya kuyulardan uzaklaştırılmış ve kuyularda boya kalıntısı kalmayacak şekilde distile su kullanılarak yıkama işlemi yapılmış ve mikrolateler oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra, kuyulara tutunmuş olan boyaları çözdürmek için 200 µL %33'lük glasiyel asetik asit eklenerek 15 dk. bekletilmiş ve plaklar mikrolak okuyucuda (Epoch, Biotek) 630 nm'de okutulmuştur. Altı paralel olacak şekilde hazırlanan örneklerin absorbans değerlerinin ortalamaları alınarak biyofilm yapma oranları hesaplanmıştır (Sayem vd., 2011). Test edilen tüm suşların, pozitif ve negatif kontrollerin ortalama OD değerleri hesaplanmıştır. Boş besiyerlerin ortalama OD'si ile negatif kontrolün standart sapması toplanarak cut-off değeri (OD_c) oluşturulmuştur. Test suşunun nihai OD'si ise ölçülen OD değerinin ortalamasından cut-off değerinin çıkartılmasıyla elde edilmiştir. Test edilen suşların biyofilm aktivitesi aşağıda verilen formüller baz alınarak belirlenmiştir. Buna göre;

Çizelge 3.3: Biyofilm aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan formüller (Stepanović vd., 2007).

Formül	Açıklama
$OD \leq OD_c$	Biyofilm aktivitesi yok
$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	Zayıf biyofilm aktivitesi
$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	Orta biyofilm aktivitesi
$4 \times OD_c < OD$	Güçlü biyofilm aktivitesi

OD_c: Kontrol grubu ortalama OD+3×kontrol grubu standart sapması.

OD: Biyofilm üreten patojenin ortalama OD'si olarak hesaplanmıştır (Stepanović vd., 2007).

Gümüş nanopartiküllerin antibiyofilm aktivitesi

PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antibiyofilm etkisi mikropate yöntemi ile belirlenmiştir (Miškovská vd., 2022). Antibiyofilm deneylerinde, biyofilm oluşturduğu bilinen Gram negatif *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve Gram pozitif ve *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterileri ve *C. albicans* ATCC 14053 mayası test mikroorganizmaları olarak kullanılarak ayrı deney setlerinde test edilmiştir (Anjum vd., 2018; Min vd., 2020). Mikroplatedeki kuyucuklara OD'leri 600 nm'de $0,5 \pm 0,02$ OD'ye ayarlanan ($\sim 10^5$ - 10^6 kob/mL) *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterilerinden ve *C. albicans* ATCC 14053 mayasından 200 µL inoküle edilerek 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda test bakterilerinin kuyuların tabanında biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir. Biyofilme tutunmayan serbest planktonik hücreler mikropipet ile dikkatli bir şekilde uzaklaştırılarak biyofilm 3 kez PBS tamponu (pH 7,4) ile yıkanmıştır. Biyofilmlerin üzerine antibiyofilm özelliği belirlenecek olan PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin belirlenen konsantrasyonları 200 µL besiyerinde hazırlanarak eklenerek (her test grubu için 5 kuyu) ve 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Antibiyofilm deney setinde kontrol grubu olarak sadece besiyeri eklenen kuyuların değeri kullanılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda kuyulardan test edilen sıvı fazlar mikropipet yardımıyla uzaklaştırılarak 3 kez 200 µL PBS tamponu (pH 7,2) ile yıkanarak tekrar aynı hacimde tampon ile resüspanse edilmiştir. PBS tamponu bulunan kuyular 10 dakika

sondikasyona (Hielscher UP100H) maruz bırakılarak biyofilmin mikroplateden ayrılması sağlanmış ve oluşan biyofim süspansiyonlarından seri dilüsyonlar hazırlanarak Nutrient Agar ve YEPD Agar besiyerlerine ekilerek 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda petrilerdeki canlı bakteri sayısı tespit edilerek; PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerin antibiyofilm etkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Petrilerde görülebilir kolonin tespit edilemediği PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerin konsantrasyonu minimum biofilm eradikasyon konsantrasyonu (MBEK) olarak tespit edilmiştir.

3.2.3.4 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Metanol içerisinde DPPH'nin (0,2 mM) bir stok çözeltisi hazırlanmıştır. Biyosentezlenmiş AgNP'lerin 1, 2, 4 ve 5 mg/mL konsantrasyonlarından 200 µL alınarak üzerine 400 µL 0,2 mM DPPH (metanol içinde) ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı, 100 rpm'de bir çalkalayıcıda karıştırılarak ve daha sonra karanlıkta ortam sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. 517 nm absorbans, kontrol olarak metanole karşı belirlenmiştir. Ayrıca standart çözelti olarak askorbik asit kullanılmıştır. Serbest radikal temizleme aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (Zeinivand vd., 2023).

$$\text{Süpürme aktivitesi (\%)} = [B - (S - Sc)]/B \times 100\% \quad (3.1)$$

B, örnek çözeltisinin çözücüyle değiştirilmesiyle hazırlanan kör çözeltinin absorbansı (200 µL su + 400 µL DPPH) S: örnek çözeltilerinin absorbansı, Sc: DPPH çözeltisinin etanol ile değiştirilmesi elde edilen kontrol örneğinin absorbansı (200 µL örnek + 400 µL EtOH).

3.2.4 Gümüş nanopartiküllerin sitotoksik etkisinin belirlenmesi

L929 fare fibroblast sağlıklı hücre hatları kullanılarak PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lerin *in vitro* sitotoksik etkisi ve biyoyumluluğu belirlenmiştir. Hücreler yüksek glikoz içeren (4,5 g/L) %10 ısı ile inaktive edilmiş fetal bovin serum (FBS), penisilin/streptomisin ve L-glutamin (2 mM) ile desteklenmiş Dulbecco’s modified Eagle’s Medium (Cegrogen) besiyerinde geliştirilmiştir. L929 hücreleri %5 CO₂’li ortamda 37°C’de kültüre edilmiş ve besiyerleri ekimin birinci gününün

sonunda her 48 saatte bir değiştirilmiştir. Hücreler %80-90 konfluentliğe ulaştıktan sonra %0,05 tripsin/EDTA ile toplanmıştır. Konfluent duruma gelen T-25 flasktaki L929 hücreleri tripsinize edilmiştir. Thoma lamı kullanılarak hücre sayımı yapılmıştır. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MTT ölçümleri yapmak için 96 well platelere kuyu başına 2×10^4 hücre olacak şekilde 100 μ L ve 6 tekrarlı olarak ekilerek, plateler 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda (24 saat) hücrelerin analize uygunluk durumu mikroskopta incelenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda (24 saat) hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırılarak belirlenen dilüsyon konsantrasyonlarında PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin hücrelere 100 μ L olacak şekilde eklenmiştir. Kontrol kuyularının üzerindeki besiyeri de filtre besiyeri ile değiştirilerek tazelenmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler eklendikten 24, 48 ve 72 saat sonunda ölçümler için belirlenen 96 well platelere kuyu başına 11 μ L MTT (5 mg/mL) solüsyonu eklenerek 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda (3 saat) mikroskopta formazan kristalinin oluşumu kontrol edildikten sonra kuyulardaki ortamlar uzaklaştırılarak, formazan kristallerini çözmek için her kuyuya 100 μ L analitik DMSO eklenmiştir. DMSO ilave edildikten sonra oluşan renk 492 nm'lik dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. NP uygulanmayan kuyular kontrol grubu olarak değerlendirilerek ve % canlılık kontrol grubu ile kıyaslanarak aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (Raveendran vd., 2013; Cerchiara vd. 2017).

$$\% \text{ Canlılık} = (\text{Örnek absorbansı} \times 100 / \text{Kontrol absorbansı}) \quad (3.2)$$

Örnek absorbansı (100 μ L PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin ve 100 μ L besiyerinin absorbansı), Kontrol absorbansı (PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP) nanopartikül içermeyen besiyerinin absorbansı.

3.2.5 İstatiksel değerlendirme

L. rhamnosus ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan ve sitotoksik aktivite çalışmaları 2 paralelli ve 3 tekerrürlü yapılmış ve ortalama değerler verilmiştir. Elde edilen veriler, SPSS 18.0 istatiksel programda değerlendirilmiştir. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen nanopartiküllerin sitotoksik aktivitele verilerinin analizi, GraphPad Prism yazılımının sürüm 5 versiyonu (GraphPad Software®) kullanılarak yapılmıştır. Veriler, ortalamanın (SEM) ortalama-standart hatasını temsil etmektedir. İstatistiksel farklılıklar Tek Yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni post-hoc testi (%95 güven aralığı) ile değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ olan p değerleri istatistiksel olarak fark olarak kabul edilmiştir (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$).

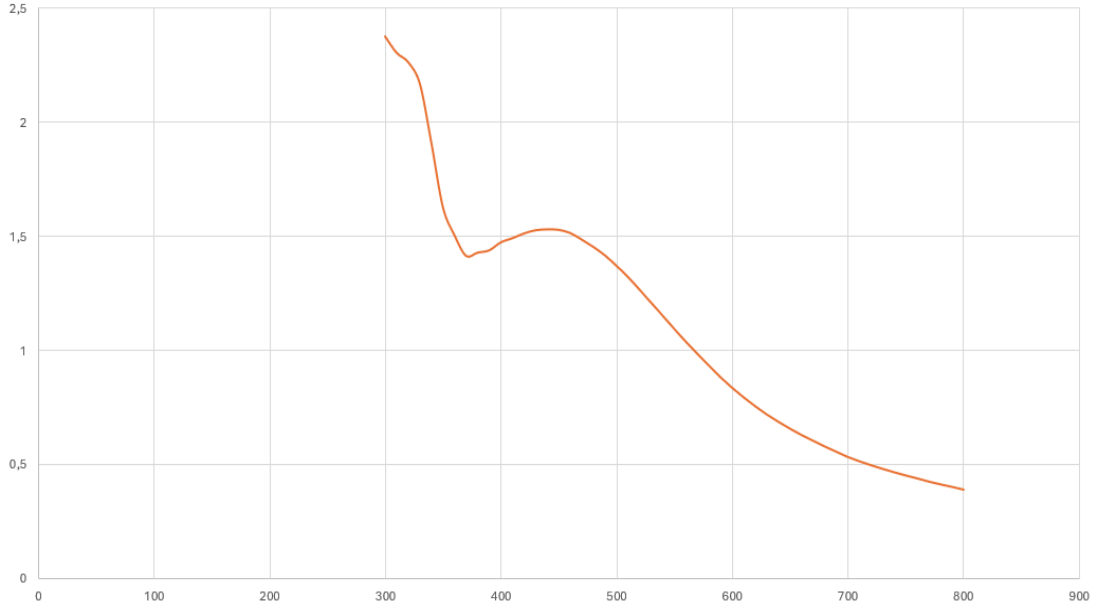
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Nanopartiküllerin Sentez ve Karakterizasyonu

4.1.1 Bakteriyel ekzopolisakkarit aracılı sentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (PRE-AgNP) sentezi ve karakterizasyonu

4.1.1.1 PRE-AgNP'lerin sentezi ve UV-vis analizi

L. rhamnosus ACS5 bakterisi tarafından üretilen kısmi saflaştırılmış L-EPS-ACS5' in pH'sı ayarlanmış sulu gümüş nitrat çözeltisine eklenmesiyle gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon öncesinde renksiz karışım, yüzey plazmon titreşim uyarımları sayesinde açık sarımsı bir renkten kahverengiye dönüşmüştür. Yapılan gözlemlere göre reaksiyonda renk değişimlerinin kademeli olarak 6 saat içerisinde oluşması ve bu durumun ek herhangi bir toksik kimyasal veya enerji girdisi gerektirmeden gerçekleşmesi yeşil sentez metoduna uygun bir yaklaşım sergilediğimizi göstermektedir. Nanopartiküllerin oluşumunu gösteren görsel Şekil 3.1.'de verilmiştir. Altı saatlik inkübasyon sonrasında oluşan nanopartiküllerin UV spektrumları 200 ila 700 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapılarak değerler kaydedilmiştir. Sivasankar vd. (2018) *Streptomyces violaceus* MM72 tarafından üretilerek saflaştırılan EPS ile gümüş nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirmiştir. UV-vis spektrumunda 420 nm'de absorbans gösteren gümüş nanopartiküller ile L-EPS-ACS5 kullanılarak sentezlenen PRE-AgNP'lerin UV-vis spektrumu paralellik göstermektedir (Şekil 4.1).



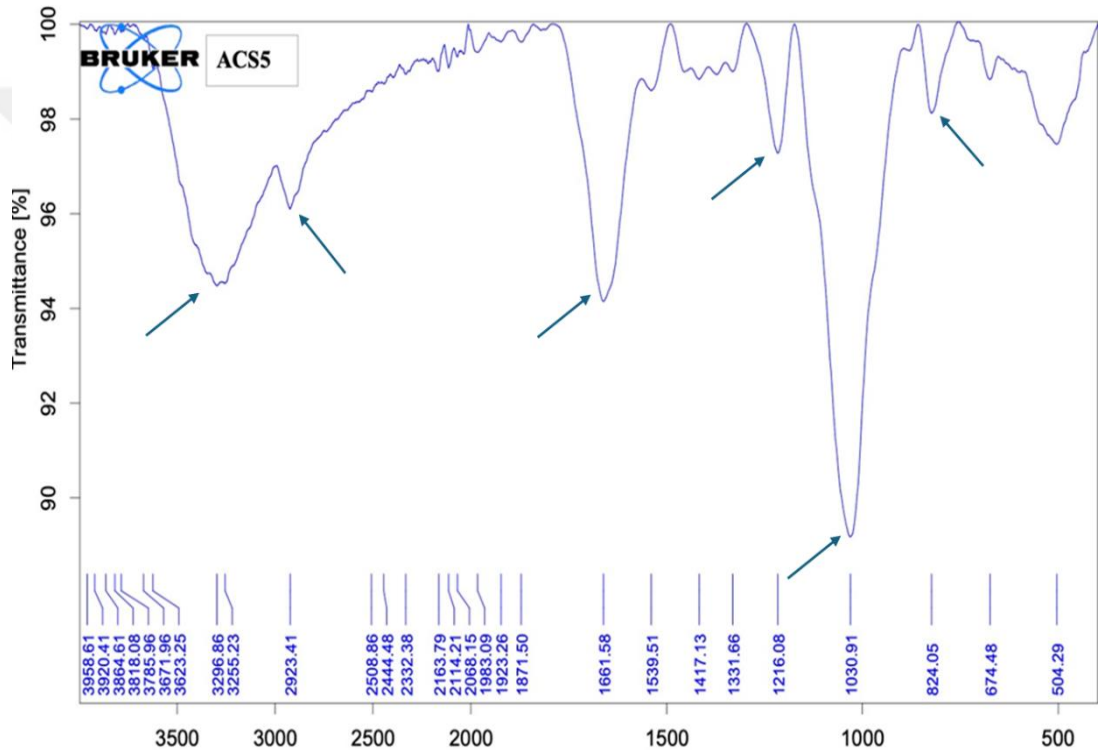
Şekil 4.1. PRE-AgNP’lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.

4.1.1.2 PRE-AgNP’lerin FTIR analizi

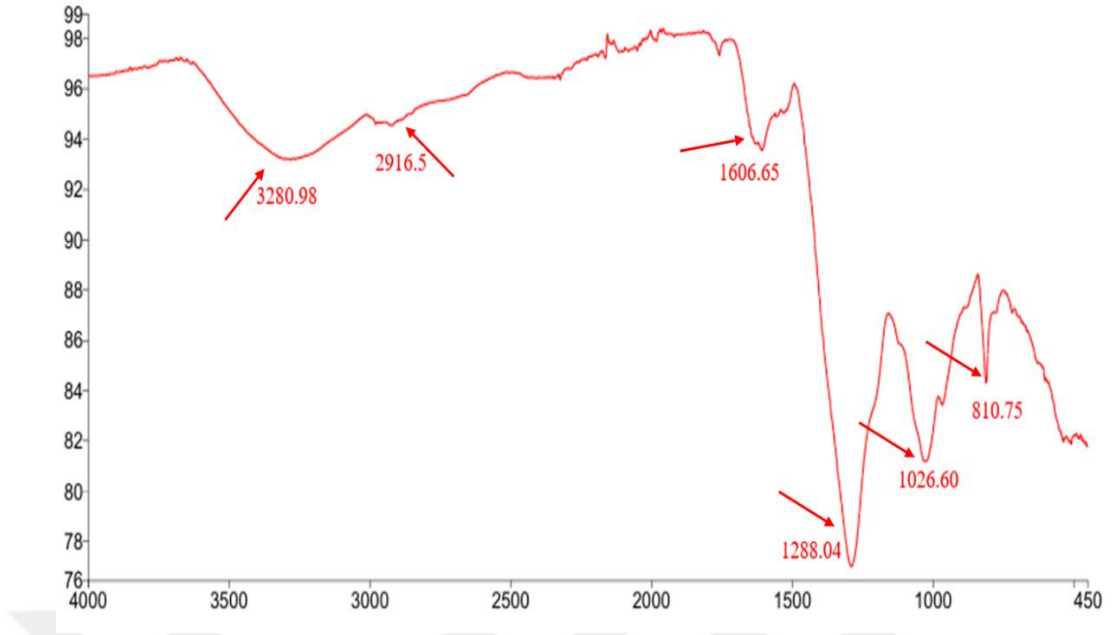
FT-IR analizi, Ag^+ ’nin PRE-AgNP’lere indirgenmesinden sorumlu olan biyosentezlenmiş nanopartiküllerdeki çeşitli fonksiyonel grupların tanımlanması için kullanılmıştır. IR spektrumu, numuneyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile gösterilir (Büyüksint ve Kuleaşan, 2014). L-EPS-ACS5’in FT-IR analizleri TÜBİTAK 120Z573 kodlu projede daha önceden tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

L-EPS-ACS5’in 3297 cm^{-1} ’deki ($-\text{OH}$ ve $-\text{N-H}$) gerilme titreşimi ile oluşan sinyaller (karboksilik asitler, karboksilatlar, esterler, karboksil veya amidler), biyosentezlenmiş AgNP’lerden elde edilen FTIR spektrumunda $3280,98 \text{ cm}^{-1}$ ’ye kayma göstermiştir. Burada $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}$ gruplarının çakışması sonucu oluşan pikin düzgünlüğü, derinliği ve genişliği $-\text{NH}$ grubunun baskın olduğu sonucunu vermektedir. 2923 cm^{-1} ’deki ($-\text{C-H}$) gerilme titreşimleri $2916,5 \text{ cm}^{-1}$ ’ye, 1662 cm^{-1} ’deki ($-\text{C=O}$) gerilme titreşimleri $1606,65 \text{ cm}^{-1}$ ’ye kayması nanopartiküllerin biyosentezi gerçekleştirilirken oluşan yeni bağ ve fonksiyonel grupların varlığından kaynaklı olabilmektedir. L-EPS-ACS5’in $1661,91 \text{ cm}^{-1}$ ’deki karboksilat grubundan kaynaklanan pikin $1606,65 \text{ cm}^{-1}$ ’ye kayması schiff bazı ve ($-\text{C=O}$) imin bağlarının oluşundan kaynaklanmaktadır (Şekil 4.2). 1288

cm^{-1} ' deki (C-N) tekli bağ eğilme titreşimleri sonucu oluşan amid 3 bağlarını işaret etmektedir. Aromatik halkaya karşılık gelen $810,75 \text{ cm}^{-1}$ 'de çeşitli adsorpsiyon pikleri biyosentezlenmiş AgNP'lerden kaynaklı oluşan pikleri göstermektedir (Şekil 4.3). Ayrıca 1030 cm^{-1} 'deki (şeker halkası) polisakkaritler için spesifik olan (-O-H) eğilme titreşimi L-EPS-ACS5'in nanopartiküllerin biyosentezine katıldığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, daha önce *Lactobacillus brevis* MSR104, *Bacillus subtilis* ve *Tribulus terrestris* ekzopolisakkaritleri aracılı AgNP sentezinin FTIR spektrumları ile tutarlıdır (Gopinath vd., 2012; Rajoka vd., 2020; Zhao vd., 2019).



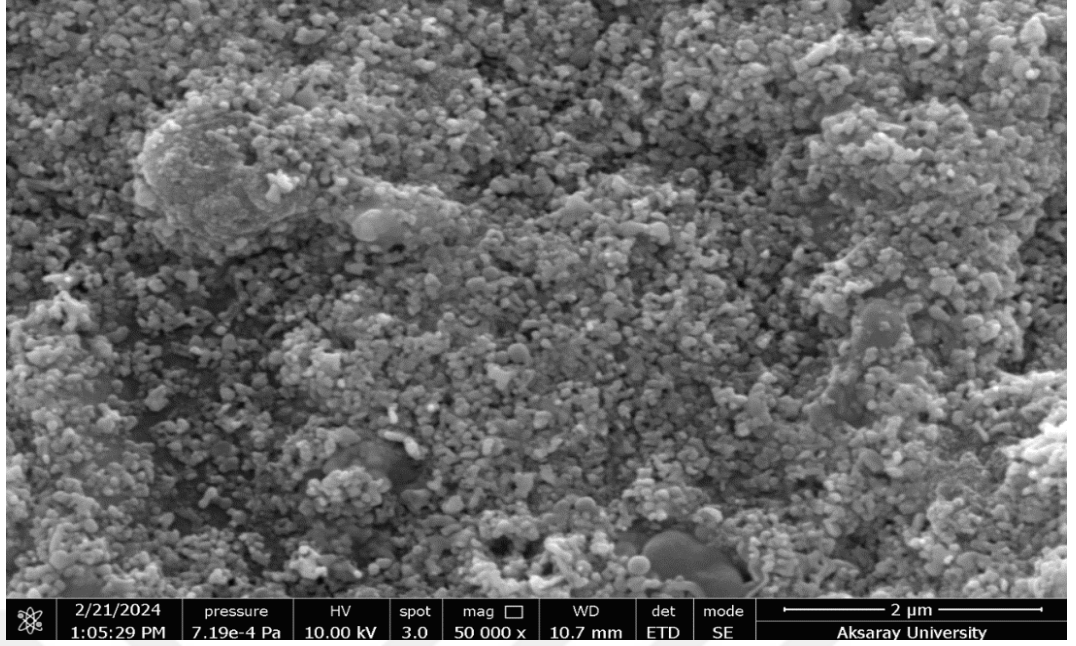
Şekil 4.2. L-EPS-ACS5'in FTIR spektrumu (Önal Darılmaz vd., 2023).



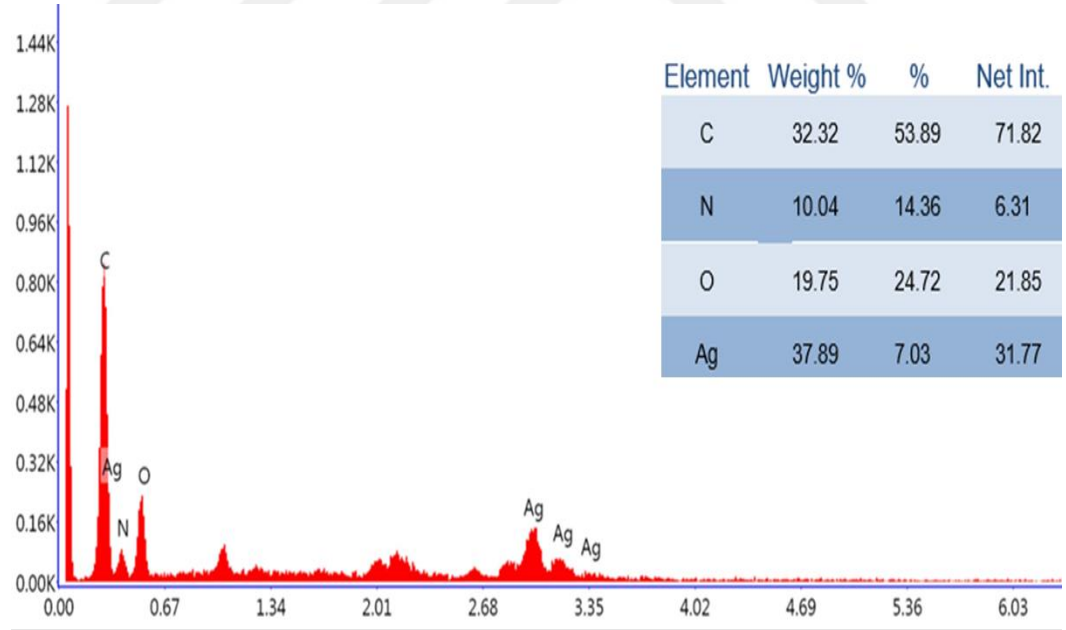
Şekil 4.3. PRE-AgNP'lerin FTIR spektrumu.

4.1.1.3 PRE-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri

Biyosentezi gerçekleştirilen PRE-AgNP'lerin taramalı elektron mikroskobu ile farklı büyütme ölçeklerinde görüntülenmesi sonucu, morfolojilerinin küresel şekilli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Ayrıca enerji dağılım spektroskopisi ile de nanopartiküllerde elementel gümüşün varlığı doğrulanmıştır. Metalik gümüş nanopartiküller yüzey plazmon rezonansı nedeniyle genellikle yaklaşık 3 keV'de tipik optik absorpsiyon piki göstermektedir. EDS analizine göre PRE-AgNP'ler yaklaşık 3 keV'de ki gümüş bölgesinde güçlü sinyaller göstermiştir. Böylece bu güçlü sinyaller gümüş nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamaktadır (Şekil 4.5). Bankura vd. (2012) dekstran ile stabilize ederek gümüş nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirmiştir. Biyosentezi gerçekleştirilen dekstran bazlı gümüş nanopartiküllerin 3 keV'de ki optik absorpsiyon piki PRE-AgNP'lerin EDS spektrumundaki pik ile paralellik göstermektedir.



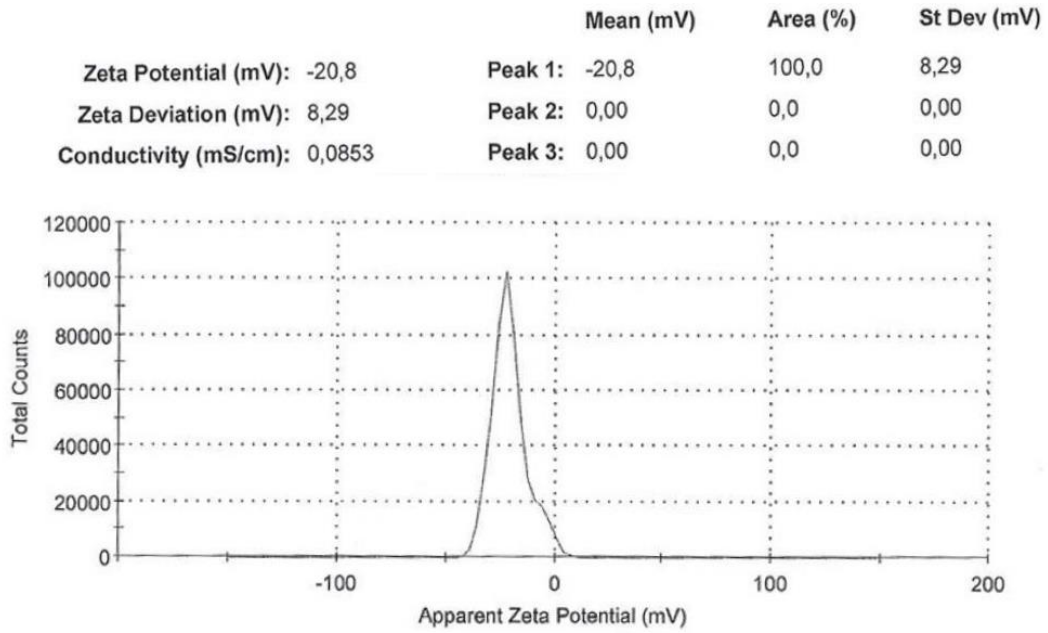
Şekil 4.4. PRE-AgNP’lerin (SEM) görüntüsü (50 000X).



Şekil 4.5. PRE-AgNP’lerin EDS kromatogramı.

4.1.1.4 PRE-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri

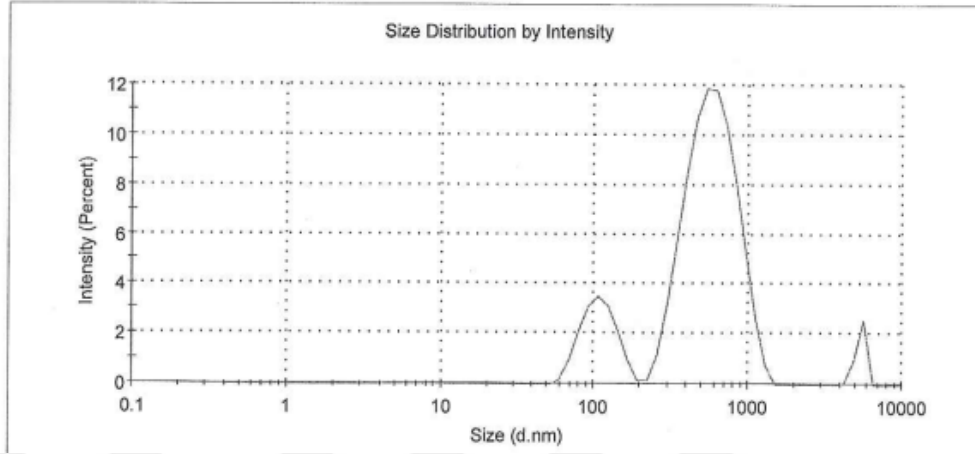
Biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküllerin zeta potansiyel değeri kolloidal stabilitesini göstermektedir. Analize göre zeta potansiyel değeri -20,8 mV ve zeta boyut değeri 383,2 nm olarak tespit edilmiştir. Concórdio-Reis vd. (2023) tarafından sentezi bildirilen gümüş nanopartiküllerin zeta potansiyel değeri -42,37 ve zeta boyut değeri 15 nm olarak bildirilmiştir. Çalışma ile karşılaştırıldığında nanopartiküllerin kendi içinde etkileşimlerinin zayıf olduğu ve agregasyon ihtimalinin olabileceği bu sebeplede parçacık boyutunun tam olarak belirlenemediği düşünülmektedir. SEM görüntülerine bakılarak nanopartiküllerin zeta boyut analizine kıyasla daha küçük boyutlarda olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca nanopartiküllerin stabil ve dağılımlarının iyi olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.6. PRE-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 383,2	Peak 1: 599,2	79,9	214,8
Pdl: 0,650	Peak 2: 110,3	16,5	29,18
Intercept: 0,879	Peak 3: 5327	3,6	377,3

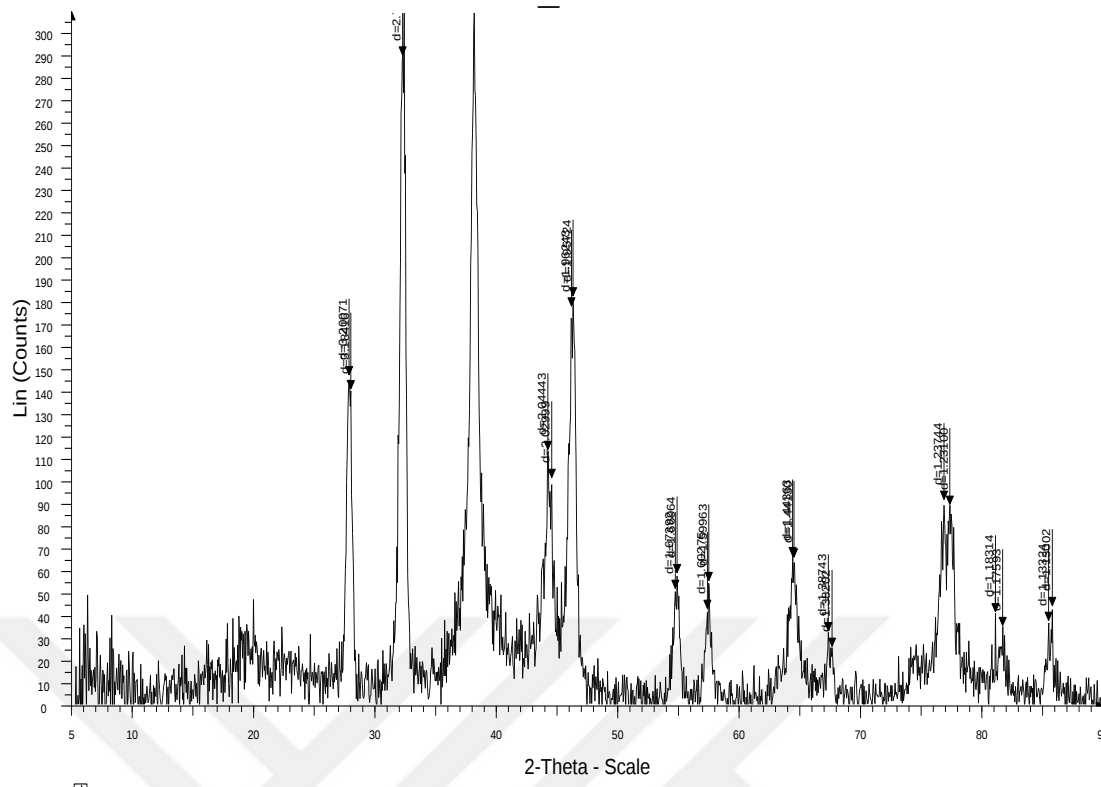
Result quality Refer to quality report



Şekil 4.7. PRE-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.

4.1.1.5 PRE-AgNP'lerin XRD analizi

L-EPS-ACS5'in indirgeyici ajan olarak kullanıldığı gümüş nanopartiküllerin kristalografik yapısı XRD analizi ile tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Sentezlenen PRE-AgNP'ler keskin kırınım çizgileri sergilemiştir. 2θ (Theta) değerlerinde 29.6° , 33.5° , 36.64° , 47.78° , 54.92° , 57.5° , 71.92° ve 87.42° piklerin varlığı, ilgili (100), (110), (111), (210), (211), (211), (310) ve (320) d aralıklarına karşılık gelmektedir (Şekil 4.8). Galvez vd. (2019) *Bacillus krulwichiae* M2.5 ve *Bacillus cellulosilyticus* M4.1'den ekstrakte edilen ekzopolisakkaritin kullanılmasıyla AgNP'lerin biyosentezini gerçekleştirmiştir. Elde edilen gümüş nanopartiküllerin 2θ bölgesinde ki XRD pikleri ile PRE-AgNP'lerin pikleri tutarlılık göstermektedir. Çalışmadan elde edilen verilerle beraber PRE-AgNP'lerden elde edilen tipik Ag kırınım pikleri, kristal nanopartiküller üzerinde yüz merkezli kübik yapının varlığına işaret etmektedir (Kanmani ve Lim, 2013). Sonuç olarak PRE-AgNP'lerin oluşumunda EPS-Ag⁺ iyonu etkileşimlerinin olduğu düşünülebilir.



