T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALGLERDEN YEŞİL SENTEZ İLE METALİK NANOPARTİKÜLLERİN ÜRETİM OPTİMİZASYONU VE BU NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYAL ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Anıl Tevfik KOÇER

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Ocak, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALGLERDEN YEŞİL SENTEZ İLE METALİK NANOPARTİKÜLLERİN ÜRETİM OPTİMİZASYONU VE BU NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYAL ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Anıl Tevfik KOÇER tarafından hazırlanan tez çalışması 20.01.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Musa TÜRKER, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Fatma Gülen İSKENDER, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Melek Mümine EROL TAYGUN, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Alglerden Yeşil Sentez ile Metalik Nanopartiküllerin Üretim Optimizasyonu ve Bu Nanopartiküllerin Antibakteriyal Etkinliklerinin İncelenmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Anıl Tevfik KOÇER

İmza

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü' nün FDK-2019-3816 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Oğluma ve

Biricik eşime…

TEŞEKKÜR

Tüm lisans, yüksek lisans ve doktora eğitim hayatım boyunca beni hep doğrulara yönlendiren, akademik alanda başarılı bir şekilde ilerleyebilmem için beni teşvik eden ve her daim destekleyen, beni çok farklı araştırma alanlarına katarak benim bu alanlarda bilgi, beceri ve tecrübe kazanmamı sağlayan, kısacası hayatımın iyi yönde ilerleyebilmesi için elinden geleni yapan doktora danışmanım Prof. Dr. Didem Özçimen'e;

Doktora tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın sağlıklı bir şekilde ilerlemesinde katkıda bulunan tez izleme komitesindeki hocalarım Prof. Dr. Melek Mümine Erol Taygun'a ve Doç. Dr. Cem Bülent Üstündağ'a;

Tez çalışmam boyunca her türlü maddi ve manevi destekten dolayı Dr. Öğr. Üyesi Benan İNAN, Meyrem VEHAPİ ve diğer laboratuvar arkadaşlarıma;

Tez dönemi boyunca moral ve motivasyonumu yüksekte tutan ve bana her daim destekleyen eşim Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOÇER'e ve varlığıyla tüm dertleri ve zorlukları unutturan oğlum Ali Ekin KOÇER'e;

Bana her zaman güvenen ve her koşulda destek veren ailem, akrabalarım ve dostlarıma;

Ve son olarak doktora sürecimin sağlıklı bir şekilde ilerleyebilmesi için gereken maddi desteği sağlayan "2211 A Yurt İçi Genel Doktora Bursu" için TÜBİTAK BİDEB'e ve "100/2000 YÖK Doktora Bursu" için YÖK'e teşekkür ederim.

Anıl Tevfik KOÇER

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ ix
KISALTMA LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xi
TABLO LİSTESİ xiii
ÖZET xv
ABSTRACT xvii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 3
1.3 Hipotez 3
2 ALGAL BİYOKÜTLE 5
2.1 Algal Biyokütle Hakkında Genel Bilgi 5
2.1.1 Alglerin Sınıflandırılması 5
2.1.2 Alglerin Yetiştirilmesi 6
2.1.3 Alglerin kullanım alanları 8
2.2 Deneysel Yöntem 9
2.2.1 Makroalglerin Toplanması 9
2.2.2 Mikroalglerin Yetiştirilmesi 9
2.2.3 Alglerin Karakterizasyonları 11
2.3 Sonuçlar ve Tartışma 14
2.3.1 Seçilen Alg Türlerinin Özellikleri 14
2.3.2 Mikroalglerin Büyüme Sonuçları 15
2.3.3 Alglerin Karakterizasyon Sonuçları 16
3 NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ 21
3.1 Metalik Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi 21
3.1.1 Metalik Nanopartikül Üretim Yöntemleri 22
3.1.2 Yeşil Sentez 23
3.1.3 Yeşil Sentezde Alglerin Kullanımıyla İlgili Literatür Taraması 25
3.2 Deneysel Yöntem 27
3.2.1 Biyokütle Ekstraksiyonu ve Çözeltilerin Hazırlanması 27
3.2.2 Yeşil Sentezle Nanopartikül Üretimi 27

3.2.3 İstatistiksel Analiz 28
3.3 Sonuçlar ve Tartışma 29
3.3.1 *Ulva lactuca*'dan Nanopartikül Üretimi 29
3.3.2 *Halopteris scoparia*'dan Nanopartikül Üretimi 35
3.3.3 *Chlorella variabilis*'ten Nanopartikül Üretimi 41
3.3.4 *Botryococcus braunii*'den Nanopartikül Üretimi 47
3.3.5 Yeşil Sentez Mekanizması ve Parametrelerin NP üzerine etkileri 51
4 NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONLARI 55
4.1 Nanopartikül Karakterizasyonuyla Alakalı Genel Bilgi 55
4.1.1 Dinamik Işık Saçılması 55
4.1.2 Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi 56
4.1.3 X-Işını Kırınım Spektroskopisi 56
4.1.4 Taramalı Elektron Mikroskopisi 56
4.1.5 Geçirimli Elektron Mikrosopisi 57
4.1.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi 57
4.1.7 Termogravimetrik Analiz 57
4.2 Deneysel Yöntem 58
4.2.1 Nanopartiküllerin Üretim Koşulları 58
4.2.2 UV-Vis Analizi 59
4.2.3 DLS Analizi 59
4.2.4 FTIR Analizi 59
4.2.5 SEM Analizi 60
4.2.6 XRD Analizi 60
4.3 Sonuçlar ve Tartışma 60
4.3.1 UL'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları 60
4.3.2 HS'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları 67
4.3.3 CV'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları 74
4.3.4 BB'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları 81
5 NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYAL ETKİLERİ 89
5.1 Antimikrobiyal Aktivite ile Alakalı Genel Bilgiler 89
5.1.1 NP'lerin Antibakteriyal Etkileriyle İlgili Literatür Taraması 91
5.2 Deneysel Yöntem 94
5.2.1 Mikroorganizmaların yetiştirilmesi 94
5.2.2 Disk Difüzyon Yöntemi 94
5.3 Sonuçlar ve Tartışma 94

5.3.1 UL-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri 94
5.3.2 HS-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri 98
5.3.3 CV-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri 100
5.3.4 BB-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri 102
6 SONUÇ VE ÖNERİLER **105**
KAYNAKÇA **118**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **136**

SİMGE LİSTESİ

C	Celcius
cm^{-1}	Dalga sayısı
g	Gram
t_d	İkilenme süresi
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
N	Normal
cm	Santimetre
µ	Spesifik büyüme hızı

KISALTMA LİSTESİ

ANOVA	Varyans Analizi
ASTM	Amerikan Test ve Malzeme Kurumu
ATCC	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
ATR	Azaltılmış Toplam Yansıma
BBED	Box-Behnken Deneysel Tasarım
BBM	Bold Basal Medium
BSA	Bovin Serum Albumin
CECT	İspanyol Tip Kültür Koleksiyonu
CVD	Kimyasal Buhar Biriktirme
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spekrometresi
MNP	Metalik Nanopartikül
NP	Nanopartikül
OD	Optik Yoğunluk
PDI	Polidispersite İndeksi
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RSM	Yüzey Yanıt Yöntemi
SAG	Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopu
TGA	Termogravimetrik Analiz
TPC	Toplam Fenolik İçerik
UV	Ultraviyole
XRD	X Işını Difraktometre

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1 Makroalgler ve kuru halleri 9

Şekil 2. 2 Petride ve erlende yetiştirilen mikroalgler ve kuru halleri 10

Şekil 2. 3 Mikroalglerin mikroskop görüntüleri a) *Chlorella variabilis* ve b) *Botryococcus braunii* 15

Şekil 2. 4 Mikroalglerin büyüme ve verimlilik grafikleri 16

Şekil 2. 5 Alglerin FTIR spektrumları 19

Şekil 3. 1 MNP üretimi için aşağıdan yukarı yaklaşım ve yukarıdan aşağı yaklaşım 23

Şekil 3. 2 Yeşil sentez reaksiyonunun şematik gösterimi 24

Şekil 3. 3 Sentez koşullarının UL ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri 31

Şekil 3. 4 Sentez koşullarının HS ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri 38

Şekil 3. 5 Sentez koşullarının CV ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri 43

Şekil 3. 6 Sentez koşullarının BB ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri 48

Şekil 4. 1 UV-Visible spektrofotometre 59

Şekil 4. 2 Zetasizer cihazı 59

Şekil 4. 3 FTIR spektrometresi 60

Şekil 4. 4 UL-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) UL-AgNP'ler 61

Şekil 4. 5 UL-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 62

Şekil 4. 6 UL-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) UL-FeONP'ler 63

Şekil 4. 7 UL-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 64

Şekil 4. 8 UL-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) UL-CuONP'ler 65

Şekil 4. 9 UL-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) f) FTIR 66

Şekil 4. 10 HS-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) HS-AgNP'ler 68

Şekil 4. 11 HS-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 69

Şekil 4. 12 HS-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) HS-FeONP'ler 70

Şekil 4. 13 HS-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 71

Şekil 4. 14 HS-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) HS-CuONP'ler 72

Şekil 4. 15 HS-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 73

Şekil 4. 16 CV-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) CV-AgNP'ler 75

Şekil 4. 17 CV-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 76

Şekil 4. 18 CV-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) CV-FeONP'ler 77

Şekil 4. 19 CV-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 78

Şekil 4. 20 CV-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) CV-CuONP'ler 79

Şekil 4. 21 CV-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 80

Şekil 4. 22 BB-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) BB-AgNP'ler 82

Şekil 4. 23 BB-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 83

Şekil 4. 24 BB-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) BB-FeONP'ler 84

Şekil 4. 25 BB-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 85

Şekil 4. 26 BB-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) BB-CuONP'ler 86

Şekil 4. 27 BB-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR 87

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1 Literatürdeki bazı mikroalglerin büyüme kinetikleri verileri 16
Tablo 2. 2 Alglerin karakterizasyon sonuçları 17
Tablo 2. 3 Alglerin FTIR spektrumundan okunan pikler 20
Tablo 3. 1 İncelenen parametreler ve bunların seviyeleri..... 29
Tablo 3. 2 UL ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları..... 34
Tablo 3. 3 UL'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi..... 35
Tablo 3. 4 UL'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar..... 35
Tablo 3. 5 HS ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları..... 40
Tablo 3. 6 HS'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi..... 41
Tablo 3. 7 HS'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar..... 41
Tablo 3. 8 CV ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları..... 45
Tablo 3. 9 CV'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi..... 46
Tablo 3. 10 CV'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar..... 46
Tablo 3. 11 BB ekstraktı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları..... 50
Tablo 3. 12 BB'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi..... 51
Tablo 3. 13 BB'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar..... 51
Tablo 4. 1 MNP Karakterizasyonu için kullanılan analizler 55
Tablo 4. 2 MNP'lerin sentezlenme koşulları 58
Tablo 4. 3 UL ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri 67
Tablo 4. 4 HS ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri 74
Tablo 4. 5 CV ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri 81
Tablo 4. 6 BB ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri 88
Tablo 5. 1 MNP'lerin antibakteriyal aktiviteleriyle alakalı literatürdeki bazı çalışmalar..... 93

Tablo 5. 2 UL-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturduları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm)..... 97

Tablo 5. 3 HS-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturduları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm).....100

Tablo 5. 4 CV-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturduları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm).....102

Tablo 5. 5 BB-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturduları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm).....104

ÖZET

Alglerden Yeşil Sentez ile Metalik Nanopartiküllerin Üretim Optimizasyonu ve Bu Nanopartiküllerin Antibakteriyal Etkinliklerinin İncelenmesi

Anıl Tevfik KOÇER

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Metalik nanopartiküllerin (MNP) sentezinde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler, karmaşık, pahalı ve çevreye zararlı süreçlerden oluşmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmek için araştırmacılar yeşil sentez veya biyosentez adı verilen MNP üretim yöntemine yönelmişlerdir. Bu tez çalışmasında, *Ulva lactuca, Halopteris scoparia* makroalgleri ile *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001, *Botryococcus braunii* mikroalglerinin ekstraktlarından yeşil sentez yoluyla gümüş (AgNP), demir-oksit (FeONP) ve bakır-oksit (CuONP) NP'lerin üretimi, yeşil sentez parametrelerinin NP boyutuna olan etkilerinin belirlenmesi, yeşil sentez reaksiyonun optimizasyonu ve optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin antibakteriyal aktivitelerinin belirlenmesi amaçlamaktadır. Bu kapsamda, pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonuyla algal ekstraktın karışım oranı gibi proses parametrelerinin NP boyutu üzerindeki etkileri Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmiş ve optimum koşullarda üretilen MNP'lerin karakterizasyonları yapıldıktan sonra *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 türü

gram pozitif bakteriler ve *Escherichia coli* CECT 4972 ve *Salmonella typhi* ATCC 14028 türü gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Yapılan yeşil sentez deneyleri sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde her alg türünden sentezlenen MNP'lerin boyutları pH arttıkça azalırken; metal tuzu solüsyon oranı arttıkça artmıştır. Sıcaklık parametresinin ise MNP boyutuna herhangi bir lineer etki göstermediği görülmüştür. Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda elde edilen polinomal denklemlerin p değerleri 0.01'den küçük, korelasyon katsayıları ise 0.90'dan büyük olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda belirlenen optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin küre benzeri şekillerde olduğu ve çaplarının yaklaşık 35 nm ile 75 nm arasında değiştiği görülmüştür. Antibakteriyal aktivite analizlerinde ise her MNP türünün kullanılan patojenlere karşı antibakteriyal etki gösterdiği ve yaklaşık 8 ile 18 mm arasında inhibisyon bölgesi oluşturduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile algal biyokütlelerin antibakteriyal etkinliği olan ve geleneksel yöntemlerle sentezlenen MNP'lerle benzer MNP'lerin yeşil sentezinde rahatlıkla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Alglerden yeşil sentezlenmiş MNP'lerin gelecekteki araştırmaları, tıp ve kozmetik gibi alanlarda antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılması açısından oldukça önemli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Yeşil sentez, metalik nanopartiküller, algal biyokütle, istatistiksel analiz, antibakteriyal aktivite

ABSTRACT

Production Optimization of Metallic Nanoparticles by Green Synthesis from Algae And Investigation of Antibacterial Activities of These Nanoparticles

Anıl Tevfik KOÇER

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN

The physical and chemical methods used in the synthesis of metallic nanoparticles (MNPs) consist of complex, expensive and environmentally harmful processes. To overcome these problems, researchers have turned to MNP production method called green synthesis or biosynthesis. In this thesis study, the production of silver (AgNP), iron-oxide (FeONP) and copper-oxide (CuONP) NPs from the aqueous extracts of *Ulva lactuca, Halopteris scoparia* macroalgae and *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001*, Botryococcus braunii* microalgae by green synthesis, the determination of the effects of green synthesis parameters on NP size, the optimization of green synthesis reactions and the determination the antibacterial activities of MNPs synthesized under optimum conditions were aimed. In this context, the effects of process parameters such as pH, temperature and metal salt solution ratio on NP size were statistically investigated and the antibacterial effects of MNPs produced under optimum conditions against *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 gram positive bacteria and *Escherichia coli* CECT 4972 ve *Salmonella typhi* ATCC 14028

gram negative bacteria were determined. When the findings obtained as a result of the green synthesis experiments are examined, the sizes of MNPs synthesized from each algae species decrease as the pH increases; increased as the metal salt solution ratio increased. It was observed that the temperature parameter did not show any linear effect on the MNP size. The p values of the polynomial equations obtained as a result of the statistical analysis performed with the Box-Behnken experimental design method were calculated as less than 0.01 and the correlation coefficients as greater than 0.90. As a result of the statistical analysis, it was observed that the MNPs synthesized in the optimum conditions determined were spherical in shape and their diameters ranged from approximately 35 nm to 75 nm. In the antibacterial activity analysis, it was determined that each MNP species showed antibacterial activity against the pathogens used and formed an inhibition zone of approximately 8 to 18 mm. With this study, it was concluded that algal biomass can be easily used in the green synthesis of MNPs, which have antibacterial activity and are similar to MNPs synthesized by traditional methods. Future research of green synthesized MNPs from algae will be very important for its use as an antimicrobial agent in fields such as medicine and cosmetics.

Keywords: Green synthesis, metallic nanoparticles, algal biomass, statistical analysis, antibacterial activity.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Nanoteknoloji, yaşamın her alanına fayda sağlama potansiyeli nedeniyle yirmi birinci yüzyıldaki teknolojik gelişmelerin arkasındaki ana itici güç olarak kabul edilmektedir [1]. Özellikle metalik nanoparçacıklar (MNP'ler), yüksek yüzey alanları ve birçok farklı özelliği nedeniyle her zamankinden daha çok uygulama alanı bulmakta ve dünya çapında büyük ilgi görmektedir [2], [3]. Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), demir-oksit nanopartiküller (FeONP'ler) ve bakır-oksit nanopartiküller (CuONP'ler), özellikle birçok patojenik mikroorganizma türüne karşı olağanüstü antimikrobiyal etkileri nedeniyle, metalik nanopartiküller arasında yer alan ve son yıllarda araştırmacıların en çok üzerinde durdukları konulardandır [4], [5]. MNP'ler, antimikrobiyal özelliklerine ek olarak, benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı biyotıp, su arıtma, tarım, eczacılık ve diğerleri gibi birçok bilimsel alanda büyük bir role sahiptir [5]. Bu bağlamda bu nanoparçacıkların hızlı, kolay, ucuz ve güvenli bir şekilde sentezlenmesi ve güvenli kullanım yöntemlerinin birleştirilmesi çok önemli hale gelmiştir. Günümüzde MNP'ler çoğunlukla fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilmektedir. Bu yöntemler nanoparçacık sentezi için popüler olmakla birlikte, toksik kimyasal gereksinimler ve farklı hedef moleküllere ihtiyaç gibi faktörler ve yüzey aktif maddeler gibi maddeler bu yöntemlerin en büyük sorunlarıdır [6], [7]. Bu nedenle araştırmacılar alternatif yöntemler aramaya başlamışlar ve biyolojik kaynaklar kullanılarak NP'lerin elde edilebileceğini ve bu NP'lerin birçok ileri teknolojik alanda kullanılabileceğini fark etmişlerdir [8].

Yeşil sentez veya biyosentez, biyolojik kaynaklar tarafından sentezlenen flavonoidler, karotenoidler, pigmentler, enzimler ve proteinler gibi yapılar sayesinde metal tuzlarından nanopartiküllerin indirgendiği aşağıdan yukarıya bir yaklaşımla nanopartikül üretim yöntemidir. Bu yöntem ile çok küçük boyutlarda ve istenilen şekillerde AgNP'ler hızlı, kolay, ucuz ve güvenli bir şekilde

sentezlenebilmekte ve elde edilen nanopartiküller geniş bir spektrumda değerlendirilebilmektedir [9]. Bitkiler, mantarlar, bakteriler, algler ve mikroalgler gibi biyokütle yeşil sentez ile AgNP'lerin üretiminde kullanılmaktadır. Örneğin, Chandran vd. [10], Ahmed vd. [11] ve Ping vd. [12] sırasıyla aloe vera, neem ve üzüm çekirdeği kullanarak yeşil sentezli AgNP'ler üretmiştir. Saxena vd. [13] ve Koilparambil vd. [14], AgNP'lerin biyosentezi için sırasıyla *S. sclerotiorum* mantarını ve *E. coli* bakterisini kullanmışlardır. Bhuyar vd. [4], Kannan vd. [15] ve Vijayan vd. [16], farklı makroalg türlerinden MNP'lerin yeşil sentezini araştırdı. Groiss vd. [17], *Cynometra ramiflora*'nın yapraklarının özünden demir oksit nanoparçacıkları üretmiş ve bunların antibakteriyal ve katalitik etkilerini incelemiştir.

Makroalgler, karmaşık üreme sistemleri olmayan, fotosentetik pigmentlere sahip ilkel bitki benzeri organizmalar olarak tanımlanabilir [18]. Ekolojik olarak gerekli birçok işlevi yerine getiren makroalgler, gıda, hayvansal besin maddeleri ve toprak katkı maddeleri gibi de değerlendirilebilmektedir. Birçok makroalg türü, gıda ve kozmetik endüstrisi için yaygın olarak üretilmektedir [19]. Yüksek büyüme hızları, nitrojen ve fosfor gibi maddeleri asimile edebilmeleri ve ağır metaller gibi belirli elementleri tutabilmeleri nedeniyle atık suların arıtımında kullanılabilirler. Ayrıca makroalgler, deniz ve okyanuslardaki biyolojik çeşitlilikleri nedeniyle nitrojen ve fosforca zengin ütopik sular için sağlıklı bir çözüm olarak önerilmektedir [20]. Mikroalgler ise, kolay çoğalabilmeleri, birçok önemli ikincil metabolit üretebilmeleri ve biyorafineri yaklaşımı ile birçok önemli alanda değerlendirilebilmeleri nedeniyle ekonomik anlamlda büyük potansiyele sahip bir biyokütle kaynağıdır [21]. Bu nedenlerden dolayı, mikroalglerin de oldukça fazla biyoteknolojik kullanımı vardır. Örneğin birçok araştırmacı bazı mikroalg türlerinin yüksek lipit içeriği nedeniyle biyodizel endüstrisi için oldukça uygun olduğunu bildirmiştir [22]. Lipidlerin yanı sıra ekzopolisakarit, karotenoid, pigment, vitamin gibi önemli biyomoleküller açısından da zengin olduğu için mikroalglerin sağlık ve gıda endüstrilerinde kullanılabileceği öngörülmektedir [23].

1.2 Tezin Amacı

NP'lerin kimyasal yollarla sentezlenmesi en sık tercih edilen yöntem olmakla birlikte bu yöntemlerde toksik kimyasalların kullanılması insanları alternatif yollar aramaya yöneltmiştir. Bunun sonucunda yakın zamanda biyolojik kaynaklar kullanılarak NP elde edilebileceği ve bu NP'lerin birçok alanda kullanılabileceği öngörülmüştür. Literatürdeki bu konuyla alakalı çalışmalar incelendiğinde bitki, bakteri, mantar ve alg biyokütlelerinin NP üretimi için oldukça uygun hammaddeler olduğu görülmektedir. Bu bağlamda tez çalışmasında son zamanların en önemli biyokütlelerinden olan makro ve mikroalglerden MNP üretimi gerçekleştilecektir.

Bu tez çalışmasının temel amacı farklı türdeki makro ve mikroalgal biyokütleler kullanılarak yeşil sentezle MNP'lerin üretilmesi ve üretim koşullarının NP'lerin boyutlarına olan etkilerinin istatistiksel olarak incelenmesidir. Ayrıca elde edilen MNP'lere çeşitli karakterizasyon analizleri yapıldıktan sonra bunların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi bu tez çalışmasının amaçlarından birisidir. Bu bağlamda tez çalışmasında, *Ulva lactuca*, *Halopteris scoparia* türü makroaglerden ve *Chlorella variabilis, Botryococcus braunii* türü mikroalglerden yeşil sentezle AgNP'ler, FeONP'ler ve CuONP'ler üretilmiştir. Tez çalışması kapsamında ilk olarak seçilen makro ve mikroalgal biyokütlenin toplanması ve yetiştirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra elde edilen biyokütleler su ile ekstrakte edilip ve ekstraktlar nanopartikül üretiminde kullanılmıştır. Bu aşamada nanopartikül üretimine çeşitli parametrelerin (sıcaklık, pH, metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı) etkileri de incelenerek, optimizasyon çalışması yapılmıştır. Elde edilen nanopartiküllerin karakterizasyonları yapıldıktan sonra antimikrobiyal ajan olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesi için antibakteriyal aktivite analizleri yapılmıştır.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında farklı makro ve mikroalg türlerinin sulu ekstraktlarından yeşil sentezle AgNP, FeONP ve CuONP üretiminin optimizasyonu, bazı yeşil sentez parametrelerinin MNP boyutuna olan etkilerinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak incelenmesi, belirlenen optimum

koşullarda üretilen bu MNP türlerinin karakterizasyonlarının yapılması ve bunların patojenik bakterilere karşı antibakteriyal aktivitelerinin incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda yapılan litetürdeki çalışmalar incelendiğinde alglerden yeşil sentezle MNP üretiminin optimizasyonu ve parametre etkilerinin belirlenmesiyle alakalı bir boşluğun olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasının literatüre önemli katkılar sunacağı ve bu tez çalışması kapsamında yayınlanacak olan bilimsel yayınların yüksek miktarda atıf alabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada belirlenen alg türlerinden, yeşil sentezle metalik nanopartikül üretimiyle alakalı bazı çalışmalar olsa da; bu çalışmalar nanopartikül boyutlarını etkileyen parametrelerin incelenmesi bakımından eksiktir ve bunların geliştirilmesi gerekmektedir. Bunlara ek olarak daha önce kutuplardan izole edilen mikroalglerden metalik nanopartikül üretimiyle alakalı bir çalışmanın olmaması, dört farklı özellikteki algal biyokütlelerden üç farklı metalik nanopartikül üretimi ve karşılaştırılmasıyla alakalı bir çalışmanın olmaması ve elde edilen bu metalik nanopartiküllerin bu çalışmada seçilen patojenik bakterilere karşı antibakteriyal etkinliklerinin daha önce belirlenmemesi, bu tez çalışmasının özgünlüğünü artırmaktadır. Bu tez çalışmasında, biyomolekül içeriği bakımından zengin olan makro ve mikroalglerin MNP yeşil sentezinde kullanılmak üzere değerlendirilebileceği ve bu biyokütlelerden yüksek miktarda ve küçük boyutlarda MNP'lerin elde edilebileceği, Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle yeşil sentez prosesinin istatistiksel olarak incelenebileceği ve optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin geleneksel yöntemle elde edilen MNP'lerle benzer antimikrobiyal aktivite göstereceği hipotez olarak sunulmaktadır.

2
ALGAL BİYOKÜTLE

2.1 Algal Biyokütle Hakkında Genel Bilgi

Algler ilk çağlardan beri insanlar tarafından gıda ve hayvan yemi olarak kullanılan bitki benzeri canlılardır. Fotosentez yapabildikleri için dünyadaki oksijen üretiminin yarısından fazlasını bu makro ve mikro boyuttaki organizmalar gerçekleştirmektedir. Buna ek olarak alglerin okyanuslar, denizler, göller ve akarsulardaki ekolojik dengenin sağlanmasına önemli katkıları mevcuttur. Ekstrem koşullara dayanabildikleri için kutuplardan çöllere kadar birçok farklı iklim ve coğrafik koşullarda yetişebilen algler, gıda, enerji, havyan yemi, ilaç, kozmetik, çevre ve tarım gibi birçok önemli endüstriyel alanda kullanılabilmektedir [24].

2.1.1 Alglerin Sınıflandırılması

Alglerin boyutlarına göre iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Bunlardan birisi prokoryatik ve ökaryotik olan mikro boyuttaki mikroalgler; diğeri de ökaryotik olan ve boyları metrelerce uzayabilen makroalglerdir [25].

Makroalgler, bir milimetreden onlarca metreye kadar çeşitli boyutlarda olabilen çok hücreli ökaryotik organizmalardır. Deniz ekosisteminde oldukça önemli bir yere sahip olan makroalgler birçok ülkede gıda ve hayvan yemi olarak kullanılabilmektedir. Ayrıca agar-agar, aljinat ve karragenan gibi endüstriyel ürünlerin üretimde de makroalgler kullanılmaktadır. Makroalgler yapılarında bulunan renk pigmentlerine göre sınıflandırılır ve en çok gözlemlenen ve kullanılan makroalgler yeşil, kırmızı ve kahverengi makroalglerdir [26]. Kırmızı algler yapısında bulunan fikoeritrin pigmentinden dolayı kırmızı renktedir ve yaklaşık 7000 türü içermektedir. Agar-agar ve karragenan endüstrisinde kullanılan bu makroalglerin en çok bilinen türleri *Gelidium sp*., *Palmaria sp*. ve *Gracilaria sp.'*dir [27]. Kahverengi algler makro boyuttaki alglerin en büyük kısmını oluşturur ve yapısındaki fukoksantin pigmenti nedeniyle bu renktedir [28]. Boyları oldukça büyük olabilen bu makroalgler gıda ve kozmetik endüstrisinde oldukça yoğun bir

şekilde kullanılmaktadır. Özellikle bu alglerin hücre duvarlarından üretilen aljinat krem ve şampuan gibi kozmetik ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu makroalg ailesinin en çok bilinen türleri *Lamineria sp.* ve *Sargassum sp.'*dir [29]. Yaklaşık 9000 türü olan yeşil makroalgler, yapısındaki klorofil pigmenti sebebiyle bu renktedir. Bu sınıfa ait makroalgler çoğunlukla denizlerde ve göllerde yetişse de toprakta ya da kurak bölgelerde yetişen türler de mevcuttur. Bu makroalgler çoğunlukla gıda, kozmetik ve ilaç alanlarında kullanılırlar ve en çok bilinen yeşil makroalgler *Ulva sp., Codium sp.* ve *Cladophora sp*.'dir [30].

Mikroalgler, 1 ile 100 μm'ye kadar çeşitli boyutlarda olabilen prokoryatik ya da ökaryotik mikroorganizmalardır. Hızlı ve kolay bir şekilde yetişebilen mikroalgler kutuplar gibi ekstrem koşullar da dahil suyun bulunduğu her ortamda yaşayabilirler. Mikroalgler stress koşulları altında kuru kütlelerinin yaklaşık %70'i kadar lipit ve sekonder metabolit üretebilirler [31]. Buna ek olarak oldukça hızlı ve kolay büyümeleri, geniş bir kullanım alanına sahip olmaları ve ekonomik anlamda ucuz bir şekilde yetiştirilebilmeleri sebebiyle mikroalg yetiştiriciliği ve endüstriyel uygulamaları son yıllardaki en önemli araştırma konularından birisidir [24]. Endüstride en çok kullanılan mikroalg türleri *Chlorella sp., Spirulina sp., Botryococcus sp.* ve *Dunaliella sp.'*dir.

2.1.2 Alglerin Yetiştirilmesi

Alglerin yetiştirilmesi için iki farklı sistem kullanılmaktadır: açık sistemler ve kapalı sistemler. Açık sistemlerde mikroalgler ve makroalgler yetiştirilebilir. Bu sistemlerde geniş alanlara yayılmış, derinliği 30 – 50 cm arasında değişen havuzlar kullanılır. Bu sistemlerin birçok avantajı ve dezavantajı mevcuttur. Bu sistemler oldukça ekonomiktir ve büyük miktarlarda alg biyokütlesi elde edilebilmektedir. Özellikle atıksuların alg üretiminde değerlendirilmesi için bu sistemler tercih edilmektedir. Bu sistemlerde üretilen algler biyoyakıt, toprak iyileştirici ve hayvan yemi gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bu sistemlerin dezavantajları ise üretimin çevresel koşullardan oldukça kolay etkilenmesi ve kontaminasyon riskinin fazla olmasıdır. Ayrıca geniş alanlara ihtiyaç duyulması ve mevsimsel koşullara göre üretimin durması ya da yavaşlaması gibi problemler de mevcuttur [25].

Kapalı sistemler ise daha çok mikroalglerin yetiştirildiği fotobiyoreaktörlerdir. Fotobiyoreaktörler maksimum verimde ürün eldesi için çeşitli şekilde ve boyutta olabilir. En çok kullanılan fotobiyoreaktör tipleri tübüler, piramit ve plaka tipi fotobiyoreaktörlerdir. Fotobiyoreaktörlerin kontaminasyon riski minimumdur ve üretimi etkileyen parametrelerin kontrolü oldukça kolaydır. Üretim çevresel koşullardan ve iklimsel değişikliklerden etkilenmez. Bu nedenle oldukça yüksek verimde alg biyokütlesi üretilebilir. Bu sistemlerde üretilen mikroalgler genellikle sağlık, kozmetik ve gıda gibi alanlarda değerlendirilir. Bu sistemlerin en büyük dezavantajı kurulum ve işletme maliyetlerinin çok yüksek olmasıdır [21].

Alglerin büyümesi ve içeriğini etkileyen birçok çevresel parametre vardır. Bu parametrelerden algi en çok etkileyenler sıcaklık, ışık, pH, nutrientlerdir. Sıcaklık bütün kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonları ekleyen en önemli parametrelerden birisidir. Bu nedenle algin büyümesini ve içeriğini de etkiler. Örneğin düşük sıcaklıklarda algler hayatta kalabilmek için lipit üretimini arttırır ve antifriz protein gibi hücre yapısının bozulmasını engelleyici bileşikler sentezler. Algler kutuplar ve volkanik bölgeler gibi ektrem koşullarda bile yaşayabilmesine rağmen genellikle optimum yetişme sıcaklıkları 16 – 27 °C'dir [32]. Alglerin yetişmesini ve içeriğini etkileyen diğer bir parametre de ışıktır. Işık sayesinde algler fotosentez yapar ve büyümelerini sağlarlar. Işık şiddeti, yoğunluğu ve süresinin algler üzerine etkileriyle alakalı birçok çalışma mevcuttur [33]. pH da alg gelişimini etkileyen önemli parametrelerden birisidir ve her alg türüne göre optimum bir pH değeri vardır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde algler için optimum pH değerinin 5 – 8 arasında olduğu görülmektedir. Alg yetişmesini ve içeriğini etkileyen en önemli parametrelerden birisi de nutrientlerdir. Karbon, biyokütlenin temel elementlerinden birisidir ve algler için önemli bütün makromoleküllerin yapısında bulunur. Azot, temel olarak proteinlerin yapısında bulunduğu için alglerin yaşaması için elzem bir nutrienttir. Fosfor da nükleik asitlerin yapısında ve metabolizma için gerekli enerjiyi sağlayan yapılarda bulunmaktadır. Demir, fotosentez, solunum ve nükleik asit sentezi; bakır, azot ve polisakkarit metabolizması; çinko ise enerji üretimi ve protein sentezi gibi biyokimyasal olaylar için gereklidir. Bunlara ek olarak sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, bor gibi elementler alglerin biyokimyasal süreçlerinde önemli roller oynamaktadır [34].

2.1.3 Alglerin kullanım alanları

Algler, yüksek miktardaki protein, karbonhidrat ve yağ içeriklerinin yanı sıra çeşitli pigmentler, vitaminler, karotenoidler ve flavanoidler sayesinde gıda, ilaç, biyoyakıt, hayvan yemi vb. birçok önemli alanda değerlendirilmektedir. Alglerin gıda olarak değerlendirilmesi, alglerin tarihteki en eski değerlendirme yöntemidir. Günümüzde birçok ülkede algler içerdikleri yüksek protein, PUFA, karoten gibi maddeler nedeniyle gıda ya da ek gıda amaçlı tüketilmektedir. Özellikle uzakdoğu mutfaklarında makroalgler oldukça yaygın bir şekilde tüketilirken; mikroalgler tabletler halinde takviye gıda olarak tüketilmektedir [35]. Benzer şekilde alglerin hayvan yemi olarak kullanımı Japonya, Filipinler, Çin ve Kore gibi Asya ülkelerinde uygulanmaktadır. Özellikle alglerin yüksek protein, lipid, karbonhidrat, karotenoid ve vitamin içerikleri et, süt, yumurta ve balık üretiminde değerlendirilmesine neden olmaktadır [36].

Alglerin önemli bir kullanım alanı da biyoyakıtlardır. Özellikle mikroalgler yüksek lipit içeriği sayesinde biyodizel üretimi için çok değerli bir kaynaktır. Birinci ve ikinci nesil biyokütlelelerdeki etiksel sorunlar ve zorluklar üçüncü nesil biyokütle olan alglerin biyoyakıt üretiminde değerlendirilmesini önemli kılmaktadır. Bu bağlamda algler biyochar ve hidrochar gibi katı [19], [37]; biyoetanol, biyodizel ve bio-oil gibi sıvı [38], [39]; biyogaz, biyohidrojen ve sentez gazı gibi gaz [40] biyoyakıt üretiminde kullanılmaktadır. Alglerden tek tek farklı biyoyakıtlar üretildiği gibi biyorafineri yaklaşımıyla aynı algal biyokütleden farklı biyoyakıtların üretimi de gerçekleşebilmektedir [21].

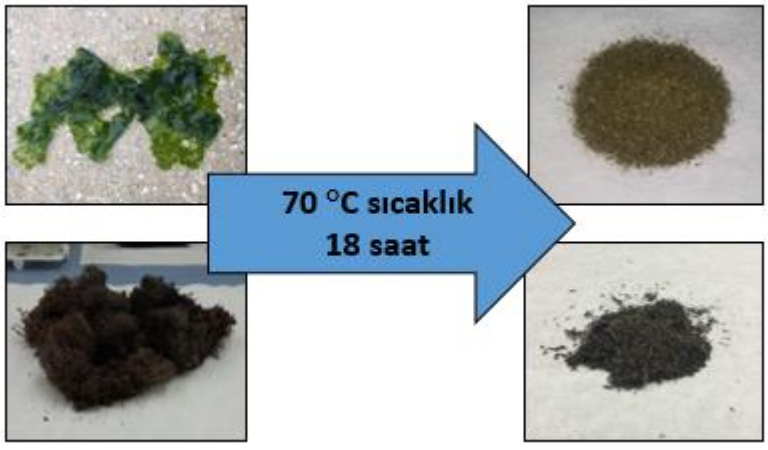
Algler, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar); agar-agar, aljinat, laminarin ve karragen gibi polisakkaritik yapılar; vitaminler, peptitler, karoten yapılı moleküller, flavonoid yapılı moleküller ve klorofil gibi pigmentler bakımından oldukça zengin biyokütlelerdir ve bu biyomoleküllerin büyük bir çoğunluğu biyoaktif özelliğe sahiptir. Algler, bu biyoaktif maddeleri içeren yağları kullanarak veya biyoaktif maddelerin yağdan ayrıştırılarak tek başına kullanılarak, antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antiinflamatuvar vb. ajan olarak sağlık sektöründe değerlendirilmektedir [41]. Ayrıca obezite, diyabet, vitamin ve mineral eksikliğinden kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve bunlardan korunmak için de

algler kullanılmaktadır [42]. Kozmetik sektöründe ise kremler, şampuanlar ve makyaj malzemelerinde antimikrobiyal, yaşlılık ve kırışıklık önleyici, nemlendirici ve UV ışığından koruyucu ajan olarak kullanılmaktadır [41]. Bu önemli endüstrilerin dışında makro ve mikroalgler tarımda toprak iyileştirici ve gübre olarak [43], çevrede atıksuların değerlendirilmesi ve arıtımında [44], [45], nanoteknolojide nanomalzemelerin sentezlenmesinde [46] algler yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

2.2 Deneysel Yöntem

2.2.1 Makroalglerin Toplanması

Bu tez çalışmasında kullanılmak üzere *Ulva lactuca* (UL) türü yeşil makroalg ile *Halopteris scoparia* (HS) türü kahverengi makroalg seçilmiştir. UL türü Marmara Denizi'nin $41^0$1' kuzey enlemi, $28^0$34' doğu boylamında yer alan İstanbul ilinin Büyükçekmece ilçesine bağlı sahilden toplanmıştır. HS ise ticari olarak satın alınmıştır. Elde edilen makroalg biyokütleleri bir defa şebeke suyu ile iki defa da distile su ile yıkarak bütün kirletici kalıntılardan arındırılmıştır. Daha sonra 70 °C sıcaklıkta bir gece boyunca etüvde kurutulan makroalgler küçük parçalara ayrılarak karakterizasyon ve ekstraksiyon için cam şişelerde saklanmıştır. Toplanan makroalgler ve kuru halleri Şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2. 1 Makroalgler ve kuru halleri

2.2.2 Mikroalglerin Yetiştirilmesi

Tez çalışmasında kullanılmak üzere *Botryococcus braunii* (BB) ile *Chlorella variabilis* (CV) türü yeşil mikroalgler seçilmiştir. BB türü mikroalgin stok kültürü Göttingen

Üniversitesi SAG kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. CV türü yeşil mikroalg ise Cumhurbaşkanlığı himayesinde, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı uhdesinde gerçekleştirilen 3. Ulusal Antarktika Bilim Seferi (2019) Kapsamında getirilen su ve buz örneklerinden izole edilmiş ve gen bilgisi NCBI Gen Bankası'na YTU.ANTARCTIC.001 olarak (Genbank Erişim Numarası: MN372092) kaydedilmiştir. Mikroalglerin yetiştirilmesi laboratuvar ortamında 250 mL'lik erlenlerde, 24 saat 8000 lx renkli aydınlatma altında, oda sıcaklığında ve 7.1 ± 0.2 pH değerinde gerçekleştirilmiştir. Mikroalglerin yetiştirilmesinde besin solüsyonu olarak Bold's Basal Medium (BBM) besiyeri 50x oranında seyreltilerek kullanılmış ve bu solüsyon Merck Millipore'dan temin edilmiştir. 15 gün boyunca 150 rpm hızla karıştırılan mikroalgler, yetiştirme süresi sonrası 5000 rpm hızla 10 dakika santrifüjlenerek hasatlanmıştır. Üç kez distile su ile yıkanan mikroalgler 60 °C sıcaklıkta bir gece boyunca kurutulup cam şişelerde karakterizasyon ve ekstraksiyon için saklanmıştır. Petrilerde yetiştirilen stok mikroalg kültürleri ve 250 mL'lik erlenlerde yetiştirilen mikroalgler Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 2 Petride ve erlende yetiştirilen mikroalgler ve kuru halleri

Mikroalglerin büyümeleri her gün PG Instruments T60 UV-Vis spektrofotometre ile 680 nm'de optik yoğunluk ölçümleri ile belirlenmiştir. Mikroalglerin büyüme hızı (μ) ile ikilenme süreleri (t_d) aşağıda verilen Denklem 2.1 ve Denklem 2.2 ile hesaplanmıştır.

$$\mu = \frac{\ln(OD_t) - \ln(OD_0)}{t} \tag{2.1}$$

$$t_d = \frac{\ln(2)}{\mu} \tag{2.2}$$

Buradaki OD_t, OD_0 ve t ifadeleri sırasıyla t zamanındaki optik yoğunluğu, başlangıçtaki optik yoğunluk ve zamanı belirtmektedir [47].

2.2.3 Alglerin Karakterizasyonları

Yetiştirilen mikroalglere ve toplanan makroalglere uygulanan karakterizasyon analizleri aşağıda detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

→ **Karbonhidrat İçeriği Tayini:** Nanopartikül biyosentezinde kullanılacak olan makro ve mikroalglerin karbonhidrat içerikleri fenol-sülfürik asit metodu ile belirlenmiştir [48]. Bu yöntemde ilk olarak %80 (w/w)'lik fenol reaktifi hazırlanmıştır. Karbonhidrat içeriği belirlenecek olan algal biyokütleden küçük bir miktar tartılıp alınarak 2 mL distile su ile bir tüpte karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine 50 µL fenol reaktifi ve 5 mL H_2SO_4 eklenerek tüp soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra PG Instruments T60 UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak 490 nm'de optik yoğunlukları belirlenmiştir. Kör örnek olarak 2 mL distile suya 50 µL fenol reaktifi ve 5 mL H_2SO_4 eklenerek hazırlanan karışım kullanılmıştır. Standart olarak da 10, 20, 40, 80 ve 100 mg/L konsantrasyonlardaki glikoz çözeltisi kullanılmıştır.

→ **Lipit İçeriği Tayini:** Nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılacak olan algal biyokütlelerin lipit içerikleri Soxhlet Ekstraksiyon sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Algal biyokütleler tartıldıktan sonra ekstaksiyon kartuşuna konulup Soxhlet ekstraktörüne yerleştirilmiştir. Çözücü olarak hekzan kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosesi sonrasında oluşan hekzan-lipit karışımı rotary evaporator kullanılarak ayrılmıştır. Alglerin yağ içeriği aşağıdaki Denklem 2.3 kullanılarak belirlenmiştir:

$$Yağ\ içeriği\ (\%) = \frac{(W_{son} - W_{dara})}{W_{örnek}} \times 100 \qquad (2.3)$$

Burada W_{son}, ekstraksiyon sonrası balo jojenin ağırlığını; W_{dara} ekstraksiyon öncesi balon jojenin ağırlığını ve $W_{örnek}$ ise ekstraksiyon için konulan alglerin ağırlığını ifade etmektedir.

→ **Protein İçeriği Tayini:** Nanopartikül biyosentezinde kullanılacak olan algal biyokütlelerin protein içerikleri modifiye Lowry metodu kullanılarak belirlenmiştir [49]. Bu yöntemde ilk olarak analizde kullanılacak olan

solüsyonlar hazırlanmıştır. Bu solüsyonlar ve içerikleri sırasıyla aşağıdaki gibidir:

- Solüsyon A: NaOH'tan 2.86 g ve Na_2CO_3'den 14.31 g tartılarak 500 mL distile suya eklenmesiyle hazırlanmıştır.
- Solüsyon B: 1.42 g $CuSO_4.5H_2O$'nun 100 mL distile suya eklenmesiyle hazırlanmıştır.
- Solüsyon C: 2.85 g Na_2Tartarat.$2H_2O$'nun 100 mL distile suya eklenmesiyle hazırlanmıştır.
- Lowry Solüsyonu: Solüsyon A, B ve C'nin 100:1:1 (V/V) oranlarda karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.
- Folin Solüsyonu: 5 mL 2N Folin and Ciocalteu's Fenol Reaktifi ve 6 mL distile suyun karıştırılmasıyla hazırlanır.
- Bovine Serum Albumin (BSA) standart solüsyonları: 20 – 100 mg/L konsantrasyon olacak şekilde BSA'nın distile suyla karıştırılarak hazırlanmıştır. Ağırlıkları bilinen örneklere 0.5 mL distile su ve 0.7 mL Lowry solüsyonu eklenip vortekslendikten sonra 20 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüplere 0.1 mL Folin solüsyonu eklenip 30 dakika daha karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler vortekslenmiş ve PG Instruments T60 UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak 750 nm'de optik yoğunlukları belirlenmiştir.

→ **Toplam Fenol İçeriği Tayini:** Nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılacak olan alglerin toplam fenol içeriği Safafar vd. [50] tarafından belirtilen prosedüre göre tayin edilmiştir. Bu yöntemde ilk olarak algler 1:1 (w/V) oranda etanolde ekstrakte edilmiştir. Daha sonra 0.1 mL etanolik ekstrakt, 0.6 mL distile su, 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 1.5 mL %20'lik (w/V) sodyum karbonat sulu çözeltisi sırasıyla bir tüpe eklenip karıştırılmıştır. Daha sonra final hacim 10 mL olana kadar tüplere distile su eklenmiş ve tüpler, oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası 760 nm'deki optik yoğunluklar PG Instruments T60 UV-Vis spektrofotometre kullanılarak belirlenmiş ve toplam fenol içeriği belirlenmiştir. Standart solüsyon olarak da gallik asit kullanılmıştır.

