

***Rhodococcus erythropolis* K85 KULLANILARAK
ÇİNKO OKSİT (ZnO) NANOPARTİKÜLLERİNİN
BİYOSENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

Abdussamed Yasin DEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE

2015

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rhodococcus erythropolis K85 KULLANILARAK ÇİNKO OKSİT
(ZnO) NANOPARTİKÜLLERİNİN BİYOSENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU

Abdussamed Yasin DEMİR

NANOBİLİM VE NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2015

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

Rhodococcus erythropolis K85 Kullanılarak Çinko Oksit (ZnO) Nanopartiküllerinin Biyosentezi ve Karakterizasyonu

Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE danışmanlığında, Abdussamed Yasin DEMİR tarafından hazırlanan bu çalışma, 13/07/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE

Üye : Doç. Dr. Hatice ÖĞÜTÇÜ

Üye : Doç. Dr. Özlem BARIŞ

İmza :

İmza :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 15/07/2015 tarih ve 28/965 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Rhodococcus erythropolis* K85 KULLANILARAK ÇİNKO OKSİT (ZnO) NANOPARTİKÜLLERİNİN BİYOSENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

Abdussamed Yasin DEMİR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı
Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE

Bu çalışmada, *Rhodococcus erythropolis* K85 izolatu kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin daha güvenli, çevreci, ekonomik ve kontrollü üretimine olanak sağlayan biyosentez yöntemi ile üretilmesi araştırılmıştır. Buna ilaveten, yapılan bu çalışmada farklı öncü maddeler ($ZnSO_4$, $Zn(NO_3)_2$, $ZnCl_2$, $Zn(CH_3COO)_2$) kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin üretilme potansiyelleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda SEM ve EDAX analizlerine göre metalik nanopartiküllerden biri olan ZnO nanopartiküllerinin sentezinin biyolojik materyallerden biri olan *Rhodococcus erythropolis* K85 izolatu kullanılarak gerçekleştirilebileceği gösterilmiştir.

2015, 72 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyosentez, Nanopartikül, Çinko Oksit, *Rhodococcus erythropolis*

ABSTRACT

Master Thesis

BIOSYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF ZnO NANOPARTICLES USING *Rhodococcus erythropolis* K85

Abdussamed Yasin DEMİR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Nanoscience and Nanoengineering
Science of Nanobiotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE

In this present study, *Rhodococcus erythropolis* K85 strain has been investigated for safer, environmentalist, economic and controlled production of ZnO nanoparticles that enable to producing biosynthesis method. Additionally, using different precursors (ZnSO_4 , $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, ZnCl_2 , $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) were examined for potential production of ZnO nanoparticles in this study. According to the result of studies; SEM and EDAX analysis have showed one of the metallic nanoparticles ZnO synthesis can be carry out with using of one of the biological material *Rhodococcus erythropolis* K85 strain.

2015, 72 pages

Keywords: Biosynthesis, Nanoparticles, Zinc Oxide, *Rhodococcus erythropolis*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

Araştırmanın planlanmasından yürütülmesine ve sonuçlarının değerlendirilmesine kadar her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, çok değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye, Biyoloji Bölüm Başkanım Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya, Sayın Prof. Dr. Ümit DEMİR ve çalışma ekibine teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Mehmet KARADAYI'ya, Sayın Doç. Dr. Özlem BARIŞ'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarımın farklı aşamalarında yardımlarını gördüğüm Biyolog Mesut ŞAHİN'e, Biyolog İlgül AKMAYAN'a, Biyolog Taha Yasin Koç'a, Uzman Biyolog Burak ALAYLAR'a ve Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji laboratuvarı ekibine teşekkür ederim.

Ayrıca, hayatım boyunca olduğu gibi çalışmalarım sırasında da maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen babam Hikmet DEMİR'e, annem Döndü DEMİR'e, kardeşlerim Sevdener DEMİR ve Feyzanur DEMİR'e ve çok değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Abdussamed Yasin DEMİR

Temmuz, 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	6
2.1. Nanoteknolojinin Tanımı	6
2.2. Nanoteknolojinin Tarihçesi	8
2.3. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları	10
2.4. Nanomalzemeler.....	11
2.5. Nanopartikül Üretim Metotları.....	13
2.5.1. Elektrokimyasal sentez.....	13
2.5.2. Ters misel/mikroemülsiyon metodu	13
2.5.3. Hidrotermal sentez	14
2.5.4. Sonokimyasal çöktürme (depozisyon)	14
2.5.5. Kimyasal indirgenme	14
2.6. Umut Vaat Eden Bir Yaklaşım Olarak Nanobiyoteknoloji ve Biyosentez	15
2.7. Mikroorganizmalar Kullanılarak Nanopartiküllerin Biyosentezi.....	16
2.7.1. Mayalar kullanılarak nanopartiküllerin üretimi	16
2.7.2. Küfler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi	18
2.7.3. Bitkiler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi.....	22
2.7.4. Algler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi.....	26
2.7.5. Aktinomisetler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi.....	27
2.7.6. Bakteriler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi.....	30
2.8. ZnO Nanopartiküllerinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	39
2.9. Nanoteknoloji Araştırmalarında Kullanılan Bazı Temel Yöntem ve Cihazlar ...	41

2.9.1. Elektron mikroskopları.....	41
2.9.2. Tarama uçlu mikroskoplar.....	43
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	46
3.1. Materyal.....	46
3.1.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın temin edilmesi.....	46
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve besiyerleri.....	46
3.1.3 Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar.....	46
3.1.4. Çözeltiler ve besiyerleri.....	47
3.2. Yöntem.....	48
3.2.1. Mikroorganizmanın canlandırılması ve çalışma kültürlerinin hazırlanması.....	48
3.2.2. Çalışmada kullanılacak öncü maddelerin doz miktarlarının belirlenmesi.....	49
3.2.3. <i>Rhodococcus erythropolis</i> kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin biyosentezi.....	49
3.2.4. Oluşan partiküllerin saflaştırılması ve karakterizasyona hazırlanması.....	50
3.2.5. ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu.....	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	52
4.1. Çalışmada kullanılacak öncü maddelerin doz miktarlarının bulunması.....	52
4.2. <i>Rhodococcus erythropolis</i> K85 kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin ekstraselüler biyosentezi.....	52
4.3. ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu.....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	58
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	73

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Derece (Sıcaklık)
SPR	Surface Plasmon Resonance
nm	Nanometre (10^{-9})
SERS	Surface-Enhanced Raman Scattering
Au	Altın
Ag	Gümüş
UV	Ultra Violet
ZnO	Çinko Oksit
SEM	Scanning Electron Microscopy
kg	Kilogram
APM	Atomically Precise Manufacturing
L	Litre
M	Molar
mM	Mili Molar
ml	Mililitre (10^{-3})
TiO ₂	Titanyum Dioksit
CO ₂	Karbon Dioksit
SiO	Silisyum Oksit
AlO	Alüminyum Oksit
Fe	Demir
X-ray	X-ışınları
CdS	Kadmiyum Sülfid
EFTEM	Energy-filtering Transmission Electron Microscopy
ESI	Element Specific Imaging
FTIR	Spectroscopy Fourier Transform Infrared
H ₂ PtCl ₆	Kloroplatinik Asit
PtCl ₂	Platinyum Klorit

PbS	Kurşun Sülfür
ZnS	Çinko Sülfür
MoS ₂	Molibden Disülfid
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NaCl	Sodyum Klorür
MspA	Mycobacterial porin
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
Se	Selenyum
Te	Tellür
Cs	Sezyum
Sr	Strontiyum
Co	Kobalt
Ni	Nikel
Mn	Manganez
Pd	Paladyum
ROS	Reaktif Oksijen türleri
eV	Elektron volt
meV	Milielektron volt
TEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
İEM	İletim Elektron Mikroskobu
AEM	Analitik Elektron Mikroskobu
EDAX	Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi
TTM	Taramalı Tünel Mikroskobu
AKM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
μ	Mikron
Å	Angstrom
TSA	Trypticase Soy Agar
MSB	Mineral Salt Basal
ZnSO ₄	Çinko Sülfat
Zn(NO ₃) ₂	Çinko Nitrat
ZnCl ₂	Çinko Klorür
Zn(CH ₃ COO) ₂	Çinko Asetat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. ZnO nanopartiküllerinin farklı öncü maddeler kullanılarak üretilmesi.....	53
Şekil 4.2. ZnSO ₄ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri.....	54
Şekil 4.3. ZnCl ₂ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri.....	55
Şekil 4.4. ZnNO ₃ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri.....	56
Şekil 4.5. ZnCH ₃ COO öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Nanopartikül üretiminde mayaların kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	17
Çizelge 2.2. Nanopartikül üretiminde küflerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	20
Çizelge 2.3. Nanopartikül üretiminde bitkilerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	24
Çizelge 2.4. Nanopartikül üretiminde alglerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	27
Çizelge 2.4. Nanopartikül üretiminde aktinomisetlerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	28
Çizelge 2.6. Nanopartikül üretiminde bakterilerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri.....	31

1. GİRİŞ

Son yıllarda, nanoteknoloji araştırmaları fizik, kimya, biyoloji, materyal bilimi ve tıp ile bağlantılı en son teknolojilere yön vermeleri açısından öne çıkmaktadır. Köken olarak Yunanca'da "cüce" anlamına gelen "nanos" kelimesinden türetilen nano ön eki ve teknoloji kelimesinin birleşiminden oluşan nanoteknoloji kavramı ilk olarak, 1959'da Amerikan Teknoloji Enstitüsü'ndeki "There's plenty of room at the bottom" başlıklı bir konferansta tanınmış bir fizikçi olan Richard Feynman tarafından kullanılmıştır (Narayanan and Sakthivel 2010). Bu sunumunda Feynman, yakın gelecekte atomları istenilen şekilde düzenleyebilecek nano boyutlu makinelerin yapılabileceğine dikkat çekmiş ve bu amaçlı yaklaşımları nanoteknoloji konsepti içerisinde değerlendirmiştir. Bu yaklaşımdan temel alan ve günümüzde yaygın olarak kullanılan modern nanoteknoloji kavramı ise kökenini K. Eric Drexler'in 1980'li yıllarda bu alanda yapmış olduğu çalışmalardan almaktadır.

Modern nanobiyoteknoloji araştırmalarının en temel yapıtaşlarından biri olan nanopartiküller, genellikle her mekânsal boyutta 0,1 ile 100 nm arasındadır. Bu moleküllerin sentezlenmesinde en yaygın kullanılan iki yöntem top-down (yukarıdan aşağıya) ve bottom-up (aşağıdan yukarıya) yaklaşımlarıdır (Narayanan and Sakthivel 2010). Bottom-up yaklaşımda atomlar ya da moleküller nanometrik ölçekte moleküler yapılara birleştirilirken, top-down yaklaşımda bunun tersi şekilde daha büyük ölçeklerde olan ham materyaller (bulk materials) aşamalı olarak nano ölçekli materyallere indirgenir.

Yapılan araştırmalar nanopartiküllerin işlenmemiş bulk materyallardan daha farklı ve kendilerine karakteristik fiziksel, kimyasal, elektronik, elektriksel, mekaniksel, manyetik, termal, dielektrik, optik ve biyolojik özelliklerinin olduğunu göstermiştir (Schmid 1992; Narayanan and Sakthivel 2010). Nanopartiküllerdeki boyut farklılığı onların bulk materyallerden farklılık gösteren çeşitli fiziksel özelliklerinin ortaya çıkmasındaki en önemli etkidir. Bu karakteristik fiziksel özelliklerin ortaya çıkışı nanopartiküldeki geniş yüzey atomu, büyük yüzey enerjisi, mekânsal sınırlama ve

azaltılmış deformasyonlar ile açıklanmaktadır. Nanopartiküller, yüzey plazmon rezonans (Surface Plasmon Resonance - SPR) etkisi, özellikle metal nanopartiküllerdeki yüksek Rayleigh saçılımı ve gelişmiş yüzey Raman saçılması (Surface-Enhanced Raman Scattering - SERS), yarıiletkenlerdeki kuantum boyut etkileri ve manyetik materyallerdeki süpermanyetizm özelliklerinden dolayı bulk materyaller üzerine önemli kullanım avantajlarına sahiptir. Bu yüzden, nanopartiküller gelecek jenerasyon optoelektroniklerin, elektroniklerin, çeşitli kimyasal ve biyokimyasal sensörlerin yapıtaşları olarak düşünülmektedir (Ramanavicius *et al.* 2004; Narayanan and Sakthivel 2010).

Nanopartiküllerin optoelektronik, fizikokimyasal ve elektriksel özellikleri boyutları, şekilleri ve kristalinitesi tarafından belirlenir. Bu yüzden, farklı boyut ve şekilli tek dağılımlı nanopartiküllerin sentezi başarılı nanoteknoloji uygulamalarının geliştirilebilmesi için önemli bir sorun olmuştur. Günümüze kadar bu alanda çeşitli fiziksel ve kimyasal metotlar geliştirilmiş ve tek dağılımlı nanopartiküller üretmek için yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Bununla birlikte nanopartiküllerdeki stabilite problemleri ve üretimde kullanılan toksik kimyasallar bu alanda artan bilimsel ve toplumsal endişelere sebep olmaktadır. Örneğin sentez sürecindeki polar olmayan çözücüler ve nanopartiküllerin yüzeyinde kalan toksik kimyasallardan dolayı klinik alanlardaki uygulamaları sınırlandırılır. Fakat ilaç taşımada, teşhiste ve görüntülemeye önemli bir rol oynadıkları için biyomedikal alanlarda nanopartiküllerin kullanımının değerlendirilmesi göz ardı edilemez. Bu alanda çevre dostu nanopartiküllerin kullanımı büyük bir öneme sahip olacaktır. Bu yüzden, nanopartikül sentezi için temiz, biyoyumlu, toksik olmayan ve çevre dostu metotların geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Bu olumsuz tablonun giderilmesinde biyolojik metotlar, kimyasal metotlara kıyasla daha güvenli olmalarının yanı sıra, uygun maliyetleri, sürdürülebilirlikleri ve çevre dostu süreçler olmaları yönünden son yılların en popüler araştırma konuları olmuştur. Bununla birlikte yeni keşfedilmiş sayılabilecek bu metotların henüz gelişme sürecinde olduğu ve birçok sürecin zaman alıcı olması, mikrobiyal üretimdeki zorluklar ve

üretileen nanopartiküllerin boyutlarında, şekillerinde ve kristalinitelerinde meydana gelen kararsızlık gibi dezavantajlarının bulunduğu da göz ardı edilmemelidir. Tüm bu istenmeyen durumlar biyolojik sentez yaklaşımlarına sorun teşkil eden problemlerdir. Ancak istenilen amaca yönelik biyolojik türlerin seçilmesi ilkelerini daha iyi kavrama, pH, inkubasyon sıcaklığı ve reaksiyon zamanının deneysel olarak belirlenmesi, metal iyonlarının yeterli konsantrasyonlarının ve reaksiyona katılacak biyolojik materyallerin doğru miktarlarının bulunması gibi optimizasyon çalışmalarıyla geniş ölçekli ticari uygulamalarda biyolojik yaklaşımların kullanılabilmesine olanak sağlanabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, spesifik indirgeyici ajanları istenilen miktarlarda üretebilecek mikrobiyal mutantların geliştirilmesi ve böylece biyolojik nanopartiküllerin boyut ve şeklini kontrol etmenin mümkün olduğu da bilinmektedir. Yine *Fusarium oxysporum* aracılığıyla gümüş nanopartiküllerinin üretilmesine olanak sağlayan fotobiyolojik metotlar gibi kombinasyonel yaklaşımların da üretim hızını artırmaya yardım edeceği düşünölmektedir (Narayanan and Sakthivel 2010).

Nanoteknolojik araştırmalardaki biyolojik yaklaşımların büyük çoğunluğu mikroorganizmalar etrafında toplanmıştır. Bilim adamları güçlü çevre dostu yeşil nanofaktörler olarak görölen mikroplar tarafından nanopartiküllerin sentezi için doğal sırları araştırırken, manyetotaktik bakteriler tarafından manyetik partiküllerin (Lovley *et al.* 1987; Narayanan and Sakthivel 2010) diatomlar tarafından silisyum içerikli materyallerin (Narayanan and Sakthivel 2010) ve S-layer bakterileri tarafından alçı/kalsiyum bileşenlerinin üretilbildiğini keşfetmişlerdir (Milligan and Morel 2002; Narayanan and Sakthivel 2010). Metaller ve mikroplar arasındaki bu tür etkileşimler biyoislah, biyomineralizasyon, biyoliç ve biyokorozyon (Narayanan and Sakthivel 2010) alanlarında kullanılabilcek çeşitli biyolojik uygulamaların geliştirilmesine yol açmıştır. Öte yandan bu araştırmalara benzer şekilde nanoteknoloji alanında da metalik nanopartiküllerin üretimi için indirgeyici ajanlar olarak biyolojik materyallerin, özellikle de çeşitli mikroorganizmaların kullanımı oldukça popüler bir araştırma konusudur. Bu alandaki güncel çalışmaları nanoyapılı materyal üretmek için mikroorganizmalar ve biyomoleküllerin kullanılabilirliğini göstermiş durumdadır. Nanopartiküllerin mikrobiyal sentezi, nanobiyoteknoloji olarak adlandırılan,

biyoteknoloji ile nanoteknolojiyi birbirine bağlayan ve gelecek için umut vadeden bir araştırma alanının olarak ortaya çıkması ile sonuçlanmıştır.

Günümüze kadar nanobiyoteknolojinin çeşitli başarılı uygulamaları insanlığın yararına sunulmuş olmasına rağmen bu uygulamaların sayısının artırılması ve ürünlerinin kimyasal ya da fiziksel olarak sentezlenen nanopartiküllerin yerini alması için halen bazı temel sorunlar bulunmaktadır. Bunlar için üretilen nanopartiküllerin boyut ve morfolojilerinin biyolojik süreçlerde kontrol altına alınmasındaki zorluklar örnek olarak verilebilir. Bu yüzden devam eden çalışmaların büyük çoğunluğu nanobiyoteknolojik olarak üretilen nanoyapıların boyut ve şekillerini standardize edebilecek yöntemlerin geliştirilmesine odaklanmıştır. Bu çalışmaların başarılı bir ürünü olarak algal solüsyonların biyomoleküller ile kombinasyonundan istenilen özelliklerdeki nanopartiküllerin sentezlenmesinin başarılması örnek olarak verilebilir (Xie *et al.* 2007; Quester *et al.* 2013).

Bir yandan yapılan çeşitli araştırmalarda biyolojik materyaller kullanılarak sentezlenen nanoyapıların boyut ve şeklinin kontrolü hususundaki sorunlar aşılırken, öte yandan nanobiyoteknolojideki araştırma potansiyelinin önemli bir kısmı da üretilen bu çevre dostu nanopartiküllerin endüstri ya da biyotıp uygulamaları için kullanılabilme ihtimalinin değerlendirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu alanda, biyosentezlenmiş nanopartiküllerin kullanılabilirliğini sağlayan ilk çalışmalardan birinde, bir diyot oluşturmak amacıyla kullanılacak olan kadmiyum sülfat nanopartiküllerini sentezlemek için *Schizosaccharomyces pombe* kullanılmıştır (Kowshik *et al.* 2001; Quester *et al.* 2013). Ayrıca diğer bir çalışmada hava elektrotlarının oluşturulması için mayalar biyokalıp olarak değerlendirilmiş ve yakıt hücre teknolojilerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak gözenekli zirkonyum fosfat biyosentezi yapılmıştır. Bu çalışmada biyosentezlenmiş materyal kullanılarak üretilen hava elektrodu, ticari olarak kullanılan manganez dioksit hava elektrotunun elektrolitikliği ile karşılaştırıldığında oksijen indirgeyici reaksiyonlar için çok daha etkin nitelikte elektro katalitik aktivite göstermiştir (Tian *et al.* 2010; Quester *et al.* 2013).

Kısaca özetlenen bu teknolojik uygulamalara ilaveten, biyonanoteknolojik yollarla üretilen biyouyumlu nanopartiküllerin başta biyotıp, eczacılık, gıda endüstrisi gibi insan sağlığıyla doğrudan ilişkili sektörlerde de ihtiyaç duyulan biyomalzemelerin üretilmesi için yaygın kullanım alanlarının bulunduğu göz ardı edilmemelidir. Örneğin biyomedikal uygulamalarda gümüş nanopartiküllerinin kullanımı uygun şekilde değerlendirilmek koşuluyla gelecek için umut vaat etmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalarda antikoagülatif aktivite gösteren biyouyumlu Au ve Ag nanopartiküllerinin nanobiyoteknolojik olarak sentezi *Brevibacterium casei* kullanılarak yapılmıştır (Khaliswaralal *et al.* 2010a; Quester *et al.* 2013). Ayrıca *Trichoderma viride* kullanarak yapılan özel bir biyosentez sonucunda üretilmiş gümüş nanopartikülleri sodyum aljinat ile kombine edilmiş ve taze gıdaların korunması amacıyla kullanılmıştır. Bu çalışmada yapılan kaplama malzemesinin antimikrobiyal etki göstererek sebze ve meyveleri *E. coli* ATCC 8739 ve *S. aureus* ATCC 6538 test türlerine karşı koruduğu gözlenmiştir (Fayaz *et al.* 2009; Quester *et al.* 2013). Yine güncel literatür verilerine bakıldığında, son zamanlardaki benzer araştırmaların eşsiz antimikrobiyal etkilere sahip çinko nanopartiküllerinin biyosentezine yoğunlaştığı da görülmektedir. Bu çalışmalarda özellikle çinko oksit nanopartiküllerinin üzerinde durulmuş ve bu nanopartiküllerin antibakteriyel, antifungal, yara iyileşmesini teşvik edici, UV ışınlarını filtreleyici, yüksek katalitik ve fotokimyasal aktiviteler gibi çeşitli özelliklerinin hem medikal anlamda hem de diğer nanoteknoloji ile ilgili uygulama alanlarında ne kadar önemli olduğu vurgulanmıştır. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda çinko oksit nanopartikülü sentezi çalışmalarının gelecekteki nanobiyoteknoloji çalışmalarını yönlendirecek potansiyelde olduğu açıkça görülmektedir.

Benzer ilkeler çerçevesinde kurgulanan bu yüksek lisans tezi çalışmasında, nanobiyoteknoloji araştırmalarında oldukça önemli bir yere sahip olan çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerinin *Rhodococcus erythropolis* K85 izolatı kullanılarak çinko asetat, çinko klorit, çinko sülfat ve çinko nitrat hammaddelerinden üretilme potansiyellerinin araştırılması ve elde edilecek olan nanopartiküllerin SEM (taramalı elektron mikroskopisi) ve EDAX (enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi) analitik yöntemleriyle karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Nanoteknolojinin Tanımı

Nanoteknolojinin en genel tanımı nanoölçekli boyutlarda ve şeklin kontrol edilebildiği durumlarda materyallerin, cihazların ve sistemlerin dizayn edilmesi, karakterizasyonunun yapılması, üretilmesi ve uygulanması olarak yapılmaktadır. Burada sözü geçen nanoölçek kavramı çoğunlukla 1–100 nm yi kapsamaktadır (Ramsden 2009). Yine nanoteknolojinin en basit ve temel tanımı olarak atom düzeyinde mühendislik kavramı da verilebilir. Bir başka tanıma göre ise nanoteknoloji temelde yeni özelliklere ve fonksiyonlara sahip materyallerin, aygıtların ve sistemlerin oluşturulması için nanoölçekli maddelerin kasıtlı ve kontrollü manüpülasyonu, hassas bir şekilde düzenlenmesi, ölçülmesi ve üretimidir. The US Foresight Institute tanımında ise “nanoteknoloji kullanışlı ve eşsiz özelliklere sahip yeni materyal ve aygıtları üretmeye yönelik nanoölçekte madde yapısının kontrol edildiği ve önemi giderek yükselen bir teknolojik gelişmeler grubudur” ifadesine yer verilmiştir. Bu çalışmalarda sıkça bahsedilen kontrol vurgusu nanoteknoloji ile sıklıkla kıyaslandığı kimya arasındaki farkın anlaşılması yönünden özellikle önemlidir. Bu durum nanoteknolojiyi, atom ve moleküllerin yüzeylerindeki potansiyel enerjide meydana gelen kısıtlamalar sonucu olayların temel olarak kontrolsüz ve rastgele gerçekleştiği kimya biliminden açıkça ayırmaktadır. Arzu edilen kontrole ulaşılabilmesi için rastgele olmayan özel bir ötaktik (eutactic) ortama ihtiyaç vardır. Ötaktik ortamların pratikte nasıl elde edilebileceği günümüzde halen şiddetli bir şekilde tartışılmaktadır (Ramsden 2009; Hıdıroğlu 2015).