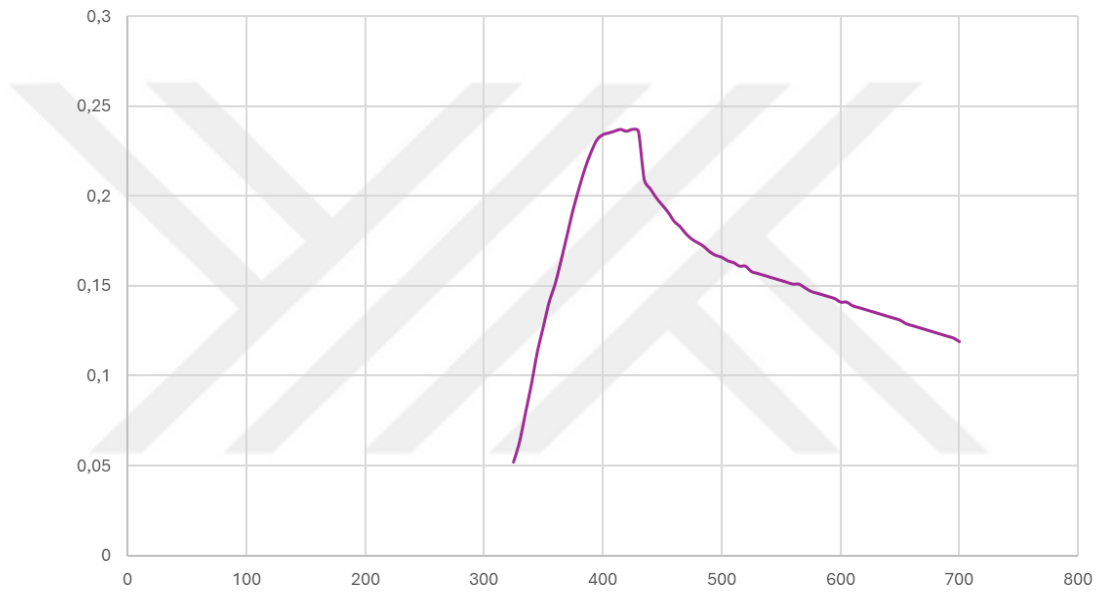
Şekil 4.8. PRE-AgNP'lerin XRD kromatogramı.

4.1.2 *L. rhamnosus* ACS5 canlı bakteri biyokütlesi kullanılarak gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (PRO-AgNP) sentez ve karakterizasyonu

4.1.2.1. PRO-AgNP'lerin sentezi ve UV-VIS analizi

L. rhamnosus ACS5 bakterisinin 2 gr ıslak biyokütlesine sulu gümüş nitrat çözeltisinin eklenmesiyle gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon öncesinde beyaz renkli karışım, yüzey plazmon titreşim uyarımları sayesinde açık beyaz bir renkten koyu kahverengiye dönüşmüştür. Nanopartiküllerin oluşumunu gösteren görsel Şekil 3.4.'de verilmiştir. Sulu gümüş nitrat çözeltisindeki ardışık renk değişimleri gümüş nanopartiküllerin oluşumunu göstermektedir. Aynı koşullarda iki ay süreyle karanlık ortamda kontrol amaçlı bırakılan, bakteri biyokütlesi içeren sulu gümüş nitrat çözeltisinde hiçbir renk değişimi gözlenmemiştir. Bu da *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin gümüş nanopartikülleri sentezlemek için fotokatalitik bir aktiviteye ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Yapılan gözlemlere göre reaksiyonda renk değişimlerinin kademeli olarak 24 saat içerisinde oluşması ve bu durumun ek herhangi bir toksik kimyasal veya enerji girdisi gerektirmeden gerçekleşmesi yeşil sentez

metoduna uygun bir yaklaşım sergilediğimizi kanıtlamaktadır. inkübasyon sonrasında oluşan nanopartiküllerin UV spektrumları 200 ila 700 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapılarak yüzey plazmon zirvesinin belirlendiği bölgeye kadar kaydedilmiştir. Mohd Yusof vd. (2020a) tarafından *Lactobacillus plantarum* TA4 suşu kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin UV-vis absorpsiyonundaki 429-430 nm'deki spektrumu ile *L. rhamnosus* ACS5 canlı bakteri biyokütlesi kullanılarak sentezlenen PRO-AgNP'lerin UV-vis spektrumu göstermektedir.

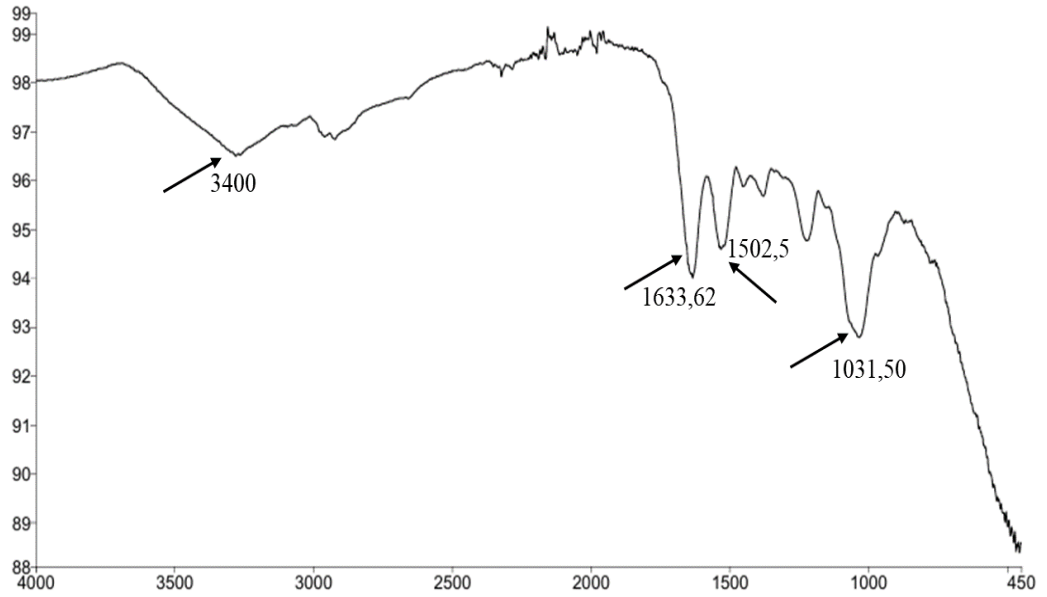


Şekil 4.9. PRO-AgNP'lerin sentez sonrası UV-VIS spektrumu.

4.1.2.2 PRO-AgNP'lerin FTIR analizi.

PRO-AgNP'lerin FTIR spektrumları incelendiğinde $3000-3400\text{ cm}^{-1}$ arasında yer alan zayıf absorpsiyon bantları (N-H, O-H) hidroksil gruplarının ve amin gruplarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Buradaki karakteristik, belirgin, geniş spektral bantlar, hidroksil fonksiyonel grubunun O-H gerilme titreşim tipine ve amino asitler, peptitler ve proteinlerin birincil ve ikincil aminlerindeki N-H gerilme titreşimlerinden kaynaklı olabilmektedir. AgNP spektral profilindeki pik kayması, bu kimyasal fonksiyonel gruplar ile AgNPs arasındaki etkileşimlere bağlanabilir. Aminoasitlerde

1700 cm^{-1} 'de meydana gelen karboksilat grubundan kaynaklanan pikin, 1633,62 cm^{-1} 'ye kayması karboksilat grubunun Ag^+ ile etkileşiminden (peptit bağı yada amid I'in C=O gerilmesi) kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1031,50 cm^{-1} 'deki (şeker halkası) polisakkaritler için spesifik olan (-O-H) eğilme titreşimi bakterinin metal iyonlarını tolere etmek için bir EPS matrisi oluşturmuş olabileceğini düşündürmüştür. Spektrumda gözlemlenen $\sim 1500 \text{ cm}^{-1}$ 'deki yoğun bant C-N tekli bağı gerilme titreşiminden kaynaklanan amid II'ye işaret etmektedir. *L. plantarum* TA4 ile biyosentezlenen gümüş nanopartiküller ile *L. rhamnosus* ACS5 ile sentezlenen PRO-AgNP'lerin FTIR spektrumları benzerlik göstermektedir (Mohd Yusof vd., 2020b). Hamouda vd. (2019) *Oscillatoria limnetica* siyanobakterisini kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirmiştir. Sentezlenen nanopartiküller ile PRO-AgNP'lerin FTIR spektrumları benzerlik göstermektedir.

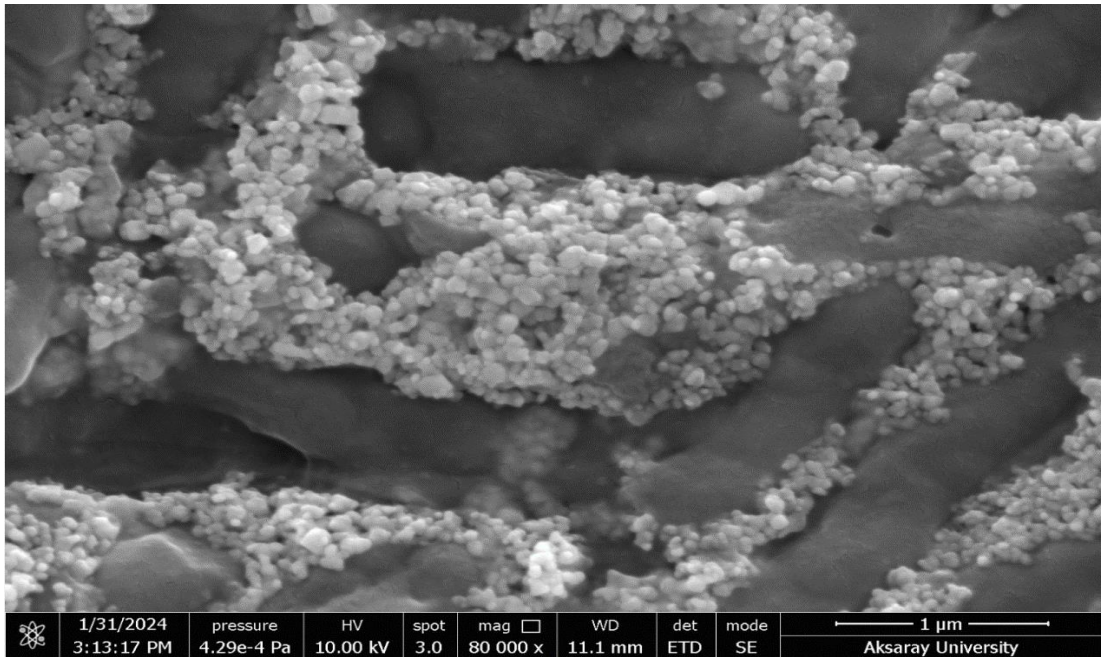


Şekil 4.10. PRO-AgNP'lerin FTIR spektrumu.

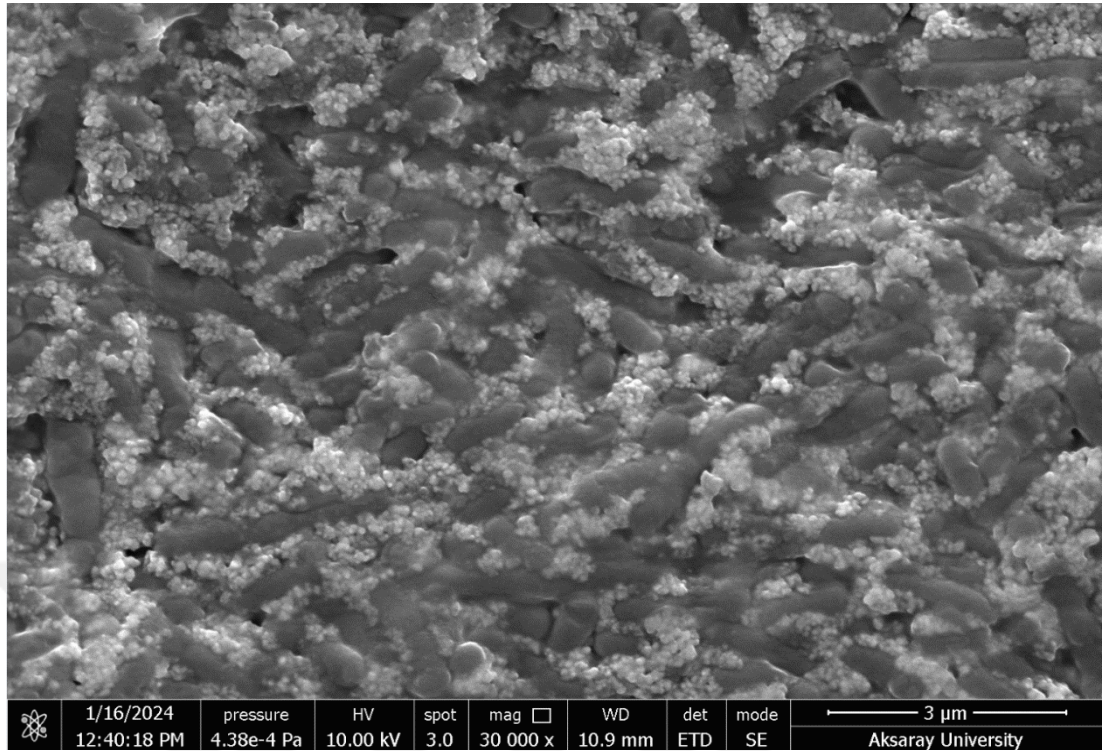
4.1.2.3 PRO-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri

Biyosentezi gerçekleştirilen PRO-AgNP'lerin taramalı elektron mikroskobu ile farklı büyütmelerde görüntülenmesi sonucu, morfolojilerinin küresel şekilli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Nanopartiküllerin *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin yüzeyinde

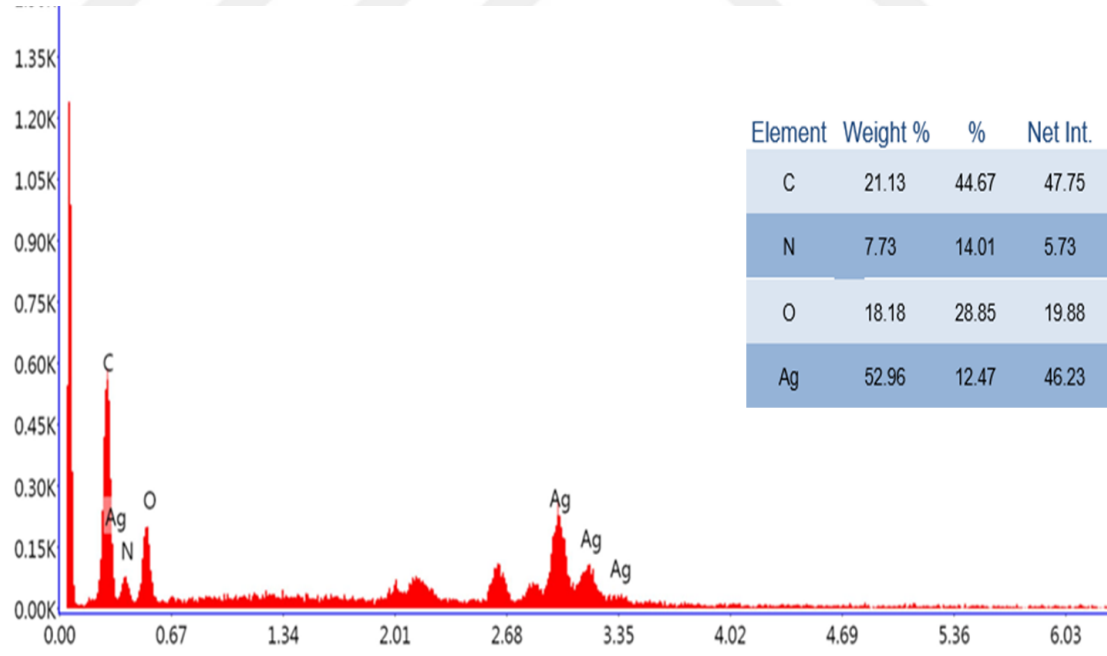
tutunmuş halde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.12). Bu da nanopartiküllerin sentezinde gram pozitif bakterilerdeki kalın peptidoglikan tabakada bulunan teikoikasıit, lipoteikoikasıit ve yüzey proteinlerinin sorumlu olabileceğini düşündürmüştür. Bu mekanizma bakteriler üzerindeki karboksil, fosfat ve hidroksil gibi negatif yüklü fonksiyonel gruplara metal katyonlarının bağlanması sonucu gerçekleşmektedir. Bazı araştırmacılara göre de metal iyonlarının ortamda yoğun olması bakteriye stres ortamı oluşturmaktadır. Stres koşulları altında bakteri EPS üretmeye teşvik edilmektedir. Böylece bakteri metal iyonlarını tolere etmek için, daha az toksik bir forma indirgeyerek EPS matrisi içinde hapsedmekte ve biyofilm formunda biyosorpsiyon alanı oluşturmaktadır. Oluşan EPS matrisi nanopartiküllerin sentezinin başlatılmasından sorumlu olmaktadır. (Garmasheva vd., 2016; Mohd Yusof vd., 2020,b; Tiquia-Arashiro ve, 2018). Metalik gümüş nanopartiküller yüzey plazmon rezonansı nedeniyle genellikle yaklaşık 3 keV'de tipik optik absorpsiyon piki göstermektedir. EDS analizine göre PRO-AgNP'ler yaklaşık 3 keV'de ki gümüş bölgesinde güçlü sinyaller göstermiştir (Şekil 4.13). Böylece bu güçlü sinyaller gümüş nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamaktadır. Biyosentezi gerçekleştirilen PRO-AgNP'ler ile literatürdeki EDS analiz sonuçları benzerlik göstermektedir (Bankura vd., 2012).



Şekil 4.11. PRO-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80.000x).



Şekil 4.12. PRO-AgNP'lerin SEM görüntüsü (30.000x).

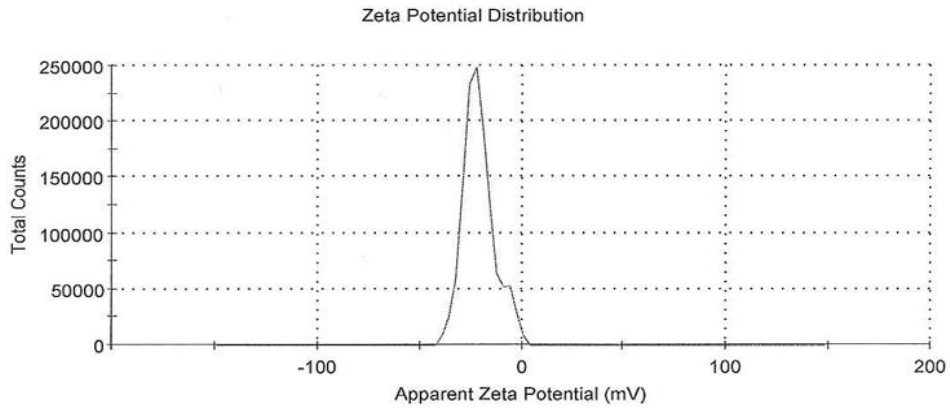


Şekil 4.13. PRO-AgNP'lerin EDS kromatogramı.

4.1.2.4 PRO-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri

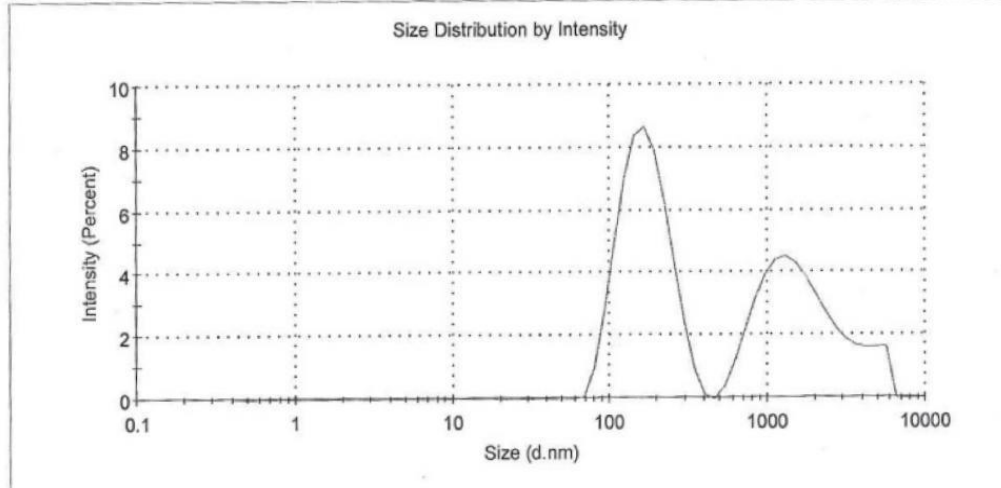
Kolloidal stabilitesini tespit etmek amacıyla biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküllere zeta potansiyel analizi yapılmıştır. Analize göre nanopartiküllerin zeta potansiyel değeri -21,0 mV zeta boyut değeri ise 247,2 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Alsharif vd. (2020) *Bacillus cereus* A1-5, *Streptomyces noursei* H1-1 ve *Rhizopus stolonifer* A6-2 tarafından sentezlenen Ag-NP'lerin zeta potansiyel değeri sırasıyla -17.5 mV, -18.9 mV ve -15.6 mV, zeta boyut değerleri 6–50 nm, 6–30 nm ve 6–40 nm olduğunu tespit etmiştir. PRO-AgNP'lerin çalışma ile karşılaştırıldığında nanopartiküllerin kendi içinde etkileşimlerinin zayıf olduğu ve agregasyon ihtimalinin olabileceği bu sebeplede parçacık boyutunun tam olarak belirlenemediği düşünülmektedir. SEM görüntülerine bakılarak nanopartiküllerin zeta boyut analizine kıyasla daha küçük boyutlarda olduğu gözlemlenmiştir. Meléndrez vd. (2010) Ag-NP'lerin kararlılığının, potansiyel biyomedikal uygulamalar için boyutları ve zeta potansiyel ölçümleriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir. Zhang vd. (2014) tarafından *Lactobacillus fermentum* kullanılarak antibakteriyel ve biyolojik kirlilik önleyici gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin -34,5 mV'lik bir negatif yüke sahip olduğunu ve sentezlenen nanopartiküllerin ~6 nm boyutunda stabil olduğunu bildirmişlerdir.

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -21,0	Peak 1: -22,3	89,0	6,28
Zeta Deviation (mV): 7,72	Peak 2: -5,81	11,0	2,99
Conductivity (mS/cm): 0,0434	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Şekil 4.14. PRO-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.

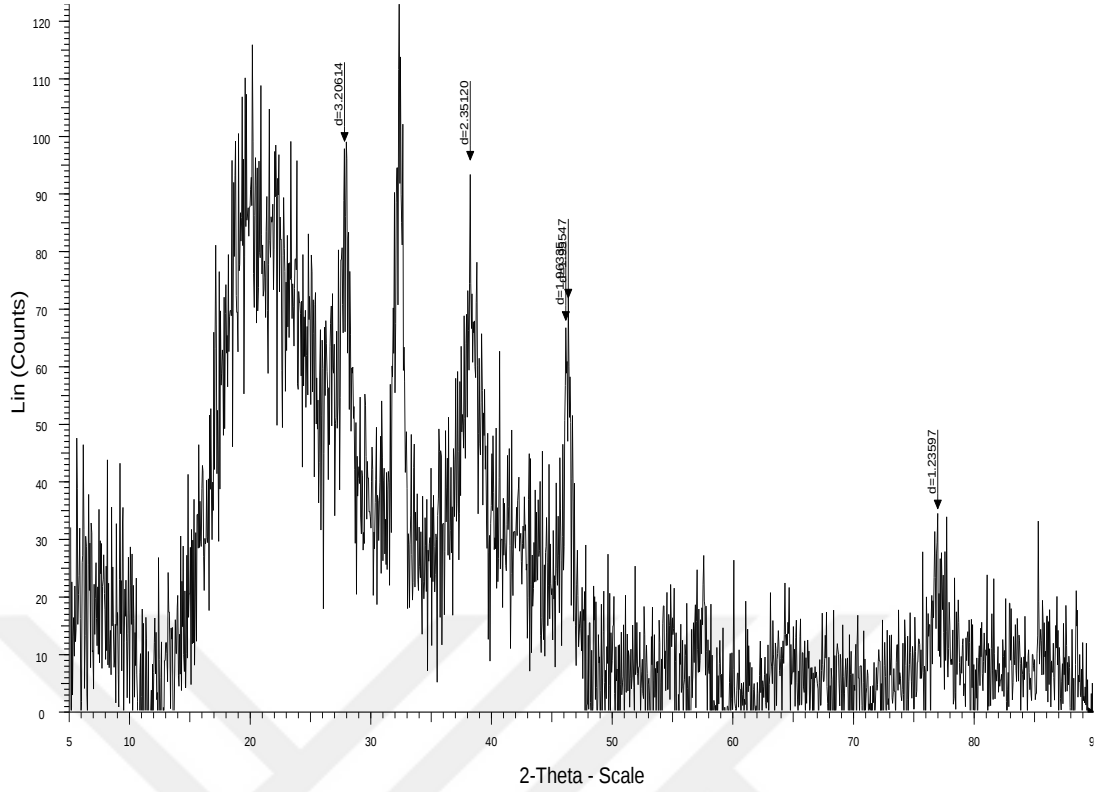
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 247,2	Peak 1: 171,6	54,1	59,31
Pdl: 0,715	Peak 2: 1690	41,0	906,0
Intercept: 0,917	Peak 3: 4837	4,9	577,6
Result quality Refer to quality report			



Şekil 4.15. PRO-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.

4.1.2.5 PRO-AgNP'lerin XRD analizi

L. rhamnosus ACS5 canlı bakterisi ile biyosentezi gerçekleştirilen PRO-NP'lerin XRD spektrumundaki tepe dizilerinde, 2θ açısında 29.6° , 38.2° , 47.78° ve 77.5° olan gümüş nanoparçacıkların dört karakteristik tepe noktası oluşmuştur. Bu tepe noktaları, Reddy vd. (2009) bildirdikleri çalışmaya benzer olarak (111), (200), (220) ve (311) kristal nanopartiküller üzerinde yüz merkezli kübik yapının düzlemlerine karşılık gelmektedir. Tan vd. (2021) *Bacillus licheniformis* TT01 suşu kullanarak gümüş nanopartiküllerin biyosentezini gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen gümüş nanopartiküllerin 2θ bölgesindeki XRD tepe noktaları ile PRO-AgNP'lerin tepe noktaları benzerlik göstermektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlarla beraber PRO-AgNP'lerden elde edilen tipik Ag kırınım pikleri ve zirve sonuçları numunede AgNP'lerin varlığını doğrulamaktadır.

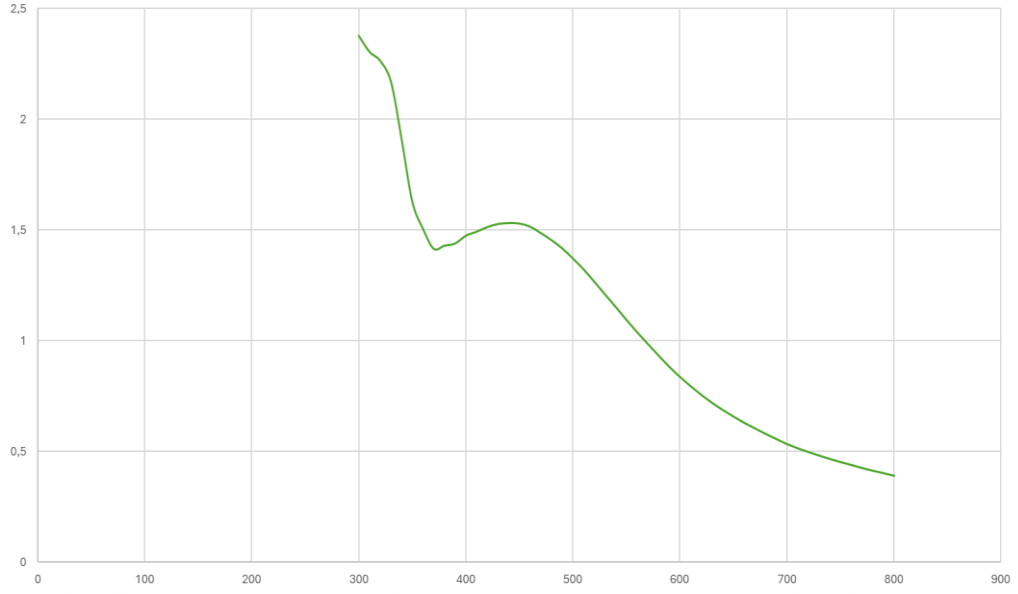


Şekil 4.15. PRO-AgNP’lerin XRD kromatogramı.

4.1.3 Postbiyotik aracılı sentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin (POST-AgNP) sentez ve karakterizasyonu

4.1.3.1 POST-AgNP’lerin sentezi ve UV-VIS analizi

L. rhamnosus ACS5 bakterisinin metabolitlerini içeren süpernatanta gümüş nitrat eklenmesiyle (POST-AgNP) nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon öncesi disposable filtreden geçirilen ve steril haldeki açık sarı renkli süpernatant 48 saat inkübasyon sonrası koyu sarımsı kahverengi bir renk almıştır. Nanopartiküllerin oluşumunu gösteren görsel Şekil 3.6.’da verilmiştir. Gümüş nitrat içeren süpernatantaki ardışık renk değişimleri gümüş nanopartiküllerin oluşumunu göstermiştir. İnkübasyon sonrasında oluşan nanopartiküllerin UV spektrumları 200 ila 700 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapılarak değerler kaydedilmiştir (Şekil 4.16). Manivasagan vd. (2015) tarafından *Streptomyces* sp.’den elde edilen süpernatant ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, UV-vis spektral absorpsiyonundaki 400 ila 420 nm’deki spektral emisyon zirvesi ile POST-AgNP’lerin spektral emisyon zirvesi paralellik göstermektedir.

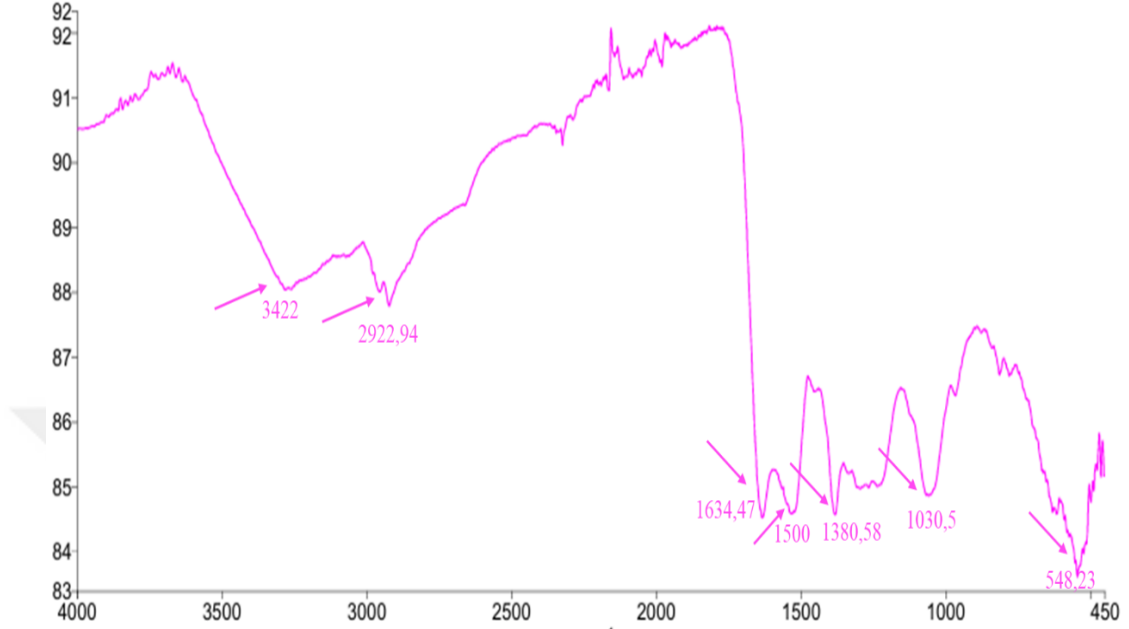


Şekil 4.16. POST-AgNP'lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.