→ **Kısa analiz:** Bu analiz ile nanopartikül üretiminde kullanılacak olan alglerin nem içerikleri, uçucu madde içerikleri, sabit karbon içerikleri ve kül içerikleri TA Instruments SDT Q600 termogravimetrik analiz (TGA) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde yaklaşık 5 mg kuru algal biyokütle cihaza yerleştirilmiştir. Cihaz ilk aşamada oda sıcaklığından 105 °C sıcaklığa 20 °C/dak ısıtma hızında inert ortamda ısıtılmıştır ve bu sıcaklıkta yaklaşık 30 dakika bekletilmiştir. Bu aşamada gerçekleşen kütle kaybı örneğin nem içeriğini göstermektedir. İkinci aşamada cihaz inert ortamda 40 °C/dak ısıtma hızında 105 °C sıcaklıktan 600 °C sıcaklığa çıkartılmış ve bu sıcaklıkta 7 dakika bekletilmiştir. Bu aşamada gerçekleşen kütle kaybı örneğin uçucu madde (UM) miktarını belirtmektedir. Üçüncü aşamada 600 °C sıcaklıkta cihaza inert gaz yerine kuru hava verilmeye başlanmış ve kütle değişimi durana kadar bu koşullarda proses devam edilmiştir. Bu aşamada gerçekleşen kütle kaybı örneğin sabit karbon (SK) içeriğini belirtmektedir. Bu proses sonucunda kalan kısım da örneğin kül içeriğini göstermektedir [51].

→ **Elemental İçeriğin Belirlenmesi**: Nanopartikül üretiminde kullanılacak olan algal biyokütlelerin elementel içerikleri, kısa analiz sonucunda elde edilen sonuçlar ve Shen vd. [52]'da belirtilen korelasyon denklemleri (Denklem 2.4, 2.5, 2.6 ve 2.7) kullanılarak hesaplanmıştır. Bu denklemler aşağıdaki gibidir:

$$C\ (\%) = 0.635SK\ +\ 0.460UM\ -\ 0.095K\ddot{U}L \tag{2.4}$$

$$H\ (\%) =\ 0.059SK\ +\ 0.060UM\ +\ 0.010K\ddot{U}L \tag{2.5}$$

$$O\ (\%) =\ 0.340SK\ +\ 0.469UM\ -\ 0.023K\ddot{U}L \tag{2.6}$$

$$N\ (\%) = 100 - (C + H + O + K\ddot{U}L) \tag{2.7}$$

→ **FTIR analizi:** Nanopartikül üretiminde kullanılacak olan alglerin FTIR analizleri Bruker Alpha FTIR spektrometresi kullanılarak 4000 – 500 cm^{-1} dalga sayısı aralığında Zayıflatılmış Toplam Yansıma (ATR - Attenuated Total Reflection) modunda gerçekleştirilmiştir.

2.3 Sonuçlar ve Tartışma

2.3.1 Seçilen Alg Türlerinin Özellikleri

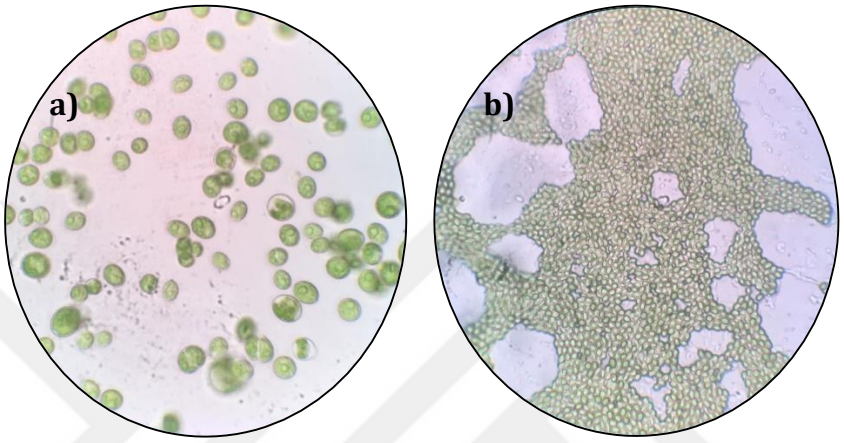
Metalik nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılan biyokütlelerden birisi *Ulva lactuca*dır. *Ulva lactuca*, deniz marulu olarak da bilinen *Ulva* cinsine ait yeşil makroalgler türlerinden birisidir. Ülkemizde her ne kadar atık olarak değerlendirilse de yenilebilir olduğundan birçok ülkede gıda amaçlı kullanılmaktadır. Bu makroalg türü taş gibi katı yüzeylere tutunarak büyümesine rağmen; tutundukları yerden kolayca ayrılabilir ve büyümelerini dalgalı ortamlarda bir yere tutunmadan da sürdürebilirler. Bu türün tallusları yaprak şeklindedir ve bu yapıyı hücreler tek çekirdeklidir ve kloroplastları çanak şekillidir [53]. Bu tür makroalgin yapısal bileşimleri mevsimsel olarak değişebilmektedir [54].

Daha önce *Stypocaulon scoparium* olarak bilinen *Halopteris scoparia*, sığ kayalıklı suda güzel kabarık kümeler oluşturan koyu kahverengi bir alg türüdür. Sadece 15 santimetre uzunluğunda büyüyen *Halopteris scoparia*, düz bir halde aşağı yukarı fan şeklinde olan alternatif tüylü dallara sahip bir ana eksene sahiptir; ancak su ile kaldırıldığında, ters konik biçimli kümeleri oluştururlar. *Halopteris scoparia* sığ gelgit bölgesinde genellikle çakıltaşı kümeleri oluşturur, ancak bunların sığ gelgit havuzlarında veya kumlu-alt alanlarda bulunması olasılığı yüksektir. *Halopteris scoparia*, Norveç'ten Cape Verde'ye, Akdeniz'e ve ayrıca Karadeniz'e kadar uzanan bir alanda bulunabilmektedir [55].

Botryococcus braunii, yeşil alglerin önemli bir mikroalg türü olup, yapısında bol miktarda lipit, protein, karbonhidrat ve birçok önemli biyoaktif molekülleri barındırmaktadır. Büyüme hızı nispeten yavaş olan bu fotosentetik mikroalg, tatlı sularda ve az tuzlu sularda yetişebilmektedir. Bu mikroalg türü çeşitli stres koşullarında n-alkadienler ve tetraterpen gibi uzun zincirli hidrokarbonlar biriktirebilirler. Bunlara ek olarak yüksek oranda PUFA, sterol gibi lipit yapılı biyomoleküller, ekzopolisakkaritler ve çeşitli biyoaktif yapılar da *B. braunii* tarafından sentezlenebilmektedir [56].

Chlorella variabilis, *Chlorella* türlerinden tek hücreli, yeşil ve fotosentetik bir mikroalg türüdür [57]. Hücre çapları 2-10 μm arasında olan bu mikroalg türleri,

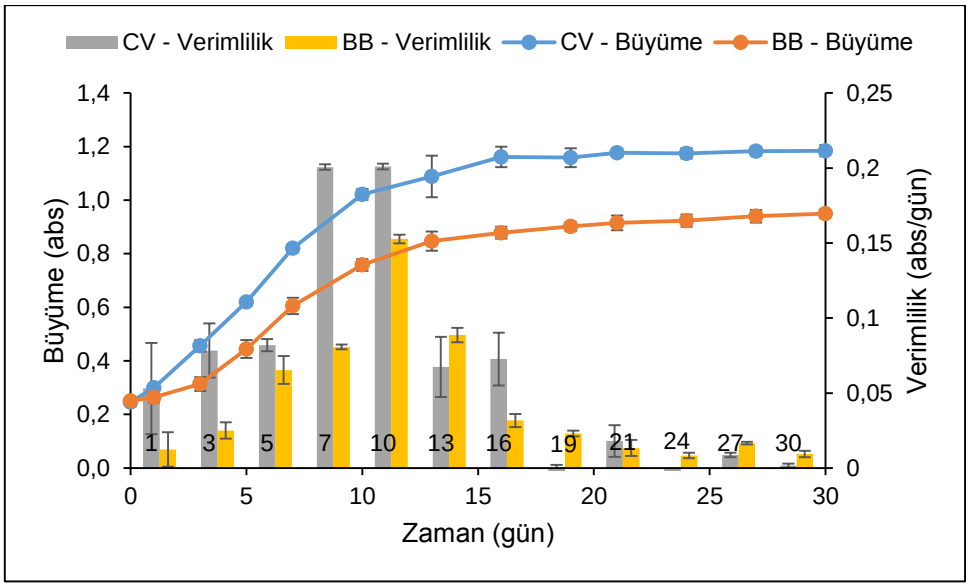
genellikle tatlı sularda yaşarlar ve oldukça hızlı büyürler. *Chlorella variabilis* birçok yararlı protein, PUFA, astaksantin ve β-karoten üretebildiği için besin kaynağı olarak birçok alanda kullanılabilmektedir. Bunlara ek olarak çeşitli sıcaklıklara karşı toleransı olması, kayma gerilime karşı dayanıklı olması ve fotobiyoreaktörlerin yüzeylerine olan adhezyonunun düşük olması gibi özellikleri nedeniyle bu mikroalg türü büyük ölçekli üretimler için oldukça uygun mikroalglerdir [58]. Yetiştirilen mikroalglerin mikroskop görüntüleri Şekil 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2. 3 Mikroalglerin mikroskop görüntüleri a) *Chlorella variabilis* ve b) *Botryococcus braunii*

2.3.2 Mikroalglerin Büyüme Sonuçları

Nanopartikül üretiminde kullanılacak olan mikroalglerin büyüme grafikleri Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Bu şekle göre iki mikroalg türünün de 10. güne kadar hızlı bir şekilde büyüdüğü ancak 10. günden sonra büyüme hızının yavaşladığı görülmektedir. Ayrıca *Chlorella sp*. türü algin lag fazının *Botryococcus sp*. algine oranla daha kısa olduğu da söylenebilir. Metsoviti vd. [59] ve Chang vd. [60] yaptıkları çalışmalarda *Chlorella* türü mikroalgin en hızlı büyüdüğü dönemin 120. ile 170. saatler arasında olduğunu raporlamışlardır. Asma vd. [61] ise ortam ve besiyeri koşullarına bağlı olarak *Botryococcus* türü mikroalgin lag fazının 2-3 gün arasında olduğunu ve log fazının ise 6. ve 8. güne kadar sürdüğünü bildirmişlerdir. CV ve BB mikroalglerinin spesifik büyüme hızları sırasıyla 0.14 gün^{-1} ve 0.12 gün^{-1} iken; ikilenme süreleri 5.10 gün ve 5.56 gün olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan bazı *Chlorella* ve *Botryococcus* türlerinin büyüme koşulları ve kinetik sonuçları Tablo 2.1'de özetlenmiştir.



Şekil 2. 4 Mikroalglerin büyüme ve verimlilik grafikleri

Tablo 2. 1 Literatürdeki bazı mikroalglerin büyüme kinetikleri verileri

Tür	Yetiştirme koşulları	Büyüme hızı (μ - 1/gün)	İkilenme süresi (T_d - gün)	Kaynak
C. variabilis	BBM, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0,14	5,10	BÇ*
B. braunii	BBM, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0,12	5,56	BÇ*
C. minutissima	BG-11, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0.33	2.10	[62]
C. sorokiniana	BG-11, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0.32	2.13	[62]
B. braunii	BG-11, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0.26	2.61	[62]
C. minutissima	BG-11, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0.124	5.59	[47]
B. braunii	BG-11, 25 °C, 8000 lüx, sürekli aydınlatma	0.106	6.54	[47]
C. vulgaris	ASWM, 29 °C, 900 lm, 12:12 aydınlatma döngüsü	0.344	-	[63]
C. vulgaris	LC Oligo medyum, 20 °C, 150 μmol.m-2.s-1, 16:8 aydınlatma döngüsü	0.84	-	[64]

*BÇ: Bu çalışma

2.3.3 Alglerin Karakterizasyon Sonuçları

Nanopartikül yeşil sentezinde kullanılacak olan algal biyokütlelerin biyokimyasal içerik analizi, kısa analiz ve elementel analiz sonuçları Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. 2 Alglerin karakterizasyon sonuçları

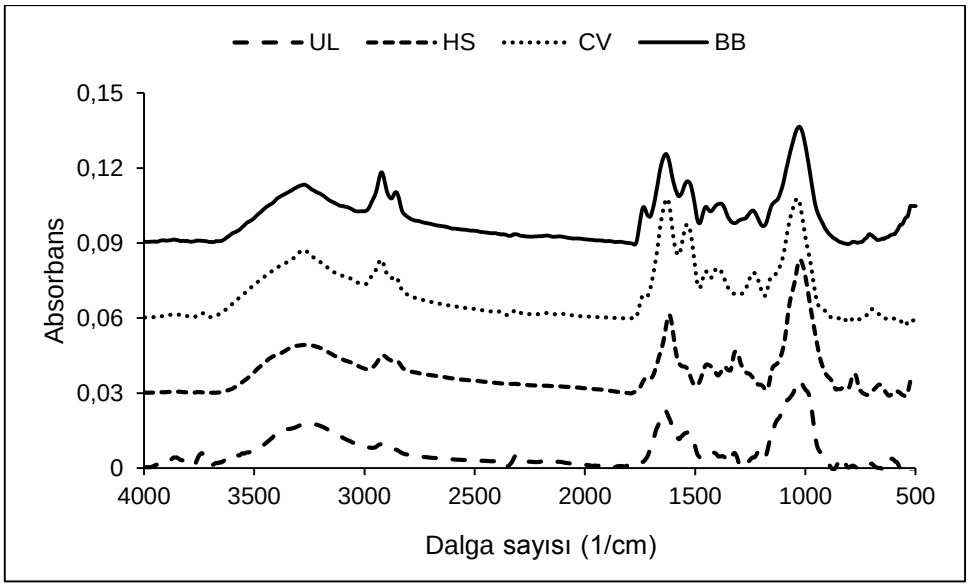
	UL	HS	CV	BB
Karbonhidrat İçeriği (%)	40.17	49.32	26.17	21.85
Yağ (%)	1.88	1.02	32.84	40.6
Protein (%)	22.54	17.48	26.36	25.33
TPC (mg/g)	6.52	3.75	2.32	1.91
Nem (%)	9.07	10.85	6.31	7.24
Uçucu madde (%)	65.64	55.93	68.98	69.71
Sabit Karbon (%)	13.42	24.91	17.3	17.07
Kül (%)	11.87	8.31	7.41	5.98
C (%)	43.40	52.40	47.75	48.37
H (%)	5.34	4.98	5.56	5.67
O (%)	37.10	32.37	37.92	38.71
N (%)	1.11	0.92	0.87	0.80

Bu tabloda da görüldüğü gibi makroalglerin karbonhidrat içerikleri mikroalglere oranla oldukça fazla çıkmışken; mikroalglerin lipit içeriği makroalglerinkine oranla oldukça fazla çıkmıştır. Protein içerikler karşılaştırıldığında ise mikroalglerin daha fazla protein içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre algal biyokütlelerin protein içeriklerinin yüksek olması sebebiyle gıda ya da hayvan yemi olarak kullanılabileceği söylenebilir. Buna ek olarak mikroalgler yüksek lipit içerdikleri için biyodizel üretiminde kullanılmaktadır [21]. Elde edilen veriler literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında alglerin biyokimyasal içeriklerinin iklim koşulları ya da yetiştirme koşullarına göre değişen geniş bir aralıkta olduğu görülmüştür. Caporgno vd. [65] çalışmalarında kullandıkları tatlı su mikroalginin lipit içeriğini yüzde 30,2, karbonhidrat içeriğini yüzde 29,1 ve protein içeriğini yüzde 39,7 olarak bulmuşlardır. Costa vd. [66] yaptıkları çalışmada Ulva sp.'nin karbonhidrat, yağ ve protein içeriklerini sırasıyla %20,5, %0,54 ve %25,9 olarak raporlamışlardır. Koçer ve Özçimen [40]'de *Ulva lactuca*'nın karbonhidrat, yağ ve protein içerikleri sırasıyla %43.91, %5.02 ve %28.85 olarak bildirilmişken; Koçer vd. [67]'de *Chlorella vulgaris* mikroalginin bu içerikleri sırasıyla %25.30,

%19.61 ve %33.64 olarak bildirilmiştir. Tarhan vd. [47] ise yaptıkları çalışmada *Chlorella minutissima* ve *Botryococcus braunii* mikroalglerinin karbonhidrat, yağ ve protein içeriklerini sırasıyla %36.33, %23.19, %33.08 ve %29.27, %37.27 ve %23.43 olarak raporlamışlardır. Bu sonuçlar göz önünde alındığında yetiştirilen ve toplanan alglerin biyokimyasal içeriklerinin literatürdeki aralıklarda olduğu söylenebilir.

Tablo 2.2'deki kısa analiz sonuçları incelendiğinde makroalglerin nem ve kül içeriklerinin mikroalglere oranla daha fazla olduğu, uçucu madde içeriklerinin ise nispeten daha düşük olduğu görülmüştür. Uçucu madde içeriğinin mikroalglerde daha yüksek olmasının nedeni mikroalglerin toplam organik madde içeriğinin daha yüksek olmasıdır. Makroalglerin kül içeriklerinin yüksek olmasının sebebi ise makroalglerin yetiştikleri denizdeki çeşitli tuz, silika ve ağır metal gibi maddeleri tutması olabilir [40]. Sabit karbon içeriklerine bakıldığında ise en yüksek sabit karbona sahip algin HS, en düşük sabit karbon içeriğine sahip olan algin UL olduğu görülmektedir. Literatürdeki alglerin kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde kısa analiz sonuçlarının iklim ve çevresel koşullara göre değiştiği görülmüştür. Agrawal and Chakraborty [68] ve Miao vd. [69] *Chlorella vulgaris'*in nem içeriğini sırasıyla %9.1 ve %5.39 olarak raporlamışlardır. Arbeláez vd. [70] ve Dayananda vd. [71] *B. braunii* alginin nem içeriklerinin sırasıyla %4.6 ve %5.41 olduğunu bildirmişlerdir. Felix ve Brindo [72] tarafından yapılan çalışmada kullanılan UL'nin nem içeriği yaklaşık %16 olarak bildirilmişken; Ross vd. [73] tarafından gerçekleştirilen çalışmada kullanılan 5 farklı makroalg türünün nem içerikleri %11.4 ile %13.7 arasında bildirilmiştir. Literatürde bulunan alglerin uçucu madde ve sabit karbon içeriklerine bakıldığında, bu çalışmada elde edilen sonuçların bunlarla paralellik gösterdiği görülmektedir [73]–[75]. Miao vd. [69] ve Chaiwong vd. [74] yaptıkları çalışmalarda *Chlorella sp.* ve *Spirulina sp.* mikroalglerinin kül içeriklerini sırasıyla %6.36 ve %6.98 olarak raporlamışlarken; Ross vd. [73] çalışmasında kullandıkları 5 farklı makroalgin kül içeriklerini yaklaşık %10 ile %18 arasında olduğunu raporlamışlardır.

Algal hammaddelerin 4000 cm^{-1} ile 500 cm^{-1} dalga sayısı arasındaki FTIR spektrumları Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2. 5 Alglerin FTIR spektrumları

Şekil 2.5 incelendiğinde 4 tane pik bölgesinin tüm algler için ortak olduğu görülmektedir: 3300 – 3200 cm^{-1} arası, 3000 – 2800 cm^{-1} arası, 1700 – 1400 cm^{-1} arası ve 1200 – 900 cm^{-1} arası. Bu pik bölgelerinden 3300 – 3200 cm^{-1} arasındaki pikler alglerin nem, alkolik ve fenolik içeriğini ifade etmektedir. 3000 – 2800 cm^{-1} arasındaki pikler alglerin lipit içeriğinden kaynaklıyken; 1700 – 1400 cm^{-1} arasındaki pikler proteinler ve peptitleri ifade etmektedir. 1200 – 900 cm^{-1} arasındaki pikler de alglerin karbonhidrat içeriğinden kaynaklanmaktadır [76]. Şekil 2.5'te verilen spektrumlardaki pikler ve bunların ifade ettiği fonksiyonel gruplar Tablo 2.3'te özetlenmiştir.

Tablo 2. 3 Alglerin FTIR spektrumundan okunan pikler

Pik (cm^{-1})	Pikin özelliği	Tür	Fonksiyonel grup	Kaynak
3271	B ve G	UL, HS, BB, CV	OH gerilmesi	[40]
2925	O	UL, HS, BB, CV	CH gerilmesi	[67]
2859	K	UL, HS, BB, CV	CH_2 titreşimi	[47]
1730	ÇK	HS, BB, CV	CO gerilmesi	[77]
1631	ÇB ve D	UL, HS, BB, CV	C=O gerilmesi	[78]
1535	B ve D	UL, BB, CV	NH gerilmesi	[78]
1446	K ve G	UL, HS, BB, CV	CH_3 ve CH_2 gerilmesi	[78]
1365	K	HS	Asimetrik NH_4^+ hareketleri	[77]
1235	K	CV, BB	P=O gerilmesi	[78]
1025	ÇB ve D	UL, HS, BB, CV	C-O-C gerilmesi	[78]
836	K	UL	Glikosidik bağı gerilmesi	[79]
777	K	HS	C-Cl gerilmesi	[79]
699	K	UL, HS, BB, CV	C-Br gerilmesi	[79]

(B: Büyük, O: Orta, K: Küçük, G: Geniş, D: Dik, ÇB: Çok Büyük)

3
NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ

3.1 Metalik Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi

Nanoteknoloji, nano boyuttaki yapıların artan yüzey alanı ve sahip oldukları birçok farklı özellik nedeniyle her geçen yıl daha fazla uygulama sahası bulmakta ve dünya çapında daha fazla ilgi görmektedir [1]. Bu durum Türkiye için de geçerli olup, Türkiye'deki nanoteknolojik araştırmalar hızla artmaktadır. Nanoteknoloji, 1 - 100 nanometre arasında olan nano ölçekte mühendislik ve teknolojideki gelişmelerle ilgilenen bir bilimdir [80]. Nanoteknolojide, atomlarla yakından ilgilenir ve onları birer birer manipüle ederek nanopartikül (NP) adı verilen yapı oluşturulur. NP'ler eşsiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri sayesinde sağlık, kimya, giyim, boya ve biyoteknoloji gibi birçok önemli endüstriyel alanda kullanılmaktadır [2]. Ancak, NP üretiminin artması, üretilen NP'lerin çeşitli endüstrilerde kullanılması ve buna bağlı olarak istemli ya da istemsiz bir şekilde çevreye salınması, tüketici ve çevre güvenliğini sağlayan süreçlere ve politikalara duyulan ihtiyaçları ortaya çıkarmaktadır. Bu bağlamda NP'lerin hızlı, kolay, ucuz ve güvenli bir şekilde hazırlanması ve güvenli kullanım yöntemlerinin bir araya getirilmesi oldukça önemli hale gelmiştir [81]. Bilimsel çalışmalarda ve endüstride en çok kullanılan NP çeşitleri metalik NP'ler, karbon nanotüpler, polimerik NP'ler ve nanokompozitler olarak sayılabilir [82].

Metalik nanopartiküller (MNPler), genellikle metal oksit, organik ya da inorganik bir kabuk ile kaplanmış, metal ya da metal oksitten oluşan bir çekirdeğe sahip NPlerdir [83]. MNP'lerin günlük hayatta krem, şampuan, boya, giysi ve plastik kaplarda kullanımı gibi birçok uygulaması vardır. Örneğin gümüş NP'ler antimikrobiyal etkili kremlerde, bataryalarda ve elektriksel devrelerde; demir NP'ler manyetik görüntülemede; bakır NP'ler nanokompozit kaplamalarda; altın NP'ler hücresel görüntülemede; titanyum NP'ler boya, kozmetik ve güneş koruyucularda; çinko NP'ler cilt koruyucularda; nikel NP'ler ise batarya üretimi ve yazıcı

mürekkeplerinde kullanılmaktadır [84]. Bu nedenle MNP üretimi için yeni, hızlı ve kolay yöntemlerin geliştirilmesi ve pilot ölçekli MNP üretimi son zamanlarda oldukça revaçta olan konulardır [85].

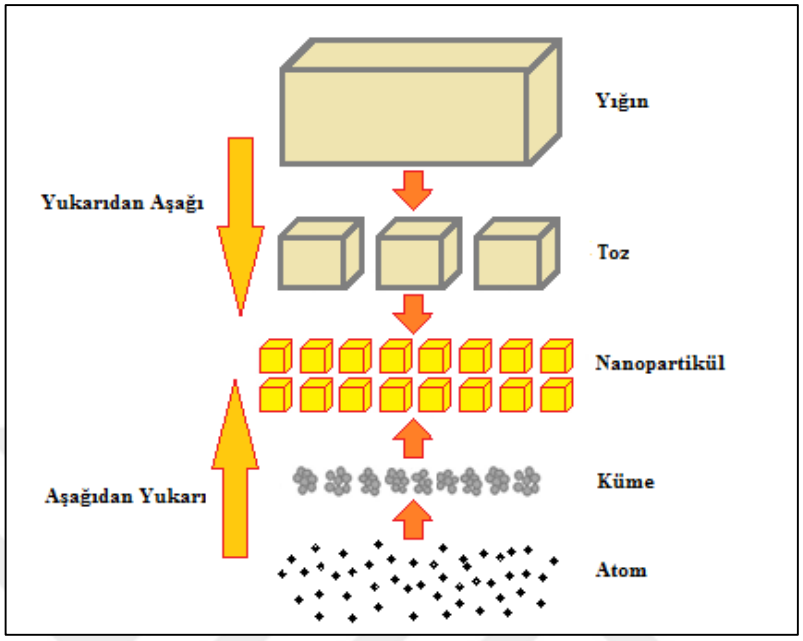
3.1.1 Metalik Nanopartikül Üretim Yöntemleri

Faraday'ın 1800'lerin ortasındaki koloidal altın araştırmaları ile başlayan MNP'lerin üstün fiziksel ve kimyasal özellikleri günümüze kadar bilim ve endüstri çevrelerince araştırılmaya devam eden bir konu olmuştur [86]. MNP'lerin sahip oldukları üstün özelikler sayesinde günümüzde özellikle gümüş ve demir-oksit NP'ler elektronik, biyoteknoloji, malzeme bilimi, nanotıp gibi yeni teknolojilerde geniş kullanım alanına sahip olmaktadır ve bilim insanlarının oldukça ilgisini çekmektedir [2]. Metalik nanoyapıların çözelti ortamında sentezi için çeşitli metodlar geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları eletrokimyasal sentez, ters misel/ mikroemülsiyon metodu, hidrotermal sentez, sonokimyasal çöktürme, kimyasal indirgenme ve yeşil sentez teknikleridir. Bu çalışmaların çoğunda elde edilen nano yapıların belirli bir büyüklüğe ve morfolojiye sahip olmaları hedeflenmektedir [87].

Metalik nanopartiküllerin sentezi için kullanılan yöntemler genel olarak iki başlık altına toplanmaktadır: yukarıdan aşağı (Top down) üretim ve aşağıdan yukarıya (Bottom up) üretim. Yukarıdan aşağı üretim yöntemlerinde NP'ler, farklı fiziksel ve kimyasal işlemlerle başlangıçtaki materyalin boyutunun küçültülmesiyle elde edilmektedir [88]. Bu yöntemler ile kolay ve ucuz bir şekilde yüksek miktarlarda NP elde edilebilmesine rağmen küçük çaplı ve düzgün şekilli NP'lerin elde edilebilmesi oldukça zordur. Yukarıdan aşağıya NP üretim yöntemlerine mekanik öğütme, mekanokimyasal sentez, termal ablasyon, lazer ablasyonu ve patlatma gibi yöntemler örnek olarak verilebilir [87].

NP üretimi için kullanılan aşağıdan yukarı yöntemler atom, molekül ya da daha küçük partiküllerin birleştirilerek NP oluşturulması prensibine dayanır. Bu yöntemde NP'lerin yapıtaşları daha önceden oluşturulur ve nihai yapının oluşturulması için bir araya getirilir [87]. Bu yöntemde proses koşulları değiştirilerek NP'lerin boyutları ve şekilleri manipüle edilebilir ve istenilen boyun ve şekillerde NP elde edilebilir. Ancak bol miktarda NP üretimi zor ve maliyetlidir. Aşağıdan yukarıya NP üretim yaklaşımında en çok kullanılan yöntemler kimyasal

buhar birikimi (Chemical vapor deposition – CVD), hidrotermal sentez, sol-jel yöntemi ve yeşil sentezdir [89]. MNP üretimi için uygulanan yaklaşımlar ve geliştirilen yöntemler Şekil 3.1'de özetlenmiştir.



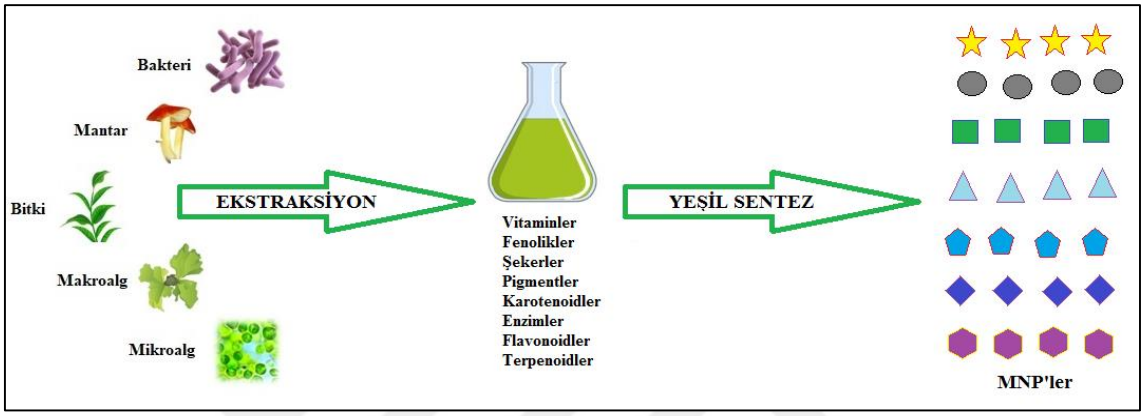
Şekil 3. 1 MNP üretimi için aşağıdan yukarı yaklaşım ve yukarıdan aşağı yaklaşım

3.1.2 Yeşil Sentez

MNP'lerin günlük hayatımızda ve endüstriyel alanlardaki kullanımının artması NP'lerin üretim yöntemleriyle ilgili araştırmaları da arttırmıştır. Günümüzde MNP'ler çoğunlukla fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmektedir. Bu yöntemler MNP üretimi için oldukça popüler olsa da toksik madde kullanım ihtiyacı, tehlikeli sistem ve proseslerin gerekliliği ve yüksek maliyette sarf ve cihaz gereksinimi insanları farklı üretim yöntemlerini araştırmaya itmiştir. Bu kapsamda düşünüldüğünde yeşil sentezle NP üretiminin fiziksel ve kimyasal yöntemlere alternatif bir yöntem olma potansiyeli oldukça yüksektir [81].

Yeşil sentez ya da biyosentez, biyolojik kaynaklar tarafından sentezlenen enzim, vitamin, karotenoid, flavonoid, pigment ve proteinler gibi biyomoleküller sayesinde NP'lerin metal tuzlarından indirgenmesiyle oluşması yöntemidir [46]. Bu yöntem ile çeşitli tür, şekil ve boyutta ve geniş bir kullanım alanına sahip MNP'ler kolay, ucuz, çevre dostu ve hızlı bir şekilde sentezlenmektedir [9]. Bunlara ek olarak büyük ölçekli üretim için ölçek büyütme işlemlerinin kolay olması, biyolojik atıkların

değerlendirilmesi amacıyla kullanılabilmesi, sürdürülebilir bir yöntem olması, üretilen MNP'lerin direk olarak kullanılabilmesi ve kompleks ve tehlikeli bir sistem gerektirmemesi bu yöntemin avantajlarındadır. Ancak bu yöntemde NP'lerin üretim mekanizmalarının tam anlaşılamamış oluşu, NP üretimini etkileyen parametrelerin optimizasyonlarının zorluğu ve buna bağlı olarak oluşan MNP'lerin şekillerinin ve boyutlarının belli bir formda olmaması gibi dezavantajlar mevcuttur [90]. Yeşil sentez yöntemi Şekil 3.2'de özetlenmiştir.



Şekil 3. 2 Yeşil sentez reaksiyonunun şematik gösterimi

NP'lerin yeşil sentezle üretilmesinde metal iyonlarının indirgenmesi için karotenoid, terpenoid, ekzopolisakkarit, vitamin ve enzim gibi çeşitli biyomoleküller gerekmektedir. Bu nedenle bu tarz moleküllerce zengin biyokütleler yeşil sentezle NP üretimi için çok uygundur. Bütün bitki parçaları, bakteri, mantar, makroalgler ve mikroalglerin ekstratları ya da kendileri çeşitli MNP'lerin sentezlenmesi için kullanılmaktadır. Örneğin Groiss vd. [17] *Cynometra ramiflora* bitkisinin yapraklarından demir-oksit NP sentezlemişler ve bunların antibakteriyal ve katalitik aktivitelerini incelemişlerdir. Iravani ve Zolfaghari [91] *Pinus eldarica* kabuğunun sulu ekstraktından 10 nm ile 40 nm arasında gümüş NP'ler üretmişlerdir. Vieira vd. [92] gümüş NP sentezlemek için *Laurencia aldingensis* ve *Laurenciella sp.* türü kırmızı algleri kullanmışken; Muthusamy vd. [93] *Spirulina sp.* türü mikroalgleri kullanmışlardır. Chowdhury vd. [94], Koilparambil vd. [95] ve Saxena vd. [13] yeşil sentezle MNP sentezlemek için sırasıyla *Macrophomina phaseolina* patojenik fungusu, *Escherichia coli* bakterisi ve *Sclerotinia sclerotiorum* fungusu kullanmışlardır.

3.1.3 Yeşil Sentezde Alglerin Kullanımıyla İlgili Literatür Taraması

Bu bölümde literatürde bulunan makroalgler ve mikroalgler kullanılarak yeşil sentezle MNP üretimiyle alakalı çalışmalar özetlenmiştir.

Bensy vd. [96] yaptıkları çalışmada *Ulva lactuca*'nın sulu ekstraktından 30 – 40 nm çaplarında demir NP sentezlemişler ve bunların antibakteriyal aktivitelerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre demir nanoparçacıklarının karbapenemlere dirençli bakterilere ve kanser türlerine karşı alternatif terapötikler olarak geliştirilebileceğini belirtmişlerdir.

Govindan vd. [97] *Chondrococcus hornemannii* kırmızı makroalgin sulu ekstraktlarında biyoaktif gümüş NP sentezlemişler ve bunların antibakteriyal, antioksidan, hemolitik ve sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre üretikleri NP'lerin bazı patojenik bakterilere karşı ayırt edici bir inhibisyon bölgesi oluşturduğu görülmüştür. Antioksidan etkisi analizlerinde ise askorbik asitle karşılaştırıldığında sentezlenen gümüş NP'lerin daha güçlü antioksidan etki gösterdiği görülmüştür. Bunlara ek olarak gümüş NP'lerin hemolitik ve sitotoksik aktivite analiz sonuçlarına göre bu NP'lerin düşük konsantrasyonda toksik etki göstermediği raporlanmıştır.

Shalaby vd. [98] yeşil sentez yöntemiyle *Spirulina platensis* mikroalgi kullanarak 10 nm'nin altındaki boyutlarda demir oksit NP üretmişler ve bunları anyonik ve katyonik boyaların gideriminde kullanmışlardır.

Kumar vd. [99] *Planktochlorella nurekis* mikroalgi kullanarak 13 – 29 nm çaplarında küresel demir NP'ler sentezlemişler ve bunları asetaminofen adsorpsiyonunda kullanmışlardır.

Rajkumar vd. [100] yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* mikroalgi ekstraktından fotokatalitik boya degredasyon aktivitesini incelemek için gümüş NP sentezlemişlerdir. Yazarlar elde ettikleri gümüş NP'lerin küresel şekilde ve ortalama 55.06 nm çapında olduğunu ve metilen mavisi boyasına karşı iyi bir fotokatalitik aktivite gösterdiğini raporlamışlardır.

Arya vd. [101] çalışmalarında benzimidazol sentezindeki katalitik davranışlarını incelemek için *Botryococcus braunii* mikroalgi ekstraktından 40 – 90 nm çaplarında gümüş NP sentezlemişlerdir.

Sathishkumar vd. [102] *Trichodesmium erythraeum* mikroalginden kübik şekilli ve ortalama boyu 26.5 nm olan gümüş NP'ler üretmişler ve bunların antioksidan potansiyellerinin DPPH'de %77.01±0.17, deoksiriboz'da %67.5, ABTS'de %52.77 ve nitrik oksitte %88.12 olduğunu raporlamışlardır.

Ishwarya vd. [103] *Ulva lactuca* yeşil makroalginden 10 – 50 nm arasında çinko oksit NP sentezlemişler ve bunların fotokatalitik, antibiyofilm ve böcek öldürücü aktiviteleri değerlendirmişlerdir. Üretilen bu nanopartiküllerin metilen mavisine karşı yüksek fotokatalitik aktivite gösterdiğini ve patojenik bakterilere karşı yüksek antibakteriyal ve antibiyofilm etki gösterdiğini raporlamışlardır. Ayrıca bu NP'lerin sarı humma sivrisineğinin dördüncü evre lavralarını 24 saat içinde %100 oranında öldürdüğünü belirtmişlerdir.

Arya vd. [104] yaptıkları çalışmada *Botryococcus braunii* mikroalgi kullanarak gümüş ve bakır NP'ler sentezlemişler ve bunların antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre gümüş NP'nin boyutları 40 nm ile 100 nm arasında değişmekteyken; bakır NP'lerin boyutları 10 nm ile 70 nm arasında değişmektedir ve bu NP'lerin her ikisi de yüksek antibakteriyal ve antifungal etki göstermektedir.

Muthusamy vd. [105] ise gümüş NP üretmek için *Spirulina platensis* ekstraktlarını kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre gümüş NP'lerin çapları 5 – 50 nm arasında olduğunu ve bunların bazı patojen bakterilerin büyümelerini büyük oranda yavaşlattığını raporlamışlardır.

Arsiya vd. [106] *Chlorella vulgaris* mikroalginin sulu ekstraktlarından paladyum NP sentezlemişlerdir ve sentezledikleri NP'lerin çaplarının 5 ile 20 nm arasında değiştiğini ve ortalama çapın 15 nm olduğunu belirtmişlerdir.

Namvar vd. [107] yaptıkları çalışmada *Sargassum muticum* alginin sulu çözeltilerini kullanarak altın NP sentezlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda 5.42 ± 1.18 nm çapında küresel NP'ler elde etmişler ve bunların farmasötik ve biyomedikal

uygulamalarda kullanımı için yüksek potansiyelleri olduğunu beklediklerini belirtmişlerdir.

Kannan vd. [15] *Chaetomorpha linum* algi ekstraktından hiçbir sentetik reaktif kullanmadan ortalama 30 nm çapında gümüş NP sentezlemişlerdir. Bu NP'lerin tarımda ve biyotıp uygulamalarında kullanım potansiyelinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Shakibaie vd. [108] altın NP'lerin yeşil sentezi için *Tetraselmis suecica* mikroalgini kullanmışlar ve ortalama 79 nm çaplarında küresel altın NP'ler elde etmişlerdir.

3.2 Deneysel Yöntem

3.2.1 Biyokütle Ekstraksiyonu ve Çözeltilerin Hazırlanması

Metalik nanopartiküllerin (MNP) yeşil sentezinde kullanılacak olan makroalglerin (UL ve HS) ve mikroalglerin (CV ve BB) ekstraksiyonları saf su kullanılarak yapılmıştır. Hasatlanmış/toplanmış ve kurutulmuş algal biyokütleler saf su ile 1:100 (w/V) oranında saf su ile karıştırılıp 45 dakika boyunca balon ısıtıcıda (Elektromag, MX 250) kaynatılmıştır. Kaynatma işleminden sonra da oda sıcaklığına soğuyana kadar manyetik karıştırıcıda (IKA, C-MAG HS7) karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlar Whatman No:1 filtre kağıdı ile süzülerek 4 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

3.2.2 Yeşil Sentezle Nanopartikül Üretimi

Yeşil sentezle MNP'lerin üretilmesi için metal tuzları olarak 0.001 M $AgNO_3$ (Merck Millipore), 0.1 M $FeSO_4.7H_2O$ (ISOLAB Chemicals) ve 0.1 M $CuSO_4.5H_2O$ (ISOLAB Chemicals) solüsyonları kullanılmıştır. Algal ekstraktlar farklı sıcaklık, pH ve metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı gibi proses koşulları altında metal tuzu solüsyonlarına damla damla eklenmiştir. Bu parametrelerin MNP çapına olan etkilerini belirlemek için farklı deney setleri kurulmuştur. Birinci deney setinde pH'nin MNP çapı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu deney setindeki proses koşulları:

- pH: 3, 5, 7, 9 ve 11
- Metal tuzu solüsyonu - ekstrakt oranı: 1'e 1 (V:V) yani %50
- Sıcaklık: 25 ±2 °C

İkinci deney setinde ekstrakt – metal tuzu solüsyonu oranının MNP çapı üzerine etkileri incelenmiştir. Bu deney setindeki proses koşulları:

- pH: 1. deney setinde belirlenen koşul
- Metal tuzu solüsyonu - ekstrakt oranı: 1'e 9 (%10), 3'e 7 (%30), 1'e 1 (%50), 7'e 3 (%70) ve 9'a 1 (%90) (V:V)
- Sıcaklık: 25 ±2 °C

Üçüncü deney setinde ise sıcaklığın MNP çapı üzerine etkileri incelenmiştir. Bu deney setinin koşulları:

- pH: 1. deney setinde belirlenen koşul
- Metal tuzu solüsyonu - ekstrakt oranı: 2. deney setinde belirlenen koşul
- Sıcaklık: 25, 40, 55, 70 ve 85 °C

Yukarıda koşulları belirtilen bütün deney setlerinde yeşil sentez reaksiyonları çalkalamalı su banyosunda (Nüve, ST 30) 60 dakika sürmüştür. 60 dakika sonrasında elde edilen karışım 10000 RPM hızda 4 °C sıcaklıkta santrifüj (Sigma, 2-16KL) edilmiştir. Daha sonra elde edilen MNP'ler iki kere daha saf su ile yıkanmıştır ve aynı koşullarda santrifüj işlemi yapılıp liyofilizatörde (Christ Alpha, 1–2 LD plus) kurutulmuştur. Elde edilen MNP'ler karakterizasyon ve antimikrobiyal aktivite analizleri için koyu renkli şişelerde 4 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

3.2.3 İstatistiksel Analiz

Bazı yeşil sentez proses koşullarının algal ekstraktlar kullanılarak üretilen MNP'lerin çapına olan etkilerinin istatistiksel olarak incelenmesi için Yüzey Yanıt Yöntemi'nden (Response Surface Method - RSM) Box-Behnken Deneysel Tasarım (Box-Behnken Experimental Design - BBED) kullanılmıştır. Etkisi incelenen proses parametreleri olarak pH, metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve sıcaklık olarak belirlenmiştir ve bu parametrelerin üç seviyesi çalışılmıştır. MNP çapına olan etkisi incelenen parametreler ve bunların seviyeleri Tablo 3.1'de belirtilmiştir.

Tablo 3. 1 İncelenen parametreler ve bunların seviyeleri

Parametreler	Alt Değer (-1)	Orta Değer (0)	Üst Değer (1)
A - pH	3	7	11
B - Sıcaklık (C)	25	55	85
C – Metal tuzu solüsyonu – Ekstrakt oranı (ml/ml)	1:9 (%10)	1:1 (%50)	9:1 (%90)

Tablo 3.1'de belirtilen parameter ve seviyelerin MNP çapına olan etkilerinin istatistiksel incelenmesi, model denklemin oluşturulması ve varyans analizi (ANOVA) için Design Expert 11 programı kullanılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda elde edilen model denklem (Denklem 3.1) aşağıdaki gibidir:

$$R = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_{12} AB + \beta_{13} AC + \beta_{23} BC + \beta_{11} A^2 + \beta_{22} B^2 + \beta_{33} C^2 \quad (3.1)$$

Burada R, elde edilen MNP'nin çapını; β_0, β_1, β_2, β_3, β_{12}, β_{13}, β_{23}, β_{11}, β_{22} ve β_{33} sabit faktörleri; A, B ve C ise sırasıyla pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı bağımsız değişkenlerini ifade etmektedir. En uygun modeller ikinci dereceden regresyon (quadratic regression) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3 Sonuçlar ve Tartışma

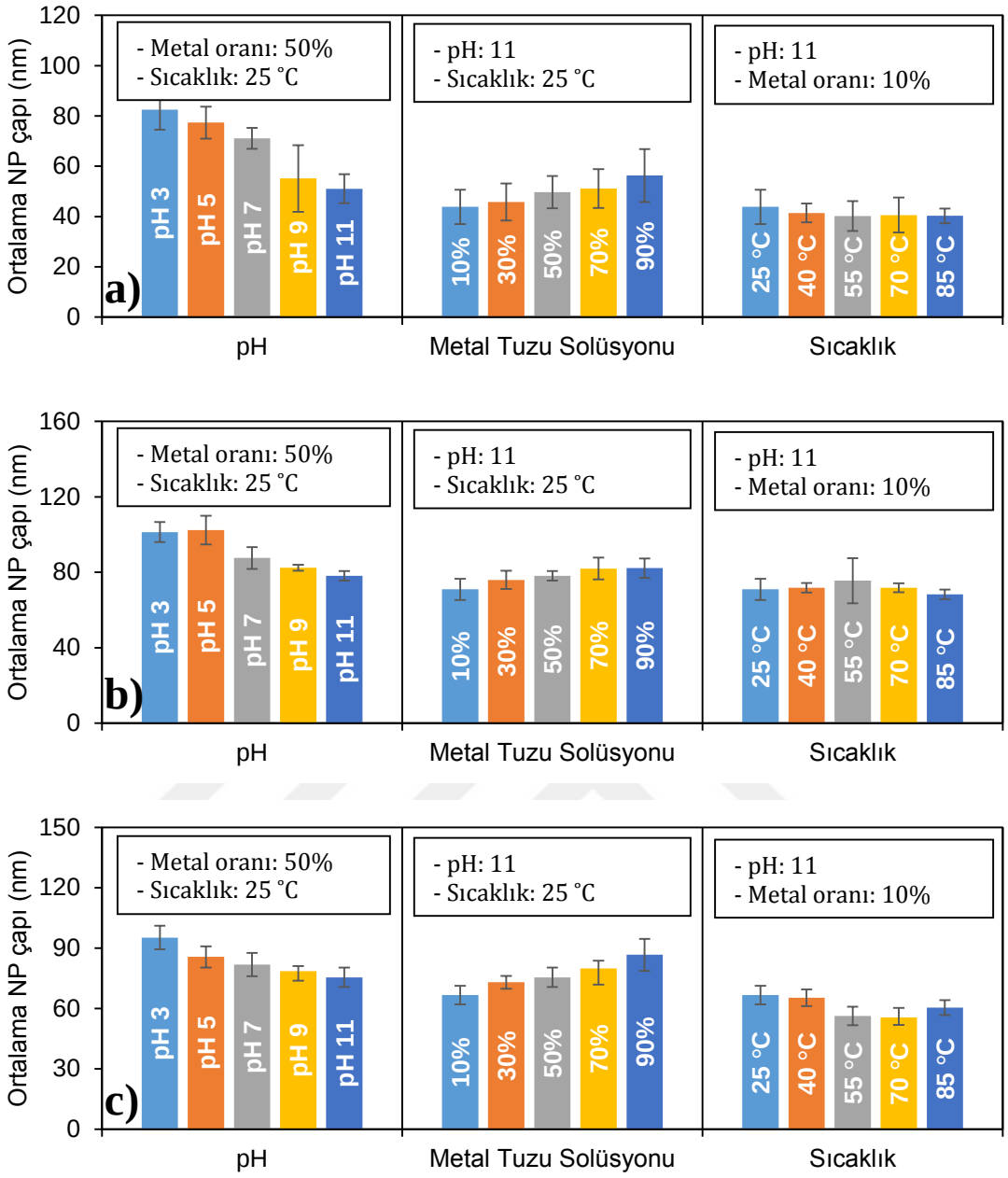
3.3.1 *Ulva lactuca*'dan Nanopartikül Üretimi

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin UL makroalgi sulu ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP, FeONP ve CuONP çapları üzerine etkileri Şekil 3.3'de özetlenmiştir. Şekil 3.3a'da gösterilen UL-AgNP sonuçlarına göre, üretilen NP'lerin çapları 40.19 ± 5.93 ile 82.54 ± 7.96 arasında değişmektedir. En yüksek çaplı UL-AgNP, 3 pH, %50 metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; ek düşük çaplı UL-AgNP 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve 55 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir. pH'nin UL-AgNP çapına etkisinin incelendiği deney setinde pH ile NP çapı arasında ters orantı olduğu görülmüştür ve bu deney setinde sentezlenen UL-AgNP'lerin çapları 82.54 ± 7.96 nm ile 51.05 ± 5.77 nm

arasında bulunmuştur. Metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranının UL-AgNP çapına etkisinin incelendiği deney setinde ise bu oranın artmasıyla UL-AgNP çapının arttığı görülmüştür. Bu deney setinde elde edilen UL-AgNP'lerin çapları 43.85 ± 6.82 nm ile 56.34 ± 10.54 nm arasında değişmektedir. Sıcaklığın UL-AgNP çapı üzerine etkilerinin incelendiği deney setinde elde edilen UL-AgNP'lerin çapları 40.19 ± 5.93 nm ile 43.85 ± 6.82 nm arasında değişmektedir.