Öte yandan birçok nanoteknolojiyle ilişkili bilim insanı nanoteknolojinin sunduğu temelde yeni özellikler ile ilişkilendirilen yenilik ve eşsizlik kavramlarına dikkat çekmekte ve nanoteknolojik çalışmalar sonunda elde edilecek ürünlerin hata oranının çok daha az olabileceğine vurgu yapmaktadır (Ramsden 2009).

Bir diğer tartışmalı konu ise nanoteknoloji ile ilgili kavramların nasıl kullanılacağıdır. Bu konuda kesin bir sınırlamama olmamasına karşın naoteknolojinin atomik düzeyde kontrole odaklı kolektif bir bilim bütünü olduğu göz ardı edilmemelidir.

Tüm bu sözü geçen detaylı tanımlar göz önünde bulundurulduğunda nanoteknolojinin en az üç temel konseptinin olabileceği anlaşılmaktadır (Ramsden 2009).

Birinci konsept bu bilimin kavranabilir objelerini içerir ve bunlar yapılarındaki karmaşıklığın artışına göre materyaller, aygıtlar ve sistemler olarak sıralanabilir. Bu üçü arasındaki sınırların akıllı materyaller gibi nesnelere tarafından kaldırılabilmesi öngörülmektedir.

İkinci konsept nanopartiküller gibi pasif, statik ve küçük boyutlarından dolayı aynı kimyasal kompozisyona sahip hammaddelerinden tamamen farklı yeni özellikler gösteren objeler ile başlar. Devamında enerjiyi ya da fazları dönüştürebilen veya bilgiyi depolayabilen aktif aygıtlar gelmektedir. Daha karmaşık ve daha ileri düzeyde bilgi işleme yeteneğine sahip aygıtlar da bu konsept içerisinde yer almaktadır. Yine nihayetinde nanoüretim (nanomanufacturing ya da nanofacture) ya da atom düzeyinde üretim (APM: atomically precise manufacturing) olguları da bu konseptte dahil edilmektedir.

Üçüncü konsept nanopartiküllerin de dahil olduğu nanoölçekli yapılara sahip materyaller ve nanoölçekli bileşenlerden oluşan aygıtları içeren doğrudan nanoteknoloji ile başlar, güçlü bilgi işlemcilerin temelini oluşturan nanoölçekli çipleri içeren indirekt nanoteknoloji ile devam eder ve çeşitli bilimsel olayların nanodüzeyde daha iyi anlaşılmasını hedefleyen kavramsal nanoteknoloji ile sonlanır.

Aktif aygıtlar başlığı içerisinde bu aygıtları yönettikleri eyleme göre sınıflandırmak (örneğin elektronlar, protonlar ya da sıvı materyaller gibi) oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Böylelikle moleküler elektronikler ve silikon gibi hammaddelerden yapılan tekli elektron aygıtları elde edilir. Günümüzde sıklıkla optik dalga kılavuzları ve fiber

optikleri kapsayacak şekilde kullanılan nanofotonikler bu grup içerisinde yer alır. Yine bazı bilgi işlemciler ve kimyasal reaksiyonların daha iyi gerçekleşmesini sağlayan mikro karıştırıcılar olan nanoakışkanlar da bu gruba dahil edilebilir. Öte yandan bu sınıflandırmanın geçerliliği birçok nanoaygıtın birden fazla özellik göstermesi ile doğrudan kısıtlanır. Örneğin son zamanlarda geliştirilen nanoelektromekaniksel cihazlar elektronik değişim, optoelektronik kontrol, fotonik değişim gibi özelliklerin bir arada bulundurup fotokimyada minyatür reaktörler gibi davranarak hem nanofotonikler hem de nanoakışkanlar içerisinde sınıflandırılabilirler (Ramsden 2009).

2.2. Nanoteknolojinin Tarihçesi

Nanoteknolojinin tarihçesindeki bilinen en temel referans Richard Feynman'ın çalışmalarını sürdürdüğü yer olan Caltech'de 1959 yılında yaptığı sunumdur. "There's plenty of room at the bottom (Aşağıda çok sayıda oda daha var)" başlıklı sunumunda Feynman; makrodüzeydeki makinelerin çalışma prensiplerine benzer çok daha küçük makineler yapabilmek için gerekli olan tasarımlardan bahsetmiştir. Bu çerçevede 1/64 inç boyutu aşmayacak çalışan bir elektrik motorunun tasarımı için 1000 ABD doları miktarında ödülün verilmesi önerilmiştir.

Feynman'ın fikrinde ilk birleştirici ünitenin (assembler) ipuçları bulunmaktadır. Bu fikir Feynman'dan sonra Eric Drexler tarafından daha da geliştirilmiştir (Drexler 1981; Ramsden 2009). Drexler'e göre birleştirici ünite evrensel nanoölçekli birleştirici bir makine olmalı, yalnızca nanoyapılı materyaller üretebilmekle kalmamalı diğer makinelerde olduğu gibi kendi kopyalarını da oluşturabilmelidir. Buna göre ilk birleştirici ünite atomların kontrollü eklenmesiyle inşa edilmeli ve bir kez çalıştırıldığında kendi başına birçok kopyasını oluşturabilmelidir. Bu ünitenin sayısı yeterli miktara ulaştığında evrensel üretim kapasitesine ve nanoçağa gerçek manada ulaşılacağı öngörülmektedir. Nanoölçeğe oldukça farklı bir yaklaşım ise hassas cihaz mühendisliğinin mikroskobik dünyasından başlamakta ve ultra hassas cihaz mühendisliği bilimini doğurmaktadır. Bilim dünyasına nanoteknoloji terimi bu sürecin en alt limitlerini tanımlamak amacıyla Norio Taniguchi tarafından 1983 yılında

sunulmuştur (Ramsden 2009). Günümüz ultra hassas cihaz mühendisliği bilimi sadece birkaç nanometrelik pürüzleri olan yüzeyler yapabilmeyi başarmıştır. Bu yaklaşım yarıiletken işleme endüstrisinde de birebir uygulanmaktadır. Bundan on yıl önce bu alanlardaki çalışma odakları mikrometre düzeyinde iken günümüzde bu durum nanometre düzeyine kadar çekilmiştir.

Nanoteknolojiye üçüncü bir yaklaşım ise kendi kendine düzenlenme (self-assembly) üzerine kurgulanmıştır. Bu yaklaşıma olan ilginin temelinde Drexler'in öne sürdüğü evrensel birleştirici ünitenin yapımında ortaya çıkan pek çok zorluğun bulunması ve yakın gelecekte bu zorlukları aşmanın mümkün olmadığı gerçeği yatmaktadır. Kendi kendine düzenlenme konseptinin esin kaynağının ilginç bir şekilde virologların çalışmaları olduğu bilinmektedir. Gerçekten de bakteriyofaj virüslerin bir araya getirilmemiş bileşenleri (baş, boyun ve kuyruk) bir test tüpüne konular ve birbiriyle karışmaları sağlanırsa virüs yapılarının kendiliğinden doğru bir şekilde bir araya gelecekleri bilinmektedir.

Nanopartiküller çoğunlukla pasif nanoyapılar olarak sınıflandırılır. Günümüzde bu yapılar nanoteknolojinin hemen hemen tek ticari öneme sahip ürünleridir. Buna karşın insanlık için yeni olmadıklarından dolayı nanoteknolojiyi gerçekten temsil edip etmedikleri tartışmalıdır. Örneğin 1449 yılında İngiltere'de John Utynam altın nanopartikülleriyle boyanmış cam yapma tekniği için patent almıştır. Yine İsviçre'li doktor ve kimyacı von Hohenheim Paracelsus 16. yy'ın başlarında altın nanopartiküllerini çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanmıştır. Kimyasal yollarla nanopartiküllerin endüstriyel ölçekli üretimi ise 19. yy'ın ortalarına denk gelmektedir. Buna Thomas Graham'ın ferrik hidroksit nanopartiküllerini üretmek için geliştirdiği yöntem örnek olarak verilebilir. A.B.D'de Wolfgang Ostwald çok sayıda ders vermiş ve bu derslerindeki bilgilerini 1914 yılında yayınlanan "Die Welt der vernächlassigten Dimensionen" kitabında toplamıştır (Ramsden 2009). 20. yy'ın ortalarına kadar çoğu üniversitenin kolloit kimyası bölümlerinin olduğu daha sonra ise bu bölümlerin yerlerini nanoteknolojiye bıraktığı bilinmektedir.

2.3. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Nanomateryal, nanoaygıt ve nanosistemlerin sahip oldukları eşsiz fiziksel ve kimyasal özellikler göz önünde bulundurularak nanoteknoloji çalışmalarından elde edilen ürünler başta endüstri, tıp-sağlık, kuantum bilgisayar, enerji olmak üzere çeşitli uygulama alanları bulmuştur.

Günümüzde ve gelecekte nanoteknoloji için öngörülen en temel uygulama türlerine; enerji depolama, üretim ve dönüşüm (karbon nanotüp ve diğer hafif malzemeler kullanarak hazırlanan hidrojen depolama sistemleri, kuantum noktacıklardan hazırlanmış fotovoltaiik hücreler, organik ışık yayan cihazlar, güneş panelleri için karbon nanotüp esaslı kompozit filmler, hidrojen üretmek için nano katalizörler, protein-polimer hibrit biyoesinli membranlar), tarımsal verimliliğin artırılması (bitkiler ve çiftlik hayvanları için kontrollü su, gübre, ilaç salınımı için nano gözenekli zeolitler, zararlı bitkileri bertaraf etmek için hazırlanan nanokapsüller-kontrollü salınım, bitki sağlık kontrolü ve toprak kalitesinin kontrolü için sensörler-algılayıcılar, topraktaki kontaminasyonun uzaklaştırılması için nanomanyetik parçalar), su ıslahı ve saflaştırma (su saflaştırılması, zehirli maddelerin uzaklaştırılması ve tuzsuzlaştırmak için nanomembranlar, patojen bakterilerin ve kontaminasyonların belirlenmesi için sensörler, su saflaştırmak için nanogözenekli zeolitler, nanogözenekli polimerler, attapulgit kil, su saflaştırma ve iyileştirmek için manyetik nano parçacıklar, sudaki organik kirleticilerin TiO_2 nano parçacıklar ile katalitik olarak uzaklaştırılması), hastalık tanı ve izleme (nanolitre sistemler-yonga üzerinde laboratuvar, karbon nanotüp esaslı nanosensörler, hastalık tanısında kuantum parçacıklar, nanosensör olarak manyetik nano parçacıklar, HIV ve kanser tanısında kullanılan antibody-dendrimer konjugatlar, hastalık tanısında nanotel-nanoribon sensörler, medikal imajı iyileştirecek nano parçacıklar), ilaç taşıma (kontrollü ilaç salınımı için nanokapsüller, dendrimerler, lipozom, nano biyomanyet parçacıklar), gıda işleme ve paketlenme (gıda paketlenmesinde kullanılan film ve kaplama malzemelerinde nano kompozit uygulamaları, gıda ekipmanları, paketleri ya da gıdalarda dekontaminasyonun antimikrobiyal emülsiyonlarla sağlanması, patojen tanısı için nanoteknoloji esaslı antijen tanısı yapan

biyosensörler), hava kirliliği ve önlenmesi (hava kirliliği yapan organiklerin TiO_2 nano parçacık esaslı fotokatalitik parçacıklar ile temizlenmesi, araçlarda kullanılan katalitik konvertörlerin daha hafif, daha ucuz ve daha aktif nano katalizör ile hazırlanması, toksik malzemelerin ve kaçakların nanosensörler ile tanınması, nanoaygıtlar ile gaz separasyonu), yapı-inşaat (asfalt ve beton yapıları su deformasyonuna karşı daha dayanıklı yapmak için nanomoleküler yapılar, infrared ışımaya ve zararlı UV ışınları önleyici ısı ve UV direnci olan nano parçacıklar, ucuz ve hafif yapılar, özelliği geliştirilmiş kaplamalar, ses ısı izolasyonu için nanomalzemeler, kendi kendini temizleyen ve antimikrobiyal kaplamalar), sağlık (hastalarda şeker, kolesterol ve CO_2 miktarını anında belirleyen nanotüp-nanoparçacık sensörler), haşere kontrolü (haşere tespiti için nano sensörler, pestisit, insektisit ve insekt uzaklaştırıcı olarak kullanılan nano parçacıklar) amaçlarıyla kullanımları örnek olarak verilebilir (Celep 2007; Tütünoğlu 2007; Özer 2008; Gülsün 2009; Işık 2010; Presland 2010; Yalçın 2010; Aydoğdu 2011).

2.4. Nanomalzemeler

Nanomateriyalleri farklı özelliklerine göre inceleyen çeşitli kaynaklarda birbirinden farklı sınıflandırmalar olmasına karşın nanomalzemeler temelde nanofiberler, tabakalı ya da lamelli nanomalzemeler (nanoplate), grafen temelli nanomateriyaller, kuantum noktalar (quantum dot), dendrimerler ve nanopartiküller olarak gruplandırılır (Işık 2010).

Nanofiber terimi nanoölçekte iki boyuta sahip nanoobjeleri tanımlamak için kullanılan terimdir. Bu objelere katı yapılı nanofibriller olan nanoçubuklar (nanorod), ortası oluklu nanofibriller olan nanotüpler ve elektriği iletebilen nanoteller örnek olarak verilebilir (Celep 2007; Ramsden 2009; Aydoğdu 2011).

Tabakalı ya da lamelli yapılar olarak adlandırılan nanoplateler ise kalınlıkları 100 nm'nin altında olan kaplamalara olanak sağlayan nanomalzemelerdir. Bu materyallere Langmuir filmleri örnek olarak verilebilir (Ramsden 2009; Işık 2010).

Nanomalzemelerin en temel gruplarından bir diğeri de poliaromatik halkalardan ve bunlardan meydana gelen katmanlardan oluşan grafen temelli nanomateryallerdir (Ramsden 2009). Bu grubun önemli örneklerinden olan grafen lamelleri grafitin yapısında sıkışmış halde bulunur ve bağımsız lameller yapışkan bir bant kullanılarak grafit yüzeyinden toplanabilir. Alternatif olarak silikon karbit kristalinin vakumlu ortamda 1300°C'ye ısıtılması ile grafenin elde edilebileceği de bilinmektedir. Bu grup için diğeri bir önemli örnek olan karbon nanotüpleri ise grafen alt birimlerinin döngüsel olarak bir araya getirilmesi ile oluşturulurlar (Celep 2007; Özer 2008; Ramsden 2009; Aydoğdu 2011). Fulleren olarak da adlandırılan karbon nanopartikülleri de grafenin şekillendirilmesinden elde edilmektedir (Ramsden 2009).

Kuantum noktalar üç boyutta büyümesi sınırlandırılmış, boyutları 100 nm'ye kadar olabilen, sıfır boyutlu ince ışık emici nanomalzemelerdir. Bu malzemeler temelde elektronlar yakalayıcılarıdır ve bu yapıların moleküler boyutları içerdikleri elektron sayısı hakkında fikir verir (Özer 2008; Tanyolaç vd 2010).

Dendrimerler boyutları 1–20 nm arasında değişebilen, kimyasal yapıları iyi tanımlanmış düzenli ve dallanmış üç boyutlu yapılara sahip olan küre şeklindeki makromoleküllerdir. Yüzeylerinde çekirdek, dallar ve uç grup olarak adlandırılan üç temel bileşeni içeren fonksiyonel grupları bulundurlar (Özer 2008).

Nanopartiküller nanomalzemelerin en çok çalışılmış, en iyi bilinen ve en fonksiyonel grubunu oluştururlar. Nanopartiküllerin gösterdiği eşsiz aktiviteler onların yüzey alanlarının daha büyük boyutlara sahip moleküllerin yüzey alanlarından daha geniş olması ile açıklanmaktadır (Özer 2008). Bu önemli aktivitelerinden dolayı günümüze kadar pek çok nanopartikül türevi sentezi gerçekleştirilmiş ve birçok tıbbi ve endüstriyel alanda bu nanopartiküller için kullanım yöntemleri geliştirilmiştir. Günümüzde ekonomik öneme sahip nanopartiküllere Core-Shell, seramik, kristalize olmuş nano dispersiyon, PP veya PE kaplamalı SiO veya AlO, indiyum kalay oksit, nanogözenekli köpük, Fe, TiO₂ veya ZnO nanopartikülleri örnek olarak verilebilir (Celep 2007; Özer 2008).

2.5. Nanopartikül Üretim Metotları

Nanoteknolojide önemli bir yere sahip olan nanopartiküllerin kimyasal ortamlarda sentezlenebilmeleri için özel olarak geliştirilmiş çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bu amaç için klasik olarak kullanılan geleneksel teknikler için elektrokimyasal sentez, ters misel/mikroemülsiyon metodu, hidrotermal sentez, sonokimyasal çöktürme, kimyasal indirgenme teknikleri örnek olarak verilebilir. Birbirinden oldukça farklı olan tüm bu metotların ortak noktaları ise çalışmalar sonucunda elde edilecek nano yapıların belirli bir büyüklük ve morfolojide olması gerekliliğidir (Yıldız 2011).

2.5.1. Elektrokimyasal sentez

Bu metot katı ve sert yüzeyler üzerinde inorganik depozitler oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Genellikle periyodik cetvelin III-V ve VI gruplarında bulunan elementlerin kendi aralarında oluşturduğu bileşik yarıiletkenlerin üretiminde kullanılan bu metot son on yıldan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Metodun çalışma prensibi elementel haldeki metalin oksitlenmesi ve çözeltiye geçmiş olan metal iyonlarının katotta indirgenmesi şeklindedir. Üretim sürecinde partiküllerin katot yüzeyinde birikmesi amacıyla tetra alkil amonyum tuzu gibi bazı düzenleyicilerin kullanılması gerekmektedir. Bu metot temel olarak bir kaplama yöntemi olmasının yanı sıra, dekoratif uygulama, korozyona karşı dayanıklılık ve yüzeyde fiziksel özelliklerin değiştirilmesi amaçları için de kullanılır (Reetz and Helbig 1994; Tütünoğlu 2007; Yıldız 2011).

2.5.2. Ters misel/mikroemülsiyon metodu

Bu yöntemin özel ekipmanlara, yüksek sıcaklığa ve basınca gerek duymaması ve sürecin aynı anda bir veya birden fazla tepkimeyi gerçekleştirebilmesi kolaylık sağlamaktadır. Buna ilaveten süreç sonunda elde edilen nano ürünlerin şekil, büyüklük ve kristal yapısının deneysel parametrelerin değiştirilmesiyle kontrol edilebilmesi de bir diğer önemli özelliktir. Mikroemülsiyon sistemlerin organik faz ortamında, organik

faz/su ara yüzeyinin yüzey aktif maddelerle kararlı hale getirilmesi sonucu elde edilen nanoboyutlu su küreleri bulunur. Su kürelerinin farklılaşması yüzey aktif maddesi/su oranına bağlı olarak değişmektedir. Farklılaşma sonucu değişen bu oran eğer 15'in altında ise ters misel, üstünde ise mikroemülsiyon sistemlerini oluşturur. Oluşacak ürünlerin boyutunu etkileyen en önemli değişkenlerden biri olan bu su küreleri nanoyapıda taneciklerin üretilmesini sağlayan mikro reaktörlerdir (Petit *et al.* 1994; Li *et al.* 1998; Sangeetha *et al.* 2011; Yıldız 2011).

2.5.3. Hidrotermal sentez

Bu tekniğin temelinde otoklav gibi kapalı sistemlerde suyun kaynama noktasının üzerine kadar ısıtılması ve hammaddelerin yüksek basınç altında buhara maruz bırakılması yatmaktadır. Sonuçta ise dar bir boyut aralığına sahip, bileşiminin ve morfolojisinin kontrol edilmesi mümkün olan istenilen özelliklerdeki nanopartiküller üretilir (Tok *et al.* 2007; Tütünoğlu 2007; Yıldız 2011).

2.5.4. Sonokimyasal çöktürme (depozisyon)

Yüksek enerjili olan sonokimyasal tepkimeler, herhangi bir moleküler birleşmeye izin vermeksizin bir sıvı içerisindeki kimyasal bileşenlerin ultrasonik etki vasıtasıyla topakçıklar halinde çökmesi, büyümesi ve şekillenmesini sağlayarak nanoyapıların üretilmesini mümkün kılmaktadır (Liu and Lin 2004; Tütünoğlu 2007; Yıldız 2011).

2.5.5. Kimyasal indirgenme

Hem sulu hem de organik çözücü ihtiva eden ortamlarda gerçekleştirilebilen bu metot, kuvvetli bir indirgeyici reaktif eşliğinde metal iyonlarının metalik nanopartiküllere indirgenmesi temeline dayanmaktadır (Tütünoğlu 2007; Yıldız 2011).

2.6. Umut Vaat Eden Bir Yaklaşım Olarak Nanobiyoteknoloji ve Biosentez

Nanobiyoteknoloji, biyolojik süreç ve ürünlerin geliştirilmesi için nanoteknolojik tekniklerin uygulanması olarak tanımlanabilir. Bu uygulama alanı gerçek zamanlı nanosensörler ve lab-on-chip tekniği gibi daha hassas ve duyarlı tanı yöntemleri için nanoboyuttaki tekniklerin geliştirilmesi ve üretilmesini kapsamaktadır. Özetle nanobiyoteknoloji, daha yüksek hassasiyet, özgüllük ve tanıya olanak sağlayan kimyasal ve biyolojik analizler için sistemler ve aletler üretebilmek için mühendislik ve moleküler biyolojinin ortak bir noktada buluşmasıdır (Tanyolaç vd 2010).

Nanobiyoteknoloji;

- Hastalık teşhisinin hızını ve doğruluğunu artırmak
- Hücreler için kullanılacak biyonanoyapılar tasarlamak
- Hedefe yönelik ilaç kullanımını geliştirmek
- Biyolojik ve elektronik molekülleri tek ve küçük bir yapının içinde birleştirilerek biosensörlerin boyutlarını minyatürleştirmek
- Çevre dostu biyoüretimin geliştirilmesini teşvik etmek gibi uygulama alanlarında çözümler bulmayı amaçlamaktadır (Tanyolaç vd 2010).

Biyolojide canlı organizmalarda gerçekleşen kimyasal süreçleri ifade eden biosentez, canlılarda var olan enerjinin kullanılmasıyla gerçekleştirilen bu süreçlerde basit yapıdaki maddelerden daha karmaşık ürünler elde edilmesidir (Yıldız 2011). Benzer şekilde nanobiosentez ise bitkisel ya da hayvansal özütler veya mantar, maya ve alg gibi çeşitli canlı organizmalar ile çeşitli kimyasalları birlikte kullanarak nanoboyutta ürünler üretmektir (Raveendran *et al.* 2003).

Metalik nanopartiküllerin üretiminde kullanılan klasik sentez yöntemlerinin karmaşık ve maliyetinin çok yüksek olması, toksik madde kullanımı gerektirmesi, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalar için elverişsiz olması gibi dezavantajlara sahip olması, son yıllarda uygulamaları daha basit, ekonomik, toksik maddeler içermeyen, sağlık alanında

kullanıma elverişli ve geniş yelpazede ticari üretime olanak sağlama gibi birçok avantaja sahip olan biyosentez uygulamalarının daha çok tercih edilmesine yol açmıştır (Yıldız 2011).