4.1.3.1 POST-AgNP'lerin FTIR analizi

POST-AgNP'lerin FTIR spektrumları incelendiğinde 3422 cm^{-1} civarındaki bant postbiyotiklerde bulunan protein molekülleri, yağ asitlerinin karboksil grubu veya peptit bağlarının N-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanabilmektedir. $2922,94\text{ cm}^{-1}$ 'deki bant alifatik grupların C-H tekli bağından kaynaklanan asimetric eğilmelere işaret etmektedir. Spektrumda $1634,47\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen absorpsiyon bandı, proteinlerin amid bağlantılarındaki karbonil gerilme titreşimlerinden kaynaklanan amid I bandı olarak tanımlanmaktadır (Şekil 4.17.). Spektrumda ~ 1500 'lerde amid II bandı ve $1380,58\text{ cm}^{-1}$ 'deki C-N tekli bağ eğilme titreşimleri gözlemlenmiştir. Ayrıca $1030,5\text{ cm}^{-1}$ 'deki (şeker halkası) polisakkaritler için spesifik olan (-O-H) eğilme titreşiminin, probiyotik bakterilerin büyüme ortamlarına salgıladıkları EPS'den kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür (Esmail vd., 2022; Mondal vd., 2020). Ayrıca parmak izi bölgesi adı verilen yerde $548,23\text{ cm}^{-1}$ bandında gözlemlenen pik (S-S) disülfid bağlarının varlığına işaret etmektedir. Bu sayede POST-AgNP'lerin biyosentezinde karboksilik asit, aldehit, esterler, proteinler ve amino asitlerin biyosentezden ve stabiliteden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Adebayo-Tayo vd. (2017) laktik asit bakterilerinin kültür süpernatantını kullanarak gümüş

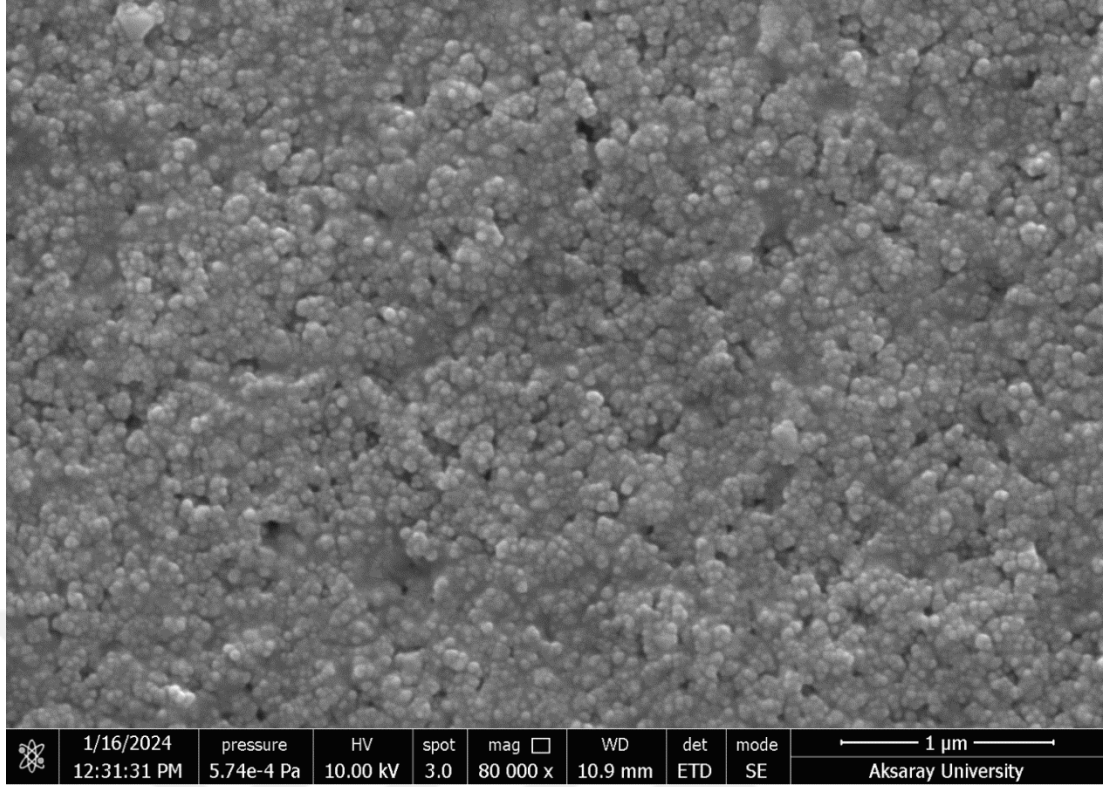
nanopartiküllerin biyosentezini ve karakterizasyonu gerçekleştirmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlarla POST-AgNP'lerin FTIR spektrumları benzerlik göstermektedir.



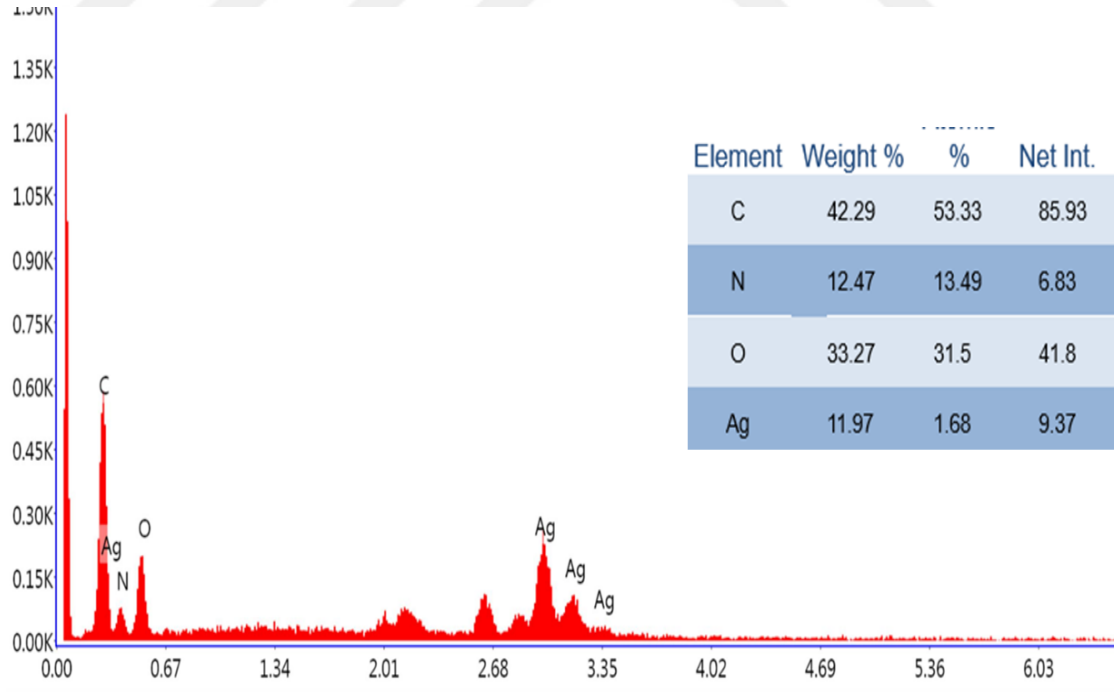
Şekil 4.17. POST-AgNP'lerin FT-IR spektrumu.

4.1.3.3 POST-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri

Sentezlenen POST-AgNP'lerin morfolojilerini ve boyutlarını görmek için SEM analizi gerçekleştirilmiştir. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin kültür süpernatantından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin çok küçük ve homojen küresel nanopartiküller olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.18). Ayrıca enerji dağılım spektroskopisi ile de nanopartiküllerde elementel gümüşün varlığı doğrulanmıştır (Şekil 4.19). Metalik gümüş nanopartiküller yüzey plazmon rezonansı nedeniyle genellikle yaklaşık 3 keV'de tipik optik absorpsiyon piki göstermektedir. EDS analizine göre POST-AgNP'ler yaklaşık 3 keV'de ki gümüş bölgesinde güçlü sinyaller göstermiştir. Böylece bu güçlü sinyaller gümüş nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamaktadır. Literatürdeki çalışmalara göre *Citrobacter* spp. ve *Bacillus licheniformis* kültür süpernatantları kullanılarak biyosentezlenen gümüş nanopartiküllerin EDS spektrumları çalışmamızda elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur (Kalimuthu vd., 2008; Mondal vd., 2020).



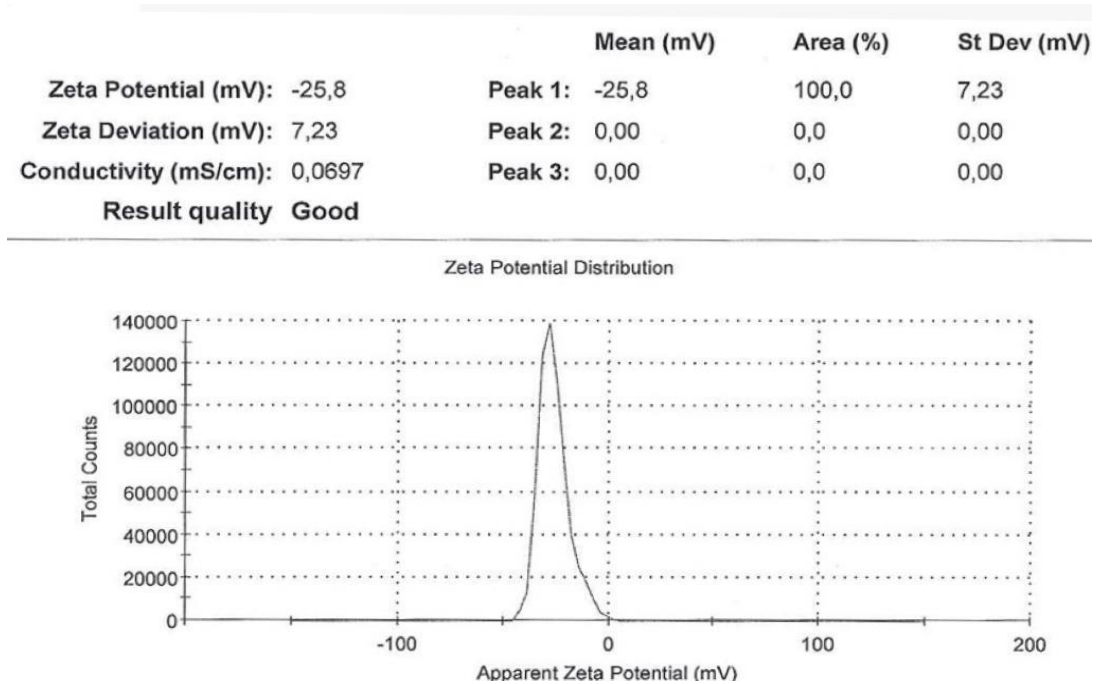
Şekil 4.18. POST-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80 000 x).



Şekil 4.19. POST-AgNP'lerin EDS kromatogramı.

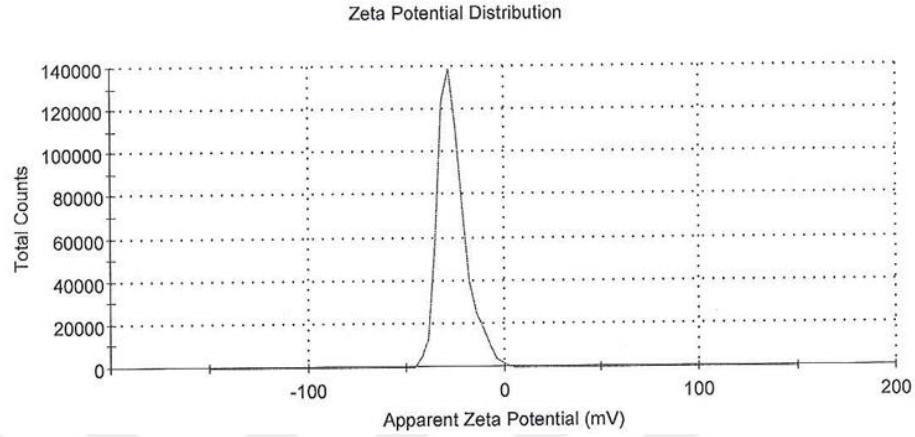
4.1.3.4 POST-AgNP'lerin zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri

Kolloidal stabilitesi ve yüzey yükünü tespit etmek amacıyla biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküllere zeta potansiyel analizi yapılmıştır. Analize göre nanopartiküllerin zeta potansiyel değeri -25,8 mV zeta boyut değeri ise 370,6 olarak tespit edilmiştir. Kumar ve Mamidyala, (2011) *Pseudomonas aeruginosa* kültür süpernatantı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin zeta potansiyel değerini -9,59 mV ve zeta boyutunun 13 nm olduğunu bildirmiştir. POST-AgNP'lerin çalışma ile karşılaştırıldığında nanopartiküllerin kendi içinde etkileşimlerinin zayıf olduğu ve agregasyon ihtimalinin olabileceği bu sebeplede parçacık boyutunun tam olarak belirlenemediği düşünülmektedir. SEM görüntülerine bakılarak nanopartiküllerin zeta boyut analizine kıyasla daha küçük boyutlarda olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca nanopartiküllerin stabil ve dağılımlarının iyi olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, partikül boyutu ve dağılımı, sentez aşamasındaki nükleasyon ve büyüme süreçlerinin oranlarının yanı sıra aglomerasyonun derecesine de bağlı olduğu daha önceki çalışmalarla bildirilmiştir (Jeyaraj vd., 2013). Zeta potansiyel değerleri yüksek ve pozitif (+30 mV'den fazla) nanopartiküllerin daha kararlı ve agregasyonlarının düşük olduğu tespit edilmiştir (Fouda vd., 2018).



Şekil 4.20. POST-AgNP'lerin zeta potansiyel analizi kromatogramı.

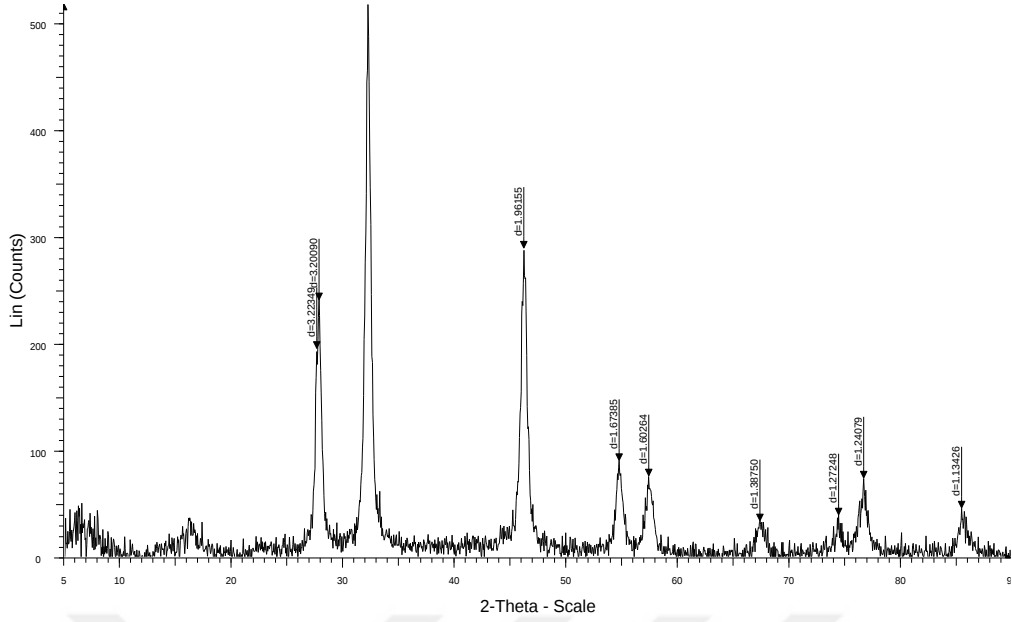
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -25,8	Peak 1: -25,8	100,0	7,23
Zeta Deviation (mV): 7,23	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0697	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality Good			



Şekil 4.21. POST-AgNP'lerin zeta boyut analizi kromatogramı.

4.1.3.5 POST-AgNP'lerin XRD analizi

Postbiyotik ile biyosentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin XRD spektrumu 2θ bölgesine karşılık gelen 29.6° , 47.78° , 64.7° ve 77.6° lık değerlerinde gözlemlenen gümüş nanokristalitlerin karakteristik Bragg zirvelerini sergilemiştir (Şekil 4.22). Bu tepe noktaları, Dhoondia ve Chakraborty, (2012) tarafından bildirilen çalışmaya benzer olarak (111), (200), (220) ve (311) kristal nanopartiküller üzerinde yüz merkezli kübik yapının düzlemlerine karşılık gelmektedir. Kumar ve Mamidyala, (2011) *P. aeruginosa* kültür süpernatantı kullanarak gümüş nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirmiştir. Biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküller ile POST-AgNP'lerin 2θ bölgesindeki XRD tepe noktaları benzerlik göstermektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlarla beraber POST-AgNP'lerin elde edilen tipik Ag kırınım pikleri ve zirve sonuçları numunede AgNP'lerin varlığını doğrulamaktadır.

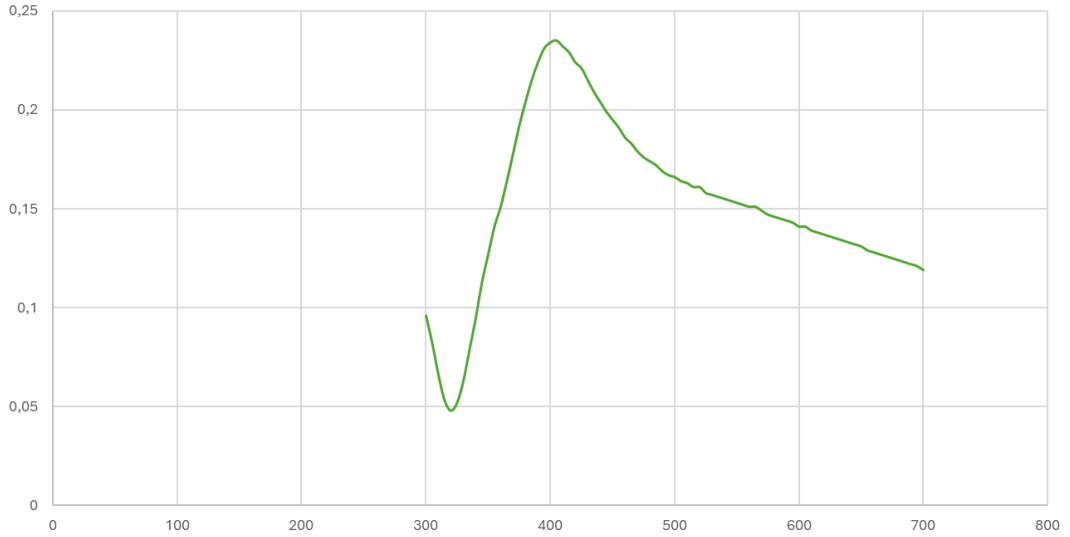


Şekil 4.22. POST-AgNP’lerin XRD kromatogramı.

4.1.4 Kimyasal sentez ile üretilen gümüş nanopartiküllerinin (KİM-AgNP) sentez ve karakterizasyonu

4.1.4.1 KİM-AgNP’lerin sentezi ve UV-VIS analizi

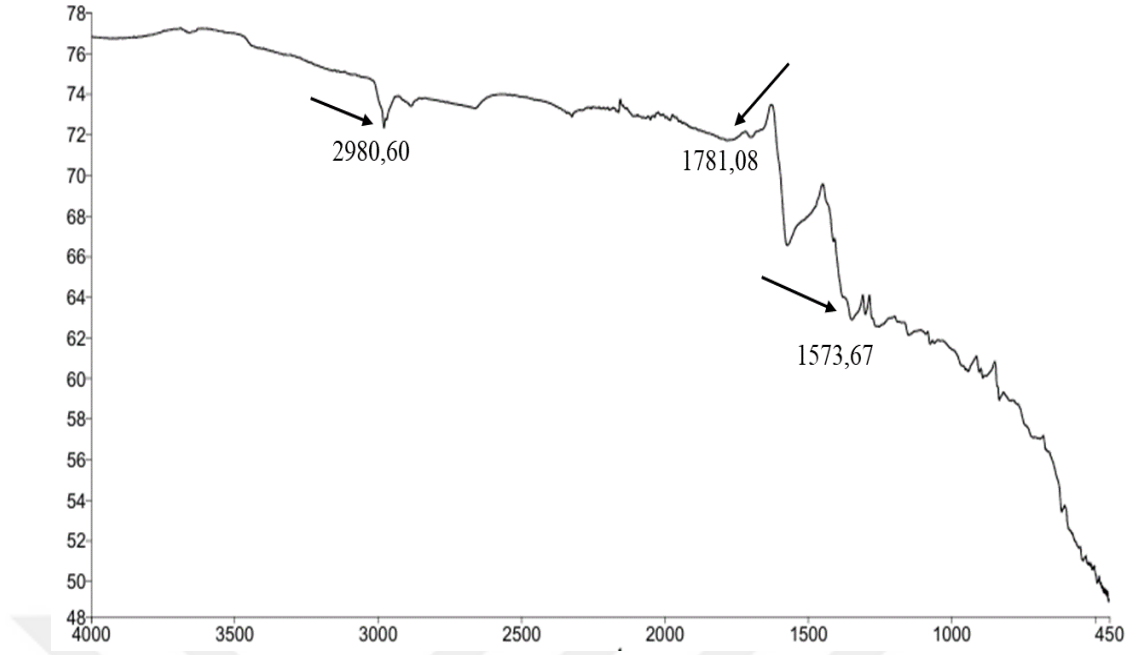
Kaynama noktasına kadar ısıtılmış 1 mM’lık sulu gümüş nitrat çözeltisine %1’lik tri-sodyum sitrat çözeltisinin eklenmesiyle KİM-AgNP’lerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon öncesinde renksiz karışım, yüzey plazmon titreşim uyarımları sayesinde açık sarımsı bir renkten koyu kahverengiye dönüşmüştür. Sulu gümüş nitrat çözeltisindeki ardışık renk değişimleri gümüş nanopartiküllerin oluşumunu göstermektedir. Nanopartiküllerin oluşumunu gösteren görsel Şekil 3.7.’de verilmiştir. Renkli çözelti soğuduktan sonra 200 ila 700 nm arasındaki dalga boylarında tarama yapılarak değerler kaydedilmiştir (Şekil 4.23). Murei vd. (2020) tarafından benzer yöntemle işlevselleştirilmek üzere sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, UV-vis spektrumundaki 434 nm’deki absorbansı ile KİM-AgNP’lerin UV-vis spektrumu paralellik göstermektedir.



Şekil 4.23. KİM-AgNP'lerin sentez sonrası UV-vis spektrumu.

4.1.4.2 KİM-AgNP'lerin FT-IR analizi

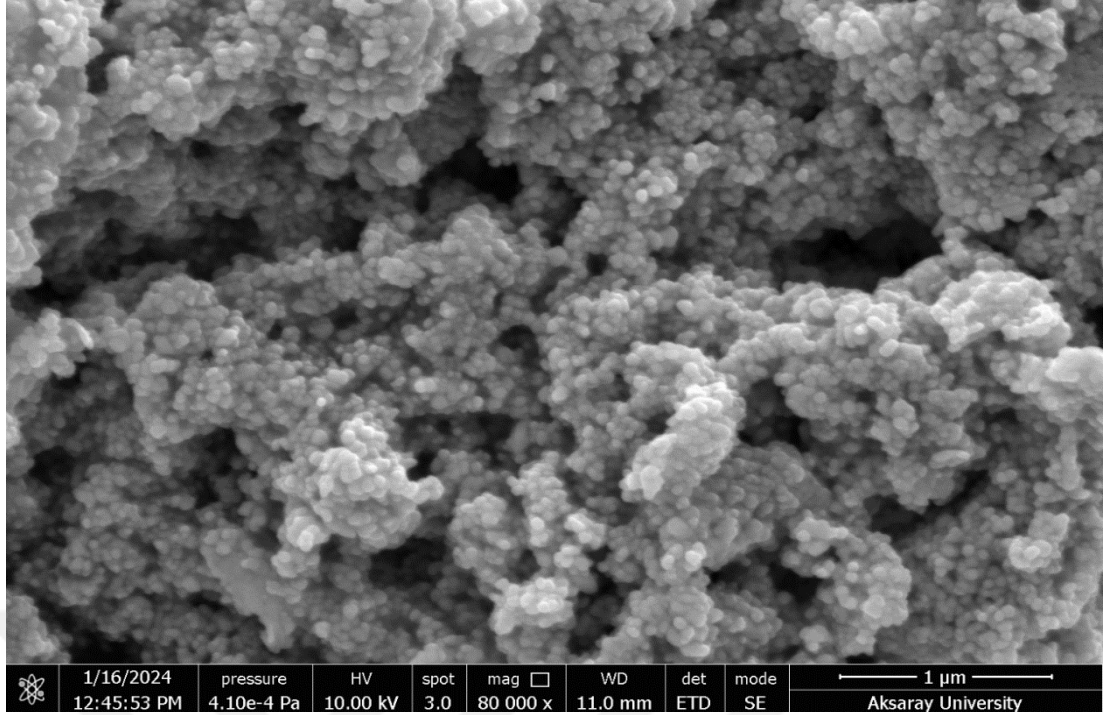
Tri-sodyum sitrat tuzu ile stabilize edilerek sentezlenen gümüş nanopartiküllerin $2980,60\text{ cm}^{-1}$ 'deki oluşan pik karboksilli asitten gelen zayıf bir bant oluşturmuştur. Bununla birlikte, $1573,67$ ve $1781,08\text{ cm}^{-1}$ 'deki bant, indirgeme için kullanılan sitrat iyonlarında mevcut olan (COO^-) karboksilat grubunun simetrik ve asimetrik gerilmesine karşılık gelmektedir (Dasaradhu ve Srinivasan, 2020). Sreelekha vd. (2021) tarafından tri-sodyum sitrat tuzu ile sentezlenen nanopartiküller ile KİM-AgNP'lerin FTIR spektrumları benzerlik göstermektedir.



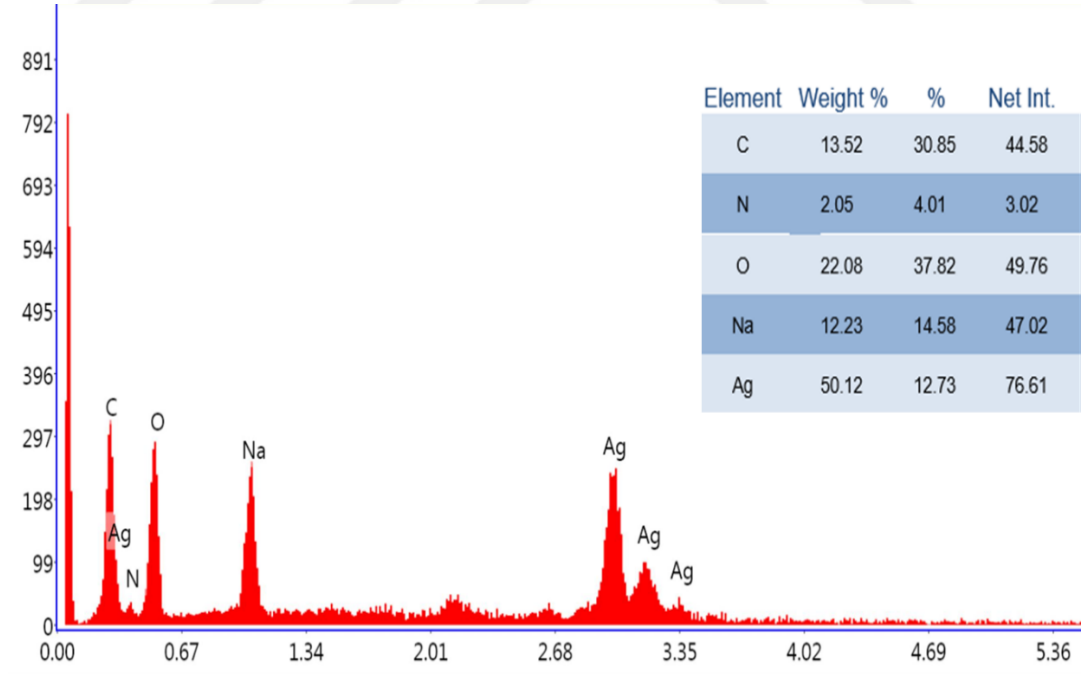
Şekil 4.24. KİM-AgNP'lerin FTIR spektrumu.

4.1.4.3 KİM-AgNP'lerin SEM-EDS analizleri

Sentezi gerçekleştirilen KİM-AgNP'lerin morfolojilerini ve boyutlarını görmek için SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda nanopartiküllerin küçük boyutlu olduğu ve homojen dağılım sergilediği gözlemlenmiştir. EDS analizi ile de tri-sodyum sitrat tuzu ile Ag^+ katyonlarının etkileşimi ve nanopartiküllerde elementel gümüşün varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.25. KİM-AgNP'lerin SEM görüntüsü (80 000x).



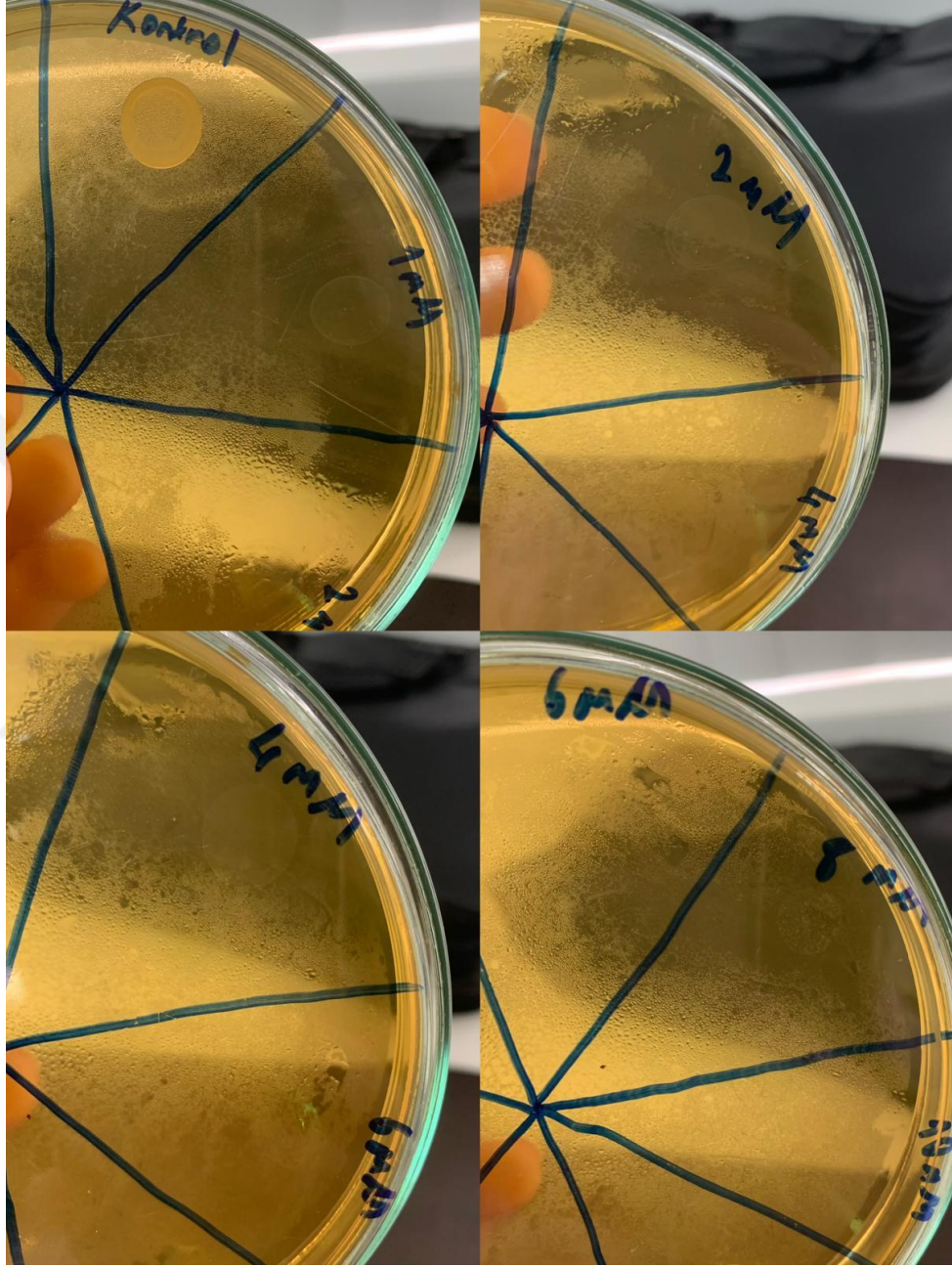
Şekil 4.26. KİM-AgNP'lerin EDS kromatogramı.

4.2 Nanopartiküllerin Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi

4.2.1 Bakteri kültürü ile gümüş nanopartiküllerin sentezi için maksimum tolere edilebilen konsantrasyonun belirlenmesi

L. rhamnosus ACS5 bakterisinin gümüş iyonlarına karşı maksimum tolere edilebilir konsantrasyon değerini belirlemek için ACS5 suşu artan konsantrasyonlarda (1, 2, 4, 6, 8 ve 10 mM) Ag^+ ya maruz bırakılmıştır. Bakteri süspansiyonu seri olarak seyreltilerek her bir tüp için MRS agar üzerine damlatılmıştır. Bakterilerin büyümesini engelleyen maksimum Ag^+ konsantrasyonu maksimum tolere edilebilir konsantrasyon olarak tanımlanmıştır. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi 8 mM Ag^+ konsantrasyonuna kadar gümüşü tolere edebilmiştir. Ancak hem sitotoksik etkinin azaltılması hem de nanopartiküllerin partikül boyutunun kontrolü için 1 mM Ag^+ konsantrasyonu biyosentez işlemlerinde kullanılmıştır. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin MTK değerlerinin belirlenmesi sonucu oluşan görsel Şekil 4.27' de verilmiştir. Bakterilerin nanopartikül üretme yeteneklerinin metalleri tolere edebilme kapasitelerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Das vd., 2014). Ayrıca her türün metalleri detoksifiye etmek için farklı biyokimyasal yollara, farklı metabolik süreçlere ve savunma mekanizmalarına sahip olduğu öne sürülmüştür (Dwivedi, 2023; Merritt ve Bewick, 2017). *L. plantarum* TA4 bakterisinin 4 mM gümüş metalini tolere edebildiğini bildirilmiştir (Mohd Yusof vd., 2020a). Bu araştırma ile karşılaştırdığımızda çalışmamızda kullanılan *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi peynirden izole edilmiş gıda kaynaklı probiyotik bir bakteridir ve *L. plantarum* TA4 bakterisinden iki kat daha iyi metal tolere etme yeteneğine sahip olduğu görülmektedir (Mohd Yusof vd., 2020a). *Actinomycetes*'in *Mycolata* grubuna ait olan *Rhodococcus* cinsinin suşları, birçok bileşiği ve metalleri katalize etme yeteneğine sahip bakteriler olarak belirlenmiştir. Aerobik ve spor oluşturmayan bu bakteriler zor çevresel koşullara direnme kapasiteleri sayesinde biyoremediasyon ve endüstriyel işlemler için kullanılmaktadır (Martínková vd., 2009). Presentato vd. (2016) *Rhodococcus aetherivorans* BCP1 bakterisinin metal tolere etme kapasitesini araştırmıştır. Bu araştırmacılar bakterinin 11,2 mM'a kadar metal konsantrasyonunda canlı kaldığı tespit etmiştir. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin 8 mM'a kadar olan metal tolere etme yeteneği *Rhodococcus* cinsi bakterilerle karşılaştırıldığında yakın olduğu gözlenmiştir. Tez çalışmasında sonuçla *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin metal tolere etme yeteneğinin altında yatan asıl mekanizmaların araştırılarak biyoremediasyon ve endüstriyel alanlarda kullanılabilecek potansiyelinin

olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca bu benzersiz yetenekle *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi probiyotiklerin sadece gıda alanında değil birçok sektörde kullanılabileceğinin kanıtını sunmaktadır.



Şekil 4.27. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin gümüş iyonlarına karşı MTK değeriinin belirlenmesi sonucu oluşın görüntüsü.