Şekil 3.3 b'de gösterilen UL-FeONP çapları incelendiğinde, en büyük çaplı UL-FeONP'nin 5 pH, %50 metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde 102.37 ± 7.6 nm çapında üretilmişken; en küçük çaplı UL-FeONP'nin 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve 85 °C sıcaklık parametrelerinde 68.27 ± 2.54 nm çapında üretildiği görülmüştür. pH'nin UL-FeONP çapı üzerine etkisinin belirlendiği deney setinde sentezlenen NP'ler 78.13 ± 2.5 nm ile 102.37 ± 7.6 nm arasında değişmişken; metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı parametresinin NP üzerine etkisinin incelendiği deney setinde UL-FeONP'lerin çapları 70.92 ± 5.66 ile 82.17 ± 5.11 nm arasında değişmiştir. Farklı sıcaklıklarda sentezlenen UL-FeONP'lerin çapları ise 68.27 ± 2.54 nm ile 75.55 ± 11.98 nm olarak bulunmuştur.

Şekil 3.3 c'de gösterilen UL-CuONP çapları incelendiğinde ise en küçük çaplı NP'nin 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ve 70 °C sıcaklık koşullarında 55.51 ± 4.77 nm çapında olduğu görülmektedir. Farklı pH değerlerinde gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde 75.45 ± 4.78 nm ile 95.21 ± 5.89 nm arasında; farklı metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranlarında gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde 66.59 ± 4.58 nm ile 86.68 ± 7.95 nm arasında ve farklı sıcaklık değerlerinde gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde ise 55.51 ± 4.77 nm ile 66.59 ± 4.58 nm arasında UL-CuONP sentezlenmiştir.



Şekil 3. 3 Sentez koşullarının UL ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde UL makroalgi kullanılarak birçok MNP türü sentezlenmiş ve bunlar çeşitli alanlarda değerlendirilmiştir. Kumar vd. [109] yaptıkları çalışmada UL ekstraktından AgNP sentezlemiş ve bunların metil turuncu boyasının fotokatalitik bozunmasına etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada 0.25 g UL tozunu 100 mL distile su ile ekstrakte etmişler ve elde ettikleri ekstraktları 1'e 1 (V/V) oranında 1 mM $AgNO_3$ ile oda sıcaklığında karıştırarak ortalama 48.9 nm

çapında AgNP üretmişlerdir. González-Ballesteros vd. [110] UL makroaginin sulu ekstraktlarından gümüş ve altın NP'ler sentezlemişler ve bunların kolon kanseri hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerine bakmışlardır. Altın nanopartiküllerinin yeşil sentezi için 1 g/mL konsantrasyonundaki ekstrakt ile son altın konsantrasyonu 0.4 mM olacak şekilde metal tuzu solüsyonu oda sıcaklığında 24 saat karıştırılmıştır. Gümüş nanopartiküllerin sentezi için ise 0.5 g/mL konsantrasyonundaki ekstrakt ile son gümüş konsantrasyonu 0.17 mM olacak şekilde metal tuzu solüsyonu ile 8 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Elde edilen altın ve gümüş NP'lerin boyutları sırasıyla 7.9 ± 1.7 nm ve 31 ± 8 nm olarak belirlenmiştir. Bensy vd. [96] 5 g kuru UL makroalgini 500 mL distile su ile ekstrakte etmiş ve elde ettikleri ekstraktları hacimce 1'e 1 oranda 0.1 M $FeCl_3$ ile 30 °C sıcaklıkta 2 saat karıştırarak 20 – 40 nm arasında FeONP sentezlemişlerdir. Ishwarya vd. [103] 5 g UL makroalgini 50 mL distile su ile 20 dakika kaynatarak elde ettikleri ekstraktı, hacimce 1'e 19 oranda 1 mM çinko asetat solüsyonu ile 70 °C sıcaklıkta 3 – 4 saat karıştırarak ortalama 15 nm boyunda çinko-oksit NP sentezlemişlerdir.

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin UL-AgNP, UL-FeONP ve UL-CuONP çaplarına etkisi Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak da incelenmiştir. Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi için kullanılan tasarım makriksi ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre UL-AgNP 40.18 nm – 82.54 nm arasında, UL-FeONP 75.09 – 132.16 nm arasında ve UL-CuONP 49.71 – 77.54 nm arasında sentezlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucu elde edilen model denklemler (Denklem 3.2, 3.3 ve 3.4) ise aşağıda verilmiştir.

$$R_{UL_AgNP} = 50.75 - 6.75A - 0.57B + 2.04C - 0.02AB + 0.66AC - 0.72BC + 0.13A^2 + 23.40B^2 - 2.26C^2 \quad (3.2)$$

$$R_{UL_FeONP} = 78.71 - 10.57A - 4.93B + 2.41C - 1.40AB + 0.22AC + 0.93BC + 20.82A^2 + 15.21B^2 - 12.06C^2 \quad (3.3)$$

$$R_{UL_CuONP} = 54.23 - 5.25A - 1.88B - 0.46C + 0.04AB + 3.42AC - 0.12BC + 8.69A^2 + 7.56B^2 - 5.31C^2 \quad (3.4)$$

Bu denklemlerdeki pozitif işaretler cevap ile değişkenin doğru orantılı olduğu, negatif işaretler ise cevap ile değişkenlerin ters orantılı olduğu anlamına gelmektedir. Buna göre A ile gösterilen pH değişkeni ve B ile gösterilen sıcaklık değişkeni her üç NP çeşidi için NP boyutunu ters yönde etkilemektedir. Metal tuzu solüsyonu – ekstrakt oranı ise UL-AgNP ve UL-FeONP için doğrusal olarak etkiliyken; UL-CuONP için ise ters yönde etkilidir. Ancak UL-CuONP yeşil sentez model denkleminde C ile gösterilen değişkenin önündeki katsayı 1'den düşüktür ve bu durum gerçekleştirilen deneylerde bu parametrenin anlamlı bir etki göstermediği anlamına gelmektedir. Benzer şekilde UL-AgNP yeşil sentez model denkleminde B ile gösterilen değişken için de söylenebilir. Model denklemlerde katsayısı en büyük olan değişkenler prosesi en çok etkileyen parametre olarak değerlendirilebilir ve bu denklemlerin hepsinde bu parametre pH değeridir. Bu denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini NP çapları da Tablo 3.2'de verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde tahmini değerlerin gerçek değerlere yakın olduğu görülmektedir. Bu nedenle kullanılan model denklemlerin UL ekstraktı kullanılarak gerçekleştirilen AgNP, FeONP ve CuONP yeşil sentezi için uygun olduğu yorumu yapılabilir.

Tablo 3. 2 UL ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları

				AgNP (nm)		FeONP (nm)		CuONP (nm)	
	A	**B**	**C**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**
1	-1	-1	0	82.54	81.57	132.16	128.3	77.54	77.65
2	1	-1	0	67.15	68.12	108.64	109.96	67.99	67.07
3	-1	1	0	81.46	80.49	123.63	122.32	72.87	73.81
4	1	1	0	65.98	66.94	94.52	98.38	63.49	63.39
5	-1	0	-1	53.07	53.99	92.5	95.85	68.1	66.74
6	1	0	-1	40.18	39.17	76.1	74.27	49.71	49.4
7	-1	0	1	55.75	56.75	98.41	100.23	58.65	58.98
8	1	0	1	45.50	44.57	82.87	79.53	53.96	55.32
9	0	-1	-1	69.66	69.69	85.34	84.77	57.44	58.7
10	0	1	-1	69.97	70.01	75.09	74.13	54.73	55.18
11	0	-1	1	75.26	75.22	86.77	87.73	58.45	58.02
12	0	1	1	72.68	72.64	80.25	80.81	55.28	54.02
13	0	0	0	49.29	50.75	79.47	78.71	53.67	54.23
14	0	0	0	50.32	50.75	77.08	78.71	53.96	54.23
15	0	0	0	52.65	50.75	79.59	78.71	55.05	54.23

Bazı yeşil sentez parametrelerinin UL ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen varyans analizi sonuçları Tablo 3.3'te özetlenmiştir. Varyans analizinde p değerlerinin 0.05'ten küçük çıkması belirtilen parametrenin ya da modelin anlamlı olduğunu; 0.05'ten büyük çıkması ise belirtilen parametrenin ya da modelin anlamsız olduğu anlamına gelmektedir [67]. Bu tabloya göre her üç NP çeşidi için model denklemler anlamlıyken; uyum eksikliği değerleri anlamsızdır. Uyum eksikliği değerlerinin anlamsız olması istatistiksel yöntem için iyi bir şeydir çünkü uyum eksikliği değeri istatistiksel yöntemin uygunsuzluğunu

ifade eder [46], [111]. Bu tabloda gösterilen R^2 değerleri incelendiğinde ise tüm NP türleri için bu değerlerin 1'e oldukça yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca tüm NP türleri için ayarlı R^2 ve tahmini R^2 değerleri arasında 0.2'den daha küçük bir fark vardır. Bu durumlar, Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin UL'dan yeşil sentezle AgNP, FeONP ve CuONP'lerin üretimi için kullanılabileceğini göstermektedir [112].

Tablo 3. 3 UL'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi

	UL-AgNP	**UL-FeONP**	**UL-CuONP**
Model f değeri	103.34	35.38	49.13
Model p değeri	<0.0001	0.0005	0.0002
Uyum eksikliği f değeri	0.8416	10.39	5.80
Uyum eksikliği p değeri	0.5832	0.0891	0.1505
R^2	0.9947	0.9845	0.9888
Ayarlı R^2	0.9850	0.9567	0.9687
Tahmini R^2	0.9469	0.7654	0.8369

Bazı yeşil sentez parametrelerinin UL ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak optimizasyonu sonucunda elde edilen optimum değerler Tablo 3.4'te özetlenmiştir.

Tablo 3. 4 UL'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar

	A		**B**		**C**		**NP çapı (nm)**
	Kod	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	
UL-AgNP	0.995	10.98	-0.165	50.05	-0.959	11.64	40.12
UL-FeONP	0.639	9.56	0.562	71.86	-0.904	13.84	69.37
UL-CuONP	0.656	9.62	0.100	58.00	-0.956	11.76	47.86

3.3.2 *Halopteris scoparia*'dan Nanopartikül Üretimi

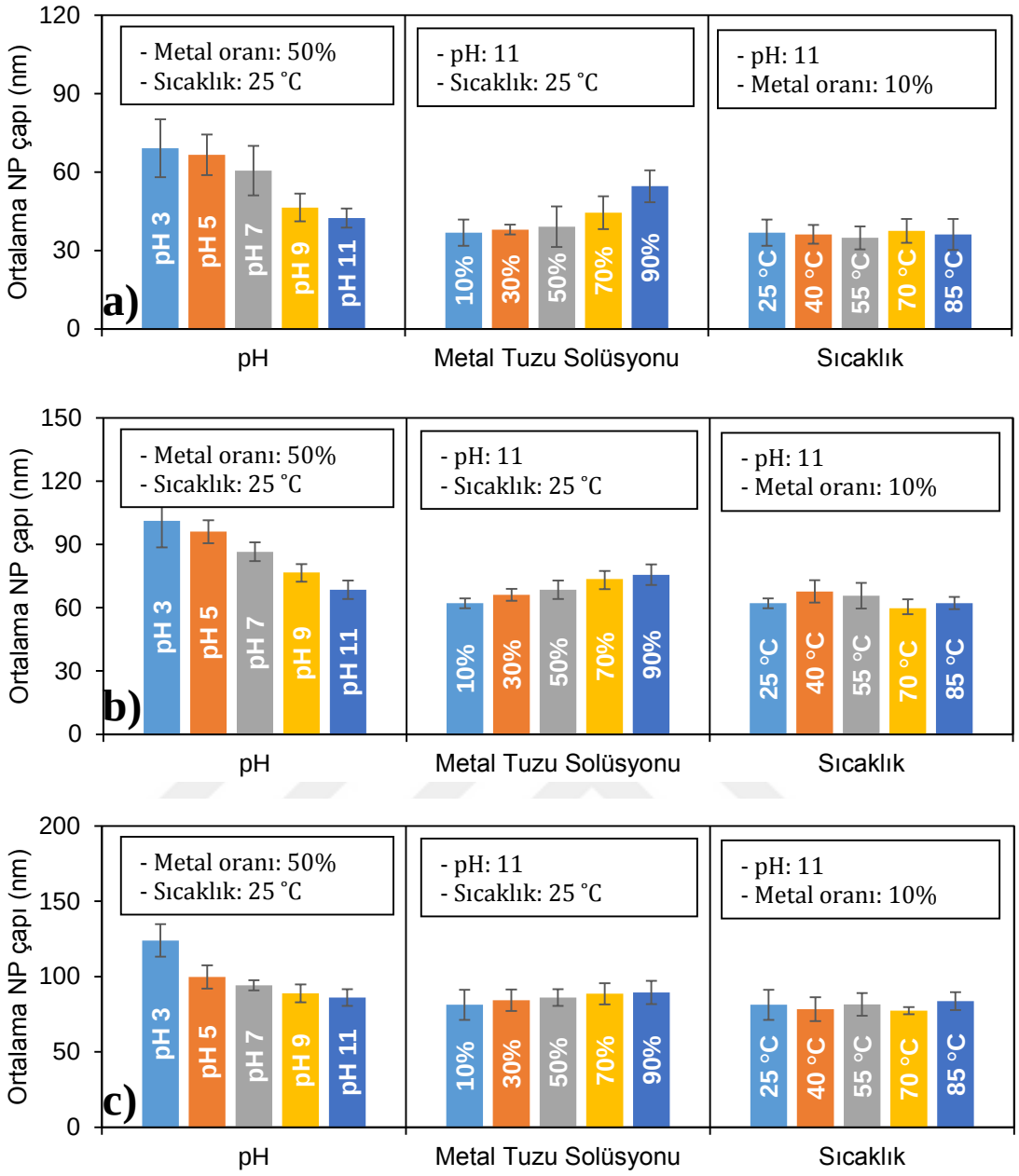
pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin HS makroalgi sulu ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP, FeONP ve CuONP çapları üzerine etkileri Şekil 3.4'te özetlenmiştir. Şekil 3.4 a'da gösterilen HS-AgNP çapları incelendiğinde en küçük çaplı NP'lerin 11 pH, %10 metal tuzu solüsyon oranı ve 55 °C sıcaklık koşullarında sentezlendiği görülmektedir. Farklı pH değerlerinde gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde 42.48 ± 3.65 nm ile 69.19 ± 11.06 nm arasında; farklı metal tuzu oranlarında gerçekleştirilen deneylerde 36.89 ± 5.04 nm ile 54.62 ± 6.07 nm arasında; farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde ise 34.88 ± 4.38 nm ile 37.45 ± 4.59 nm arasında HS-AgNP sentezlenmiştir.

Şekil 3.4 b'de gösterilen HS-FeONP çapları incelendiğinde ise farklı proses koşullarında yeşil sentezle elde edilen FeONP'lerin 59.78 ± 4.21 nm ile 101.14 ± 12.51 nm arasında değiştiği görülmektedir. Bu şekle göre pH değeri arttıkça FeONP çapları 101.14 ± 12.51 nm'den 68.54 ± 4.39 nm'ye farklı miktarlarda azalma davranışı göstermiştir. Metal tuzu oranının HS-FeONP çapına olan etkisinin incelendiği deney setlerinde ise metal tuzu oranı arttıkça HS-FeONP çapı 62.12 ± 2.31 nm'den 75.64 ± 4.89 nm'ye arttığı görülmektedir. Sıcaklığın HS-FeONP üzerine etkileri incelendiğinde ise farklı sıcaklıklarda sentezlenen NP'lerin çaplarının 59.78 ± 4.21 nm ile 67.72 ± 5.28 nm arasında değiştiği ve sıcaklığın FeONP çapı üzerinde herhangi lineer bir etki göstermediği görülmüştür. Bu deney setlerinden sonra en küçük çaplı HS-FeONP sentezlemek için gerekli koşulların yüksek pH, düşük metal tuzu oranı ve orta sıcaklık değerleri olduğu belirlenmiştir.

Şekil 3.4 c'de gösterilen HS-CuONP çapları incelendiğinde ise en küçük çaplı HS-CuONP'nin 77.36 ± 2.36 nm, en büyük çaplı HS-CuONP'nin 123.98 ± 10.82 nm olduğu görülmektedir. Bu deney setlerinde pH değeri arttıkça HS-CuONP çapının azaldığı; metal tuzu solüsyonu oranın arttıkça HS-CuONP çapının arttığı belirlenmiştir. Sıcaklığın da HS-FeONP'de olduğu gibi herhangi bir lineer etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. Farklı pH değerlerinde gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde 86.08 ± 5.63 nm ile 123.98 ± 10.82 nm arasında; farklı metal tuzu oranlarında gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde 81.27 ± 9.99 nm ile 89.46 ± 7.69 nm

arasında; farklı sıcaklık değerlerinde gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinde ise 77.36 ± 2.36 nm ile 83.67 ± 6.01 nm arasında HS-CuONP sentezlenmiştir.

HS makroalgi kullanılarak gerçekleştirilen yeşil sentezle NP üretimiyle alakalı literatür taraması yapıldığında bu makroalgin bu alanda neredeyse hiçbir çalışmada değerlendirilmediği görülmüştür. Literatürde bu konuyla alakalı sadece iki çalışma görülmüştür. Bunların birincisi bu tez çalışmasının çıktısı olan Koçer ve Özçimen [113]'dir. Diğeri ise Akköz vd. [114] 'nin gerçekleştirdiği HS ekstraktı kullanılarak AgNP üretimi ve bunların patojenik bakteriler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmadır. Bu çalışmada 2.5, 5 ve 10'ar gram HS 100'er mL distile su ile 80 °C sıcaklıkta 20 dakika karıştırılarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar farklı konsantrasyonlardaki $AgNO_3$ çözeltileriyle hacimce 1'e 1 oranda karıştırılarak ortalama 15 nm çapında AgNP'ler sentezlenmiştir.



Şekil 3. 4 Sentez koşullarının HS ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin HS-AgNP, HS-FeONP ve HS-CuONP çaplarına etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemler (Denklem 3.5, 3.6 ve 3.7) aşağıda verilmiştir.

$$R_{HS_AgNP} = 43.84 - 6.44A + 0.033B + 2.59C + 0.38AB + 0.53AC + 0.05BC + 3.96A^2 + 14.98B^2 - 3.37C^2 \quad (3.5)$$

$$R_{HS_FeONP} = 65.36 - 4.40A - 1.10B + 0.66C + 0.81AB + 0.21AC - 0.13BC + 0.42A^2 + 0.42B^2 - 4.89C^2 \quad (3.6)$$

$$R_{HS_CuONP} = 80.89 - 3.31A - 0.74B + 1.86C - 0.18AB - 0.54AC - 0.27BC - 2.08A^2 + 1.66B^2 + 0.89C^2 \quad (3.7)$$

Bu denklemlere göre her üç NP türü için de pH değişkeninin önündeki katsayı negatif olduğu için bu değişkenin NP çapını ters yönde etkilediği; metal tuzu oranı değişkeninin katsayısı ise pozitif olduğu için bu değişkenin NP çapını doğru yönde etkilediği söylenebilir. Sıcaklık değişkeni ise HS-AgNP çapıyla doğru orantılıyken; HS-FeONP ve HS-CuONP çaplarıyla ters orantılıdır. Ancak sıcaklık değişkeninin katsayısı HS-AgNP ve HS-CuONP için 1'den düşük olduğu için anlamsız değişkenler olarak değerlendirilebilirler. Bazı yeşil sentez parametrelerinin HS ekstraktından sentezlenen MNP'lerin çapına olan etkilerinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemine göre incelenmesi için gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinin sonuçları ve istatistiksel analiz sonucunda elde edilen model denklemlere göre hesaplanan NP çapları Tablo 3.5'te gösterilmektedir. Bu tabloda belirtilen matrikse göre sentezlenen HS-AgNP, HS-FeONP ve HS-CuONP'lerin çapları sırasıyla 34.88 – 69.19 nm, 54.94 – 72.19 nm ve 75.15 – 86.41 nm arasında belirlenmiştir. Tahmini NP çapları ise deneysel değerlere oldukça yakın hesaplanmıştır ve bu durum model denkleminin yüksek regresyon katsayısına sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. 5 HS ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları

				AgNP (nm)		FeONP (nm)		CuONP (nm)	
	A	**B**	**C**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**
1	-1	-1	0	69.19	69.23	72.19	72.51	84.34	84.34
2	1	-1	0	55.92	56.27	63.42	62.09	77.46	78.08
3	-1	1	0	68.87	69.21	67.35	68.69	83.84	83.22
4	1	1	0	57.12	56.41	61.83	61.51	76.23	76.24
5	-1	0	-1	49.19	48.81	65.82	64.84	80.08	80.61
6	1	0	-1	34.88	34.87	54.94	55.62	75.15	75.07
7	-1	0	1	52.91	52.93	66.41	65.74	85.31	85.41
8	1	0	1	40.72	41.11	56.37	57.36	78.24	77.71
9	0	-1	-1	52.87	52.78	60.55	61.2	82.58	82.05
10	0	1	-1	52.45	52.95	59.61	59.26	81.00	81.11
11	0	-1	1	58.33	58.06	62.41	62.78	86.41	86.31
12	0	1	1	58.12	58.02	60.97	60.32	83.77	84.29
13	0	0	0	44.25	43.87	66.29	65.36	80.36	80.89
14	0	0	0	42.96	43.87	64.71	65.36	81.71	80.89
15	0	0	0	44.31	43.87	65.07	65.36	80.6	80.89

Sıcaklık, pH ve metal tuzu solüsyonu oranı gibi yeşil sentez parametrelerinin HS makroalginin sulu ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen varyans analizi sonuçları Tablo 3.6'da özetlenmiştir. Bu tablo incelendiğinde her MNP türü için elde edilen model denklemlerin p değerlerinin 0.05'ten küçük olduğu; regresyon katsayılarının da 0.9'dan büyük olduğu görülmektedir. Bu durum her MNP türü için model denklemlerin uygun olduğunu göstermektedir. Ayrıca uyum eksikliği p değerlerinin 0.05'ten büyük olması da bu durumu desteklemektedir. Ayarlı ve tahmini regresyon katsayıları incelendiğinde ise HS-AgNP ve HS-CuONP için aralarındaki farkın 0.2'den küçük olduğu görülmektedir ve bu durum Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin bu iki MNP türü için uygulanabilir bir istatistiksel yöntem olduğu anlamına gelmektedir. Ancak HS-

FeONP'nin ayarlı ve tahmini regresyon katsayıları arasındaki fark 0.2'den biraz büyüktür. Bu durum deneysel tasarımda kullanılan gerçek değerler arasında bazı uyumsuzlukların olduğu ve daha fazla veriye ve tekrara ihtiyaç duyulduğu anlamına gelmektedir.

Tablo 3. 6 HS'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi

	HS-AgNP	**HS-FeONP**	**HS-CuONP**
Model f değeri	363.40	16.11	28.75
Model p değeri	<0.0001	0.0035	0.0009
Uyum eksikliği f değeri	0.4968	3.76	1.23
Uyum eksikliği p değeri	0.7210	0.2174	0.4769
R^2	0.9985	0.9667	0.9810
Ayarlanmış R^2	0.9957	0.9067	0.9469
Tahmin edilen R^2	0.9876	0.5357	0.7881

Bazı yeşil sentez parametrelerinin HS ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak optimizasyonu sonucunda elde edilen optimum değerler Tablo 3.7'de özetlenmiştir.

Tablo 3. 7 HS'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar

	A		**B**		**C**		**NP çapı (nm)**
	Kod	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	
HS-AgNP	0.879	10.52	0.020	55.60	-0.995	10.20	34.87
HS-FeONP	1.000	11.00	0.195	60.85	-1.000	10.00	55.60
HS-CuONP	0.998	10.99	0.371	66.13	-0.727	20.92	74.97

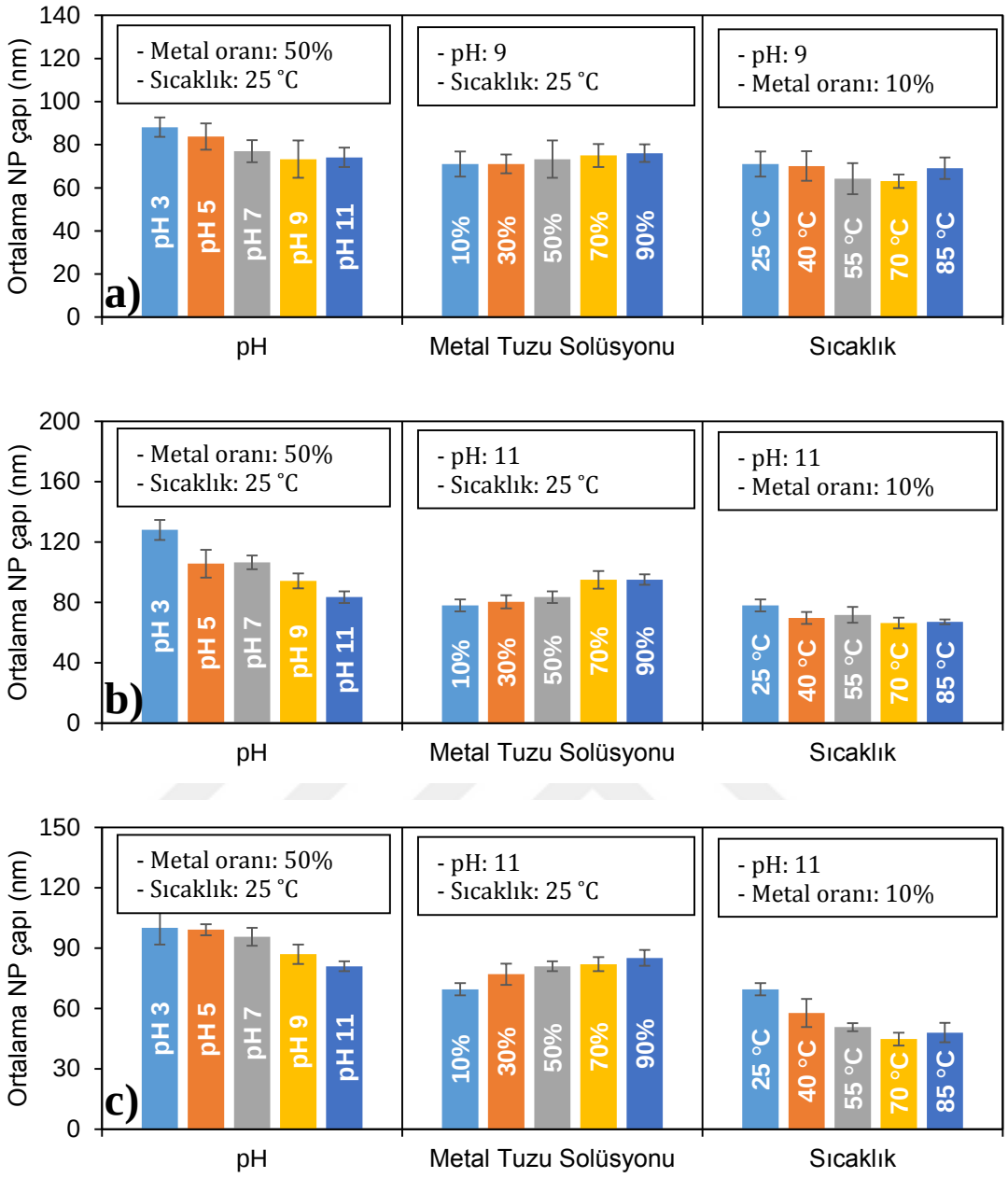
3.3.3 *Chlorella variabilis*'ten Nanopartikül Üretimi

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin CV makroalgi sulu ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP, FeONP ve CuONP çapları

üzerine etkileri Şekil 3.5'te özetlenmiştir. Şekil 3.5'te gösterilen farklı pH değerlerinde gerçekleştirilmiş yeşil sentez deneylerinde CV-AgNP 73.26 ± 8.66 – 88.11 ± 4.53 nm arasında, CV-FeONP 128.05 ± 6.56 – 83.53 ± 3.82 nm arasında ve CV-CuONP ise 80.91 ± 2.45 – 100.10 ± 8.41 nm arasındaki çaplarda üretilmiştir. Bu deney setinde en düşük çaplı NP üretmek için gerekli pH değerleri CV-FeONP ve CV-CuONP için 11 olarak belirlenmişken; CV-AgNP için bu değer 9 olarak belirlenmiştir. CV-AgNP pH 11 koşulunda 74.13 ± 4.51 nm çapında sentezlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre küçük çaplı nanopartiküllerin sentezlenmesi için bazik ortam gerektiği sonucu çıkarılabilir.

Şekil 3.5'te gösterilen farklı metal tuzu solüsyonu oranlarında gerçekleştirilen yeşil sentezle MNP üretimi deney setlerinde CV-AgNP 71.02 ± 5.82 – 76.09 ± 4.07 nm arasında, CV-FeONP 78.11 ± 3.97 – 95.14 ± 3.41 nm arasında ve CV-CuONP ise 69.51 ± 3.03 – 85.12 ± 3.98 nm arasındaki çaplarda üretilmiştir. Her MNP türü için metal tuzu solüsyon oranı arttıkça MNP çapının da arttığı gözlemlenirken; bu artış miktarının çok fazla olmadığı görülmüştür.

Şekil 3.5'te gösterilen farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilmiş yeşil sentez denemelerinde sıcaklık ile MNP çapı arasındaki ilişki farklı şekillerde gerçekleşmiştir. Bu deney setlerinde elde edilen CV-AgNP'lerin çapları 63.07 ± 3.07 – 71.02 ± 5.82 nm arasında, CV-FeONP'lerin çapları 66.33 ± 3.56 – 78.11 ± 3.97 nm arasında ve CV-CuONP'lerin çapları 69.51 ± 3.04 – 44.76 ± 3.18 nm arasında bulunmuştur. Her üç MNP çeşidi için de en küçük çaplı NP'ler 70 °C sıcaklık değerinde elde edilmiştir. Diğer sıcaklık koşullarında üretilen NP'lerin çapları ek düşük çaplı NP'ye oldukça yakındır.



Şekil 3. 5 Sentez koşullarının CV ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde CV mikroalginin yeşil sentezle MNP üretiminde kullanıldığı herhangi bir akademik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu türe akraba türlerle yapılan çalışmalar incelendiğinde ise farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Örneğin Annamalai ve Nallamuthu [115] *Chlorella vulgaris* türü mikroalgin suda çözünen biyomoleküllerini kullanarak 2 – 10 nm arasında altın nanopartiküller sentezlemişlerdir. Rajkumar vd. [100] ise *Chlorella vulgaris*

mikroalgi kullanarak AgNP'nin yeşil sentezini optimize etmişlerdir. Optimizasyon sonrasında hacimce 8:2 algal ekstrakt oranı, 12 pH, 3 mM $AgNO_3$ molaritesi ve 24 saat reaksiyon süresi parametrelerinde 55.06 ± 9.67 nm çapında küresel AgNP elde etmişlerdir. Kumar ve Bharadvaja [116] *Chlorella sorokiniana* türü mikroalg ekstraktı kullanarak metal tuzunun mikroalg ekstraktına oranı, mikroalg ekstraktının pH'ı, sıcaklık, inkübasyon koşulları ve süresi gibi yeşil sentez parametrelerinin AgNP üretimine etkilerini optimize etmişler ve optimum koşullar olarak hacimce 10:1 ekstrakt oranı, 7 pH ve sürekli ışık altında 30 °C sıcaklık olarak belirlemişlerdir. Optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lerin küresel şekilde ve 78.96 nm çapında olduğunu raporlamışlardır. Gürsoy vd. [117] ise yaptıkları çalışmada *Chlorella sorokiniana* mikroalgi ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle 5-15 nm çaplı küresel altın NP'ler elde ettiklerini bildirmişlerdir.

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin CV-AgNP, CV-FeONP ve CV-CuONP çaplarına etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemler (Denklem 3.8, 3.9 ve 3.10) aşağıda verilmiştir.

$$R_{CV_AgNP} = 62.70 - 5.11A - 1.72B + 1.75C - 0.13AB + 0.75AC + 0.05BC - 1.63A^2 + 1.26B^2 - 2.21C^2 \quad (3.8)$$

$$R_{CV_FeONP} = 64.73 - 4.90A - 0.97B + 2.18C - 0.52AB + 0.78AC + 0.24BC - 0.27A^2 + 1.12B^2 + 0.11C^2 \quad (3.9)$$

$$R_{CV_CuONP} = 44.17 - 10.57A - 2.74B + 2.45C + 0.70AB + 0.56AC + 1.75BC + 4.58A^2 + 2.94B^2 + 1.15C^2 \quad (3.10)$$

Bu denklemlerdeki değişken katsayılarının işaretlerine göre her üç MNP türü için de pH ve sıcaklık parametreleri NP çapıyla ters orantılı bir ilişki varken; metal tuzu solüsyonu oranı parametresiyle doğru orantılı bir ilişki vardır. Yine her MNP türü için NP çapını en çok etkileyen parametre katsayısı en büyük olduğu için pH değeridir. Bu yeşil sentez parametrelerinin CV ekstraktından sentezlenen MNP'lerin çapına olan etkilerinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemine göre incelenmesi için gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinin sonuçları ve istatistiksel analiz

sonucunda elde edilen model denklemlere göre hesaplanan tahmini NP çapları Tablo 3.8'da gösterilmektedir. Bu tabloda belirtilen matrikse göre sentezlenen CV-AgNP, CV-FeONP ve CV-CuONP'lerin boyutları sırasıyla 50.86 – 69.74 nm, 62.99 – 72.05 nm ve 35.17 – 65.34 nm arasında belirlenmiştir. Tahmini NP çapları ise deneysel değerlere oldukça yakın hesaplanmıştır ve bu durum model denklemlerin yüksek regresyon katsayısına sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. 8 CV ekstratı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları

				AgNP (nm)		FeONP (nm)		CuONP (nm)	
	A	**B**	**C**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**
1	-1	-1	0	69.74	69.03	72.05	70.93	65.34	64.3
2	1	-1	0	59.51	59.07	62.99	62.17	42.22	44.56
3	-1	1	0	65.41	65.85	70.28	70.03	59.77	60.22
4	1	1	0	54.67	55.37	59.13	59.19	39.45	37.68
5	-1	0	-1	62.30	62.97	68.23	68.07	56.83	58.58
6	1	0	-1	50.86	51.25	57.17	56.71	35.17	36.32
7	-1	0	1	65.37	64.97	71.49	70.87	63.52	62.36
8	1	0	1	56.93	56.25	63.55	62.63	44.08	42.34
9	0	-1	-1	61.75	61.77	64.78	64.99	52.39	50.3
10	0	1	-1	59.34	58.23	63.25	62.57	42.11	41.32
11	0	-1	1	64.07	65.17	68.2	68.87	50.91	51.7
12	0	1	1	61.86	61.83	67.61	67.41	47.62	49.72
13	0	0	0	62.82	62.7	65.03	64.73	45.57	44.17
14	0	0	0	63.19	62.7	65.89	64.73	42.18	44.17
15	0	0	0	62.09	62.7	63.27	64.73	44.76	44.17

Sıcaklık, pH ve metal tuzu solüsyonu oranı gibi yeşil sentez parametrelerinin CV mikroalgi sulu ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen varyans analizi sonuçları Tablo 3.9'da özetlenmiştir. Bu tablo incelendiğinde her MNP türü için elde edilen model denklemlerin p değerlerinin 0.05'ten küçük olduğu; regresyon katsayılarının da 0.9'dan büyük olduğu görülmektedir. Ayrıca

uyum eksikliği p değerlerinin de 0.05'ten büyük olması bu yöntemin MNP yeşil sentezi için kullanılabilir bir yöntem olduğunu ve elde edilen sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir. Bu tabloda gösterilen regresyon katsayısı değerleri incelendiğinde de her MNP türü için bu değerlerin yüksek olduğu görülmektedir. Ancak CV-AgNP ve CV-CuONP için ayarlı ve tahmini regresyon katsayıları arasında 0.2'den daha fazla fark (CV-AgNP için fark 0.2213; CV-CuONP için fark 0.2366) vardır. Bu durum deneysel tasarımda kullanılan gerçek değerler arasında bazı uyumsuzlukların olduğu ve daha fazla veriye ve tekrara ihtiyaç duyulduğu anlamına gelmektedir. CV-FeONP için bu fark 0.2'den küçüktür.

Tablo 3. 9 CV'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi

	CV-AgNP	**CV-FeONP**	**CV-CuONP**
Model f değeri	28.77	23.89	22.97
Model p değeri	0.0009	0.0014	0.0015
Uyum eksikliği f değeri	5.37	0.4028	2.22
Uyum eksikliği p değeri	0.1610	0.7688	0.3260
R^2	0.9811	0.9773	0.9764
Ayarlanmış R^2	0.9469	0.9364	0.9339
Tahmin edilen R^2	0.7256	0.8312	0.6973

Yeşil sentez parametrelerinin CV ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak optimizasyonu sonucunda elde edilen optimum değerler Tablo 3.10'da özetlenmiştir.

Tablo 3. 10 CV'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar

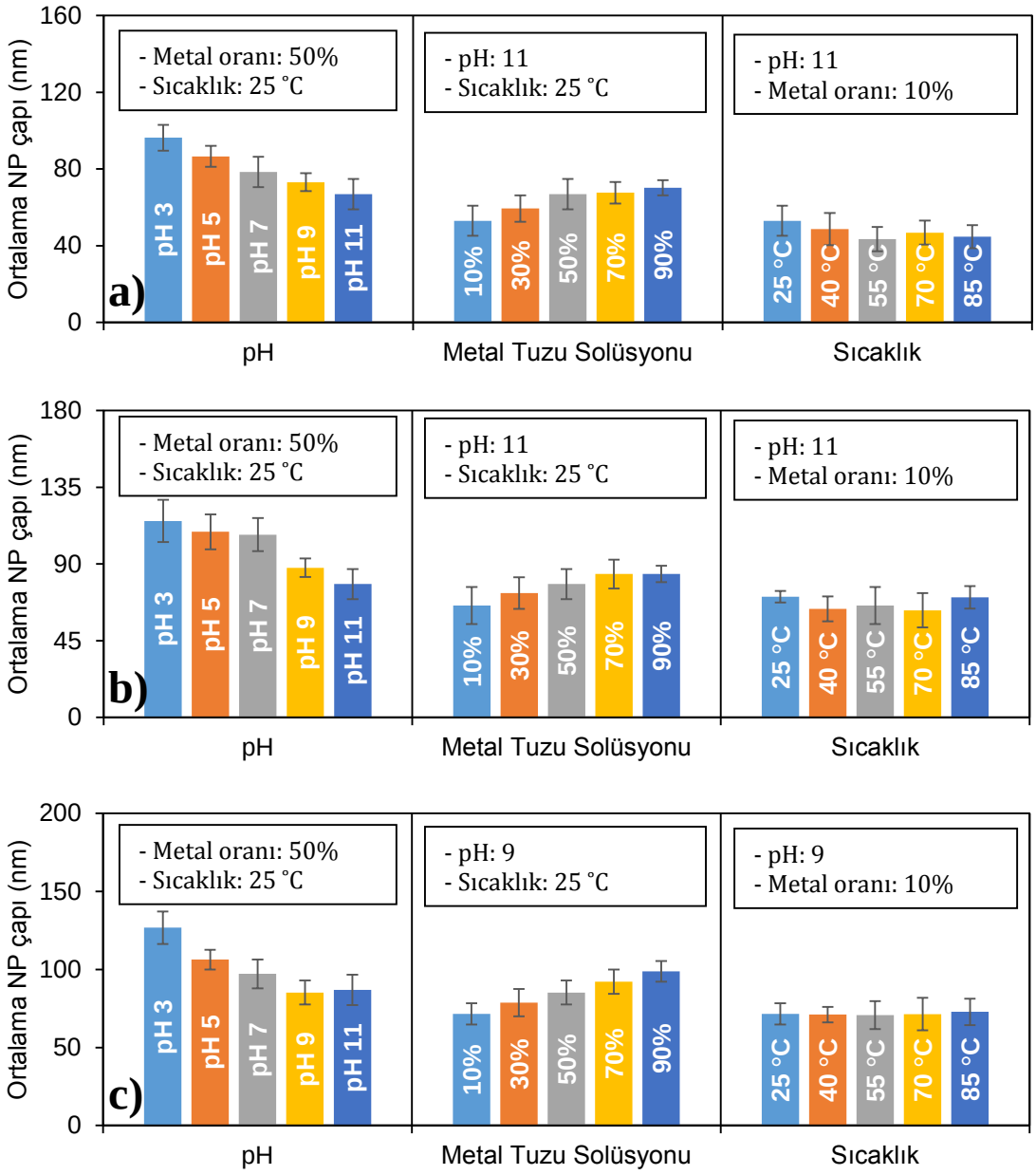
	A		**B**		**C**		**NP çapı (nm)**
	Kod	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	**Kod**	**Gerçek**	
CV-AgNP	0.999	10.99	0.789	78.67	-0.989	10.44	50.64
CV-FeONP	0.992	10.97	0.934	83.02	-0.970	11.20	56.75
CV-CuONP	0.985	10.94	0.641	74.23	-0.997	10.12	35.13

3.3.4 *Botryococcus braunii*'den Nanopartikül Üretimi

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin BB makroalgi sulu ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP, FeONP ve CuONP çapları üzerine etkileri Şekil 3.6'da özetlenmiştir. Bu şekle göre pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu oranı parametreleri her MNP türü için NP çapları üzerine küçük farklılıklar olsa da genel olarak benzer etki göstermiştir. Şekil 3.6a'da gösterilen BB-AgNP çapı üzerindeki parametre etkilerine ilişkin sonuçlar incelendiğinde, pH ile NP çapı arasında ters bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu deney setindeki en büyük ve en küçük AgNP'lerin çapları sırasıyla 96.34 ± 6.73 nm ve 66.94 ± 7.92 olarak belirlenmiştir. Metal tuzu solüsyonu oranı ile BB-AgNP çapı arasındaki ilişkinin incelendiği deney setinden elde edilen sonuçlara göre NP çapı ile metal tuzu solüsyon oranı arasında doğru bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu deney setinde en büyük ve en küçük BB-AgNP'lerin çapları sırasıyla 70.19 ± 3.97 nm ve 53.05 ± 7.90 nm olarak ölçülmüştür. Sıcaklık ile BB-AgNP arasındaki ilişkinin incelendiği deney setinde, yeşil sentezin gerçekleştiği sıcaklık aralığında (25 – 85 °C) sıcaklık ile BB-AgNP çapı arasında doğrusal veya ters bir ilişki olmadığı gözlenmiştir. Sıcaklık 25 ile 55 °C arasında arttıkça NP çapı küçülmüştür. Bu deney setlerinden elde edilen sonuçlara göre en küçük çapa sahip BB-AgNP, 11 pH, %10 metal tuzu oranı ve 55 °C sıcaklık koşullarında sentezlenmiş ve bu nanopartiküller 43.46 ± 6.38 nm olarak ölçülmüştür.

Şekil 3.6b'de gösterilen yeşil sentez parametrelerinin BB-FeONP çapı üzerindeki etkileri incelendiğinde, bu etkilerin BB-AgNP boyutu üzerindeki etkilere benzer olduğu görülmektedir. Bu deney setlerinde en küçük BB-FeONP üretimi için optimum koşullar 11 pH, %10 metal tuzu oranı ve 70 °C sıcaklık olarak belirlenmiş ve bu koşullar altında üretilen FeONP'lerin ortalama çapı 62.86 ± 10.08 nm olarak ölçülmüştür.

Şekil 3.6c'deki sonuçlara göre en küçük çaplı BB-CuONP'ler pH 9, metal tuzu içeriği %10 ve 55 °C sıcaklıkta üretilmiş ve bu koşullar altında üretilen nanopartikülün çapı 70.78 ± 8.96 nm olarak belirlenmiştir. Bu şekilden çıkarılacak bir diğer sonuç ise nanoparçacık boyutunu en çok etkileyen parametrelerin sırasıyla pH, metal tuzu solüsyonu oranı ve sıcaklık olduğudur.



Şekil 3. 6 Sentez koşullarının BB ekstraktından üretilen a) AgNP, b) FeONP ve c) CuONP çapı üzerine etkileri

Bu konuyla alakalı literatürdeki taraması yapıldığında BB türü mikroalgin MNP sentezinde oldukça az kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışmalardan biri olan Arya vd. [104], BB sulu ekstraktı kullanarak 58.93 nm boyunda bakır ve 88.88 nm boyunda gümüş NP'ler sentezlemişler ve bunların antibakteriyal aktivitelerini incelemişlerdir. Arya vd. [118] çalışmasında ise yine BB'nin sulu ekstraktları kullanılarak platin ve paladyum NP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiş ve bunların boyutları sırasıyla 86.96 nm ve 4.89 nm olarak bulunmuştur. Arévalo-Gallegos vd.