Bu amaçla son zamanlarda, fonksiyonel nanopartiküller sentezlemek için mikroorganizmaların kullanımı büyük bir ilgi görmüştür. Mikroorganizmaların metallerin oksidasyon safhalarını değiştirebildiği bilinmektedir. Bu mikrobiyal süreçler çerçevesinde örneğin metal nanomateryallerin biyosentezi gibi yeni uygulamaların araştırılmasına yönelik yeni olanaklar ve yaklaşımlar sağlanabilmektedir. Kimyasal ve fiziksel yöntemlerin aksine, nanomateryalleri sentezlemek için kullanılan mikrobiyal süreçler hassas ve çevre açısından uygun koşullar altında sulu faz içinde gerçekleştirilebilir. Bu yaklaşım sürdürülebilir gelişmeye yönelik mevcut yeşil biyonanoteknolojik araştırmalarda ilgi odağı haline gelmiş durumdadır (Ng *et al.* 2013).

2.7. Mikroorganizmalar Kullanılarak Nanopartiküllerin Biyosentezi

2.7.1. Mayalar kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Literatürde metalik nanopartiküllerin sentezi için mayaların kullanılmasını kapsayan oldukça az çalışma vardır (Çizelge 2.1.). Fakat, bu amaç için biyolojik materyal kullanmada ilk yaklaşımlardan biri ökaryotik sistemler olan *Candida glabrata* ve *S. pombe* kullanarak gerçekleştirilmiştir (Quester *et al.* 2013). Bu organizmaların kültürleri hücre içi ve hücre dışı olarak üretilen kadmiyum sülfid kuantum yarıiletken kristallerini sentezlemek için kadmiyum tuzlarına maruz bırakılmıştır. Her iki durumda, X-ray analizleri neredeyse tek dağılımlı yoğun bir kümeleşmeye sahip, küresel, homojen partiküller göstermiştir. Diğer bir çalışma ise, enerji filtreleyici transmisyon elektron mikroskobu (energy-filtering transmission electron microscopy-EFTEM) ve element spesifik görüntüleme sistemi (element specific imaging-ESI) kullanarak kadmiyum ve sülfürün eşit miktarda *Schizosaccharomyces pombe*'nin hücre sitoplazması içinde dağıldığını ve *C. glabrata*'nın her iki organizmada CdS nanopartiküllerinin oluşumunu sağladığını ortaya koymuştur (Krumov *et al.* 2007; Quester *et al.* 2013).

Çizelge 2.1. Nanopartikül üretiminde mayaların kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Maya Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Candida glabrata</i>	Cd	Belirtilmemiş	20-29 Å
<i>Candida glabrata</i>	CdS	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Candida glabrata</i>	Ag	Döngüsel yada hegzagonal	2-5 nm
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Cd	Belirtilmemiş	18-29 Å
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CdS	Hekzagonal	1-1,5 nm
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	CdS	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Pichia jadinii</i>	Au	Değişken	Belirtilmemiş
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Au	Partikül ve Levhalar	Değişken
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Zr	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş

Maya türleri gümüş ve altın nanopartikülleri sentezlemek için de kullanılmışlardır. Gümüş toleranslı MKY3 türü 2,0 mM gümüş nitrati tolere etmiş ve yaklaşık 3-8 nm boyutunda yüzey merkezli yapılara sahip çoğunluğu ikiz ya da çoklu ikiz olan ekstraselüler nanopartiküller üretmiştir. Metal toleransı ya da metal direncine sahip olan türler geniş ölçekli sentez ve sonraki işlem basamakları bakımından özel bir öneme sahiptirler (Kowshik *et al.* 2003). *Yarrowia lipolytica* hücreleri değişik kloroaurik konsantrasyonları ile inkube edilmiş hücreye birleşik altın nanopartiküller ve nanolevhalar üretilmiştir. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared–FTIR Spectroscopy) nanopartikül sentezinde hücre yüzeylerindeki karboksil, hidroksil ve amid gruplarının katılımını göstermiştir. Bununla beraber, aynı çalışmada nanopartikül boyutunun geniş ölçüde hücrelerin sayısı ve kullanılan tuz konsantrasyonları tarafından etkilendiği de bulunmuştur (Pimprikar *et al.* 2009; Quester *et al.* 2013).

Bazı çalışmalar mayalar tarafından nanopartikül üretiminin potansiyel uygulanabilirliğini göstermiştir. Kadmiyum sülfid nanopartikülleri düşük voltaj ve yüksek ileri akım değerinde çalışan bir diyot üretmek için kullanılan *S. pombe* tarafından intraselüler olarak sentezlenebilmektedir. Bunlar, ideal yapı bir diyot

üretmek için beklenen özelliklerdir (Kowshik *et al.* 2002). Benzer şekilde, biyokalıp olarak mayalar kullanarak sentezlenen mezoporlu bir yapıya sahip olan zirkonyum fosfat, oksijen indirgenmesi için dikkate değer bir elektrokatalitik aktivite sergileyen bir hava elektrodu üretmek için de kullanılmıştır (Tian *et al.* 2010; Quester *et al.* 2013).

2.7.2. Küfler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Küfler çok çeşitli doğal habitatlarda yaşayan ökaryotik organizmalardır. Bu organizmalar çoğunlukla çürükçül ve organik bileşikleri parçalayıcı mikroorganizmalar olarak tanımlanırlar. Günümüze kadar 70,000'den fazla türü tanımlanmış olan küflerin gerçekteki sayısının 1,5 milyonun üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (Blackwell 2011). Bu organizmalar karmaşık bileşikler daha sonra absorbe edilen ve bir enerji kaynağı olarak kullanılan daha basit moleküllere hidroliz etmek için özel enzimler salgılayarak ekstraselüler olarak sindirebilme yeteneklerine sahiptir. Küfler nanobiyoteknolojideki kullanımlarını araştırmak için mükemmel bir adaydır, çünkü bazı türler hızlı bir büyüme oranına sahiptir ve laboratuvarında kültüre etmek ve idame ettirmek oldukça kolaydır (Castro-Longoria *et al.* 2011, 2012). Nanoteknolojide nanopartikül üreticileri olarak küf türlerinin çalışmaları nispeten yenidir; küfler aracılığıyla metalik nanopartiküllerin üretimi için ilk yayınlardan biri ipliksi bir küf olan *Verticillium sp.* tarafından gümüş nanopartiküllerinin ekstraselüler sentezini kapsamaktadır (Mukherjee *et al.* 2001; Quester *et al.* 2013).

Nanopartikül sentezi için araştırılan küf türleri arasında ipliksi *Fusarium oxysporum* bu amaç için en çok araştırılan türlerden birisi olmuştur (Çizelge 2.2.). Bu organizmaya ait biyokütle çeşitli metalik iyon çözeltilerine maruz bırakılmış ve ekstraselüler ortamda çeşitli nanopartiküllerin sentezi sağlanmıştır. Ahmad *et al.* (2002) ilk kez bu fungusu kullanmış ve PbS, ZnS ve MoS₂ nanopartiküllerinin oluşumunun yanı sıra CdS nanopartiküllerinin de oluşturulabileceğini bildirmiştir. Sulu çözeltilerdeki proteinlerin varlığı nanopartikül oluşumu için enzim temelli indirgeyicilerin varlığına işaret etmektedir. Yine aynı fungusun kullanılmasıyla 5-50 nm boyut aralığında olan çeşitli morfolojilerdeki kümelenmiş ya da ayrı ayrı bulunan gümüş nanopartiküllerinin

sentezlenebileceği de gösterilmiştir (Ahmad *et al.* 2003a). Fakat 20-50 nm boyutunda küresel gümüş nanopartiküllerinin üretimi için *F. oxysporum* kullanarak yapılan diğer bir çalışma da ise Ahmad *et al.* (2003a) tarafından bildirilen sonuçlar değerlendirildiğinde boyut ve morfoloji arasındaki farklılığın sentez sırasında uygulanan ısı farklılıklarından kaynaklanabileceğini gösterilmiştir (Riddin *et al.* 2006). Metalik iyon çözeltisi ve inkubasyon şartlarına bağlı olarak çeşitli morfolojilerde yarı küresel nanopartiküller yaygın olarak üretilebilir.

Literatürde çeşitli metallerin nanopartikülleri *F. oxysporum* kullanarak sentezlenmiş ve tüm hallerde, çeşitli şekillerin yanısıra farklı boyut aralıkları sunan ekstraselüler oluşum bildirilmiştir (Çizelge 2.2.). Bu fungus tarafından metal iyonlarının indirgenmesi NADH bağımlı redüktazlar ve bir mekik kinon içeren ekstraselüler süreçler ile ilişkilendirilmiştir (Mukherjee *et al.* 2001; Durán *et al.* 2005). Buna ek olarak NADH miktarlarını değiştirerek değişen bileşenlere sahip Au-Ag alaşımı nanopartiküllerin sentezine olanak sağlanabileceği de keşfedilmiştir (Senapati *et al.* 2005). Ayrıca, fitokelatin ile birlikte *F. oxysporum*'dan saflaştırılan α -NADPH bağımlı nitrat redüktaz 10-25 nm boyut aralığında gümüş nitrat nanopartikülleri üretmek için başarılı bir şekilde kullanılmış (Kumar *et al.* 2007) ve *F. oxysporum*'dan saflaştırılan hidrojenaz enzimi tarafından H_2PtCl_6 ve $PtCl_2$ 'nin platinyum nanopartiküllerine biyoyıkımı için Govender *et al.* (2009) tarafından bir mekanizma önerilmiştir.

Çizelge 2.2. Nanopartikül üretiminde küflerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Küf Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Verticillium</i>	Ag	Küresel	25 nm
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ag	Değişken	Belirtilmemiş
<i>Fusarium oxysporum</i>	Au	Küresel ve üçgen	8-40 nm
<i>Fusarium oxysporum</i>	CdS	Hekzagonal	5-20 nm
<i>Fusarium oxysporum</i>	Cd	Küresel	9-15 nm
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Ag	Küresel - Üçgen	5-25 nm
<i>Aspergillus flavus</i>	Ag	Küresel	30.5 nm
<i>Aspergillus niger</i>	Au	Levhalar	50-500 nm
<i>Aspergillus niger</i>	Ag	Küresel	5-35 nm
<i>Trichoderma asperellum</i>	Ag	Bildirilmedi	13-18 nm
<i>Volvariella volvaceae</i>	Ag	Küresel	15 nm
<i>Volvariella volvaceae</i>	Au	Üçgen - Küresel	20-150 nm
<i>Volvariella volvaceae</i>	Au-Ag	Bildirilmedi	Bildirilmedi
<i>Penicillium fellutanum</i>	Ag	Küresel	5-25
<i>Penicillium strain J3</i>	Ag	Küresel	10-100 nm
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Ag	Küresel	10-100 nm
<i>Phoma glomerata</i>	Ag	Küresel	60-80 nm
<i>Aspergillus versicolor</i>	Hg	Bildirilmedi	Bildirilmedi
<i>Rhizopus oryzae</i>	Au	Küresel	10 nm
<i>Rhizopus oryzae</i>	Au	Üçgen, 2D	Çeşitli
<i>Verticillium luteoalbum</i>	Au	Çeşitli	Çeşitli
<i>Coriolis versicolor</i>	Ag	Küresel	25-75 nm
<i>Coriolis versicolor</i>	Au	Küresel ve elips	20-100 nm
<i>Trichoderma viride</i>	Ag	Küresel, rodlike	5-40 nm
<i>Trichoderma viride</i>	Ag	Küresel	2-4 nm
<i>Trichoderma viride</i>	Ag	Küresel, rodlike	2-4, 10-40 nm
<i>Fusarium spp.</i>	Zn	Düzensiz	100-200 nm
<i>Amylomyces rouxii</i>	Ag	Küresel	5-27 nm
<i>KSU-09</i>			
<i>Aspergillus clavitus</i>	Ag	Bildirilmedi	550-60 nm
<i>Aspergillus flavus</i>	Ag	Küresel	17 nm
<i>NJP08</i>			
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Ag	Yarı Küresel	25-30 nm
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Au	Bildirilmedi	1-5 nm
<i>Aspergillus oryzae var. Viridis</i>	Au	Üçgen, Beşgen	10-60 nm
<i>Neurospora crassa</i>	Ag, Au,	Küresel, elips	3-50, 3-100 nm
<i>Streptomyces sp.</i>	Ag	Küresel	15-25 nm
<i>Alternaria alternata</i>	Au	Küresel, üçgen	7-17 nm

F. oxysporum'un yanı sıra önemli sayıda diğer küf türleri de çeşitli metal nanopartiküllerinin başarılı sentezi için kullanılmıştır (Çizelge 2.2.). Küf biyokütlesi ya da hücresiz ekstrakt kullanarak gerçekleştirilen sentezler geniş bir çeşitlilikte şekil ve boyutlara sahip metal nanopartiküllerin sentezi ile sonuçlanmıştır. Dahası, farklı mantar türleri kullanılmasına rağmen aynı deneysel şartlar altında çeşitli nanopartiküller üretilmiştir. Örneğin, *Verticillium* sp. ile üretilen partiküller 100 nm'den 400 nm'ye değişen boyutlarda (Bharde *et al.* 2006) kübik-sekizgen şekiller gösterir iken, *F. oxysporum* tarafından oluşturulan manyetik nanopartiküller ise 20-50 nm boyut aralığında genel olarak yarı küresel bir morfoloji sunan düzensiz şekiller göstermektedir. Bu yüzden nanopartiküllerin şekli, her bir küf türü tarafından üretilen biyomoleküllerin türü ve konsantrasyonuna, değişen inkübasyon şartlarına, kullanılan öncü çözeltilere ve reaksiyon süresine bağlıdır (Quester *et al.* 2013).

Yapılan önceki çalışmalarda küf ekstraktı kullanarak oda sıcaklığında altın nanopartiküllerinin şeklini kontrol etmenin mümkün olduğu bulunmuş ve metalik nanopartiküllerin üretimi için *Rhizopus oryzae* kullanılarak önemli sonuçlar elde edilebileceği gösterilmiştir. Bu nanopartiküller altın iyon konsantrasyonu, çözelti pH'sı ve reaksiyon süresi gibi önemli büyüme parametreleri tarafından uyarılarak üretilmiştir (Das *et al.* 2010). Nanopartikül üretimi için bu organizmayı kullanmanın tek dezavantajı ise insanlar için potansiyel patojeniteye sahip olabilme olarak tanımlanmıştır.

Küf kültürleri tarafından üretilen nanopartiküllerin olası uygulanabilirliklerini bildiren birtakım çalışmalar, küflerin çok çeşitli ortamlarda gelişebilme potansiyellerini değerlendirmişlerdir. Gümüş nanopartiküllerini kullanarak zararlı bakteri ve fungus gibi mikroorganizmaların tek başına ya da antibiyotiklerin birleşimiyle başarılı bir şekilde inhibe edilebileceği bilinmektedir. Çeşitli fungus türleri kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal etkisi bakterilere (Birla *et al.* 2009; Jaidev and Narasimha, 2010; Musarrat *et al.* 2010; Li *et al.* 2012) ve mantar patojenlerine (Musarrat *et al.* 2010; Li *et al.* 2012) karşı ispatlanmıştır. Antibiyotiklere karşı direnç gösteren bakteriler antibiyotik ve gümüş nanopartiküllerinin bir bileşimine maruz bırakıldığında önemli bir hassasiyet göstermektedir (Birla *et al.* 2009). Örneğin, gümüş

nanopartiküllerinin sinerjistik etkisi bakterilere karşı test edilen ampisilin, kanamisin, eritromisin ve kloramfenikol ile bileşiminde artış göstermektedir (Fayaz *et al.* 2010). *Pleurotus sajor-caju* mantarı tarafından üretilen gümüş-protein (core-shell) nanopartikülleri *S. aureus* (Gram-pozitif) ve *K. pneumonia* (Gram-negatif) bakterilerine karşı bu bakterileri kuşatan kabuk gibi bir organik koruyucu tabakanın varlığına rağmen mükemmel bir antibakteriyel aktivite göstermektedir (Vigneshwaran *et al.* 2007). Yine *Aspergillus clavitus* tarafından üretilen gümüş nanopartikülleri kullanılarak metisilin dirençli *S. epidermidis* (MRSE) ve metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) türlerine karşı önemli antrimikrobiyal etkinlik elde edilmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, bu çalışmalarda test edilen nanopartiküller genel olarak test edilenlerin boyutlarına nazaran (550-650) daha büyük seçilmiş ve MRSE'yi takiben MRSA'ya karşı maksimum aktivite gözlenmiştir (Saravanan and Nanda 2010; Quester *et al.* 2013).

Benzer çalışmalarda indirgeyici ajan olarak küf kullanarak üretilen metalik nanopartiküller daha az değerlendirilmiş olduğundan literatürde örneklerine daha seyrek rastlanmaktadır. Örneğin *R. oryzae* kullanarak hazırlanan nanoaltın-biyokonjugatı *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Salmonella sp.* gibi patojenik bakteriler ve *S. cerevisiae* ve *C. albicans* gibi mayalara karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Das *et al.* 2009b). Son zamanlarda, TiO₂ nanopartiküllerinin küfler aracılığıyla biyosentezinin antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış ve elde edilen ürünlerin iyi bir antibakteriyel materyal olduğu ispatlanmıştır (Rajakumar *et al.* 2012). Küf aracılığıyla sentezlenen nanopartiküllerin gıda ve meyve korumada (Fayaz *et al.* 2009) uygulanabilirlikleri ve su hijyeninin sağlanması (Das *et al.* 2009a, 2009b) gibi diğer kullanımları da yaygın bir biçimde araştırılmıştır.

2.7.3. Bitkiler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Bitkiler ve bitki ekstraktları başarılı bir şekilde metalik nanoyapılar üretmek için farklı çevresel şartlar altında araştırılmıştır (Çizelge 2.3.). Bitki ekstraktı metalik nanopartikülleri üretmek için en yaygın olarak kullanılan ajandır. Bununla beraber, deneyler bazı durumlarda canlı bitkilerin dışarıdan metalleri absorblayabilme ve bunları

dokularında nanoyapılar şeklinde biriktirebilme yetenekleri olduğunu göstermiştir (Gardea-Torresdey *et al.* 2002, 2003; Armendariz *et al.* 2004; Bali *et al.* 2006; Harris and Bali 2008). İlk olarak test edilen ve en geniş ölçüde kullanılan bitki yonca (*Medicago Sativa*) olmuştur. Yonca ekstraktı kullanarak farklı metalik nanoyapılar çeşitli çevresel şartlar altında sentezlenmiştir. Örneğin, değişen pH altında benzer sentez protokollerinin kullanılmasıyla farklı şekil ve boyutlarda çeşitli nanopartiküller elde edilmiştir (Ascencio *et al.* 2003,2005; Canizal *et al.* 2006; Schabes-Retckiman *et al.* 2006; Herrera-Becerra *et al.* 2007).

Yonca bitkisinin yanı sıra, birtakım diğer bitkiler başarılı bir şekilde metalik nanopartiküllerin üretimi için kullanılmıştır (Çizelge 2.3.). Farklı bitkilere ait ekstraktların kullanılmasıyla en yaygın hammaddeler olan gümüş ve altından çok çeşitli boyut ve şekillere sahip nanopartikül çeşitleri üretilmiştir. Değişen çevresel şartlar ya da değişen oranlar altında bitki veya bitki ekstraktları ile metal iyonlarının inkübasyonu bazı ilginç sonuçlara da yol açmaktadır. Bazı yazarlar nanopartiküllerin boyut ve şekillerinin inkübasyon süresi, sıcaklık veya ekstrak konsantrasyonu (Cruz *et al.* 2010) tarafından önemli derecede etkilenmediğini savunurken, diğerleri ekstrakt miktarının değişiminin nanopartikül boyut ve şeklinde farklılıklara (Shankar *et al.* 2005; Kasthuri *et al.* 2009) sebep olabileceğini öne sürmektedir. Bu noktada iyonik çözeltinin farklı konsantrasyonları farklı boyutta partiküllerin de oluşmasına yol açar ve ek olarak sıcaklıktaki değişiklik oluşan nanopartiküllerin şekil ve boyutunu etkiler (Jia *et al.* 2009; Song *et al.* 2009). Yine pH değerinin değiştirilmesi emilim oranını etkiler ve bu olay nanopartikül şekil ve boyutunun değişmesi ile sonuçlanır (Philip 2010). Böylelikle, bitki ekstraktları kullanarak sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve şekli bitki türleri, reaksiyon ortamındaki metal tuzu oranı, pH, sıcaklık veya reaksiyon süresi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Ayrıca; muz (Bankar *et al.* 2010), limon (*Citrus sinensis*) (Kaviya *et al.* 2011), nar (Ahmad *et al.* 2012) gibi bitki atıkları ve şeker-elma (*Annona squamosa*) kabuğu gibi bitkisel yapılar ekstrakt hazırlamak için kullanılmış ve başarılı bir şekilde metalik nanopartiküller üretilmiştir (Quester *et al.* 2013).

Çizelge 2.3. Nanopartikül üretiminde bitkilerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Bitki Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Medicago sativa</i>	Au	Belirtilmemiş	2-40 nm
<i>Medicago sativa</i>	Ag	İkozahedral	2-20, 2-4 nm
<i>Medicago sativa</i>	Eu-Au	Küresel	2-20 nm
<i>Medicago sativa</i>	Sm	Belirtilmemiş	1-18 nm
<i>Medicago sativa</i>	Zn	Küresel	1.5-5.5 nm
<i>Medicago sativa</i>	Ti-Ni	Hekzagonal	1-4 nm
<i>Medicago sativa</i>	FeO	Kübik	3.6-12 nm
<i>Pelargonium graveolens</i>	Ag	Küresel	16-40 nm
<i>Pelargonium graveolens</i>	Au	Küresel, Üçgen	69, 23c
<i>Azadirachta indica</i>	Au	Küresel, Hekzagonal	Bildirilmemiş
<i>Azadirachta indica</i>	Ag	Küresel	5-35 nm
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Au	Üçgen, Küresel	200-500 nm
<i>Avena sativa</i>	Au	Hekzagonal	5-20, 25-85
<i>Brassica juncea</i>	Ag, Cu, Co, Ni	Küresel	<100 nm
<i>Aloe vera</i>	Au	Üçgen	50-300 nm
<i>Cinnamon camphora</i>	Au	Küresel, Üçgen	10-40 nm
<i>Camelia sinensis</i>	Au, Ag	Üçgen, Düzensiz	40 nm
<i>Black tea</i>	Au	Küresel, Üçgen	20 nm
<i>Citrus sinensis</i>	Ag	Küresel	35, 10 nm
<i>Medicago sativa</i>	Ag	Küresel	5-51 nm
<i>Pandanus odorifer</i>	Ag	Yarı Küresel	24-55 nm
<i>Punica granatum</i>	Ag	Küresel	5 nm
<i>Tribulus terrestris</i>	Ag	Küresel	16-28 nm
<i>Dioscorea bulbifera</i>	Ag	Küresel, Üçgen	8-20 nm
<i>Origanum vulgare</i>	Ag	Küresel	136 nm
<i>Cassia fistula</i>	Au	Çeşitli	55-98 nm
<i>Calotropis procera</i>	Cu	Küresel	15 nm
<i>Annona squamosa</i>	TiO ₂	Küresel	23 nm
<i>Gardenia jasminoides</i>	Pd	Küresel	4-13 nm

Bitkiler ya da bitki ekstraktları kullanarak sentezlenen metalik nanopartiküllerin olası uygulamaları tümüyle araştırılmamıştır. Fakat, bazı çalışmalarda bitki ekstraktları kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Örneğin, basit yeşil metotlar tarafından elde edilen gümüş nanopartikülleri *E. coli* (Sathishkumar *et al.* 2009; Kumar *et al.* 2012b), *S. aureus* (Govindaraju *et al.* 2010; Kumar *et al.* 2012b), *P. aeruginosa* (Govindaraju *et al.* 2010) ve içilebilir musluk suyundaki (Lukman *et al.* 2011) bakterilere karşı önemli antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Dahası bu nanopartiküllerin *C. albicans*, *C. lypoltica* (Bankar *et al.* 2010), *A. flavus* ve *A. niger*'e (Govindaraju *et al.* 2010) karşı antifungal aktivitelerinin olduğu da bildirilmiştir. Yine *Tribulus terrestris* kullanarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin antibakteriyel özelliği *S. pyogens*, *P. aureginosa*, *E. coli*, *B. subtilis* ve *S. aureus* (Gopinath *et al.* 2012) gibi klinik olarak izole edilmiş çoklu ilaç dirençli bakterilerine karşı tüm durumlarda net bir inhibisyonun görülmesiyle ispatlanmıştır. *Dioscorea bulbifera*'dan elde edilen gümüş nanopartikülleri birkaç antibiyotiğin birleşimi ile kullanılmış ve *P. aureginosa*, *E. coli* ve çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii*'ye (Ghosh *et al.* 2012) karşı güçlü bir antibakteriyel etki göstermiştir. Bununla birlikte *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermesine rağmen altın nanopartikülleri daha az araştırılan bir konu olmuştur (Kumar *et al.* 2012a; Quester *et al.* 2013).