4.2.2 Kim-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Gümüş nanopartiküller kimyasal, fiziksel veya biyolojik olarak birçok yöntemle sentezlenebilmektedir. Ancak toksik özelliklerin azaltılması amacıyla çevre dostu reaktiflerin ve yeşil sentez yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir. Ayrıca bu süreçler uygulanırken istenilen boyut ve özelliklerde nanopartiküllerin sentezlenebilmesi için uygun indirgeyici ve stabilize edici ajanların seçimi kritik öneme sahiptir (Wasilewska vd., 2023). Araştırmacılar küçük boyutlu nanopartiküllerin hücre zarının yapısını bozabileceğini ve hücre ölümüne yol açabileceğini belirtmektedir (El-Kahky vd., 2021). Ayrıca gümüş nanopartiküllerin dört farklı antimikrobiyal etki mekanizması olabileceği bildirilmiştir. Bunlar;

- Nanopartiküllerin bakterinin hücre duvarına bağlanmasıyla hücre duvarının bütünlüğü bozulmakta, hücre zarına ve hücre içi bileşenlere doğrudan zarar vermektedir (Sullivan vd., 2013).
- Protein tiyol (SH-) gruplarına nanopartiküller bağlanmakta ve bunun sonucunda protein fonksiyonu bozulmaktadır (Bruskov vd., 2012).
- Gümüş nanopartiküllerden salınan serbest Ag^+ iyonlarının, porin kanalları ve iyon taşıma proteinleri tarafından taşınması sonucu gümüş iyonları proteinlerle etkileşime girerek oksidatif stresi indükleyebilmektedir (Kędziora vd., 2018).
- Ag bileşikleri bakteri hücrelerine nüfuz ettikten sonra DNA moleküllerindeki fosforik asit kalıntılarıyla da etkileşime girmektedir. Replikasyon sürecinin bozulmasıyla hücre proliferasyonu önlenmektedir (Ocsoy vd., 2013).

İlaç direnci günümüzde antibiyotiklerin patojenlere karşı kontrolsüz kullanılmasından kaynaklanan ve tedavisi gittikçe zorlaşan hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Antibiyotik direncini etkili bir şekilde engellemek için gümüş nanopartiküllerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Baig ve Srinivasan, 2023). Bu tez çalışmasında biyolojik ve kimyasal yöntemle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin (Kim-AgNP, PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP) ve kontrol amacıyla 1 mM $AgNO_3$ 'ün *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. enteritidis* ATCC 13076, *B. cereus* RSKK 863 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 bakterileri ile *C. albicans* ATCC 14053 mayası üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1

ve Şekil 4.28., Şekil 4.29., Şekil 4.30., Şekil 4.31., Şekil 4.32., Şekil 4.33., Şekil 4.34., Şekil 4.35., Şekil 4.36., Şekil 4.37.'de verilmiştir. Çalışmada sentezi gerçekleştirilen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin klinik ve gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu gözlemlenirken Kim-AgNP'lerde hiçbir aktivite gözlemlenmemiştir. Kim-AgNP'lerde antimikrobiyal etki gözlemlenmemesinin sebebinin nanopartiküllerin agregasyonlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Biyolojik yöntemle sentezlenen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerden en yüksek antibakteriyel etki *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterisi üzerinde 8,32 mm zon çapı ile PRE-AgNP'de tespit edilmiştir (Şekil 4. 32). Aynı patojene karşı PRO-AgNP'ler 6,55 mm, POST-AgNP'ler ise 6,18 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. AgNP'lerin yüksek aktivite gösterdiği bir diğer test bakterisinin *E. coli* ATCC 11229 olduğu ve bu aktiviteyi 5,19 mm inhibisyon zon çapı ile PRE-AgNP'lerin gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4. 36). *E. coli* ATCC 11229 bakterisine karşı POST-AgNP'ler 4,38 mm, PRO-AgNP'ler ise 3,82 mm inhibisyon zon çapı göstermiştir. *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine karşı 3,82 mm inhibisyon zon çapı ile POST-AgNP'ler en yüksek antibakteriyel etkiyi sergilerken (Şekil 4.29.), PRO-AgNP'ler 3,15 mm ve PRE-AgNP'ler ise 3,06 mm inhibisyon zon çapı göstermiştir. Sentezlenen PRE-AgNP (4,23 mm), PRO-AgNP (4,01 mm) ve POST-AgNP'lerin (3,85) *C. albicans* ATCC 14053' e karşı antifungal etki gösterdiği tespit edilmiş ve bu etkinin PRE-AgNP'lerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak bakterinin türüne ve morfolojisine göre sentezlenen nanopartiküllerin farklı antibakteriyel etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durumun nanopartiküllerin bakterinin yüzey alanına ne kadar çok nüfuz ettiğiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Nanopartiküllerin küresel şekilli olması sebebiyle kok bakterilerin yüzeyine daha büyük oranda nüfuz ederek yüksek antibakteriyel etki göstermiş olduğu düşünülmektedir. Ancak basil morfolojiye sahip olan test bakterilerinde daha geniş yüzey alanı sebebiyle kok bakterilere kıyasla daha az antibakteriyel etki gözlemlenmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin süspansiyonu stabil bir dispersiyon halindedir. Antimikrobiyal etkinin nanopartiküllerin kolloidal dispersiyon halinde olmasıyla ilişkili olabileceği ve agrega olmadan dağılabilen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin daha yüksek olabileceği bildirilmiştir (Kvítek vd., 2008).

İspirli vd. (2021) *Weissella cibaria* MED17'den izole ettikleri dekstran tipi bir ekzopolisakkarit ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin *S. aureus* ATCC 25923'e

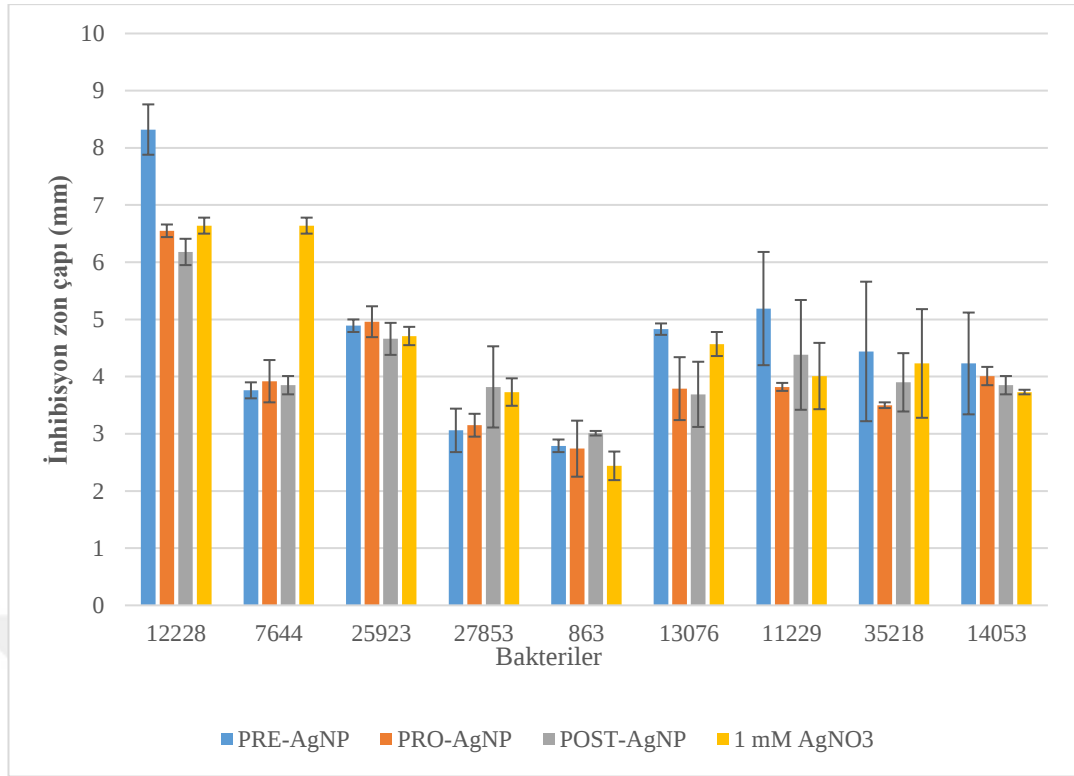
karşı 1 mg/mL konsantrasyonun $12\pm0,5$ mm inhibisyon aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Tez çalışmasında da PRE-AgNP'lerin 100 µg/mL'deki *S. aureus* ATCC 25923'e karşı aktivite 4,89 mm olarak belirlenirken aynı konsantrasyonda *S. epidermidis* ATCC 12228'e karşı ise $8,32\pm0,11$ mm olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ile *Weissella cibaria* MED17'den izole edilen dekstran tipi bir ekzopolisakkarit ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesine kıyasla PRE-AgNP'lerin daha az madde miktarıyla daha çok antibakteriyel etki gösterdiği görülmektedir.

Gümüş nitrat solüsyonunun tek başına gösterdiği antibakteriyel aktivite biyosentezlenen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesine yakındır. Ancak gümüş nitrat solüsyonunun antibakteriyel aktivite göstermesinin yanında sitotoksik etkisinin de olduğu bilinmektedir (Hidalgo vd., 1998). Bu sebeple gümüş nitrat solüsyonunun sitotoksitesini azaltmak ve biyosentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartikülleri antimikrobiyal ajan olarak kullanmak amacıyla PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Biyosentezlenen gümüş nanopartiküllerin gıda ve klinik mikroorganizmalara karşı 100 µg/mL'deki güçlü antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Yeşil sentezle PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin üretilmesi sitotoksik özelliklerin minimuma indirilerek maksimum antibakteriyel etkinin sağlanması için basit, ucuz ve çevre dostu bir yaklaşım oluşturmaktadır.

Çizelge 4.1. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite sonuçları (zon çapı, mm).

NP/Bakteri	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. cereus</i> RSKK 863	<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	<i>E. coli</i> ATCC 11229	<i>E. coli</i> ATCC 35218	<i>C. albicans</i> ATCC 14053
PRE-AgNP	8,32±0,11	3,76±0,37	4,89±0,27	3,06±0,20	2,79±0,49	4,83±0,55	5,19±0,07	4,44±0,05	4,23±0,16
PRO-AgNP	6,55±0,44	3,92±0,14	4,96±0,11	3,15±0,38	2,74±0,11	3,79±0,10	3,82±0,99	3,5±1,22	4,01±0,89
POST-AgNP	6,18±0,23	3,85±0,16	4,66±0,28	3,82±0,71	3,01±0,04	3,69±0,57	4,38±0,96	3,9±0,51	3,85±0,16
KİM-AgNP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 mM AgNO ₃	6,64±0,14	6,64±0,14	4,71±0,16	3,73±0,24	2,44±0,25	4,57±0,21	4,01±0,58	4,23±0,95	3,73±0,04

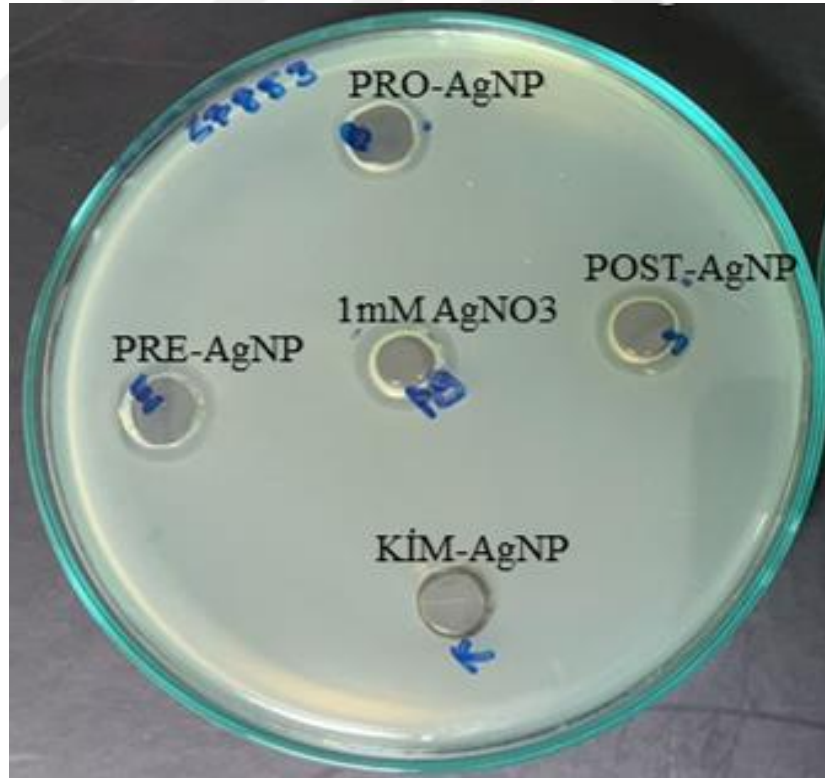
-: Antimikrobiyal etki göstermemiştir.



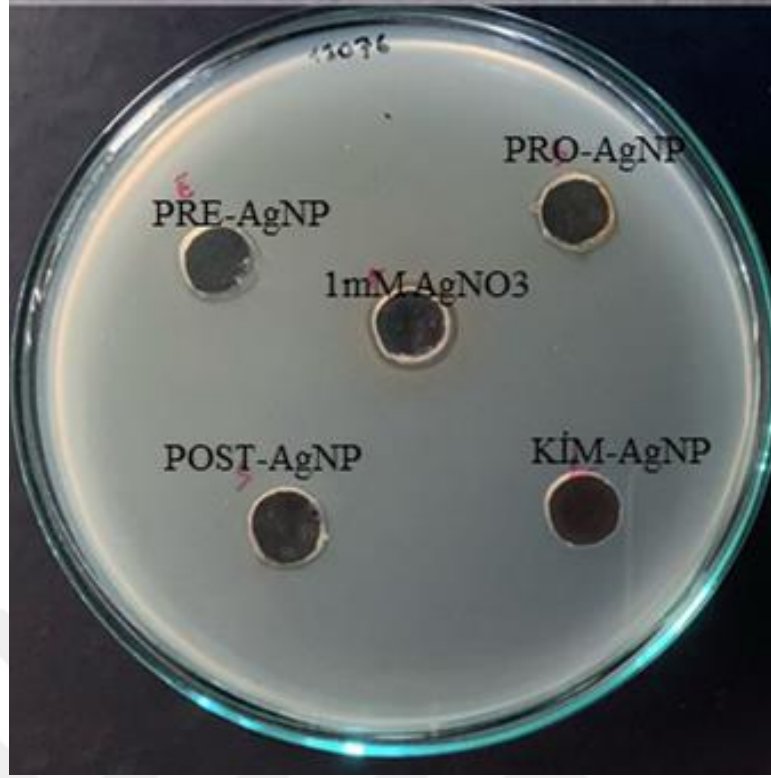
Şekil 4.28. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite sonuçları.

Gan vd. (2012) tarafından halotolerant bakteri olan *Bacillus endophyticus* SCU-L kullanılarak biyosentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerini *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* ve *Staphylococcus aureus* test mikroorganizmalarına karşı değerlendirilmiştir. Bu araştırmacılar sentezlenen nanopartiküllerin 25 µg/mL konsantrasyonda *S. aureus*'a (19±0 mm), *C. albicans*'a (15±1 mm), *S. typhi*'ye (11±0 mm) ve *E. coli*'ye (13±1 mm) antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmiştir. Tez çalışmasında PRO-AgNP'ler daha yüksek konsantrasyonda (100 µg/mL) test mikroorganizmalarına daha düşük aktivite göstermiştir. Gan vd. (2012)'in araştırmasında tespit edilen yüksek antibakteriyel etkinin nanopartiküllerin 5 nm boyutunda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Partikül boyutunun ve şeklinin antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkileri çalışmalarla bildirilmiştir. Küçük boyutlu nanopartiküllerin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Ethiraj vd., 2016; Inam vd., 2019). Küçük partikül boyutu, bakteri yüzeyine daha fazla sayıda nanopartikülün tutunması ve bakterinin zar yapısının daha kolay bozunmasına neden olabilmektedir (Jonidi Jafari vd., 2024). Bu bilgiler değerlendirildiğinde sentezlenen PRO-AgNP'lerin agregasyonlarının yüksek olmasından dolayı antibakteriyel etkisinin

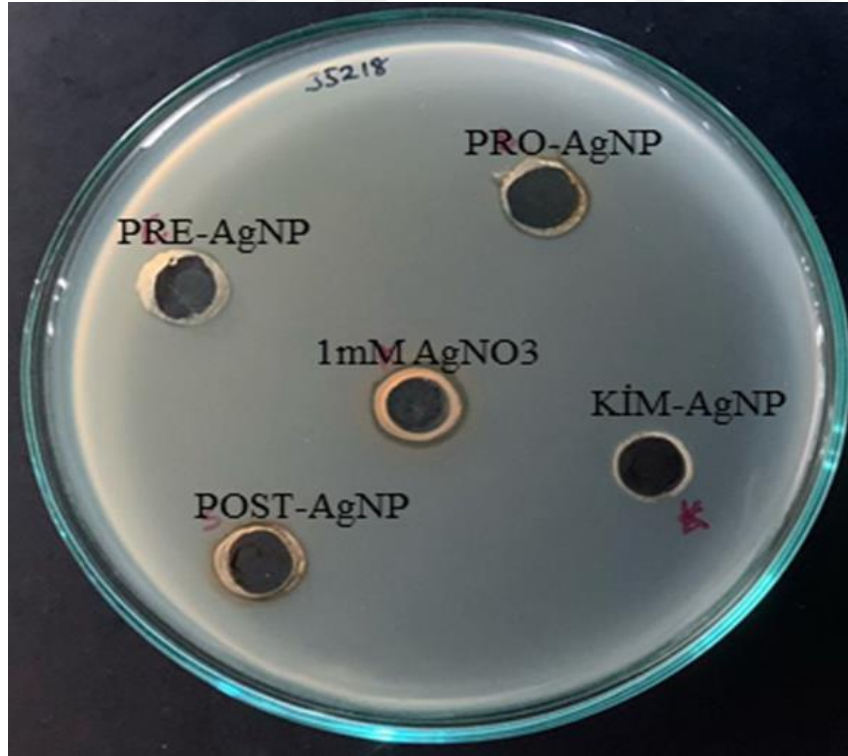
yapılan çalışmalara göre daha düşük olduğu düşünülmektedir. Al-Asbahi vd. (2024) toprak ve çiğ süttten izole edilen iki farklı *Lactobacillus* sp. suşunu ayrı ayrı ve karışım halinde kültürleyerek elde edilen süpernatantlar ile biyosentezi gerçekleştirilen nanopartiküllerin (10, 20 ve 40 µg/mL'lik) artan konsantrasyonlarda *S. aureus* ve *P. aeruginosa* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan araştırmada tek bakteri kültürüne kıyasla (*S. aureus* 9 ± 0,43 mm, *P. aeruginosa* 12 ± 0,1 mm) karışık kültür süpernatantı kullanılan biyosentezlenmiş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesinin (*S. aureus* 15 ± 0,1 mm, *P. aeruginosa* 8 ± 0,76 mm) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da sentezlenen POST-AgNP'lerin *S. aureus* ATCC 25923 (4,66 mm) ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 (3,82 mm) test bakterilerine antibakteriyel aktivitesinin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.29 ve Şekil 4.35.). POST-AgNP'lerin diğer test mikroorganizmalarına da antimikrobiyal etkisinin olduğu ancak *B. cereus* RSKK 863'e karşı etkisinin PRO-AgNP, PRE-AgNP ve kontrol için kullanılan 1 mM AgNO₃'den yüksek olduğu tespit edilmiştir.



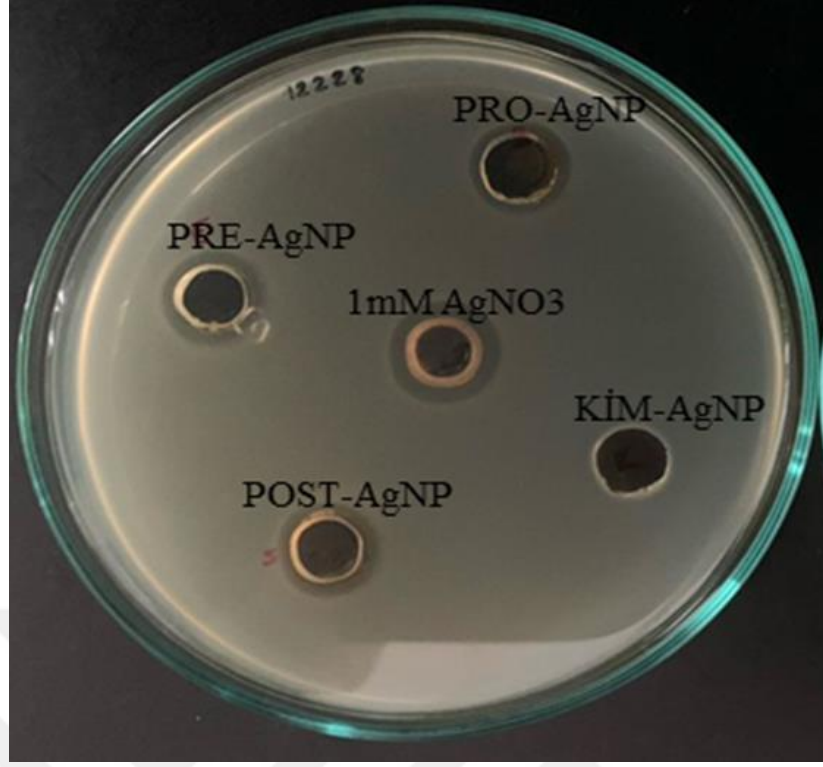
Şekil 4.29. Sentezlenen nanopartiküllerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



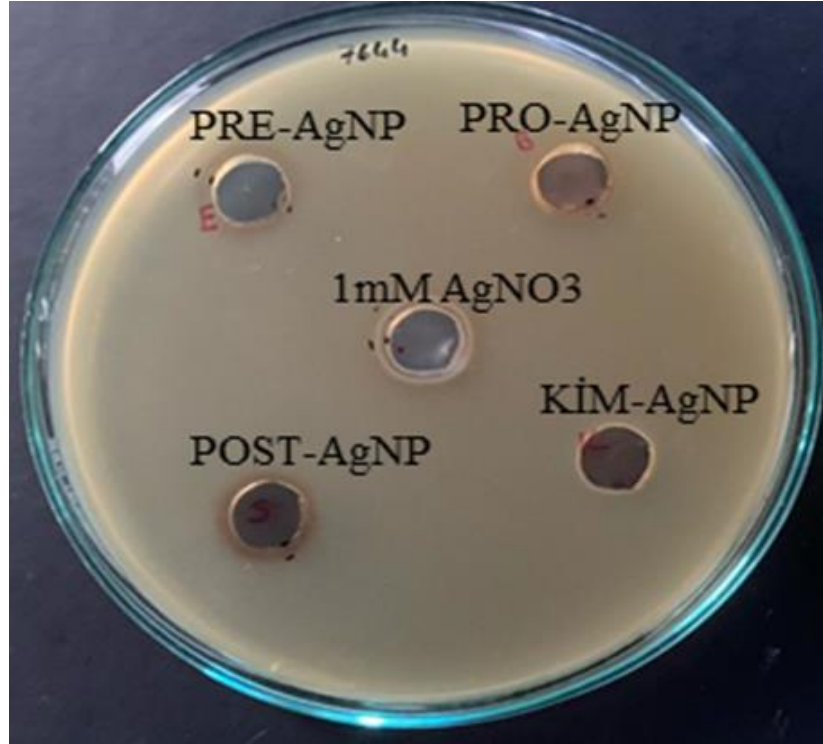
Şekil 4.30. Sentezlenen nanopartiküllerin *S. enteritidis* ATTC 13076 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



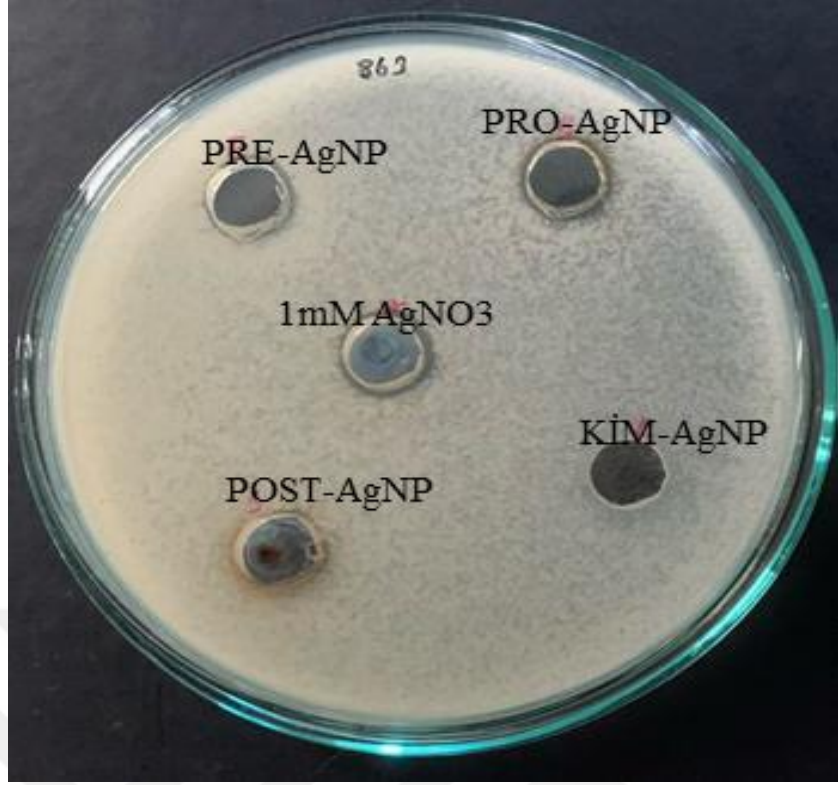
Şekil 4.31. Sentezlenen nanopartiküllerin *E. coli* ATTC 35218 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



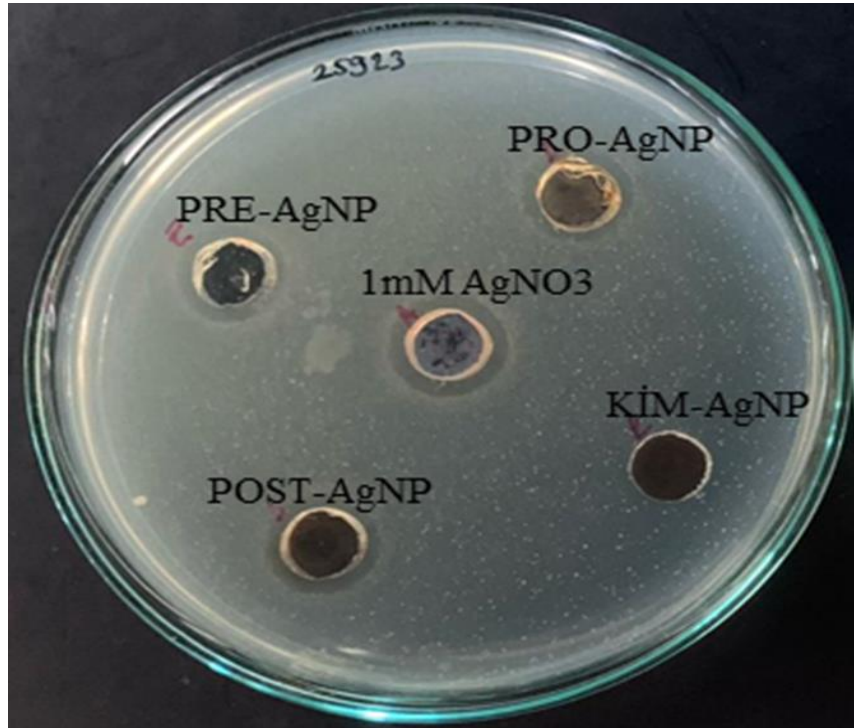
Şekil 4.32. Sentezlenen nanopartiküllerin *S. epidermidis* ATCC 12228 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



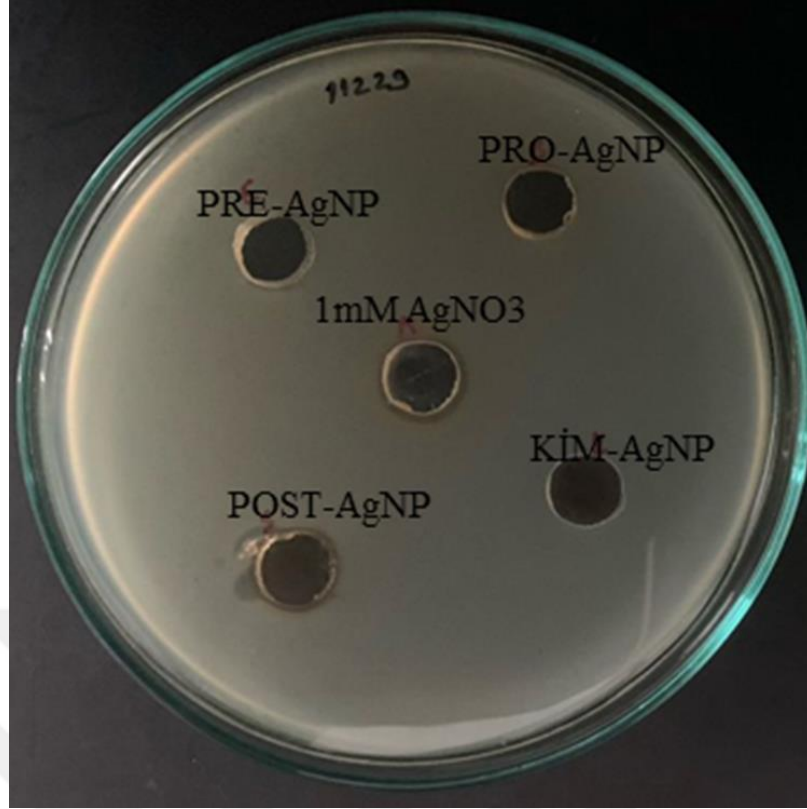
Şekil 4.33. Sentezlenen nanopartiküllerin *L. monocytogenes* ATCC 7644 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



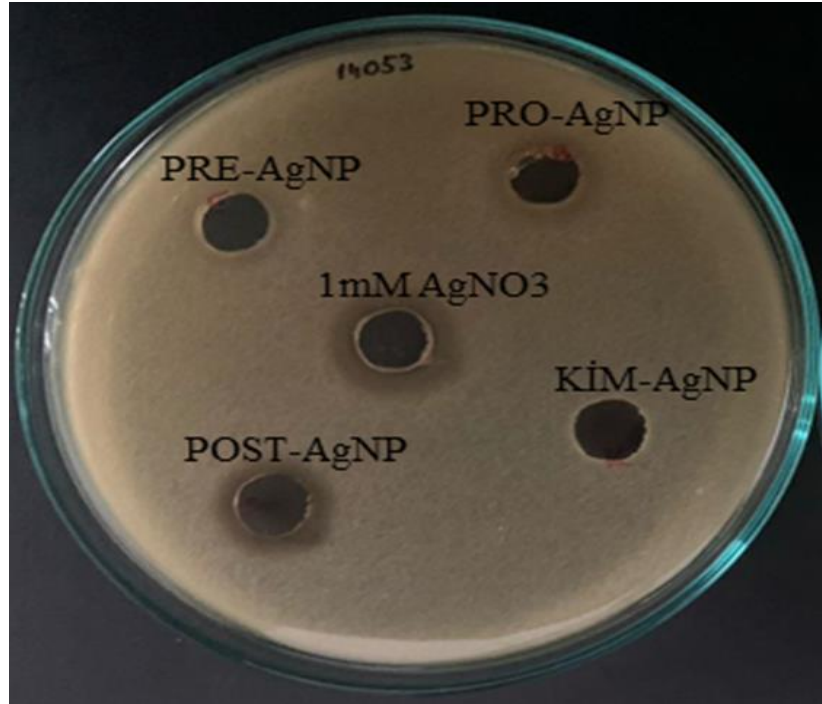
Şekil 4.34. Sentezlenen nanopartiküllerin *B. cereus* RSKK 863 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



Şekil 4.35. Sentezlenen nanopartiküllerin *S. aureus* ATCC 25923 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



Şekil 4.36. Sentezlenen nanopartiküllerin *E. coli* ATCC 11229 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.



Şekil 4.37. Sentezlenen nanopartiküllerin *E. coli* ATCC 11229 test bakterisine karşı tespit edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları.

4.2.3 Nanopartiküllerin planktonik bakteri hücreleri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenmesi

Yanık yaraları fırsatçı patojenlerin üremesi ve enfeksiyon oluşturmaları için bulunmaz bir zemin sunmaktadır. Yanıktan hemen sonraki saatler ve günlerde, Gram-pozitif koklar, termal olaya karşı dirençli olmaları sebebiyle yara yüzeyinde kolonize olmaktadır. Yanık eskarında patojenlerle mücadele edilmesi enfeksiyon ve inflamasyonun önlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Brandenburg vd., 2021). *P.aeruginosa* , *S. epidermidis* ve *C. albicans*'ın yaralarda biyofilmle ilişkili enfeksiyonların oluşmasında etkili oldukları bildirilmiştir (Lindsay ve Hogan, 2014; Siciliano vd., 2023). Gümüş nanopartiküllerin düşük konsantrasyonlarda insan vücudu için toksik olmadığı ancak mikroorganizmalara karşı güçlü biyosidal etkileri olduğu düşünülmektedir (Baker vd., 2005; Lara vd., 2011).

Bu tez çalışmasında *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotigi ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin yara patojenleri olan *P. aeruginosa* ATCC 27853 , *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *Candida albicans* ATCC 14053'e karşı biyofilm aktivitelerinin araştırılması için MİK ve MBK değerleri belirlenmiştir. PRE-AgNP ve PRO-AgNP'ler *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı benzer konsantrasyonlarda minimum inhibisyon (7,8 µg/mL, 15,625 µg/mL, 31,25 µg/mL) ve minimum bakterisidal (7,8 µg/mL, 15,625 µg/mL, 31,25 µg/mL) etki göstermiştir. POST-NP'ler ise daha düşük konsantrasyonlarda dahi minimum inhibisyon (0,975 µg/mL, 1,95 µg/mL) ve minimum bakterisidal (62,5 µg/mL, 125 µg/mL) etki sergilemiştir (Çizelge 4.2). MİK ve MBK değerleri nokta damlatma yöntemi ile belirlenmiş ve Şekil 4.39, Şekil 4.40. ve Şekil 4.41.'de verilmiştir.