[119] BB mikroalginin sulu ekstraktlarını kullanarak çok farklı şekillerde ve boyutlarda AgNP sentezlemişken; Navarro Gallón vd. [120] BB'nin ekzopolisakkaritlerini kullanarak 13.8 ± 5.3 nm çapında AgNP sentezlemişlerdir.

pH, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu – alg ekstraktı oranı parametrelerinin BB-AgNP, BB-FeONP ve BB-CuONP çaplarına etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemler (Denklem 3.11, 3.12 ve 3.13) aşağıda verilmiştir.

$$R_{BB_AgNP} = 77.04 - 9.31A + 3.39B + 3.15C - 0.27AB + 0.17AC + 0.36BC - 15.74A^2 + 3.30B^2 + 0.65C^2 \quad (3.11)$$

$$R_{BB_FeONP} = 77.85 - 5.42A + 2.73B + 3.01C + 0.36AB - 1.37AC + 0.27BC - 4.86A^2 - 4.81B^2 + 20.97C^2 \quad (3.12)$$

$$R_{BB_CuONP} = 66.74 - 14.69A + 4.08B + 1.00C - 0.29AB - 2.01AC + 0.24BC + 0.11A^2 + 3.27B^2 + 2.71C^2 \quad (3.13)$$

Bu denklemlere göre her MNP türü için pH parametresinin katsayısı negatif işaretliyken; sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu oranı parametrelerinin katsayısı pozitif çıkmıştır. Bu duruma göre pH ile MNP çapı arasında ters orantı olduğu, sıcaklık ve metal tuzu solüsyonu oranı ile MNP çapı arasında doğru orantı olduğu söylenebilir. Ayrıca katsayısı en büyük olan değişken her MNP türü için pH olduğu için MNP çapını en çok etkileyen parametrenin bu olduğu anlaşılmaktadır. Bu parametrelerinin BB ekstraktından sentezlenen MNP'lerin çapına olan etkilerinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemine göre incelenmesi için gerçekleştirilen yeşil sentez deneylerinin sonuçları ve istatistiksel analiz sonucu elde edilen model denklemlere göre hesaplanan NP çapları Tablo 3.11'de gösterilmektedir. Bu tabloya göre gerçekleştirilen deneylerde BB-AgNP'lerin çapı 49.14 – 89.92 nm arasında; BB-FeONP'lerin çapı 60.65 – 105.55 nm arasında ve BB-CuONP'lerin çapı 52.88 – 90.10 nm arasında ölçülmüştür. Gerçek değerler ile tahmini değerler arasında oldukça küçük farkların olması model denkleminin kabul edilebilir olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. 11 BB ekstraktı kullanılarak gerçekleştirilen Box-Behnken deneysel tasarım matriksi ve üretilen NP'lerin çapları

				AgNP (nm)		FeONP (nm)		CuONP (nm)	
	A	**B**	**C**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**	**Gerçek**	**Tahmini**
1	-1	-1	0	69.93	70.25	69.58	71.23	79.17	80.44
2	1	-1	0	52.11	52.17	60.65	59.67	50.73	51.64
3	-1	1	0	75.61	77.57	74.98	75.97	90.1	89.18
4	1	1	0	56.72	58.41	67.5	65.85	60.49	59.22
5	-1	0	-1	68.35	68.28	95.83	95	82.21	81.24
6	1	0	-1	49.14	49.32	85.12	86.9	56.49	55.88
7	-1	0	1	74.41	74.24	105.55	103.76	86.64	87.26
8	1	0	1	55.88	55.96	89.34	90.18	52.88	53.86
9	0	-1	-1	72.33	74.81	89.35	88.54	68.19	67.88
10	0	1	-1	81.45	80.87	93.62	93.46	73.68	75.56
11	0	-1	1	79.24	80.39	93.86	94.02	71.29	69.4
12	0	1	1	86.92	87.89	99.22	100.02	77.73	78.04
13	0	0	0	79.02	77.04	75.26	77.85	67.78	66.74
14	0	0	0	75.16	77.04	79.33	77.85	67.01	66.74
15	0	0	0	76.94	77.04	78.97	77.85	65.44	66.74

Yeşil sentez parametrelerinin BB makroalginin sulu ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen varyans analizi sonuçları Tablo 3.12'de özetlenmiştir. Bu tablo incelendiğinde her MNP türü için elde edilen model denklemlerin p değerlerinin 0.05'ten küçük olduğu; uyum eksikliği p değerlerinin de 0.05'ten büyük olduğu görülmektedir. Bu durum istatistiksel analiz için istenilen bir durumdur ve Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin yeşil sentez deneylerinde uygulanabilir bir istatistiksel yöntem olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca her MNP türü için regresyon katsayılarının 0.98'ten büyük olması ve ayarlı ve tahmini R^2 değerleri arasındaki farkın 0.2'den küçük olması bu durumu desteklemektedir.

Tablo 3. 12 BB'den yeşil sentezle NP üretiminin varyans analizi

	BB-AgNP	BB-FeONP	BB-CuONP
Model f değeri	78.94	47.68	61.10
Model p değeri	<0.0001	0.0003	0.0001
Uyum eksikliği f değeri	0.4869	1.08	3.48
Uyum eksikliği p değeri	0.7258	0.5129	0.2311
R^2	0.9930	0.9885	0.9910
Ayarlı R^2	0.9804	0.9678	0.9748
Tahmini R^2	0.9437	0.8761	0.8757

Yeşil sentez parametrelerinin BB ekstraktı kullanılarak yeşil sentezle üretilen AgNP, FeONP ve CuONP'lerin çaplarına olan etkisinin istatistiksel olarak optimizasyonu sonucunda elde edilen optimum değerler Tablo 3.13' te özetlenmiştir.

Tablo 3. 13 BB'den yeşil sentezle NP üretimi için yapılan optimizasyon sonrası belirlenen optimum koşullar

	A		B		C		NP çapı (nm)
	Kod	Gerçek	Kod	Gerçek	Kod	Gerçek	
BB-AgNP	0.996	10.98	-0.518	39.46	-0.951	11.96	48.42
BB-FeONP	0.984	10.94	-0.284	46.48	-0.975	11.00	60.51
BB-CuONP	1.000	11.00	-0.305	45.85	-0.937	12.52	53.91

3.3.5 Yeşil Sentez Mekanizması ve Parametrelerin NP üzerine etkileri

Bitkiler, makroalgler, mikroalgler, bakteriler, mantarlar ve mayalar gibi biyolojik organizmaların ekstraktları MNP yeşil sentezinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [121]. Metal iyonlarının bu ekstraktların içerisinde bulunan vitamin, flavonoid, karotenoid, terpenoid gibi biyomoleküller tarafından indirgenme mekanizması tam olarak açıklanmasa da bu biyomoleküllerin yüzeyinde bulunan fonksiyonel grupların oldukça önemli rol oynadıkları birçok

çalışmada belirtilmiştir. MNP'lerin yeşil sentezle üretimi 4 aşamadan oluşmaktadır: aktivasyon aşaması, çekirdeklenme aşaması, büyüme aşaması ve sonlanma aşaması [122]. Birinci aşamada ekstraktların içerisinde bulunan biyomoleküller metal tuzlarından metal iyonlarını indirgerler. İkinci aşama olan çekirdeklenme aşamasında biyomoleküller tarafından eş zamanlı olarak oluşturulan metal çekirdekler üzerinde kristalin büyümesi gerçekleşir. Üçüncü aşama olan büyüme aşamasında metal iyonlarının tek veya çift değerlikli oksidasyon durumundan sıfır değerlikli oksidasyon durumuna indirgenmesi gerçekleşir. Bu aşamada MNP'ler farklı morfolojiler elde etmek için kendi aralarında toplanırlar. Dördüncü aşama olan sonlanma aşamasında ise MNP'lerin son ve kararlı morfolojilerine ulaşılır [121], [122] . Yeşil sentez yaklaşımında, sıcaklık, pH, karıştırma, metal tuzu konsantrasyonu ve ekstrakt hacmi gibi farklı reaksiyon parametreleri, uygun şekil, boyut, kristallik, saflık, kararlılık ve morfolojiye sahip MNP'lerin elde edilmesi için çok önemlidir. Ayrıca yeşil sentezde kullanılacak olan biyolojik materyalin de MNP morfolojisi üzerinde büyük etkisi vardır. Biyolojik organizmaların her bir türü flavonlar, terpenoidler, şekerler, ketonlar, amidler, antrasenler, alkaloidler gibi indirgeyici maddelerin konsantrasyonu bakımından farklıdır [123].

Önceki bölümlerde verilen sonuçlara göre MNP çapını en çok etkileyen parametrelerin başında pH gelmektedir. Yapılan bütün MNP yeşil sentez deneylerinde pH ile MNP çapı arasında ters orantılı bir ilişki görülmüştür ve literatürdeki bazı çalışmalar bu durumu desteklemektedir. Anigol vd. [124] yaptıkları yeşil sentez çalışmasında yüksek pH değerlerinde daha küçük AgNP'lerin elde edildiğini belirtmişlerdir ve bu durumun sebebi olarak yüksek pH değerlerinde itici elektrostatik/elektrosterik etkileşimleri maksimuma çıkaran kümelerin tam yüklenmesini göstermişlerdir. Alkali pH aralığında kümeler tam yüklendiği için partiküllerin agregasyonu azalır, küme dağılımının kararlılığı artar. Bu nedenle daha küçük çaplı NP'ler oluşur. Vanaja vd. [125] yaptıkları çalışmada düşük pH değerlerinde büyük boyutlu AgNP'ler sentezlemişken; yüksek pH değerlerinde düşük boyutlu ve küresel şekilli AgNP'ler sentezlemişlerdir. Marciniak vd. [126] yaptıkları çalışmada 7 ile 11 pH arasında AgNP'lerin çaplarının pH değerinin artmasıyla azaldığını raporlamışlardır. Gontijo vd. [127] yaptıkları çalışmada ürettikleri AgNP'lerin 3-6 pH aralığında daha az kararlı; 3'ten düşük ve 7'den büyük

pH aralığında ise daha kararlı olduklarını belirtmişlerdir. pH 3 – 6 aralığında elektrostatik etkileşimlerin fazla olduğu ve buna bağlı olarak AgNP agregasyonunun gerçekleştiği raporlanmışken; 3'ten düşük pH değerlerinde tüm grupların protonlandığı ve buna bağlı olarak elektrostatik etkileşimin azaldığı, 7'den büyük pH değerlerinde ise tüm grupların protonsuzlaştığı ve buna bağlı olarak NP'ler arasında itmelerin olduğu ve bunların sonucunda da NP boyutlarının azaldığı raporlanmıştır. Benzer şekilde Alqadi vd. [128] AgNP çapının pH ile ters orantılı bir şekilde değiştiğini belirtmiştir.

MNP'lerin çaplarını etkileyen en önemli parametrelerden birisi de kullanılan metal tuzu miktarıdır. Bu çalışmada gerçekleştirilen her MNP yeşil sentez deneylerinde metal tuzu solüsyon oranı arttıkça MNP'lerin çaplarının arttığı görülmüştür ve bu durum literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Vanaja vd. [129] yaptıkları çalışmada yeşil sentezle AgNP sentezlemişler ve metal tuzu konsantrasyonu arttıkça AgNP çapının arttığını raporlamışlardır. Bu durumun sebebi olarak da yüksek metal tuzu konsantrasyonlarında metal iyonları ile fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşimler artması ve buna bağlı olarak oluşan NP'lerin kendi arasındaki etkileşimlere bağlı olarak NP boyunun ve agregasyonun artmasını göstermişlerdir. Jagajjanani Rao ve Paria [130] yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişler ve bu durumu ekstraktlarda agregasyonu inhibe eden aktif bileşenlerin bulunmamasına ve yüksek metal tuzu varlığında reaksiyon hızındaki azalmaya bağlı olarak daha az çekirdeklenmeye bağlamışlardır. Rodriguez-Leon vd. [131] ve Khan vd. [132] yeşil sentez işlemlerinde yüksek metal tuzu miktarlarının MNP boyutunu arttırdığını bildirmiştir.

Sıcaklık da MNP çapını etkileyen önemli yeşil sentez parametrelerinden birisidir. Bu çalışmada MNP çapının değişimi farklı sıcaklık aralıklarında farklı şekillerde değişme davranışı göstermiştir ve diğer parametrelere oranla MNP çapını daha az etkilediği görülmüştür. Yani sıcaklıkla MNP çapı arasında doğru ya da ters bir ilişki olmamaktadır ve literatürde sıcaklığın MNP boyu üzerine etkileriyle alakalı farklı sonuçlar raporlanmıştır. Örneğin, Safekordi vd. [133] 5 °C ile 25 °C sıcaklık arasında gerçekleştirdikleri yeşil sentez deneylerinde sıcaklık arttıkça MNP çapının arttığını raporlamışlardır. Kredy [134] ise 25 °C ile 45 °C arasında artan sıcaklıkla AgNP'lerin

boyutunun azaldığını belirtmiştir. Koilparambil vd. [14] sıcaklık arttığında reaksiyon hızının artması nedeniyle metal iyonlarının çoğunun çekirdeklenme oluşumunda tüketildiğini ve buna bağlı olarak önceden oluşturulmuş çekirdeklerin yüzeyindeki ikincil indirgeme işleminin durduğunu belirtmişlerdir. Sun vd. [135] ise yüksek sıcaklıklarda reaksiyon hızı arttığı için MNP çapının arttığını bildirmişlerdir. Literatürde bulunan bu ve benzer çalışmalar incelendiğinde yüksek sıcaklıklarda reaktanların çoğunun tükenip ve küçük çaplı MNP'lerin oluştuğu ancak ilerleyen reaksiyon süresinde MNP'ler hem kendi aralarında hem de ekstrakttaki fonksiyonel gruplarla etkileşime girdiği için MNP'lerin boyunun ve agregasyonun arttığı anlaşılmıştır [136].

4
NANOPARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONLARI

4.1 Nanopartikül Karakterizasyonuyla Alakalı Genel Bilgi

MNP'lerin sentezlenmesinden sonra MNP'lerin boyut, şekil, yüzey alanı, dağılımları ve fonksiyonel gruplarının belirlenmesi oldukça önemli bir adımdır [137]. Çünkü MNP'lerin kullanılacağı alanlara göre istenilen özellikler değişebilmektedir. Örneğin tarımda kullanılmak üzere sentezlenen MNP'lerin 20 nm'den küçük, 30 mV ile -30 mV arası değişen zeta potansiyeli kübik şeklinde olması beklenir [138]. MNP'lerin karakterizasyonları ile partikül boyutları ve şekilleri, elementel ve kimyasal içerikleri, yüzey alanları ve yükleri, optik ve manyetik özellikleri belirlenmektedir. Bu özelliklerin belirlenmesi için kullanılan bazı teknikler Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4. 1 MNP Karakterizasyonu için kullanılan analizler

Parametreler	Kullanılan Teknikler
Boyut	DLS, SEM, TEM, XRD, AFM
Şekil	SEM, TEM, AFM, 3D-tomografi
Elemental ve kimyasal içerik	XRD, XPS, NMR, SEM-EDX
Yüzey alanı	BET
Yüzey yükü	Zeta potansiyel
Yüzey içeriği	XPS, FTIR, TGA
Kristal yapısı	XRD, HRTEM, STEM
Optik özellikler	UV-Vis

4.1.1 Dinamik Işık Saçılması

Dinamik ışık saçılması (DLS) tekniği NP'lerin solvent içerisindeki Brownian hareketlerini baz alan basit, hızlı ve ucuz bir tekniktir. İçerisinde NP bulunan çözeltiden geçirilen lazerden, NP'lerin Brownian hareketleri nedeniyle ışık saçılması meydana gelir ve bu saçılan ışığın şiddeti ve değişimi ölçülerek NP'lerin

büyüklükleri ve dağılımları belirlenir. Brownian hareketinde büyük NP'ler küçüklere oranla daha yavaş hareket ederler ve daha fazla ışık saçılmasına neden olur. Saçılan ışığın şiddeti NP hareketi ve boyuna bağlı olduğu gibi ortamın sıcaklığı, viskozitesi ve tuzluluk gibi faktörlere de bağlıdır [139]. NP'lerin hidrodinamik çaplarının belirlenmesinde kullanılabilen Stokes-Einstein denklemi NP'lerin hızları ve boyları arasındaki ilişkiyi verir [138].

4.1.2 Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi

Ultraviyole-Görünür bölge (UV-Vis) spektroskopisi NP'lerin optik özelliklerini incelemek için en çok kullanılan spektroskopik tekniklerden birisidir. Bu teknikte NP'ler ışık kaynağı ile dedektör arasına konur ve numune tarafından emilen ya da yansıtılan ışığın miktarını ölçmek için ışık demetinin yoğunluğu numuneden geçmeden önce ve geçtikten sonra ölçülür. Bu işlem her dalgaboyu için tekrar edilir ve böylece spektrum elde edilir. Bu yöntem ile MNP'lerin karakterizasyonu kolay, doğrulanabilir ve ucuz olduğundan bu yöntem araştırmacılar tarafından en çok tercih edilen karakterizasyon yöntemidir [139]. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde UV-Vis spektrumlarında her MNP türü için farklı dalgaboylarında absorbans piklerinin oluştuğu görülmüştür. Örneğin AgNP için bu pikler 400 – 450 nm arasında oluşurken; FeONP için yaklaşık 270 nm dalgaboyunda pik oluşmaktadır [140].

4.1.3 X-Işını Kırınım Spektroskopisi

X-Işını kırınım (X-Ray Diffraction - XRD) spektroskopisi yöntemi maddeler için karakteristik olan kırınım desenine dayalı bir spektroskopik karakterizasyon yöntemidir. Her bir kristal fazın kendine özgü atomik dizilimleri vardır ve buna bağlı olarak aynı seviyedeki dalgaboyuna sahip X-ışını dalgaları karakteristik bir düzen içerisinde kırılır. Bu sayede her kristal faz için kendine özgü X-ışını deseni oluşur [139]. Bu teknik ile NP'lerin kristal yapısı, fazları, kafes parametreleri ve partikül boyları belirlenebilir [138].

4.1.4 Taramalı Elektron Mikroskopisi

Taramalı elektron mikroskopisi (Scanning Elektron Microscopy - SEM), NP'lerin boyutlarını, şekillerini ve yığın ya da matriks içerisindeki dağılımlarını belirleyen

mikroskopik bir analiz yöntemdir. Bu yöntemde bir yere odaklanan yüksek enerjili elektronlarla NP yüzeyinin taranması prensibine dayanır. Bu yöntemde, elektronların NP üzerine odaklanması ve taratılması esnasında elektron ve NP atomları arasında meydana gelen etkilerin dedektörler ile algılanması ve sinyal güçlendiriciden geçirildikten sonra ekrana yansıtılması ile görüntü elde edilmektedir [141].

4.1.5 Geçirimli Elektron Mikroskopisi

Geçirimli elektrom mikroskopisi (Transmission Electron Microscopy - TEM) angström (Å) boyutuna kadar inceltilmiş örnekten elektron demetinin geçirilmesi sonucu örnek ile elektronlar arasındaki etkileşimlerin işlenmesiyle görüntünün oluştuğu ve SEM yöntemine göre daha kompleks ve zahmetli bir numune hazırlama işlemi gerektiren bir elektron mikroskopisi tekniğidir [139]. Bu yöntem, 3 nm civarında çözünürlüğe izin veren bir görüntüleme sistemidir ve bu yüksek çözünürlük SEM'e oranla daha incelemeler için 400 bin kata varan büyültmeye imkan tanır. Bu yöntemle NP'lerin şekil, boyut ve dağılımlarının yanı sıra ikincil kaplamaların varlığı, iki ya da daha fazla katmanı malzemeler hakkında ve NP'lerin penetresyonu hakkında bilgiler elde edilebilir [138].

4.1.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy - FTIR) tekniği malzemelere kızılötesi ışıkları göndererek malzemenin bağlarında oluşan gerilme, titreşim ve dönme hareketlerinden malzemelerin yapısının belirlendiği bir spektroskopik yöntemdir. Bu teknik ile MNP'lerin kapaklanmasına neden olan ve bunlara bağlanabilen fonksiyonel gruplar belirlenebilir. Bu yöntem kolay, hızlı, doğru ve ucuz bir şekilde NP'lerin karakterizasyonları mümkün olduğu için oldukça fazla tercih edilen bir karakterizasyon yöntemidir [10].

4.1.7 Termogravimetrik Analiz

Termogravimetrik analiz (TGA) yöntemi malzemelerin farklı gaz atmosferlerinde ağırlık değişimlerinin sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak incelendiği bir termal karakterizasyon yöntemidir [142]. Bu yöntem ile malzemelerin entalpi,

termal kapasite, kütle değişimleri ve ısı genleşme katsayısı gibi özellikleri belirlenebilir. Katı hal kimyası, katı haldeki reaksiyonları, termal bozunma reaksiyonları, faz geçişlerini ve faz diyagramlarını incelemek için de bu yöntem kullanılabilir. Ölçülen ağırlık kaybı eğrisi, numune bileşimindeki değişiklikler, termal kararlılık ve numunedeki kimyasal reaksiyonlar için kinetik parametreler hakkında bilgi verir [143]. TGA yöntemi MNP karakterizasyonunda NP yüzeyindeki kaplama miktarını belirlemek için kullanılmaktadır [144].

4.2 Deneysel Yöntem

4.2.1 Nanopartiküllerin Üretim Koşulları

Karakterizasyonları yapılacak olan MNP'ler bir önceki bölümde belirlenen optimum koşullar kullanılarak sentezlenmiştir. Belirlenen optimum koşullar Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Yeşil sentez reaksiyonu sonucunda sentezlenen MNP'ler 12000 rpm hızda 4 °C sıcaklıkta üç kez distile su ile yıkanmıştır ve liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulan MNP'ler 4 °C sıcaklıkta amber renkli şişelerde saklanmıştır.

Tablo 4. 2 MNP'lerin sentezlenme koşulları

	pH	**Sıcaklık (°C)**	**Metal tuzu oranı (%)**
UL-AgNP	11	50	12
UL-FeONP	10	72	14
UL-CuONP	10	58	12
HS-AgNP	11	55	10
HS-FeONP	11	61	10
HS-CuONP	11	66	21
CV-AgNP	11	79	10
CV-FeONP	11	83	11
CV-CuONP	11	74	10
BB-AgNP	11	40	11
BB-FeONP	11	45	11
BB-CuONP	11	45	13

4.2.2 UV-Vis Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin UV-Vis spektrumları Şekil 4.1'de gösterilen PG Instruments T60 UV-Vis Spektrofotometre kullanılarak 300 ile 600 nm dalgaboyu aralığında ölçülmüştür.



Şekil 4. 1 UV-Visible spektrofotometre

4.2.3 DLS Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin boyut dağılımı dinamik ışık dağılımı (Dynamic Light Scattering - DLS) tekniğiyle Malvern Nano ZS Zetasizer cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan cihaz Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 2 Zetasizer cihazı

4.2.4 FTIR Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin FTIR analizleri Bruker Alpha FTIR spektrometresi kullanılarak 4000 – 500 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ATR modunda gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan cihaz Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 3 FTIR spektrometresi

4.2.5 SEM Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin morfolojisi, Zeiss EVO® LS 10 marka SEM cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

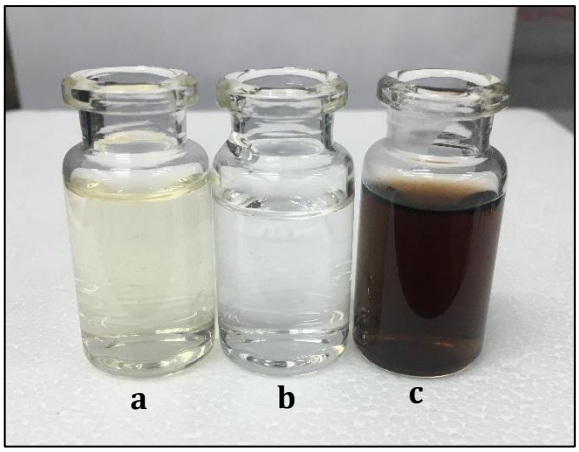
4.2.6 XRD Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen MNP'lerin XRD analizi Panalytical X'Pert PRO cihazı kullanılarak 30° ile 80° arasında 1 °/dakika adım büyüklüğü ile gerçekleştirilmiştir.

4.3 Sonuçlar ve Tartışma

4.3.1 UL'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları

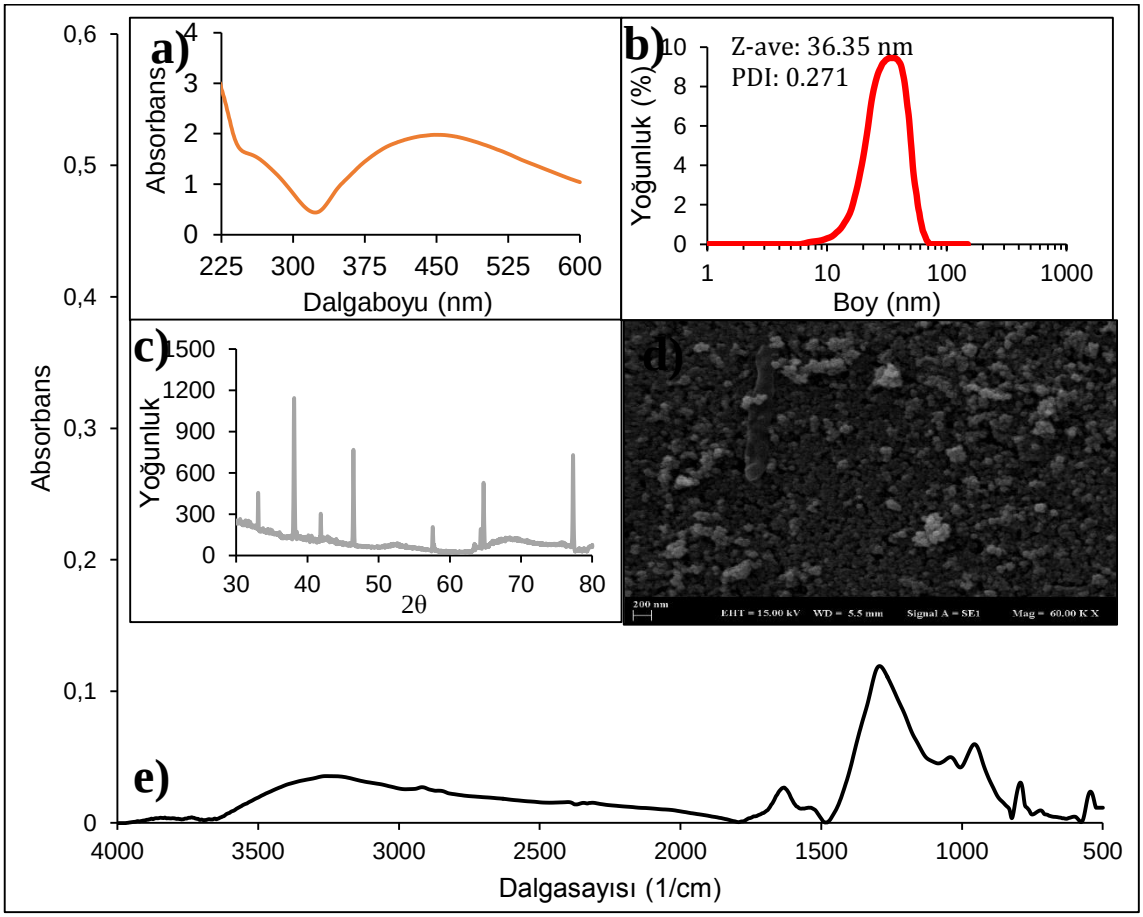
UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin reaksiyon sonundaki renk değişimleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. UL ekstraktı ile $AgNO_3$ belirlenen optimum koşullarda karıştırıldıktan kısa bir süre sonra çözeltide renk değişimi gerçekleşmeye başlamıştır. Bu durum AgNP'lerin kısa sürede oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 4. 4 UL-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) UL-AgNP'ler

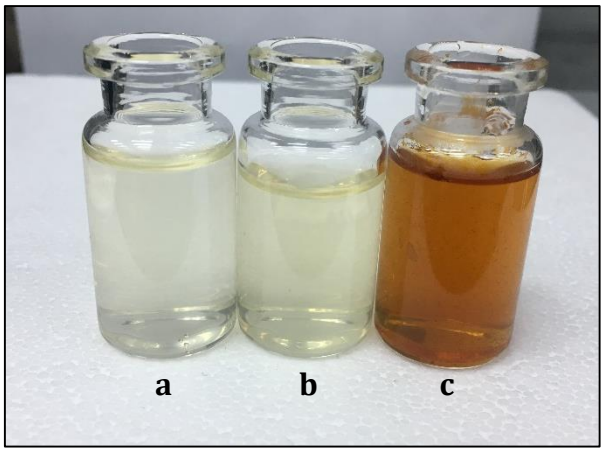
UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları Şekil 4.5'te verilmiştir. Şekil 4.5a'da verilen UV-Vis spektrumu incelendiğinde yaklaşık 440 nm dalgaboyunda bir yüzey plazmon rezonans (SPR) bandının oluştuğu görülmektedir. Bu pik, AgNP'lerin karakteristik SPR bantıdır ve ortamda AgNP'lerin varlığını kanıtlar [111]. Litaratürdeki yeşil sentez çalışmaları incelendiğinde AgNP'lerin 400 – 450 nm dalgaboyu arasında pik oluşturduğu görülmektedir [140]. Şekil 4.5b'de gösterilen DLS eğrisi incelendiğinde ise tek bir tepe noktasının oluştuğu görülmektedir. Bu eğri baz alınarak UL-AgNP'lerin ortalama çapı 36.35 nm olarak ve polidispersite indeks (PDI) değeri de 0.271 olarak hesaplanmıştır. PDI değerinin düşük olması NP'lerin boyut dağılımlarının daha dar yani NP'lerin birbirine yakın boyutlarda olduğunu göstermektedir. PDI değerleri 0 ile 1 arasında değişmektedir ve 0 değeri monodispers bir çözeltiyi belirtirken bu değer yükselmesi çözeltideki daha farklı boyutlu NP'lerin heterojenliğini gösterir [145]. Şekil 4.5c'de gösterilen XRD spektrumunda gözlemlenen 38.14°, 46.47°, 64.75° ve 77.31°'lerdeki pikler sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerini belirtmektedir. Bu sonuç AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade etmektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [125]. Şekil 4.5d'de optimum koşullarda sentezlenen UL-AgNP'lerin 60.00 kX büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü verilmiştir. Bu görüntüye göre UL-AgNP'lerin küresel şekilde olduğu anlaşılmıştır. Şekil 4.5e'deki UL-AgNP'nin FTIR spektrumu incelendiğinde 5 farklı dalga sayısı aralığında piklerin

varlığı göze çarpmaktadır: 3300 – 3200 cm^{-1} arası, 1700 – 1500 cm^{-1} arası, 1500 – 1000 cm^{-1} arası, 1000 – 600 cm^{-1} arası ve 600 - 500 cm^{-1} arası. 600 cm^{-1} ile 500 cm^{-1} arsında gözlemlenen küçük pik (567 cm^{-1}), AgNP'lerin karakteristik piklerindendir ve Ag-O bağının eğiliminden kaynaklanmaktadır [146]. FTIR spektrumunda görülen pikler ve bu piklerin belirttiği bağlar Tablo 4.3'te özetlenmiştir.



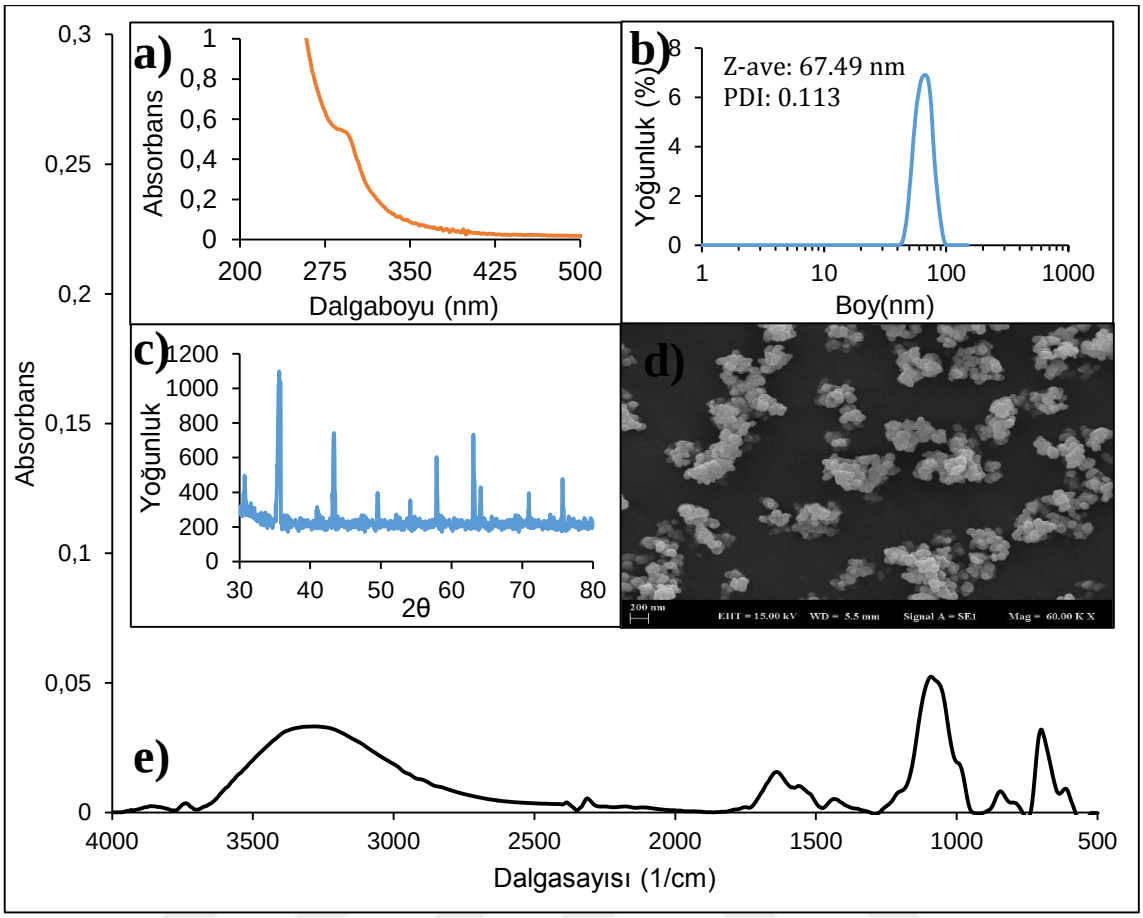
Şekil 4. 5 UL-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda yeşil sentezle elde edilen FeONP'lerin reaksiyon sonundaki renk değişimleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. UL ekstraktı ile 0.1M metal tuzu çözeltisi belirlenen optimum koşullarda karıştırıldıktan kısa bir süre sonra çözeltinin rengi koyu turuncu bir renk almaya başlamıştır. Bu durum FeONP'lerin reaksiyon süresi içerinde oluştuğunu göstermektedir.



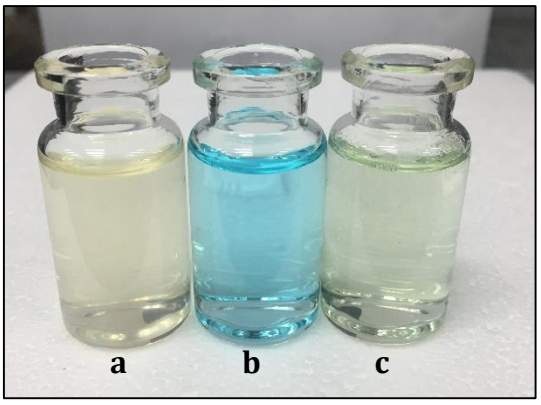
Şekil 4. 6 UL-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) UL-FeONP'ler

UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda sentezlenen FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları Şekil 4.7'de verilmiştir. Şekil 4.7a'da gösterilen UV-Vis spektrumu incelendiğinde 296 nm dalgaboyunda bir pikin oluştuğu görülmektedir. Bu pik çözeltideki FeONP'lerin varlığından kaynaklanmaktadır ve bu durum literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [147]. Şekil 4.7b'deki DLS grafiği incelendiğinde ortalama UL-FeONP çapının 67.49 nm olduğu ve PDI değerinin 0.113 olarak hesaplandığı görülmektedir. Şekil 4.7c'de gösterilen UL-FeONP'lerin XRD spektrumu incelendiğinde 30.71°, 35.62°, 40.97°, 43.34°, 49.55°, 54.17°, 57.86°, 63.08°, 64.13°, 70.93° ve 75.68°'de pikler gözlemlenmiştir. 30.71°, 35.62°, 43.34°, 54.17°, 57.86° ve 63.08°'deki pikler FeONP'lerin kristal yapısının sırasıyla (220), (311), (400), (422), (511) ve (440) düzlemlerine denk gelmektedir [148]. 40.97°, 49.55° ve 64.13° pikleri ise (113), (024) ve (300) düzlemlerini ifade etmektedir [149]. 75.68°'de gözlemlenen pik de (220) düzlemini ifade etmektedir [150]. Şekil 4.7d'de gösterilen UL-FeONP'lerin SEM görüntülerinde küresel FeONP'ler dikkat çekmektedir. Şekil 4.7e'de gösterilen UL-FeONP'nin FTIR spektrumu incelendiğinde 5 farklı bölgede piklerin oluştuğu görülmektedir. Bu pikler sırasıyla 3300 – 3200 cm^{-1} arasında, 1700 – 1500 cm-1 arasında, 1300 – 1000 cm^{-1} arasında, 1000 – 800 arasında ve 800 – 600 cm^{-1} arasında oluşmuştur ve 844 cm^{-1} ve 698 cm^{-1}'de görülen pikler yapıdaki Fe-O bağlarından kaynaklanmaktadır [151]. Spektrumda gözlemlenen pikler ve bunların belirttiği bağların hareketleri Tablo 4.3'te özetlenmiştir.



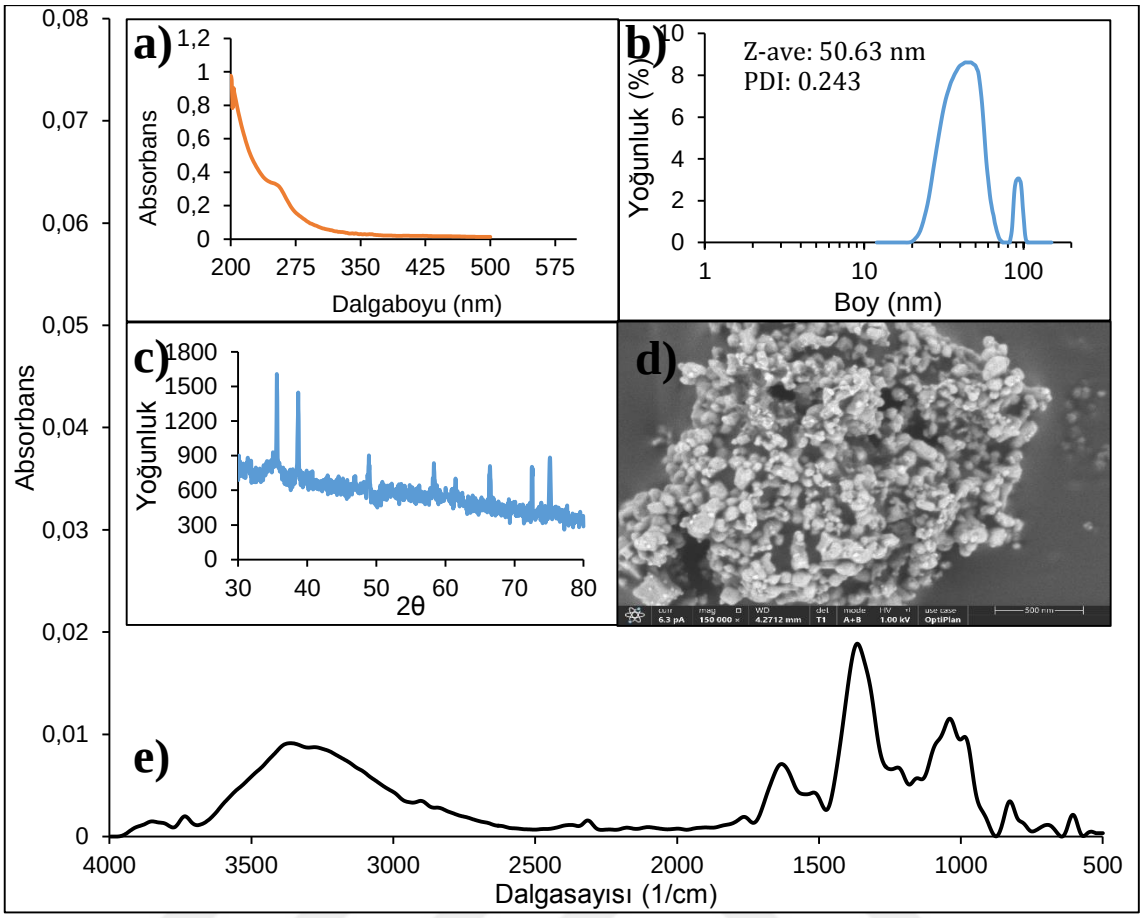
Şekil 4. 7 UL-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda yeşil sentezle elde edilen CuONP'lerin reaksiyon sonundaki renk değişimleri Şekil 4.8'de gösterilmiştir. UL ekstraktı ile 0.1M metal tuzu çözeltisi belirlenen optimum koşullarda karıştırıldıktan kısa bir süre sonra çözeltinin rengi yeşilimsi bir renk almaya başlamıştır. Bu durum CuONP'lerin reaksiyon süresi içerinde oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 4. 8 UL-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) UL-CuONP'ler

UL makroalgi ekstrakları kullanılarak optimum koşullarda sentezlenen CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları Şekil 4.9'da verilmiştir. Şekil 4.9a'da verilen UV-Vis spektrumuna göre 265 nm dalgaboyunda pik oluşmuştur ve bu pik CuONP'lerin karakteristik pikleridir [152]. DLS eğrisi ve ortalama NP çapı bilgileri incelendiğinde ise UL-CuONP'lerin ortalama NP çapının 50.63 nm olduğu ancak 80 ile 100 nm arasında küçük NP yoğunluğunun oluştuğu görülmüştür. Buna bağlı olarak PDI değeri nispeten yüksek bir değer olan 0.243 olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.9c'de gösterilen UL-CuONP'lerin XRD spektrumu incelendiğinde 35.59°, 38.66°, 48.92°, 58.33°, 61.53°, 66.48° ve 72.58° değerlerinde piklerin oluştuğu görülmüştür ve bu pikler sırasıyla CuONP'lerin kristal yapısının karakteristik (002), (111), (202), (202), (113), (311) ve (113) düzlemlerini belirtmektedir [153]. Şekil 4.9d'de gösterilen SEM görüntüsü de UL-CuONP'lerin küresel şekilli yapısını göstermektedir. UL-CuONP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise diğer UL-MNP'lerinkine benzer bölgelerde piklerin oluştuğu görülmüştür. Ancak 606 cm^{-1} dalga sayısında görülen pik Cu-O gerilmesini ifade ettiği için CuONP'lerin karakteristik piklerindendir [154]. FTIR spektrumunda görülen diğer pikler ve bunların ifade ettikleri fonksiyonel gruplar Tablo 4.3'te özetlenmiştir.



Şekil 4. 9 UL-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) f) FTIR

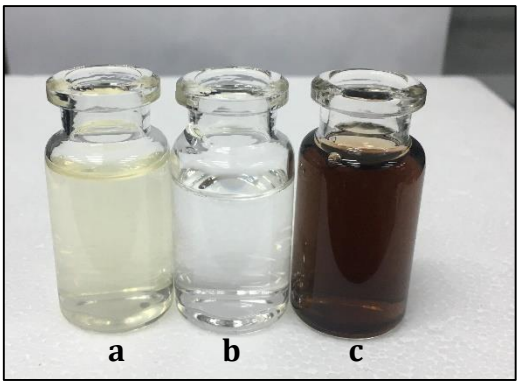
Tablo 4. 3 UL ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri

Pik (cm^{-1})	Pikin özelliği	Tür	Fonksiyonel grup	Kaynak
3282	B ve G	FeONP		
3278	B ve G	CuONP	OH gerilmesi	[40]
3254	B ve G	AgNP		
1646	K	AgNP		
1640	K	FeONP	C=O gerilmesi	[111]
1632	K	CuONP		
1360	B	CuONP	C-H bükülmesi	[155]
1274	B ve G	AgNP	CN gerilmesi	[46]
1091	B	FeONP	C-O-C gerilmesi	[156]
1040	B	CuONP	C-OH gerilmesi	[157]
945	K	AgNP	CH_2 düzlem dışı sallanma	[158]
844	K	FeONP	Fe-O	[159]
777	K	AgNP	NH_2 sallanması	[158]
698	B	FeONP	Fe-O gerilmesi	[151]
606	K	CuONP	Cu-O gerilmesi	[154]
567	K	AgNP	Ag-O eğilmesi	[146]

(B: Büyük, G: Geniş, K:Küçük)

4.3.2 HS'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları

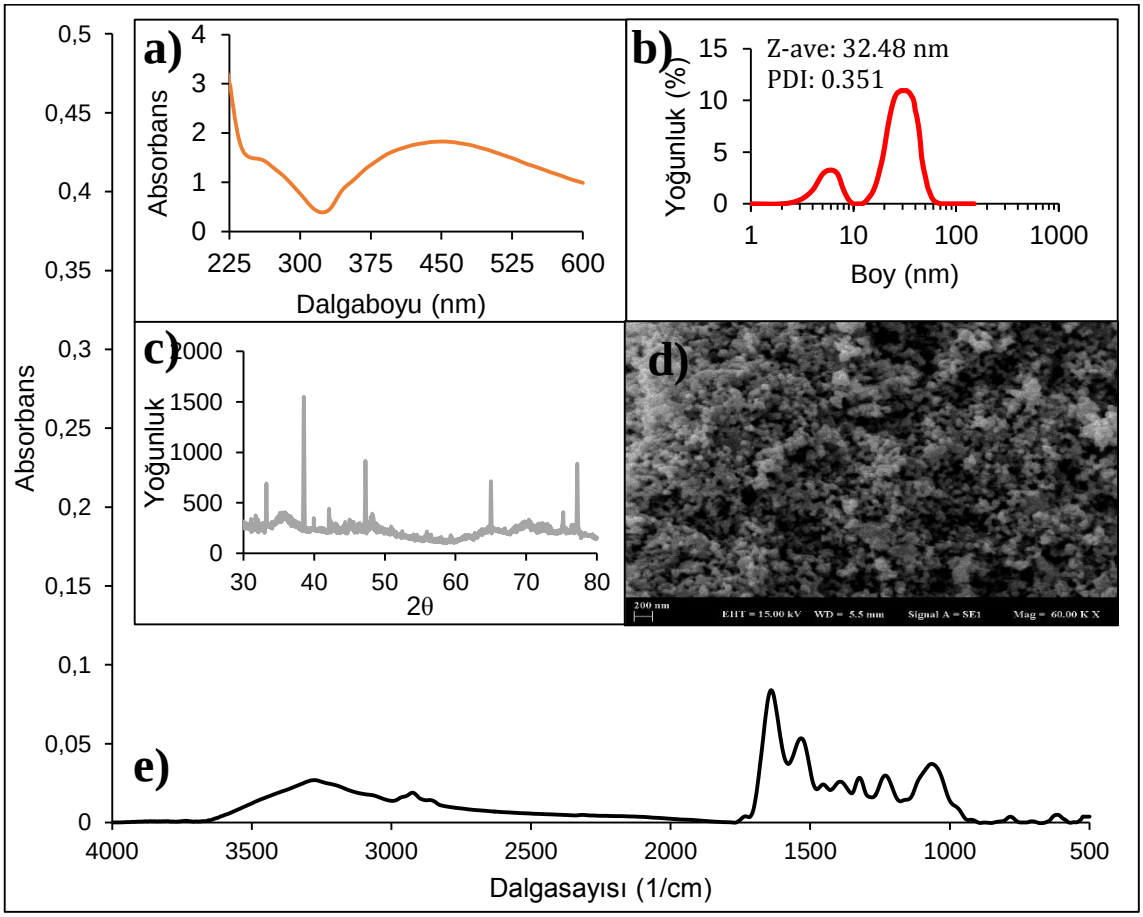
Optimum koşullarda HS sulu ekstraktı kullanılarak 1 saat reaksiyon süresi içerisinde sentezlenen AgNP'ler, HS ekstraktı ve $AgNO_3$ metal tuzu solüsyonu Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi AgNP'lerin reaksiyon sonrasında koyu kahverengi bir renk aldığı görülmüştür. Bu durum AgNP'lerin oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [160].