Yakın zamanlarda, bitkiler kullanarak biyolojik olarak sentezlenen nanopartiküllerin diğer olası uygulamaları değerlendirilmiştir. Örneğin, yaprak ekstraktı tarafından sentezlenen gümüş nanopartikülleri fotokatalitik degradasyon uygulamaları (Arunachalam *et al.* 2012) için ve hematofaj parazitlerine karşı etkinlik açısından değerlendirilmiştir (Santhoshkumar *et al.* 2011; Gnanadesigan *et al.* 2011; Marimuthu *et al.* 2011; Jayaseelan *et al.* 2012; Subarani *et al.* 2013; Velayutham *et al.* 2013). Diğer bir taraftan, fonksiyonel ipliklerin gelişimi için potansiyel uygulamalara sahip olabilen greyfurt ekstraktı kullanılmış ve ipek-altın nanokompozitlerin oluşumu için basit bir protokol tanımlanmıştır (Nolasco-Arismendi *et al.* 2012). Daha güncel bir çalışmada ise, *Cassia fistula* ekstaktı tarafından sentezlenen altın nanopartiküllerinin antidiyabetik özellikler vaat ettiği ortaya konulmuştur (Daisy and Saipriya 2012). Ayrıca, bazı

çalışmalar özellikle insan hücreleri ve kanser hücreleri kullanarak yapılan toksisite testleri aracılığıyla tıptaki olası nanopartikül uygulamalarına dikkat çekmektedir. Satyavani *et al.* (2011) *Citrullus colocynthis* nasır ekstraktı tarafından sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin 500 nm'lik boyutlarda % 50'ye kadar insan epidermal gırtlak karsinomu (Hep-2) hücreleri üzerinde canlılığı azalttığını göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar gümüş nanopartiküllerinin yoğun çift iplik kırılmaları gösteren Hep-2 hücrelerinde DNA fragmentasyonu tarafından desteklenen apoptozis yoluyla hücre ölümüne neden olduğunu düşündürmektedir. Yine benzer bir çalışmada Panda *et al.* (2011) gümüş nanopartikül oluşumu için vida çamını (*Pandanus odorifer*) kullanmıştır.

2.7.4. Algler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Birkaç alg türü metal nanopartikülleri üretmek için başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Çizelge 2.4.). Yapılan araştırmalarda *Sargassum wightii* Greville biyokütlesinin Au (Singaravelu *et al.* 2007) ve Ag (Govindaraju *et al.* 2009) nanopartiküllerini sentezleyebilme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir. Mata *et al.* (2009) farklı pH değerlerinde Au nanopartikülleri üretmek için *Fucus vesiculosus* kullanmıştır. Ayrıca yeşil alg *Chlorella vulgaris* ekstraktı başarılı bir şekilde gümüş (Xie *et al.* 2007a) ve altın (Xie *et al.* 2007b) nanolevhaların sentezlenmesi için kullanılmıştır. Yine bu çalışmalarda 28 kDa ağırlıklı bir protein, yüksek verimde farklı üçgen ve altıgen şekillere sahip altın nanolevhalar üretmek için izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Günümüzde bu levhaların yanal boyutunun çözeltideki protein konsantrasyonu değişimleriyle kontrol edilebileceği bilinmektedir (Xie *et al.* 2007b; Quester *et al.* 2013).

Çizelge 2.4. Nanopartikül üretiminde alglerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Alg Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Sargassum wightii</i>	Au	Belirtilmemiş	8-12 nm
<i>Sargassum wightii</i>	Ag	Küresel	8-27 nm
<i>Fucus vesiculosus</i>	Au	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Chlorella vulgaris</i>	Ag	Disk, Üçgen	44, 24-26 nm
<i>Chlorella vulgaris</i>	Au	Hekzagonal	1-1,5 nm
<i>Urospora sp.</i>	Ag	Küresel	20-30 nm
<i>Euglena gracilis</i>	Fh2L	Küresel	0.6-1.0
<i>Sargassum myriocystum</i>	Au	Üçgen ve Küresel	15 nm

Alg türleri kullanarak sentezlenen nanoaprtiküllerin potansiyel kullanılabilirliğine gelince, ne yazık ki alg kullanarak elde edilen nanopartiküllerin kullanımına odaklanmış deneysel çalışmalar oldukça nadirdir. Literatür verilerine göre sadece birkaç raporda Ag nanopartiküllerinin antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Bu araştırmalarda Ag nanopartiküllerinin çeşitli bakteri türlerine (Suriya *et al.* 2012) karşı antibakteriyel özellik gösterdiği bulunmuştur. Dahası, *S. wightii* tarafından sentezlenen Ag nanopartiküllerinin kimyasal olarak sentezlenen Ag nanopartiküllerinden daha etkili antibakteriyel etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (Quester *et al.* 2013).

2.7.5. Aktinomisetler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Aktinomisetler ince filamentler oluşturabilen gram-pozitif bakterilerdir. Mantarlarda bulunan filamentlerle benzer şekillerde olan bu filamentsi mikroorganizmalardan bazıları iyi bilinen antibiyotikler gibi önemli sekonder metabolit üreticileri olarak bilinmektedir. Öte yandan aktinomisetlerin sahip olduğu bu karakteristiksel filamentsi yapı onları metal iyonları ve nanopartikülleri üretme yeteneklerini araştırmak için mükemmel bir aday haline getirmektedir. Buna rağmen günümüze kadar çok az tür indirgeyici ajanlar olarak metalik nanopartiküllerin üretiminin kullanımı için araştırılmıştır (Çizelge 2.5.). Nanopartikül üretmek için uygun bir aday olarak

düşünülen ilk aktinomiset türü çok çeşitli çevresel şartlarda yaşayabilme kabiliyetinden dolayı *Thermonospora sp.* olmuştur. Bu aktinomiset türü Hindistan'ın Uttar Pradesh bölgesindeki kendiliğinden ısınan gübreden izole edilmiştir. Bu organizma biyokütlesinin 10^{-3} M kloroaurik asit ile muamele edilmesi sonucunda ekstraselüler olarak üretilen partiküllerin temel olarak küresel ve tekil dağılımlı bir görünüme sahip olduğu gözlenmiştir. Bu partiküllerin bazılarının 9-10 nm aralığında, çok az bir kısmı da 7-12 nm boyut aralığına sahip olduğu, ortalama partikül boyutunun ise yaklaşık 8 nm olduğu belirlenmiştir (Ahmad *et al.* 2003a). Bir diğer çalışmada alkalitolerant aktinomiset *Rhodococcus sp.* ile intraselüler olarak altın nanopartikülleri sentezlenebilmiştir. Bu çalışmada altın nanopartikülleri, genellikle hücre duvarından daha yoğun oldukları yer olan sitoplazmik membranın yanı sıra hücre duvarında da sentezlenebilmiştir. Son derece yoğun partiküller temelde ortalama olarak yaklaşık 9 nm boyutunda küresel şekil göstermiş fakat bazı partiküllerin 10-12 nm ve çok küçük bir kısmının da 5, 14 ve 16 nm yarıçapında olduğu bulunmuştur (Ahmad *et al.* 2003b).

Çizelge 2.5. Nanopartikül üretiminde aktinomisetlerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Aktinomiset Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Rhodococcus sp.</i>	Au	Küresel	5 – 15 nm
<i>Thermomonospora sp.</i>	Au	Küresel	7 – 12 nm
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Cu	Halka	5, 10 – 20 nm
<i>Brevibacterium casei</i>	Co ₃ O ₄	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş
<i>Brevibacterium casei</i>	Au	Küresel	10 – 50 nm
<i>Brevibacterium casei</i>	Ag	Küresel	10 – 50 nm
<i>Brevibacterium casei</i>	Ag	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Ag	Küresel	20 – 30 nm
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Au	Farklı şekiller	Farklı boyutlar
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	Ag	Küresel	10–40 nm

Ayrıca, Aktinomisetler kullanarak nanopartikül oluşumunu optimize etmek için çeşitli çalışmalarda yapılmıştır. Wörner *et al.* (2007) *Mycobacterium smegmatis*'ten elde edilen porin MspA'yı yeniden yapılandırmış ve bu porinlerin kullanımıyla nanoyapılar üretmişlerdir. Bu çalışmada porin MspA altın üzerine özel olarak tasarlanmış uzun zincirli tek tabaka yağ yüzey içerisine yeniden inşa edilmiştir. Bu elektrotlar ile bakır(II)'nin elektrokimyasal indirgenmesi aracılığıyla MspA nanoporlar içinde bakır nanopartiküllerinin oluşumu sağlanmıştır. Nanopartiküllerin yaklaşık 5 nm MspA por açıklığına karşılık gelen maksimum 4 ± 2 nm boyutlarında olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan bazı daha büyük partiküller (10-20 nm) de oluşmuş ve bu prosedürün daha iyi optimize edilmesi gerektiğini gösteren mantar "mushroom" adlı bazı nanoyapılar gözlenmiştir (Quester *et al.* 2013).

Kiran *et al.* (2010)'da *B. casei* MSA19'dan üretilen bir glikolipit biyoyüzey vasıtasıyla gümüş nanopartikülleri sentezlemiştir. Bu glikolipit biyoyüzey katı fermentasyon ve substrat olarak yağlı tohum küspesi, karbon kaynağı olarak glukoz, nitrojen kaynağı olarak sığır ekstraktı, metal öncü çözeltisi olarak $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve 7 pH ve 30°C 'de %2 NaCl gibi optimize edilen üretim şartları altında üretilmiştir. Böylece bir dengeleyici olarak glikolipid kullanarak ters misellerde nanoölçekli gümüş sentezlenebileceği bulunmuştur. Ayrıca bu çalışma biyoyüzeylerin çoğunlukla şeker ve yağ asidi kısımlarından oluşan mikrobiyal kaynaklardan türetilen doğal yüzeyler olduğunu göstermiş ve bu yüzden daha yüksek biyoçözünürlük, daha düşük toksisite ve mükemmel biyolojik aktivitelere sahip nanomateryallerin elde edilebileceğini ortaya koymuştur.

Bunlara ilaveten, bazı çalışmalar aktinomisetler tarafından oluşturulan nanopartiküllerin biyolojik aktivitelerini de özellikle vurgulamıştır. Bu çalışmalarda nispeten benzer yarıçapta küresel şekilli biyosentezlenmiş gümüş ve altın nanopartikülleri *B. casei* kullanarak elde edilmiş ve üretilen nanopartiküller kararlı anti-koagülatif etkileri üzerine biyolojik aktiviteleri için test edilmiştir (Khalishwaralal *et al.* 2010a). Ayrıca *Streptomyces* sp. kullanarak sentezlenen gümüş (Sadhasivam *et al.* 2010; Prakasham *et al.* 2012) ve altın (Sadhasivam *et al.* 2012) nanopartikülleri antimikrobiyal aktiviteleri

için test edilmiş ve tıbbi açıdan önemli patojenik bakteri ve maya türlerine karşı bu nanopartiküllerin büyümeyi durdurucu etkinliklerinin olduğu gözlenmiştir.

2.7.6. Bakteriler kullanılarak nanopartiküllerin üretimi

Bakteriler dünyada en yaygın bulunan mikroorganizmalardır. Bu canlılar boyut, şekil ve enerji kazanma yöntemleri yönünden ve yüksek ya da düşük sıcaklık, asidite, alkalinite ve tuz ya da sülfür konsantrasyonuna sahip çevre şartlarını içeren her türlü habitatta yaşamaları bakımından oldukça fazla çeşitlilik gösteren prokaryotik mikroorganizmalardır. Nanobiyoteknoloji çalışmalarında kullanılacak bakteri türlerinin önemli bir kısmını zorlu çevresel etmenlerde yaşayan türlerin oluşturduğu bilinmektedir. Ekstremofiller olarak da anılan ve oldukça uç çevresel şartlara sahip (ekstrem) habitatlarda yaşayan bu organizmalar, kolaylıkla büyümeye ve çoğalmaya çok iyi adapte olmuşlardır. Bunlardan bazı bakteri türlerinin yabancı metal iyonları ya da metal toksisitesi gibi stresleri bastırmak için spesifik savunma mekanizmalarına başvurma yeteneği geliştirdiği bilinmektedir (Quester *et al.* 2013).

Hatta bu organizmaların bazıları çok yüksek metal iyon konsantrasyonlarında bile yaşayabilir ve büyüyebilir. *Pseudomonas stutzeri* gibi türler gümüş bakımından zengin topraklarda yaşarken (Haefeli *et al.* 1984) *Pseudomonas aeruginosa* gibi diğer türler de bu gümüş metale karşı direnç geliştirmişlerdir (Bridges *et al.* 1979). Ayrıca hücre içi manyetik nanopartiküllerin sentezlendiği manyetotaktik bakteriler gibi inorganik materyaller sentezleyebilen bakteri örnekleri de vardır (Lovley *et al.* 1987; Spring and Schleifer 1995). Sonuç olarak, çok sayıda bakteri türü metalik nanopartiküllerin üretiminde alternatif metotlar araştırmak için nanobiyoteknolojide kullanılmıştır (Çizelge 2.6.). Bu alanda bakterilerin metal iyonlarını indirgeme yeteneklerini araştırmak için yapılan çalışmaların çoğunda canlı hücreler kullanılmıştır. Ancak bu prosedürü kullanmanın beraberinde getireceği dezavantaj olan biyokütle fazlalığından kurtulma zorunluluğu göz ardı edilmemelidir. Bu yüzden güncel çalışmalarda metalik nanopartiküllerin biyosentezi için uygun bir alternatif olan hücre özütlerinin kullanılmasına başlanmıştır (Quester *et al.* 2013).

Çizelge 2.6. Nanopartikül üretiminde bakterilerin kullanılması üzerine çalışma örnekleri (Quester *et al.* 2013).

Bakteri Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Ag	Üçgen ve Hekzagonal	200 nm
<i>Actinobacter spp.</i>	Fe ₃ O ₄	Küresel ve Kübik	10-40, 50-150 nm
<i>Actinobacter spp.</i>	γ-Fe ₂ O ₃	Agregat	50 nm
<i>Actinobacter spp.</i>	Fe ₃ S ₄	Belirtilmemiş	19 nm
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZnS	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Shewanella oneidensis</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Shewanella oneidensis</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Shewanella oneidensis</i>	UO ₂	Agregat	1-5 nm
<i>Shewanella oneidensis</i>	Ag	Küresel	4 ± 1.5 nm
<i>Shewanella oneidensis</i>	Au	Küresel	12 ± 5 nm
<i>Shewanella algae</i>	Pt	Belirtilmemiş	5 nm
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	Fe ₃ O ₄	Oktoedral	> 35 nm
<i>Bacillus sphaericus</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Plectonema boryanum</i>	Au	Kübik,düzensiz,oktoedral	10–25, <10, 10–25 nm
<i>Plectonema boryanum</i>	Pt	Küresel	30 nm – 0,3µm
<i>Plectonema boryanum</i>	Ag	Küresel,oktoedral levha	< 10, 1-200
<i>Plectonema boryanum</i>	Pd	Küresel,uzamış	≤ 30 nm
<i>Shewanella sp.</i>	Se	Küresel	181, 164, 68, 50
<i>Shewanella sp.</i>	Fe ₃ O ₄	Küresel benzeri	26 – 38 nm
<i>Shewanella loiha</i>	Fe ₃ O ₄	Kümelenmiş	20 – 40 nm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Au	Küresel benzeri	40, 25, 15 nm
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	β-FeOOH	Çubuksu	200 L, 5 W
<i>Aeromonas sp.</i>	Ag	Küme	20 nm

Çizelge 2.6. (devam)

Bakteri Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Escherichia coli</i>	Au	Küre	5–50, < 10 nm
<i>Escherichia coli</i>	CdS	Belirtilmemiş	2-6, 3-4 nm
<i>Escherichia coli</i>	Ag	Küresel	42-89, 10-15
<i>Escherichia coli</i>	CdS	Belirtilmemiş	2 – 5 nm
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Au	Küre	5-50,<10 nm
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Au	Belirtilmemiş	20 – 50 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	MxFe _{1-x} OOH (M = Zn, Co, Mn and Ni)	Belirtilmemiş	25, 51, 53, 75
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Fe ₃ O ₄	Belirtilmemiş	75.8 ± 5.1
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Zn _{0.6} Fe _{2.4} O ₄	Belirtilmemiş	13 ± 0,8
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Zn _{0.3} Fe _{2.7} O ₄	Belirtilmemiş	28,4 ± < 0,1
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Co _{0.3} Fe _{2.7} O ₄	Belirtilmemiş	33,9 ± 3,1
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Ni _{0.3} Fe _{2.7} O ₄	Belirtilmemiş	35,7 ± 5,6
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Mn _{0.6} Fe _{2.4} O ₄	Belirtilmemiş	18 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Cr _{0.15} Fe _{2.85} O ₄	Belirtilmemiş	40 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Nd _{0.06} Fe _{2.94} O ₄	Belirtilmemiş	14 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Gd _{0.06} Fe _{2.94} O ₄	Belirtilmemiş	23 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Ho _{0.06} Fe _{2.94} O ₄	Belirtilmemiş	30 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Er _{0.06} Fe _{2.94} O ₄	Belirtilmemiş	32 nm
<i>Thermoanaerobacter sp.</i>	Tb _{0.06} Fe _{2.94} O ₄	Belirtilmemiş	36 nm
<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Au	Nanotel	50 – 60 nm

Çizelge 2.6. (devam)

Bakteri Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Ag	Belirtilmemiş	30 nm
<i>Desulfovibrio fructosivorans</i>	Pd	Küme	Belirtilmemiş
<i>Anaeromyxobacter</i>	UO ₂	Belirtilmemiş	50 nm
<i>Bacillus licheniformis</i>	Ag	Belirtilmemiş	50 nm
<i>Bacillus licheniformis</i>	Au	Küp	10 – 100 nm
<i>Bacillus licheniformis</i>	Ag	Belirtilmemiş	50 nm
<i>Bacillus licheniformis</i>	Au	Belirtilmemiş	10 – 50 nm
<i>HEN-Qn1 strains</i>	CaCO ₃	Çubuk, küre	35–135, 210 nm
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	CdS	Küresel	8.01 ± 0.25
<i>Proteus mirabilis</i>	Ag	Küresel	10 - 20 nm
<i>Bacillus cereus</i>	Ag	Küresel	4 - 5 nm
<i>Bacillus cereus</i>	ZnO	Kümelenmiş	20 - 30,25 nm
<i>Morganella sp.</i>	Ag	Küresel	20 ± 5 nm
<i>Morganella psychrotolerans</i>	Ag	Levha	150 – 450 nm
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ag	Küme	160 – 180 nm
<i>Cupriavidus metallidurans</i>	Au	Belirtilmemiş	100 nm
<i>Cupriavidus metallidurans</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Lactobacillus sp.</i>	TiO ₂	Küresel biçimde	24.63 ± 0.32
<i>Lactobacillus sp.</i>	CdS	Küresel biçimde	4.93 ± 0.23
<i>Cupriavidus necator</i>	Pd	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş
<i>Cupriavidus necator</i>	Pd	Kümelenmiş, düzensiz	3 - 30 nm
<i>Lactobacillus sp.</i>	Ag	Farklı şekiller	15 – 25 nm
<i>Lactobacillus sp.</i>	TiO ₂	Farklı şekiller	15–70 nm
<i>Lactobacillus sp.</i>	Ag	Farklı şekiller	10–15 nm
<i>Lactobacillus sp.</i>	TiO ₂	Farklı şekiller	10–25 nm

Çizelge 2.6. (devam)

Bakteri Türü	Nanopartikül	Şekil	Boyut
<i>Bacillus subtilis</i>	Au	Küresel	7.6 ± 1.8, 7.3 ± 2.3
<i>Bacillus subtilis</i>	Ag	Küresel	6.1 ± 1.6
<i>Bacillus subtilis</i>	TiO ₂	Küresel	10–30 nm
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Ag	Değişken	15 nm
<i>Pseudomonas putida</i>	Pd	Kümelenmiş, düzensiz	3 – 30 nm
<i>Paracoccus denitrificans</i>	Pd	Kümelenmiş, düzensiz	3 – 30 nm
<i>Enterobacter sp.</i>	Hg	Küresel	2 – 5 nm

Bu alandaki çalışmalar bazı bakterilerin metal iyonlarını indirgediğini ve bunları hücre içerisinde nanopartiküller olarak çöktürdüğünü, bazı bakterilerin ise hem hücre içinde hem de hücre dışında nanopartikül sentezleyebildiğini göstermiştir. Oldukça nadir olsa da birkaç güncel çalışmada ise nanopartiküllerin belirli bir bölge ve hücre organelleri ile ilişkilendirilmesi yapılabilirse, bu bilgilerin kullanılmasıyla biyolojik metotların daha iyi optimize edilebileceği fikrine dikkat çekilmiştir. Bu çerçevede *P. stutzeri*, metalik nanopartiküllerin üretimi için ilk araştırılan bakteri örneklerinden birisi olmuştur (Klaus *et al.* 1999). *P. stutzeri*'nin hücre kısımlarının mikroskopik görüntüsü gümüş temelli kristal nanopartiküllerin hücre içerisinde yoğun olarak hücre kutuplarında olacak şekilde yerleştiğini göstermiştir. Bununla beraber gümüş partikülleri ayrıca hücre içerisindeki diğer bölgelerde de birikmiş ve gümüş içeren kristallerin periplazmik boşluktaki bakteriyel organik matrikse gömüldüğü gözlenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda bu partiküllerin boyutlarının 200 nm'ye kadar olabileceği belirlenmiştir. Benzer nitelikteki diğer çalışmalarda ise metalik nanopartiküllerin bakteriyel hücre duvarında (De Windt *et al.* 2005; Lengke *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2007; Chen *et al.* 2009; Sinha and Khare 2011) ve hücre yüzeyinde de (De Windt *et al.* 2005, 2006; Lengke *et al.* 2006; Marshall *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2007; Lee *et al.* 2007; Lengke *et al.* 2007; Deplanche and Macaskie 2008; Law *et al.* 2008; Gauthier *et al.* 2010; Bunge *et al.* 2010) sentezlenebileceği bildirilmiştir.

İndirgeyici bir ajan olarak kullanılan bakteri türlerinden bağımsız olarak, elde edilen sentezlenmiş nanopartiküllerin birçoğu boyutsal açıdan çok dağılımlı bir şekil göstermektedir. Buna karşın bazı çalışmalarda fotosentetik bir bakteri olan *Rhodospseudomonas palustris* kullanarak başarılı bir şekilde 6-11 nm boyutunda kadmiyum sülfid (CdS) nanopartiküllerinin üretilmesindeki gibi daha dar bir partikül boyut aralığı elde edilebileceğine dair umut vaat eden sonuçlar bildirmiştir (Bai *et al.* 2009).

Sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve şeklini kontrol ya da optimize etmeye çalışan çalışmalar, değişen sıcaklık ve pH, değişen inkubasyon süresi ya da öncü metal konsantrasyonu gibi farklı çevresel şartlarda inkubasyon deneyleri bildirmişlerdir. Bunlardan bazılarında belirli sıcaklıklarda daha iyi çalışan protokoller kullanarak daha iyi verim alınabileceği (Zhang *et al.* 2007; Lee *et al.* 2007; Lengke *et al.* 2007; Ramanathan *et al.* 2011) bazılarında ise değişen pH'da üretilen partiküllerin sayısı ve boyutuna yönelik spesifik pH değerlerinde daha iyi sonuçların alınabileceği açıkça gösterilmiştir (Deplanche and Macaskie 2008; Sinha and Khare 2011).