POST-AgNP'lerdeki bu güçlü antimikrobiyal etkinin postbiyotiklerin içeriğindeki biyoaktif bileşenlerin ve metabolitlerin fazla oranlarda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Syame vd. (2020) *L. plantarum* ve *L. brevis* suşlarından elde ettikleri hücresiz süpernatant ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 , *S. epidermidis* ATCC 12228 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarına karşı 11,25 µg/mL gibi düşük bir konsantrasyonda dahi güçlü bir antimikrobiyal aktivite sergilediğini, suşlarından elde edilen postbiyotiklerin

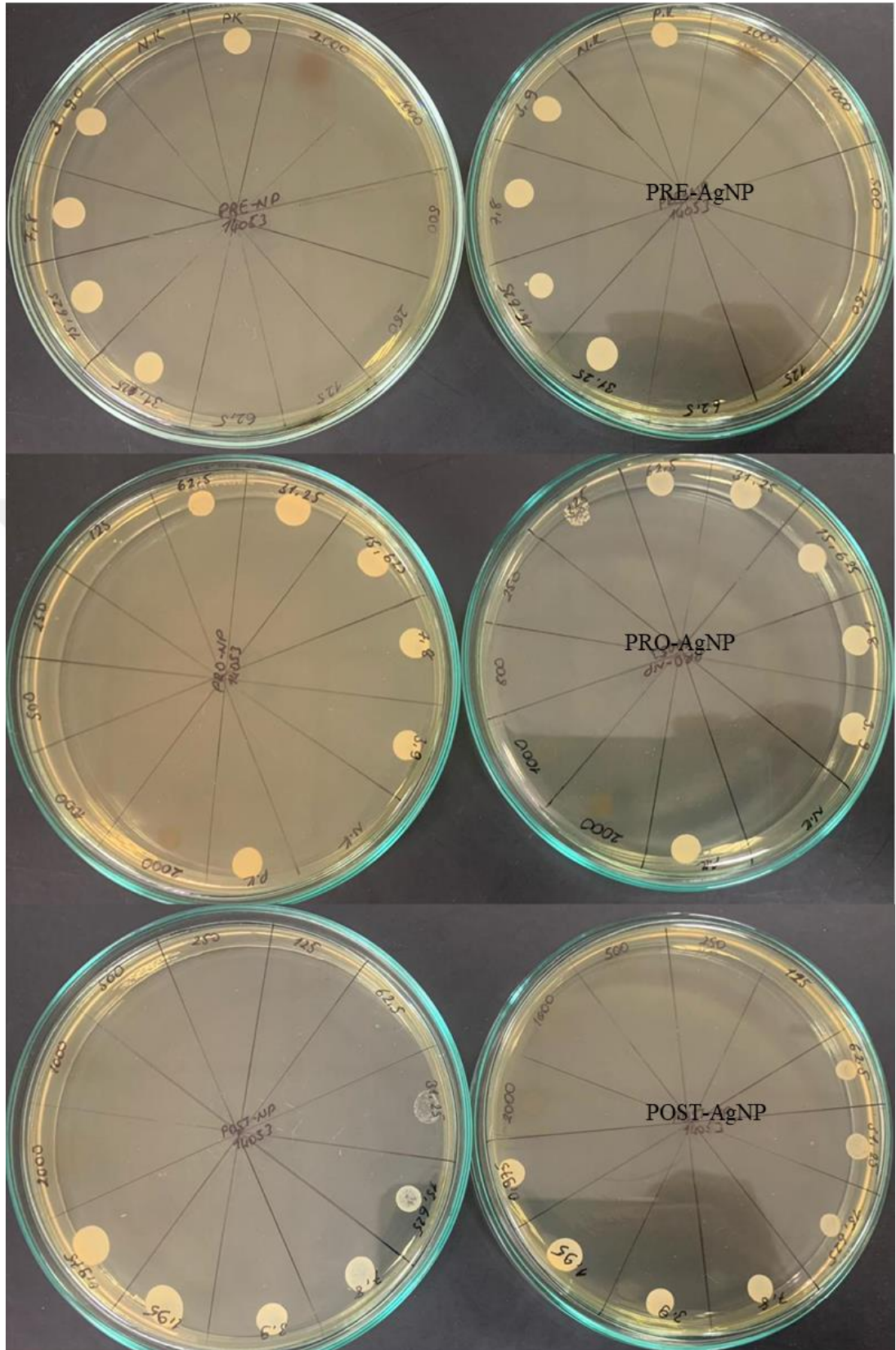
biyoaktif bileşenler açısından zengin olmasının patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteyi arttırmış olabileceğini bildirmişlerdir.

Abishad vd. (2022) tarafından *L. acidophilus* bakterisinin süpernatantını kullanılarak çoklu ilaca dirençli enteroagregatif *Escherichia coli* (MDR-EAEC) suşlarına karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitesini değerlendirmek için gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) yeşil sentezini gerçekleştirmiştir. Yeşil sentezlenen AgNP'lerin MDR-EAEC suşlarına MİK ve MBK değerlerinin sırasıyla 7,80 mg/mL ve 15,60 mg/mL olarak tespit etmişlerdir.

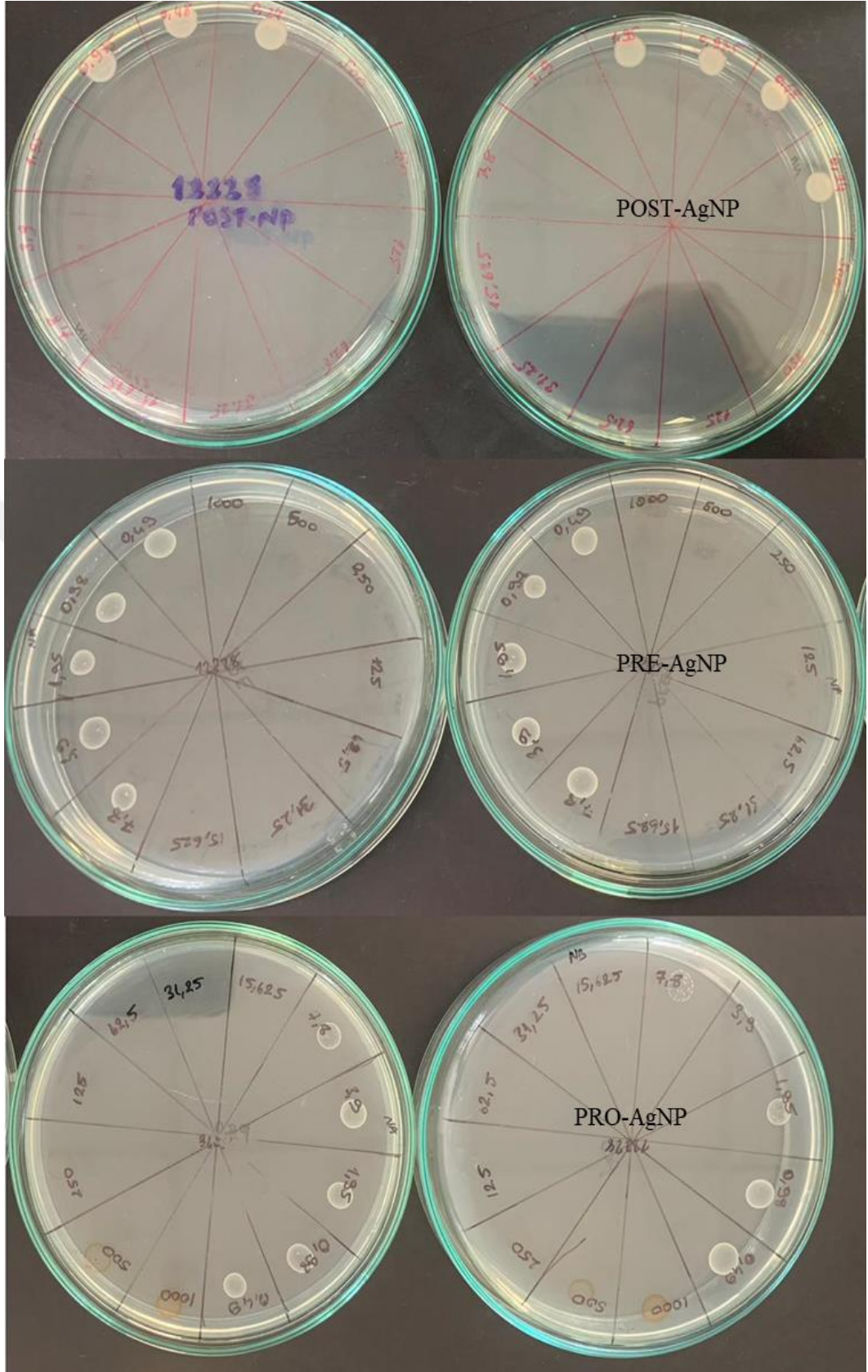
PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin patojen bakterilere karşı bildirilen çalışmalardan daha düşük konsantrasyonlarda güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu güçlü antimikrobiyal etkinin sebebi *L. rhamnosus* ACS5 probiyotik bakterisinin literatürde gümüş nanopartikül sentezi için kullanılan bakterilere göre daha farklı aktivite ve özelliklerde salgıladığı biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.2. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve kültür süpernatantı ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin MİK ve MBK değerleri (µg/ml).

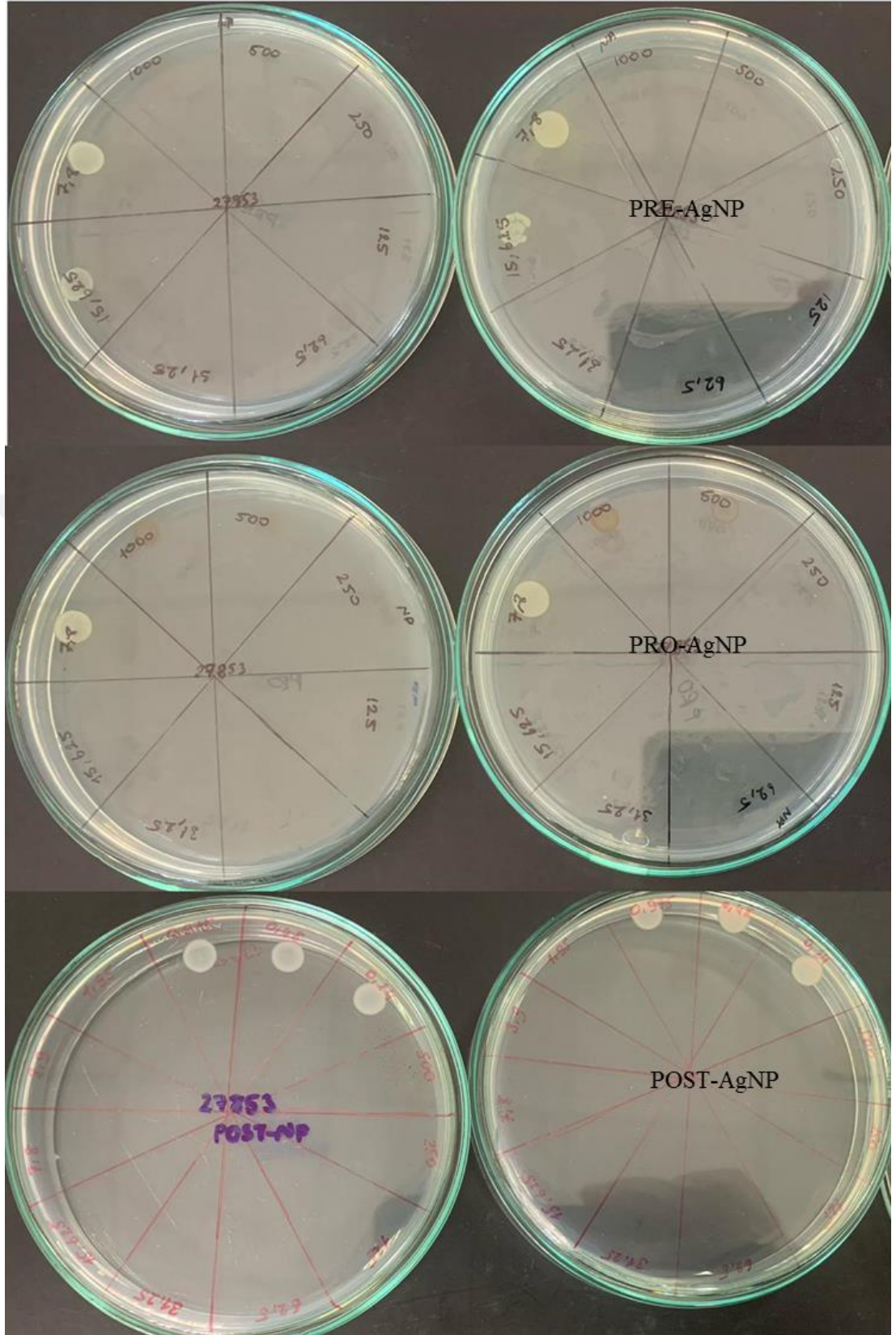
Nanopartikül/Bakteri	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>C. albicans</i> ATCC 14053	
	MİK (µg/mL)	MBK (µg/mL)	MİK (µg/mL)	MBK (µg/mL)	MİK (µg/mL)	MBK (µg/mL)
PRE-AgNP	7,8	15,625	15,625	31,25	31,25	62,5
PRO-AgNP	7,8	15,625	7,8	15,625	125	250
POST-AgNP	0,975	1,95	0,975	1,95	62,5	125



Şekil 4.38. *C. albicans* ATCC 14053 mayasına karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü.



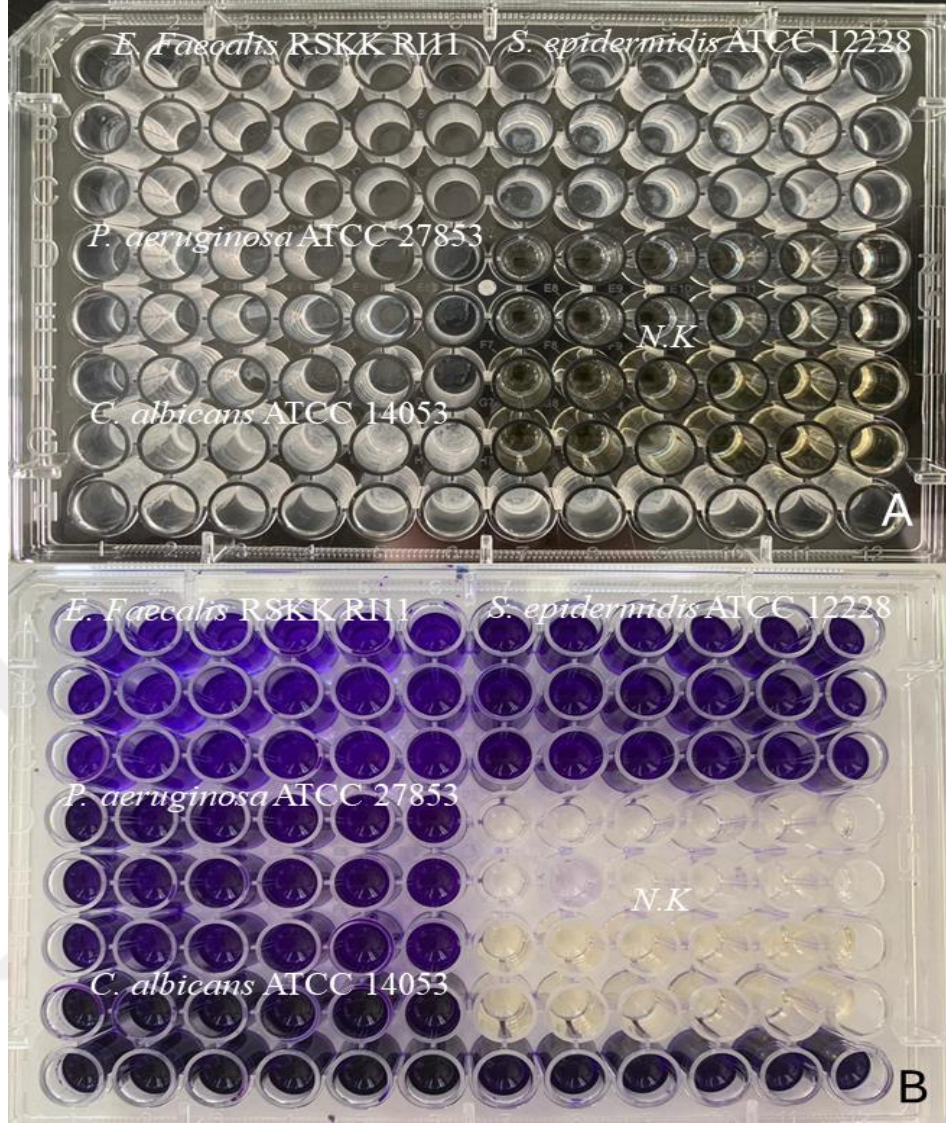
Şekil 4.39. *S. epidemidis* ATCC 12228 bakterisine karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü.



Şekil 4.40. *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin MİK ve MBK değerleri görüntüsü.

4.2.4 Antibiyofilm aktiviteleri belirlenecek patojenlerin biyofilm oluşturma kapasitelerinin mikropate yöntemi ile belirlenmesi

S. epidemidis ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mayasının güçlü biyofilm oluşturduğu bilinmektedir (Atriwal vd., 2021; Brown vd., 1995; Monzón vd., 2001). Mikropate yöntemi ile patojen suşların biyofilm oluşumları araştırılırken negatif kontrol olarak boş besiyeri kullanıldığında patojen suşlar güçlü biyofilm aktivite sergilemiştir. Kontrol OD (0,239) absorbansının ortalamasının ODc: kontrol grubu ortalama OD+3×kontrol grubu standart sapması (ODc:0,248) ile patojenlerin absorbans değerlerinin ortalaması (*S. epidemidis* ATCC 12228: 2,695, *P. aeruginosa* ATCC 27853: 2,763 OD, *C. albicans* ATCC 14053: 3,641 OD, *E. faecalis* RI11: 1,383 OD) Bölüm 3.2.3.3’de verilen formüllerle hesaplanmıştır. *E. faecalis* RI11 suşu negatif kontrol olarak kullanıldığında da *S. epidemidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mayası güçlü derecede biyofilm aktivitesi göstermiştir. Boş besiyeri ve *E. faecalis* RI11 suşunun negatif kontrol olarak kullanıldığı biyofilm sonuçları karşılaştırılmış ve antibiyofilm aktivitesinin belirlenmesinde *S. epidemidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 14053 mayası test mikroorganizması olarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antibiyofilm aktivitelerinin araştırılması için seçilmiştir (Şekil 4.41.).



Şekil 4.41. *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *E. faecalis* mikroorganizmalarının (A) mikrolatede biyofilm oluşumları, (B) biyofilm yapma kapasitelerini gösteren görsel.

4.2.4.1 PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin Antibiyofilm Aktivitesi

PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin MİK ve MBK değerlerine paralel olarak farklı miktarlarının (0,975 µg/mL, 1,95 µg/mL, 3,9 µg/mL, 7,8 µg/mL, 15,62 µg/mL, 31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL ve 500 µg/mL) *S. epidermidis* ATCC 1228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarının oluşturdukları biyofilmlere karşı inhibisyon aktiviteleri tespit edilmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin *S. epidermidis* ATCC 1228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053

mikroorganizmalarının oluşturdukları biyofilme karşı inhibisyon aktivitesinin olduğu gözlemlenmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin *S. epidermidis* ATCC 1228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarının oluşturdukları biyofilmlere karşı en düşük inhibisyon oranı sırasıyla PRE-AgNP'lerde 31,25; 31,25 ve 250 µg/mL miktarında PRO-AgNP'lerde en yüksek inhibisyon oranı 31,25; 31,25 ve 500 µg/mL miktarında POST-AgNP'lerde 15,62; 15,62 ve 250 µg/mL olarak belirlenmiştir. *S. epidermidis* ATCC 1228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarının planktonik formlarında biyosentezlenen nanopartiküllerin düşük konsantrasyonlarında etki gözlemlenirken biyofilm formlarında daha yüksek konsantrasyonları etkili olmuştur. PRE-AgNP ve PRO-AgNP'lerin MİK değerlerine paralel olarak biyofilm eradikasyon aktiviteleri de benzerdir. POST-AgNP'ler ise MİK değerlerine göre PRE-AgNP ve PRO-AgNP'lerden daha düşük konsantrasyonlarda biyofilm eradikasyon değeri göstermiştir (şekil 4.44).

Zeinivand vd. (2023) yerel bir yoğurttan izole edilen *Lactobacillus paracasei* MN 809528'den izole edilen ekzopolisakkarit ile sentezlen gümüş nanopartiküllerin antibiyofilm aktivitelerini Gram negatif *E. coli* ATCC 25,922, *P. aeruginosa* ATCC 27,853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 17,978, gram pozitif bakteri *S. aureus* ATCC 25,923'e ve *C. albicans* ATCC 10,231 mayasına karşı araştırmıştır. Bu araştırıcılar test mikroorganizmalarını 0,78-400 µg/ml'de AgNP'lere maruz bırakarak nanopartiküllerin biyofilmleri yok edebildiği konsantrasyonları belirlemişlerdir. Sonuçlar AgNP'lerin biyofilm oluşumu üzerindeki aktivitesinin, tüm suşları inhibe edebildiğini ve gram negatif bakteri biyofilm inhibisyon oranının Gram pozitif bakterilere göre daha yüksek olduğunu gözlenmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada Gram-negatif bakteriler arasında *E. coli*'nin en yüksek inhibisyon yüzdesine (%78,70) sahip olduğunu ve onu *P. aeruginosa*'nın (%72,80) izlediği ayrıca sentezlenen AgNP'lerin *C. albicans*'ın (%68,80) biyofilm oluşumunu da inhibe edebildiğini bildirmişlerdir.

Kanmani ve Lim, (2013) *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 tarafından üretilen ekzopolisakkarit kullanılarak gümüş nanopartiküllerin(SNP) biyosentezini gerçekteşirmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus cereus* ATCC 10987 gibi patojenik suşlara, gıda kaynaklı patojen *Listeria monocytogenes* ATCC 15313'e ve çoklu ilaca dirençli patojenler *Pseudomonas*

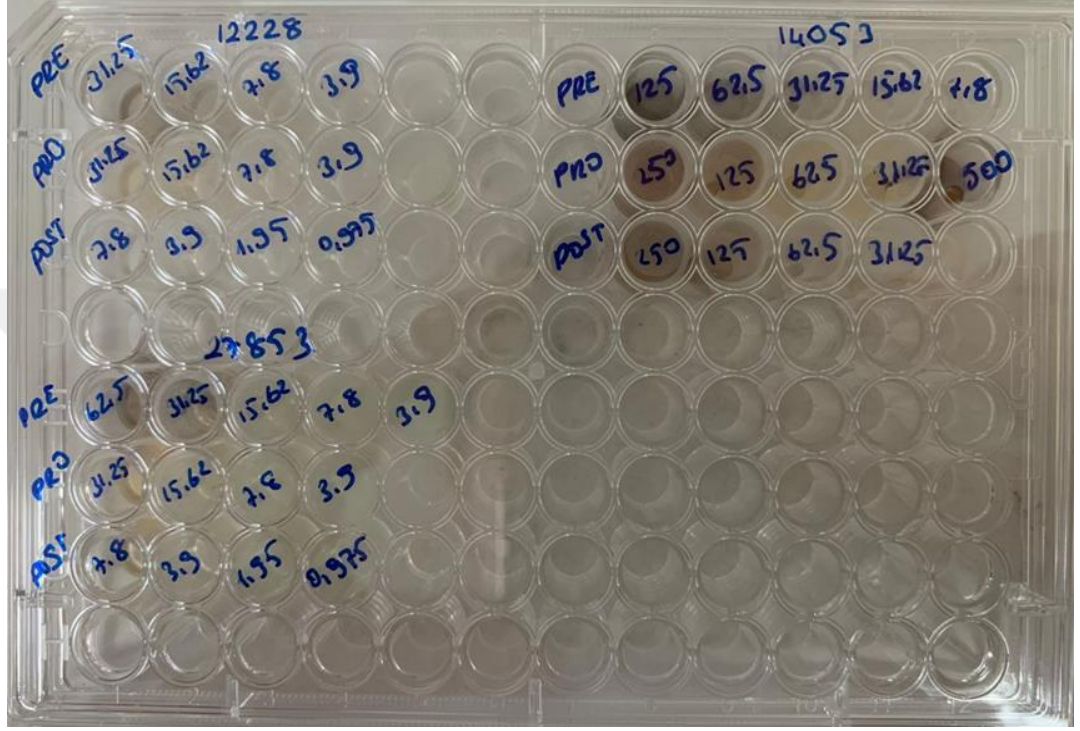
aeruginosa ATCC 15442 ve *Klebsiella pneumonia* ATCC 27736'ya karşı biyofilm aktiviteleri test edilmiştir. Sonuçlar tüm bakterilerde doza bağlı biyofilm inhibisyonu gözlemlendiğini ve SNP konsantrasyonu 1'den 56 µg/ml'ye çıkarıldığında biyofilm inhibisyonunda bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumu, 56 µg/ml AgNP konsantrasyonunda tamamen (%100) inhibe edilirken , gıda kaynaklı patojen *L. monocytogenes* yaklaşık %32 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar bu aktiviteyi nanopartiküllerin sentezinde kullanılan indirgeyici ve stabilize edici maddenin aktivitesine ve nanopartiküllerin boyutuna atfetmiştir.

Zhang vd. (2014) tarafından *L. fermentum* biyokütlesi biyojenik gümüş nanopartiküllerin sentezi için kullanılmış ve antibiyofilm aktiviteleri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı araştırılmıştır. Sonuçlar biyosentezlenen nanopartiküllerin 2.0 mg/mL gibi düşük bir konsantrasyonda ilk 24 saatte biyofilm oluşumunun en az %20'sini azaltabildiğini, 7,8 mg/mL konsantrasyonda biyofilm oluşumunda %90'dan fazla bir azalma sağlandığını ve 48 saatlik inkübasyonda, biyofilm önleme etkisinin 15,6 mg/mL konsantrasyonda neredeyse %100'lük bir azalma elde edildiğini bildirmişlerdir.

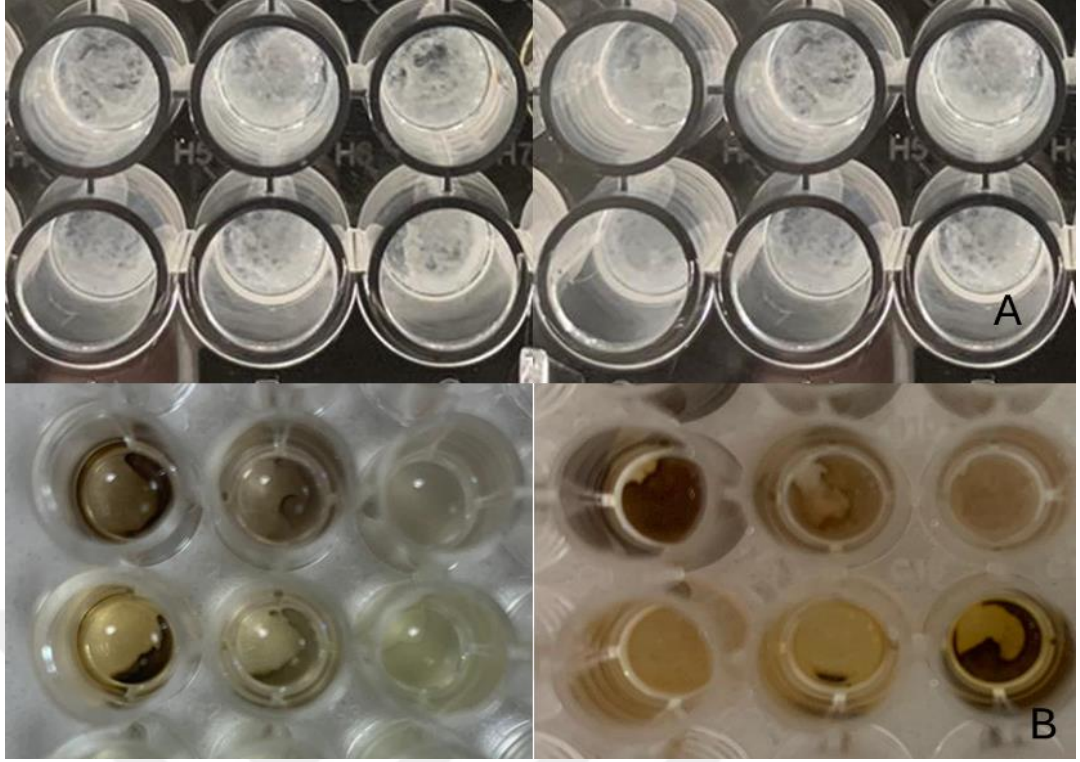
Chaudhari vd. (2012) tarafından *B. cereus* hücresiz süpernatantı kullanılarak gümüş nanopartiküller sentezlenmiş ve *S. aureus* biyofilmi için Gentamicin (10µg/ml), Chloramphenicol (20µg/ml) ve 1 mM gümüş nitrata karşı antibiyofilm aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak 1 mM gümüş nitrat ve antibiyotiklerin tek başına *S. aureus* biyofilmine karşı etkisiz olduğu, gümüş nanopartiküllerin ise biyofilmi iyi derecede inhibe ettiği gözlenmiştir.

Potansiyel probiyotik suş *L. rhamnosus* ACS5 biyokütlesi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen PRE-AgNP, PRO- AgNP ve POST- AgNP'lerin biyofilm eradikasyon değerleri incelenen çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Buradan varılacak sonuçla biyofilmlerle mücadelede planktonik hücrelere kıyasla daha yüksek dozlarda nanopartiküllere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu durum mikroorganizmaların biyofilm oluşturarak kendilerini dış ortamdan gelebilecek antimikrobiyal ajanlara ve antibiyotiklere karşı koruma oluşturacak bir matris oluşturmaları ile açıklanmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin biyofilmlerin inhibe edilmesi açısından gram pozitif bakterilere kıyasla gram negatif bakterilere karşı daha etkili oldukları bildirilmiştir (Zeinivand vd., 2023). Çalışmamızda PRE-AgNP, PRO- AgNP ve POST- AgNP'ler ise hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı güçlü aktivite göstermiştir.

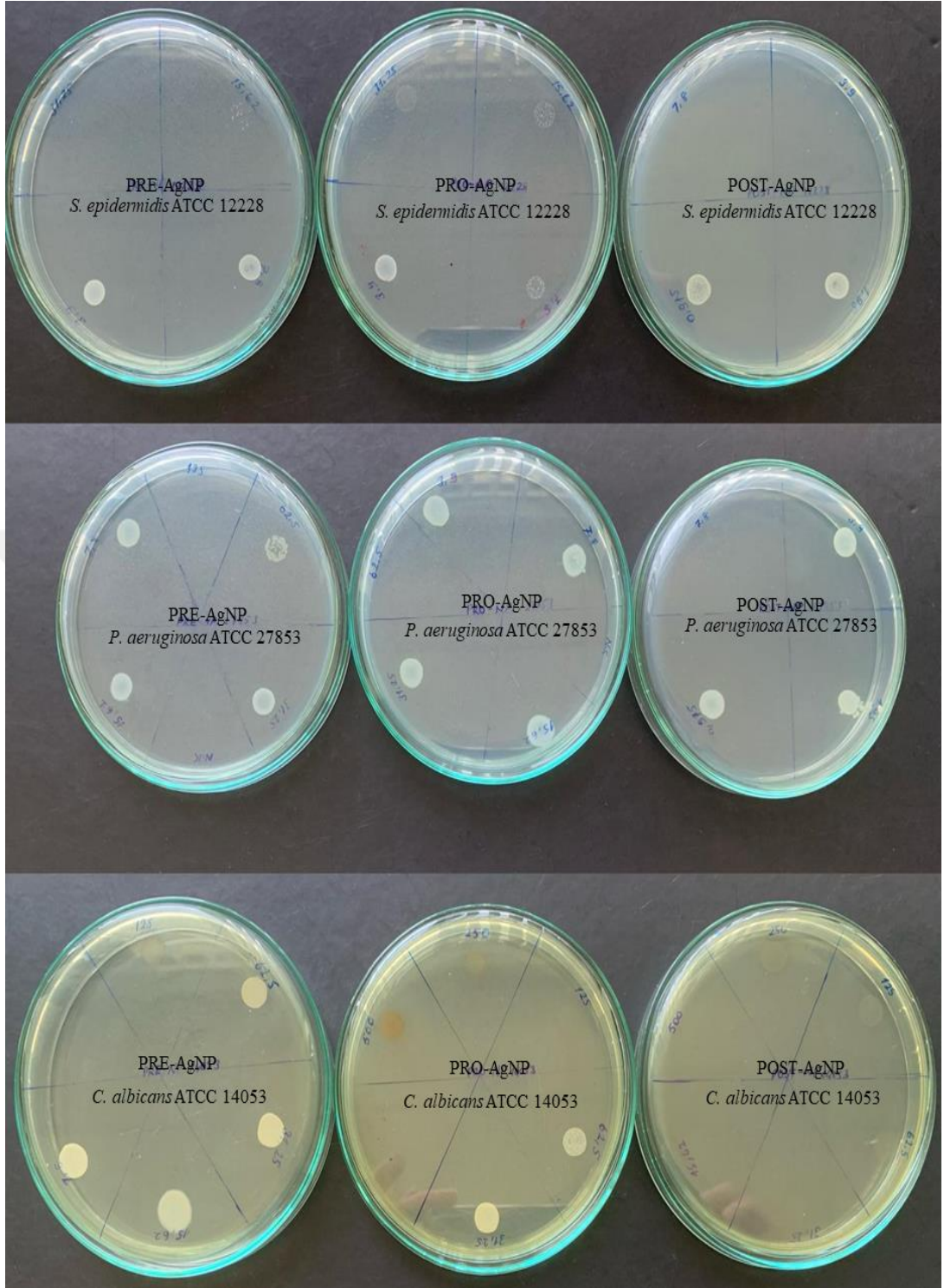
Literatürde laktik asit bakterilerinin postbiyotiği kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin aktiviteleri ile ilgili bir tane çalışmaya rastlanılmıştır (Abishad vd., 2022). Düşük konsantrasyonlarda dahi patojen bakteri biyofilmlerinde etkili olan POST- AgNP'lerin antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivite araştırmaları açısından literatüre kazandırılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.



Şekil 4.42. *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarının mikroplatede biyofilm oluşumlarını ve MİK-MBK değerlerini gösteren görsel.



Şekil 4.43. Mikroplatede biyofilm oluşumu (A), PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin biyofilmlere uygulandıktan sonra oluşan görüntüsü (B).



Şekil 4.44. *S. epidermidis* ATCC 12228, *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 14053 mikroorganizmalarının minimum biyofilm eradikasyon değerlerini gösteren görsel.