Şekil 4. 10 HS-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) HS-AgNP'ler

Optimum koşullarda 1 saatlik reaksiyon süresinde sentezlenen HS-AgNP'lerin UV-Vis spektroskopisi, DLS yöntemi, XRD yöntemi, SEM ile görüntüleme yöntemi ve FTIR spektroskopisi ile gerçekleştirilen karakterizasyon analizleri sonucunda elde edilen grafik ve resimler Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Şekil 4.11a'da verilen UV-Vis spektrumunda HS-AgNP'lerin yaklaşık 450 nm dalgaboyunda geniş bir pik verdiği görülmüştür. Bu pik, AgNP'lerin çözeltideki varlığını gösteren karakteristik SPR bantıdır ve bu durum literatürdeki çalışmalarla da benzerlik göstermektedir [46], [100], [112]. Şekil 4.11b'deki DLS grafiği incelendiğinde ise HS-AgNP'lerin 3 nm ile 80 nm'ye kadar geniş bir aralıkta oluştuğu ancak iki farklı boyutta gruplaştığı görülmektedir. Bu grafiğe göre yapılan hesaplamalarda ortalama NP çapının 32.48 nm, PDI değerinin ise 0.351 olduğu görülmektedir. PDI değerinin bu kadar yüksek olmasının sebebi grafikte iki tepe noktasının oluşmasıdır. Şekil 4.11c'de gösterilen XRD spektrumunda gözlemlenen 38.53°, 47.25°, 65.00° ve 77.23°'lerdeki pikler sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerini belirtmektedir. Bu sonuç AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade etmektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [125]. XRD spektrumunda bulunan diğer pikler de HS-AgNP'leri kaplayan ya da bunların yüzeylerine bağlanan biyoorganik yapılı maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir ve bu durum literatürdeki çalışmalarda da belirtilmiştir [46], [161]. Şekil 4.11d'de gösterilen 60.00 kX büyütme ile elde edilen SEM görüntüsü incelendiğinde HS-AgNP'lerin küresel şekillerde olduğu görülmektedir. Şekil 4.11e'deki HS-AgNP'lerin FTIR spektrumu ile başka bir makroalg ekstraktın üretilen UL-AgNP'nin spektrumu karşılaştırıldığında

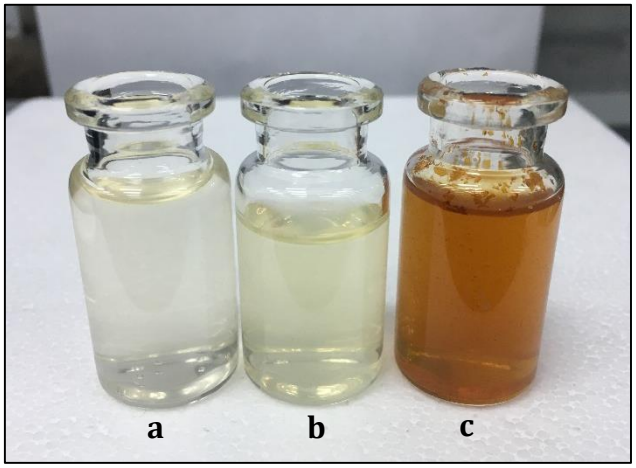
bazı farklı piklerin varlığı göze çarpmaktadır. HS-AgNP'nin FTIR spektrumunda 3600 – 3000 cm^{-1} arasında geniş bir pik, 3000 – 2900 cm^{-1} arasında bir pik, 1700 – 1500 cm^{-1} arasında büyük iki pik, 1500 – 1000 cm^{-1} arasında küçük pikler ve 1000 – 500 cm^{-1} arasında çok küçük pikler oluşmuştur. 580 cm^{-1} dalga sayısı civarında oluşan pikler Ag-O bağının hareketlerinden kaynaklanmakta olup, diğer pikler AgNP oluşumunu sağlayan ve oluşan AgNP'lerin yüzeylerinde bulunan biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır [46], [146]. HS-AgNP'nin FTIR spektrumunda okunan pikler ve bunların belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.4'de özetlenmiştir.



Şekil 4. 11 HS-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda belirlenen optimum koşullar kullanılarak 1 saat reaksiyon süresi sonucunda HS makroalginin sulu ekstraktından sentezlenen HS-FeONP'ler, kullanılan HS makroalgi sulu ekstraktı ve kullanılan metal tuzu solüsyonları Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Bu şekle göre reaksiyon sonucunda oluşan FeONP'lerin çözeltiyi kahverengimsi bir renge dönüştürdüğü görülmüştür. Bu

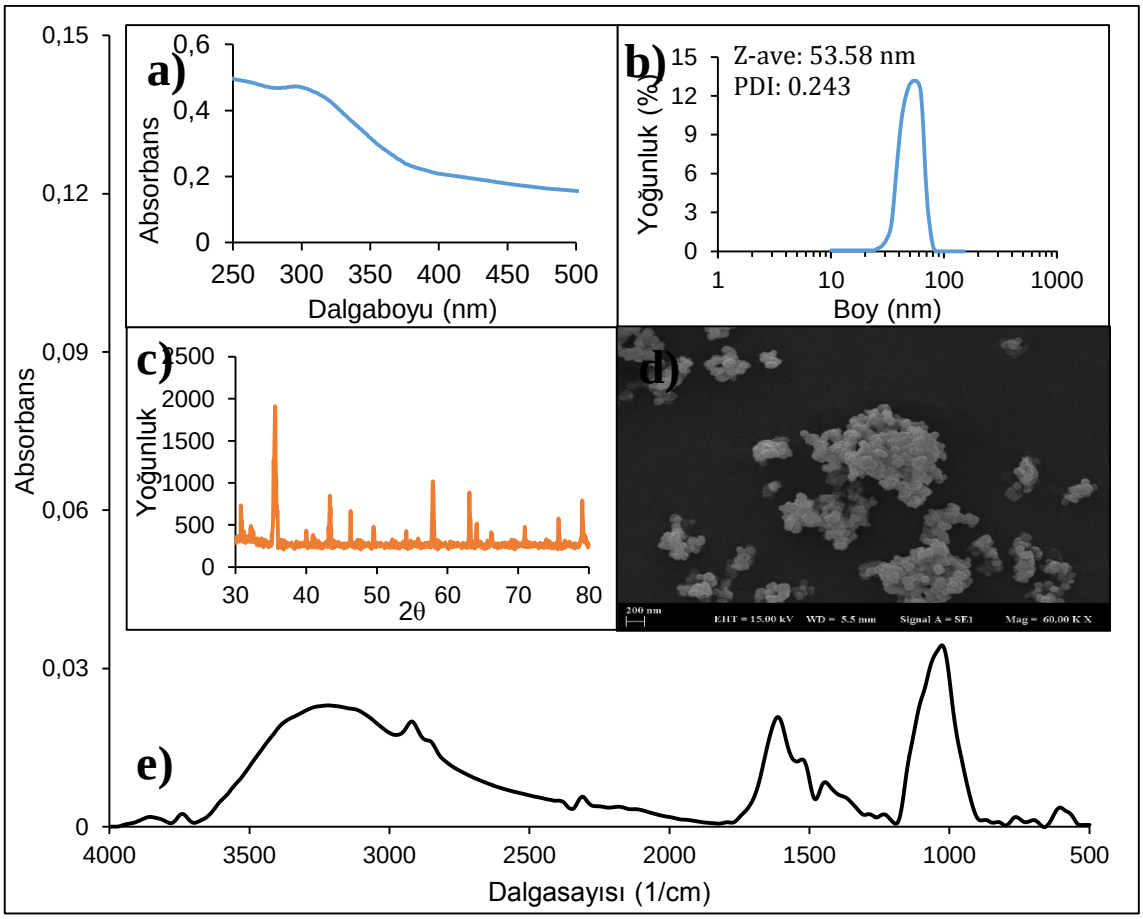
durum FeONP'lerin çözelti içinde oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [162], [163].



Şekil 4. 12 HS-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) HS-FeONP'ler

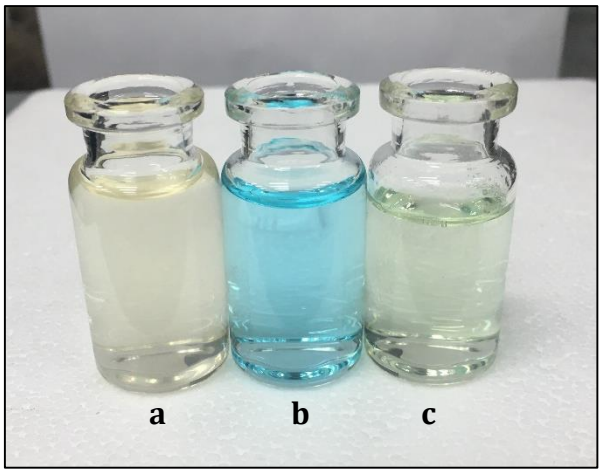
Optimum koşullarda sentezlenen HS-FeONP'lerin karakterizasyonları için yapılan analizlerin sonuçları Şekil 4.13'te özetlenmiştir. HS-FeONP'nin UV-Vis spektrumunda 295 nm dalgaboyunda bir tepe noktası görülmüştür ve bu durum FeONP'lerden kaynaklanmaktadır [147]. HS-FeONP'lerin DLS grafiği incelendiğinde NP'lerin yaklaşık 20 ile 80 nm arasında oluştuğu ve ortalama NP çapının 53.58 nm olduğu görülmüştür. DLS analiz sonucunda PDI değeri 0.243 olarak hesaplanmıştır. HS-FeONP'lerin XRD spektrumları Şekil 4.13c'de gösterilmiş ve burada yaklaşık 16 tane farklı büyüklüklerde piklerin oluştuğu görülmüştür. Bu piklerden 30.74°, 35.59°, 41.00°, 43.35°, 49.55°, 54.79°, 57.93°, 63.08°, 64.13° ve 75.78° pikleri sırasıyla FeONP'lerin kristal yapısını gösteren (220), (311), (113), (400), (024), (422), (511), (440), (300) ve (220) düzlemlerini göstermektedir [148], [149]. Diğer pikler de FeONP'lerin yüzeylerini kaplayan ya da yüzeylerine bağlanan biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır [113]. Şekil 4.13d'de küresel şekilli HS-FeONP'lerin 60.00 kX büyütmeyle elde edilmiş SEM görüntüleri görülmektedir. Şekil 4.13e'de gösterilen FTIR spektrumu incelendiğinde HS-FeONP'lerin yaklaşık 3200 cm^{-1}'deki, 1650 cm^{-1}'deki ve 1050 cm^{-1}'deki büyük pikler dikkat çekmektedir ve bu pikler FeONP'lerin etrafını kaplayan ya da bunlara bağlanan biomoleküllerden kaynaklanmaktadır. Bunların dışında 596 cm^{-1} dalga sayısındaki küçük pik Fe-O

gerilmesini ifade ettiğinden FeONP'lerin karakterizasyonu için önemlidir [147]. HS-FeONP'nin FTIR spektrumundan okunan bütün pikler ve bu piklerin belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.4'te özetlenmiştir.



Şekil 4. 13 HS-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

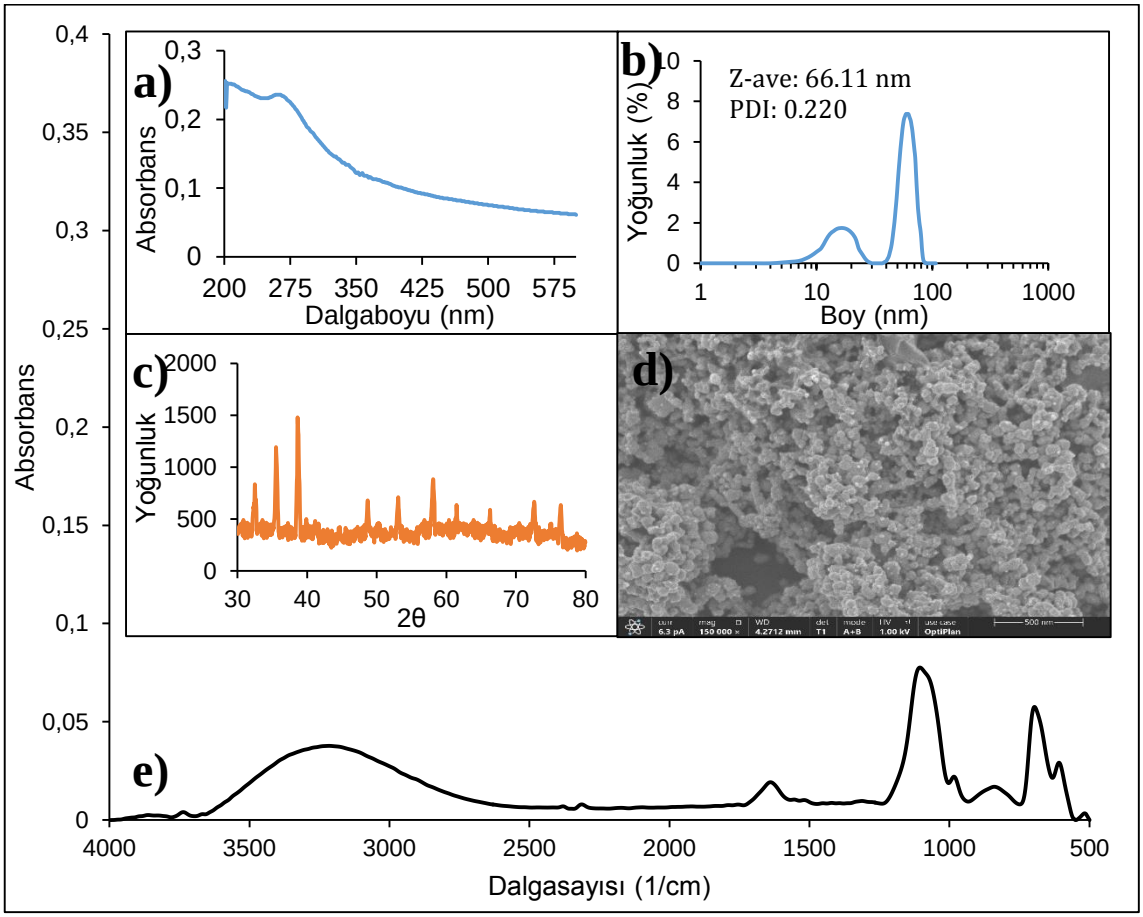
Optimum koşullarda üretilen HS-CuONP'ler, kullanılan HS'nin sulu ekstraktı ve bakır sülfat metal tuzu solüsyonu Şekil 4.14'de verilmiştir. 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonucunda yeşilimsi bir renk ortaya çıkmıştır. Bu durum CuONP'lerin çözelti içinde oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalar bu durumu desteklemektedir.



Şekil 4. 14 HS-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) HS-CuONP'ler

İstatistiksel analiz sonucu belirlenen koşullarda 1 saatlik reaksiyon sonrasında elde edilen HS-CuONP'lerin spektroskopik ve mikroskopik karakterizasyonu sonucu elde edilen resim ve grafikler aşağıda verilen Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Şekil 4.15a'da gösterilen UV-Vis spektroskopisi incelendiğinde yaklaşık 275 nm dalgaboyunda pik varlığı dikkat çekmektedir. Bu pik CuONP'lerin karakteristik pikidir ve çözelti içerisinde CuONP'lerin olduğunu göstermektedir. Literatürde bulunan yeşil sentezle CuONP üretimiyle alakalı çalışmalar incelendiğinde CuONP'lerin 260 - 280 nm dalgaboyu aralığında pik verdiği görülmektedir [155]. HS-CuONP'nin DLS grafiği ve bu grafikten hesaplanan ortalama NP çapı ve PDI değerleri incelendiğinde ise CuONP çaplarının 5 ile 100 nm arasında değiştiği ve ortalama NP çapının 66.11 nm olduğu görülmektedir. HS-CuONP'lerin PDI değeri de 0.220 olarak hesaplanmıştır. Bu durum HS-CuONP'lerin boyutlarının iki boyut bölgesinde yoğunlaşsa da iyi dağılım gösterdiğini ifade etmektedir. Şekil 4.15c'deki XRD sonucu incelendiğinde ise 32.49°, 35.56°, 38.59°, 48.72°, 53.05°, 58.16°, 61.49°, 66.25°, 72.71° ve 76.34° değerlerinde piklerin oluştuğu görülmüştür. Literatürdeki benzer çalışmalara göre bu piklerin CuONP'lerin kristal yapısını gösteren karakteristik pikler olduğu ve bunların sırasıyla (110), (002), (111), (202), (020), (202), (113), (311) ve (113) düzlemlerini belirtmektedir [153], [164]. Şekil 4.15d'deki SEM görüntüleri incelendiğinde ise CuONP'lerin küresel şekillerde oluştuğu görülmüştür. HS-CuONP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise yaklaşık 3220 cm^{-1}'de büyük ve geniş bir pikin, yaklaşık 1650 ve 880 cm-1'de küçük iki pikin,

1100 cm-1 ve 620 cm^{-1}'de büyük piklerin oluştuğu görülmektedir. 620 cm^{-1}'deki pik CuONP'lerin karakteristik piklerinden olup Cu-O gerilmelerinden kaynaklanmaktayken; diğer pikler NP yapısına bağlanan biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır. HS-CuONP'nin FTIR spektrumundan okunan pikler ve bunların belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.4'te özetlenmiştir.



Şekil 4. 15 HS-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

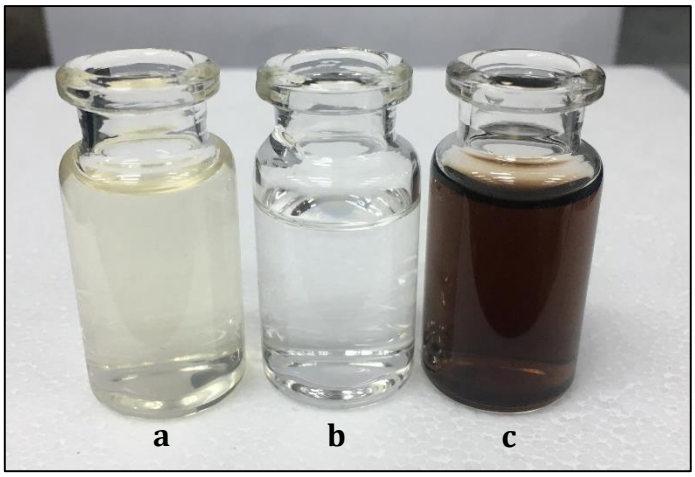
Tablo 4. 4 HS ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri

Pik (cm^{-1})	Pikin özelliği	Tür	Fonksiyonel grup	Kaynak
3276	B ve G	AgNP	OH gerilmesi	[40]
3221	B ve G	CuONP		
3217	B ve G	FeONP		
2923	K	AgNP	CH gerilmesi	[19]
2921	K	FeONP		
1640	ÇB	AgNP	C=O gerilmesi	[111]
1638	B	CuONP		
1613	B	FeONP		
1533	B	AgNP	Amid I titreşimleri	[165]
1445	K	FeONP	CO_3^{-2} asimetrik gerilmesi	[166]
1323	K	AgNP	C-H gerilmesi	[146]
1231	K	AgNP	C-O gerilmesi	
1105	ÇB	CuONP	C-O gerilmesi	[167]
1064	B	AgNP	C-C bağı	[146]
1027	ÇB	FeONP	C-O gerilmesi	[168]
880	K	CuONP	CO_3^{-2} düzlem dışı bükülme	[166]
621	B	CuONP	Cu-O titreşimleri	[168]
592	K	FeONP	Fe-O titreşimleri	[167]
587	K	AgNP	Ag-O eğilmesi	[146]

(B: Büyük, G: Geniş, K: Küçük, ÇB: Çok büyük)

4.3.3 CV'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları

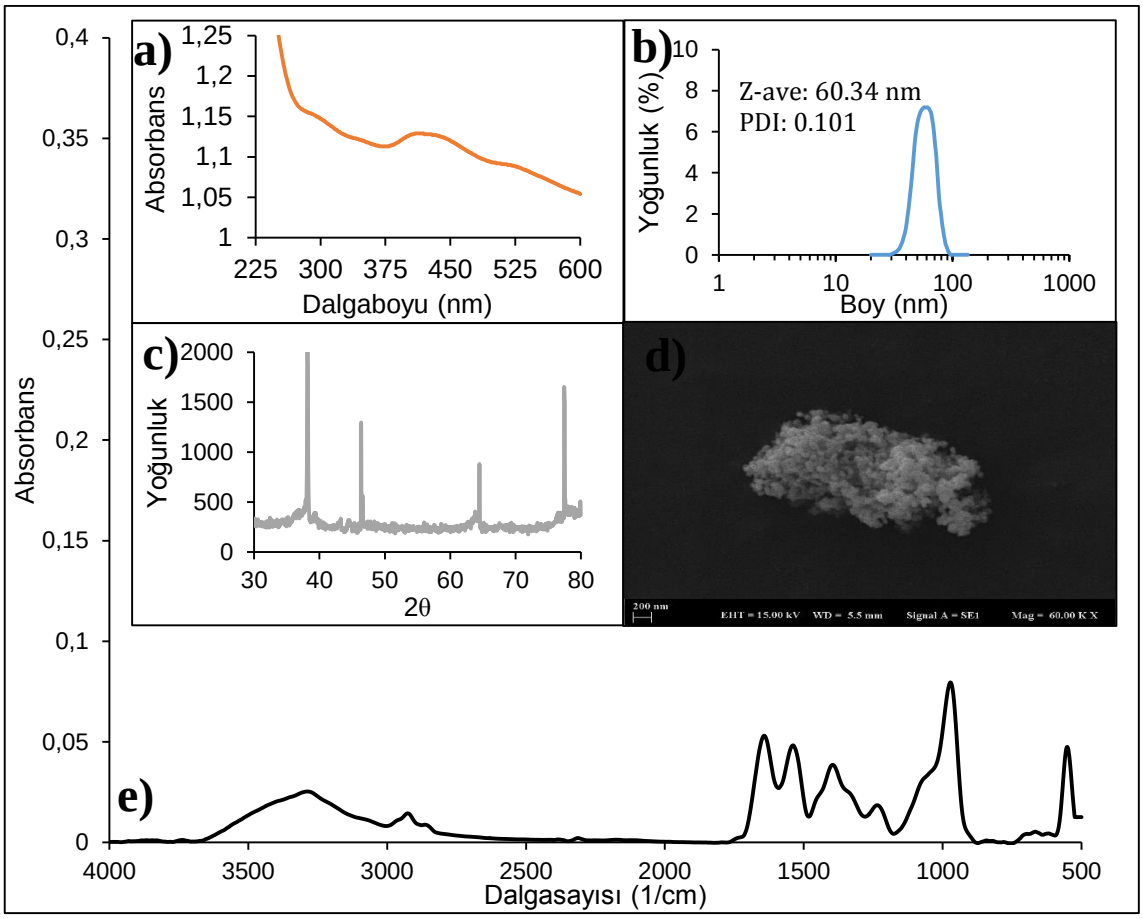
Optimum koşullarda CV mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonrasında elde edilen CV-AgNP'ler, CV mikroalginin sulu ekstraktı ve gümüş iyonları için gerekli metal tuzu solüsyonu Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi AgNP'lerin reaksiyon sonrasında koyu kahverengi bir renk aldığı görülmüştür. Bu durum AgNP'lerin oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [160].



Şekil 4. 16 CV-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) CV-AgNP'ler

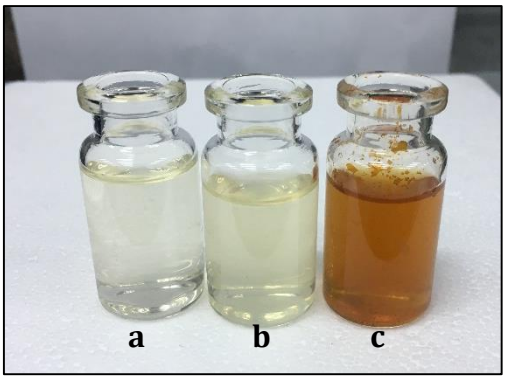
Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen CV-AgNP'lerin spektroskopik ve mikroskopik yöntemlerle gerçekleştirilen karakterizasyon sonuçları Şekil 4.17'de verilmiştir. Bu şekle göre her analizde AgNP'lerin karakteristik özelliklerine ait bulgulara rastlanmıştır. Örneğin UV-Vis spektrumunda görülen 420 nm civarındaki absorpsiyon bandı AgNP'lerin çözeltideki varlığını gösteren karakteristik SPR bantıdır. Bu spektrum, diğer alglerin ekstraktlarından üretilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları ve literatürdeki benzer çalışmalarda raporlanan UV-Vis spektrumları ile benzerlik göstermektedir. Şekil 4.17c'de gösterilen XRD spektrumu incelendiğinde ise AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını belirten 38.17°, 46.58°, 64.47° ve 77.44°'de pikler görülmüştür. Bu pikler sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerini belirtmekte olup, spektrumdaki diğer tanımlanamayan pikler NP'leri kaplayan ya da NP'lere bağlanmış biyomoleküllere aittir [161]. Optimum koşullarda sentezlenen CV-AgNP'lerin DLS eğrisi incelendiğinde oluşan AgNP'lerin boyutlarının yaklaşık 20 ile 90 nm arasında değiştiği görülmektedir. Bu grafikteki değerlere göre hesaplanan ortalama NP boyutu ve PDI değeri sırasıyla 60.34 nm ve 0.101 olarak bulunmuştur. CV-AgNP'lerin SEM görüntüleri incelendiğinde ise benzer çaplardaki küresel NP'lerin bir öbek halinde topaklandığı görülmüştür. CV-AgNP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise yaklaşık olarak 3200 cm-1, 2950 cm^{-1}, 1630 cm^{-1}, 1530 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 1000 cm^{-1} ve 550 cm^{-1} dalga sayılarında pikler görülmüştür. Bu piklerden 550 cm^{-1} civarında olanı Ag-O bağının hareketlerinden

kaynaklanmaktayken; diğer pikler AgNP'lere bağlanan su ve biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır [46].



Şekil 4. 17 CV-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

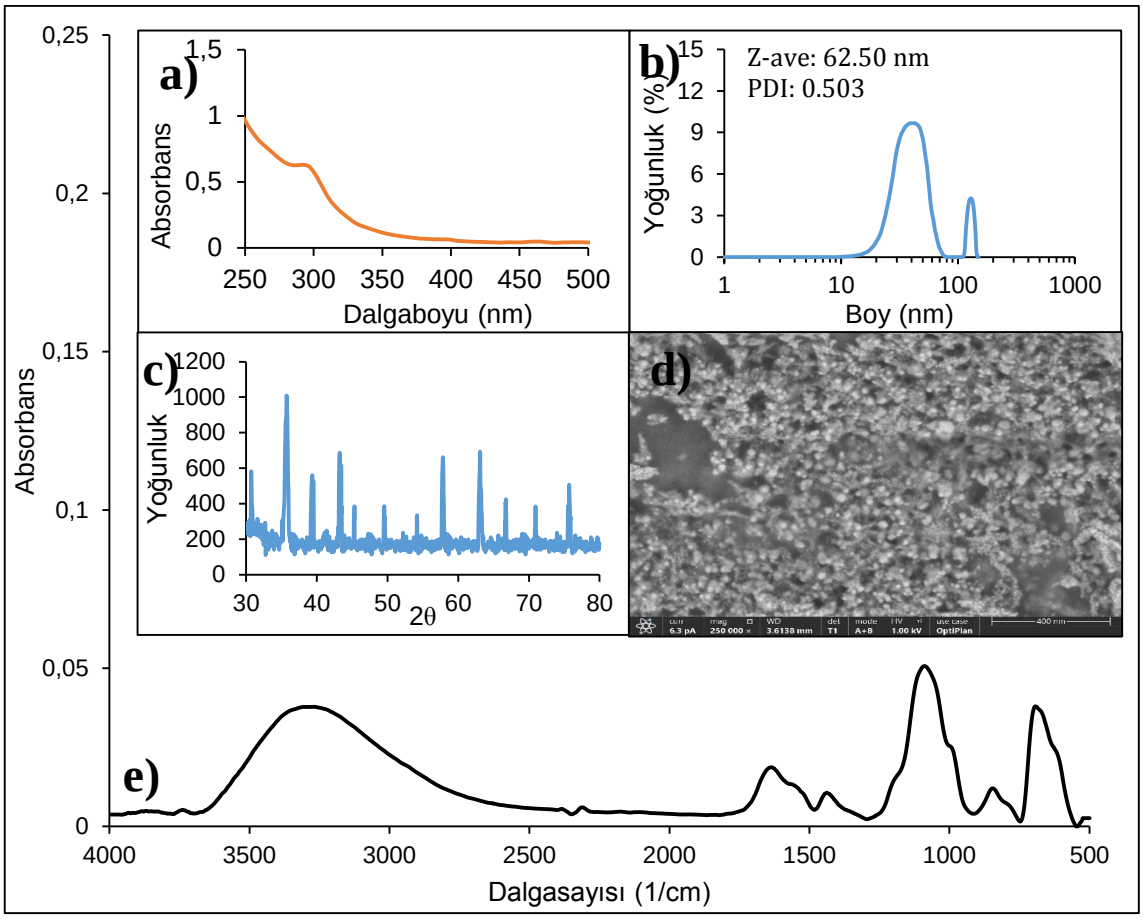
Belirlenen optimum koşullar kullanılarak 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonucunda CV mikroalginin sulu ekstraktından sentezlenen CV-FeONP'ler, kullanılan CV mikroalgi sulu ekstraktı ve demir iyonları için kullanılan metal tuzu solüsyonları Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Bu şekle göre reaksiyon sonucunda oluşan FeONP'lerin çözeltiyi kahverengimsi bir renge dönüştürdüğü görülmüştür. Bu durum FeONP'lerin çözelti içinde oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [162], [163].



Şekil 4. 18 CV-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) CV-FeONP'ler

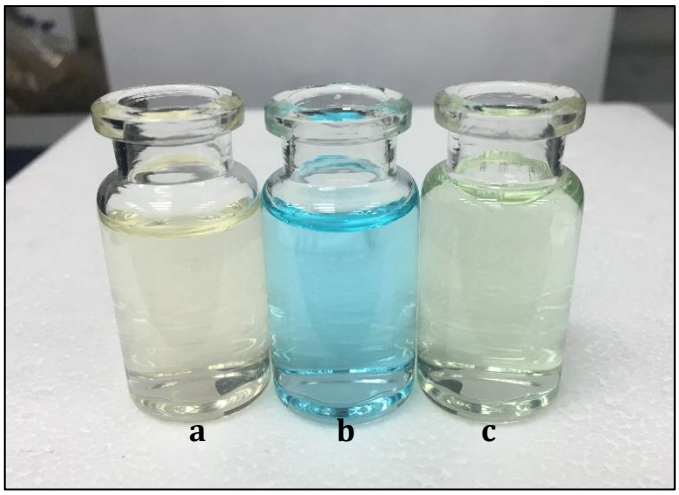
Yukarıda şekilde gösterilen CV-FeONP'lerin karakterizasyonları için yapılan analizlerin sonuçları Şekil 4.19'da özetlenmiştir. CV-FeONP'nin UV-Vis spektrumunda 296 nm dalgaboyunda bir tepe noktası görülmüştür ve bu durum çözeltide bulunan FeONP'lerden kaynaklanmaktadır [147]. CV-FeONP'lerin DLS grafiği incelendiğinde NP'lerin yaklaşık 10 ile 110 nm arasında oluştuğu ve ortalama NP çapının 62.50 nm olduğu görülmüştür. DLS eğrisinde dikkat çeken diğer bir nokta yaklaşık 100 – 110 nm civarında küçük bir pikin oluşmasıdır. Bu durum bazı CV-FeONP'lerin birbirine tutunmaya başladığını ve reaksiyonun devam etmesi halinde NP boyunun daha da artabileceğini göstermektedir. DLS analiz sonucunda elde edilen veriler kullanılarak PDI değeri 0.503 olarak hesaplanmıştır ve bu durum NP'ler için oldukça yüksek bir değerdir. Optimum koşullarda sentezlenen CV-FeONP'lerin XRD spektrumları incelendiğinde diğer alglerden elde edilmiş FeONP'lerinkine benzer piklerin olştuğu görülmüştür. 30.70°, 35.72°, 43.18°, 49.48°, 54.20°, 57.73°, 63.11° ve 75.68° pikleri sırasıyla FeONP'lerin kristal yapısını gösteren (220), (311), (400), (024), (422), (511), (440) ve (220) düzlemlerini göstermektedir [148], [149]. Şekil 4.19d'de gösterilen SEM görüntülerinde ise CV-FeONP'lerin küresel şekillerde olduğu görülmektedir. Şekil 4.19e'de gösterilen FTIR spektrumu incelendiğinde CV-FeONP'lerin yaklaşık 3200 cm^{-1}'deki, 1650 cm^{-1}'deki, 1450 cm^{-1}'deki ve 1050 cm^{-1}'deki pikler dikkat çekmektedir ve bu pikler FeONP'lerin etrafını kaplayan ya da FeONP'lere bağlanan su molekülleri ve biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır. Bunların dışında yaklaşık 690 cm^{-1} dalga sayısındaki pik Fe–C=O bağlarını ifade ettiğinden FeONP'lerin karakterizasyonu için

önemlidir [169]. CV-FeONP'nin FTIR spektrumundan okunan bütün pikler ve bu piklerin belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.5'te özetlenmiştir.



Şekil 4. 19 CV-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

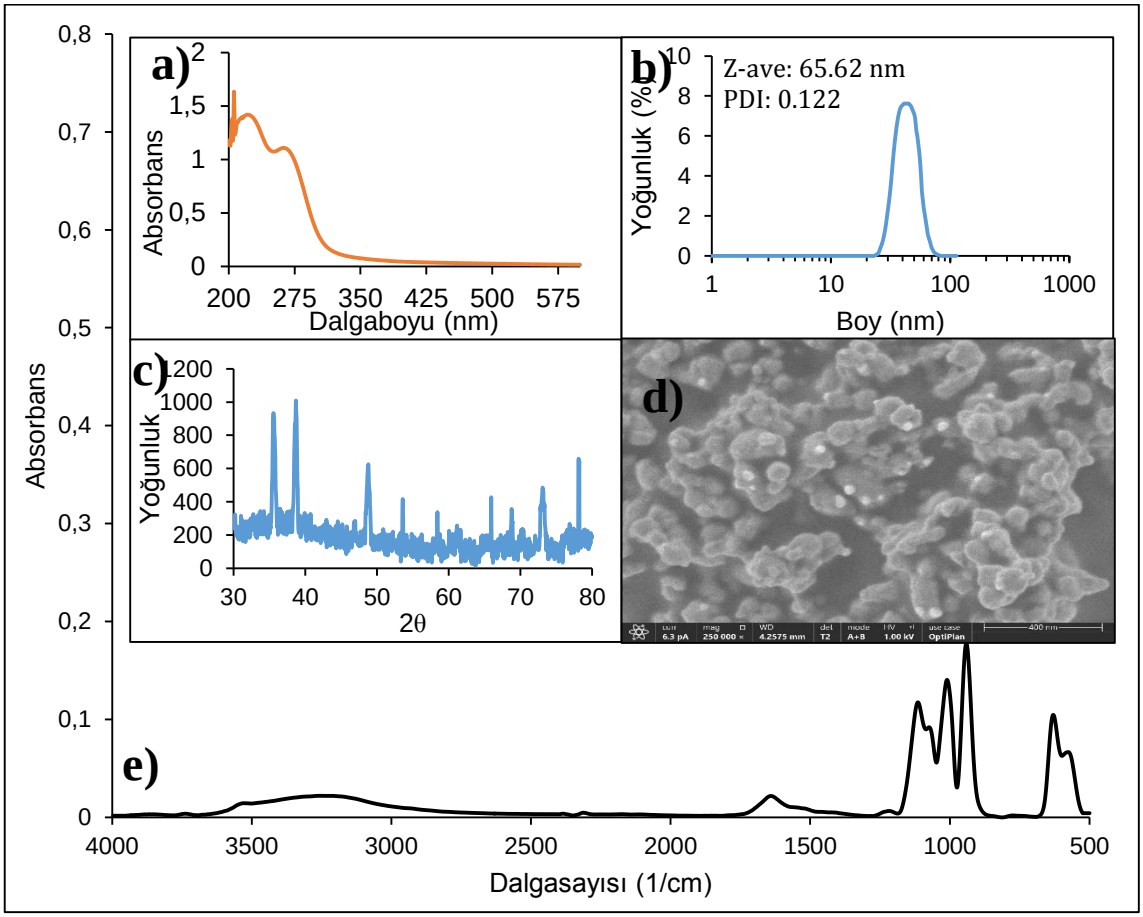
Optimum koşullarda üretilen CV-CuONP'ler, kullanılan CV'nin sulu ekstraktı ve bakır sülfat metal tuzu solüsyonu Şekil 4.20'de verilmiştir. 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonucunda yeşilimsi bir renk ortaya çıkmıştır. Bu durum CuONP'lerin çözelti içinde oluştuğunu göstermektedir. Literatürde bulunan çalışmalar incelendiğinde ekstrakt ile bakır sülfat çözeltisi karıştırıldığında oluşan CuONP'lerin miktarına göre koyu yeşil bir renk oluştuğu belirtilmiştir [153]. Bu çalışmada daha açık bir yeşil rengin oluşmasının sebebi üretilen CuONP'lerin düşük konsantrasyonda olması olabilir.



Şekil 4. 20 CV-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) CV-CuONP'ler

İstatistiksel analiz sonucu belirlenen koşullarda 1 saatlik reaksiyon sonrasında elde edilen CV-CuONP'lerin spektroskopik ve mikroskopik karakterizasyonu sonucu elde edilen resim ve grafikler aşağıda verilen Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Şekil 4.21a'da gösterilen UV-Vis spektroskopisi incelendiğinde yaklaşık 275 nm dalgaboyunda pik varlığı dikkat çekmektedir. Bu pik CuONP'lerin karakteristik pikidir ve çözelti içerisinde CuONP'lerin olduğunu göstermektedir. Literatürde bulunan yeşil sentezle CuONP üretimiyle alakalı çalışmalar incelendiğinde CuONP'lerin 260 - 280 dalgaboyu aralığında pik verdiği görülmektedir [155]. CV-CuONP'nin DLS grafiği ve bu grafikten hesaplanan ortalama NP çapı ve PDI değerleri incelendiğinde ise CuONP çaplarının 15 ile 70 nm arasında değiştiği ve ortalama NP çapının 65.62 nm olduğu görülmektedir. CV-CuONP'lerin PDI değeri de 0.122 olarak hesaplanmıştır. Bu durum CV-CuONP'lerin boyutlarının iyi dağılım gösterdiğini ifade etmektedir. Şekil 4.21c'de verilen CV-CuONP'lerin XRD analiz sonucu incelendiğinde ise 35.59°, 38.72°, 48.82°, 53.54°, 58.39°, 65.25°, 73.14° ve 78.06° değerlerinde piklerin oluştuğu görülmüştür. Bu XRD motifi bu çalışmada elde edilen diğer CuONP'lerin XRD motiflerine ve literatürdeki benzer çalışmalardaki motiflere benzemektedir ve bunlar sırasıyla (002), (111), (202), (020), (202), (113), (311) ve (113) düzlemlerini belirtmektedir [153], [164], [170], [171]. CV-CuONP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise yaklaşık 3220 cm^{-1}'de geniş bir pikin, yaklaşık 1630 cm^{-1}'de küçük bir pik, 1200 – 900 cm^{-1} arasında üç büyük pikin, 650 cm^{-1}'den daha küçük

dalga sayılarında iki pikin oluştuğu görülmektedir. 630 ve 576 cm^{-1}'deki pikler CuONP'lerin karakteristik piklerinden olup Cu-O bağının hareketlerinden kaynaklanmaktayken; diğer pikler NP yapısına bağlanan biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır [155], [168]. CV-CuONP'nin FTIR spektrumundan okunan pikler ve bunların belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.5'te özetlenmiştir.



Şekil 4. 21 CV-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

Tablo 4. 5 CV ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri

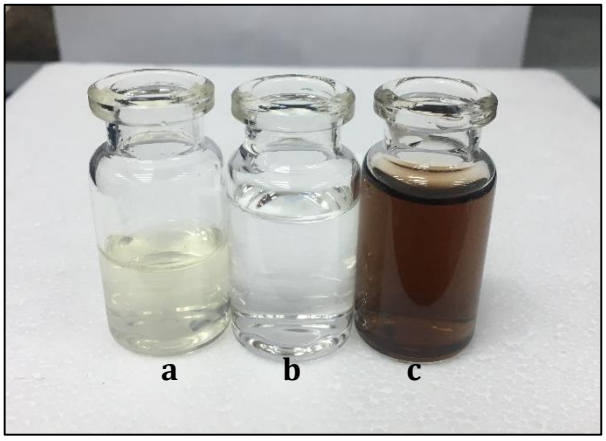
Pik (cm^{-1})	Pikin özelliği	Tür	Fonksiyonel grup	Kaynak
3286	B ve G	AgNP		
3268	B ve G	CuONP	OH gerilmesi	[40]
3260	B ve G	FeONP		
2926	K	AgNP	CH gerilmesi	[19]
1642	B	AgNP		
1641	K	CuONP	C=O gerilmesi	[111]
1635	K	FeONP		
1538	B	AgNP	Amid I titreşimleri	[165]
1438	K	FeONP	CH_3 stretching	[156]
1396	B	AgNP	C-H gerilmesi	[146]
1236	K	AgNP	C-O gerilmesi	
1114	ÇB	CuONP	C-O gerilmesi	[155]
1089	B	FeONP	C-O-C gerilmesi	[156]
1010	ÇB	CuONP	C-O gerilmesi	[168]
972	ÇB	AgNP	CH_2 düzlem dışı sallanma	[158]
941	ÇB	CuONP		
845	K	FeONP	C-H gerilmesi	[172]
693	B	FeONP	Fe–C=O	[169]
630	ÇB	CuONP	Cu-O titreşimleri	[168]
576	B	CuONP	Cu-O titreşimleri	[155]
551	B	AgNP	Ag-O eğilmesi	[146]

(B: Büyük, G: Geniş, K: Küçük, ÇB: Çok büyük)

4.3.4 BB'den Sentezlenen NP'lerin Karakterizasyonları

Optimum koşullarda BB mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonrasında elde edilen BB-AgNP'ler, BB mikroalginin sulu ekstraktı ve gümüş iyonları için gerekli metal tuzu solüsyonu Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi AgNP'lerin reaksiyon sonrasında koyu

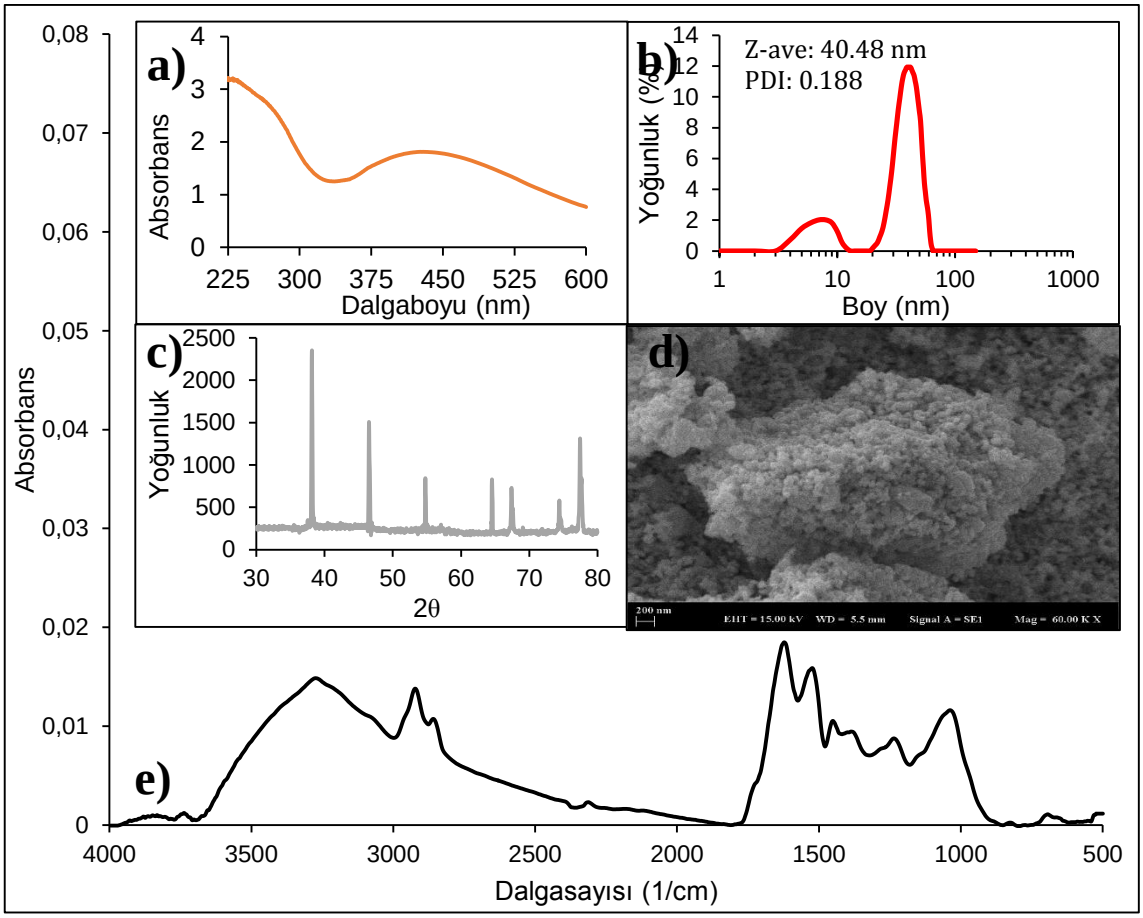
kahverengi bir renk aldığı görülmüştür. Bu durum AgNP'lerin oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [161].