Örneğin sıcaklık değişiklikleri farklı boyutlara sahip partiküllerin yanı sıra küresel nanopartiküller ile birlikte üçgen ve altıgen nanolevhaların (nanoplate) oranlarını da değiştirerek çeşitli boyutlara ve şekillere sahip partiküllerin üretimine yol açabilir (Ramanathan *et al.* 2011). Benzer olanaklar sunan değişken birkaç parametrenin kullanılması avantajlı bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım farklı boyutlarda nanopartiküllerin elde edilmesini sağlamanın yanı sıra reaksiyon hızını da arttırabilmesi ile önem arz etmektedir (Gurunathan *et al.* 2009).

İntraselüler (hücre içi) biyosentez ile kıyaslandığında, indirgeyici ajan olarak yalnızca bakteriyel süpernatantı kullanarak metalik nanopartiküllerin sentezlenmesi odaklı çalışmaların daha avantajlı olduğu açıktır. Bu noktada bakteri içerisinde oluşan nanopartiküllerin elde edilmesinde ultrason uygulamalarına ya da deterjanlar ile yapılan reaksiyonlar gibi ilave basamaklara gerek duyulmaktadır. Buna karşın bakteriyel süpernatant ile yapılan çalışmalar sonucunda üretilen nanopartiküller çok daha ılımlı

koşullarda ve kolayca elde edilebilirler. Bakteriyel süpernatant kullanarak yapılan ilk çalışmalardan birinde üç *P. aeruginosa* türünün hücresiz süpernatantı kullanılarak başarılı bir şekilde sırasıyla 40±10, 25±15 ve 15±5 nm boyutlarında altın nanopartiküllerinin üretilebildiği rapor edilmiştir (Husseiny *et al.* 2007). Üretilen bu nanopartiküllerin partikül boyutundaki değişkenliğin türler arasındaki farktan kaynaklandığı gözlenmiş ancak bu farkların olası nedenleri kesin olarak açıklanamamıştır.

Yine literatürde sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve şekillerinin kontrolünü optimize etmek için bakteriyel süpernatantı, metalik öncü madde çözeltisini ve inkübasyon şartlarını belirlemeye yönelik çeşitli protokoller vardır. Örneğin bu çalışmalarda, gümüş nanopartikülleri *E. coli*'nin süpernatantı kullanılarak sentezlenmiş ve elde edilen partikül boyutu sıcaklık, pH ve gümüş nitrat (AgNO_3) gibi parametrelerin değiştirilmesiyle kontrol edilebilmiştir (Gurunathan *et al.* 2009).

Partikül oluşumunu etkileyen bir diğer önemli faktörün ise inkübasyon süresi olduğu bilinmektedir. Literatürdeki çeşitli çalışmaların bazılarında farklı zaman aralıklarında metalik nanopartiküller üretmek için çeşitli bakteri türleri kullanırken, diğer bazı çalışmalarda ise partikül oluşumunu hızlandırmak için değişen inkübasyon protokollerinin kullanıldığı görülmektedir. Bu süreçler reaksiyonun başlangıcından sonra birkaç saniyeden birkaç saat hatta birkaç güne kadar olan inkübasyon sürelerini kapsamaktadır. Örneğin nanoboyutta elementel gümüş nanopartikülleri inkübasyondan 7 gün sonra *B. subtilis* tarafından hücre dışı ortamda oluşturulabilir (Reddy *et al.* 2010). Ayrıca *Geobacter sulfurreducens* kullanarak gümüş nanopartiküllerinin hücre dışı ortamda saniyeler içinde oluşturulabileceği de bilinmektedir (Law *et al.* 2008).

Son zamanlarda bakteriler aracılığıyla metal nanopartikül üretimini optimize etmek için, genetiksel olarak düzenlenmiş mikroorganizmalar protein sentezini artırmak ve daha iyi indirgeyici ajanlar açığa çıkarmak için geliştirilmiştir. Genel olarak, genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaların doğal türlerden daha etkili oldukları kanısı benimsenmektedir. Bu yaklaşım için ilk yapılan çalışmalarda *Saccharomyces pombe*

türünden elde edilen PC sentetaz gen bölgesi *E. coli* bakteri ırklarına aktarılmış ve bu bakterilerde aktarılan genin ekspresyonu sağlanarak CdS nanokristallerinin kontrollü biyosentezi başarılmıştır (Kang *et al.* 2008; Quester *et al.* 2013).

Benzer şekilde bir diğer çalışmada ise *Bacillus liceniformis*'in bir türü altın nanopartiküllerinin yeşil biyosentezi için α -amilaz üretimini yapabilecek şekilde modifiye edilmiştir. Daha sonra genetiği değiştirilmiş olan *B. liceniformis*'in kültür süpernatantı altın iyonlarının biyoindirgenmesi için kullanılmış ve TEM analizleri sonucunda elde edilen pariküllerin boyutlarının 10–50 nm arasında değişkenlik gösterdiği gözlenmiştir (Khaliswaralal *et al.* 2010b).

Rekombinant bakteriyel türler ayrıca çeşitli metalik nanopartiküllerin hücre içi sentezi için daha etkin yöntemlerin geliştirilebilmesi için de araştırılmıştır. *Arabidopsis thaliana* phytochelatin synthase (AtPCS) ya da *Pseudomonas putida* metallothionein (PpMT) genlerini ifade eden *E. coli* türleri yarıiletken (Cd, Se, Zn, Te), toprak alkali (Cs, Sr), manyetik (Fe, Co, Ni, Mn), soy (Au, Ag) metaller ve nadir toprak florürler gibi çeşitli metallerin sentezi için kullanılmıştır. Bu çalışmalarda ortama katılan metal iyonlarının konsantrasyonunun değiştirilmesinin metal nanopartiküllerinin boyutunun kontrolüne yol açabildiği gözlenmiştir. Bu veriler ışığında geliştirilen rekombinant *E. coli* sistemlerinin metalik nanopartiküllerin üretimi için kullanılabilir özelliklere sahip olabileceği sonucuna varılabilir. Uygun metal iyonları ile inkübe edilen AtPCS ya da PMT ifade eden rekombinant *E. coli* hücreleri tarafından hücre içinde sentezlenen çeşitli yarıiletken nanopartiküllerin TEM görüntüleri de gösterilmiştir (Park *et al.* 2010).

Yine konuyla ilgili daha önceki çalışmalarda bazı mutant bakteri türlerinin biyoindirgenme süreçlerini içeren molekülleri aydınlatmaya yardım edebilmek amacıyla metal nanopartiküllerin biyosentezi için kullanıldığı da bilinmektedir. Örneğin; [NiFe]-hidrojenazın bir ya da daha fazla birimi yönünden eksik olan üç *E. coli* mutanı ana türler ile karşılaştırıldığında, hücrelerdeki Pd(0) birikiminin değişik şekiller sergilediği ortaya çıkmıştır. Mutant türler Pd(II)'nin biyoyıkımı aracılığı ile yüksek katalitik özelliğe sahip Pd nanopartikülleri üretir. Hidrojenaz yönünden eksik mutantların bu özel

durumu, Pd(0) birikiminin kalan aktif hidrojenazın hücre içi yerleşimi ile uyumlu olduğunu ve üç hidrojenaz biriminin canlı içinde Pd(II) biyoyıkımına katkı sağlayabildiğini göstermiştir (Deplanche *et al.* 2010). Ayrıca *Desulfovibrio fructosivorans*'ın doğal tipi ve hidrojenaz bakımından eksik türleri Pd(II)'nin Pd(0)'a yıkımı için kullanılmıştır. Paladyum'un lokalizasyonu bu enzimin bir çekirdeklenme yeri olduğunu ve muhtemelen Pd(II)'nin indirgenmesi için elektronlar sağlayarak ilk Pd nanopartikül büyümesine yardım ettiğini gösteren hidrojenazın lokalizasyonu ile uygunluk göstermektedir (Mikheenko *et al.* 2008). Bazı çalışmalarda nitrat redüktaz enzimi sentezleyebilen bakteriyel türlerle gümüş iyonlarının indirgenebileceği öne sürülmüş ve gerçekten de *B. licheniformis*'de nitrat redüktaz aktivitesinin düzenlenmesi ile gümüş nanopartiküllerinin sentezlenebileceği gösterilmiştir (Kalimuthu *et al.* 2008; Gurunathan *et al.* 2009; Vaidyanathan *et al.* 2010).

Öte yandan genetiği değiştirilmiş organizmaların yapılarına katılan yeni genlerin kabulünde ve ekspresyonunda sıklıkla karşılaşılan sorunlar, başarıyla aktarılan genlerin bile çoğu zaman kısa hayat döngülerine sahip mikroorganizmalarda nesiller boyunca aktarılamaması ve bu organizmaların kullanılmasının doğaya zarar verebileceğine ilişkin toplum ve bilimsel çevrelerdeki artan kaygılar, nanopartiküllerin biyosentezinde de kullanılabilir daha pratik, sürdürülebilir ve güvenli metotların araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Bu noktada özellikle çeşitli habitatlardan izole edilen doğal bakterilerin nanopartikül üretiminde kullanılması yaklaşımı halen en çok ilgi çeken araştırma konularında biri olarak görülmektedir. Bu konsept için *Thermoanaerobacter sp.* ve Tor-39 kullanılarak yapılan bakteriyel fermentasyon deneyi ile 30 litre hacimli ortamda yaklaşık 1 kg (yaş ağırlık) manyetik çinko nanopartikülünün üretilebilmesi oldukça iyi bir örnektir (Moon *et al.* 2010; Quester *et al.* 2013).

Yukarıda önemli örnekleri özetlenmiş olan çalışmaların yanı sıra literatürde yer alan çok sayıdaki araştırma, nanoteknoloji uygulamalarının en önemli bileşenlerinden birisi olan nanopartikül ve nanomalzemelerin daha çevreci, ekonomik ve kontrollü üretimine olanak sağlayacak teknolojilerin geliştirilmesinde nanobiyoteknolojik uygulamaların ve

bu uygulamaların yakın gelecekte hayata geçirilebilmesi için de özellikle bakterilerin eşsiz potansiyellerine dikkat çekmektedir.

2.8. ZnO Nanopartiküllerinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları

Oksidatif stres oluşumunun önemli bir kaynağı olan metaller, biyolojik sistemlerde önemli bir yere sahiptirler. Metal oksit nanopartiküllerinin sahip olduğu küçük boyutlar ve geniş spesifik yüzey alanı gibi özellikler metalik nanopartiküllere yüksek kimyasal reaksiyona girme isteği kazandırmakta ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan içsel bir toksisiteye sebep olmaktadır. Bu sebepten dolayı son zamanlarda gerçekleştirilen nanotoksosite çalışmalarının çoğu nanoboyutlu metal oksit nanopartiküller üzerine yoğunlaşmıştır (Wang *et al.* 2007; Işık 2010).

Metal oksit nanopartiküllerin kimyasal olarak kararsızlaştırılmasıyla birleşen toksik mekanizmalar; çözeltilerdeki metallerin doğrudan salınımı, metalik nanoparçacıkların katalitik özellikleri ve proteinlerin oksidasyonunu gerçekleştiren yüzey redoks gelişimi yollarıyla reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturur ve oksidatif stresi tetikler (Limbach *et al.* 2005; Nel *et al.* 2006; Işık 2010).

Önemli inorganik metalik nanopartiküllerden olan silisyum dioksit (SiO₂), titanyum dioksit (TiO₂) ve çinko oksit (ZnO) gibi nanopartiküller ticari olarak önemli oranda kullanılan ürünlerdendir. Birçok farklı endüstriyel uygulamalara sahip olan metal oksit nanopartikülleri yaygın olarak elektronik, eczacılık, tıp, kozmetik ve kimya alanlarındaki çeşitli uygulamalar için kullanılır (Işık 2010).

Memeli organizmalar için önemli eser elementlerden biri olan çinko, hemoostaziye sağlamada, immun cevap mekanizmasında, oksidatif stres olaylarında ve yaşlanma sürecindeki rollerinden dolayı ayrı bir öneme sahiptir (Stefanidou *et al.* 2005). Bunların yanı sıra çinko, memeli androjen reseptörleri, DNA tamir enzimleri ve DNA veya RNA sentezi, kararlılığı, çoğalması ve transkripsiyonunun gerçekleşmesi için elzem olan bileşiklerdendir (Urnov *et al.* 2005).

Çinko oksit, ZnO formülü ile ifade edilen kimyasal bir bileşiktir. Su içerisinde tam olarak çözünemezken, asit ve baz çözeltileri içerisinde çözünebilme özelliğine sahiptir. Çinko oksit, nanoteknoloji için önemli olan unsurlardan piezoelektrik, yarı iletken ve optik özellikleri bir arada barındırabilen ender malzemelerden biridir (Işık 2010).

Nanoboyuttaki ZnO; partikül, çubuk, tel, tüp, kafes, duvar ve yüzük gibi farklı boyut ve şekile sahip nanoyapılardan oluşmaktadır. ZnO nanopartikülleri eşsiz fotokatalitik, elektronik, optik, dermatolojik ve antibakteriyel özelliklerinden dolayı bilimsel dünyada büyük bir popülerite kazanmış durumdadır ve fotokatalizde, kimyasal sensörlerde, hafıza dirençlerinde ve fotovoltalıklarında kullanılmaktadırlar. Bunlara ilaveten, bir boyutlu ZnO nanopartikülleri, geniş enerji bant aralığı (3.37 eV), geniş eksiton bağlanma enerjisi (60 meV) ve yüksek yüzey-hacim oranı özelliklerinden dolayı ultraviyole bölgedeki potansiyel fotonik materyallerden biri olarak tanımlanmaktadır (Kundu *et al.* 2014).

ZnO nanotozları, plastik, seramik, cam, çimento, lastik, yağ, boya, pigment, gıda, pil, yangın geciktirici, kişisel bakım ürünlerini içeren ürünlerde ticari olarak kullanılmaktadır (Ma *et al.* 2012; Kundu *et al.* 2014). ZnO nanopartiküllerinin avantajlı elektronik ve optoelektronik özellikleri, UV detektörleri, transparan kondüktif filmler, gaz sensörleri, solar hücreleri, güneş kremleri ve birçok yeni kozmetik ürünlerin yapısına katılmasına olanak sağlamış ve bu durum son zamanlarda ZnO nanopartiküllerinin büyük bir ilgi odağı haline gelmesine önemli bir katkı sağlamıştır (Ramakrishna and Ghosh 2003; Ding and Wang 2004; Zhu *et al.* 2005). Üstün optik ve kimyasal özelliklerinden dolayı çinko oksit nanopartikülü antialerjik, kaşıntı önleyici, kızarıklık önleyici ve güneşin zararlı ışınlarından koruyucu özelliklere sahiptir. Bu sebeplerden dolayı, günlük hayatta sıklıkla kullandığımız nemlendiriciler, güneş kremleri, bebek pudraları gibi vücudumuza temas eden yapıların içerisinde yaygın olarak kullanılan malzemelerdendir. Bu kullanımlarının yanı sıra çinko oksit nanopartikülleri kimyasal tepkimeler sonucu oluşan zararlı kimyasalları etkisiz hale getirmek suretiyle kirli suları temizlemek, kimyasal savaş ajanlarını ve gübreleme

sonrasında toprakta kalan kimyasalları etkisiz hale getirmek, toprağı ve bitkiyi kimyasallardan temizlemek gibi çeşitli amaçlar için de kullanılabilir (Işık 2010).

Tüm bu önemli özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, ZnO nanopartiküllerinin daha çevreci, ekonomik ve kontrollü üretimine odaklanmış araştırmaların gelecekteki nanoteknoloji trendlerine yön vereceğı ve bu araştırmaların gerçekleştirilmesi için kullanılacak yöntemlerin daha iyi anlaşılmasının ve uygulanmasının gerekliliğı açıkça görülmektedir.

2.9. Nanoteknoloji Araştırmalarında Kullanılan Bazı Temel Yöntem ve Cihazlar

Nanoteknolojide önemli bir yere sahip olan nanomalzeme ve nanoyapıları incelemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda klasik mikroskoplar yerine çok daha karmaşık ve güçlü cihazlar kullanılmaktadır (Özer 2008).

Normal ışık mikroskopları moleküler düzeyde görüntüleme yapmak için yeterli güce sahip değildir. Işık mikroskopları maddelerin boyutlarını 1000 kata kadar büyütmede ve beyaz ışık varlığında en fazla 200 nm küçüklüğündeki objelerin görüntülenmesine olanak sağlamaktadır. Nanoyapılar ve nanomalzemeler üzerinde çalışan bilim insanları maddelerin analiz ve karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla elektron mikroskoplarını kullanmaktadırlar (Özer 2008).

Nanoteknolojik ürünlerin karakterizasyonunda kullanılan cihazlar elektron mikroskopları ve taramalı uç mikroskopları olarak başlıca iki ana sınıfa ayrılabilir (Özer 2008).

2.9.1. Elektron mikroskopları

Elektron mikroskoplarının çalışma prensibi malzeme yüzeyine gönderilen bir elektron demetinin saçılan elektron ve ışın demetinin analiz edilmesine dayanmaktadır.

Malzemelerin analiz edilmesine imkan sağlayacak şekilde saçılan bu ışınlar ve elektronlar farklı sınıflara ayrılabilir. X-ışınları ve Auger elektronları bize malzeme atomlarının bileşimi hakkında bilgi verirken, katot ışınları ise bizi malzeme atomlarının yapısı hakkında bilgilendirir. Yine benzer şekilde birincil ve ikincil geri saçılan elektronlar malzeme atomları ve yüzey yapıları hakkında bilgi almak için kullanılmaktadır (Özer 2008).

İncelenmek istenen numuneye ve elde edilmek istenen bilgilere göre farklılık gösteren, elektronlardan yararlanarak örnekleri 10 ile 1.000.000 kez arasında büyütmeyi sağlayan bu elektron mikroskopları nanoboyutta karakterizasyon gerçekleştirmek için tasarlanmıştır (Williams and Adams 2007).

Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM)

Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM), ince veya kalın yüzeylerin taranması için odaklanmış elektronların kullanılması prensibine bağlı olarak çalışmaktadır. Bu görüntüleme tekniği görüntülerin çok daha iyi bir çözünürlükte (5–10 nm boyutunda) görüntülenmesini sağlar. Daha yeni mikroskoplar 1 nm çözünürlükte 1.000.000 kat büyütme potansiyeline sahiptir (Özer 2008).

İletim Elektron Mikroskobu (İEM)

İletim Elektron Mikroskobu (İEM), yüksek enerjili elektron ışınlarını kullanarak kalınlığı 100 nm' den az yapıların ve yarı iletken nanoyapılı atomların analizi için kullanılır. Bu teknikte elektron ışınları incelenmek istenen numunenin üstüne gönderilir. Bu elektronlardan bazılarının nesne tarafından emilmesi veya geri saçılması, bazılarının ise nesnelerin içinden geçmesiyle malzemelerin analiz edilmesi prensibine dayanır. Yaklaşık olarak 0.1 ile 0.2 nm civarında çözünürlüğe sahip olan bu elektron mikroskopları nanoboyuttaki çok küçük örneklerin görülmesi ve örneklerin; şekillerinin, boyutlarının, yapılarının, element ve bileşen miktarlarının, atom ve molekül düzenleri

ile bunlara ait özelliklerinin daha iyi analiz edilebilmesi için önemlidir (Williams and Adams 2007).

Analitik Elektron Mikroskobu (AEM)

İletim Elektron Mikroskopları'nın X-ışını ve elektron spektrometre gibi cihazlarla modifiye edilmesi sonucu oluşturmuşlardır. Analitik Elektron Mikroskobu (AEM), elektronların malzemelere geçiş yaptığı sırada elektronlardaki enerji kaybını ölçerek demir ve nikel atomları ile karbon ve nitrojen atomları arasındaki farklılıkları gösterir. AEM'ler 0.1 nm'ye kadar çok yüksek bir çözünürlükte görüntü alabilme imkanı sunar. Bunlara ilaveten AEM'ler, malzemelerin atomik bileşimleri, moleküler bağları ve elektrik iletkenliği ile ilgili bilgiler sağlamaktadır (Özer 2008).

Enerji Dağınlımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDAX)

Enerji Dağınlımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDAX) herhangi bir örnek veya örnek üzerindeki ilgili küçük bir alanda elementel kompozisyonu tanımlamak için kullanılan analitik bir tekniktir. Elektron mikroskobu ile kombine çalışan EDAX analizi, örnek üzerine taramalı bir elektron demeti düşürülerek gerçekleştirilir. Bu elektronların bazıları numune içindeki elektronlar ile çarpışır ve elektronların yörüngelerinden çıkmasını sağlar. Boşalan pozisyonlara elektronların geri dönmesi sırasında etrafa X-ışınları yayılır ve bu şekilde yayılan X-ışınlarının analiz edilmesiyle numunenin elementel kompozisyonu tespit edilir. X-ışınlarının bu enerjisi sıkı bir şekilde uyarılmış elementlerin atom sayıları ile ilişkilidir ve böylece atomların elektron mikroskobundaki analizleri sayesinde elementlerin temel şekilleri belirlenebilir (Nandre *et al.* 2012).

2.9.2. Tarama uçlu mikroskoplar

Tarama Uçlu Mikroskoplar, atomik boyuttan nanoboyutlara kadar değişen yapıların yüzey özelliklerini incelemek amacı ile kullanılır. Sabit ve çıkarılabilir uçlara sahip olan bu mikroskoplar maddelerin yüzeylerini tarayarak yükseklik değişimlerini, elektriksel

değişimleri veya yüzeydeki diğer değişiklikleri kaydederler. Uçların aşağı yukarı değişimi lazer ışınları tarafından ölçülür ve ışın titreşimleri yüzey görüntüsü elde etmek amacıyla optik bir dedektör tarafından ölçülmektedir.

Taramalı Tünel Mikroskobu (TTM)

1981 yılında Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binning tarafından keşfedilmiştir. Elektron mikroskobu ile görülmesi mümkün olmayan atom parçalarını 2.000 kat daha fazla büyütme yeteneği sayesinde atomik düzeyde görüntüleme sağlamaktadır. Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binning, nanoteknolojide görüntüleme teknolojisinde büyük bir çığır açan bu buluşları sayesinde 1986 yılında Nobel Fizik alanında ödüle layık görülmüştür. Yüksek bir vakum ortamına ihtiyaç duyan TTM, iletken malzemeleri görüntülemek ve malzeme yüzeylerinin karakteristiklerini ölçmek için sabit bir uç kullanır (Kaiser 2006).

Mikroskopta kullanılan uç tiplerine bağlı olarak çeşitli görüntüler elde edilmektedir. TTM elektronların tünelleme özelliğinden yararlanarak tek atom büyüklüğünde çok ince bir uç sayesinde görüntülemeyi gerçekleştirmektedir. Bu özellik sayesinde maddelerin tek bir atom düzeyinde yüksek bir çözünürlükte analizi gerçekleştirilmektedir (Özer 2008).

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM)

Atomik Kuvvet Mikroskobu G. Binnig, C.F. Quate ve Ch. Gerber tarafından 1986 yılında keşfedilmiştir. AKM'nin kullanımının daha kolay ve esnek olması, açık havada çalıştığı için yüksek bir vakum ortamına gerek duymaması, iletken veya iletken olmayan, organik veya inorganik numunelerin analiz edilmesine olanak sağlaması TTM üzerine bir avantaj sağlamaktadır.

AKM, yüzey görüntüsünü angstrom (\AA) (10^{-10} m) düzeyinden 100 mikrona (μ) kadar görüntüleyebilme yeteneğine sahiptir. Nanopartiküllerin incelenmesinde AKM'nin

kullanılmasıyla malzemeler özel bir hazırlık işlemine gerek duyulmadan görüntülenebilir ve moleküller arası etkileşimler hassas bir şekilde ölçülebilmektedir (Özer 2008).