4.2.5 Sentezlenen nanopartiküllerin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi

Bu yöntem kararlı bir serbest radikal olan α , α -difenil- β -pikrilhidrazil (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5O_6$) kullanılarak antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiştir (Blois, 1958). Antioksidan özelliği belirlenmek istenilen maddenin bu serbest radikale karşı süpürme kapasitesinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. DPPH'deki azot atomunun tek elektronu, antioksidanlardan bir hidrojen atomu alarak karşılık gelen hidrazine indirgenmektedir (Contreras-Guzman ve Strong, 1982). DPPH radikaline aktarılan hidrojen atomlarını veya elektronları sayesinde mor renkli DPPH radikali renksiz α , α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne indirgenmektedir. Bu yöntemdeki renk değişimi, numunenin antioksidan aktivitesinin 517 nm dalga boyunda tespit edilmesi için etkili bir değerlendirme sağlamaktadır (Kedare ve Singh, 2011). Biyosentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllerin DPPH radikal süpürücü aktivitesi, yüksek antioksidan aktivitesi kanıtlanmış olan askorbik asit (AA) pozitif kontrol kullanılarak değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin (1, 2, 4, 5 μ g/mL) yüzde DPPH radikal süpürücü aktiviteleri Bölüm 3.2.3.4.'de verilen süpürme aktivitesi denklemi (Eş. 3.1) kullanılarak tespit edilmiş sonuçlar Şekil 4.45, 4.46 ve 4.47'de verilmiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin DPPH radikal süpürücü aktivitesi incelendiğinde; PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin konsantrasyonun artmasıyla DPPH süpürme aktivitesinin kademeli olarak önemli ölçüde arttığı, 2 μ g/mL konsantrasyondan itibaren neredeyse DPPH radikallerini büyük bir oranda indirgeyerek güçlü radikal süpürücü aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak PRE-AgNP'lerde PRO-AgNP, POST-AgNP'lere ve askorbik asite kıyasla daha düşük radikal süpürücü aktivite gözlemlenmiştir. Pozitif kontrol olarak test edilen askorbik asit ise %100 DPPH süpürme aktivite değerini 1 mg/mL konsantrasyon da gerçekleştirmiştir. Bu sonuçlara göre PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarında yüksek DPPH süpürme aktivitesi gösterdiği ve potansiyel antioksidan bileşik olabileceği öngörülmektedir. Ayrıca bu güçlü antioksidan kapasitenin *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin salgıladığı ve gümüş nanopartiküllerin sentezinde rol alan biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

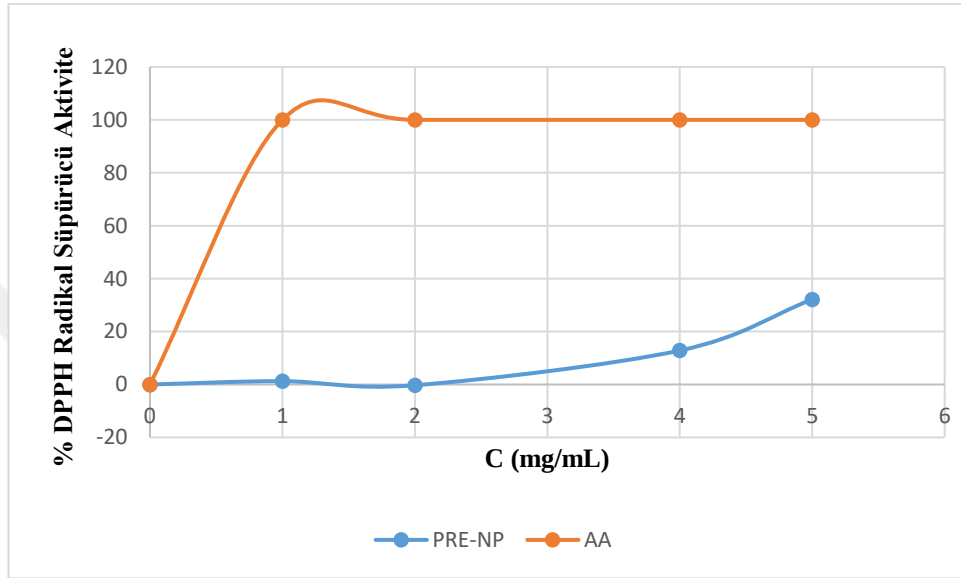
Srinivasan vd., (2021) biyolüminesan bir bakteri olan *Vibrio campbellii* bakteri biyokütlesi kullanılarak hücre dışı metabolitlerinden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/ml olmak üzere artan konsantrasyonlarda DPPH süpürme aktivitesinin %60 oranında olduğunu bildirilmiştir. Tez çalışmasında daha düşük (2 µg/mL) konsantrasyonlarda benzer şekilde sentezlenen PRO-AgNP'ler *Vibrio campbellii* bakteri biyokütlesi kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerden daha yüksek (%100) antioksidan aktivite sergilemiştir (Şekil 4.34).

Vijayakumar vd. (2023) *L. plantarum* kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Bu araştırmacılar AgNP'lerin DPPH'ye karşı konsantrasyonunun (15-240 µL/mL) artmasına paralel olarak serbest radikal süpürücü aktivitesinin de arttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda daha düşük konsantrasyonlarda (2 µg/mL) benzer şekilde sentezlenen PRO-AgNP'ler *Lactiplantibacillus plantarum* kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerden daha yüksek (%100) antioksidan aktivite sergilemiştir (Şekil 4.34).

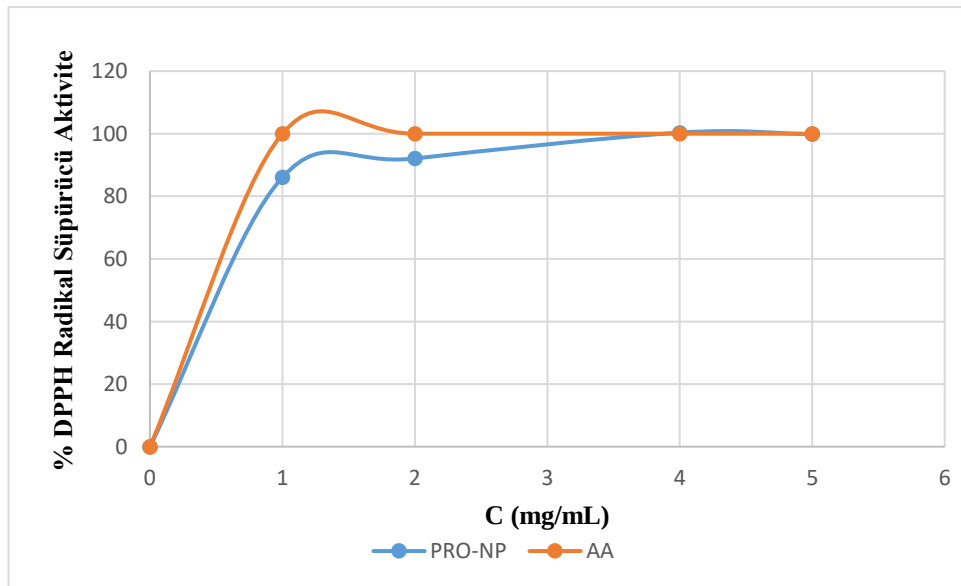
Abishad vd. (2022) tarafından *L. acidophilus* bakterisinin hücresiz süpernatantı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi standart antioksidan olan askorbik asite karşı test edilmiştir. Yapılan çalışmada yeşil sentezlenmiş AgNP'lerin antioksidan özelliklerinde doza bağlı bir artış gözlemlendiği ve AgNP'lerin süpürme yeteneğinin standart askorbik asitten nispeten daha düşük olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde tez çalışmasında biyosentezlenen POST-AgNP'lerin *L. acidophilus* bakterisinin hücresiz süpernatantı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 80 ila 100 µg/mL'de gösterdiği aktiviteyi 4-5 µg/mL de gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca literatürde laktik asit bakteri hücreleri ve hücresiz süpernatantları kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin antioksidan aktivitesini gösteren çalışmalara çok az rastlanılmaktadır. Yapılan tez çalışmasından elde edilen verilerle literatüre bu konuda katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Rajoka vd. (2020) yerel bir fermente içecekten izole edilen *L. brevis* tarafından sentezlenen ekzopolisakkarit aracılı gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel ve antioksidan aktivitesini araştırmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin DPPH radikal temizleme oranı askorbik asitle karşılaştırıldığında 100 µg/ml

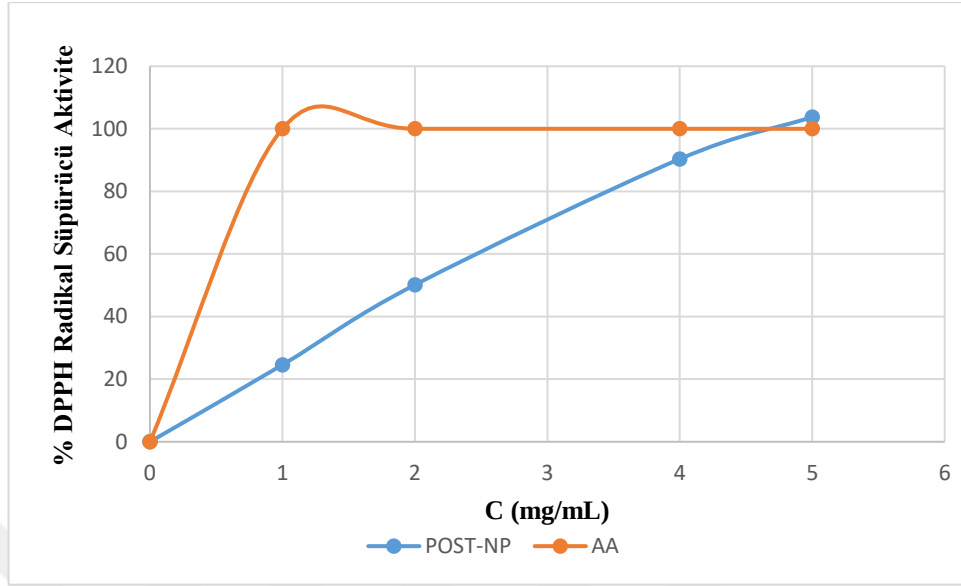
konsantrasyonda $91.3 \pm 0,7$ olarak tespit edilmiştir. DPPH temizleme aktivitesinin konsantrasyona bağlı bir şekilde AgNP'lerin konsantrasyonu arttıkça, DPPH serbest radikalının temizleme oranında arttığını ve daha yüksek AgNP'lerde maksimum temizleme oranına ulaşıldığını bildirmişlerdir. PRE-AgNP'lerde ki gözlemlenen düşük DPPH serbest radikalının temizleme kapasitesinin de yapılan çalışmaya benzer şekilde yüksek konsantrasyonlarda daha başarılı olacağı düşünülmektedir.



Şekil 4.45. PRE-NP'lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.



Şekil 4.46. PRO-NP'lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.



Şekil 4.47. POST-AgNP’lerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.

4.2.6 Sentezlenen Nanopartiküllerin Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

Yeni antimikrobiyal ve yara iyileştirici ajanların geliştirilmesi açısından probiyotiklerin ileriye dönük uygulamaları büyük umut vadetmektedir (Vijayakumar vd., 2023). Geleneksel malzemelerle karşılaştırıldığında farklı fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı çeşitli biyomedikal uygulamalar, dermal ilaç salınımı ve topikal tedaviler için nanopartiküllerin sentezi sıklıkla önerilmektedir (Goyal vd., 2016). Yenilikçi terapötiklerin geliştirilmesi için uzun bir süre boyunca nanopartiküllerin biyosentezinde probiyotik bakterilerden yararlanılabileceği düşünülmektedir (Losada ve Olleros, 2002). Bazı çalışmalar yara tedavi uygulamalarında probiyotik bakterilerin kullanımını ortaya koymuştur ancak yara pansumanlarında kutanöz yara iyileşmesini desteklemede nanopartiküllerin kullanımı hakkındaki çalışmalar sınırlıdır (Caggianiello vd., 2016; Vijayakumar vd., 2023). Çalışmalarda *in vitro* hücre göçü yöntemleriyle çizik yara iyileştirme aktivitesi değerlendirmeye çalışılsa da model organizma üzerinde yara tedavi uygulamaları için laktik asit bakterisi ve metabolitleri kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin olduğu çalışmalara rastlanılmamıştır. Biyosentezlenen nanopartiküllerin biyoyumumluluklarının

araştırılması ve sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etki oluşturmaması yara tedavi uygulamalarında kullanılabilmesi açısından umut vadeden bir konu olarak görülmektedir. Yeşil yöntemle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitesi Bölüm 3.2.4’ de verilen verilen % Denklem (Eş. 3.2) kullanılarak tespit edilmiş, sonuçlar Şekil 4.51, Şekil 4.52 ve Şekil 4.53’de verilmiştir. Hücre canlılığının belirlenmesi (Şekil 4.50), hücrelerdeki mitokondriyal dehidrojenazın aktivitesini ölçen (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.51).

24 saat için 25, 50 ve 100 µg/mL uygulama dozlarında, sağlıklı hücreler için alınan % hücre canlılık değerleri arasındaki farklılık PRE-AgNP ve POST-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP’lere göre anlamlı bulunmuştur (***; $p < 0.001$). Bununla birlikte 24 saat için hiçbir uygulama dozunda PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP arasındaki sitotoksik aktivite değerlendirmeleri için kullanılan L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinde canlılık düzeyinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$).

48 saat için tüm uygulama dozlarında, sağlıklı hücreler için alınan % hücre canlılık değerleri arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. Ayrıca 50 µg/mL’de L929 hücrelerinde PRE-AgNP ile PRO-AgNP’ler anlamlı düzeyde daha yüksek proliferasyon göstermiştir (**; $p < 0.01$). POST-AgNP’lerin ise PRE-AgNP ile PRO-AgNP’lere göre anlamlı düzeyde sitotoksitite oluşturduğu belirlenmiştir (***; $p < 0.001$).

72 saat için gerçekleştirilen deneylerde, tüm uygulama dozlarında, sağlıklı hücreler için alınan % hücre canlılık değerleri arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. (*; $p < 0.05$). PRO-AgNP’lerin 50 µg/mL uygulama konsantrasyonu için PRE-AgNP ve POST-AgNP’lere göre anlamlı düzeyde daha yüksek proliferasyon gözlemlenmiştir (***; $p < 0.001$).

Wen vd. (2016) Çin şifalı bitkisi olarak adlandırılan *Orchidantha chinensis*’den elde edilen endofitik mantar kullanılarak aktif AgNP’lerin biyosentezini gerçekleştirmiştir. Biyosentezlenen AgNP’ler Sprague Dawley sıçanlarda *S. aureus* ve *P. aeruginosa* ile enfekte yara modeli ile yara iyileştirme aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir.

AgNP'lerin 7 gün sonra yaranın kapanmasında ve yara iyileşmesinin hızlandırılmasında etkili olduğu bildirilmiştir.

Cerrahi müdahaleler sonrası oluşan yaraların iyileşmesi, cerrahi bölgenin hijyeni ile doğrudan ilişkili olmaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesi, hastanın hızlı bir şekilde iyileşmesi ve aynı zamanda antibiyotik kullanımının azaltılması açısından da önemlidir (Tian vd., 2007).

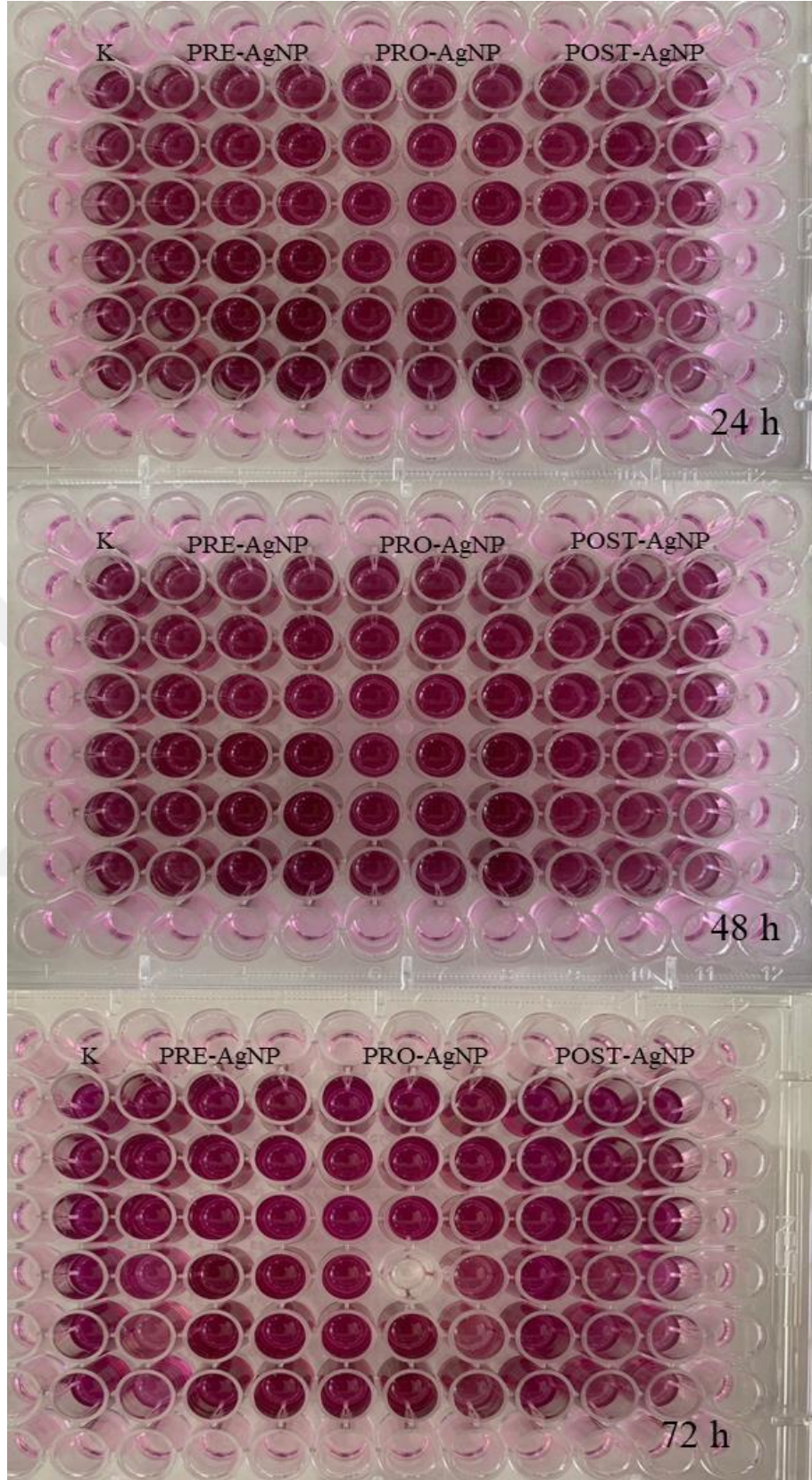
Baygar vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Streptomyces* sp. AU2 suşunun hücre içermeyen kültür süpernatantı kullanılarak sentezi gerçekleştirilmiştir. Biyosentezlenen gümüş nanopartiküller cerrahi dikişlerde kullanılan ipek ipliklerin yüzeyine yerinde bir işlem kullanılarak emprenye edilmiştir. Gümüş nanopartikülle emprenye edilen ipliklerin biyouyumlulukları fare embriyonik fibroblast hücre çizgisi (NIH 3T3) kullanılarak değerlendirilmiştir. 1, 4, 8 ve 10 gün boyunca biyo-AgNP kaplı dikiş ekstraktlarıyla kültürlen 3T3 murin fibroblast hücrelerine uygulanan 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) analizi, hücre canlılığının negatif kontrol grubundan önemli ölçüde farklı olmadığını göstermiştir. Bio-AgNP kaplı sütürlerin indirekt yöntemle test edilen 3T3 fibroblastların hücre canlılığı üzerinde anlamlı bir olumsuz etkiye neden olmadığı bildirilmiştir.

Hidalgo vd. (1998a) gümüş nitratin farklı konsantrasyonlarının ($70 > x \%10^{-5}$; $\geq 270 x \%10^{-5}$) insan fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesini değerlendirmiştir. Sonuçlar $AgNO_3$ 'ün klinik uygulamalarda kullanılan miktarın 100 ila 700 kat seyreltilmiş konsantrasyonlarda bakterilere karşı etkili inhibitör etki gösterdiğini ancak bu konsantrasyonların insan fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik olduğu bildirilmiştir. Hidalgo ve Dominguez, (1998,b) tarafından yapılan çalışmada insan dermal fibroblastları 8 ve 24 saat boyunca 4,12–82,4 μM konsantrasyonlarda $AgNO_3$ 'e maruz bırakılmıştır. Sonuçlar gümüş iyonlarının, fibroblast proliferasyonunu büyük ölçüde inhibe ettiğini ve uzun süreli $AgNO_3$ 'e maruz kalmanın, Ag'ye bağımlı hücre kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *in vitro* deneysel model sırasında DNA sentezi üzerindeki inhibitör etkinin, $AgNO_3$ 'ün sitotoksitesine bağlı önemli hücre proteini kaybıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler ise 100 $\mu g/mL$ 'deki konsantrasyonda 72 saate kadar sitotoksik bir etki göstermemiş ve sadece patojenlere karşı etkili inhibitör etki sergilemiştir. Bu sonuçlar

PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin biyoyumlu malzemeler olduğunun kanıtını sunmaktadır.

Potansiyel probiyotik suş *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin çalışmalara benzer olarak L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik bir etki göstermemesi ve PRE-AgNP ve PRO-AgNP'lerinin sağlıklı hücrelerin proliferatif aktivitesini arttırması biyoyumlu bir malzeme sentezlediğimizin kanıtını sunmaktadır. Çalışmaların ışığında biyosentezi gerçekleştirilen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin yara tedavi uygulamalarında hem antimikrobiyal aktivitenin sağlanması açısından hem de yara yataklarının iyileştirilmesi amacıyla tedavilerde kullanılabilecek potansiyel bir biyomalzeme olabileceğini öngörmekteyiz.

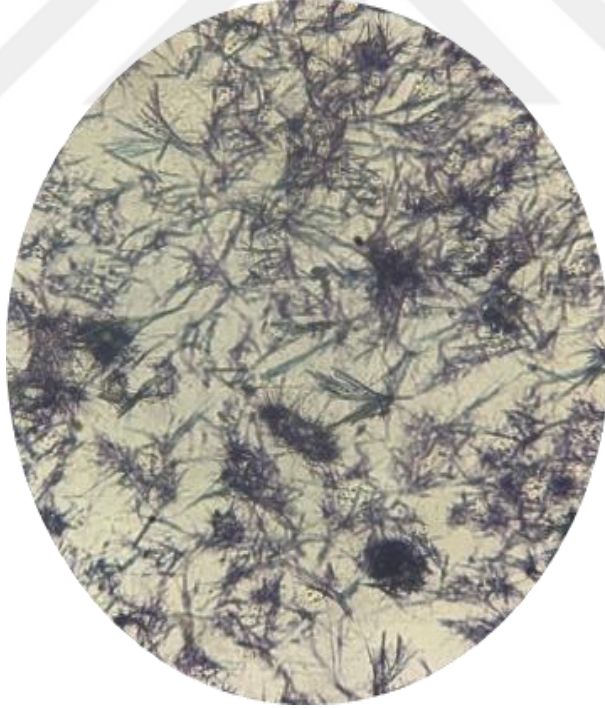




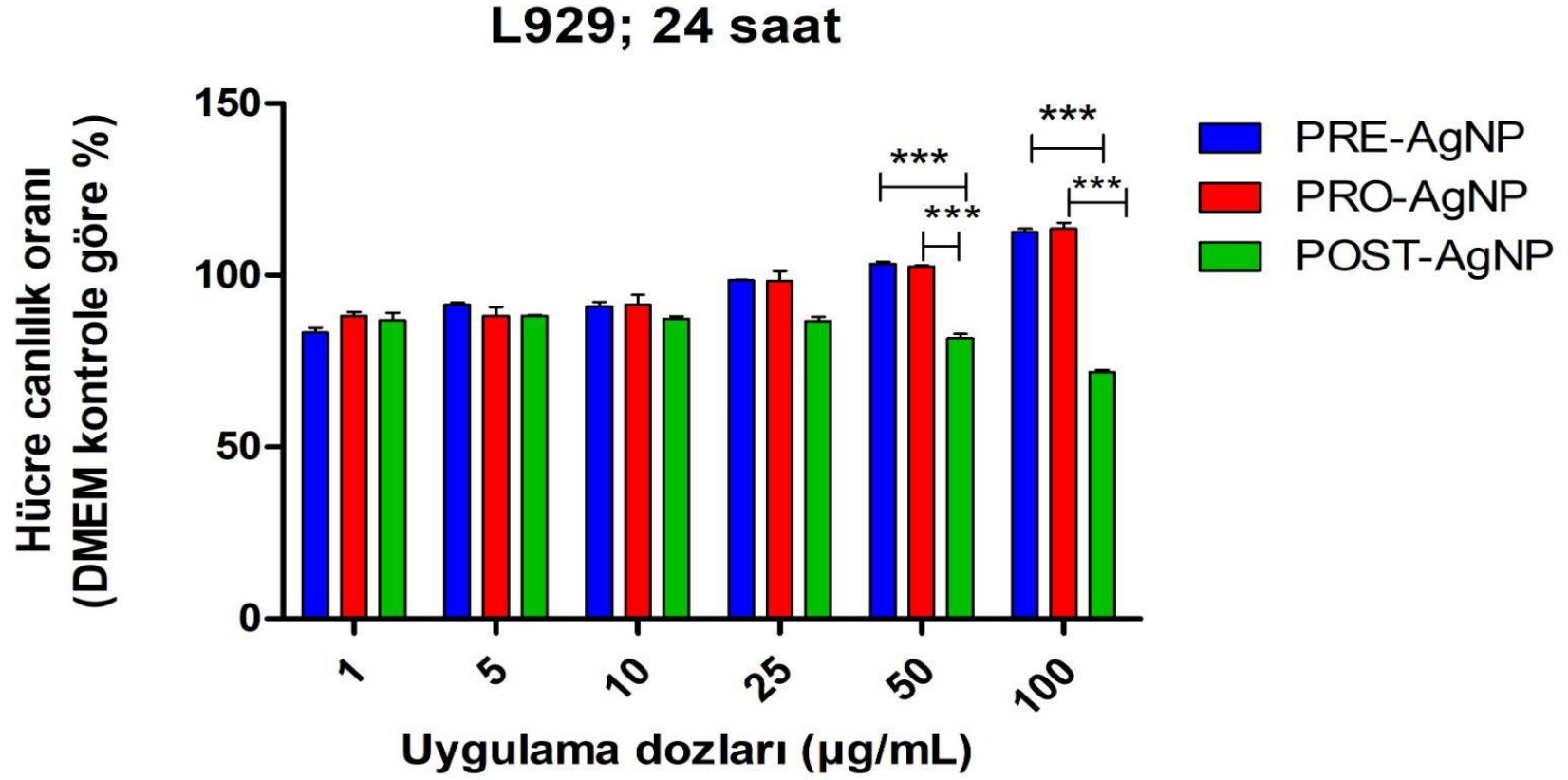
Şekil 4.48. L929 sağlıklı fare fibroblast hücreleri üzerinde PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin sitotoksik etkisinin belirlendiği görüntüler.



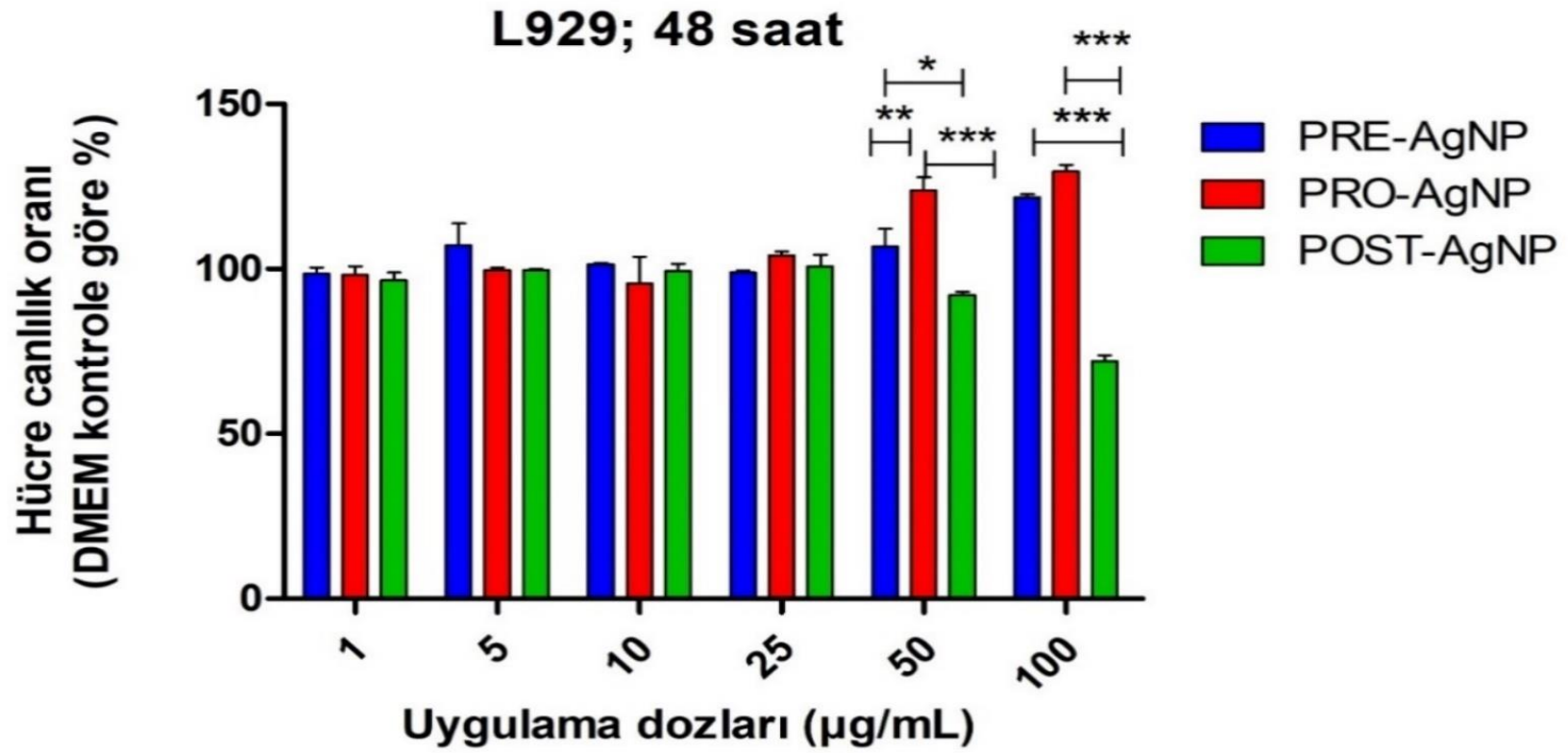
Şekil 4.49. L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinin mikroskopik görüntüsü.



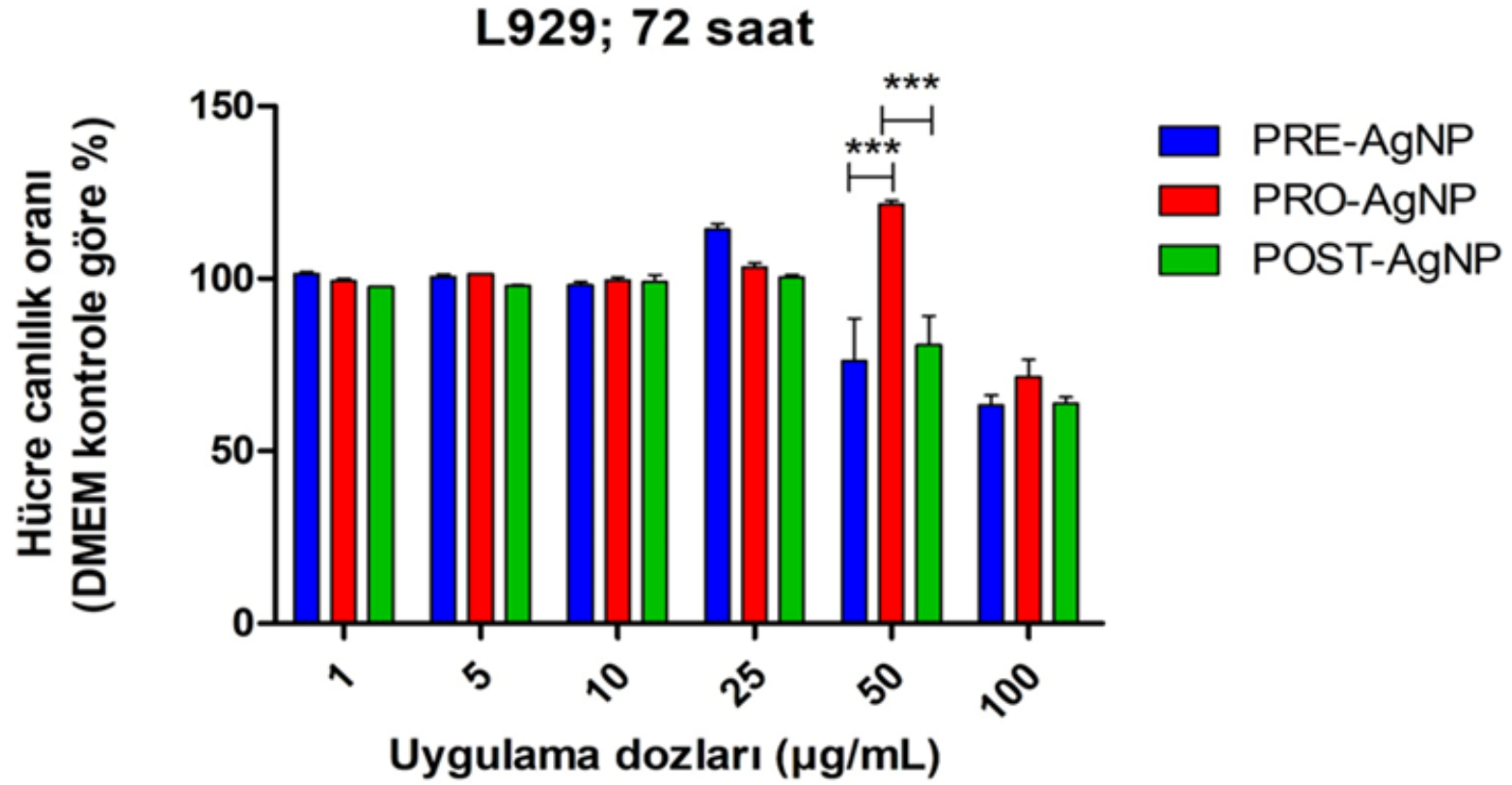
Şekil 4.50. L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinde MTT inkübasyonu sonucu formazan kristalinin oluşumu.



Şekil 4.51. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin L929 hücrelerine karşı 24. saatteki MTT analiz sonuçları.



Şekil 4.52. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin L929 hücrelerine karşı 48. saatteki MTT analiz sonuçları.