Şekil 4. 22 BB-AgNP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $AgNO_3$ ve c) BB-AgNP'ler

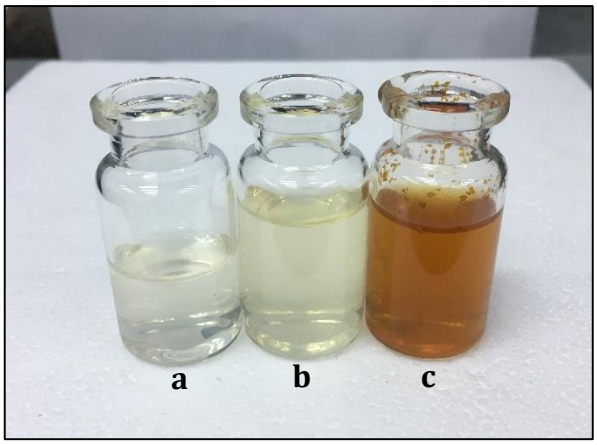
Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen BB-AgNP'lerin spektroskopik ve mikroskopik yöntemlerle gerçekleştirilen karakterizasyon analizlerinin sonuçları Şekil 4.23'te verilmiştir. Şekil 4.23a'daki UV-Vis spektrumunda görülen 420 nm civarındaki absorpsiyon bandı AgNP'lerin çözeltideki varlığını gösteren karakteristik SPR bantıdır. Bu spektrum, diğer alglerin ekstraktlarından üretilen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları ve literatürdeki benzer çalışmalarda raporlanan UV-Vis spektrumları ile benzerlik göstermektedir. Optimum koşullarda sentezlenen BB-AgNP'lerin DLS eğrisi incelendiğinde oluşan AgNP'lerin boyutlarının yaklaşık 2 ile 60 nm arasında değiştiği görülmektedir. Bu grafikteki değerlere göre hesaplanan ortalama NP boyutu ve PDI değeri sırasıyla 40.48 nm ve 0.188 olarak bulunmuştur. DLS grafiğinde dikkat çeken bir nokta yaklaşık 2 ile 10 nm çaplarında bir grup AgNP'nin büyümeden kaldığıdır. Reaksiyon süresinin uzamasıyla bu küçük çaplı AgNP'lerin boyutlarının artacağı düşünülmektedir. Tam tersine reaksiyon süresinin kısalmasıyla küçük boyutlu AgNP'lerin sayısı daha fazla olacağından ortalama NP boyutu düşeceği tahmin edilmektedir. Şekil 4.23c'de gösterilen XRD spektrumu incelendiğinde ise AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını belirten 38.20°, 46.52°, 64.53° ve 77.43°'de pikler görülmüştür. Bu pikler sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerini belirtmekte olup, spektrumdaki diğer tanımlanamayan pikler NP'leri kaplayan ya da NP'lere bağlanmış biyomoleküllere aittir [161]. BB-

AgNP'lerin SEM görüntülerinde ise küresel AgNP'lerin öbek halinde bulunduğu görülmektedir. BB-AgNP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise yaklaşık olarak 3200 cm^{-1}, 2920 cm^{-1}, 1630 cm^{-1}, 1530 cm^{-1}, 1450 cm^{-1}, 1250 cm^{-1}, 1050 cm^{-1} ve 700 cm^{-1} dalga sayılarında pikler görülmüştür. Bu piklerden 694 cm^{-1} civarında olanı Ag-O bağının hareketlerinden kaynaklanmaktayken [146]; diğer pikler AgNP'lere bağlanan su ve biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır [46].



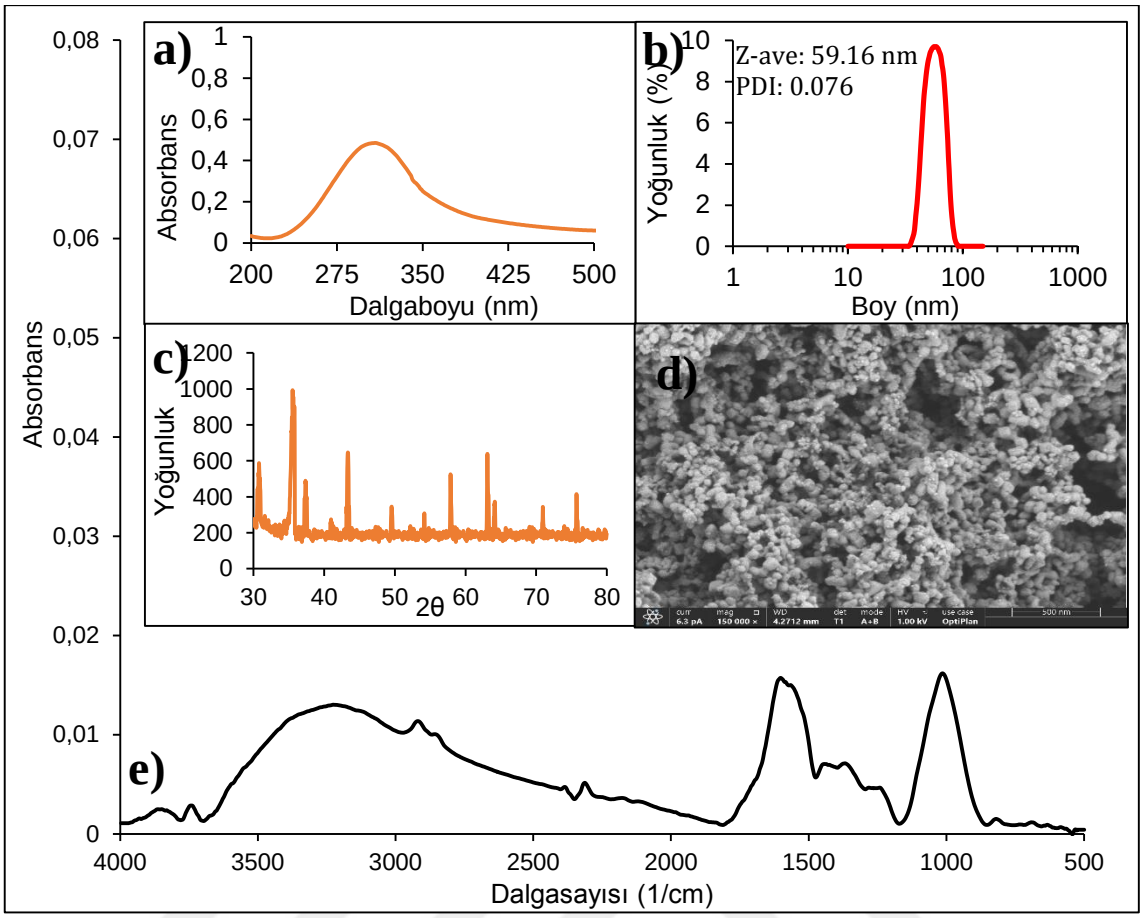
Şekil 4. 23 BB-AgNP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

Optimum koşullarda BB mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonrasında elde edilen BB-FeONP'ler, BB mikroalginin sulu ekstraktı ve gümüş iyonları için gerekli metal tuzu solüsyonu Şekil 4.24'te gösterilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi FeONP'lerin reaksiyon sonrasında koyu bir renk aldığı görülmüştür. Bu durum FeONP'lerin oluştuğunu göstermektedir ve literatürdeki çalışmalar bunu desteklemektedir [147], [173].



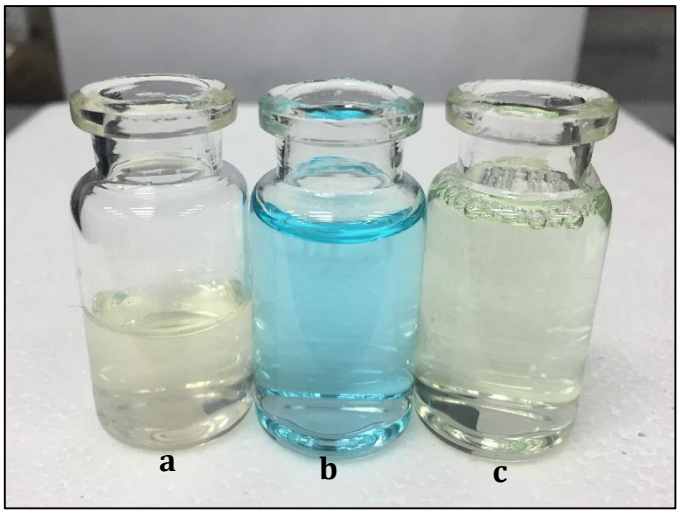
Şekil 4. 24 BB-FeONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $FeSO_4.7H_2O$ ve c) BB-FeONP'ler

BB-FeONP'lerin karakterizasyonları için yapılan spektroskopik ve mikroskopik analizlerin sonuçları Şekil 4.25'te özetlenmiştir. BB-FeONP'nin UV-Vis spektrumunda 298 nm dalgaboyunda bir tepe noktası görülmüştür ve bu durum çözeltide bulunan FeONP'lerden kaynaklanmaktadır [147]. BB-FeONP'lerin DLS grafiği incelendiğinde NP'lerin yaklaşık 20 ile 90 nm arasında oluştuğu ve ortalama NP çapının 59.16 nm olduğu görülmüştür. DLS analiz sonucunda elde edilen veriler kullanılarak PDI değeri 0.076 olarak hesaplanmıştır ve bu durum NP'ler için oldukça uygun bir değerdir. BB-FeONP'lerin XRD analizi sonuçları incelendiğinde ise spektrumun diğer alglerden elde edilen XRD spektrumlarına benzer olduğu ve burada oluşan piklerin FeONP'lerin karakteristik pikleri olduğu anlaşılmıştır [150]. Şekil 4.25d'deki SEM görüntüsü de BB-FeONP'lerin küresel şekillerde olduğunu göstermektedir. Şekil 4.25e'de gösterilen FTIR spektrumu incelendiğinde BB-FeONP'lerin yaklaşık 3200 cm^{-1}'deki, 1650 cm^{-1}'deki, 1350 cm^{-1}'deki ve 1000 cm^{-1}'deki pikler dikkat çekmektedir ve bu pikler FeONP'lerin etrafını kaplayan ya da FeONP'lere bağlanan su molekülleri ve biyomoleküllerden kaynaklanmaktadır. Bunların dışında yaklaşık 690 cm^{-1} dalga sayısındaki küçük pik Fe–C=O bağlarını ifade etmektedir [169]. BB-FeONP'nin FTIR spektrumundan okunan bütün pikler ve bu piklerin belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.6'da özetlenmiştir.



Şekil 4. 25 BB-FeONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

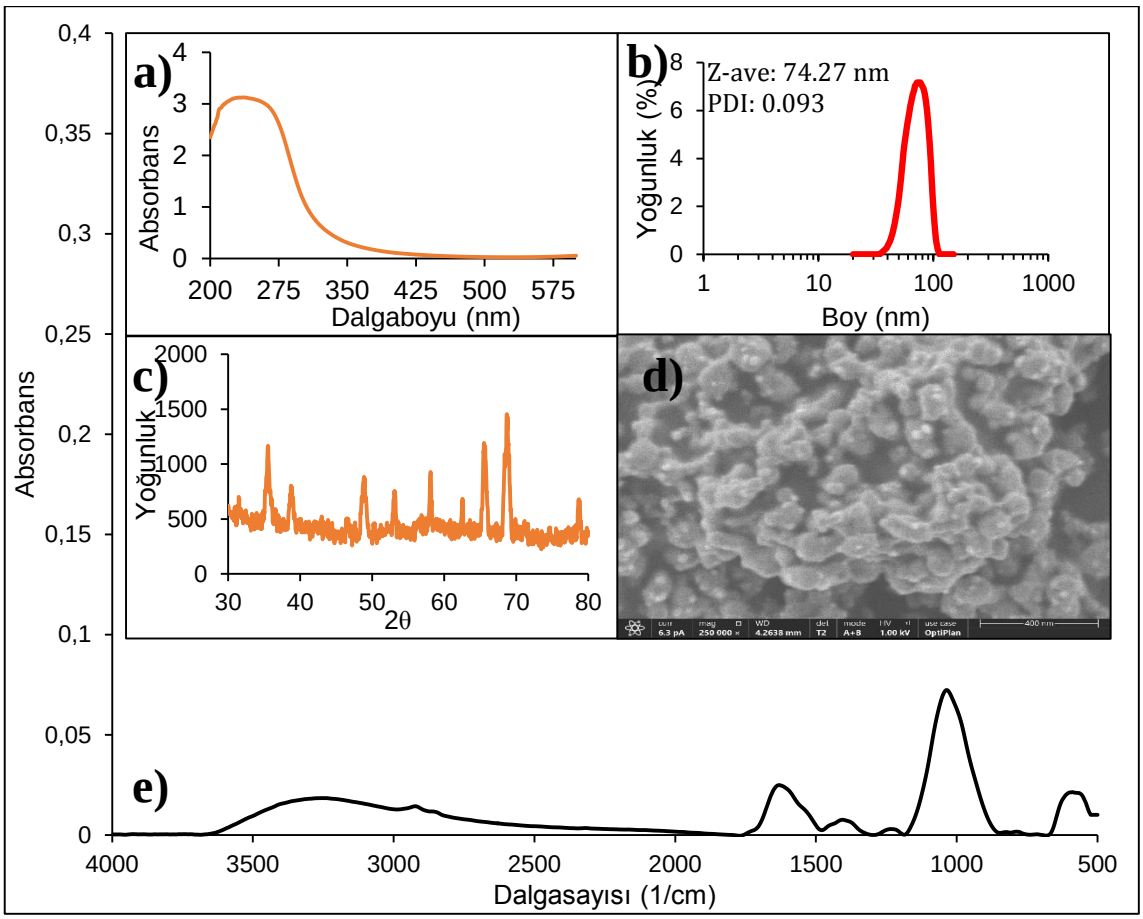
Optimum koşullarda üretilen BB-CuONP'ler, kullanılan CV'nin sulu ekstraktı ve bakır sülfat metal tuzu solüsyonu Şekil 4.26'da verilmiştir. 1 saatlik yeşil sentez reaksiyonu sonucunda yeşilimsi bir renk ortaya çıkmıştır. Bu durum CuONP'lerin çözelti içinde oluştuğunu göstermektedir. Literatürde bulunan çalışmalar incelendiğinde ekstrak ile bakır sülfat çözeltisi karıştırıldığında oluşan CuONP'lerin miktarına göre koyu yeşil bir renk oluştuğu belirtilmiştir [153]. Bu çalışmada daha açık bir yeşil rengin oluşmasının sebebi üretilen CuONP'lerin düşük konsantrasyonda olması olabilir.



Şekil 4. 26 BB-CuONP'lerin oluşumu esnasındaki renk değişimi a) Ekstrakt, b) $CuSO_4.5H_2O$ ve c) BB-CuONP'ler

İstatistiksel analiz sonucu belirlenen koşullarda 1 saatlik reaksiyon sonrasında elde edilen BB-CuONP'lerin spektroskopik ve mikroskopik karakterizasyonu sonucu elde edilen resim ve grafikler aşağıda verilen Şekil 4.27'de gösterilmiştir. Şekil 4.27a'da gösterilen UV-Vis spektroskopisi incelendiğinde yaklaşık 273 nm dalgaboyunda pik varlığı dikkat çekmektedir. Bu pik CuONP'lerin karakteristik pikidir ve çözelti içerisinde CuONP'lerin olduğunu göstermektedir. Literatürde bulunan yeşil sentezle CuONP üretimiyle alakalı çalışmalar incelendiğinde CuONP'lerin 260 - 280 dalgaboyu aralığında pik verdiği görülmektedir [155]. BB-CuONP'nin DLS grafiği ve bu grafikten hesaplanan ortalama NP çapı ve PDI değerleri incelendiğinde ise CuONP çaplarının 30 ile 100 nm arasında değiştiği ve ortalama NP çapının 75.27 nm olduğu görülmektedir. CV-CuONP'lerin PDI değeri de 0.093 olarak hesaplanmıştır. Bu durum istenilen bir durumdur ve BB-CuONP'lerin boyutlarının birbirine yakın olduğunu ifade etmektedir. BB-CuONP'lerin XRD spektrumu incelendiğinde gözlemlenen pikler diğer alglerden elde edilmiş CuONP'lerin XRD motiflerine benzemektedir ve bu durum literatürdeki yeşil sentezle elde edilmiş CuONP'lerin XRD analizi sonuçlarıyla örtüşmektedir. Bu nedenle bu piklerin CuONP oluşumunu kanıtladığı yorumu yapılabilir. BB-CuONP'lerin FTIR spektrumu incelendiğinde ise 3220 cm^{-1}, 1650 cm^{-1}, 1000 cm^{-1} ve 590 cm^{-1}'deki pikler dikkat çekmektedir Bu spektrumda görülen 4000 cm^{-1} ile 1000 cm^{-1} arasındaki pikler NP yapısına bağlanan biyomoleküllerden

kaynaklanmaktayken; 589 cm^{-1}'deki pik CuONP'lerin karakteristik piklerinden olup Cu-O bağının hareketinden kaynaklanmaktadır [155]. CV-CuONP'nin FTIR spektrumundan okunan pikler ve bunların belirttiği bağ hareketleri Tablo 4.6'da özetlenmiştir.



Şekil 4. 27 BB-CuONP'lerin karakterizasyon sonuçları a) UV-Vis, b) DLS, c) XRD, d) SEM ve e) FTIR

Tablo 4. 6 BB ekstraktından sentezlenen MNP'lerin FTIR pikleri

Pik (cm-1)	Pikin özelliği	Tür	Fonksiyonel grup	Kaynak
3274	B ve G	AgNP		
3253	B ve G	CuONP	OH gerilmesi	[40]
3226	B ve G	FeONP		
2925	ÇB	AgNP		
2924	B	CuONP	CH gerilmesi	[19]
2919	ÇB	FeONP		
2859	B	AgNP	CH_2 titreşimi	[47]
2850	B	CuONP		
1631	B	CuONP		
1623	ÇB	AgNP	C=O gerilmesi	[111]
1602	ÇB	FeONP		
1524	ÇB	AgNP	Amid I titreşimleri	[165]
1451	B	AgNP	N-H gerilmesi	[174]
1443	B	FeONP	CH_3 stretching	[156]
1387	B	AgNP	C-H gerilmesi	
1368	B	FeONP		
1243	K	FeONP		[146]
1236	K	AgNP	C-O gerilmesi	
1235	K	CuONP		
1038	ÇB	AgNP	C-O gerilmesi	[168]
1036	ÇB	CuONP	C-O gerilmesi	[168]
1014	B	FeONP	C-O-C gerilmesi	[156]
694	K	AgNP	Ag-O eğilmesi	[146]
692	B	FeONP	Fe–C=O	[169]
589	B	CuONP	Cu-O titreşimleri	[155]

(B: Büyük, G: Geniş, K: Küçük, ÇB: Çok büyük)

5
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYAL ETKİLERİ

5.1 Antimikrobiyal Aktivite ile Alakalı Genel Bilgiler

Mikrobiyal organizmalar, birçok kronik hastalığın ve yaşam kayıplarının en önemli sebeplerindendir. Bu hastalık yapıcı yani patojenik mikroorganizmaların başında bakteriler gelmektedir. Patojenik bakterilere karşı en çok tercih edilen tedavi yöntemi antibiyotik ilaçların kullanılmasıdır. Günümüzde kullanılan antibiyotik ilaçlar bakterilerin üç mekanizmasını hedeflemektedir. Bunlar bakterilerin hücre duvarı sentezi, DNA replikasyon mekanizması ve translasyon mekanizmasıdır. Antibiyotikler bakterilerin bu üç mekanizmasını etkileyerek bakteriyi öldürür, inhibe eder ya da inaktif hale getirir [175]. Ancak son zamanlarda antibiyotiklerin çok fazla ve kontrolsüz bir şekilde kullanılması çoklu ilaca dirençli bakteri suşlarının gelişmesine neden olmuştur [176]. Yapılan çalışmalarda hemen hemen bütün antibiyotiklere dirençli süper bakterilerin geliştiğini raporlamışlardır. Bu bakterilerde NDM-1 adı verilen süper direnç geni vardır ve bu gen sayesinde bakteriler antibiyotiklerin etkilediği mekanizmalara direnç kazanabilmektedir [177]. Bu direnç mekanizmaları arasında bakterilerin antibiyotik ilacın yapısını bozan enzimlerin üretimi, ribozom ve hücre duvarı gibi hücre bileşenlerinin modifikasyonu, çok sayıda antibiyotiğe karşı eş zamanlı direnç sağlayan akış pompalarının oluşumu vardır [175]. Bu direnç mekanizmaları nedeniyle bilim insanları antibiyotik ilaçlara alternatif olabilecek yeni antibakteriyal ajanları araştırmaya odaklanmıştır.

Antibiyotik ilaçlara alternatif olabilecek yapılardan bir tanesi MNP'lerdir. Çünkü antibiyotik direnç mekanizmaları NP'leri etkilerini azaltmaya neden olmaz. MNP'lerin etki mekanizmaları hala araştırılan bir konu olmakla birlikte araştırmacılar birkaç popüler mekanizma üzerinde durmaktadır. Bunlardan birincisi metal iyon salınımına bağlı antibakteriyal etkidir. MNP'lerin yüzeylerinden çözünen metal iyonlarının bakteriye toksik etki yaratmasıyla bakterinin inhibe

olmasıdır [178]. Bazı metal iyonları bakteri yapısında bulunan hücre duvarı, hücre zarı ve peptidoglikandaki protein ya da enzimlere bağlanarak bu yapıların bozulmasına ve bazı delik ya da çukur oluşmasına neden olur. Bu durum hücrenin geçirgenliğini arttırır ve sonunda bakteri hücresinin parçalanmasına neden olur [179], [180]. MNP'lerin antibakteriyal etki mekanizmalarından bir tanesi de oksidatif stres indüksiyonudur [181]. MNP'ler tarafından salınan iyonlar Fenton reaksiyonu ya da Fenton-benzeri reaksiyon yoluyla redoks döngüsüne ve kemokatalize dahil olurlar. Bu reaksiyonlar sonucunda hidroksi radikali gibi reaktif oksijen türleri (ROS) açığa çıkar. Bu yapılar bakteri hücrelerindeki lipit, protein, enzimler ve DNA gibi önemli biyomoleküllerin yapılarının bozulmasına ve buna bağlı olarak bakteri hücrelerinin inhibisyonuna neden olurlar [182]. MNP'ler elektron transfer sürecini bozarak, NADP+/NADPH oranını artırarak ve mitokondriyal fonksiyona müdahale ederek hücre içi ROS birikimini teşvik ederler. Ayrıca MNP'ler soxS, soxR, oxyR ve ahpC gibi oksidatif stresle ilişkili genlerin, sod1 ve gpx 1 gibi antioksidan genlerin ya da met9 gibi NADPH üretimi ile ilgili genlerin ekspresyonuna müdahale eder. NP'lerin neden olduğu oksidatif ve antioksidan genlerin ekspresyonundaki bu dengesizlik, hücre içi ROS birikimini hızlandırır [183]. MNP'lerin antibakteriyal etki mekanizmalarından birisi de bakteri hücre membranının bozulması, hücre membranı penetrasyonu ve DNA ve proteinler ile etkileşimler dahil, hücre içi antibakteriyal etkilerin uyarılması gibi oksidatif olmayan mekanizmalardır [184].

MNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyen parametrelerin başında MNP hazırlamak için kullanılan malzemenin türü ve NP boyutu gelmektedir. Buna ek olarak MNP'lerin morfolojik ve fizikokimyasal özelliklerin de antimikrobiyal aktivite üzerinde etkileri olduğu birçok çalışmada raporlanmıştır [178]. Örneğin küçük çaplı MNP'ler hücre içinde daha kolay ve daha çok girebildikleri için antimikrobiyal özellikleri büyük çaplı MNP'lere oranla daha fazladır [185]. MNP'lerin yüzey yükü de antimikrobiyal etki için önemli parametrelerden birisidir. Bakterilerin negatif yüklü yüzeylerine daha kolay bağlanabildikleri için yüzey yükü pozitif olan MNP'lerin antimikrobiyal etkileri daha fazladır [186]. MNP şekillerinin antimikrobiyal aktiviteye olan etkisinin nedenleri tam olarak aydınlatılmamış olsa da bunların antimikrobiyal aktiviteyi etkilediği bilinmektedir. Pal vd. [180]

yaptıkları çalışmada kesik üçgen şeklindeki NP'lerin 1 mikrogramının bile %100' e yakın inhibisyon gösterirken, küresel şekilli NP'lerin %100 inhibisyon için 50 – 100 mikrograma ihtiyaç olduğunu raporlamışlardır. Aynı çalışmada çubuk şeklindeki NP'lerin daha az antimikrobiyal etki gösterdiği de belirtilmiştir.

MNP'lerin yüksek antimikrobiyal etki göstermesi antibiyotik ilaçlara dirençli mikroorganizmalara karşı oldukça büyük potansiyelli malzemeler olarak düşünülse de MNP'lerin sitotoksik ve yan etkilerinin tam olarak belirlenememesi bazı güvenlik endişelerini beraberinde getirmektedir [178]. Literatürde bununla alakalı yapılmış çalışmalar incelendiğinde bazı MNP türlerinin sinir, solunum ve dolaşım sistemlerine hasar verdiği ve bunların dışında bazı yan etkiler gösterdiği görülmektedir [187]. MNP'ler vücuda solunum, gastrointestinal sistem veya deri gibi yollarla girebilir ve dolaşım sistemi yoluyla karaciğer, akciğer gibi çeşitli organlarda birikip bu organları olumsuz etkileyebilirler [188]. Örneğin AgNP'ler karaciğerde biriktiğinde hepatosit hücrelerinin kanamalarına ve nekrozuna neden olan endotel hücrelerini etkilediği raporlanmıştır [189]. Benzer şekilde titanyum oksit NP'ler, çinko oksit NP'ler, altın NP'ler ve CuONP'lerin vücuttaki mitokondri, endoplazmik retikulum gibi çeşitli organelleri, duyu organlarını, DNA ve RNA yapılarını etkilediği birçok çalışmada belirtilmiştir [188].

5.1.1 NP'lerin Antibakteriyal Etkileriyle İlgili Literatür Taraması

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde yeşil sentezle üretilen MNP'lerin antibakteriyal etkilerinin belirlendiği birçok çalışma mevcuttur. Bu tez çalışmasının bu kısmında algal biyokütlelerden elde edilmiş çeşitli MNP'lerin antibakteriyal etkileriyle alakalı litaratürdeki çalışmalar özetlenmiştir.

Bensy vd. [96] UL makroalginin sulu ekstraktından 30 – 40 nm çapında, küresel FeONP sentezlemişler ve bunların *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *P. vulgaris* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyal etkinliklerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre en yüksek inhibisyon bölgesi *E. coli* bakteriside oluşmuşken (29 mm); en düşük inhibisyon bölgesi *S. aureus* bakterisine karşı oluşmuştur (17 mm). FeONP'ler *S. typhimurium, P. vulgaris* ve *B. cereus* bakterilerine karşı sırasıyla 26 mm, 22 mm ve 21 mm inhibisyon bölgesi oluşturmuşlardır.

Arya vd. [104] yaptıkları çalışmada BB mikroalginin sulu ekstraktından sentezledikleri 40 – 100 nm çapı arasındaki AgNP'ler ve 10 – 70 nm çapı arasındaki CuONP'lerin *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 441), *Escherichia coli* (MTCC 442), *Klebsiella pneumoniae* (MTCC 109) ve *Staphylococcus aureus* (MTCC 96) bakterilerine ve *Fusarium oxysporum* (MTCC 2087) fungusuna karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre CuONP'lerin bu mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon çapı 12 ile 22 mm arasında belirlenmişken; AgNP'lerin bu mikroorganizmalara karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapı 16 ile 22 mm arasında değişmiştir.

Venkatesan vd. [190] yaptıkları çalışmada *Ecklonia cava* algi kullanarak ortalama 43 nm çapında sentezledikleri AgNP'lerin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyal etkilerini incelemişlerdir. Petrilerde oluşan inhibisyon bölgelerinin çaplarını karşılaştırdıklarında en duyarlı bakterinin *E. coli* olduğu ve 40 mg AgNP eklenen petride 12 mm'lik inhibisyon bölgesinin olduğu görmüşlerdir.

Amin [191] yaptığı çalışmada UL makroalginin sulu ekstraktından yeşil sentezle elde ettiği AgNP'lerin küresel şekilli olduklarını ve çaplarının 3.89 nm ile 55 nm arasında değiştiğini bildirmiştir. Bu AgNP'lerin antimikrobiyal etkilerini de inceledikleri bu çalışmada sentezledikleri NP'lerin *Bacillus subtilus, Escherichia coli, Klebsiella sp., Pseudomonas aeuroginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Neisseria gonorrhoeae, Alternaria alternate, Aspergillus fugigatus, Candida ablicans, Fusarium oxysporum ve Penicillium sp*. türü bakteri, mantar ve mayalara karşı sırasıyla 30, 26, 17, 27, 25, 13, 11, 0.5, 1, 0.5, 1 ve 1 mm çaplarında inhibisyon bölgesi oluşturdukları raporlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre AgNP'lerin bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etki gösterdikleri görülmüşken; fungus ve mayalara karşı düşük antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir.

Torabfam ve Yüce [192] yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* mikroalginin sulu ekstraktlarından 1 ile 50 nm arasında AgNP sentezlemişler ve bunların *S. typhimurium* ve *S. aureus* bakterilerine karşı yüksek oranda antibakteriyal etki gösterdiğini raporlamışlardır.

Literatürde bulunan alglerden sentezlenen MNP'lerin antibakteriyal aktiviteleriyle alakalı bazı çalışmalar Tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Tablo 5. 1 MNP'lerin antibakteriyal aktiviteleriyle alakalı literatürdeki bazı çalışmalar

Alg türü	Ekstrakt	MNP türü	MNP çapı	Bakteri türü ve inhibisyon çapı	Kaynak
Ecklonia cava	Sulu	AgNP	43 nm	*E. coli:* 10 – 12 mm *S. aureus*: 8 - 10	[190]
Bifurcaria bifurcata	Sulu	CuONP	5 – 45 nm	*E. aerogenes:* 14 mm *S. aureus:* 16 mm	[193]
Acanthophora specifera	Alkolik	AgNP	33 – 81 nm	*S. aureus*: 18.75 mm *B. subtillis*: 19.5 mm *Salmonella sp*: 19.5 mm *E. coli*: 23.5 mm	[194]
Colpomenia sinuosa	Sulu	FeONP	11.24 – 33.71 nm	*E. coli: 7 mm* *P. aeruginosa:9 mm* *S. typhi:* 11 mm *V. cholera: 15 mm* *S. aureus*: 8 mm *B. subtillis*: 7 mm	[195]
Pterocladia capillacea	Sulu	FeONP	16.85 – 22.47 nm	*E. coli: 6 mm* *P. aeruginosa: 5 mm* *S. typhi:* 5 mm *V. cholera: 9 mm* *S. aureus*: 5 mm *B. subtillis*: 3 mm	[195]
Enteromorpha flexuosa	Sulu	AgNP	15 nm	*S. subtulis: 18 mm* *B. pumulis: 19 mm* *E. faecalis: 12 mm* *S. aureus: 14 mm* *S. epidermidis: 20 mm*	[196]
Sargassum polycystum	Sulu	CuONP	-	*E. coli: 13 mm* *K. pneumonia: 10 mm* *P. aeruginosa: -* *S. dysenteriae:* 4 mm *E. coli:* 5 mm *P. aeruginosa:12 mm* *S. typhimurium: 5 mm*	[197]
Ulva lactuca	Sulu	ZnONP	12 – 17 nm	*V. cholera: 8 mm* *E. coli: 5.3 mm* *S. typhi: 4.3 mm* *P. vulgaris: 5 mm* *S. aureus:3.7 mm*	[198]
Stoechospermum marginatum	Sulu	ZnONP	6 – 11 nm	*E. coli: 6.3 mm* *S. typhi: 5.7 mm* *P. vulgaris: 8 mm* *S. aureus: 5.7 mm*	[198]

5.2 Deneysel Yöntem

5.2.1 Mikroorganizmaların yetiştirilmesi

Optimum koşullardan sentezlenmiş ve karakterize edilmiş MNP'lerin antibakteriyal aktivitelerinin belirlenmesi için *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 türü gram pozitif bakteriler ve *Escherichia coli* CECT 4972 ve *Salmonella typhi* ATCC 14028 türü gram negatif bakteriler kullanılmıştır. Bakteri kültürleri bir öze yardımıyla Nutrient Broth içerisine ekilip 37 °C sıcaklıkta 24 saat boyunca etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında bakterilerin büyüdüğü gözle anlaşılabilmiştir. Bu bakteri kültürlerinin hücre sayıları 0.5 McFarland bulanıklığına göre nutrient broth kullanılarak seyreltilmiştir. 0.5 McFarland bulanıklığı yaklaşık 1.5 x 10^8 bakteri koloni oluşum birimini ifade etmektedir. 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonlarından petrilere 100'er µL eklenip tek kullanımlık steril polistiren hücre yayıcılarla yayılmıştır.

5.2.2 Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde MNP'lerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi için 6 mm çapında steril kağıt diskler kullanılmıştır. Üretilen MNP'lerden 30 µL alınarak steril kağıt disklere emdirilmiştir. MNP emdirilmiş diskler, bakteri ekimi yapılmış nutrient agarlı petrilere yerleştirildikten sonra petriler 37 °C sıcaklıkta 24 saat etüve inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda kağıt diskler etrafında oluşan inhibisyon bölgelerinin çapları ölçülerek antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. Her analiz üç tekrarlı gerçekleştirilmiş olup, bütün antibakteriyal analizler Mikrotest MGK 90 A2 sınıf biyogüvenlik kabinlerinde gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyal analizin sonuçları, üç tekrarın ortalaması alınarak standart sapma hesabıyla verilmiştir.

5.3 Sonuçlar ve Tartışma

5.3.1 UL-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri

Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen UL-MNP'lerin, UL makroalgi sulu ekstraktının, metal tuzlarının ve negatif kontrol olarak kullanılan distile suyun farklı gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı disk difüzyon metoduyla belirlenen antibakteriyal etkisi sonuçları Tablo 5.2'de özetlenmiştir. Bu tabloya göre

negatif kontrol olarak kullanılan distile suyun herhangi bir antibakteriyal etkisinin olmadığı ve bu durumun literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği görülmüştür [113], [199]. UL makroalginin sulu ekstraktının oluşturduğu inhibisyon çapları incelendiğinde ise UL-MNP'lere ve metal tuzlarına oranla oldukça düşük antibakteriyal etki gösterdiği anlaşılmıştır. UL sulu ekstraktı en çok antibakteriyal etkiyi *E. coli* bakterisine karşı göstermişken (oluşan inhibisyon bölgesinin çapı 5.67 ± 1.15 mm); en düşük antibakteriyal etkiyi *S. aureus* bakterisine karşı göstermiştir (oluşan inhibisyon bölgesi çapı 0.83 ± 0.76 mm). *B. cereus* ve *L. monocytogenes* türü bakteriler karşı herhangi bir inhibisyon bölgesi oluşmamıştır. Anjali vd. [200] yaptıkları çalışmada UL'nin sulu ekstraktının *E. coli*, *S. typhi* ve *S. aereus* bakterilerine karşı sırasıyla 8 mm, 2 mm ve 1 mm çaplı inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu raporlamışken; Tan vd. [201] UL makroalgi sulu ekstaktının *E. coli* ve *S. aereus* patojenik bakterilerine karşı herhangi bir inhibisyon bölgesi oluşturmadığını raporlamışlardır.

Metal tuzu solüsyonlarının oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları incelendiğinde metal tuzlarının her bakteri türü için farklı antibakteriyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. $AgNO_3$ çözeltisi en büyük inhibisyon bölgesini *S. typhi* bakterisine karşı oluşturmuşken; en küçük inhibisyon bölgesini *L. monogytogenes* bakterisine karşı oluşturmuştur. $AgNO_3$ çözeltisinin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 14.00 ± 2.00 mm ile 17.50 ± 1.32 mm arasında değişmektedir. $FeSO_4.7H_2O$ çözeltisinin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları ise 9.25 ± 1.77 mm ile 14.25 ± 1.06 mm arasında değişmektedir. $FeSO_4.7H_2O$ çözeltisi en yüksek antibakteriyal etkinliği *L. monocytogenes*'e karşı göstermişken; en düşük etkinliği S. *typhi*'ye karşı göstermiştir. $CuSO_4.5H_2O$ çözeltisinin antibakteriyal analiz sonuçları incelendiğinde metal tuzları arasında en çok antibakteriyal özellik gösteren metal tuzunun $CuSO_4.5H_2O$ olduğu görülmüştür. $CuSO_4.5H_2O$ çözeltisinin oluşturduğu inhibisyon bölgeleri en büyükten en küçüğe doğru sıralandığında sıralamanın *S. aureus* (25.5 ± 0.71 mm), *L. monocytogenes* (21.25 ± 1.77 mm), *B. cereus* (17.25 ± 0.35 mm), *E. coli* (15.5 ± 2.12 mm) *ve S. typhi (*11.5 mm) olduğu görülmektedir. Metal tuzları ile MNP'lerin antibakteriyal etkileri karşılaştırıldığında genellikle metal tuzlarının daha fazla antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. Bu durumun sebebi olarak metal iyonlarının metal tuzu çözeltilerinde MNP'lere oranla daha fazla olması

gösterilebilir. Bakterilerin inhibisyonunu sağlayan mekanizmalardan birisi metal iyonlarının bakterideki hücre duvarı, hücre zarı ve sitoplazmadaki önemli organellere girerek burada oksidatif stres oluşturması, buna bağlı olarak oluşan ROS'ların hücredeki önemli yapıları bozarak bakteri hücresinin inhibe olmasını sağlanmasıdır. Metal tuzu solüsyonunda bulunan iyonların sayısı MNP yüzeyinden salınan iyonlara oranla oldukça fazla olduğundan metal tuzları daha fazla antibakteriyal etki göstermiştir [202], [203]. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. Örneğin Salman [204] yaptığı çalışmada 100 µg/mL konsantrasyondaki $AgNO_3$ çözeltisinin *S. aereus*, *E. coli* ve *S. typhi* bakterilerine karşı sırasıyla 11 mm, 7 mm ve 8 mm çaplı inhibisyon bölgesi oluşturduğunu raporlamışlardır. Arifin vd. [202] ise 0.5 mM $AgNO_3$ çözeltisinin *E. coli ve B. subtilis* bakterilerine karşı sırasıyla 11 mm ve 12 mm çaplı inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu bildirmişlerdir.

UL-MNP'lerin oluşturdukları bakteri inhibisyon bölgelerinin çapları incelendiğinde *S. aureus* bakterisi hariç diğer tüm bakterilerde en büyük inhibisyon çapını UL-AgNP'lerin oluşturduğu görülmektedir. Bu durumun sebebi olarak UL-AgNP'lerin ortalama NP boyutunun diğer UL-MNP türlerine oranla daha düşük olması gösterilebilir. UL-FeONP ile UL-CuONP'lerin gösterdiği antibakteriyal etki benzer olması da ortalama NP çaplarının yakın olmasıyla ilişkilendirilebilir. NP'lerin boyutları küçüldüğünde hücre içine daha kolay penetre olarak daha fazla birikebilir. Bu sayede daha fazla antibakteriyal özellik gösterir [185]. UL-AgNP'lerin oluşturdukları inhibisyon çapları 10.33 ± 2.08 mm ile 15.00 ± 1.00 mm arasında değişmekteyken; UL-FeONP'lerinkiler 9.00 ± 0.71 mm ile 12.25 ± 0.35 mm arasında, UL-CuONP'lerinkiler 10.00 ± 0.71 mm ile 11.00 ± 0.71 mm arasında değişmektedir. Yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde bu çalışmada elde edilen değerlerin literatürdeki aralıkların içerisinde olduğu görülmüştür. Venkatesan vd. [190] yeşil sentezle elde edilmiş AgNP'lerin *E. coli*'ye karşı 10 – 12 mm arasında, *S. aereus*'a karşı 8 – 10 mm arasında inhibisyon bölgesi oluşturduğunu raporlamışlardır. Abboud vd. [193] CuONP'lerin *E. aerogenes* ve *S. aureus*'a karşı sırasıyla 14 mm ve 16 mm çaplı inhibisyon bölgesi oluşturduğunu raporlamışken; Salem vd. [195] FeONP'lerin *E. coli*, *S. typhi* ve *S. aureus* bakterilerine karşı 5 mm ile 11 mm arasında inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu bildirmişlerdir. UL-AgNP'lerin en yüksek ve en

düşük antibakteriyal etkinlik gösterdiği bakteriler sırasıyla *S. typhi* ve *S. aereus* bakterileriyken; UL-FeONP'ler için bu bakteriler sırasıyla *S. typhi* ve *B. cereus,* UL-CuONP için ise bu bakteriler *E. coli* ve *S. typhi* bakterileridir. Bu sonuçlara göre UL-MNP'lerin gram negatif bakterileri gram pozitif bakterilere göre daha fazla olumsuz etkilediği görülmüştür. Bunun nedeni gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarının daha kalın bir peptidoglikan tabakasına sahip olması ve buna bağlı olarak nanoparçacıkların hücre içine nüfuz etmesinin zorlaşmasıdır [205]. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki peptidoglikan tabakası daha ince olduğu için nanopartiküllerin bu mikroorganizmaları etkilemesi daha kolaydır [206]. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde benzer sonuçların elde edildiği anlaşılmaktadır. Örneğin, Anandalakshmi vd. [207] *Pedalium murex* yaprak ekstraktından sentezlenen AgNP'lerin 7 farklı gram pozitif ve gram negatif bakteri türüne karşı antibakteriyal etkilerini araştırmışlar ve en yüksek antibakteriyal etkinin gram negatif bakteri *E. coli*'ye karşı olduğunu bildirmişlerdir. Dhand vd. [206] yeşil sentezle üretilen AgNP'lerin gram negatif *E. coli*'ye karşı antibakteriyal etkilerinin gram pozitif *S. aureus* bakterilerinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 5. 2 UL-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm)

	E. coli	***S. typhi***	***L. monocytogenes***	***S. aureus***	***B. cereus***
Distile su	-	-	-	-	-
Ekstrakt	5.67 ± 1.15	3.33 ± 0.58	-	0.83 ± 0.76	-
$AgNO_3$	16.33 ± 0.76	17.50 ± 1.32	14.00 ± 2.00	14.33 ± 1.15	15.33 ± 1.53
$FeSO_4.7H_2O$	11.50 ± 0.71	9.25 ± 1.77	14.25 ± 1.06	13.75 ± 0.35	12.50 ± 0.71
$CuSO_4.5H_2O$	15.5 ± 2.12	11.5 ± 0.00	21.25 ± 1.77	25.5 ± 0.71	17.25 ± 0.35
UL-AgNP	13.67 ± 1.53	15.00 ± 1.00	11.67 ± 2.08	10.33 ± 2.08	11.83 ± 0.29
UL-FeONP	11.75 ± 1.06	12.25 ± 0.35	10.00 ± 2.83	9.75 ± 0.35	9.00 ± 0.71
UL-CuONP	11.00 ± 0.71	10.00 ± 0.71	10.75 ± 0.35	11.00 ± 0.00	10.00 ± 1.41

5.3.2 HS-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri

Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen HS-MNP'lerin, HS makroalgi sulu ekstraktının, metal tuzlarının ve negatif kontrol olarak kullanılan distile suyun farklı gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı disk difüzyon metoduyla belirlenen antibakteriyal etkisi sonuçları Tablo 5.3'te özetlenmiştir. Bu tabloya göre HS makroalgi sulu ekstraktının sadece *E. coli* ve *S. typhi* bakterilerine karşı inhibisyon bölgesi oluşturdukları görülmüştür. Oluşan bu inhibisyon bölgelerinin çapları sırasıyla 3.67 ± 0.58 mm ve 7.67 ± 1.15 mm olarak ölçülmüştür. HS sulu ekstraktının *B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes* türü bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyal etkisi görülmemiştir. Oluşan bu inhibisyon bölgeleri metal tuzları ve HS-MNP'lerin oluşturdukları inhibisyon bölgelerine oranla oldukça düşüktür. Bu çalışmada kullanılan diğer bir makroalg UL'nin sulu ekstraktı ile karşılaştırıldığında HS ekstraktı ile UL ekstraktlarının *E. coli* ve *S. typhi* türü patojenik bakterilere karşı benzer boyutlarda inhibisyon bölgeleri oluşturduğu görülmektedir. Makroalg ekstraktlarının düşük antibakteriyal etki göstermesine sebep olarak ekstrakt içerisinde antimikrobiyal etkili bileşenlerin azlığı gösterilebilir. Makroalg ekstraksiyonunda kullanılan çözücü, ektraksiyon koşulları ve makroalg kütlesi – çözücü oranları değiştirilerek ekstraktlardaki bileşen sayısı ve türü arttırılabilir. Bu sayede makroalg ekstraktlarının antibakteriyal etkinlikleri artabilir. HS ekstraktlarının ya da HS makroalgiyle akraba türlerin antibakteriyal aktiviteleriyle alakalı literatürde bulunan çalışmalar incelendiğinde birkaç çalışma göze çarpmaktadır. Örneğin Taşkın vd. [208], yaptıkları çalışmada *Halopteris filicina* türü makroalgin metanolik ekstraktının 6 farklı gram pozitif ve negatif bakteri arasından sadece *S. aureus* türüne karşı antibakteriyal etki gösterdiğini ve oluşan inhibisyon çapının 11 mm olarak ölçüldüğünü raporlamışlardır. Heo vd. [209] ise HS makroalginin hidrotermal ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktının antibakteriyal etkisini incelemişler ve bu ekstraktların *S. aureus, E. coli, B. subtilis* ve *P. acnes* türü bakterilere karşı sırasıyla 9.20 mm, 11 mm, 12.90 mm ve 12.30 mm çaplarında inhibisyon bölgeleri oluşturduğunu belirtmişlerdir. Oumaskour vd. [210] yaptıkları çalışmada 27 farklı alg türünün çeşitli solventlerle hazırlanmış ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliklerini incemişler ve sulu ekstrakların hemen hemen hiçbir bakterini türüne karşı antibakteriyal etki göstermediğini (sadece

Spatoglossum schroedrii türü kahverengi algin ekstraktı *S. aureus*'a karşı antibakteriyal etki göstermiştir) raporlamışlardır.

HS-MNP'lerin antibakteriyal aktivite sonuçları incelendiğinde HS-AgNP'lerin özellikle gram negatif bakterilere karşı diğer HS-MNP'lere oranla daha büyük inhibisyon bölgesi oluşturduğu görülmektedir. HS-AgNP'ler gram negatif bakteriler *E. coli* ve *S. typhi'*ye karşı yaklaşık 15 mm inhibisyon bölgesi oluşturmuşken; gram pozitif bakteriler *B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes'* ye karşı yaklaşık 10 mm çaplarında inhibisyon bölgeleri oluşturmuştur. HS-AgNP'ler ile UL-AgNP'lerin bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgeleri karşılaştırıldığında ise aralarında önemli bir farkın olmadığı görülmektedir. HS-FeONP'lerin inhibisyon bölgeleri incelendiğinde ise inhibisyon çaplarının 9 mm ile 11.75 mm arasında değiştiği görülmektedir. HS-FeONP'ye karşı en duyarlı bakteri *S. typhi* türü gram negatif bakteri iken; en dirençli bakteri *B. cereus* türü gram pozitif bakteridir. HS-FeONP, *E. coli, S. aureus* ve *L. monocytogenes* bakterilerine karşı ise sırasıyla 9.75 ± 0.35 mm, 9.25 ± 1.06 mm ve 10.50 ± 0.71 mm inhibisyon bölgesi oluşturmuştur. Bu sonuçlar UL-FeONP'nin antibakteriyal inhibisyon bölge çapları ve literatürdeki diğer FeONP'lerin antibakteriyal etkinlikleriyle benzerlik göstermektedir. HS-CuONP'lerin *E. coli*, *S. typhi, B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes* türü patojenik bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları ise sırasıyla 9.75 ± 0.35 mm, 8.75 ± 0.71 mm, 10.00 mm, 10.25 ±1.77 mm ve 9.25 ± 1.06 mm olarak ölçülmüştür. Bu değerler de literatürde bulunan CuONP'lerin antibakteriyal etkinlik sonuçlarıyla tutarlılık göstermektedir [197], [211].