AKM'de görüntü alabilmek için, 100 nm'den daha küçük bir çapa sahip oldukça ince silikon bir uç kullanılmaktadır. Silikon ucun malzeme yüzeyi üzerindeki hareketi esnasında malzeme üzerindeki atomlar ile silikon uçtaki atomlar arasında bir etkileşim gerçekleşir. Bu etkileşimler çerçevesinde silikon ucun yüksekliğinin ayarlanması suretiyle numune yüzeyine uygulanan kuvvetin sabit kalması sağlanır. Bu mekanizma ile ucun aşağı yukarı hareket değişimlerinin kaydedilmesi sonucu numune yüzeyinin üç boyutlu bir görüntüsü elde edilir (Özer 2008).

Ayrıca son zamanlarda AKM ve TTM'nin sadece görüntü amaçlı kullanılmayıp, nanoyapıların oluşturulmasında da kullanılabilmesi bu cihazlara ayrı bir avantaj sağlamaktadır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın temin edilmesi

Bu çalışmada kullanılan *Rhodococcus erythropolis* K85 izolatı (GenBank: KF976880) Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'ndaki stok kültürlerden alınmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve besiyerleri

Çalışmamızda kullanılan kimyasallar ve besiyerleri aşağıda belirtilmiştir.

MgSO₄.7 H₂O (A769586 627), KH₂PO₄ (A850773 723), K₂HPO₄ (A851201 714) Merck®'ten, ZnSO₄.7H₂O (022001), Zn(NO₃)₂ (228737) Sigma-Aldrich®'ten, ZnCl₂ (229997), Zn(CH₃COO)₂ (383317) Aldrich®'ten, Nutrient Broth (CM0001) Oxoid®'ten, Trypticase Soy Agar (236950) Difco™'den temin edilmiştir.

3.1.3 Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF
Çalkalamalı İnkübatör	: Zhicheng, CHINA, ZHWY-200B
Derin Dondurucu	: Nuaire, U.S.A., -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316 PK
Hassas Terazi	: Mettler Toledo, CHINA, AL204
İnkübatör	: Binder, GERMANY, BD53
Manyetik Karıştırıcı	: Nüve, TÜRKİYE, MK-418, SN 05-1083
Mini Karıştırıcı	: IKA, U.S.A., M51, SN 03017581

Otoklav	: Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253
Saf Su Cihazı	: GFL, GERMANY, 2004
Ultra Saf Su Cihazı	: Millipore Direct-Q® 3 UV
Steril Kabin	: Esco, SINGAPORE, AC2-4E1
Spektrofotometre	: Shimadzu, JAPAN, RC 232C
pH Metre	: Hanna, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202
Santrifüj	: Hettich EBA 21, GERMANY
Ultra Santrifüj	: Beckman Coulter™ Allegra 64R Centrifuge, USA
Taramalı Elektronik	: Zeiss EVO LS 10, GERMANY
Mikroskopu	
EDAX	: Zeiss EVO LS 10, GERMANY
Heat Block	: WiseThem®, KOREA
Mikropipet	: Eppendorf, GERMANY
Vortex	: IKA, U.S.A., MS2

3.1.4. Çözeltiler ve besiyeleri

Çalışma sırasında kullanılan besiyeri ve çözeltilerin hazırlanma şekilleri aşağıda verilmiştir.

Tripticase Soy Agar (TSA): Bu besiyerinin hazırlanmasında 40 g TSA karışımı hassas terazide tartıldıktan sonra erlene aktarılır ve ardından 1000 ml distile su eklenir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla tamamen çözünmesi sağlanır ve 121°C’de 20 dakika otoklavlanır. Otoklav bittikten sonra 45-50°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılır.

Stok Besiyeri: 0,65 g nutrient broth’a 36 ml gliserol eklendikten sonra son hacim saf su ile 100ml’ye tamamlandı. Magnetik karıştırıcıda karıştırılan besiyeri, otoklavda steril edildi. Aseptik olarak steril 2 ml’lik eppendorf tüplerine 1,2 ml konularak hazırlandı.

Mineral Salt Basal (MSB): Benzer şekilde bu besiyerinin hazırlanmasında 1000 ml için 0.75 g K_2HPO_4 , 0.2 g KH_2PO_4 ve 0.09 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ sırasıyla steril bir erlen içerisine ilave edildi. Üzerine 1000 ml ultra saf su eklendi ve çözeltinin homojen olması için manyetik karıştırıcı üzerine konuldu. Bu esnada çözeltinin pH'sı NaOH ve HCl yardımıyla 7.0 ± 2 olacak şekilde ayarlandı. En son işlem olarak $121^\circ C$ 'de 20 dakika otoklavlandı.

1 M $ZnSO_4$: 28.7 g $ZnSO_4$ hassas terazide tartıldıktan sonra erlen içerisine aktarılır ve üzerine 100 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanır.

1 M $Zn(NO_3)_2$: 18.9 g $Zn(NO_3)_2$ hassas terazide tartıldıktan sonra erlen içerisine aktarılır ve üzerine 100 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanır.

1 M $ZnCl_2$: 13.6 g $ZnCl_2$ hassas terazide tartıldıktan sonra erlen içerisine aktarılır ve üzerine 100 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanır.

1 M $Zn(CH_3COO)_2$: 21.9 g $Zn(CH_3COO)_2$ hassas terazide tartıldıktan sonra erlen içerisine aktarılır ve üzerine 100 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikroorganizmanın canlandırılması ve çalışma kültürlerinin hazırlanması

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'ndaki stok kültürlerden aldığımız *Rhodococcus erythropolis* K85 bakteri örneği aseptik tekniklerle TSA besiyeri üzerine çizgi ekim yapılarak

inoküle edilmiştir. Bu işlemin ardından kültürler 28°C’de 24 saat boyunca inkubasyon sürecine bırakılmıştır. İnkubasyon süresinin ardından besiyerlerinin yüzeylerinde kolonilerin gözlenmesiyle bakterilerde canlandırma işlemi tamamlanmıştır.

3.2.2. Çalışmada kullanılacak öncü maddelerin doz miktarlarının belirlenmesi

Literatür verileri doğrultusunda; mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebilmelerine imkan sağlayacak şekilde çalışmada kullanılacak olan öncü metalik çözeltilerin dozunu ve optimum süreyi belirlemek amacı ile ayrı bir çalışma hazırlandı. Bu amaç doğrultusunda her bir öncü madde için farklı miktarlarda MSB (50, 49, 45, 40 ml) ve 1 M’lık farklı miktarlarda öncü madde çözeltileri (0, 1, 5, 10 ml) içeren dört ayrı cam şişe içerisine eşit miktarlarda (5 ml) bakteri çözeltisinden ilave edildi (Kundu *et al.* 2014).

Her günün sonunda cam şişelerdeki çözeltilerden alınan örneklerin spektrofotometre yardımıyla hücre yoğunluğu ölçülerek mikroorganizmaların canlılıkları gözlemlenmeye çalışıldı. Yine benzer şekilde aynı amaç için cam şişelerden alınan örnekler TSA besiyeri üzerine yayma ekim yapılarak mikroorganizmaların canlılıkları gözlemlenmeye çalışıldı.

3.2.3. *Rhodococcus erythropolis* kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin biyosentezi

1. Öncelikle MSB çözeltisi yukarıda belirtildiği gibi 1000 ml olacak şekilde hazırlandı.
2. 100’er ml 1 M ZnSO₄, 1 M Zn(NO₃)₂, 1 M ZnCl₂ ve 1 M Zn(CH₃COO)₂ çözeltileri hazırlandı.
3. Önceden canlandırmış olduğumuz mikroorganizma MSB çözeltisinde süspanse edildi ve çözelti içerisindeki hücre yoğunluğu 600 nm’de 0.5 OD olacak şekilde ayarlandı.

4. Önceden hazırlamış olduğum MSB ve $ZnSO_4$ çözeltileri dört ayrı şişeye 45 ml MSB+5 ml 1 M $ZnSO_4$ çözeltisi, 45 ml MSB+5 ml 1 M $Zn(NO_3)_2$ çözeltisi, 45 ml MSB+5 ml 1 M $ZnCl_2$ çözeltisi, 45 ml+5 ml 1 M $Zn(CH_3COO)_2$ çözeltisi olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra bu şişelerin herbirine, hücre yoğunluğu 0.5 OD olarak ayarlanan bakteri solüsyonundan 5 ml ilave edildi.

5. Bu işlemlerin ardından hazırlanmış olan şişeler 120 rpm $30^\circ C$ 'de 72 saat boyunca çalkalayıcıya konuldu.

3.2.4. Oluşan partiküllerin saflaştırılması ve karakterizasyona hazırlanması

1. Çalkalanma sürecinin sonunda cam şişenin içerisinde dip kısımlarda çökelekler görüldü. Şişe içerisindeki çözelti 50 ml'lik falkon tüplerine aktarıldı.

2. Falkon tüpleri ultra santrifüjde 18.000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi.

3. Santrifüj işlemi sonucunda üst fazdaki sıvı kısım atılarak dipteki kısım muhafaza edildi. Daha sonra bu kısım kirliliklerin uzaklaştırılması amacıyla filtre edildi ve deiyonize su ile yıkandı.

4. Karakterizasyon işlemine hazırlamak amacıyla tüp içerisindeki numuneler $70^\circ C$ 'de 4 saat süresince dry block (cihazında) kurutuldu.

3.2.5. ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu

SEM (Scanning Electron Microscopy) ile karakterizasyonu

Çalışmamızda 4 farklı öncü maddeden sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarı'nda bulunan SEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

EDAX (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) ile karakterizasyonu

Çalışmamızda 4 farklı öncü maddeden sentezlenen ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarı'nda bulunan SEM cihazına entegre halde bulunan EDAX kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Çalışmada kullanılacak öncü maddelerin doz miktarlarının bulunması

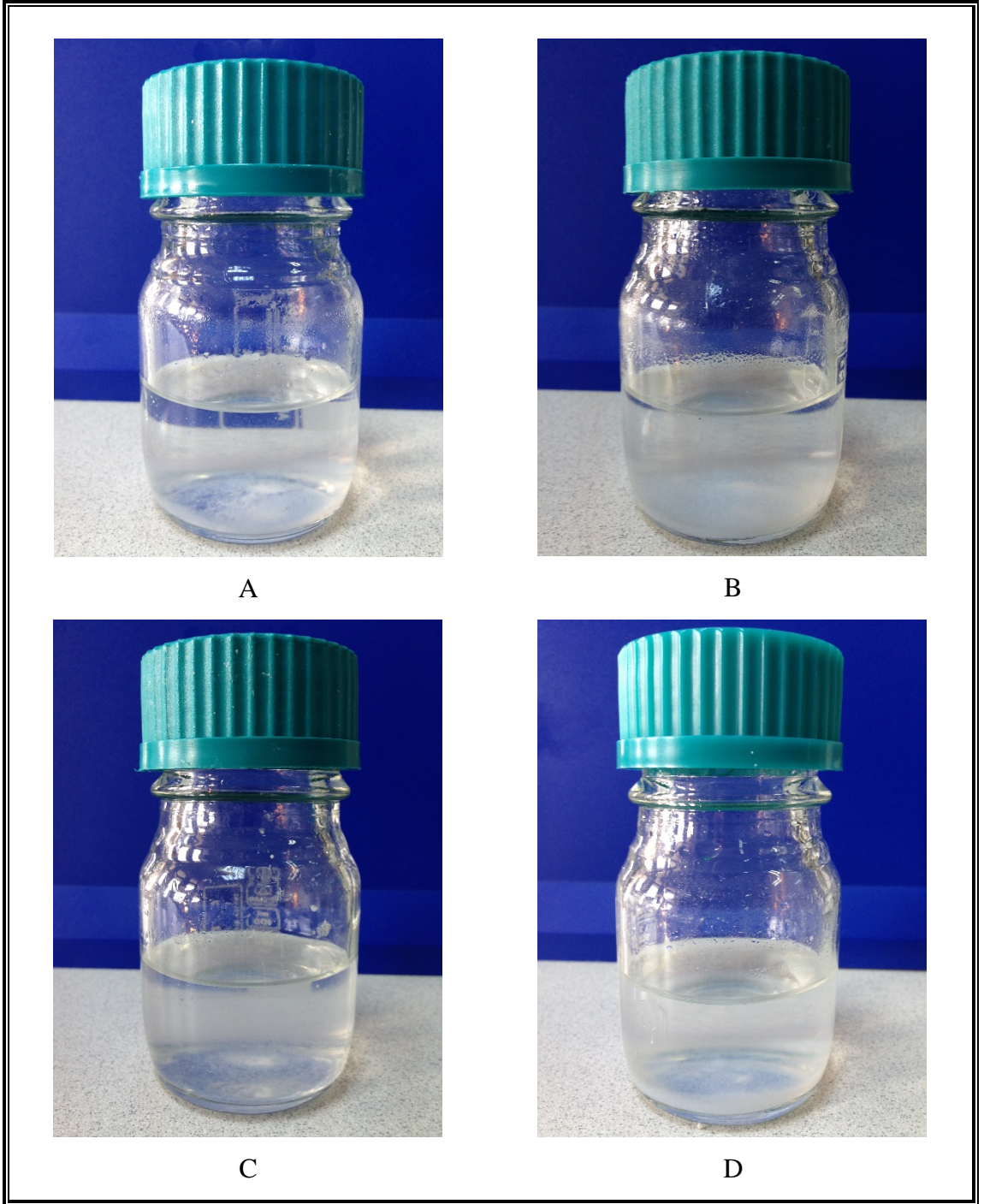
Öncü maddelerin doz miktarlarını belirlemek için gerçekleştirilen bu çalışma sonucunda, mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebildikleri uygun öncü metalik çözelti doz miktarının 5 ml ve uygun olan sürenin ise 3 gün olduğu bulunmuştur.

4.2. *Rhodococcus erythropolis* K85 kullanılarak ZnO nanopartiküllerinin ekstraselüler biyosentezi

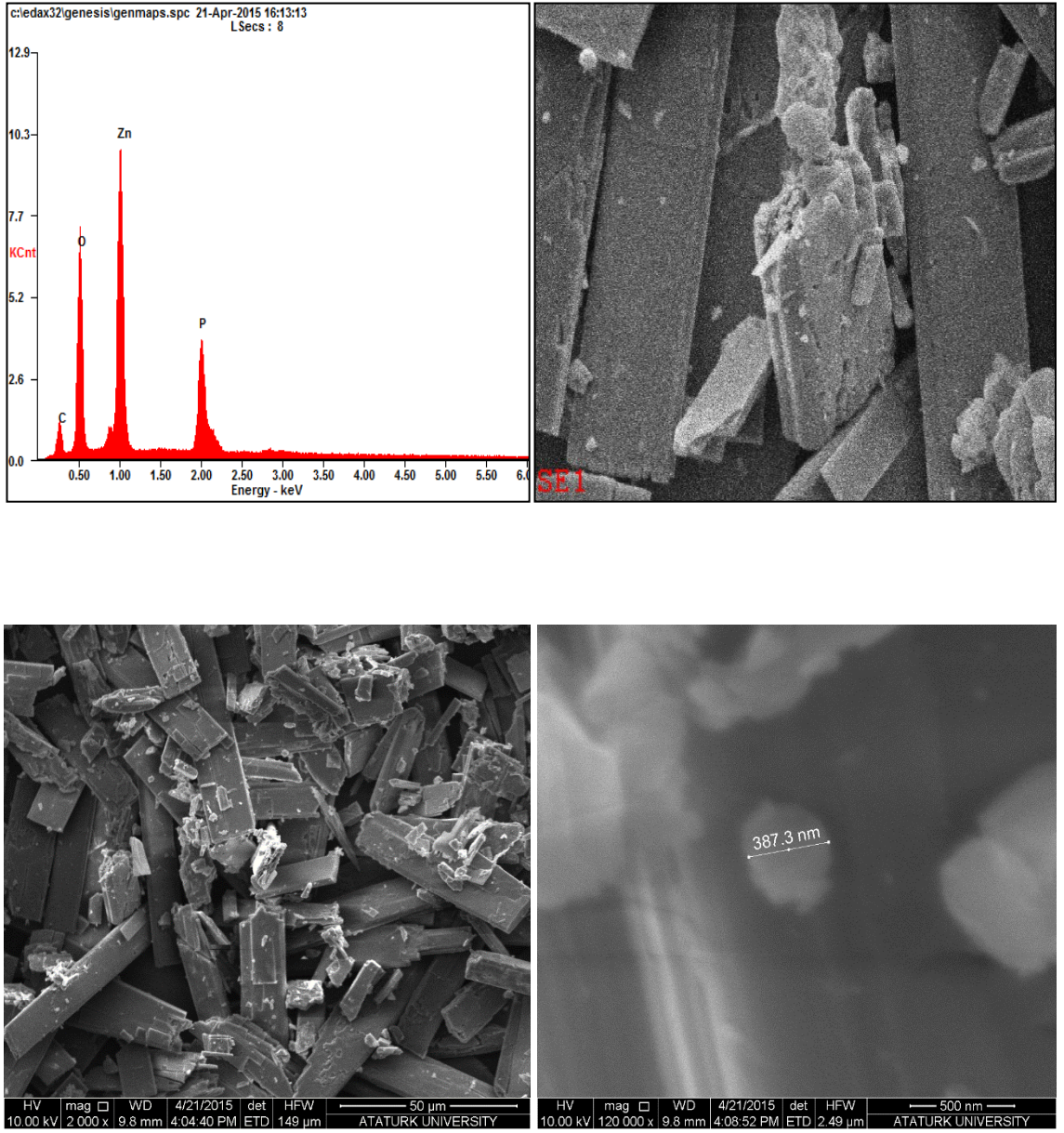
Uygulamanın birinci gününün sonunda çalkalayıcıda bulunan cam şişelerde ZnO nanopartikülü oluşumunu gösteren beyaz çökeltiler oluşmaya başlamıştır. Çalkalayıcı üzerindeki cam şişeler belirli aralıklarla gözlemlenmeye devam edilmiş ve üçüncü günün sonunda cam şişelerin dibinde ideal çökeltilerin oluşmasıyla deney sonlandırılmıştır (Şekil 4.1.).

4.3. ZnO nanopartiküllerinin karakterizasyonu

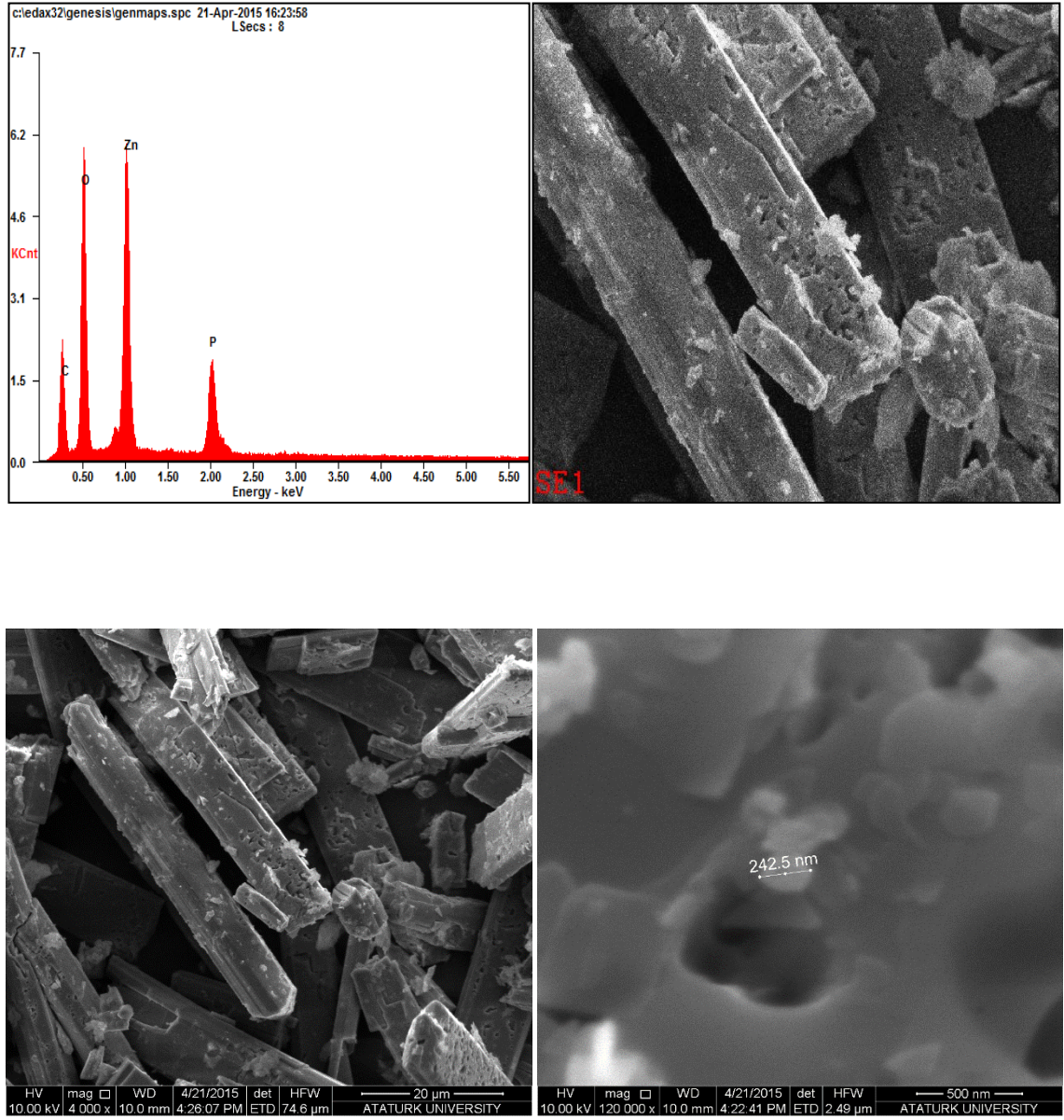
“Materyal ve Metot” başlığında detaylı olarak tanımlandığı gibi şişenin içerisindeki ZnO nanopartikülleri çeşitli işlem basamaklarının ardından karakterizasyon için hazır hale getirilmiştir. Bu işlemin ardından numunelerin Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Laboratuvarı’nda SEM ve EDAX cihazları ile karakterizasyonu yapılmıştır. EDAX analizlerine göre üretilen partiküllerin Zn ve O bileşenlerinden oluştuğu ve SEM analizlerine göre de bu nanopartiküllerin ortalama 100-400 nm aralığında değişen boyutlara sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5.).