Şekil 4.53. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerinin L929 hücrelerine karşı 72. saatteki MTT analiz sonuçları.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Antibiyotik direnci ve bakteri biyofilmi tüm dünyada giderek artan bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle alternatif tedavi yöntemleri ve biyomalzemeler araştırılmaktadır. Hastalıklarda uzun süreli antibiyotik kullanımı bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkilemekte ve bakterilerde direnç gelişmesine neden olarak mevcut tedavi yöntemlerini etki dışı bırakmaktadır. Yeni ve etkili antibiyotiklerin araştırılması, geliştirilmesi zaman alıcı olduğu için patojenlerle mücadelede farklı stratejiler araştırılmaktadır. Son yıllarda gümüş nanopartiküller, çoklu ilaca karşı bakteriyel direnci azaltmak için etkili antiseptik ajan olarak ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmada *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 bakterisi (probiyotik nanopartikül, PRO-AgNP), ekzopolisakkariti (prebiyotik nanopartikül, PRE-AgNP) ve bakteri süpernatantı (postbiyotik nanopartikül, POST-AgNP) ile gümüş nanopartiküllerin biyojenik ve yeşil sentezi gerçekleştirilerek antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceği düşünülmüş ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla yeşil sentez yöntemleri ile aktif bakteri biyokütlesi, süpernatantı ve bakteriden izole edilen ekzopolisakkarit kullanılarak, 1 mM AgNO₃ ile gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Nanomalzemelerin istenilen özelliklerde sentezlenebilmesi ve kullanılan indirgeyici ajanların nanomalzemede varlığının tespit edilmesi açısından karakterizasyon yöntemleri önemli görülmektedir. Optik özelliklerinin belirlenmesi, kimyasal ve kristal yapısının aydınlatılması, boyut, şekil ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi açısından yapılan analizlerin doğruluğu iyi belirlenmelidir. Bu sebeple biyosentezi gerçekleştirilen gümüş nanopartiküllere UV-VİS, FT-IR, SEM-EDS, XRD, zeta potansiyel ve zeta boyut analizleri yapılarak istenilen özelliklerin oluşumunun araştırılması amaçlanmıştır.

Biyosentezlenen nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi veya ileri çalışmalarda kullanılabilmesi için çeşitli gıda ve klinik patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Ayrıca kimyasal yöntemle de gümüş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilerek, antimikrobiyal aktivite kimyasal ve yeşil sentezle üretilen nanopartiküllerde karşılaştırılmalı olarak belirlenmiştir. Yeşil sentezle üretilen nanopartiküller; gıda ve klinik patojenlere karşı antimikrobiyal

aktivite gösterirken, kimyasal yöntemle sentezlenen nanopartiküllerde antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler Gram pozitif ve Gram negatif klinik ve gıda patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Bu etkili antimikrobiyal aktivite sayesinde biyosentezlenen nanopartiküllerin antibiyotiklere alternatif kullanılabilecek etkili antimikrobiyal ajanlar olabileceğini düşünmekteyiz.

Nanopartiküllerin sentezinde kimyasal ve fiziksel yöntemlerin kullanımı toksik özelliklerin artması ve yan etkilerin oluşması sebebiyle kullanımı sınırlandırmaktadır. Bu nedenle toksik kimyasalların yerine alternatif yeşil sentez yöntemlerinin ve bakteri, maya, bitki bileşenleri ve bakteri metabolitlerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Son yıllarda araştırmacılar bitki kökleri, metabolitleri, bakteri, maya ve bunların hücresiz süpernatantlarından metal nanopartiküllerin sentezini gerçekleştirmiş ve patojenlere karşı aktivitelerini araştırmıştır. Bu yöntemler, çevresel etkileri minimize etmek ve kimyasal atıkları azaltmak için çevre dostu yöntemler olarak tasarlanmıştır. Bu sayede gümüş nanopartiküllerin çeşitli uygulamalarda kullanımını desteklerken çevresel ve sağlık risklerini azaltmaya yardımcı olabilmektedir. *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin yeşil sentez metodlarının kullanılması ve yöntemlerin tutarlılığı açısından literatürdeki çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Gümüş nanopartiküllerin mikroorganizmalar üzerindeki aktiviteleri hala belirsizliğini korumaktadır. Literatürde bu konu hakkında birçok mekanizma ve teori bulunmaktadır. Mekanizmaların aydınlatılması, biyofilmle ve patojenlerle mücadelede büyük bir adım olacaktır. Bazı araştırmacılar nanopartiküllerin yüzey yükünün bakterilerin yok edilmesinde rol oynadığını düşünmektedir. Zeta potansiyel analizleriyle belirlenen bu yüzey yükü nanoparçacığın belirli bir ortamda edindiği genel yükü belirtir ve sentezlenen gümüş nanoparçacıklar için, nanoparçacık yüzeyinde anyonik yükü belirten bir zeta potansiyeli oluşmaktadır. Bu özelliğin, nanopartiküllerin yüzey etkileşimi ve hücre alımını incelemek için hücrel imza olarak rol oynadığı ileri sürülmüştür (Zhang vd., 2008). Başka bir mekanizma gümüşün bakteri hücre zarında birikmesi ve solunum süreciyle ilgili bazı enzimlerin gümüş tarafından engellenmesinin, gümüşün bakteri hücrelerine karşı potansiyel inhibisyon mekanizması olduğunu bildirmiştir. Gümüş katyonlarının bakterilerin

hücre duvarına nüfuz ederek peptidoglikanlarla reaksiyona girmesi sonucu hücre bütünlüğü bozulmakta ve hücre içeriği dışarı sızmaktadır (Jung vd., 2008). Başka bir görüş gümüş nanopartiküllerin bakteri hücrelerine bağlandıktan sonra serbest iyonların salınımıyla ortaya çıkan oksidatif stresin bakteriyi inhibe ettiğini söylemektedir (Möhler vd., 2018; Tang ve Zheng, 2018). Ayrıca gümüş'ün hücreye girdikten sonra DNA'ya zarar vermesi ve transkripsiyonun inhibisyonu da bu mekanizmalar içinde yer almaktadır. (Mathur vd., 2018).

PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin -20,8, -21,0, -25,8 olan zeta potansiyel değerleri genel yüzey yüklerinin negatif olduğunu göstermiştir. Bu sayede nanopartiküllerin göstermiş olduğu etkili antimikrobiyal aktivitenin bu sebeple olduğu doğrulanmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin gen tedavilerinde küçük MikroRNA'ların (miRNA) taşınması için kullanılabileceği araştırmacılar tarafından öne sürülmüştür (Hoang vd., 2023). Bu açıdan ileri uygulama alanları olarak PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin bu konuda potansiyel oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

L. rhamnosus ACS5 bakterisi 8 mM'a kadar güçlü metal tolere etme yeteneği sergilemiştir. Bu benzersiz yetenek sayesinde biyoremediasyon ve endüstriyel alanlarda metal atıkların temizlenmesinde kullanılabileceği öngörülmektedir.

PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarda yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite yeteneği göstermiştir. PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler askorbik asite karşı benzer hidroksil radikal süpürücü aktivite sergilemiş olup konsantrasyonun artmasıyla aktivite değerlerinde kademeli olarak artış gözlenmiştir. Bu etkili aktivitenin *L. rhamnosus* ACS5 bakterisinin salgıladığı biyoaktif bileşenlerden olduğu düşünülmektedir. PRE-AgNP aynı konsantrasyonlarda düşük DPPH radikal süpürücü aktivite yeteneği göstermiştir. Konsantrasyonların yükseltilerek bu etkinin arttırılabileceği düşünülmektedir. Güçlü serbest radikal süpürücü aktivitesi sayesinde PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antioksidan bileşikler olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

Biyosentezi gerçekleştirilen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin yara tedavi uygulamalarında kullanımı açısından biyoyumluluklarının değerlendirilmesi önemlidir. Hamdy vd. (2022) tarafından gümüş nanopartiküllerin boyutu ile sitotoksik aktiviteleri arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Küçük boyutlu nanopartiküllerin

büyük boyutlu nanopartiküllere kıyasla daha yüksek toksisite seviyeleri sergilediği tespit edilmiştir (Hamdy vd. 2022; Pucelik vd., 2022). Ayrıca AgNP'lerin agregasyon davranışının biyolojik aktivitelerinde çok önemli bir rol oynadığı, yüksek agregasyonun sitotoksik ve antimikrobiyal etkilerin kaybına yol açtığı bildirilmiştir (Pucelik vd., 2022). PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'ler agregasyonları yüksek olduğu halde gıda ve klinik patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin sulu dispersiyonlarına yüzey aktif madde eklenerek agregasyonlarının azaltılmasının nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerini de arttırabileceği düşünülmüştür.

L929 sağlıklı fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitesi değerlendirilen biyo-nanopartiküllerin 100 µg/mL'de dahi herhangi bir sitotoksik etki göstermediği ve hücrelerin 72 saate kadar canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. Potansiyel probiyotik suş *L. rhamnosus* ACS5 bakterisi, ekzopolisakkariti ve postbiyotiği ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik bir etki göstermemesi ve PRE-AgNP ve PRO-AgNP'lerinin sağlıklı hücrelerin proliferatif aktivitesini arttırması biyoyumlu bir malzeme sentezlediğimizin kanıtını sunmaktadır. Gümüşün tek başına çok düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etki gösterdiği göz önüne alındığında PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin biyoyumlu malzeme olarak değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca ileri uygulama alanları olarak PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin yara tedavilerinde kullanılan hidrojel veya biyolojik filmlere entegre edilebilecek biyoyumlu malzemelerin oluşturulması konusunda potansiyelinin olabileceğini öngörmekteyiz.

Sonuç olarak yeşil sentezle üretilen PRE-AgNP, PRO-AgNP ve POST-AgNP'lerin antibiyotiklere alternatif antimikrobiyal ajan olabileceği, sitotoksik etki göstermemesi ve antioksidan kapasitesi sayesinde biyosentezlenen nanopartiküllerin sağlık, biyomedikal gibi birçok sektörde biyoyumlu malzeme olarak yer alabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abarquero, D., Renes, E., Fresno, J. M. ve Tornadizo, M. E., 2022. Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57, 1, 16-26.
- Abdalla, A. K., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shah, N. P. ve Holley, R., 2021. Exopolysaccharides as antimicrobial agents: Mechanism and spectrum of activity, *Frontiers in Microbiology*, 12, 664395.
- Abdelghany, S. M., Quinn, D. J., Ingram, R. J., Gilmore, B. F., Donnelly, R. F., Taggart, C. C. ve Scott, C. J., 2012. Gentamicin-loaded nanoparticles show improved antimicrobial effects towards *Pseudomonas aeruginosa* infection. *International journal of nanomedicine*, 4053-4063.
- Abedini, A., Daud, A. R., Abdul Hamid, M. A., Kamil Othman, N. ve Saion, E., 2013. A review on radiation-induced nucleation and growth of colloidal metallic nanoparticles, *Nanoscale Research Letters*, 8, 1-10.
- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M. ve Maqbool, M., 2022. Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review, *Advances in Colloid and Interface Science*, 300, 102597.
- Abou El-Nour, K. M., Eftaiha, A. A., Al-Warthan, A. ve Ammar, R. A. 2010. Synthesis and applications of silver nanoparticles, *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 3, 135-140.
- Acharya, D., Pandey, P. ve Mohanta, B., 2021. A comparative study on the antibacterial activity of different shaped silver nanoparticles, *Chemical Papers*, 75, 9, 4907-4915.
- Achkar, J. M. ve Fries, B. C., 2010. *Candida* infections of the genitourinary tract, *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 2, 253-273.
- Adebayo-Tayo, B., Popoola, A. ve Ajunwa, O., 2017. Bacterial synthesis of silver nanoparticles by culture free supernatant of lactic acid bacteria isolated from fermented food samples, *Biotechnology Journal International*, 19, 1, 1-13.
- Ahuja, V., Bhatt, A. K., Banu, J. R., Kumar, V., Kumar, G., Yang, Y. H. ve Bhatia, S. K., 2023. Microbial exopolysaccharide composites in biomedicine and healthcare: trends and advances, *Polymers*, 15, 7, 1801.
- Al-Asbahi, M. G., Al-Ofiry, B. A., Saad, F. A., Alnehia, A. ve Al-Gunaid, M. Q., 2024. Silver nanoparticles biosynthesis using mixture of *Lactobacillus* sp. and *Bacillus* sp. growth and their antibacterial activity, *Scientific Reports*, 14, 1, 10224.
- Alexander, J. W., 2009. History of the medical use of silver, *Surgical Infections*, 10, 3, 289-292.

- Al-Ghamdi, H. S. ve Mahmoud, W. E., 2013. One pot synthesis of multi-plasmonic shapes of silver nanoparticles, *Materials Letters*, 105, 62-64.
- Almatroudi, A., 2020. Silver nanoparticles: Synthesis, characterisation and biomedical applications, *Open Life Sciences*, 15, 1, 819-839.
- Alqadi, M. K., Abo Noqtah, O. A., Alzoubi, F. Y., Alzoubi, J. ve Aljarrah, K., 2014. pH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction, *Materials Science-Poland*, 32, 107-111.
- Alsharif, S. M., Salem, S. S., Abdel-Rahman, M. A., Fouda, A., Eid, A. M., Hassan, S. E. D. ve Mohamed, A. A., 2020. Multifunctional properties of spherical silver nanoparticles fabricated by different microbial taxa, *Heliyon*, 6, 5, 1-13.
- Angelin, J. ve Kavitha, M., 2020. Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential, *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 853-865.
- Anjum, A., Sim, C. H. and Ng, S. F., 2018. Hydrogels containing antibiofilm and antimicrobial agents beneficial for biofilm-associated wound infection: Formulation characterizations and In vitro study, *AAPS PharmSciTech*. 19, 3, 1219–1230.
- Arifin, D. C. V., Saragih, D. I. ve Santosa, S. J., 2020. Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized using tyrosine as capping and reducing agent, *International Journal of Emerging Trends in Engineering Research*, 8, 6, 2414-2421.
- Aromal, S. A. ve Philip, D., 2012. Green synthesis of gold nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* and its size-dependent catalytic activity, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 1-5.
- Asif, M., 2021. Green synthesis, green chemistry, and environmental sustainability: an overview on recent and future perspectives of green chemistry in pharmaceuticals, *Green Chemistry and Technology Letters*, 7, 18-27.
- Atiyeh, B. S., Costagliola, M., Hayek, S. N. ve Dibo, S. A., 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature, *Burns*, 33, 2, 139-148.
- Atriwal, T., Azeem, K., Husain, F. M., Hussain, A., Khan, M. N., Alajmi, M. F. ve Abid, M., 2021. Mechanistic understanding of *Candida albicans* biofilm formation and approaches for its inhibition, *Frontiers in Microbiology*, 12, 638609.
- Azharuddin, M., Zhu, G. H., Das, D., Ozgur, E., Uzun, L., Turner, A. P. ve Patra, H. K., 2019. A repertoire of biomedical applications of noble metal nanoparticles, *Chemical Communications*, 55, 49, 6964-6996.

- Bagheri, A. R., Aramesh, N., Hasnain, M. S., Nayak, A. K. ve Varma, R. S., 2023. Greener fabrication of metal nanoparticles using plant materials: A review, *Chemical Physics Impact*, 100255.
- Baig, A. ve Srinivasan, H., 2023. *Nigella sativa* mediated green synthesis of silver nanoparticles to curb antibiotic resistance, *Journal of Materials Research*, 38, 14, 3548-3559.
- Baker, C., Pradhan, A., Pakstis, L., Pochan, D. J. ve Shah, S. I., 2005. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5, 2, 244-249.
- Bankura, K. P., Maity, D., Mollick, M. M., Mondal, D., Bhowmick, B., Bain, M. K. ve Chattopadhyay, D., 2012. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of dextran stabilized silver nanoparticles in aqueous medium, *Carbohydrate Polymers*, 89, 4, 1159-1165.
- Barillo, D. J. ve Marx, D. E., 2014. Silver in medicine: A brief history BC 335 to present, *Burns*, 40, S3-S8.
- Baygar, T., Sarac, N., Ugur, A. ve Karaca, I. R., 2019. Antimicrobial characteristics and biocompatibility of the surgical sutures coated with biosynthesized silver nanoparticles, *Bioorganic Chemistry*, 86, 254-258.
- Bhat, B. ve Bajaj, B. K., 2018. Hypocholesterolemic and bioactive potential of exopolysaccharide from a probiotic *Enterococcus faecium* K1 Isolated From Kalarei. *Bioresource Technology*, 254, 264-267.
- Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D. ve Walter, J., 2015. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 12, 5, 303-310.
- Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 4617, 1199-1200.
- Brandenburg, K. S., Weaver Jr, A. J., Karna, S. R. ve Leung, K. P., 2021. The impact of simultaneous inoculation of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* on rodent burn wounds, *Burns*, 47, 8, 1818-1832.
- Brown, M. L., Aldrich, H. C. ve Gauthier, J. J., 1995. Relationship between glycocalyx and povidone-iodine resistance in *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1, 187-193.
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P. ve Caro, N., 2021. Silver nanoparticles and their antibacterial applications, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 13, 7202.
- Bruskov, V. I., Karp, O. E., Garmash, S. A., Shtarkman, I. N., Chernikov, A. V. ve Gudkov, S. V., 2012. Prolongation of oxidative stress by long-lived reactive

- protein species induced by X-ray radiation and their genotoxic action, *Free Radical Research*, 46, 10, 1280-1290.
- Butt, N. M., 2014. Nanotechnology and explosion in nano-medicine development, *Foundation University Medical Journal*, 1, 2, 28-33.
- Büyüksınt, T. ve Kuleaşan, H., 2014. Fourier dönüşümlü kızılötesi (fır) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı, *GIDA/The Journal of FOOD*, 39, 4.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M. ve Spano, G., 2016. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 3877-3886.
- Calderone, R. A. ve Fonzi, W. A., 2001. Virulence factors of *Candida albicans*, *Trends in Microbiology*, 9, 7, 327-335.
- Cerchiara, T., Abruzzo, A., Palomino, R. A. Ñ., Vitali, B., De Rose, R., Chidichimo, G. and Dalena, F., 2017. Spanish Broom (*Spartium junceum* L.) fibers impregnated with vancomycin-loaded chitosan nanoparticles as new antibacterial wound dressing: Preparation, characterization and antibacterial activity, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 105–112.
- Characklis, W. G., 1973. Attached microbial growths-II. Frictional resistance due to microbial slimes, *Water Research*, 7, 9, 1249-1258.
- Chaudhari, P. R., Masurkar, S. A., Shidore, V. B. ve Kamble, S. P., 2012. Effect of biosynthesized silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* biofilm quenching and prevention of biofilm formation, *Nano-Micro Letters*, 4, 34-39.
- Chou, K. S. ve Ren, C. Y., 2000. Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method, *Materials Chemistry and Physics*, 64, 3, 241-246.
- Clement, J. L. ve Jarrett, P. S., 1994. Antibacterial silver, *Metal-Based Drugs*, 1,5-6, 467-482.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W. ve Knight, R., 2012. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view, *Cell*, 148, 6, 1258-1270.
- Concórdio-Reis, P., Ramos, K., Macedo, A. C., Serra, A. T., Moppert, X., Guézennec, J. ve Freitas, F., 2023. Bioactive exopolysaccharide-composites based on gold and silver nanoparticles tailored for wound healing, *Materials Today Communications*, 34, 105351.
- Contreras-Guzmán, E. S. ve Strong III, F. C., 1982. Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 65, 5, 1215-1221.
- Costerton, J. W., Geesey, G. G. ve Cheng, K. J., 1978. How bacteria stick, *Scientific American*, 238, 1, 86-95.

- Cousin, F. J., Jouan-Lanhouet, S., Th  ret, N., Brenner, C., Jouan, E., Le Moigne-Muller, G. ve Jan, G., 2016. The probiotic *Propionibacterium freudenreichii* as a new adjuvant for TRAIL-based therapy in colorectal cancer. *Oncotarget*, 7, 6, 7161.
- Daba, G. M., Elnahas, M. O. ve Elkhateeb, W. A., 2021. Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 79-89.
- Dahiya, D. ve Nigam, P. S., 2022. Probiotics, prebiotics, synbiotics, and fermented foods as potential biotics in nutrition improving health via microbiome-gut-brain axis, *Fermentation*, 8, 7, 303.
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S. ve Yadav, V., 2016. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles, *Frontiers in Microbiology*, 7, 1831.
- Das, V. L., Thomas, R., Varghese, R. T., Soniya, E. V., Mathew, J. ve Radhakrishnan, E. K., 2014. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus strain* CS 11 isolated from industrialized area, *3 Biotech*, 4, 121-126.
- Dasaradhu, Y. ve Srinivasan, M. A., 2020. Synthesis and characterization of silver nano particles using co-precipitation method. *Materials Today: Proceedings*, 33, 720-723.
- Davies, G. L., O'Brien, J. ve Gun'ko, Y. K., 2017. Rare earth doped silica nanoparticles via thermolysis of a single source metallasilsesquioxane precursor, *Scientific Reports*, 7, 1, 45862.
- de Jesus Raposo, M. F., De Moraes, A. M. M. B. ve De Moraes, R. M. S. C., 2016. Emergent sources of prebiotics: Seaweeds and microalgae, *Marine Drugs*, 14, 2, 27.
- de Man, J. D., Rogosa, D. ve Sharpe, M. E., 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli, *Journal of Applied Microbiology*, 23, 1, 130-135.
- De Marco, S., Sichetti, M., Muradyan, D., Piccioni, M., Traina, G., Pagiotti, R. ve Pietrella, D., 2018. Probiotic cell-free supernatants exhibited anti-inflammatory and antioxidant activity on human gut epithelial cells and macrophages stimulated with LPS, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 12, 1-13.
- de Oliveira, P. F., Torresi, R. M., Emmerling, F. ve Camargo, P. H., 2020. Challenges and opportunities in the bottom-up mechanochemical synthesis of noble metal nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry A*, 8, 32, 16114-16141.
- Devi, R., Behera, B., Raza, M. B., Mangal, V., Altaf, M. A., Kumar, R. ve Singh, B., 2021. An insight into microbes mediated heavy metal detoxification in plants: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-23, 914-936.

- Dhoondia, Z. H. ve Chakraborty, H., 2012. *Lactobacillus* mediated synthesis of silver oxide nanoparticle, *Nanomaterials and Nanotechnology*, 2, 15.
- Dima, V., Iancu, G., Bohiltea, R. E., Toma, A. I., Avramescu-Calomfirescu, A., Varlas, V. N. Ve Davitoiu, A. M., 2022. Probiotics effect in prevention and treatment of atopic dermatitis and eczema in children. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice*, 15, 2.
- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S. ve Kim, B. S., 2021. Green synthesis of metallic nanoparticles: Applications and limitations. *Catalysts*, 11, 8, 902.
- Dimitrijević, S., Kamberović, Ž., Korać, M., Anđić, Z., Dimitrijević, S. ve Vuković, N. S., 2014. Influence of reducing agents and surfactants on size and shape of silver fine powder particles, *Metallurgical and Materials Engineering*, 20, 2, 73-87.
- Dinić, M., Lukić, J., Djokić, J., Milenković, M., Strahinić, I., Golić, N. ve Begović, J., 2017. *Lactobacillus fermentum* postbiotic-induced autophagy as potential approach for treatment of acetaminophen hepatotoxicity, *Frontiers in Microbiology*, 8, 594.
- Donlan, R. M., 2002. Biofilms: microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, 8, 9, 881.
- Dutta, A., 2017. Fourier transform infrared spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization, Micro and Nano Technologies*, 73-93.
- Dwivedi, S. K., 2023. Fungi mediated detoxification of heavy metals: Insights on mechanisms, influencing factors and recent developments. *Journal of Water Process Engineering*, 53, 103800.
- Ejaz, U., Khan, S. M., Khalid, N., Ahmad, Z., Jehangir, S., Fatima Rizvi, Z. ve Raposo, A., 2023. Detoxifying the heavy metals: A multipronged study of tolerance strategies against heavy metals toxicity in plants, *Frontiers in Plant Science*, 14, 1154571.
- El-Kahky, D., Attia, M., Easa, S. M., Awad, N. M. ve Helmy, E. A., 2021. Interactive effects of biosynthesized nanocomposites and their antimicrobial and cytotoxic potentials. *Nanomaterials*, 11, 4, 903.
- Emerich, D. F. ve Thanos, C. G., 2003. Nanotechnology and medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3, 4, 655-663.
- Esmail, R., Afshar, A., Morteza, M., Abolfazl, A. ve Akhondi, E., 2022. Synthesis of silver nanoparticles with high efficiency and stability by culture supernatant of *Bacillus* ROM6 isolated from Zarshouran gold mine and evaluating its antibacterial effects, *BMC Microbiology*, 22, 1, 97.

- Ethiraj, A. S., Jayanthi, S., Ramalingam, C. ve Banerjee, C., 2016. Control of size and antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles, *Materials Letters*, 185, 526-529.
- Fakher, S. N. ve Kashi, F. J., 2021. Microbial synthesized Ag/AgCl nanoparticles using *Staphylococcus pasteurii* sp. nov., ZAR1: antimutagenicity, antimicrobial agent. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31, 1688-1703.
- Fatima, F., Siddiqui, S. ve Khan, W. A., 2021. Nanoparticles as novel emerging therapeutic antibacterial agents in the antibiotics resistant era. *Biological Trace Element Research*, 199, 7, 2552-2564.
- Fei, Y., Chen, Z., Han, S., Zhang, S., Zhang, T., Lu, Y. ve Yao, M., 2023. Role of prebiotics in enhancing the function of next-generation probiotics in gut microbiota, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63, 8, 1037-1054.
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N. ve Kim, J. O., 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52,4, 662-668.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A. ve Kjelleberg, S., 2016. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14, 9, 563-575.
- Fouda, A. ve Shaheen, T. I., 2017. Silver nanoparticles: biosynthesis, characterization and application on cotton fabrics. *Microbiology Research Journal International*, 20, 1, 1-14.
- Fouda, A., Saad, E. L., Salem, S. S. ve Shaheen, T. I., 2018. *In-vitro* cytotoxicity, antibacterial, and uv protection properties of the biosynthesized zinc oxide nanoparticles for medical textile applications, *Microbial Pathogenesis*, 125, 252-261.
- Galvez, A. M., Ramos, K. M., Teja, A. J. ve Baculi, R., 2019. Bacterial exopolysaccharide-mediated synthesis of silver nanoparticles and their application on bacterial biofilms, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 8, 4, 970-978.
- Gan, L., Zhang, S., Zhang, Y., He, S. ve Tian, Y., 2018. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles by a halotolerant *Bacillus endophyticus* SCU-L, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48, 7, 582-588.
- Ganguly, S. ve Mitchell, A. P., 2011. Mucosal biofilms of *Candida albicans*, *Current Opinion in Microbiology*, 14, 4, 380-385.

- Gao, S. S., Zhao, I. S., Duffin, S., Duangthip, D., Lo, E. C. M. ve Chu, C. H., 2018. Revitalising silver nitrate for caries management, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 1, 80.
- Gao, Z., Yang, J., Wu, J., Li, H., Wu, C., Yin, Z. ve Zhan, X., 2022. Structural characterization and in vitro evaluation of the prebiotic potential of an exopolysaccharide produced by *Bacillus thuringiensis* during fermentation. *LWT*, 163, 113532.
- Gardea-Torresdey, J. L., Parsons, J. G., Gomez, E., Peralta-Videa, J., Troiani, H. E., Santiago, P. ve Yacaman, M. J., 2002. Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants, *Nano Letters*, 2, 4, 397-401.
- Garmasheva, I., Kovalenko, N., Voychuk, S., Ostapchuk, A., Livins'ka, O. ve Oleschenko, L., 2016. Lactobacillus species mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against opportunistic pathogens in vitro. *BioImpacts: BI*, 6, 4, 219.
- Garnett, M. C. ve Kallinteri, P., 2006. Nanomedicines and nanotoxicology: some physiological principles, *Occupational Medicine*, 56, 5, 307-311.
- Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X. ve Xing, M. M., 2014. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity, *International Journal of Nanomedicine*, 2399-2407.
- Gibson, G. R., Scott, K. P., Rastall, R. A., Tuohy, K. M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A. ve Buddington, R., 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition, *Food Science Technology Bulletin Functional Foods*, 7, 1, 1-19.
- Gibson, Glenn R. ve Roberfroid, Marcel B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics, *The Journal of Nutrition*, 125, 6, 1401–1412.
- Gopinath, V., MubarakAli, D., Priyadarshini, S., Priyadharsshini, N. M., Thajuddin, N. ve Velusamy, P., 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Tribulus terrestris* and its antimicrobial activity: a novel biological approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 96, 69-74.
- Goyal, R., Macri, L. K., Kaplan, H. M. ve Kohn, J., 2016. Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 240, 77-92.
- Habibullah, G., Viktorova, J. ve Ruml, T., 2021. Current strategies for noble metal nanoparticle synthesis, *Nanoscale Research Letters*, 16, 1, 47.
- Hamouda, R. A., Hussein, M. H., Abo-Elmagd, R. A. ve Bawazir, S. S., 2019. Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the *Cyanobacterium oscillatoria limnetica*, *Scientific Reports*, 9, 1, 13071.
- Hamdy, M. S., Elbehairi, S. E. I., Shati, A. A., Abd-Rabboh, H. S., Alfaifi, M. Y., Fawy, K. F. ve Awwad, N. S., 2022. Cytotoxic potential of bio-silica conjugate

- with different sizes of silver nanoparticles for cancer cell death. *Materials*, 15, 12, 4074.
- He, W., Wang, Z., Bai, H., Zhao, Z., Kwok, R. T., Lam, J. W. ve Tang, B. Z., 2021. Highly efficient photothermal nanoparticles for the rapid eradication of bacterial biofilms, *Nanoscale*, 13, 32, 13610-13616.
- Hidalgo, E. ve Dominguez, C., 1998,b. Study of cytotoxicity mechanisms of silver nitrate in human dermal fibroblasts. *Toxicology letters*, 98, 3, 169-179.
- Hidalgo, Eduard; Bartolomé, Rosa; Barroso, Concepción; Moreno, Antonio; Domínguez, Carmen 1998,a. Silver Nitrate: Antimicrobial activity related to cytotoxicity in cultured human fibroblasts, *Skin Pharmacology and Physiology*, 11, 3, 140–151.
- Hoang, J., Patil, S. L., Srinoi, P., Liu, T., Marquez, M. D., Khantamat, O. ve Lee, T. R., 2023. Transfection of unmodified MicroRNA using monolayer-coated Au nanoparticles as gene-delivery vehicles, *ACS Applied Bio Materials*, 7, 1, 230-237.
- Hoiby, N., Bjarsholt, T., Givskov, M., Molin, S. ve Ciofu, O., 2010. Antibiotic resistance of bacterial biofilms, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, 4, 322-332.
- Hotel, A. C. P. ve Cordoba, A., 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Prevention*, 5, 1, 1-10.
- Howlett, J., Betteridge, V., Champ, M., Craig, S. S., Meheust, A. ve Jones, J. M., 2010. The definition of dietary fiber—discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: building scientific agreement, *Food and Nutrition Research*, 54, 1, 5750.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C. ve Hayes, A. W., 2015. Nanotechnology: History and Future. *Human and Experimental Toxicology*, 34, 12, 1318-1321.
- Iijima, S., 1991. Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*, 354, 6348, 56-58.
- Inam, M., Foster, J. C., Gao, J., Hong, Y., Du, J., Dove, A. P. ve O'Reilly, R. K., 2019. Size and shape affects the antimicrobial activity of quaternized nanoparticles, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 57, 3, 255-259.
- Indiarto, R., Indriana, L. P. A., Andoyo, R., Subroto, E. ve Nurhadi, B., 2022. Bottom–up nanoparticle synthesis: a review of techniques, polyphenol-based core materials, and their properties, *European Food Research and Technology*, 248, 1, 1-24.
- Isolauri, E., Salminen, S. ve Ouwehand, A. C., 2004. Probiotics, *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 18, 2, 299-313.

- İspirli, H., Sagdic, O. ve Dertli, E., 2021. Synthesis of silver nanoparticles prepared with a dextran-type exopolysaccharide from *Weissella cibaria* MED17 with antimicrobial functions. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 51, 2, 112-119.
- Jabbar, A. H., Murtadha, M., Hussein, A., Kadhim, R. M. M., Oudah, S. ve Mezan, A. A. M. A. S., 2021. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles agnps and antibacterial activity. *Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation*, 32, 3, 11225-11231.
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A. ve Kamil, M. A., 2018. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81, 1, 7-11.
- Jastrzab, R., Graczyk, D. ve Siedlecki, P., 2021. Molecular and cellular mechanisms influenced by postbiotics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 24, 13475.
- Jeyaraj, M., Varadan, S., Anthony, K. J. P., Murugan, M., Raja, A. ve Gurunathan, S., 2013. Antimicrobial and anticoagulation activity of silver nanoparticles synthesized from the culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 19, 4, 1299-1303.
- Jones, H. C., Roth, I. L. ve Sanders III, W. M., 1969. Electron microscopic study of a slime layer, *Journal of Bacteriology*, 99, 1, 316-325.
- Jonidi Jafari, A. ve Moslemzadeh, M., 2024. The effect of TiO₂ nanoparticles on bacterial growth: the effect of particle size and their structure—a systematic review, *International Journal of Environmental Health Research*, 34, 2, 697-707.
- Jung, W. K., Koo, H. C., Kim, K. W., Shin, S., Kim, S. H. ve Park, Y. H., 2008. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 7, 2171-2178.
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C., Silva, C. C., 2022. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties, *Foods*, 11, 2, 156.
- Kadian, R., 2018. Nanoparticles: A promising drug delivery approach, *Asian J Pharm Clin Res*, 11,1, 30-5.
- Kaiser, K. G., Delattre, V., Frost, V. J., Buck, G. W., Phu, J. V., Fernandez, T. G. ve Pavel, I. E., 2023. Nanosilver: An old antibacterial agent with great promise in the fight against antibiotic resistance, *Antibiotics*, 12, 8, 1264.
- Kalimuthu, K., Babu, R. S., Venkataraman, D., Bilal, M. ve Gurunathan, S., 2008. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65, 1, 150-153.