Tablo 5. 3 HS-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm)

	E. coli	*S. typhi*	*L. monocytogenes*	*S. aureus*	*B. cereus*
Distile su	-	-	-	-	-
HS-Ekstrakt	3.67 ± 0.58	7.67 ± 1.15	-	-	-
$AgNO_3$	16.33 ± 0.76	17.50 ± 1.32	14.00 ± 2.00	14.33 ± 1.15	15.33 ± 1.53
$FeSO_4.7H_2O$	11.50 ± 0.71	9.25 ± 1.77	14.25 ± 1.06	13.75 ± 0.35	12.50 ± 0.71
$CuSO_4.5H_2O$	15.5 ± 2.12	11.5 ± 0.00	21.25 ± 1.77	25.5 ± 0.71	17.25 ± 0.35
HS-AgNP	14.67 ± 0.58	14.67 ± 3.05	10.33 ± 0.58	10.67 ± 0.58	10.00 ± 1.73
HS-FeONP	9.75 ± 0.35	11.75 ± 1.06	10.50 ± 0.71	9.25 ± 1.06	9.00 ± 1.41
HS-CuONP	9.75 ± 0.35	8.75 ± 0.71	10.00 ± 0.00	10.25 ±1.77	9.25 ± 1.06

5.3.3 CV-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri

Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen CV-MNP'lerin, CV mikroalgi sulu ekstraktının, metal tuzlarının ve negatif kontrol olarak kullanılan distile suyun farklı gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı disk difüzyon metoduyla belirlenen antibakteriyal etkisi sonuçları Tablo 5.4'de özetlenmiştir. Bu tabloya göre makroalgal ekstraktlardan farklı olarak CV mikroalgi sulu ekstraktının bütün bakterilere karşı antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. Bu durumun sebebi olarak CV mikroalginin kutup koşullarına adapte olabilmiş bir tür olması nedeniyle antimikrobiyal komponent bakımından zengin olması [212] ve mikroalglerin hücre yapısının makroalglerinkine oranla daha zayıf olması nedeniyle ekstraksiyon veriminin daha yüksek olması gösterilebilir [213]. CV ekstraktı, en çok antibakteriyal etki gösterdiği *L. monocytogenes*'e karşı 11.25 ± 5.30 mm çapında inhibisyon bölgesi oluşturmuşken; en düşük antibakteriyal etki gösterdiği *S. aureus*'a karşı 9.50 ± 1.41 mm çapında inhibisyon çapı oluşturmuştur. CV ekstraktı diğer patojenik bakterilere karşı yaklaşık 9.75 mm ile 10.75 mm arasındaki büyüklüklerde inhibisyon bölgeleri oluşturmuştur. Literatürdeki CV mikroalgine yakın türlerin antimikrobiyal aktiviteleriyle alakalı çalışmalar incelendiğinde, çeşitli solventler ve yöntemler kullanılarak elde edilen mikroalgal ekstraktların patojenik

ve/veya antibiyotik dirençli bakterilere karşı 1 mm'den 25 mm'ye kadar geniş bir aralıkta inhibisyon bölgelerini oluşturduğu görülmüştür [214]–[216].

CV-MNP'lerin antibakteriyal inhibisyon bölgelerinin çapları incelendiğinde ise beklenildiği gibi metal tuzlarından daha küçük çaplı bölgelerin oluştuğu görülmektedir. Makroalgal ekstraktlardan sentezlenen MNP'lerin antibakteriyal etki sonuçlarında da olduğu gibi CV-MNP'ler arasında CV-AgNP'lerin diğer MNP'lere oranla daha fazla antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. CV-AgNP'lerin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 10.25 mm ile 13.25 mm arasında değişmişken; CV-FeONP'lerin oluşturduğu bölgelerin çapları 8.50 mm ile 12.25 mm arasında ve CV-CuONP'lerin oluşturduğu bölgelerin çapları 7.50 mm ile 10.50 mm arasında değişmiştir. CV-AgNP'lere karşı en duyarlı bakteriden en dirençli bakteriye doğru sıralama *S. aureus, E. coli, L. monocytogenes, S. typhi* ve *B. cereus* şeklindedir. CV-FeONP'lere karşı olan bu sırama *S. typhi, E. coli, L. monocytogenes, B. cereus* ve *S. aureus* şeklindeyken; CV-CuONP'lere karşı olan sıralama *L. monocytogenes* ve *S. aureus, E. coli, B. cereus* ve *S. typhi* şeklindedir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde CV mikroalgi ekstraktından herhangi bir MNP üretimiyle alakalı çalışma bulunmazken; akraba türlerinin MNP üretiminde kullanımı ve bunların antibakteriyal etkilerinin incelenmesiyle alakalı birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Soleimani ve Habibi-Pirkoohi [217] *Chlorella vulgaris* mikroalginden ürettikleri AgNP'lerin *S. aureus* bakterisinin büyümesine karşı inhibitor etki gösterdiğini raporlamıştır. Annamalai ve Nallamuthu [115] ise *C. vulgaris* mikroalginin sulu ekstraktından altın NP sentezlemişler ve bunların *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* türü toksik insan patojenlerine karşı yaklaşık 7 mm ile 17 mm arasında inhibisyon bölgesi oluşturduklarını bildirmişlerdir. Kumar ve Bharadvaja [116] ise *Chlorella sorokiniana* mikroalginin sulu ekstraktını kullanarak ortalama 79 nm çapında AgNP sentezlemişler ve bunların *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 20 ± 1 mm ve 15 ± 1 mm çaplı inhibisyon bölgeleri oluşturduklarını belirlemişlerdir.

Tablo 5. 4 CV-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm)

	E. coli	*S. typhi*	*L. monocytogenes*	*S. aureus*	*B. cereus*
Distile su	-	-	-	-	-
CV-Ekstrakt	9.75 ± 1.77	10.75 ± 1.06	11.25 ± 5.30	9.50 ± 1.41	10.00 ± 2.12
$AgNO_3$	16.33 ± 0.76	17.50 ± 1.32	14.00 ± 2.00	14.33 ± 1.15	15.33 ± 1.53
$FeSO_4.7H_2O$	11.50 ± 0.71	9.25 ± 1.77	14.25 ± 1.06	13.75 ± 0.35	12.50 ± 0.71
$CuSO_4.5H_2O$	15.5 ± 2.12	11.5 ± 0.00	21.25 ± 1.77	25.5 ± 0.71	17.25 ± 0.35
CV-AgNP	11.25 ± 1.77	10.5 ± 1.41	10.75 ± 1.06	13.25 ±2.47	10.25 ± 1.06
CV-FeONP	10.25 ± 0.35	12.25 ± 1.06	9.75 ± 1.06	8.50 ± 0.71	8.75 ± 0.35
CV-CuONP	9.25 ± 0.35	7.5 ± 0.71	10.50 ± 0.71	10.50 ± 0.71	8.75 ± 2.47

5.3.4 BB-MNP'lerin Antibakteriyal Aktiviteleri

Optimum koşullarda yeşil sentezle üretilen BB-MNP'lerin, BB mikroalgi sulu ekstraktının, metal tuzlarının ve negatif kontrol olarak kullanılan distile suyun farklı gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı disk difüzyon metoduyla belirlenen antibakteriyal etkisi sonuçları Tablo 5.5'te özetlenmiştir. Bu tablodaki sonuçlara göre BB mikroalginin sulu ekstraktı, CV mikroalginin ekstraktında da olduğu gibi her bakteri türüne de antibakteriyal etki göstermiştir. Yine CV ekstraktında da olduğu gibi BB ekstraktının makroalgal ekstraktlara oranla daha fazla antibakteriyal etki göstermiştir. Bu durumun sebebi olarak BB mikroalginde suda çözünebilen antibakteriyal etkili biyomoleküllerin makroalglere oranla daha fazla olması gösterilebilir. Bu mikroalg ekstraktının etkilediği bakteriler en çoktan en aza doğru *E. coli, S. typhi, B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes* şeklinde sıralandığı ve bunlarda oluşan inhibisyon bölgelerinin sırasıyla 10.50 ± 1.41 mm, 9.75 ± 0.35 mm, 9.00 ± 2.12 mm, 8.75 ± 0.35 mm ve 8.5 ± 2.12 mm olarak olduğu görülmüştür. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde BB mikroalginin farklı solventler kullanılarak elde edilen ekstraktlarının yüksek antibakteriyal etki gösterdiği raporlanmıştır. Örneğin Rao vd. [218] yaptıkları çalışmada BB mikroalgini hekzan, methanol, aseton, kloroform ve etilasetat ile ekstrakte etmişler ve bunların 13 farklı bakteri türüne karşı olan antibakteriyal etkilerini

incelemişlerdir. En fazla bakteri türüne etki eden ekstraktın etil asetat ekstraktı olduğu (10 bakteri türüne) ve en az bakteri türüne etki eden ekstraktın ise hekzan ekstraktı (4 bakteri türüne) olduğu raporlanmıştır. Antibakteriyal etki gösteren ekstraktlarda oluşan inhibisyon bölgelerinin 10 mm ile 15 mm arasındaki çaplarda olduğu yazarlar tarafından belirtilmiştir.

BB-MNP'lerin oluşturduğu inhibisyon bölgeleri incelendiğinde, bu çalışmada kullanılan diğer alg türlerinden sentezlenen MNP'lerde de olduğu gibi en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olan BB-MNP çeşitinin BB-AgNP olduğu görülmüştür. BB-AgNP'nin bu patojenik bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon bölgelerin çapları 13.63 ± 0.68 mm ile 17.47 ± 0.67 mm arasında ölçülmüştür. BB-AgNP'ye en duyarlı bakterinin gram-negatif *E. coli* olduğu görülmüşken; en dirençli bakterinin gram-pozitif *L. monocytogenes* olduğu görülmüştür. BB-FeONP'nin antibakteriyel aktivite sonuçları incelendiğinde en yüksek aktiviteyi *E. coli*'ye karşı, en düşük aktiviteyi ise *B. cereus*'a karşı gösterdiği görülmüştür. BB-FeONP tarafından oluşturulan inhibisyon bölgelerinin çapları 8.47 ± 0.81 mm ile 13.36 ± 0.45 mm arasında değişmektedir. Bu nanopartiküller arasında en yüksek nanopartikül boyutuna sahip olan BB-CuONP, en düşük antibakteriyal etkiyi göstermiştir. Optimum koşullarda üretilen BB-CuONP'ler bu patojenik bakterilere karşı 5.08 ± 1.01 mm ile 10.75 ± 0.75 mm arasında bir inhibisyon bölgesi oluşturmuştur. BB-CuONP'ye karşı en duyarlı bakteri türü diğer BB-MNP'lerde olduğu gibi *E. coli* bakterisi olmuşken; en dirençli bakterinin gram-pozitif *S. aureus* bakterisi olmuştur. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde BB mikroalgi kullanılarak yapılan MNP senteziyle alakalı çalışmalar incelendiğinde oldukça az sayıda ve belirli çalışma gruplarının gerçekleştirdiği bilimsel yayınlar gözlemlenmiştir. Arevalo-Gallegos vd. [119] yaptıkları çalışmada BB mikroalgi kullanarak hücre dışı yeşil sentez yöntemiyle sentezledikleri AgNP'lerin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* türü mikroorganizmalara karşı sırasıyla 9 – 12 mm arasında, 9 – 15 mm arasında, 9 – 11 mm arasında ve 8 – 9 mm arasında inhibisyon bölgeleri oluşturduklarını bildirmişlerdir. Arya vd. [104], BB ekstraktından CuONP ve AgNP elde edip bunların antimikrobiyal etkisini inceledikleri çalışmalarında, *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı AgNP'lerin

CuONP'lere oranda daha fazla antibakteriyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu bakterilere karşı AgNP tarafından oluşturulan inhibisyon bölgelerinin çapları 20 mm ile 22 mm arasında belirlenmişken; CuONP tarafından oluşturulan inhibisyon bölgelerinin çapları 17 mm ile 22 mm arasında belirlenmiştir. Arya vd. [118] yaptıkları başka bir çalışmada ise BB ekstraktından paladyum ve platinyum NP sentezlemişler ve bunların *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada elde ettikleri sonuçlara göre 400 µg/mL konsantrasyondaki paladyum NP'lerin oluşturdukları inhibisyon bölgelerin çapları 13 mm ile 16 mm arasında değişmişken; platinyum NP'lerin oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları 14 mm ile 16 mm arasında değişmiştir.

Tablo 5. 5 BB-MNP'lerin farklı patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları (mm)

	E. coli	***S. typhi***	***L. monocytogenes***	***S. aureus***	***B. cereus***
Distile su	-	-	-	-	-
Ekstrakt	10.50 ± 1.41	9.75 ± 0.35	8.5 ± 2.12	8.75 ± 0.35	9.00 ± 2.12
$AgNO_3$	16.33 ± 0.76	17.50 ± 1.32	14.00 ± 2.00	14.33 ± 1.15	15.33 ± 1.53
$FeSO_4.7H_2O$	11.50 ± 0.71	9.25 ± 1.77	14.25 ± 1.06	13.75 ± 0.35	12.50 ± 0.71
$CuSO_4.5H_2O$	15.5 ± 2.12	11.5 ± 0.00	21.25 ± 1.77	25.5 ± 0.71	17.25 ± 0.35
BB-AgNP	17.47 ± 0.67	16.03 ± 1.19	13.63 ± 0.68	13.7 ± 0.51	14.08 ± 0.63
BB-FeONP	13.36 ± 0.45	12.27 ± 0.32	9.3 ± 0.72	8.86 ± 0.60	8.47 ± 0.81
BB-CuONP	10.75 ± 0.75	9.17 ± 0.58	6.53 ± 0.65	5.08 ± 1.01	5.92 ± 0.88

6
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının amaçları farklı makro ve mikroalg türlerinin metalik nanopartikül üretiminde kullanım potansiyellerinin belirlenmesi, yeşil sentez reaksiyonunun optimizasyonu ve proses parametrelerinin nanopartikül boyutuna etkilerinin belirlenmesidir. Ayrıca üretilen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteleri de incelenerek bu malzemelerin doku mühendisliği uygulamalarında kullanım potansiyelinin belirlenmesi de amaçlanmıştır. Bu kapsamda *Ulva lactuca, Halopteris scoparia* makroalgleri ile *Chlorella variabilis, Botryococcus braunii* mikroalgleri yeşil sentezde kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu alg türleri toplandıktan/yetiştirildikten sonra karakterize edilip, sulu ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar yeşil sentezle gümüş, demir-oksit ve bakır-oksit nanopartikül üretiminde kullanılmış ve pH, sıcaklık ve metal tuzu – ekstrakt oranı parametrelerinin nanopartikül boyuna etkileri Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak istatistiksel olarak incelenmiştir. Daha sonra en küçük nanopartikül boyuna ulaşmak için optimize edilen proses koşullarında sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonları yapılmış ve bunların *E. coli, S. typhi, B. cereus, S. aureus ve L. monocytogenes* patojenik bakterilerine karşı antibakteriyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- Bu çalışmada kullanılan CV mikroalginin spesifik büyüme hızı 0.14 gün^{-1}, ikilenme süresi de 5.10 gün olarak hesaplanmıştır. Bu mikroalgin log fazı 1. ve 10. günler arasında gerçekleşmiştir. 10. günden sonra mikroalg durağan fazına geçmiştir. Elde edilen bu veriler literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.
- Bu çalışmada kullanılan BB mikroalginin spesifik büyüme hızı 0.12 gün^{-1} olarak, ikilenme süresi de 5.56 gün olarak hesaplanmıştır. Bu mikroalgin log fazı 3. ve 10. günler arasında gerçekleşmiştir. 10. günden sonra mikroalg

durağan fazına geçmiştir. Elde edilen bu veriler literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

- Bu çalışmada kullanılan UL, HS, CV ve BB türü makro ve mikroalglerin karbonhidrat içerikleri sırasıyla %40.17, %49.32, %26.17 ve %21.85 olarak belirlenmiştir. Bu verilere göre makroalglerin karbonhidrat içeriğinin mikroalglere oranla oldukça fazla olduğu anlaşılmıştır. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalarda verilen değerlere uygunluk göstermektedir.
- Bu çalışmada kullanılan UL, HS, CV ve BB türü makro ve mikroalglerin lipit içerikleri sırasıyla %1.88, %1.02, %32.84 ve %40.6 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre mikroalglerin lipit oranlar makroalglere oranla kat ve kat daha yüksektir. Bu değerler literatürde bulunan çalışmalardaki bulgulara benzerlik göstermektedir.
- Bu çalışmada kullanılan UL, HS, CV ve BB türü makro ve mikroalglerin protein içerikleri sırasıyla %22.54, %17.48 ,%26.36 ve %25.33 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre kullanılan bütün mikroalglerin protein içeriklerinin birbirine yakın olduğu ve bu sonuçların literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.
- Bu çalışmada kullanılan UL, HS, CV ve BB türü makro ve mikroalglerin toplam fenolik içerikleri sırasıyla 6.52 mg/g, 3.75 mg/g, 2.32 mg/g ve 1.91 mg/g olarak belirlenmiştir.
- Bu çalışmada kullanılan alglerin nem içerikleri %6.31 ile %10.85 arasında, uçucu madde içerikleri %55.93 ile %69.71 arasında, sabit karbon içerikleri %13.42 ile %24.91 arasında ve kül içerikleri %5.98 ile %11.87 arasında bulunmuştur. Bu sonuçlara göre makroalglerin nem ve kül içeriği mikroalglerinkilere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür.
- Bu çalışmada kullanılan UL, HS, CV ve BB türü makro ve mikroalglerin C, H, O ve N içerikleri sırasıyla %43.40 - %52.40 arasında, %4.98 - %5.67 arasında, %32.37 - %37.92 arasında ve %0.80 ile %1.11 arasında hesaplanmıştır.
- Bu çalışmada kullanılan makro ve mikroalglerin FTIR spektrumları incelendiğinde 4 tane pik bölgesinin tüm algler için ortak olduğu görülmektedir. Bu pik bölgelerinden 3300 – 3200 cm-1 arasındaki pikler alglerin nem, alkolik ve fenolik içeriğini, 3000 – 2800 cm-1 arasındaki pikler

alglerin lipit içeriğini, 1700 – 1400 cm-1 arasındaki pikler proteinler ve peptitleri ve 1200 – 900 cm-1 arasındaki pikler de alglerin karbonhidrat içeriğini ifade etmektedir.

- UL makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen AgNP'lerin çaplarının 40.19 ± 5.93 nm ile 82.54 ± 7.96 nm arasında olduğu görülmüştür. En büyük çaplı UL-AgNP'ler, 3 pH, %50 metal tuzu oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; en küçük UL-AgNP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 55 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir. Bu sonuçlara göre pH arttıkça AgNP boyutunun azaldığı, metal tuzu oranı arttıkça AgNP boyutunun arttığı görülmüştür. Çok yüksek ve çok düşük sıcaklıklarda ise AgNP boyutunun büyük olduğu anlaşılmıştır.
- UL makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen FeONP'lerin çaplarının 68.27 ± 2.54 nm ile 102.37 ± 7.6 nm arasında bulunmuştur. En büyük çaplı UL-FeONP'ler, 5 pH, %50 metal tuzu oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; en küçük UL-FeONP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 85 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir. Bu sonuçlara göre pH arttıkça FeONP boyutunun azaldığı, metal tuzu oranı arttıkça FeONP boyutunun arttığı görülmüştür.
- UL makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen CuONP'lerin çapları 55.51 ± 4.77 nm ile 95.21 ± 5.89 nm arasında hesaplanmıştır. En küçük boyutlu UL-CuONP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 70 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir.
- Yeşil sentez parametrelerinin UL-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemlerin korelasyon katsayısı değerleri her MNP türü için 0.98'den büyük olarak hesaplanmıştır. Ayrıca her MNP türü için hesaplanan ayarlı korelasyon katsayısı ve tahmini korelasyon katsayısı değerleri arasında 0.2'den daha az fark vardır. Yapılan ANOVA analizi sonucunda da her MNP türü için model denklemler anlamlı olarak bulunmuşken; uyum eksikliği değerleri anlamsız olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin UL'dan yeşil sentezle MNP'lerin üretimi için kullanılabileceğini göstermektedir.

- Yeşil sentez parametrelerinin UL-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda MNP çapını en çok etkileyen parametrenin pH olduğu, en az etkileyen parametrenin ise sıcaklık olduğu görülmüştür. pH ve sıcaklık parametreleri MNP çapını olumsuz olarak etkilerken, metal tuzu solüsyon oranı MNP çapını olumlu etkilemiştir.
- HS makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen AgNP'lerin çaplarının 34.88 ± 4.38 nm ile 69.19 ± 11.06 nm arasında olduğu görülmüştür. En büyük çaplı HS-AgNP'ler, 3 pH, %50 metal tuzu oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; en küçük HS-AgNP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 55 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir.
- HS makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen FeONP'lerin çaplarının 59.78 ± 4.21 nm ile 101.14 ± 12.51 nm arasında olduğu görülmüştür. En büyük çaplı HS-FeONP'ler, 3 pH, %50 metal tuzu oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; en küçük HS-FeONP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 55 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir.
- HS makroalgi kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen CuONP'lerin çaplarının 77.36 ± 2.36 nm ile 123.98 ± 10.82 nm arasında olduğu görülmüştür. En büyük çaplı HS-CuONP'ler, 3 pH, %50 metal tuzu oranı ve 25 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmişken; en küçük HS-CuONP'ler 11 pH, %10 metal tuzu solüsyonu oranı ve 55 °C sıcaklık parametrelerinde sentezlenmiştir.
- Yeşil sentez parametrelerinin HS-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemlerin korelasyon katsayısı değerleri her MNP türü için 0.96'dan büyük olarak hesaplanmıştır. Ayrıca HS-AgNP ve HS-CuONP için hesaplanan ayarlı korelasyon katsayısı ve tahmini korelasyon katsayısı değerleri arasında 0.2'den daha az fark vardır. HS-FeONP için bu fark yaklaşık 0.4 kadardır ve bu durum istatistiksel analizin sağlıklı yorumlanabilmesi için daha fazla veriye ihtiyaç duyulduğunu

göstermektedir. Yapılan ANOVA analizi sonucunda da her MNP türü için model denklemler anlamlı olarak bulunmuşken; uyum eksikliği değerleri anlamsız olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin HS'dan yeşil sentezle MNP'lerin üretimi için uygun bir istatistiksel yöntem olduğunu göstermektedir.

- Yeşil sentez parametrelerinin HS-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda MNP çapını en çok etkileyen parametrenin pH olduğu, en az etkileyen parametrenin ise sıcaklık olduğu görülmüştür. pH parametresi MNP çapını olumsuz olarak etkilerken, metal tuzu solüsyon oranı MNP çapını olumlu etkilemiştir. Sıcaklık ise HS-AgNP boyutuyla doğru orantılıyken; HS-FeONP ve HS-CuONP çaplarıyla ters orantılıdır.
- CV mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen AgNP'lerin ortalama çaplarının 63.07 ± 3.07 nm - 88.11 ± 4.53 nm arasında değiştiği görülmüştür.
- CV mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen FeONP'lerin ortalama çaplarının 66.33 ± 3.56 nm - 128.05 ± 6.56 nm arasında değiştiği görülmüştür.
- CV mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen CuONP'lerin ortalama çaplarının 44.76 ± 3.18 nm - 100.10 ± 8.41 nm arasında değiştiği görülmüştür.
- pH değerinin MNP çapına etkilerinin incelendiği deney setlerinde en düşük çaplı NP üretmek için gerekli pH değerleri CV-FeONP ve CV-CuONP için 11 olarak belirlenmişken; CV-AgNP için bu değer 9 olarak belirlenmiştir. Her MNP türü için metal tuzu solüsyon oranı arttıkça MNP çapının da arttığı gözlemlenirken; her MNP çeşiti için de en küçük çaplı NP'ler 70 °C sıcaklık değerinde elde edilmiştir.
- Yeşil sentez parametrelerinin CV-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemlerin korelasyon katsayısı değerleri her MNP türü için 0.97'den büyük olarak hesaplanmıştır. Ayrıca CV-AgNP ve CV-CuONP için hesaplanan ayarlı korelasyon katsayısı ve tahmini korelasyon katsayısı

değerleri arasında sırasıyla 0.22 ve 0.23 fark vardır. Bu durum bu tür MNP'ler için istatistiksel analizin sağlıklı yorumlanabilmesi için daha fazla veriye ve tekrara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. HS-FeONP için bu fark yaklaşık 0.1 kadardır ve bu durum istatistiksel analiz için istenilen bir durumdur. Yapılan ANOVA analizi sonucunda da her MNP türü için model denklemler anlamlı olarak bulunmuşken; uyum eksikliği değerleri anlamsız olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin CV'den yeşil sentezle MNP'lerin üretimi için uygun bir istatistiksel yöntem olduğunu göstermektedir.

- Yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen model denklemlerdeki katsayıları işaretlerine göre her üç CV-MNP türü için de pH ve sıcaklık parametreleri NP çapıyla ters orantılı; metal tuzu solüsyonu oranı parametresiyle doğru orantılı olduğu anlaşılmıştır. Yine her CV-MNP türü için NP çapını en çok etkileyen parametrenin katsayısı en büyük olduğu için pH olduğu görülmüştür.
- BB mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen AgNP'lerin ortalama çaplarının 43.46 ± 6.38 nm - 96.34 ± 6.73 nm arasında değiştiği görülmüştür. En küçük çapa sahip BB-AgNP'ler, 11 pH, %10 metal tuzu oranı ve 55 °C sıcaklık koşullarında sentezlenmiştir.
- BB mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen FeONP'lerin ortalama çaplarının 62.86 ± 10.08 nm – 128.05 ± 6.56 nm arasında değiştiği görülmüştür. En küçük çapa sahip BB-FeONP'ler, 11 pH, %10 metal tuzu oranı ve 70 °C sıcaklık koşullarında sentezlenmiştir.
- BB mikroalginin sulu ekstraktı kullanılarak farklı koşullarda sentezlenen CuONP'lerin ortalama çaplarının 70.78 ± 8.96 nm – 100.1 ± 8.41 nm arasında değiştiği görülmüştür. En küçük çapa sahip BB-CuONP'ler, 11 pH, %10 metal tuzu oranı ve 55 °C sıcaklık koşullarında sentezlenmiştir.
- Yeşil sentez parametrelerinin BB-MNP çaplarına olan etkisinin Box-Behnken deneysel tasarım yöntemiyle istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda elde edilen model denklemlerin korelasyon katsayısı değerleri her MNP türü için 0.98'den büyük olarak hesaplanmıştır. Ayrıca her MNP türü için hesaplanan ayarlı korelasyon katsayısı ve tahmini korelasyon katsayısı değerleri

arasında 0.2'den daha az fark vardır. Yapılan ANOVA analizi sonucunda da her MNP türü için model denklemler anlamlı olarak bulunmuşken; uyum eksikliği değerleri anlamsız olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Box-Behnken deneysel tasarım yönteminin BB'den yeşil sentezle MNP'lerin üretimi için kullanılabileceğini göstermektedir.

- Yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen model denklemlerdeki katsayıları işaretlerine göre her üç BB-MNP türü için de NP boyutunun pH parametresiyle ters orantılı; metal tuzu solüsyonu oranı ve sıcaklık parametreleriyle doğru orantılı olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca katsayısı en büyük olan değişken her MNP türü için pH olduğu için MNP çapını en çok etkileyen parametrenin bu olduğu anlaşılmaktadır.
- Yapılan optimizasyon çalışması ve elde edilen bulgular değerlendirildiğinde makro ve mikroalglerin sulu ekstraktlarının MNP sentezlemek için oldukça uygun kaynaklar olduğu görülmüştür. Ayrıca MNP'lerin boyutlarının ve şekillerinin yeşil sentez koşullarıyla ilişkili olduğu ve bu koşularda değişiklikler yapılarak MNP boyut ve şekillerinin manipüle edilebileceği anlaşılmıştır. Ancak MNP'lerin oluşum ve büyüme mekanizmalarının tam optimizasyonu için çok daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.
- Belirlenen optimum koşullarda gerçekleştirilen yeşil sentezle UL-AgNP üretimi çalışması sonucunda çözeltinin rengi kısa sürede koyulaşmıştır. Bu durum AgNP'lerin oluştuğunu göstermektedir. Optimum koşullarda sentezlenen UL-AgNP'lerin UV-Vis spektrumunda 440 nm dalgaboyunda SPR bandının oluştuğu görülmektedir. Bu bant AgNP'lerin karakteristik bir özelliğidir. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 36.35 nm, PDI değerinin 0.271 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade eden 4 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerinde AgNP'lerin küresel şekilde olduğu görülmekteyken; FTIR spektrumunda Ag-O bağından kaynaklı pikler görülmüştür.
- Belirlenen optimum koşullarda gerçekleştirilen yeşil sentezle UL-FeONP üretimi çalışması sonucunda çözeltinin rengi koyu turuncu bir renk almıştır. Bu durum FeONP'lerin oluştuğunu göstermektedir. Optimum koşullarda sentezlenen UL-FeONP'lerin UV-Vis spektrumunda 296 nm dalgaboyunda

SPR bandının oluştuğu görülmektedir. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 67.61 nm, PDI değerinin 0.113 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda FeONP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade eden 10 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerinde FeONP'lerin küresel şekilde oldukları görülmekteyken; FTIR spektrumunda FeONP yüzeyine bağlanan biyomoleküllerden ve Fe-O bağlarından kaynaklı pikler gözlemlenmiştir.

- Optimum koşullarda gerçekleştirilen UL-CuONP yeşil sentezi esnasında çözeltinin rengi yeşilimsi bir renk almıştır. Oluşan UL-CuONP'lerin UV-Vis spektrumunda 265 nm dalgaboyunda CuONP'lerin karakteristik piki görülmüştür. UL-CuONP'ler ortalama 50.63 nm çapında küre şeklindedir. XRD spektrumunda CuONP'lerin karakteristik piklerinden olan 7 adet pik görülmüştür. FTIR spektrumunda CuONP yüzeyine bağlanan biyomoleküllerden ve Cu-O bağlarından kaynaklı pikler gözlemlenmiştir.
- Belirlenen optimum koşullarda gerçekleştirilen yeşil sentezle HS-AgNP üretimi çalışması sonucunda çözeltinin rengi kısa sürede koyulaşmıştır. Elde edilen HS-AgNP'lerin UV-Vis spektrumunda 450 nm dalgaboyunda SPR bandının oluştuğu görülmektedir. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 32.45 nm, PDI değerinin 0.351 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade eden 4 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerinde AgNP'lerin küresel şekilde olduğu görülmekteyken; FTIR spektrumunda Ag-O bağından kaynaklı pikler görülmüştür.
- Yeşil sentezle HS-FeONP üretimi çalışması sonucunda çözeltinin rengi koyu turuncu bir renk almıştır. Bu durum FeONP'lerin oluştuğunu göstermektedir. Optimum koşullarda sentezlenen HS-FeONP'lerin UV-Vis spektrumunda FeONP'lerin karakteristik SPR bandı olan 296 nm dalgaboyunda pik oluştuğu görülmektedir. Oluşan HS-FeONP'lerin ortalama NP çapı 67.61 nm, PDI değeri 0.113 olarak hesaplanmıştır. XRD spektrumunda FeONP'lerin karakteristik piklerinden olan 10 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerine göre küre şeklinde olan HS-FeONP'lerin FTIR spektrumunda FeONP yüzeyine bağlanan biyomoleküllerden ve Fe-O bağlarından kaynaklı pikler gözlemlenmiştir.

- HS-CuONP'lerin yeşil sentezi esnasında çözeltinin rengi yeşilimsi bir renk almıştır. Oluşan HS-CuONP'lerin UV-Vis spektrumunda 275 nm dalgaboyunda bir pik görülmüştür. HS-CuONP'ler ortalama 66.11 nm çapında küre şeklindedir ve DLS grafiğine göre PDI değeri 0.220 olark hesaplanmıştır. XRD spektrumunda CuONP'lerin karakteristik piklerinden olan 9 adet pik görülmüştür. FTIR spektrumunda CuONP yüzeyine bağlanan biyomoleküllerden ve Cu-O bağlarından kaynaklı pikler gözlemlenmiştir.
- CV mikroalginin sulu ekstraktından AgNP üretimi için gerçekleştirilen yeşil sentez çalışması esnasında oluşan çözeltinin rengi kısa sürede koyulaşmıştır. Elde edilen CV-AgNP'lerin UV-Vis spektrumunda 420 nm dalgaboyunda AgNP'lerin karakteristik SPR bandının oluştuğu görülmektedir. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 60.34 nm, PDI değerinin 0.101 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda AgNP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade eden 4 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerinde AgNP'lerin küresel şekilde olduğu görülmekteyken; FTIR spektrumunda Ag-O bağından ve diğer biyomoleküllerden kaynaklı pikler görülmüştür.
- CV mikroalginin sulu ekstraktından FeONP üretimi için gerçekleştirilen yeşil sentez çalışması esnasında oluşan çözeltinin rengi kısa sürede koyu kırmızı ve kahverengi arası bir renge dönüşmüştür. Elde edilen FeONP'lerin UV-Vis spektrumunda 296 nm dalgaboyunda FeONP'lerin karakteristik SPR bandının oluştuğu görülmektedir. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 62.50 nm, PDI değerinin 0.503 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda FeONP'lerin yüz merkezi kübik yapısını ifade eden 8 adet pik görülmüştür. SEM görüntülerinde FeONP'lerin küresel şekilde olduğu görülmekteyken; FTIR spektrumunda Fe-O bağından ve diğer biyomoleküllerden kaynaklı pikler görülmüştür.
- CV mikroalginin sulu ekstraktından CuONP üretimi için gerçekleştirilen yeşil sentez çalışması esnasında oluşan çözeltinin rengi kısa sürede yeşil bir renge dönüşmüştür. Elde edilen CuONP'lerin UV-Vis spektrumunda 275 nm dalgaboyunda CuONP'lerin spesifik SPR bandının oluştuğu görülmüştür. DLS eğrisinde ise ortalama NP çapının 62.62 nm, PDI değerinin 0.122 olduğu görülmüştür. XRD spektrumunda CuONP'lerin yüz merkezi kübik yapısını

ifade eden 8 adet pik görülmüştür. CV-CuONP'lerin FTIR spektrumunda Cu-O bağından ve diğer biyomoleküllerden kaynaklı pikler görülmüştür.

- BB ekstraktından sentezlenen BB-AgNP'lerin yeşil sentez reaksiyonu esnasında kısa sürede oluştuğu çözeltideki rengin koyulaşmasından anlaşılmıştır. SEM görüntüsüne göre küresel şekilde olan BB-AgNP'lerin ortalama NP çapı DLS yöntemiyle 40.48 nm olarak, PDI değeri de 0.18 olarak hesaplanmıştır. UV-Vis spektrumunda 420 nm dalgaboyu civarında pik oluşmuş, XRD spektrumunda da AgNP'lerin karakteristik 4 adet pik gözlemlenmiştir. BB-AgNP'lerin FTIR spektrumunda ise nem, NP yüzeyine tutunmuş biyomoleküller ve Ag-O bağından kaynaklı pikler görülmüştür.
- Optimum koşullarda üretilen BB-FeONP'lerin yeşil sentez reaksiyonu sırasında NP'lerin oluşumu çözeltideki renk değişiminden anlaşılmıştır. Ayrıca bu çözeltinin UV-Vis spektrumunda FeONP'lerin karaktdalgaeristik pikleri olan 298 nm dalgaboyunda bir absorpsiyon bandı oluşmuştur. Oluşan FeONP'lerin FTIR ve XRD spektrumlarında FeONP'lere özel birçok pikin oluştuğu görülmüştür. BB-FeONP'lerin ortalama NP çapı ve PDI değeri DLS yöntemiyle 59.16 nm ve 0.076 olarak hesaplanmıştır.
- BB ekstraktından sentezlenen BB-CuONP'lerin yeşil sentez reaksiyonu esnasında oluştuğu çözeltideki rengin yeşilimsi bir hal almasından anlaşılmıştır. Oluşan bu küresel şekilli CuONP'lerin ortalama çapı ve PDI değeri 75.27 nm ve 0.093 olarak hesaplanmıştır. UV-Vis spektrumunda CuONP'lere ait 273 nm dalgaboyunda absorpsiyon bandı oluşmuşken; XRD spektrumunda 7 adet pik oluşmuştur. BB-CuONP'lerin FTIR spektrumunda Cu-O bağından, nemden ve diğer biyomoleküllerden kaynaklı pikler görülmüştür.
- Optimum koşullarda üretilen MNP'lerin karakterizasyon analizlerinin sonuçları ve literatürdeki benzer çalışmalardaki sonuçlar değerlendirildiğinde algal biyokütlelerin sulu ekstraktlarından elde edilen MNP'lerin diğer MNP'lere yapısal ve morfolojik olarak benzediği ve bunların geleneksel yöntemlerle sentezlenen MNP'lerin kullanıldığı her alanda kullanılabileceği görülmüştür.

- Yapılan antibakteriyal analizlerde distile suyun *S. aureus*, *L. monocytogene*s, *B. cereus, E. coli ve S. typhi* türü patojenik bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyal aktivite göstermediği görümüştür.
- Metal tuzu solüsyonlarının antibakteriyal aktivite analizlerinde metal tuzlarının MNP'lere oranla daha yüksek antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. $AgNO_3$ çözeltisinin *S. aureus*, *L. monocytogene*s, *B. cereus, E. coli ve S. typhi* türü patojenik bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 14.00 ± 2.00 mm ile 17.50 ± 1.32 mm arasında; $FeSO_4.7H_2O$ çözeltisinin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 9.25 ± 1.77 mm ile 14.25 ± 1.06 mm arasında ve $CuSO_4.5H_2O$ çözeltisinin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 11.5 mm ile 25.5 ± 0.71 mm arasında ölçülmüştür.
- Makro ve mikroalglerin sulu ekstraktlarının antibakteriyal analizlerinde sulu ekstraktların yeterince antibakteriyal etki göstermediği görülmüştür. UL'nin sulu ekstaktları *E. coli, S. typhi* ve *S. aureus* 'a karşı, HS'nin sulu ekstraktları *E. coli* ve *S. typhi'*a karşı, CV ve BB ekstraktları ise tüm bakterilere karşı antibakteriyal etki göstermiştir.
- UL-MNP'lerin oluşturdukları bakteri inhibisyon bölgelerinin çapları incelendiğinde *S. aureus* bakterisi hariç diğer tüm bakterilerde en büyük inhibisyon çapını en küçük nanopartikül çapına sahip olan UL-AgNP'lerin oluşturduğu görülmektedir. UL-AgNP'lerin oluşturdukları inhibisyon çapları 10.33 ± 2.08 mm ile 15.00 ± 1.00 mm arasında değişmekteyken; UL-FeONP'lerinkiler 9.00 ± 0.71 mm ile 12.25 ± 0.35 mm arasında, UL-CuONP'lerinkiler 10.00 ± 0.71 mm ile 11.00 ± 0.71 mm arasında değişmektedir. UL-AgNP ve UL-FeONP için en duyarlı bakteri *S. typhi* türü gram-negatif bakterisiyken; UL-CuONP için en duyarlı bakteri *E. coli* ve *S. aureus* bakterileridir.
- HS-AgNP'lerin özellikle gram negatif bakterilere karşı diğer HS-MNP'lere oranla daha büyük inhibisyon bölgesi oluşturmuştur. HS-AgNP'ler gram negatif bakteriler *E. coli* ve *S. typhi'*ye karşı yaklaşık 15 mm inhibisyon bölgesi oluşturmuşken; gram pozitif bakteriler *B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes'* ye karşı yaklaşık 10 mm çaplarında inhibisyon bölgeleri

oluşturmuştur. HS-FeONP'ye karşı en duyarlı bakteri *S. typhi* türü gram-negatif bakteri iken; en dirençli bakteri *B. cereus* türü gram pozitif bakteri olduğu görülmüştür. HS-CuONP'lerin *E. coli*, *S. typhi, B. cereus, S. aureus* ve *L. monocytogenes* türü patojenik bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon bölgelerinin çapları sırasıyla 9.75 ± 0.35 mm, 8.75 ± 0.71 mm, 10.00 mm, 10.25 ±1.77 mm ve 9.25 ± 1.06 mm olarak ölçülmüştür.

- CV-AgNP'lerin oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları 10.25 mm ile 13.25 mm arasında değişmişken; CV-FeONP'lerin oluşturduğu bölgelerin çapları 8.50 mm ile 12.25 mm arasında ve CV-CuONP'lerin oluşturduğu bölgelerin çapları 7.50 mm ile 10.50 mm arasında değişmiştir. CV-AgNP'lere karşı en duyarlı bakteriden en dirençli bakteriye doğru sıralamanın *S. aureus, E. coli, L. monocytogenes, S. typhi* ve *B. cereus* şeklinde olduğu görülmüştür. CV-FeONP'lere karşı olan bu sırama *S. typhi, E. coli, L. monocytogenes, B. cereus* ve *S. aureus* şeklindeyken; CV-CuONP'lere karşı olan sıralama *L. monocytogenes* ve *S. aureus, E. coli, B. cereus* ve *S. typhi* şeklinde olmuştur.
- En yüksek antibakteriyal etkiye sahip olan BB-MNP çeşitinin BB-AgNP olduğu görülmüştür. BB-AgNP'nin bu patojenik bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon bölgelerin çapları 13.63 ± 0.68 mm ile 17.47 ± 0.67 mm arasında ölçülmüştür. BB-FeONP tarafından oluşturulan inhibisyon bölgelerinin çapları 8.47 ± 0.81 mm ile 13.36 ± 0.45 mm arasında değişmektedir. BB-CuONP'ler bu patojenik bakterilere karşı 5.08 ± 1.01 mm ile 10.75 ± 0.75 mm arasında bir inhibisyon bölgesi oluşturmuştur.
- Yapılan antibakteriyal aktivite çalışmaları sonucunda üretilen MNP'lerin yüksek oranda antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle bunların antibiyotik kullanımını azaltmaya yönelik değerlendirilebilecek biyomalzemeler olabileceği söylenebilir.
- Gelecekteki çalışmalarda algal biyokütlelerin sulu ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktlarının içerdiği biyomoleküller belirlenerek bu meoleküllerin yeşil sentez reaksiyonlarındaki etkileri ve MNP oluşum aşamalarındaki rolleri belirlenebilir. Bu sayede MNP oluşum mekanizmalarının aydınlatılmasına katkıda bulunulmuş olunur.

- Gelecekteki çalışmalarda sıcaklık, pH ve metal tuzu solüsyonu- ekstrakt oranı parametrelerinin dışında reaksiyon süresi, karıştırma hızı, ekstraksiyon koşulları, ekstraksiyonda kullanılan solventler ve yöntem gibi parametre ve değişkenlerin de optimizasyonları da yapılabilir. Ayrıca büyük ölçekli üretim için ölçek büyütme hesaplamaları da yapılabilir. Böylelikle alglerden yeşil sentezle MNP üretiminin ticarileşmesi yolunda önemli bir aşama kaydedilmiş olur.

KAYNAKÇA

[1] R. Wennersten, J. Fidler, and A. Spitsyna, "Nanotechnology: A New Technological Revolution in the 21st Century," in *Handbook of Performability Engineering*, 2008, pp. 943–952.

[2] V. Mody, R. Siwale, A. Singh, and H. Mody, "Introduction to metallic nanoparticles," *J. Pharm. Bioallied Sci.*, vol. 2, no. 4, p. 282, 2010.

[3] S. Sundararaju, M. Arumugam, and P. Bhuyar, "Microbacterium sp. MRS-1, a potential bacterium for cobalt reduction and synthesis of less/non-toxic cobalt oxide nanoparticles (Co3O4)," *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–9, Dec. 2020.

[4] P. Bhuyar, M. H. A. Rahim, S. Sundararaju, R. Ramaraj, G. P. Maniam, and N. Govindan, "Synthesis of silver nanoparticles using marine macroalgae Padina sp. and its antibacterial activity towards pathogenic bacteria," *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–15, Dec. 2020.

[5] S. K. Srikar, D. D. Giri, D. B. Pal, P. K. Mishra, and S. N. Upadhyay, "Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review," *Green Sustain. Chem.*, vol. 06, no. 01, pp. 34–56, Feb. 2016.

[6] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, and B. Zolfaghari, "Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods," *Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 6. pp. 385–406, 2014.

[7] M. Hasanin, M. A. Al Abboud, M. M. Alawlaqi, T. M. Abdelghany, and A. H. Hashem, "Ecofriendly Synthesis of Biosynthesized Copper Nanoparticles with Starch-Based Nanocomposite: Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Activities," *Biol. Trace Elem. Res.*, 2021.

[8] M. A. Hassaan, "Green Synthesis of Ag and Au Nanoparticles from Micro and Macro Algae - Review," *Int. J. Atmos. Ocean. Sci.*, vol. 2, no. 1, p. 10, 2018.

[9] I. Hussain, N. B. Singh, A. Singh, H. Singh, and S. C. Singh, "Green synthesis of nanoparticles and its potential application," *Biotechnology Letters*, vol. 38, no. 4. pp. 545–560, 2016.

[10] S. P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, and M. Sastry, "Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract," *Biotechnol. Prog.*, vol. 22, no. 2, pp. 577–583, 2006.

[11] S. Ahmed, Saifullah, M. Ahmad, B. L. Swami, and S. Ikram, " Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract ," *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–7, 2016.

[12] Y. Ping, J. Zhang, T. Xing, G. Chen, R. Tao, and K. H. Choo, "Green synthesis of silver nanoparticles using grape seed extract and their application for reductive catalysis of Direct Orange 26," *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 58, pp. 74–79, 2018.

[13] J. Saxena, P. K. Sharma, M. M. Sharma, and A. Singh, "Process optimization for green synthesis of silver nanoparticles by Sclerotinia sclerotiorum MTCC 8785 and evaluation of its antibacterial properties," *Springerplus*, vol. 5, no. 1, 2016.

[14] D. Koilparambil, L. C. Kurian, S. Vijayan, and J. Manakulam Shaikmoideen, "Green synthesis of silver nanoparticles by Escherichia coli : Analysis of antibacterial activity," *J. Water Environ. Nanotechnol*, vol. 1, no. 1, pp. 63–74, Jul. 2016.

[15] R. R. R. Kannan, R. Arumugam, D. Ramya, K. Manivannan, and P. Anantharaman, "Green synthesis of silver nanoparticles using marine macroalga Chaetomorpha linum," *Appl. Nanosci.*, vol. 3, no. 3, pp. 229–233, Jun. 2013.