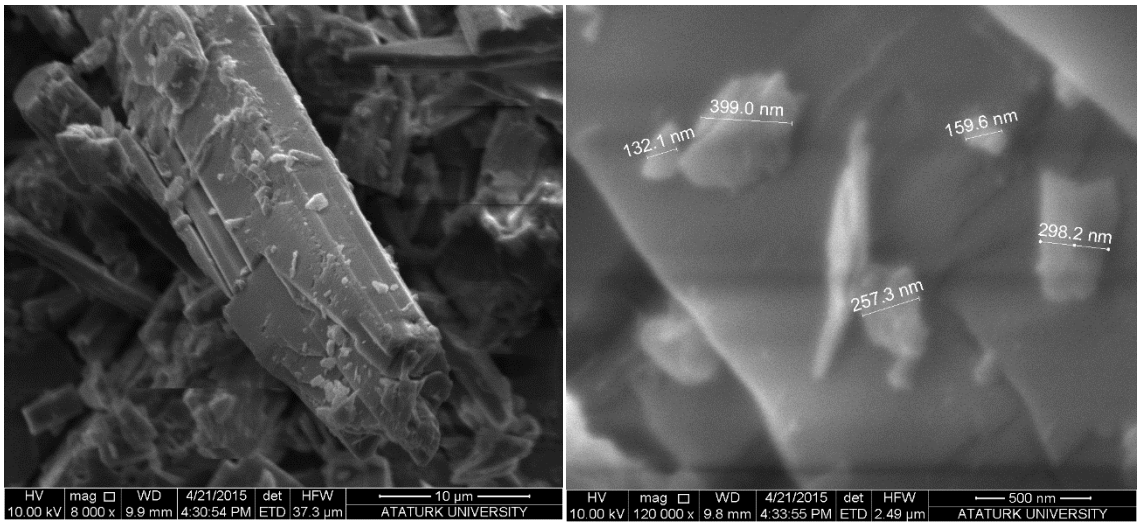
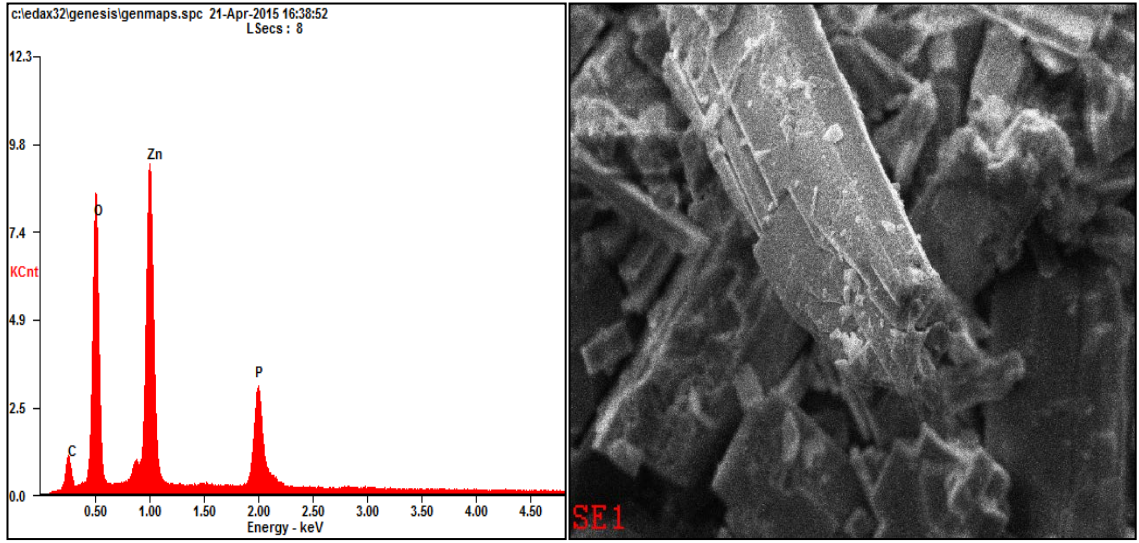
Şekil 4.1. ZnO nanopartiküllerinin farklı öncü maddeler kullanılarak üretilmesi (A; ZnSO_4 , B; ZnCl_2 , C; $\text{Zn(NO}_3)_2$, D; $\text{Zn(CH}_3\text{COO)}_2$)



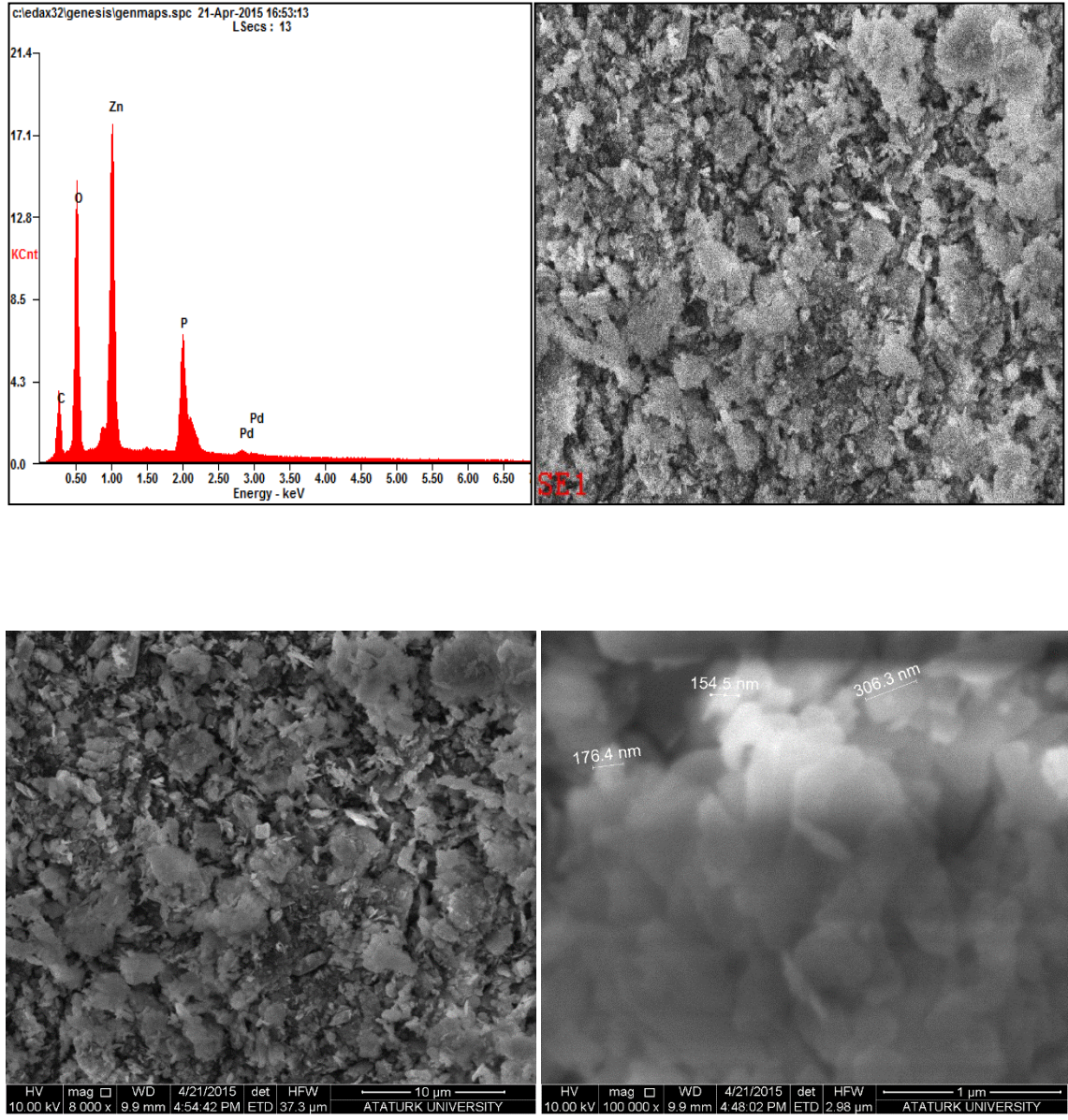
Şekil 4.2. ZnSO₄ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri



Şekil 4.3. ZnCl_2 öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri



Şekil 4.4. $Zn(NO_3)_2$ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri



Şekil 4.5. $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ öncü maddesi kullanılarak üretilen ZnO nanopartiküllerine ait SEM ve EDAX görüntüleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

En özet haliyle “önceden belirlenmiş nano ölçekte boyut ve şekillere sahip materyal, cihaz ve sistemlerin tasarlanması, karakterizasyonu, üretilmesi ve uygulanması” olarak tanımlanan nanoteknoloji, çeşitli endüstriyel ve medikal uygulamalar için ürettiği eşsiz teknolojik ürünler ile günümüz ve yakın gelecekteki dünya ekonomisinin en önemli konu başlıklarından birisi olmaya adaydır.

Bu kapsamdaki literatür verileri incelendiğinde gerçekten de nanoteknoloji ürünlerinin birçoğunun halihazırda boya, kozmetik, tekstil, inşaat, lastik, enerji endüstrilerinde, gıda, ziraat, eczacılık ve tıp alanlarında üretilen ürünlerin çeşitli deformasyonlardan korunmasını sağlamak, enerji üretimi, depolama ve dönüşümünü sağlamak, tarımsal verimliliği arttırmak, çevre kirliliğini önlemek, su kirliliğini gidermek, hastalık tanısını sağlamak, ilaç taşıma ve salınımının kontrol edilmesiyle tedavi etkinliğini arttırmak gibi çok çeşitli amaçlarla yaygın bir şekilde kullanıldığı açıkça görülmektedir (Celep 2007; Tütünoğlu 2007; Özer 2008; Gülsün 2009; Işık 2010; Presland 2010; Yalçın 2010; Aydoğdu 2011). Yine bu literatür verilerinin dikkatlice analiz edilmesi sonucunda, günümüzde ekonomik değere sahip nanoteknoloji ürünlerinin önemli bir kısmının nanomalzemeler içerisinde sınıflandırılabilceği görüşü ortaya çıkmaktadır.

Temelde nanofiberler, tabakalı ya da lamelli nanomalzemeler (nanoplate), grafen temelli nanomateryaller, kuantum noktalar (quantum dot), dendrimerler ve nanopartiküller olarak gruplandırılan nanomalzemeler içerisinde eşsiz özelliklere ve oldukça geniş çeşitliliğe sahip nanopartiküller, son dönemlerdeki nanoteknoloji araştırmalarının en gözde konularından birisi olmuştur. Literatürde yer alan bu araştırmalarda çoğunlukla yüksek toksisite ve buna bağlı olarak antitümoral, antifungal, antibakteriyel gibi çeşitli aktiviteler gösteren metal nanopartikülleri, özellikle de çinko içerikli nanopartiküller çeşitli endüstri ve sağlık uygulamalarında kullanılabilme potansiyellerinden dolayı ayrıca önem arz etmektedir.

Eşsiz fotokatalitik, elektronik, optik, dermatolojik ve antibakteriyel özelliklere sahip çinko oksit nanopartikülleri memeli organizmalar için önemli eser elementlerden biri olan çinkonun bir metal oksit nanopartikül çeşididir ve kimyasal olarak ZnO formülü ile ifade edilir. Bu nanopartiküller ayrıca nanoteknoloji için önemli olan unsurlardan piezoelektrik, yarı iletken ve optik özellikleri bir arada barındırabilen ender malzemelerden birisi olarak da dikkat çekmektedir (Işık 2010). Bu özelliklerinden dolayı ZnO nanopartikülleri, plastik, seramik, cam, çimento, lastik, yağ, boya, pigment, gıda, pil, yangın geciktirici, kişisel bakım ürünlerini içeren çeşitli ürünlerde ticari olarak kullanılmaktadır (Kundu *et al.* 2014; Ma *et al.* 2012).

ZnO nanopartiküllerinin çeşitli uygulamalarda kullanılmasına; avantajlı elektronik ve optoelektronik özellikleri ile UV detektörlerin, transparan kondüktif filmlerin, gaz sensörlerinin ve solar hücrelerinin yapılarına katılmaları, üstün optik ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanan antialerjik, kaşıntı önleyici, kızarıklık önleyici ve güneşin zararlı ışınlarından koruyucu özellikleri ile günlük hayatta sıklıkla kullanılan nemlendiriciler, güneş kremleri, bebek pudraları gibi insan vücudu ile doğrudan temas eden kozmetik ürünlerin yapılarına katılmaları ve yüksek reaksiyona girme potansiyelleri ile çeşitli arıtım teknolojilerinin içerisine katılmaları örnek olarak verilebilir (Ramakrishna and Ghosh 2003; Ding and Wang 2004; Zhu *et al.* 2005; Işık 2010).

Tüm bu önemli özellikleri göz önünde bulundurulduğunda ZnO nanopartiküllerinin yakın gelecekteki teknolojilerin ve endüstriyel üretim süreçlerinin temelini oluşturacağı, dünya ekonomisi ve bilimsel araştırma odakları için en önemli konu başlıklarından birisi olacağı öngörülebilir. Bununla birlikte mevcut ZnO nanopartikül üretim metotlarının karmaşık ve maliyetinin çok yüksek olması, toksik madde kullanımı gerektirmesi, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalar için elverişsiz olması gibi dezavantajları bu nanopartiküllerin daha güvenli, çevreci, ekonomik ve kontrollü üretimine odaklanmış yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Bu hususta çeşitli canlı materyallerin kullanılması ile ZnO nanopartikülü üretimine olanak sağlayacak nanobiyoteknolojik sentez yöntemleri gelecek için umut vaat eden önemli bir yaklaşım olarak dikkat çekmektedir. Güncel literatürler bitkilerin, alglerin, küflerin, mayaların, aktinomisetlerin ve özellikle de kısa hayat döngüleri, nispeten daha anlaşılır metabolizmaları, yüksek aktiviteleri, uygulama ve muhafazadaki kolaylıkları gibi nitelikleriyle ön plana çıkan bakterilerin çok çeşitli türlerinin metalik nanopartikül sentezinde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini açıkça göstermektedir (Quester *et al.* 2013).

Mevcut güncel literatür verileri incelendiğinde *Pseudomonas stutzeri*, *Actinobacter* spp., *Rhodobacter sphaeroides*, *Shewanella oneidensis*, *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Shewanella algae*, *Bacillus sphaericus*, *Plectonema boryanum*, *Shewanella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Aeromonas* sp., *Escherichia coli*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Thermoanaerobacter* sp., *Rhodopseudomonas capsulata*, *Geobacter sulfurreducens*, *Desulfovibrio fructosivorans*, *Bacillus licheniformis*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus*, *Morganella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Cupriavidus metallidurans*, *Lactobacillus* sp., *Cupriavidus necator*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas putida*, *Paracoccus denitrificans*, *Enterobacter* sp., *Rhodococcus* sp., *Thermomonospora* sp., *Mycobacterium smegmatis*, *Brevibacterium casei*, *Streptomyces hygroscopicus*, *Streptomyces albidoflavus* gibi çok çeşitli bakteri türlerinin Ag, Pd, Au, Pt, Se, SeZn, CdZn, CdS, CdTe, CdSe, Fe₃O₄, ZnS, TiO₂, Hg, CaCO₃ gibi çok çeşitli nanopartikül türlerinin sentezinde kullanılabileceği açıkça görülmektedir (Quester *et al.* 2013).

Bununla birlikte, ekonomik değeri oldukça yüksek olan ZnO nanopartiküllerinin bakteriler kullanılarak biyosentez yoluyla üretilmesi üzerine olan araştırmaların sayısı oldukça azdır. Günümüze kadar yapılan bu alandaki ender çalışmalarda ZnO nanopartiküllerinin üretilmesi için başlıca *Bacillus cereus*, *Lactobacillus* sp., *Rhodococcus* sp. ve *Rhodococcus pyridinivorans* bakterileri kullanılmıştır (Quester *et al.* 2013; Kundu *et al.* 2014). Bu verilerden de anlaşılacağı gibi mevcut literatürde

ZnO nanopartiküllerinin bakteriyel biyosentezi üzerine olan bilgi birikiminde önemli eksiklikler vardır ve bu eksikliklerin giderilmesine katkı sağlayacak yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu ilkeler kapsamında hazırlanan çalışmamızda ZnO nanopartiküllerinin biyosentezi için $ZnSO_4$, $Zn(NO_3)_2$, $ZnCl_2$ ve $Zn(CH_3COO)_2$ öncü maddeleri ve *Rhodococcus erythropolis* K85 izolatu (GenBank: KF976880) kullanılmış ve elde edilen nanopartiküllerin analiz çalışmaları SEM ve EDAX teknikleri kullanılarak yapılmıştır.

Çalışma bulguları incelendiğinde *Rhodococcus erythropolis* K85 kullanılarak yapılan biyosentez denemelerinin tamamında çinko içerikli nanopartiküllerin olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5.). Elde edilen bu nanopartiküllerin boyutları $ZnSO_4$ öncü maddesi için ortalama 385 nm, $Zn(NO_3)_2$ öncü maddesi için 132,1–399,0 nm, $ZnCl_2$ öncü maddesi için ortalama 240 nm ve $Zn(CH_3COO)_2$ öncü maddesi için 154,5–306,3 nm olarak belirlenmiştir.

Çalışma bulguları değerlendirildiğinde birçok ekonomik endüstriyel uygulama alanı olan ZnO nanopartiküllerinin *Rhodococcus erythropolis* K85 bakteri izolatu kullanılarak $ZnSO_4$, $Zn(NO_3)_2$, $ZnCl_2$ ve $Zn(CH_3COO)_2$ öncü maddelerinden kontrollü ortamlarda sentezlenebileceği sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu yönüyle çalışmamız, literatüre ZnO nanopartiküllerinin *Rhodococcus erythropolis* kullanılarak biyolojik yollarla sentezlenebileceği bilgisini katmaktadır. Diğer bir yönüyle de gelecekteki çalışmalarda ZnO nanopartiküllerinin sentezinde kullanılabilecek daha farklı *Rhodococcus* veya başka mikroorganizma türlerinin ve daha farklı çinko içerikli öncü maddelerin potansiyellerinin araştırılabileceğine de dikkat çekmektedir.

Nihai olarak ise mevcut çalışmadan elde edilen bulgular ZnO nanopartiküllerinin daha güvenli, çevreci, ekonomik ve kontrollü üretimine odaklanmış yöntemlerin geliştirilmesini konu alacak ileriki çalışmalara kaynak sağlayacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2002. Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *Journal American Chemical Society*, 124 (41), 12108–12109.
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R., Ramani, R., Srinivas, V., Sastry, M., 2003a. Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species. *Nanotechnology*, 14 (2003), 824–828.
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2003b. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. *Langmuir* 19, 3550–3553.
- Ahmad, N., Sharma, S., Rai, R., 2012. Rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles using peels of *Punica granatum*. *Advanced Materials Letters*, 3 (5), 376-330.
- Armendariz, V., Herrera, I., Peralta-Videa, J.R., Jose-Yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P., Gardea-Torresdey, J.L., 2004. Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. *Journal of Nanoparticle Research*, 6, 377–382.
- Arunachalam, R., Dhanasingh, S., Kalimuthu, B., Uthirappan, M., Rose, C., Mandal, A.B., 2012. Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Coccinia grandis* leaf extract and its application in the photocatalytic degradation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94 (2012), 226–230.
- Ascencio, J.A., Mejia, Y., Liu, H.B., Angeles, C., Canizal, G., 2003. Bioreduction synthesis of Eu–Au nanoparticles. *Langmuir*, 19 (14), 5882–5888.
- Ascencio, J.A., Rincon, A.C., Canizal, G., 2005. Synthesis and theoretical analysis of samarium nanoparticles: perspectives in nuclear medicine. *Journal of Physical Chemistry B*, 109 (18), 8806–8812.
- Aydoğdu, E., 2011. Nanoteknoloji, Nanobilim Ve Analitik Kimyadaki Kullanım Alanları. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Bai, H.J., Zhang, Z.M., Guo, Y., Yang, G.E., 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 70 (2009), 142–146.
- Bali, R., Razak, N., Lumb, A., Harris, A.T., 2006. The synthesis of metallic nanoparticles inside live plants. *Nanoscience and Nanotechnology International Conference*.
- Bankar, A., Joshi, B., Kumar, A.R., Zinjarde, S., 2010. Banana peel extract mediate novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 368 (2010), 58–63.
- Bharde, A., Rautaray, D., Bansal, V., Ahmad, A., Sarkar, I., Yusuf, S.M., Sanyal, M., Sastry, M., 2006. Extracellular biosynthesis of magnetite using fungi. *Small*, 2 (1), 135–141.
- Birla, S.S., Tiwari, V.V., Gade, A.K., Ingle, A.P., Yadav, A.P., Rai, M.K., 2009. Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effects

- against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 48 (2009), 173–179.
- Blackwell, M., 2011. The fungi: 1, 2, 3 . . . 5.1 million species? *American Journal of Botany*, 98 (3), 426–438.
- Bridges, K., Kidson, A., Lowbury, E.J.L., Wilkins, M.D., 1979. Gentamicin- and silverresistant *Pseudomonas* in a burns unit. *British Medical Journal*, 1, 446–449.
- Bunge, M., Søbberg, L.S., Rotaru, A.E., Gauthier, D., Lindhardt, A.T., Hause, G., Finster, K., Kingshott, P., Skrydstrup, T., Meyer, R.L., 2010. Formation of palladium(0) nanoparticles at microbial surfaces. *Biotechnology and Bioengineering*, 107, 206–215.
- Canizal, G., Schabes-Retchkiman, P.S., Pal, U., Liu, H.B., Ascencio, J.A., 2006. Controlled synthesis of Zn0 nanoparticles by bioreduction. *Materials Chemistry and Physics* 97, 321–329.
- Castro-Longoria, E., Moreno-Velásquez, S.D., Vilchis-Nestor, A.R., Arenas-Berumen, E., Avalos-Borja, M., 2012. Production of platinum nanoparticles and nanoaggregates using *Neurospora crassa*. *Journal Microbiology and Biotechnology*, 22 (7), 1000–1004.
- Castro-Longoria, E., Vilchis-Nestor, A.R., Avalos-Borja, M., 2011. Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 83 (2011), 42–48.
- Celep, Ş., 2007. Nanoteknoloji Ve Tekstilde Uygulama Alanları. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Chen, Y.L., Tuan, H.Y., Tien, C.W., Lo, W.H., Liang, H.C., Hu, Y.C., 2009. Augmented biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by genetically engineered *Escherichia coli*. *Biotechnology Progress*, 25 (5), 1260–1266.
- Cruz, D., Falé, P.L., Mourato, A., Vaz, P.D., Serralheiro, M.L., Lino, A.R.L., 2010. Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81 (2010), 67–73.
- Daisy, P. and Saipriya, K., 2012. Biochemical analysis of Cassia fistula aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1189–1202.
- Das, S.K., Das, A.R., Guha, A.K., 2009a. Adsorption behavior of mercury on functionalized *Aspergillus versicolor* mycelia: atomic force microscopic study. *Langmuir*, 25 (14), 360–366.
- Das, S.K., Das, A.R., Guha, A.K., 2009b. Gold nanoparticles: microbial synthesis and application in water hygiene management. *Langmuir* 25 (14), 8192–8199.
- Das, S.K., Das, A.R., Guha, A.K., 2010. Microbial synthesis of multishaped gold nanostructures. *Small*, 6 (9), 1012–1021.
- De Windt, W., Aeltermann, P., Verstraete, W., 2005. Bioreductive deposition of palladium (0) nanoparticles on *Shewanella oneidensis* with catalytic activity towards reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls. *Environmental Microbiology*, 7, 314–325.
- De Windt, W., Boon, N., Van den Bulcke, J., Rubberecht, L., Prata, F., Mast, J., Hennebel, T., Verstraete, W., 2006. Biological control of the size and reactivity

- of catalytic Pd(0) produced by *Shewanella oneidensis*. *Antonie van Leeuwenhoek* 90, 377–389.
- Deplanche, K., Caldelari, I., Mikheenko, I.P., Sargent, F., Macaskie, L.E., 2010. Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic Pd(0) nanoparticles by bioreduction of Pd(II) using *Escherichia coli* mutant strains. *Microbiology*, 156, 2630–2640.
- Deplanche, K. and Macaskie, L.E., 2008. Biorecovery of gold by *Escherichia coli* and *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biotechnol and Bioengineering*, 99, 1055–1064.
- Ding, Y. and Wang, Z.L., 2004. Structure Analysis of Nanowires and Nanobelts by Transmission Electron Microscopy. *Journal of Physical Chemistry B*, 108 (33), 12280-12291.
- Drexler, K.E., 1981. *Engines of Creation 2.0*. Wowio Llc, 1-649.
- Durán, N., Marcato, P.D., Alves, O.L., De Souza, G.I.H., Esposito, E., 2005. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, 3 (8), 1-7.
- Fayaz, A.M., Balaji, K., Girilal, M., Kalaichelvan, P.T., Venkatesan, R., 2009. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. *Journal Agricultur Food Chemical*, 57 (14), 6246-6252.
- Fayaz, A.M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P.T., Venketesan, R., 2010. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6 (2010), 103–109.
- Gardea-Torresdey, J.L., Gomez, E., Peralta-Videa, J.R., Parsons, J.G., Troinani, H., Yacaman, M.J., 2003. Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, 19 (4), 1357–1361.
- Gardea-Torresdey, J.L., Parsons, J.G., Gomez, E., Peralta-Videa, J., Troinani, H.E., Santiago, P., Yacaman, M.J., 2002. Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants. *Nano Letters*, 2 (4), 397–401.
- Gauthier, D., Søbberg, L.S., Jensen, K.M., Lindhardt, A.T., Bunge, M., Finster, K., Meyer, R.L., Skrydstrup, T., 2010. Environmentally benign recovery and reactivation of palladium from industrial waste by using gram-negative bacteria. *ChemSusChem*, 3, 1036–1039.
- Ghosh, S., Patil, S., Ahire, M., Kitture, R., Kale, S., Pardesi, K., Cameotra, S.S., Bellare, J., Dhavale, D.D., Jabgunde, A., Chopade, B.A., 2012. Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 483–496.
- Gnanadesigan, M., Anand, M., Ravikumar, S., Maruthupandy, M., Vijayakumar, V., Selvam, S., Dhineshkumar, M., Kumaraguru, A.K., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles by using mangrove plant extract and their potential mosquito larvicidal property. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4, 799–803.
- Gopinath, V., MubarakAli, D., Priyadarshini, S., Priyadharsshini, N.M., Thajuddin, N., Velusamy, P., 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Tribulus terrestris* and its antimicrobial activity: a novel biological approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 96 (2012), 69–74.