- Kanmani, P. ve Lim, S. T., 2013. Synthesis and structural characterization of silver nanoparticles using bacterial exopolysaccharide and its antimicrobial activity against food and multidrug resistant pathogens, *Process Biochemistry*, 48, 7, 1099-1106.
- Kanmani, P., Albarracin, L., Kobayashi, H., Hebert, E. M., Saavedra, L., Komatsu, R. ve Kitazawa, H., 2018. Genomic characterization of *Lactobacillus delbrueckii* TUA4408L and evaluation of the antiviral activities of its extracellular polysaccharides in porcine intestinal epithelial cells, *Frontiers in Immunology*, 9, 2178.
- Karunakaran, G., Sudha, K. G., Ali, S. ve Cho, E. B., 2023. Biosynthesis of nanoparticles from various biological sources and its biomedical applications, *Molecules*, 28, 11, 4527.
- Kedare, S. B. ve Singh, R. P., 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *Journal of Food Science and Technology*, 48, 412-422.
- Kędziora, A., Speruda, M., Krzyżewska, E., Rybka, J., Łukowiak, A. ve Bugla-Płoskońska, G., 2018. Similarities and differences between silver ions and silver in nanoforms as antibacterial agents, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 2, 444.
- Khodashenas, B. ve Ghorbani, H. R., 2019. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes, *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 8, 1823-1838.
- Kim, K., Lee, G., Thanh, H. D., Kim, J. H., Konkitt, M., Yoon, S. ve Kim, W., 2018. Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response. *Journal of Dairy Science*, 101, 7, 5702-5712.
- Kloos, W. E. ve Musselwhite, M. S., 1975. Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Applied Microbiology*, 30, 3, 381-395.
- Kolahalam, L. A., Viswanath, I. K., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V. ve Murthy, Y. L. N., 2019. Review on nanomaterials: Synthesis and applications, *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190.
- Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Ambrosano, G., Murata, R. M., Yatsuda, R. ve Park, Y. K., 2000. Effect of a new variety of *Apis mellifera* propolis on *mutans streptococci*, *Current Microbiology*, 41, 3, 192–196.
- Košević, M. G., Zarić, M. M., Stopić, S. R., Stevanović, J. S., Weirich, T. E., Friedrich, B. G. ve Panić, V. V., 2019. Structural and electrochemical properties of nesting and core/shell Pt/TiO₂ spherical particles synthesized by ultrasonic spray pyrolysis. *Metals*, 10, 1, 11.

- Kumar, C. G. ve Mamidyala, S. K., 2011. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84, 2, 462-466.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P. ve Govindan, N., 2016. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications–An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24, 4, 473-484.
- Kvítek, L., Panáček, A., Soukupová, J., Kolář, M., Večeřová, R., Prucek, R. ve Zbořil, R., 2008. Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs), *The Journal of Physical Chemistry C*, 112, 15, 5825-5834.
- Lara, H. H., Garza-Treviño, E. N., Ixtepan-Turrent, L. ve Singh, D. K., 2011. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. *Journal of Nanobiotechnology*, 9, 1-8.
- LeBlanc, J. G., Chain, F., Martín, R., Bermúdez-Humarán, L. G., Courau, S. ve Langella, P., 2017. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria, *Microbial Cell Factories*, 16, 1-10.
- Li, Y., Yan, Y., Wang, J., Li, L. ve Tang, F., 2022. Preparation of silver nanoparticles decorated mesoporous silica nanorods with photothermal antibacterial property. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 648, 129242.
- Lindsay, A. K. ve Hogan, D. A., 2014. *Candida albicans*: molecular interactions with *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Fungal Biology Reviews*, 28, 4, 85-96.
- López, D., Vlamakis, H. ve Kolter, R., 2010. Biofilms, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2, 7, 1-11.
- Losada, M. A. ve Olleros, T., 2002. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health, *Nutrition Research*, 22, 1-2, 71-84.
- Lukhmyrina, T. S., Shestakov, M. S., Shvidchenko, A. V. ve Matveev, B. A., 2020. Morphology and redispersibility of silver nanoparticles prepared by chemical reduction, In *Journal of Physics: Conference Series*, 1695, 1
- Lusker, K. L., Li, J. R. ve Garno, J. C., 2011. Nanostructures of functionalized gold nanoparticles prepared by particle lithography with organosilanes, *Langmuir*, 27, 21, 13269-13275.
- Mahmoud, M., Abdallah, N. A., El-Shafei, K., Tawfik, N. F. ve El-Sayed, H. S., 2020. Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during

- storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions, *Heliyon*, 6, 3.
- Malik, S., Muhammad, K. ve Waheed, Y., 2023. Nanotechnology: A revolution in modern industry, *Molecules*, 28, 2, 661.
- Manivasagan, P., Kang, K. H., Kim, D. G. ve Kim, S. K., 2015. Production of polysaccharide-based bioflocculant for the synthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces* sp, *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 159-167.
- Mariadoss, A. V. A., Saravanakumar, K., Sathiyaseelan, A., Venkatachalam, K. ve Wang, M. H., 2020. Folic acid functionalized starch encapsulated green synthesized copper oxide nanoparticles for targeted drug delivery in breast cancer therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2073-2084.
- Martínková, L., Uhnáková, B., Pátek, M., Nešvera, J. ve Křen, V., 2009. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus*. *Environment International*, 35, 1, 162-177.
- Mathur, P., Jha, S., Ramteke, S. ve Jain, N. K., 2018. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46, 1, 115-126.
- Mayorgas, A., Dotti, I. ve Salas, A., 2021. Microbial metabolites, postbiotics, and intestinal epithelial function, *Molecular Nutrition and Food Research*, 65, 5, 2000188.
- McNeil, S. E., 2005. Nanotechnology for the biologist, *Journal of Leukocyte Biology*, 78, 3, 585-594.
- Meléndrez, M. F., Cárdenas, G. ve Arbiol, J., 2010. Synthesis and characterization of gallium colloidal nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 346, 2, 279-287.
- Merritt, T. J. ve Bewick, A. J., 2017. Genetic diversity in insect metal tolerance. *Frontiers in Genetics*, 8, 313188.
- Min, K. H., Jang, E. Y., Lee, H. J., Hwang, Y. S., Ryu, J. I., Moon, J. H. ve Lee, S. C., 2019. pH-Responsive mineralized nanoparticles for bacteria-triggered topical release of antibiotics, *Nature*, 71, 210–219.
- Minelli, E. B. ve Benini, A., 2008. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20, 4, 180-183.
- Miškovská, A., Rabochová, M., Michailidu, J., Masák, J., Čejková, A., Lorinčík, J. ve Matátková, O., 2022. Antibiofilm activity of silver nanoparticles biosynthesized using viticultural waste, *PLoS One*, 17, 8, 0272844.

- Mitelmão, F. C. R., Häckel, K., de Cássia Bergamaschi, C., Gerenutti, M., Silva, M. T., Balcão, V. M. ve Vila, M. M. D. C., 2022. The effect of probiotics on functional constipation in adults: A randomized, double-blind controlled trial, *Medicine*, 101, 43.
- Mohamad, Nurul Amal Nadhirah; Arham, Nur Afiqah; Jai, Junaidah; Hadi, Abdul., 2013. Plant extract as reducing agent in synthesis of metallic nanoparticles: A review. *Advanced Materials Research*, 832, 350–355.
- Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R. ve Zaidan, U. H., 2020,a. Microbial mediated synthesis of silver nanoparticles by *Lactobacillus Plantarum* TA4 and its antibacterial and antioxidant activity, *Applied Sciences*, 10, 19, 6973.
- Mohd Yusof, H., Mohamad, R., Zaidan, U. H. ve Rahman, N. A. A., 2020,b. Sustainable microbial cell nanofactory for zinc oxide nanoparticles production by zinc-tolerant probiotic *Lactobacillus plantarum* strain TA4. *Microbial Cell Factories*, 19, 1-17.
- Moir, J. ve Serra, M. P., 2012. The use of silver nitrate in wound management, *Annali Italiani Di Chirurgia*, 83, 1, 45-48.
- Mondal, A. H., Yadav, D., Mitra, S. ve Mukhopadhyay, K., 2020. Biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Shewanella* sp. ARY1 and their antibacterial activity, *International Journal of Nanomedicine*, 8295-8310.
- Monzón, M., Oteiza, C., Leiva, J. ve Amorena, B., 2001. Synergy of different antibiotic combinations in biofilms of *Staphylococcus epidermidis*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 6, 793-801.
- Moradi, M., Molaei, R. ve Guimarães, J. T., 2021. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria, *Enzyme and Microbial Technology*, 143, 109722.
- Morawski, A. M., Winter, P. M., Crowder, K. C., Caruthers, S. D., Fuhrhop, R. W., Scott, M. J. ve Wickline, S. A., 2004. Targeted nanoparticles for quantitative imaging of sparse molecular epitopes with MRI. Magnetic resonance in medicine: an official, *Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 51, 3, 480-486.
- Möhler, J. S., Sim, W., Blaskovich, M. A., Cooper, M. A. ve Ziora, Z. M., 2018. Silver bullets: A new lustre on an old antimicrobial agent, *Biotechnology Advances*, 36, 5, 1391-1411.
- Murei, A., Ayinde, W. B., Gitari, M. W., ve Samie, A., 2020. Functionalization and antimicrobial evaluation of ampicillin, penicillin and vancomycin with *Pyrenacantha grandiflora* Baill and silver nanoparticles, *Scientific Reports*, 10, 1, 11596.

- Nande, A., Raut, S., Michalska-Domanska, M. ve Dhoble, S. J., 2021. Green synthesis of nanomaterials using plant extract: a review, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 22, 13, 1794-1811.
- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V. ve Yadav, H., 2020. Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods, *Microbial Cell Factories*, 19, 1-22.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (US)., 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standards. National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Neoh, K. G., Hu, X., Zheng, D. ve Kang, E. T., 2012. Balancing osteoblast functions and bacterial adhesion on functionalized titanium surfaces, *Biomaterials*, 33, 10, 2813-2822.
- Netrusov, A. I., Liyaskina, E. V., Kurgaeva, I. V., Liyaskina, A. U., Yang, G. ve Revin, V. V. 2023. Exopolysaccharides producing bacteria: a review, *Microorganisms*, 11, 6, 1541.
- Ng, S. F. ve Leow, H. L., 2015. Development of biofilm-targeted antimicrobial wound dressing for the treatment of chronic wound infections, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41, 11, 1902-1909.
- Niu, H. L. ve Xiao, J. Y., 2020. The efficacy and safety of probiotics in patients with irritable bowel syndrome: Evidence based on 35 randomized controlled trial, *International Journal of Surgery*, 75, 116-127.
- Nobile, C. J. ve Johnson, A. D., 2015. *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annual Review of Microbiology*, 69, 71-92.
- Nwodo, U. U., Green, E., ve Okoh, A. I., 2012. Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects, *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 11, 14002-14015.
- Ocsoy, I., Paret, M. L., Ocsoy, M. A., Kunwar, S., Chen, T., You, M. ve Tan, W., 2013. Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *ACS Nano*, 7, 10, 8972-8980.
- Oleksy, M. ve Klewicka, E., 2018. Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* sp.: Biosynthesis and applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 3, 450-462.
- Olfati, A., Kahrizi, D., Balaky, S. T. J., Sharifi, R., Tahir, M. B. ve Darvishi, E., 2021. Green synthesis of nanoparticles using *Calendula officinalis* extract from silver sulfate and their antibacterial effects on *Pectobacterium caratovorum*. *Inorganic Chemistry Communications*, 125, 108439.

- Oliveira, M. M., Ugarte, D., Zanchet, D. ve Zarbin, A. J., 2005. Influence of synthetic parameters on the size, structure, and stability of dodecanethiol-stabilized silver nanoparticles, *Journal of Colloid and Interface Science*, 292, 2, 429-435.
- Otto, M., 2012. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections, In *Seminars in Immunopathology*, 34, 201-214.
- Önal Darılmaz, D., İnanan, T., Karaduman, T., Yüksekdağ, Z. 2023. "Türkiye'nin Geleneksel Peynirlerinden İzole Edilen Bazı Laktobasiller Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması " , TÜBİTAK-KBAG-120Z573, syf.82.
- Panesar, P. S., Bali, V., Kumari, S., Babbar, N. ve Oberoi, H. S., 2014. Prebiotic, Biotransformation of Waste Biomass Into High Value Biochemicals, 237-259.
- Parada Venegas, D., De la Fuente, M. K., Landskron, G., González, M. J., Quera, R., Dijkstra, G. ve Hermoso, M. A., 2019. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases, *Frontiers in Immunology*, 10, 424615.
- Patel, S., Majumder, A. ve Goyal, A. 2012. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria, *Indian Journal of Microbiology*, 52, 1, 3-12.
- Patil, R. B. ve Chougale, A. D., 2021. Analytical methods for the identification and characterization of silver nanoparticles: A brief review, *Materials Today: Proceedings*, 47, 5520-5532.
- Piktel, E., Suprewicz, Ł., Depciuch, J., Chmielewska, S., Skłodowski, K., Daniluk, T. ve Bucki, R., 2021. Varied-shaped gold nanoparticles with nanogram killing efficiency as potential antimicrobial surface coatings for the medical device, *Scientific Reports*, 11, 1, 12546.
- Popova, T. P. ve Ignatov, I., 2023. In vitro antimicrobial activity of colloidal nano silver, *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 26, 2, 1-14.
- Prabhu, S. ve Poullose, E. K., 2012. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects, *International Nano Letters*, 2, 1-10.
- Presentato, A., Piacenza, E., Anikovskiy, M., Cappelletti, M., Zannoni, D. ve Turner, R. J., 2016. *Rhodococcus aetherivorans* BCP1 as cell factory for the production of intracellular tellurium nanorods under aerobic conditions, *Microbial Cell Factories*, 15, 1-14.
- Pucelik, B., Sułek, A., Borkowski, M., Barzowska, A., Kobielusz, M. ve Dąbrowski, J. M., 2022. Synthesis and characterization of size-and charge-tunable silver nanoparticles for selective anticancer and antibacterial treatment. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 14, 13, 14981-14996.

- Qin, W., Kolooshani, A., Kolahdooz, A., Saber-Samandari, S., Khazaei, S., Khandan, A. ve Toghraie, D., 2021. Coating the magnesium implants with reinforced nanocomposite nanoparticles for use in orthopedic applications, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 621, 126581.
- Quintana, A., Raczka, E., Piehler, L., Lee, I., Myc, A., Majoros, I. ve Baker, J. R., 2002. Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor, *Pharmaceutical Research*, 19, 1310-1316.
- Rajam, R. ve Subramanian, P., 2022. Encapsulation of probiotics: Past, present and future, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11, 1, 46.
- Rajoka, M. S. R., Mehwish, H. M., Zhang, H., Ashraf, M., Fang, H., Zeng, X. ve He, Z., 2020. Antibacterial and antioxidant activity of exopolysaccharide mediated silver nanoparticle synthesized by *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese koumiss, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 186, 110734.
- Rani, R. P., Anandharaj, M. ve Ravindran, A. D., 2018. Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasseri* FR4 and demonstration of its in vitro biological properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 772-783.
- Ranoszek-Soliwoda, K., Tomaszewska, E., Socha, E., Krzyczmonik, P., Ignaczak, A., Orlowski, P. ve Grobelny, J., 2017. The role of tannic acid and sodium citrate in the synthesis of silver nanoparticles, *Journal of Nanoparticle Research*, 19, 1-15.
- Raveendran, S., Poulose, A. C., Yoshida, Y., Maekawa, T. ve Kumar, D. S., 2013. Bacterial exopolysaccharide based nanoparticles for sustained drug delivery, cancer chemotherapy and bioimaging, *Carbohydrat Polymers*. 91, 1, 22–32.
- Reddy, A. S., Chen, C. Y., Baker, S. C., Chen, C. C., Jean, J. S., Fan, C. W. ve Wang, J. C., 2009. Synthesis of silver nanoparticles using surfactin: A biosurfactant as stabilizing agent, *Materials Letters*, 63, 15, 1227-1230.
- Rehm, B. H., 2010. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 8, 578-592.
- Rodrigues, G. R., López-Abarrategui, C., de la Serna Gómez, I., Dias, S. C., Otero-González, A. J. ve Franco, O. L., 2019. Antimicrobial magnetic nanoparticles based-therapies for controlling infectious diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, 555, 356-367.
- Sabri, M. A., Umer, A., Awan, G. H., Hassan, M. F. ve Hasnain, A., 2016. Selection of suitable biological method for the synthesis of silver nanoparticles, *Nanomaterials and Nanotechnology*, 6, 29.
- Sagadevan, S., Chowdhury, Z. Z. ve Rafique, R. F., 2018. Preparation and characterization of nickel ferrite nanoparticles via co-precipitation method, *Materials Research*, 21, 2, 1-5.

- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. ve Vinderola, G., 2021. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics, *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18, 9, 649-667.
- Sánchez, B., Delgado, S., Blanco-Míguez, A., Lourenço, A., Gueimonde, M. ve Margolles, A., 2017. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease, *Molecular Nutrition and Food Research*, 61, 1, 1600240.
- Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R. ve Medintz, I. L., 2011. Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques, *Analytical Chemistry*, 83, 12, 4453-4488.
- Saravanan, M., Barik, S. K., MubarakAli, D., Prakash, P. ve Pugazhendhi, A., 2018. Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria, *Microbial Pathogenesis*, 116, 221-226.
- Sayem, S. M. A., Manzo, E., Ciavatta, L., Tramice, A., Cordone, A., Zanfardino, A., De Felice, M. ve Varcamonti, M., 2011. Anti-biofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of *Bacillus licheniformis*, *Microbial Cell Factories*, 10, 1, 1–12.
- Scales, B. S., ve Huffnagle, G. B., 2013. The microbiome in wound repair and tissue fibrosis, *The Journal of Pathology*, 229, 2, 323-331.
- Schimz, K. L. ve Holzer, H., 1979. Rapid decrease of ATP content in intact cells of *Saccharomyces cerevisiae* after incubation with low concentrations of sulfite, *Archives of Microbiology*, 121, 225-229.
- Schmid, J., Sieber, V. ve Rehm, B., 2015. Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies, *Frontiers in Microbiology*, 6, 147519.
- Schröfel, A., Kratošová, G., Šafařík, I., Šafaříková, M., Raška, I. ve Shor, L. M., 2014. Applications of biosynthesized metallic nanoparticles—a review, *Acta Biomaterialia*, 10, 10, 4023-4042.
- Schwartzberg, A. M. ve Zhang, J. Z., 2008. Novel optical properties and emerging applications of metal nanostructures, *The Journal of Physical Chemistry C*, 112, 28, 10323-10337.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K. ve Poinern, G. E. J., 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities, *Materials*, 8, 11, 7278-7308.
- Shang, L., Nienhaus, K. ve Nienhaus, G. U., 2014. Engineered nanoparticles interacting with cells: size matters, *Journal of Nanobiotechnology*, 12, 1, 1-11.

- Sharma, M. ve Shukla, G., 2016. Metabiotics: one step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer, *Frontiers in Microbiology*, 7, 215207.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A. ve Lin, Y., 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, 1-2, 83-96.
- Sheng, G. P., Yu, H. Q. ve Li, X. Y., 2010. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review, *Biotechnology Advances*, 28, 6, 882-894.
- Sheng, S., Fu, Y., Pan, N., Zhang, H., Xiu, L., Liang, Y. ve Wang, X., 2022. Novel exopolysaccharide derived from probiotic *Lactobacillus pantheris* TCP102 strain with immune-enhancing and anticancer activities. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1015270.
- Siciliano, V., Passerotto, R. A., Chiuchiarelli, M., Leanza, G. M. ve Ojetto, V., 2023. Difficult-to-Treat Pathogens: A Review on the Management of Multidrug-Resistant *Staphylococcus epidermidis*, *Life*, 13, 5, 1126.
- Siegel, R. L., Miller, K. D. ve Jemal, A., 2019. Cancer statistics, CA: a Cancer Journal for Clinicians, 69, 1, 7-34.
- Sim, W., Barnard, R. T., Blaskovich, M. A. T. ve Ziora, Z. M., 2018. Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: a patent review of the past decade (2007–2017), *Antibiotics*, 7, 4, 93.
- Sims Jr, K. R., Maceren, J. P., Liu, Y., Rocha, G. R., Koo, H. ve Benoit, D. S., 2020. Dual antibacterial drug-loaded nanoparticles synergistically improve treatment of *Streptococcus mutans* biofilms, *Acta Biomaterialia*, 115, 418-431.
- Sivasankar, P., Seedeve, P., Poongodi, S., Sivakumar, M., Murugan, T., Sivakumar, L. ve Balasubramanian, T., 2018. Characterization, antimicrobial and antioxidant property of exopolysaccharide mediated silver nanoparticles synthesized by *Streptomyces violaceus* MM72, *Carbohydrate Polymers*, 181, 752-759.
- Solís-Sandí, I., Cordero-Fuentes, S., Pereira-Reyes, R., Vega-Baudrit, J. R., Batista-Menezes, D. ve de Oca-Vásquez, G. M., 2023. Optimization of the biosynthesis of silver nanoparticles using bacterial extracts and their antimicrobial potential. *Biotechnology Reports*, 40, 1-11.
- Soni, V., Raizada, P., Singh, P., Cuong, H. N., Rangabhashiyam, S., Saini, A. ve Nguyen, V. H., 2021. Sustainable and green trends in using plant extracts for the synthesis of biogenic metal nanoparticles toward environmental and pharmaceutical advances: A review, *Environmental Research*, 202, 111622.
- Sreelekha, E., George, B., Shyam, A., Sajina, N. ve Mathew, B., 2021. A comparative study on the synthesis, characterization, and antioxidant activity of green and chemically synthesized silver nanoparticles. *BioNanoScience*, 11, 489-496.

- Srinivasan, R., Mathivanan, K., Govindarajan, R. K., Uthaya Chandirika, J. ve Govindasamy, C., 2021. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by bioluminescent bacteria: characterization and evaluation of its antibacterial and antioxidant properties, *International Nano Letters*, 1-9.
- Sriramulu, M., Shanmugam, S. ve Ponnusamy, V. K., 2020. *Agaricus bisporus* mediated biosynthesis of copper nanoparticles and its biological effects: An in-vitro study. *Colloid and Interface Science Communications*, 35, 100254.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I. ve Ruzicka, F., 2007. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci, *Apmis*, 115, 8, 891-899.
- Suganeswari, M., Shering, A., Bharathi, M. P. ve JayaSutha, J., 2011. Nano particles: a novel system in current century, *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 2, 3, 847-854.
- Sullivan, K. T., Wu, C., Piekielek, N. W., Gaskell, K. ve Zachariah, M. R., 2013. Synthesis and reactivity of nano-Ag²O as an oxidizer for energetic systems yielding antimicrobial products, *Combustion and Flame*, 160, 2, 438-446.
- Sung, H. K., Oh, S. Y., Park, C. ve Kim, Y., 2013. Colorimetric detection of Co²⁺ ion using silver nanoparticles with spherical, plate, and rod shapes, *Langmuir*, 29, 28, 8978-8982.
- Sung, Y. K. ve Kim, S. W., 2020. Recent advances in polymeric drug delivery systems, *Biomaterials Research*, 24, 1, 12.
- Suriati, G., Mariatti, M. ve Azizan, A., 2014. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method: Effect of reducing agent and surfactant concentration. *International journal of automotive and mechanical engineering*, 10, 1920-1927.
- Sutherland, I. W. 1972. Bacterial exopolysaccharides, *Advances in Microbial Physiology*, 8, 143-213.
- Sutherland, I. W., 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, *Microbiology*, 147, 1, 3-9.
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K. ve Sanders, M. E., 2020. The International scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17, 11, 687-701.
- Syafiuddin, A., Salmiati, Salim, M. R., Beng Hong Kueh, A., Hadibarata, T. ve Nur, H., 2017. A review of silver nanoparticles: research trends, global consumption, synthesis, properties, and future challenges, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 64, 7, 732-756.

- Syame, S. M., Mansour, A. S., Khalaf, D. D., Ibrahim, E. S. ve Gaber, E. S., 2020. Green synthesis of silver nanoparticles using lactic acid bacteria: assessment of antimicrobial activity, *World's Veterinary Journal*, 10, 625-633.
- Szczyglewska, P., Feliczak-Guzik, A. ve Nowak, I., 2023. Nanotechnology—general aspects: A chemical reduction approach to the synthesis of nanoparticles, *Molecules*, 28, 13, 4932.
- Taguchi, A., Fujii, S., Ichimura, T., Verma, P., Inouye, Y. ve Kawata, S., 2008. Oxygen-assisted shape control in polyol synthesis of silver nanocrystal, *Chemical Physics Letters*, 462, 1-3, 92-95.
- Talapko, J., Matijević, T., Juzbašić, M., Antolović-Požgain, A. ve Škrlec, I., 2020. Antibacterial activity of silver and its application in dentistry, cardiology and dermatology, *Microorganisms*, 8, 9, 1400.
- Tan, L. V., Tran, T. ve Thi, V. D., 2021. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus licheniformis* TT01 isolated from quail manure collected in Vietnam, *Processes*, 9, 4, 584.
- Tang, S. ve Zheng, J., 2018. Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects, *Advanced Healthcare Materials*, 7, 13, 1701503.
- Tange, R. A., Dreschler, W. A., Prins, J. M., Buller, H. R., Kuijper, E. J. ve Speelman, P., 1995. Ototoxicity and nephrotoxicity of gentamicin vs netilmicin in patients with serious infections. A randomized clinical trial, *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences*, 20, 2, 118-123.
- Tarannum, N., Ali, F., Khan, M. S., Alhumaidan, O. S., Zawad, A. S. ve Hossain, T. J., 2024. Bioactive exopolysaccharide from *Limosilactobacillus fermentum* LAB-1: antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and antibiofilm properties, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 100409.
- Tegenfeldt, J. O., Prinz, C., Cao, H., Huang, R. L., Austin, R. H., Chou, S. Y. ve Sturm, J. C., 2004. Micro-and nanofluidics for DNA analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 1678-1692.
- Thiruvengadam, V. ve Bansod, A. V., 2020. Characterization of silver nanoparticles synthesized using chemical method and its antibacterial property, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10, 7257-7264.
- Tian, J., Wong, K. K., Ho, C. M., Lok, C. N., Yu, W. Y., Che, C. M. ve Tam, P. K., 2007. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 2, 1, 129-136.
- Tiquia-Arashiro, S. M., 2018. Lead absorption mechanisms in bacteria as strategies for lead bioremediation, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 13, 5437-5444.

- Tiwari, A. K., Gupta, M. K., Pandey, G., Tilak, R., Narayan, R. J., & Pandey, P. C., 2022. Size and zeta potential clicked germination attenuation and anti-sporangiospores activity of PEI-functionalized silver nanoparticles against COVID-19 associated Mucorales (*Rhizopus arrhizus*), *Nanomaterials*, 12, 13, 2235.
- Torino, M. I., Font de Valdez, G. ve Mozzi, F., 2015. Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages, *Frontiers in Microbiology*, 6, 145969.
- Toumey, C., 2008. Reading Feynman Into Nanotechnology: A Text for a New Science. *Techné: Research in Philosophy and Technology*, 12, 3.
- Tsilingiri, K., Barbosa, T., Penna, G., Caprioli, F., Sonzogni, A., Viale, G. ve Rescigno, M., 2012. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model, *Gut*, 61, 7, 1007-1015.
- Vaidyanathan, R., Gopalram, S., Kalishwaralal, K., Deepak, V., Pandian, S. R. K. ve Gurunathan, S., 2010. Enhanced silver nanoparticle synthesis by optimization of nitrate reductase activity, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 75, 1, 335-341.
- Vandana, P. B., Kulkarni, M. P., Tanwar, S., Kiran, P. S., Kaur, G., Kumari, Y. ve Sachdeva, R. K., 2021. A Review of reducing agents in chemical and natural synthesis of metallic nanoparticles, *Nanoscience and Nanotechnology-Asia*, 11, 4, 25-36.
- Vaseghi, Z., Nematollahzadeh, A. ve Tavakoli, O., 2018. Green methods for the synthesis of metal nanoparticles using biogenic reducing agents: a review, *Reviews in Chemical Engineering*, 34, 4, 529-559.
- Vera-Santander, V. E., Hernández-Figueroa, R. H., Jiménez-Munguía, M. T., Mani-López, E. ve López-Malo, A., 2023. Health benefits of consuming foods with bacterial probiotics, postbiotics, and their metabolites: a review, *Molecules*, 28, 3, 1230.
- Vijayakumar, G., Kim, H. J. ve Rangarajulu, S. K., 2023. In vitro antibacterial and wound healing activities evoked by silver nanoparticles synthesized through probiotic bacteria, *Antibiotics*, 12, 1, 141.
- Vinderola, G., Sanders, M. E. ve Salminen, S., 2022. The concept of postbiotics, *Foods*, 11, 8, 1077.
- Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., Nagarajan, M., Kumar, P. K., Singh, S. S. ve Gowda, N. N., 2023. A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: Technology, carriers and current trends, *Applied Food Research*, 3, 1, 100248.

- Walvekar, P., Gannimani, R. ve Govender, T., 2019. Combination drug therapy via nanocarriers against infectious diseases, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 127, 121-141.
- Wang, N., Fuh, J. Y. H., Dheen, S. T. ve Senthil Kumar, A., 2021. Synthesis methods of functionalized nanoparticles: a review, *Bio-Design and Manufacturing*, 4, 2, 379-404.
- Wasilewska, A., Klekotka, U., Zambrzycka, M., Zambrowski, G., Świącicka, I. ve Kalska-Szostko, B., 2023. Physico-chemical properties and antimicrobial activity of silver nanoparticles fabricated by green synthesis, *Food Chemistry*, 400, 133960.
- Weber, D. J., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., Samsa, G. P., Brown, V. ve Niederman, M. S., 2007. Microbiology of ventilator-associated pneumonia compared with that of hospital-acquired pneumonia, *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 28, 7, 825-831.
- Wegh, C. A., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G. ve Belzer, C., 2019. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 19, 4673.
- Weinstein, R. A. ve Darouiche, R. O., 2001. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence, *Clinical Infectious Diseases*, 33, 9, 1567-1572.
- Wen, L., Zeng, P., Zhang, L., Huang, W., Wang, H. ve Chen, G., 2016. Symbiosis theory-directed green synthesis of silver nanoparticles and their application in infected wound healing, *International Journal of Nanomedicine*, 2757-2767.
- Wenzel, R. P., 1995. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality, *Clinical Infectious Diseases*, 20, 6, 1531-1534.
- Wu, S., Huang, Y., Yan, J., Li, Y., Wang, J., Yang, Y. Y. ve Ding, X., 2021. Bacterial outer membrane-coated mesoporous silica nanoparticles for targeted delivery of antibiotic rifampicin against Gram-negative bacterial infection in vivo, *Advanced Functional Materials*, 31, 35, 2103442.
- Xu, M., Li, Z., Zhao, X. ve Li, W., 2022. Prebiotic Properties of Exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* LZ-R-5 and *L. pentosus* LZ-R-17 evaluated by in vitro simulated digestion and fermentation, *Foods*, 11, 16, 2501.
- Yang, R., Li, J., Jiang, C. ve Shi, J., 2023. Preventive and therapeutic effects of an exopolysaccharide produced by *Lactocaseibacillus rhamnosus* on alcoholic gastric ulcers, *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123845.
- Yaqoob, A. A., Umar, K. ve Ibrahim, M. N. M., 2020. Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review, *Applied Nanoscience*, 10, 5, 1369-1378.

- Yeşilyurt, N., Yılmaz, B., Ağagündüz, D. ve Capasso, R., 2021. Involvement of probiotics and postbiotics in the immune system modulation, *Biologics*, 1, 2, 89-110.
- You, X., Li, Z., Ma, K., Zhang, C., Chen, X., Wang, G. ve Li, W., 2020. Structural characterization and immunomodulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* LZ-R-5, *Carbohydrate Polymers*, 235, 115977.
- Yu, Q., Cho, J., Shivapooja, P., Ista, L. K. ve López, G. P., 2013. Nanopatterned smart polymer surfaces for controlled attachment, killing, and release of bacteria, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 5, 19, 9295-9304.
- Zanghad, P., Vergis, J., Unni, V., Ram, V. P., Niveditha, P., Yasur, J. ve Rawool, D. B., 2022. Green synthesized silver nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus* as an antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm agent against multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli*, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14, 5, 904-914.
- Zeinivand, M., Aghaei, S. S., Zargar, M. ve Ghasemzadeh, M. A., 2023. Exopolysaccharide-mediated silver nanoparticles synthesized from *Lactobacillus paracasei* with antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities, *Archives of Microbiology*, 205, 5, 210.
- Zhang, M., Zhang, K., De Gusseme, B., Verstraete, W. ve Field, R., 2014. The antibacterial and anti-biofouling performance of biogenic silver nanoparticles by *Lactobacillus fermentum*, *Biofouling*, 30, 3, 347-357.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W. ve Gurunathan, S., 2016. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches, *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 9, 1534.
- Zhang, Y., Yang, M., Portney, N. G., Cui, D., Budak, G., Ozbay, E. ve Ozkan, C. S., 2008. Zeta potential: a surface electrical characteristic to probe the interaction of nanoparticles with normal and cancer human breast epithelial cells, *Biomedical Microdevices*, 10, 321-328.
- Zhao, X., Yan, L., Xu, X., Zhao, H., Lu, Y., Wang, Y. ve Shi, J., 2019. Synthesis of silver nanoparticles and its contribution to the capability of *Bacillus subtilis* to deal with polluted waters, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 6319-6332.
- Zhao, Y., Dai, X., Wei, X., Yu, Y., Chen, X., Zhang, X. ve Li, C., 2018. Near-infrared light-activated thermosensitive liposomes as efficient agents for photothermal and antibiotic synergistic therapy of bacterial biofilm, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 10, 17, 14426-14437.
- Zhong, Y., Wang, S., Di, H., Deng, Z., Liu, J. ve Wang, H. ,2022. Gut health benefit and application of postbiotics in animal production, *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13, 1, 38.

- Zhou, Y., Cui, Y. ve Qu, X., 2019. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review, *Carbohydrate Polymers*, 207, 317-332.
- Ziadi, M., Bouzaiene, T., M'Hir, S., Zaafour, K., Mokhtar, F., Hamdi, M. ve Boisset-Helbert, C., 2018. Evaluation of the efficiency of ethanol precipitation and ultrafiltration on the purification and characteristics of exopolysaccharides produced by three lactic acid bacteria, *BioMed Research International*, 1896240, 1-11.
- Zsigmondy, R. A., 1926. Properties of colloids, Nobel Lecture, 11, 46-57.
- Żyro, D., Sikora, J., Szynkowska-Jóźwik, M. I. ve Ochocki, J., 2023. Silver, Its Salts and Application in Medicine and Pharmacy, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 21, 15723.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hilal ERDEN

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji,
2017-2021

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji,
2022-2024

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

- Erden, H., Önal Darılmaz, D., Investigation of The Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles Synthesis by *Lactocaseibacillus rhamnosus* ACS5 Bacteria and Exopolysaccharide, Proceedins Book of 7. International Ankara Multidisciplinary Studies Congress, March 5-6, 2024, Ankara, Türkiye. Syf 255. (Sözlü Bildiri)