- Govender, Y., Riddin, T., Gericke, M., Whiteley, C.G., 2009. Bioreduction of platinum salts into nanoparticles: a mechanistic perspective. *Biotechnology Lett*, 31, 95–100.
- Govindaraju, K., Kiruthiga, V., Kumar, V.G., Singaravelu, G., 2009. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a marine alga, *Sargassum Wightii grevilli* and their antibacterial effects. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 9, 5497–5501.
- Govindaraju, K., Tamilselvan, S., Kiruthiga, V., Singaravelu, G., 2010. Biogenic silver nanoparticles by *Solanum torvum* and their promising antimicrobial activity. *Journal of Biopesticides*, 3, 394–399.
- Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Deepak, V., Kumar Pandian, S.R., Muniyandi, J., Hariharan, N., Eom, S.H., 2009. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74 (2009), 328–335.
- Gülsün, T., 2009. Nanoteknoloji Uygulaması İle İlaç Biyoyararlanımının Artırılmasına Yönelik Yaklaşımlar. Y. Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Haefeli, C., Franklin, C., Hardy, K., 1984. Plasmid-determined silver resistance in *Pseudomonas stutzeri* isolated from a silver mine. *Journal of Bacteriology*, 158 (1), 389–392.
- Harris, A.T. and Bali, R., 2008. On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants. *Journal of Nanoparticle Research*, 10 (2008), 691–695.
- Herrera-Becerra, R., Zorilla, C., Ascencio, J.A., 2007. Production of iron oxide nanoparticles by a biosynthesis method: an environmentally friendly route. *Journal of Physical Chemistry C*, 111 (44), 16147–16153.
- Hıdıroğlu, N., 2015. Bakteriyorodopsin Üretim Potansiyeline Sahip Halofilik Arke *Halobacterium salinarum*'un İzolasyonu Ve Nanobiyomolekül Olarak Kullanılabilecek Bakteriyorodopsin'in Safılaştırılması Ve Karakterizasyonu. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Husseiny, M.I., El-Aziz, M.A., Badr, Y., Mahmoud, M., 2007. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta Part A*, 67 (2007), 1003–1006.
- Işık, K., 2010. Farklı Özellikteki ZnO Nanopartiküllerinin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki Etkilerinin *İn Vitro* Olarak Değerlendirilmesi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Jaidev, L.R. and Narasimha, G., 2010. Fungal mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and antimicrobial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81 (2010), 430–433.
- Jayaseelan, C., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Santhoshkumar, T., Kirthi, A.V., Marimuthu, S., Bagavan, A., Kamaraj, C., Zahir, A.A., Elango, G., Velayutham, K., Rao, K.V.B., Karthik, L., Raveendran, S., 2012. Efficacy of plant-mediated synthesized silver nanoparticles against hematophagous parasites. *Parasitol Res* 111 (2012), 921–933.
- Jia, L., Zhang, Q., Li, Q., Song, H., 2009. The biosynthesis of palladium nanoparticles by antioxidants in *Gardenia jasmonoides* Ellis: long lifetime nanocatalysts for p-nitrotoluene hydrogenation. *Nanotechnology*, 20 (2009), 1-11.
- Kaiser, D., 2006. Notes toward a Nanotech Timeline. OSTI Working Paper, 6, 1-10.

- Kalimuthu, K., Babu, R.S., Venkataraman, D., Bilal, M., Gurunathan, S., 2008. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65, 150–153.
- Kalishwaralal, K., Deepak, V., Pandian, S.R.K., Kottaisamy, M., BarathManiKanth, S., Kartikeyan, B., Gurunathan, S., 2010a. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77 (2010) 257-262.
- Kalishwaralal, K., Gopalram, S., Vaidyanathan, R., Deepak, V., Pandian, S.R.K., Gurunathan, S., 2010b. Optimization of α -amylase production for the green synthesis of gold nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77 (2010), 174–180.
- Kang, S.H., Bozhilov, K.N., Myung, N.V., Mulchandani, A., Chen, W., 2008. Microbial synthesis of CdS nanocrystals in genetically engineered *E. coli*. *Angewandte Chemie International Edition*, 47, 5186–5189.
- Kasthuri, J., Kathiravan, K., Rajendiram, N., 2009. Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *Journal of Nanoparticle Research*, 11, 1075–1085.
- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., Srinivasan, K., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79 (2011), 594–598.
- Kiran, G.S., Sabu, A., Selvin, J., 2010. Synthesis of silver nanoparticles by glycolipid biosurfactant produced from marine *Brevibacterium casei* MSA19. *Journal of Biotechnology*, 148, 221–225.
- Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E., Granqvist, C.G., 1999. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 13611–13614.
- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K., Paknikar, K.M., 2003. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*, 14 (2003), 95–100.
- Kowshik, M., Deshmukh, N., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K., Paknikar, K.M., 2001. Microbial Synthesis of Semiconductor CdS Nanoparticles, Their Characterization, and Their Use in the Fabrication of an Ideal Diode. *Biotechnology and Bioengineering*, 78, 5, 583-588.
- Kowshik, M., Deshmukh, N., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K., Paknikar, K.M., 2002. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnology and Bioengineering*, 78 (5), 583–588.
- Krumov, N., Oder, S., Perner-Nochta, I., Angelov, A., Posten, C., 2007. Accumulation of CdS nanoparticles by yeasts in a fed-batch bioprocess. *Journal of Biotechnology*, 132 (2007), 481–486.
- Kumar, K.M., Mandal, B.K., Sinha, M., Krishnakumar, V., 2012a. *Terminalia chebula* mediated green and rapid synthesis of gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 86, 490–494.
- Kumar, K.M., Sinha, M., Mandal, B.K., Ghosh, A.R., Kumar, K.S., Reddy, P.S., 2012b. Green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* extract at room

- temperature and their antimicrobial studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 91, 228–233.
- Kumar, S.A., Ansary, A.A., Ahmad, A., Khan, M.I., 2007. Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *Journal Biomedical Nanotechnology*, 3 (2007), 190–194.
- Kundu, D., Hazra, C., Chatterjee, A., Chaudgari, A., Mishra, S., 2014. Extracellular biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Rhodococcus pyridinivorans* NT2: Multifunctional textile finishing, biosafety evaluation and in vitro drug delivery in colon carcinoma. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 140 (2014), 194–204.
- Law, N., Ansari, S., Livens, F.R., Renshaw, J.C., Lloyd, J.R., 2008. Formation of nanoscale elemental silver particles via enzymatic reduction by *Geobacter sulfurreducens*. *Applied Environmental Microbiology*, 74, 7090–7093.
- Lee, J.-H., Han, J., Choi, H., Hur, H.-G., 2007. Effects of temperature and dissolved oxygen on Se(IV) removal and Se(0) precipitation by *Shewanella* sp. HN-41. *Chemosphere* 68, 1898–1905.
- Lengke, M.F., Fleet, M.E., Southam, G., 2006. Morphology of gold nanoparticles synthesized by filamentous cyanobacteria from gold(I)-thiosulfate and gold(III)-chloride complexes. *Langmuir* 22, 2780–2787.
- Lengke, M.F., Fleet, M.E., Southam, G., 2007. Synthesis of palladium nanoparticles by reaction of filamentous cyanobacterial biomass with a palladium(II) chloride complex. *Langmuir* 23, 8982–8987.
- Li, G., He, D., Qian, Y., Guan, B., Gao, S., Cui, Y., Yokoyama, K., Wang, L., 2012. Fungus-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus terreus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 466–476.
- Li, Q., Weng, S., Wu, J., Zhou, N., 1998. Comparative Study on Structure of Solubilized Water in Reversed Micelles. 1. FT-IR Spectroscopic Evidence of Water/AOT/n-heptane and Water/NaDEHP/n-Heptane Systems. *Journal Physical Chemistry B*, 102, 3168–3174.
- Limbach, L.K., Li, Y., Grass, R.N., Brunner, T.J., Hintermann, M.A., Muller, M., Gunther, D., Stark, W.J., 2005. Oxide Nanoparticle Uptake in Human Lung Fibroblasts: Effects of Particle Size, Agglomeration, and Diffusion at Low Concentrations. *Environmental Science & Technology*, 39 (23), 9370–9376.
- Liu, Y.C. and Lin, L.H., 2004. New pathway for the synthesis of ultrafine silver nanoparticles from bulk silver substrates in aqueous solutions by sonoelectrochemical methods. *Electrochemistry Communications*, 6 (2004), 1163–1168.
- Lovley, D.R., Stolz, J.F., Nord G.L., Philips, E.J.P., 1987. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*, 330, 252–254.
- Lukman, A.I., Gong, B., Marjo, C.E., Roessner, U., Harris, A.T., 2011. Facile synthesis, stabilization, and anti-bacterial performance of discrete Ag nanoparticles using *Medicago sativa* seed exudates. *Journal of Colloid and Interface Science*, 15 (2011), 433–444.
- Ma. H., Williams, P.L., Diamond, S.A., 2012. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles. *Environmental Pollution*, 172 (2013), 76–85.

- Marimuthu, S., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Santhoshkumar, T., Kirthi, A.V., Jayaseelan, C., Bagavan, A., Zahir, A.A., Elango, G., Kamaraj, C., 2011. Evaluation of green synthesized silver nanoparticles against parasites. *Parasitol Res* 108 (2011), 1541–1549.
- Marshall, M.J., Beliaev, A.S., Dohnalkova, A.C., Kennedy, D.W., Shi, L., Wang, Z., Boyanov, M.I., Lai, B., Kemmer, K.M., McLean, J.S., Reed, S.B., Culley, D.E., Bailey, V.L., Simonson, C.J., Saffarini, D.A., Romine, M.F., Zachra, J.M., Frederickson, J.K., 2006. c-Type cytochrome-dependent formation of U(IV) nanoparticles by *Shewanella oneidensis*. *PLoS Biol.* 4, e268.
- Mata, Y.N., Torres, E., Blázquez, M.L., Ballester, A., González, F., Muñoz, J.A., 2009. Gold(III) biosorption and bioreduction with the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Journal of Hazardous Materials*, 166, 612–618.
- Mikheenko, I.P., Rousset, M., Dementin, S., Macaskie, L.E., 2008. Bioaccumulation of palladium by *Desulfovibrio fructosivorans* wild-type and hydrogenase-deficient strains. *Applied Environmental Microbiology*, 74, 6144–6146.
- Milligan, A.J. and Morel, F.M.M., 2002. A Proton Buffering Role for Silica in Diatoms. *Science*, 297, 1848-1850.
- Moon, J.-W., Rawn, C.J., Rondinone, A.J., Love, L.J., Roh, Y., Everett, S.M., Lauf, R.J., Phelps, T.J., 2010. Large-scale production of magnetic nanoparticles using bacterial fermentation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 37, 1023–1031.
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, S.R., Khan, M.I., Parishcha, R., Ajaykumar, P.V., Alam, M., Kumar, R., Sastry, M., 2001. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letters*, 1 (10), 515–519.
- Musarrat, J., Dwivedi, S., Singh, B.S., Al-Khedhairi, A.A., Azam, A., Naqvi, A., 2010. Production of antimicrobial silver nanoparticles in water extracts of the fungus *Amylomyces rouxii* strain KSU-09. *Bioresource Technology*, 101 (2010), 8772–8776.
- Nandre, S.J., Shitole, S.J., Ahire, R.R., 2012. Study of Growth, EDAX, Optical properties and Surface Morphology of Zinc Tartrate Crystals. *Journal Of Nano-And Electronic Physics*, 4 (4), 1-4.
- Narayanan, K.B. and Sakthivel. N., 2010. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156 (2010) 1-13.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li, N., 2006. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science*, 311, 622-627.
- Ng, C.K., Sivakumar, K., Liu, X., Madhaiyam, M., Ji, L., Yang, L., Tang, C., Song, H., Kjelleberg, S., Cao, B., 2013. Influence of Outer Membrane c-Type Cytochromes on Particle Size and Activity of Extracellular Nanoparticles Produced by *Shewanella oneidensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 110 (7), 1831-1837.
- Nolasco-Arismendi, V., Morales-Luckie, R., Sánchez-Mendieta, V., Hinestroza, J.P., Castro-Longoria, E., Vilchis-Nestor, A.R., 2012. Formation of silk-gold nanocomposite fabric using grapefruit aqueous extract. *Textile Research Journal*, 83 (12), 1229-1235.

- Özer, Y., 2008. Nanobilim Ve Nanoteknoloji: Ülke Güvenliği / Etkinliği Açısından Dogru Modelin Belirlenmesi. Y. Lisans Tezi, Savunma Bilimleri Enstitüsü, Kara Harp Okulu.
- Panda, K.K., Achary, V.M., Krishnaveni, R., Padhi, B.K., Sarangi, S.N., Sahu, S.N., Panda, B.B., 2011. In vitro biosynthesis and genotoxicity bioassay of silver nanoparticles using plants. *Toxicology In Vitro*, 25, 1097–1105.
- Park, T.J., Lee, S.Y., Heo, N.S., Seo, T.S., 2010. In vivo synthesis of diverse metal nanoparticles by recombinant *Escherichia coli*. *Angewandte Chemie International Edition*, 49, 7019–7024.
- Petit, C., Jain, T.K., Billoudet, F., Pileni, M.P., 1994. Oil in Water Micellar Solution Used to Synthesize CdS Particles: Structural Study and Photoelectron Transfer Reaction. *Langmuir*, 10, 4446-4450.
- Philip, D., 2010. Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus rosa sinensis*. *Physica E* 42, 1417–1424.
- Pimprikar, P.S., Joshi, S.S., Kumar, A.R., Zinjarde, S.S., Kulkarni, S.K., 2009. Influence of biomass and gold salt concentration on nanoparticles synthesis by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74 (2009), 309–316.
- Prakasham, R.S., Buddana, S.K., Yannam, S.K., Guntuku, G.S., 2012. Characterization of silver nanoparticles synthesized by using marine isolate *Streptomyces albidoflavus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22 (5), 614–621.
- Presland, K., 2010. Synthesis, Properties and Applications of Cadmium Based Nanoparticles Emitting from 400 – 750 nm. Doctor of Philosophy, Faculty of Engineering and Physical Sciences, Manchester.
- Quester, K., Avalos-Borja, M., Castro-Longoria, E., 2013. Biosynthesis and microscopic study of metallic nanoparticles. *Micron*, 54-55 (2013), 1-27.
- Rajakumar, G., Rahuman, A.A., Roopan, S.M., Khanna, V.G., Elango, G., Kamaraj, C., Zahir, A.A., Velayutham, K., 2012. Fungus-mediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 91 (2012), 23–29.
- Ramakrishna, G. and Ghosh, H.N., 2003. Effect of Particle Size on the Reactivity of Quantum Size ZnO Nanoparticles and Charge-Transfer Dynamics with Adsorbed Catechols. *Langmuir*, 19 (7), 3006-3012.
- Ramanathan, R., O'Mullane, A.P., Parikh, R.Y., Smooker, P.M., Bhargava, S.K., Bansal, V., 2011. Bacterial kinetics-controlled shape-directed biosynthesis of silver nanoplates using *Morganella psychrotolerans*. *Langmuir*, 27, 714–719.
- Ramanavicius, A., Kausaite, A., Ramanaviciene, A., 2004. Biofuel cell based on direct bioelectrocatalysis. *Biosensors and Bioelectronics*, 20 (2005), 1962-1967.
- Ramsden, J., 2009. *Essential of Nanotechnology*. Jeremy Ramsden & Ventus Publishing ApS, 1-126.
- Raveendran, P., Fu, J., Wallen, S.L., 2003. Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal American Chemical Society*, 125 (46), 13940-13941.
- Reddy, A.S., Chen, C.Y., Chen, C.C., Jean, J.S., Chen, H.R., Tseng, M.J., Fan, C.W., Wang, J.C., 2010. Biological synthesis of gold and silver nanoparticles mediated

- by the bacteria *Bacillus subtilis*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10, 6567–6574.
- Reetz, M.T. and Helbig, W., 1994. Size-Selective Synthesis of Nanostructured Transition Metal Clusters. *Journal American Chemical Society*, 116, 7401-7402.
- Riddin, T.L., Gericke, M., Whiteley, C.G., 2006. Analysis of the inter- and extracellular formation of platinum nanoparticles by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using response surface methodology. *Nanotechnology*, 17 (2006), 3482–3489.
- Sadhasivam, S., Shammugam, P., Yun, K., 2010. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces hygroscopicus* and antimicrobial activity against medically important pathogenic microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81, 358–362.
- Sadhasivam, S., Shanmugam, P., Veerapandian, M., Subbiah, R., Yun, K., 2012. Biogenic synthesis of multidimensional gold nanoparticles assisted by *Streptomyces hygroscopicus* and its electrochemical and antibacterial properties. *Biometals*, 25, 351–360.
- Sangeetha, G., Rajeshwari, S., Venckatesh, R., 2011. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin*, 46 (2011), 2560-2566.
- Santhoshkumar, T., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Bagavan, A., Jayaseelan, C., Zahir, A.A., Elango, G., Kamaraj, C., 2011. Synthesis of silver nanoparticles using *Nelumbo nucifera* leaf extract and its larvicidal activity against malaria and filariasis vectors. *Parasitol Res* 108 (2011), 693–702.
- Saravanan, M. and Nanda, A., 2010. Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77 (2010), 214–218.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S.W., Cho, C.-W., Kim, S., Yun, Y.-S., 2009. *Cinnamon zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73 (2009), 332–338.
- Satyavani, K., Gurudeeban, S., Ramanathan, T., Balasubramanian, T., 2011. Biomedical potential of silver nanoparticles synthesized from calli cells of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Journal of Nanobiotechnology*, 9 (43), 1-8.
- Schabes-Retchkiman, P.S., Canizal, G., Herrera-Becerra, R., Zorilla, C., Liu, H.B., Ascencio, J.A., 2006. Biosynthesis and characterization of Ti/Ni bimetallic nanoparticles. *Optical Materials*, 29 (2006), 95–99.
- Schmid, G., 1992. Large Clusters and Colloids. *Metals In the Embryonic State Chemical Reviews*, 92, 1709-1727.
- Senapati, S., Ahmad, A., Khan, M.I., Sastry, M., Kumar, R., 2005. Extracellular biosynthesis of bimetallic Au–Ag alloy nanoparticles. *Small*, 1 (5), 517–520.
- Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M., 2005. Controlling the optical properties of lemongrass extract synthesized gold nanotriangles and potential application in infrared-absorbing optical coatings. *Chem. Materials*, 17 (3), 566–572.
- Singaravelu, G., Arockiamary, J.S., Kumar, V.G., Govindaraju, K., 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57, 97–101.

- Sinha, A. and Khare, S.K., 2011. Mercury bioaccumulation and simultaneous nanoparticle synthesis by *Enterobacter* sp. cells. *Bioresource Technology*, 102, 4281–4284.
- Song, J.Y., Jang, H.-K., Kim, B.S., 2009. Biological synthesis of gold nanoparticles using *Magnolia kobus* and *Diopyros kaki* leaf extracts. *Process Biochemistry*, 44 (2009), 11133–11138.
- Spring, S. and Schleifer, K.H., 1995. Diversity of magnetotactic bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 18, 147–153.
- Stefanidou, M., Maravelias, C., Dona, A., Spiliopoulou, C., 2005. Zinc: a multipurpose trace element. *Arch Toxicol*, 80 (2006), 1-9.
- Subarani, S., Sabhanayakam, S., Kamaraj, C., 2013. Studies on the impact of biosynthesized silver nanoparticles (AgNPs) in relation to malaria and filariasis vector control against *Anopheles stephensi* Liston and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res* 112 (2013), 487–499.
- Suriya, J., Bharathi Raja, S., Sekar, V., Rajasekaran, R., 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity using seaweed *Urospora* sp. *African Journal of Biotechnology*, 11, 12192–12198.
- Tian, X., He, W., Cui, J., Zhang, X., Zhou, W., Yan, S., Sun, X., Han, X., Han, S., Yue, Y., 2010. *Mesoporous zirconium phosphate* from yeast biotemplate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 343 (2010), 344–349.
- Tok, A.I.Y., Boey, F.Y.C., Dong, Z., Sun, X.L., 2007. Hydrothermal synthesis of CeO₂ nano-particles. *Journal of Materials Processing Technology*, 190 (2007) 217-222.
- Tütünoğlu, Ç., 2007. Nanoteknolojik Prosesler İle Nikel Tozu Üretimi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Urnov, F.D., Miller, J.C., Lee, Y., Beasjour, C.M., Rock, J.M., Augustus, S., Jamieson, A.C., Porteus, M.H., Gregory, P.D., Holmes, M.C., 2005. Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases. *Nature*, 435, 646-651.
- Vaidyanathan, R., Gopalram, S., Kalishwaralal, K., Deepak, V., Pandian, S.R.K., Gurunathan, S., 2010. Enhanced silver nanoparticle synthesis by optimization of nitrate reductase activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75, 335–341.
- Velayutham, K., Rahuman, A.A., Rajakumar, G., Roopan, S.M., Elango, G., Kamaraj, C., Marimuthu, S., Santhoskumar, T., Iyappan, M., Siva, C., 2013. Larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using bark aqueous extract of *Ficus racemosa* against *Culex quinquefasciatus* and *Culex gelidus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6 (2013), 95–101.
- Vigneshwaran, N., Kathe, A.A., Varadarajan, P.V., Nachane, R.P., Balasubramanya, R.H., 2007. Silver–protein (Core–Shell) nanoparticle production using spent mushroom substrate. *Langmuir*, 23 (13), 7113–7117.
- Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Y., Jiao, F., Zhao, Y., Chai, Z., 2006. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168 (2007), 176-185.
- Williams, L. and Adams, W., 2007. *Nanotechnology Demystified*. The McGraw-Hill Companies, 362, USA.

- Wörner, M., Lioubashevski, O., Basel, M.T., Niebler, S., Gogritchiani, E., Egner, N., Heinz, C., Hoferer, J., Cipolloni, M., Janik, K., Katz, E., Braun, A.M., Willner, I., Niederweis, M., Bossmann, S.H., 2007. Characterization of nanostructured surfaces generated by reconstitution of the porin Msp from *Mycobacterium smegmatis*. *Small*, 3, 1084–1097.
- Xie, J., Lee, J.Y., Wang, D.I.C., Ting, Y.P., 2007a. Identification of Active Biomolecules in the High-Yield Synthesis of Single-Crystalline Gold Nanoplates in Algal Solutions. *Small*, 3(4), 672-682.
- Xie, J., Lee, J.Y., Wang, D.I.C., Ting, Y.P., 2007b. Silver Nanoplates: From Biological to Biomimetic Synthesis. *American Chemical Society*, 1(5), 429-439.
- Yalçın, K.A., 2010. Nanoteknoloji ve Gıda Sanayiinde Uygulama Alanları. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Tanyolaç, B., Kaya, H.B., Soya, S., Akkale, C., 2010. Biyoteknoloji ve Biyoinformatik. Moleküler Biyoloji, Ed: Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 601-638.
- Yıldız, N., 2011. Gümüş Nanopartiküllerinin Liken Özü İle Biyosentezi, Ankara.
- Zhang, H., Li, Q., Wang, H., Sun, D., Lu, Y., He, N., 2007. Accumulation of silver(I) ion and diamine silver complex by *Aeromonas* SH10 biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 143 (2007), 54–62.
- Zhu, B.L., Xie, C.S., Zeng, D.W., Song, W.L., Wang, A.H., 2005. Investigation of gas sensitivity of Sb-doped ZnO nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics* 89, 148-153.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında İzmir’de doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2008 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2012’de Biyolog olarak mezun oldu. 2013 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisans öğrenimine başladı.