[16] S. R. Vijayan, P. Santhiyagu, M. Singamuthu, N. Kumari Ahila, R. Jayaraman, and K. Ethiraj, "Synthesis and characterization of silver and gold nanoparticles using aqueous extract of seaweed, turbinaria conoides, and their antimicrofouling activity," *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014.

[17] S. Groiss, R. Selvaraj, T. Varadavenkatesan, and R. Vinayagam, "Structural characterization, antibacterial and catalytic effect of iron oxide nanoparticles synthesised using the leaf extract of Cynometra ramiflora," *J. Mol. Struct.*, vol. 1128, pp. 572–578, 2017.

[18] K. A. Jung, S. R. Lim, Y. Kim, and J. M. Park, "Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery," *Bioresour. Technol.*, vol. 135, pp. 182–190, 2013.

[19] A. T. Koçer and D. Özçimen, "Determination of combustion characteristics and kinetic parameters of Ulva lactuca and its biochar," *Biomass Convers. Biorefinery*, 2021.

[20] M. I. Bird, C. M. Wurster, P. H. de Paula Silva, A. M. Bass, and R. de Nys, "Algal biochar - production and properties," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 2, pp. 1886–1891, 2011.

[21] D. Özçimen, B. İnan, A. T. Koçer, and M. Vehapi, "Bioeconomic Assessment of Microalgal Production," in *Microalgal Biotechnology*, 2018.

[22] M. B. Tasić, L. F. R. Pinto, B. C. Klein, V. B. Veljković, and R. M. Filho, "Botryococcus braunii for biodiesel production," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 64. pp. 260–270, 2016.

[23] P. Cheng *et al.*, "High-value chemicals from Botryococcus braunii and their current applications – A review," *Bioresource Technology*, vol. 291. 2019.

[24] D. Özçimen, B. İnan, S. Akış, and A. T. Koçer, *Utilization alternatives of algal wastes for solid algal products*. 2015.

[25] A. T. Koçer, "Investigation of the biogas production potential from algae," Yıldız Technical University, 2017.

[26] L. Pereira, "Macroalgae," *Encyclopedia*, vol. 1, no. 1, pp. 177–188, Feb. 2021.

[27] M. M. Ismail, B. S. Alotaibi, and M. M. EL-Sheekh, "Therapeutic uses of red macroalgae," *Molecules*, vol. 25, no. 19. Multidisciplinary Digital Publishing

Institute, p. 4411, 25-Sep-2020.

[28] M. Alvarado-Morales, A. Boldrin, D. B. Karakashev, S. L. Holdt, I. Angelidaki, and T. Astrup, “Life cycle assessment of biofuel production from brown seaweed in Nordic conditions,” *Bioresour. Technol.*, vol. 129, pp. 92–99, 2013.

[29] N. C. Afonso, M. D. Catarino, A. M. S. Silva, and S. M. Cardoso, “Brown macroalgae as valuable food ingredients,” *Antioxidants*, vol. 8, no. 9. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 01-Sep-2019.

[30] A. Moreira, S. Cruz, R. Marques, and P. Cartaxana, “The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture,” *Reviews in Aquaculture*, vol. 14, no. 1. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 5–26, 01-Jan-2022.

[31] T. M. Mata, A. A. Martins, and N. S. Caetano, “Microalgae for biodiesel production and other applications: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 1. pp. 217–232, 2010.

[32] M. L. Teoh, W. L. Chu, and S. M. Phang, “Effect of temperature change on physiology and biochemistry of algae: A review,” *Malaysian Journal of Science*, vol. 29, no. 2. pp. 82–97, 2010.

[33] S. P. Singh and P. Singh, “Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 50. Pergamon, pp. 431–444, 01-Oct-2015.

[34] A. Csikkel-Szolnoki, M. Báthori, and G. Blunden, “Determination of elements in algae by different atomic spectroscopic methods,” in *Microchemical Journal*, 2000, vol. 67, no. 1–3, pp. 39–42.

[35] M. C. Mendes *et al.*, “Algae as Food in Europe: An Overview of Species Diversity and Their Application†,” *Foods*, vol. 11, no. 13. MDPI, p. 1871, 01-Jul-2022.

[36] I. Saadaoui *et al.*, “Microalgal-based feed: promising alternative feedstocks for livestock and poultry production,” *Journal of Animal Science and Biotechnology*, vol. 12, no. 1. BioMed Central, pp. 1–15, 17-Jun-2021.

[37] A. T. Koçer, B. Mutlu, and D. Özçimen, “Investigation of biochar production potential and pyrolysis kinetics characteristics of microalgal biomass,” *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 10, no. 1, 2020.

[38] M. Ö. Gülyurt, D. Özçimen, and B. İnan, “Biodiesel production from Chlorella protothecoides oil by microwave-assisted transesterification,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, no. 4, 2016.

[39] B. S. Sert, B. Inan, and D. Özçimen, “Effect of chemical pre-treatments on bioethanol production from Chlorella minutissima,” *Acta Chim. Slov.*, vol. 65, no. 1, 2018.

[40] A. T. Koçer and D. Özçimen, “Investigation of the biogas production potential from algal wastes,” *Waste Manag. Res.*, vol. 36, no. 11, pp. 1100–1105, 2018.

[41] K. Thiyagarasaiyar, B. H. Goh, Y. J. Jeon, and Y. Y. Yow, “Algae metabolites in cosmeceutical: An overview of current applications and challenges,” *Marine Drugs*, vol. 18, no. 6. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI),

01-Jun-2020.

[42] M. Anis, S. Ahmed, and M. M. Hasan, "ALGAE AS NUTRITION, MEDICINE AND COSMETIC: THE FORGOTTEN HISTORY, PRESENT STATUS AND FUTURE TRENDS," *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, pp. 1934–1959, 2017.

[43] P. Baweja, S. Kumar, and G. Kumar, "Organic Fertilizer from Algae: A Novel Approach Towards Sustainable Agriculture," in *Biofertilizers for sustainable agriculture and environment*, 2019, pp. 353–370.

[44] M. Y. Menetrez, "An overview of algae biofuel production and potential environmental impact," *Environmental Science and Technology*, vol. 46, no. 13. pp. 7073–7085, 03-Jul-2012.

[45] P. Bhatt, G. Bhandari, R. F. Turco, Z. Aminikhoei, K. Bhatt, and H. Simsek, "Algae in wastewater treatment, mechanism, and application of biomass for production of value-added product," *Environ. Pollut.*, vol. 309, 2022.

[46] A. T. Koçer and D. Özçimen, "Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from macroalgae: optimization, characterization and antimicrobial activity," *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 1, pp. 1–12, Mar. 2022.

[47] S. Z. Tarhan, A. T. Koçer, D. Özçimen, and İ. Gökalp, "Cultivation of green microalgae by recovering aqueous nutrients in hydrothermal carbonization process water of biomass wastes," *J. Water Process Eng.*, 2020.

[48] M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances," *Anal. Chem.*, vol. 28, no. 3, pp. 350–356, 1956.

[49] O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, "Protein measurement with the folin," *J. Biol. Chem.*, 1951.

[50] H. Safafar, J. Van Wagenen, P. Møller, and C. Jacobsen, "Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater," *Mar. Drugs*, vol. 13, no. 12, pp. 7339–7356, 2015.

[51] R. García, C. Pizarro, A. G. Lavín, and J. L. Bueno, "Characterization of Spanish biomass wastes for energy use," *Bioresour. Technol.*, vol. 103, no. 1, pp. 249–258, 2012.

[52] J. Shen, S. Zhu, X. Liu, H. Zhang, and J. Tan, "The prediction of elemental composition of biomass based on proximate analysis," *Energy Convers. Manag.*, vol. 51, no. 5, pp. 983–987, May 2010.

[53] A. Çebi, E. Neyran SOYLU, and S. Kablan, "Karadeniz'den toplanan Ulva lactuca L. türünün toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi," *Black Sea J. Sci.*, vol. 6, no. 14, pp. 22–29, 2016.

[54] S. Kraan, "Algal Polysaccharides, Novel Applications and Outlook," in *Carbohydrates - Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*, 2012.

[55] E. Ballesteros, "Species composition and structure of a photophilic algal community dominated by Halopteris scoparia (L.) Sauvageau from the

North-Western Mediterranean," *Collect. Bot.*, vol. 22, pp. 5–24, 1993.

[56] P. Metzger and C. Largeau, "Botryococcus braunii: A rich source for hydrocarbons and related ether lipids," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 66, no. 5. pp. 486–496, 2005.

[57] A. Juneja, F. W. R. Chaplen, and G. S. Murthy, "Genome scale metabolic reconstruction of Chlorella variabilis for exploring its metabolic potential for biofuels," *Bioresour. Technol.*, vol. 213, pp. 103–110, Aug. 2016.

[58] G. P. Dempsey, D. Lawrence, and V. Cassie, "The ultrastructure of Chlorella minutissima Fott et Nováková (Chlorophyceae, Chlorococcales)," *Phycologia*, vol. 19, no. 1, pp. 13–19, Mar. 1980.

[59] M. N. Metsoviti, G. Papapolymerou, I. T. Karapanagiotidis, and N. Katsoulas, "Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of Chlorella vulgaris," *Plants*, vol. 9, no. 1, 2020.

[60] H. X. Chang, Y. Huang, Q. Fu, Q. Liao, and X. Zhu, "Kinetic characteristics and modeling of microalgae Chlorella vulgaris growth and CO2 biofixation considering the coupled effects of light intensity and dissolved inorganic carbon," *Bioresour. Technol.*, vol. 206, pp. 231–238, 2016.

[61] J. Asma, F. Yusoff, and R. Srikanth, "Growth rate assessment of high lipid producing microalga Botryococcus braunii in different culture media," *Iran. J. Fish. Sci.*, vol. 14, no. 2, pp. 436–445, 2015.

[62] A. T. Koçer, B. İnan, S. Kaptan Usul, D. Özçimen, M. T. Yılmaz, and İ. Işıldak, "Exopolysaccharides from microalgae: production, characterization, optimization and techno-economic assessment," *Brazilian J. Microbiol.*, pp. 1–12, Sep. 2021.

[63] S. Ma'mun, A. Wahyudi, and A. S. Raghdanesa, "Growth rate measurements of Chlorella vulgaris in a photobioreactor by Neubauer-improved counting chamber and densitometer," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2022, vol. 963, no. 1, p. 012015.

[64] M. A. Chia, A. T. Lombardi, and M. da G. G. Melão, "Growth and biochemical composition of Chlorella vulgaris in different growth media," *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 85, no. 4, pp. 1427–1438, 2013.

[65] M. P. Caporgno, R. Trobajo, N. Caiola, C. Ibáñez, A. Fabregat, and C. Bengoa, "Biogas production from sewage sludge and microalgae co-digestion under mesophilic and thermophilic conditions," *Renew. Energy*, vol. 75, pp. 374–380, 2015.

[66] J. C. Costa, P. R. Gonçalves, A. Nobre, and M. M. Alves, "Biomethanation potential of macroalgae Ulva spp. and Gracilaria spp. and in co-digestion with waste activated sludge," *Bioresour. Technol.*, vol. 114, pp. 320–326, 2012.

[67] A. T. Koçer, B. Mutlu, and D. Özçimen, "Investigation of biochar production potential and pyrolysis kinetics characteristics of microalgal biomass," *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 10, no. 1, pp. 85–94, 2020.

[68] A. Agrawal and S. Chakraborty, “A kinetic study of pyrolysis and combustion of microalgae Chlorella vulgaris using thermo-gravimetric analysis,” *Bioresour. Technol.*, vol. 128, pp. 72–80, 2013.

[69] X. Miao, Q. Wu, and C. Yang, “Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels,” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 71, no. 2, pp. 855–863, 2004.

[70] A. A. Arbeláez, N. D. Giraldo, J. F. Pérez, and L. Atehortúa, “Pyrolysis Kinetics Using TGA and Simulation of Gasification of the Microalga Botryococcus braunii,” *Bioenergy Res.*, vol. 12, no. 4, pp. 1077–1089, Aug. 2019.

[71] C. Dayananda, A. Kumudha, R. Sarada, and G. A. Ravishankar, “Isolation, characterization and outdoor cultivation of green microalgae Botryococcus sp,” *Sci. Res. Essays*, vol. 5, no. 17, pp. 2497–2505, 2010.

[72] N. Felix and R. A. Brindo, “Evaluation of raw and fermented seaweed , Ulva lactuca as feed ingredient in giant freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii,” *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, vol. 1, no. 3, pp. 199–204, 2014.

[73] A. B. Ross, J. M. Jones, M. L. Kubacki, and T. Bridgeman, “Classification of macroalgae as fuel and its thermochemical behaviour,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 14, pp. 6494–6504, 2008.

[74] K. Chaiwong, T. Kiatsiriroat, N. Vorayos, and C. Thararax, “Biochar production from freshwater algae by slow pyrolysis,” *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, vol. 6, no. 2, pp. 186–195, 2012.

[75] S. S. Kim, H. V. Ly, J. Kim, J. H. Choi, and H. C. Woo, “Thermogravimetric characteristics and pyrolysis kinetics of Alga Sagarssum sp. biomass,” *Bioresour. Technol.*, vol. 139, pp. 242–248, Jul. 2013.

[76] G. F. Gibbons, L. J. Goad, and T. W. Goodwin, “The identification of 28-isofucosterol in the marine green algae Enteromorpha intestinalis and Ulva lactuca,” *Phytochemistry*, vol. 7, no. 6, pp. 983–988, 1968.

[77] J. S. Yang, J. Cao, G. L. Xing, and H. L. Yuan, “Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae Chlorella minutissima UTEX2341,” *Bioresour. Technol.*, vol. 175, pp. 537–544, 2015.

[78] A. P. Dean, D. C. Sigee, B. Estrada, and J. K. Pittman, “Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 12, pp. 4499–4507, Jun. 2010.

[79] A. T. Koçer, “Alglerden biyogaz üretim potansiyelinin araştırılması,” Yıldız Teknik Üniversitesi, 2017.

[80] J. E. Hulla, S. C. Sahu, and A. W. Hayes, “Nanotechnology: History and future,” *Human and Experimental Toxicology*, vol. 34, no. 12. SAGE PublicationsSage UK: London, England, pp. 1318–1321, 26-Nov-2015.

[81] S. Iravani, “Green synthesis of metal nanoparticles using plants,” *Green Chem.*, vol. 13, no. 10, pp. 2638–2650, 2011.

[82] S. Bhatia, “Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication

Methods and Drug Delivery Applications," *Nat. Polym. Drug Deliv. Syst.*, pp. 33–93, 2016.

[83] S. A. Khan, "Metal nanoparticles toxicity: Role of physicochemical aspects," in *Metal Nanoparticles for Drug Delivery and Diagnostic Applications*, Elsevier, 2019, pp. 1–11.

[84] A. M. Schrand, M. F. Rahman, S. M. Hussain, J. J. Schlager, D. A. Smith, and A. F. Syed, "Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 2, no. 5. John Wiley & Sons, Inc. WIREs Nanomed Nanobiotechnol, pp. 544–568, Sep-2010.

[85] S. Diegoli, A. L. Manciulea, S. Begum, I. P. Jones, J. R. Lead, and J. A. Preece, "Interaction between manufactured gold nanoparticles and naturally occurring organic macromolecules," *Sci. Total Environ.*, vol. 402, no. 1, pp. 51–61, Aug. 2008.

[86] N. Kulkarni and U. Muddapur, "Biosynthesis of metal nanoparticles: A review," *Journal of Nanotechnology*, vol. 2014. 2014.

[87] P. G. Jamkhande, N. W. Ghule, A. H. Bamer, and M. G. Kalaskar, "Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 53. Elsevier, p. 101174, 01-Oct-2019.

[88] M. A. Meyers, A. Mishra, and D. J. Benson, "Mechanical properties of nanocrystalline materials," *Progress in Materials Science*, vol. 51, no. 4. Pergamon, pp. 427–556, 01-May-2006.

[89] N. Abid *et al.*, "Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 300. Elsevier, p. 102597, 01-Feb-2022.

[90] D. Sharma, S. Kanchi, and K. Bisetty, "Biogenic synthesis of nanoparticles: A review," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 8. pp. 3576–3600, 2019.

[91] S. Iravani and B. Zolfaghari, "Green synthesis of silver nanoparticles using Pinus eldarica bark extract," *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, 2013.

[92] A. P. Vieira, E. M. Stein, D. X. Andreguetti, P. Colepicolo, and A. M. D. C. Ferreira, "Preparation of silver nanoparticles using aqueous extracts of the red algae Laurencia aldingensis and Laurenciella sp. And their cytotoxic activities," *J. Appl. Phycol.*, vol. 28, no. 4, pp. 2615–2622, 2016.

[93] G. Muthusamy, S. Thangasamy, M. Raja, S. Chinnappan, and S. Kandasamy, "Biosynthesis of silver nanoparticles from Spirulina microalgae and its antibacterial activity," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 23, pp. 19459–19464, 2017.

[94] S. Chowdhury, A. Basu, and S. Kundu, "Green synthesis of protein capped silver nanoparticles from phytopathogenic fungus Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid with antimicrobial properties against multidrug-

resistant bacteria," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–11, 2014.

[95] D. Koilparambil, L. C. Kurian, S. Vijayan, and J. Manakulam Shaikmoideen, "Green synthesis of silver nanoparticles by Escherichia coli : Analysis of antibacterial activity," *J. Water Environ. Nanotechnol*, vol. 1, no. 1, pp. 63–74, 2016.

[96] A. D. V. Bensy, G. J. Christobel, K. Muthusamy, A. Alfarhan, and P. Anantharaman, "Green synthesis of iron nanoparticles from Ulva lactuca and bactericidal activity against enteropathogens," *J. King Saud Univ. - Sci.*, vol. 34, no. 3, p. 101888, Apr. 2022.

[97] P. Govindan *et al.*, "Synthesis and characterization of bioactive silver nanoparticles from red marine macroalgae Chondrococcus Hornemannii," *Mater. Today Proc.*, Mar. 2021.

[98] S. M. Shalaby, F. F. Madkour, H. Y. El-Kassas, A. A. Mohamed, and A. M. Elgarahy, "Green synthesis of recyclable iron oxide nanoparticles using Spirulina platensis microalgae for adsorptive removal of cationic and anionic dyes," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 28, no. 46, pp. 65549–65572, Dec. 2021.

[99] C. S. Praveen Kumar *et al.*, "Acetaminophen removal using green synthesized iron nanoparticles with a fresh water microalga, Planktochlorella nurekis," *Nano-Structures and Nano-Objects*, vol. 26, p. 100700, Apr. 2021.

[100] R. Rajkumar, G. Ezhumalai, and M. Gnanadesigan, "A green approach for the synthesis of silver nanoparticles by Chlorella vulgaris and its application in photocatalytic dye degradation activity," *Environ. Technol. Innov.*, vol. 21, p. 101282, Feb. 2021.

[101] A. Arya, V. Mishra, and T. S. Chundawat, "Green synthesis of silver nanoparticles from green algae (Botryococcus braunii) and its catalytic behavior for the synthesis of benzimidazoles," *Chem. Data Collect.*, vol. 20, p. 100190, Apr. 2019.

[102] R. S. Sathishkumar *et al.*, "Green synthesis of silver nanoparticles by bloom forming marine microalgae Trichodesmium erythraeum and its applications in antioxidant, drug-resistant bacteria, and cytotoxicity activity," *J. Saudi Chem. Soc.*, vol. 23, no. 8, pp. 1180–1191, Dec. 2019.

[103] R. Ishwarya *et al.*, "Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Ulva lactuca seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 178, pp. 249–258, Jan. 2018.

[104] A. Arya, K. Gupta, T. S. Chundawat, and D. Vaya, "Biogenic Synthesis of Copper and Silver Nanoparticles Using Green Alga Botryococcus braunii and Its Antimicrobial Activity," *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2018, 2018.

[105] G. Muthusamy, S. Thangasamy, M. Raja, S. Chinnappan, and S. Kandasamy, "Biosynthesis of silver nanoparticles from Spirulina microalgae and its antibacterial activity," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 23, pp. 19459–19464, Aug. 2017.

[106] F. Arsiya, M. H. Sayadi, and S. Sobhani, “Green synthesis of palladium nanoparticles using Chlorella vulgaris,” *Materials Letters*, vol. 186. North-Holland, pp. 113–115, 01-Jan-2017.

[107] F. Namvar *et al.*, “Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using the marine macroalgae Sargassum muticum,” *Res. Chem. Intermed.*, vol. 41, no. 8, pp. 5723–5730, Aug. 2015.

[108] M. Shakibaie *et al.*, “Green synthesis of gold nanoparticles by the marine microalga Tetraselmis suecica,” *Biotechnol. Appl. Biochem.*, vol. 57, no. 2, pp. 71–75, Oct. 2010.

[109] P. Kumar, M. Govindaraju, S. Senthamilselvi, and K. Premkumar, “Photocatalytic degradation of methyl orange dye using silver (Ag) nanoparticles synthesized from Ulva lactuca,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 103, pp. 658–661, Mar. 2013.

[110] N. González-Ballesteros *et al.*, “Macroalgae to nanoparticles: Study of Ulva lactuca L. role in biosynthesis of gold and silver nanoparticles and of their cytotoxicity on colon cancer cell lines,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 97, pp. 498–509, 2019.

[111] S. Bhakya, S. Muthukrishnan, M. Sukumaran, and M. Muthukumar, “Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their antioxidant and antibacterial activity,” *Appl. Nanosci.*, vol. 6, no. 5, pp. 755–766, Jun. 2016.

[112] S. M. Pourmortazavi, M. Taghdiri, V. Makari, and M. Rahimi-Nasrabadi, “Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of Eucalyptus oleosa,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 136, no. PC, pp. 1249–1254, 2015.

[113] A. T. Koçer and D. Özçimen, “Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from macroalgae: optimization, characterization and antimicrobial activity,” *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 1, pp. 1–12, Mar. 2022.

[114] C. Akköz, A. M. Haglan, H. B. Keskinkaya, and S. Karakaurt, “Halopteris scoparia (Phaeophyta) Ekstraktı İle Gümüş Nanopartikül Sentezlenmesi Karakterizasyonu ve Patojenik Bakteriler Üzerine Etkileri,” in *5th International Congress on Natural and Health Sciences*, 2019, pp. 31–54.

[115] J. Annamalai and T. Nallamuthu, “Characterization of biosynthesized gold nanoparticles from aqueous extract of Chlorella vulgaris and their anti-pathogenic properties,” *Appl. Nanosci.*, vol. 5, no. 5, pp. 603–607, Jun. 2015.

[116] L. Kumar and N. Bharadvaja, “Biosynthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and photocatalytic dye degradation activities of silver nanoparticles biosynthesized by Chlorella sorokiniana,” *Biomass Convers. Biorefinery 2022*, vol. 1, pp. 1–11, Oct. 2022.

[117] N. Gürsoy, B. Yilmaz Öztürk, and İ. Dağ, “Synthesis of intracellular and extracellular gold nanoparticles with a green machine and its antifungal activity,” *Turkish J. Biol.*, vol. 45, no. 2, pp. 196–213, 2021.

[118] A. Arya, K. Gupta, and T. S. Chundawat, “In vitro antimicrobial and

antioxidant activity of biogenically synthesized palladium and platinum nanoparticles using botryococcus braunii," *Turkish J. Pharm. Sci.*, vol. 17, no. 3, pp. 299–306, 2020.

[119] A. Arévalo-Gallegos, J. S. Garcia-Perez, D. Carrillo-Nieves, R. A. Ramirez-Mendoza, H. M. N. Iqbal, and R. Parra-Saldívar, "Botryococcus braunii as a bioreactor for the production of nanoparticles with antimicrobial potentialities," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 5591–5604, 2018.

[120] S. M. Navarro Gallón *et al.*, "Characterization and study of the antibacterial mechanisms of silver nanoparticles prepared with microalgal exopolysaccharides," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 99, pp. 685–695, 2019.

[121] N. A. I. Md Ishak, S. K. Kamarudin, and S. N. Timmiati, "Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via plant extracts: an overview," *Materials Research Express*, vol. 6, no. 11. 2019.

[122] Priya, Naveen, K. Kaur, and A. K. Sidhu, "Green Synthesis: An Eco-friendly Route for the Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles," *Frontiers in Nanotechnology*, vol. 3. 2021.

[123] N. Ajinkya, X. Yu, P. Kaithal, H. Luo, P. Somani, and S. Ramakrishna, "Magnetic iron oxide nanoparticle (Ionp) synthesis to applications: Present and future," *Materials*, vol. 13, no. 20. pp. 1–35, 2020.

[124] L. B. Anigol, P. M. Gurubasavaraj, and J. S. Charantimath, "Effect of Concentration and pH on the Size of Silver Nanoparticles Synthesized by Green Chemistry," *Org. Med. Chem. Int. J. Biosynth.*, vol. 3, no. 5, pp. 1–5, 2017.

[125] M. Vanaja and G. Annadurai, "Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity," *Appl. Nanosci.*, vol. 3, no. 3, pp. 217–223, Jun. 2013.

[126] L. Marciniak, M. Nowak, A. Trojanowska, B. Tylkowski, and R. Jastrzab, "The effect of ph on the size of silver nanoparticles obtained in the reduction reaction with citric and malic acids," *Materials (Basel).*, vol. 13, no. 23, pp. 1–12, 2020.

[127] L. A. P. Gontijo, E. Raphael, D. P. S. Ferrari, J. L. Ferrari, J. P. Lyon, and M. A. Schiavon, "pH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by dls and their size-dependent antimicrobial activity," *Rev. Mater.*, vol. 25, no. 4, pp. 1–10, 2020.

[128] M. K. Alqadi, O. A. Abo Noqtah, F. Y. Alzoubi, J. Alzouby, and K. Aljarrah, "PH effect on the aggregation of silver nanoparticles synthesized by chemical reduction," *Mater. Sci. Pol.*, vol. 32, no. 1, pp. 107–111, 2014.

[129] M. Vanaja, S. Rajeshkumar, K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, C. Malarkodi, and G. Annadurai, "Kinetic study on green synthesis of silver nanoparticles using Coleus aromaticus leaf extract," *Pelagia Res. Libr.*, vol. 4, no. 3, pp. 50–55, 2013.

[130] K. Jagajjanani Rao and S. Paria, "Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous Aegle marmelos leaf extract," *Mater. Res. Bull.*, vol. 48, no. 2, pp.

628–634, Feb. 2013.

[131] E. Rodríguez-León *et al.*, "Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (Rumex hymenosepalus extracts)," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–9, Jul. 2013.

[132] M. Khan *et al.*, "Green synthesis of silver nanoparticles mediated by Pulicaria glutinosa extract," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 8, pp. 1507–1516, 2013.

[133] A. A. Safekordi, H. Attar, and H. R. Ghorbani, "Optimization of Silver Nanoparticles Production by E.coli and the study of reaction kinetics," in *International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICCEES'2011)*, 2011, pp. 346–350.

[134] H. M. Kredy, "The effect of pH, temperature on the green synthesis and biochemical activities of silver nanoparticles from Lawsonia inermis extract," *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 10, no. 8, pp. 2022–2026, 2018.

[135] Q. Sun, X. Cai, J. Li, M. Zheng, Z. Chen, and C. P. Yu, "Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 444, pp. 226–231, 2014.

[136] H. M. M. Ibrahim, "Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms," *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 265–275, Jul. 2019.

[137] P. Khandel and S. K. Shahi, "Microbes mediated synthesis of metal nanoparticles: current status and future prospects Microbes mediated synthesis of metal nanoparticles: current status and future prospects Name of corresponding author along with phone, fax and E-mail information," *Int. J. Nanomater. Biostructures*, vol. 6, no. 1, pp. 1–24, 2016.

[138] R. Joshi, A. Khandelwal, M. Shrivastava, and S. D. Singh, "Characterization of Nanomaterials Using Different Techniques," in *Soil Analysis: Recent Trends and Applications*, 2020, pp. 187–198.

[139] M. Ateş, "Nanoparçacıkların Ölçme ve İnceleme Teknikleri," *Türk Bilim. Derlemeler Derg.*, vol. 11, no. 1, pp. 63–69, 2018.

[140] T. B. Devi and M. Ahmaruzzaman, "Green synthesis of silver, copper and iron nanoparticles: Synthesis, characterization and their applications in wastewater treatment," in *The Macabresque: Human Violation and Hate in Genocide, Mass Atrocity and Enemy-Making*, 2018, pp. 441–466.

[141] M. S. Johal, *Understanding Nanomaterials*. 2012.

[142] S. Loganathan, R. B. Valapa, R. K. Mishra, G. Pugazhenthi, and S. Thomas, "Thermogravimetric Analysis for Characterization of Nanomaterials," in *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization*, vol. 3, 2017, pp. 67–108.

[143] C. J. Chirayil, J. Abraham, R. K. Mishra, S. C. George, and S. Thomas, "Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles," in

Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization, vol. 3, 2017, pp. 1–36.

[144] A. A. Dongargaonkar and J. D. Clogston, "Quantitation of surface coating on nanoparticles using thermogravimetric analysis," in *Methods in Molecular Biology*, vol. 1682, 2018, pp. 57–63.

[145] D. V. Francis, T. Aiswarya, and T. Gokhale, "Optimization of the incubation parameters for biogenic synthesis of WO3 nanoparticles using Taguchi method," *Heliyon*, vol. 8, no. 9, p. e10640, Sep. 2022.

[146] M. Goudarzi, N. Mir, M. Mousavi-Kamazani, S. Bagheri, and M. Salavati-Niasari, "Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles prepared from two novel natural precursors by facile thermal decomposition methods," *Sci. Rep.*, vol. 6, 2016.

[147] V. A. Niraimathee, V. Subha, R. S. Ernest Ravindran, and S. Renganathan, "Green synthesis of iron oxide nanoparticles from Mimosa pudica root extract," *Int. J. Environ. Sustain. Dev.*, vol. 15, no. 3, pp. 227–240, 2016.

[148] J. A. A. Abdullah, L. Salah Eddine, B. Abderrhmane, M. Alonso-González, A. Guerrero, and A. Romero, "Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles by pheonix dactylifera leaf extract and evaluation of their antioxidant activity," *Sustain. Chem. Pharm.*, vol. 17, 2020.

[149] A. Bouafia and S. E. Laouini, "Green synthesis of iron oxide nanoparticles by aqueous leaves extract of Mentha Pulegium L.: Effect of ferric chloride concentration on the type of product," *Mater. Lett.*, vol. 265, 2020.

[150] D. P. Joshi, G. Pant, N. Arora, and S. Nainwal, "Effect of solvents on morphology, magnetic and dielectric properties of (α-Fe2O3@SiO2) core-shell nanoparticles," *Heliyon*, vol. 3, no. 2, 2017.

[151] K. Mandel, M. Straßer, T. Granath, S. Dembski, and G. Sextl, "Surfactant free superparamagnetic iron oxide nanoparticles for stable ferrofluids in physiological solutions," *Chem. Commun.*, vol. 51, no. 14, pp. 2863–2866, 2015.

[152] B. Dutta, E. Kar, N. Bose, and S. Mukherjee, "Significant enhancement of the electroactive β-phase of PVDF by incorporating hydrothermally synthesized copper oxide nanoparticles," *RSC Adv.*, vol. 5, no. 127, pp. 105422–405434, 2015.

[153] A. Y. Ghidan, T. M. Al-Antary, and A. M. Awwad, "Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Punica granatum peels extract: Effect on green peach Aphid," *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.*, vol. 6, pp. 95–98, 2016.

[154] D. Manyasree, K. M. Peddi, and R. Ravikumar, "CuO nanoparticles: Synthesis, characterization and their bactericidal efficacy," *Int. J. Appl. Pharm.*, vol. 9, no. 6, pp. 71–74, 2017.

[155] H. Qamar, S. Rehman, D. K. Chauhan, A. K. Tiwari, and V. Upmanyu, "Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide

nanomaterial derived from Momordica charantia," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 2541–2553, 2020.

[156] S. Shukla, A. Jadaun, V. Arora, R. K. Sinha, N. Biyani, and V. K. Jain, "In vitro toxicity assessment of chitosan oligosaccharide coated iron oxide nanoparticles," *Toxicol. Reports*, vol. 2, pp. 27–39, 2015.

[157] S. Sundar, G. Venkatachalam, and S. J. Kwon, "Biosynthesis of copper oxide (Cuo) nanowires and their use for the electrochemical sensing of dopamine," *Nanomaterials*, vol. 8, no. 10, 2018.

[158] G. Socrates, "Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts," *J. Raman Spectrosc.*, p. 347, 2001.

[159] V. K. Yadav *et al.*, "Synthesis and characterization of amorphous iron oxide nanoparticles by the sonochemical method and their application for the remediation of heavy metals from wastewater," *Nanomaterials*, vol. 10, no. 8, pp. 1–17, 2020.

[160] M. A. Huq, "Green synthesis of silver nanoparticles using pseudoduganella eburnea MAHUQ-39 and their antimicrobial mechanisms investigation against drug resistant human pathogens," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 4, 2020.

[161] K. Anandalakshmi, J. Venugobal, and V. Ramasamy, "Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using Pedalium murex leaf extract and their antibacterial activity," *Appl. Nanosci.*, vol. 6, no. 3, pp. 399–408, Mar. 2016.

[162] N. Madubuonu *et al.*, "Bio-inspired iron oxide nanoparticles using Psidium guajava aqueous extract for antibacterial activity," *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.*, vol. 126, no. 1, pp. 1–8, Jan. 2020.

[163] S. M. Shalaby, F. F. Madkour, H. Y. El-Kassas, A. A. Mohamed, and A. M. Elgarahy, "Green synthesis of recyclable iron oxide nanoparticles using Spirulina platensis microalgae for adsorptive removal of cationic and anionic dyes," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 28, no. 46, pp. 65549–65572, Dec. 2021.

[164] P. P. N. V. Kumar, U. Shameem, P. Kollu, R. L. Kalyani, and S. V. N. Pammi, "Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using Aloe vera Leaf Extract and Its Antibacterial Activity Against Fish Bacterial Pathogens," *Bionanoscience*, vol. 5, no. 3, pp. 135–139, 2015.

[165] M. I. Masum *et al.*, "Biogenic synthesis of silver nanoparticles using phyllanthus emblicafruit extract and its inhibitory action against the pathogen acidovorax oryzaestrain RS-2 of rice bacterial brown stripe," *Front. Microbiol.*, vol. 10, no. APR, 2019.

[166] N. B. Tanvir, O. Yurchenko, C. Wilbertz, and G. Urban, "Investigation of CO2 reaction with copper oxide nanoparticles for room temperature gas sensing," *J. Mater. Chem. A*, vol. 4, no. 14, pp. 5294–5302, 2016.

[167] P. Balu, I. V. Asharani, and D. Thirumalai, "Catalytic degradation of hazardous textile dyes by iron oxide nanoparticles prepared from Raphanus sativus leaves' extract: a greener approach," *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 31, no.

13, pp. 10669–10676, 2020.

[168] D. Renuga, J. Jeyasundari, A. S. Shakthi Athithan, and Y. Brightson Arul Jacob, “Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles using Brassica oleracea var. italic extract for its antifungal application,” *Mater. Res. Express*, vol. 7, no. 4, 2020.

[169] E. S. Madivoli, P. G. Kareru, A. N. Gachanja, S. M. Mugo, and D. S. Makhanu, “Phytofabrication of iron nanoparticles and their catalytic activity,” *SN Appl. Sci.*, vol. 1, no. 8, 2019.

[170] R. Sankar, P. Manikandan, V. Malarvizhi, T. Fathima, K. S. Shivashangari, and V. Ravikumar, “Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using Carica papaya and its application in photocatalytic dye degradation,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 121, pp. 746–750, 2014.

[171] V. V. T. Padil and M. Černík, “Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 8, pp. 889–898, 2013.

[172] K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, M. Pavunraj, and G. Annadurai, “Green synthesis of silver nanoparticle and silver based chitosan bionanocomposite using stem extract of Saccharum officinarum and assessment of its antibacterial activity,” *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 3, 2017.

[173] G. Jagathesan and P. Rajiv, “Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using Eichhornia crassipes leaf extract and assessing their antibacterial activity,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 13, pp. 90–94, Jan. 2018.

[174] K. Jyoti, M. Baunthiyal, and A. Singh, “Characterization of silver nanoparticles synthesized using Urtica dioica Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 217–227, 2016.

[175] L. Wang, C. Hu, and L. Shao, “The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 12. pp. 1227–1249, 2017.

[176] H. Amaro, A. Guedes, and F. Malcata, “Antimicrobial activities of microalgae: an invited review,” *Sci. against Microb. Pathog. Commun. Curr. Res. Technol. Adv.*, pp. 1272–1280, 2011.

[177] P. R. Hsueh, “New Delhi Metallo-β-lactamase-1 (NDM-1): An Emerging Threat Among Enterobacteriaceae,” *J. Formos. Med. Assoc.*, vol. 109, no. 10, pp. 685–687, 2010.

[178] S. M. Dizaj, F. Lotfipour, M. Barzegar-Jalali, M. H. Zarrintan, and K. Adibkia, “Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 44. pp. 278–284, 2014.

[179] M. Y. Vaidya, A. J. McBain, J. A. Butler, C. E. Banks, and K. A. Whitehead, “Antimicrobial Efficacy and Synergy of Metal Ions against Enterococcus

faecium, Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter baumannii in Planktonic and Biofilm Phenotypes," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, 2017.

[180] S. Pal, Y. K. Tak, and J. M. Song, "Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, no. 6, pp. 1712–1720, 2007.

[181] S. Gurunathan, J. W. Han, A. Abdal Dayem, V. Eppakayala, and J. H. Kim, "Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in Pseudomonas aeruginosa," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 7, pp. 5901–5914, 2012.

[182] F. Gao, T. Shao, Y. Yu, Y. Xiong, and L. Yang, "Surface-bound reactive oxygen species generating nanozymes for selective antibacterial action," *Nat. Commun.*, vol. 12, no. 1, 2021.

[183] Z. Yu *et al.*, "Reactive Oxygen Species-Related Nanoparticle Toxicity in the Biomedical Field," *Nanoscale Research Letters*, vol. 15, no. 1. 2020.

[184] Y. H. Leung *et al.*, "Mechanisms of antibacterial activity of mgo: Non-ros mediated toxicity of mgo nanoparticles towards escherichia coli," *Small*, vol. 10, no. 6, pp. 1171–1183, 2014.

[185] A. Besinis, T. De Peralta, and R. D. Handy, "The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on Streptococcus mutans using a suite of bioassays," *Nanotoxicology*, vol. 8, no. 1, pp. 1–16, 2014.

[186] J. T. Seil and T. J. Webster, "Antimicrobial applications of nanotechnology: Methods and literature," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 7. pp. 2767–2781, 2012.

[187] J. S. Tsuji *et al.*, "Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: Risk assessment of nanoparticles," *Toxicol. Sci.*, vol. 89, no. 1, pp. 42–50, 2006.

[188] Y. Yao, Y. Zang, J. Qu, M. Tang, and T. Zhang, "The toxicity of metallic nanoparticles on liver: The subcellular damages, mechanisms, and outcomes," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 14. pp. 8787–8804, 2019.

[189] C. Recordati *et al.*, "Tissue distribution and acute toxicity of silver after single intravenous administration in mice: Nano-specific and size-dependent effects," *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 13, no. 1, 2016.

[190] J. Venkatesan, S. K. Kim, and M. S. Shim, "Antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities of biosynthesized silver nanoparticles using marine algae ecklonia cava," *Nanomaterials*, vol. 6, no. 12, 2016.

[191] H. H. Amin, "Biosynthesized silver nanoparticles using Ulva lactuca as a safe synthetic pesticide (in vitro)," *Open Agric.*, vol. 5, no. 1, pp. 291–299, 2020.

[192] M. Torabfam and M. Yüce, "Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using dried extracts of Chlorella vulgaris and antibacterial

activity studies," *Green Process. Synth.*, vol. 9, no. 1, pp. 283–293, Jan. 2020.

[193] Y. Abboud *et al.*, "Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (Bifurcaria bifurcata)," *Appl. Nanosci.*, vol. 4, no. 5, pp. 571–576, Jun. 2014.

[194] I. B. M. Ibraheem, B. E. E. Abd Elaziz, W. F. Saad, and W. A. Fathy, "Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Marine Red Algae Acanthophora specifera and its Antibacterial Activity," *J. Nanomed. Nanotechnol.*, vol. 07, no. 06, 2016.

[195] D. M. S. A. Salem, M. M. Ismail, and M. A. Aly-Eldeen, "Biogenic synthesis and antimicrobial potency of iron oxide (Fe3O4) nanoparticles using algae harvested from the Mediterranean Sea, Egypt," *Egypt. J. Aquat. Res.*, vol. 45, no. 3, pp. 197–204, 2019.

[196] M. Yousefzadi, Z. Rahimi, and V. Ghafori, "The green synthesis, characterization and antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from green alga Enteromorpha flexuosa (wulfen) J. Agardh," *Mater. Lett.*, vol. 137, pp. 1–4, 2014.

[197] S. V. P. Ramaswamy, S. Narendhran, and R. Sivaraj, "Potentiating effect of ecofriendly synthesis of copper oxide nanoparticles using brown alga: Antimicrobial and anticancer activities," *Bull. Mater. Sci.*, vol. 39, no. 2, pp. 361–364, 2016.

[198] K. P. Anjali, B. M. Sangeetha, R. Raghunathan, G. Devi, and S. Dutta, "Seaweed Mediated Fabrication of Zinc Oxide Nanoparticles and their Antibacterial, Antifungal and Anticancer Applications," *ChemistrySelect*, vol. 6, no. 4, pp. 647–656, 2021.

[199] A. N. M. Ramli, N. W. A. Manap, P. Bhuyar, and N. I. W. Azelee, "Passion fruit (Passiflora edulis) peel powder extract and its application towards antibacterial and antioxidant activity on the preserved meat products," *SN Appl. Sci.*, vol. 2, no. 10, pp. 1–11, Oct. 2020.

[200] K. P. Anjali, B. M. Sangeetha, G. Devi, R. Raghunathan, and S. Dutta, "Bioprospecting of seaweeds (Ulva lactuca and Stoechospermum marginatum): The compound characterization and functional applications in medicine-a comparative study," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 200, p. 111622, Nov. 2019.

[201] S. P. Tan *et al.*, "Extraction and bioautographic-guided separation of antibacterial compounds from Ulva lactuca," *J. Appl. Phycol.*, vol. 24, no. 3, pp. 513–523, Jun. 2012.

[202] D. C. V. Arifin, D. I. Saragih, and S. J. Santosa, "Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized using tyrosine as capping and reducing agent," *Int. J. Emerg. Trends Eng. Res.*, vol. 8, no. 6, pp. 2414–2421, 2020.

[203] Z. Khan, S. A. Al-Thabaiti, A. Y. Obaid, and A. O. Al-Youbi, "Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 82, no. 2, pp. 513–517, 2011.

[204] H. D. Salman, "Evaluation and Comparison the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs) and Silver Nitrate (AgNO3) on Some Pathogenic Bacteri," *J. Glob. Pharma Technol.*, vol. 9, pp. 238–248, 2017.

[205] P. Bhuyar, M. H. A. Rahim, G. P. Maniam, R. Ramaraj, and N. Govindan, "Exploration of bioactive compounds and antibacterial activity of marine blue-green microalgae (Oscillatoria sp.) isolated from coastal region of west Malaysia," *SN Appl. Sci.*, vol. 2, no. 11, pp. 1–10, Nov. 2020.

[206] V. Dhand, L. Soumya, S. Bharadwaj, S. Chakra, D. Bhatt, and B. Sreedhar, "Green synthesis of silver nanoparticles using Coffea arabica seed extract and its antibacterial activity," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 58, pp. 36–43, Jan. 2016.

[207] K. Anandalakshmi, J. Venugobal, and V. Ramasamy, "Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using Pedalium murex leaf extract and their antibacterial activity," *Appl. Nanosci.*, vol. 6, no. 3, pp. 399–408, 2016.

[208] E. Taskin, M. Ozturk, E. Taskin, and O. Kurt, "Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey)," *African J. Biotechnol.*, vol. 6, no. 24, pp. 2746–2751, 2007.

[209] S. H. Heo, S. I. Park, J. Lee, S. W. Jung, and M. S. Shin, "Antimicrobial, Antioxidative, Elastase and Tyrosinase Inhibitory Effect of Supercritical and Hydrothermal Halopteris scoparia Extract," *Turkish J. Comput. Math. Educ.*, vol. 12, no. 5, pp. 407–413, 2021.

[210] K. Oumaskour, N. Boujaber, S. Etahiri, and O. Assobhei, "Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El," *African J. Biotechnol.*, vol. 11, no. 104, pp. 16831–16837, 2012.

[211] Y. Abboud *et al.*, "Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (Bifurcaria bifurcata)," *Appl. Nanosci.*, vol. 4, no. 5, pp. 571–576, 2014.

[212] R. K. Asthana *et al.*, "Isolation and identification of a new antibacterial entity from the Antarctic cyanobacterium Nostoc CCC 537," *J. Appl. Phycol.*, vol. 21, no. 1, pp. 81–88, 2009.

[213] A. T. Koçer, B. İnan, and D. Özçimen, "An Optimization Study of Lipid Extraction from Chlorella minutissima for Biodiesel Production," *J. Chem. Eng. Res. Updat.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–7, Dec. 2019.

[214] A. F. Shaima, N. H. Mohd Yasin, N. Ibrahim, M. S. Takriff, D. Gunasekaran, and M. Y. Y. Ismaeel, "Unveiling antimicrobial activity of microalgae Chlorella sorokiniana (UKM2), Chlorella sp. (UKM8) and Scenedesmus sp. (UKM9)," *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 29, no. 2, pp. 1043–1052, 2022.

[215] R. Uma, V. Sivasubramanian, and S. Niranjali Devaraj, "Preliminary phycochemical analysis and in vitro antibacterial screening of green micro algae, Desmococcus olivaceous, Chlorococcum humicola and Chlorella vulgaris," *J Algal Biomass Utln*, vol. 2, no. 3, pp. 74–81, 2011.

[216] R. Dineshkumar, R. Narendran, P. Jayasingam, and P. Sampathkumar, "Cultivation and Chemical Composition of Microalgae Chlorella vulgaris and its Antibacterial Activity against Human Pathogens," *J. Aquac. Mar. Biol.*, vol. 5, no. 3, p. 00119, 2017.

[217] M. Soleimani and M. Habibi-Pirkoohi, "Biosynthesis of silver nanoparticles using Chlorella vulgaris and evaluation of the antibacterial efficacy against Staphylococcus aureus," *Avicenna J. Med. Biotechnol.*, vol. 9, no. 3, pp. 120–125, 2017.

[218] A. R. Rao, A. H. Reddy, and S. M. Aradhya, "Antibacterial properties of Spirulina platensis, Haematococcus pluvialis, Botryococcus braunii micro algal extracts," *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.*, vol. 4, no. 3, pp. 809–819, 2010.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. A. T. Koçer and D. Özçimen, "Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from macroalgae: optimization, characterization and antimicrobial activity," Biomass Convers. Biorefinery, vol. 1, pp. 1–12, Mar. 2022, doi: 10.1007/s13399-022-02506-0.

Konferans Bildirileri

1. A. T. Koçer ve D. Özçimen, "*Ulva lactuca*'dan yeşil sentezle gümüş nanopartikül üretiminin optimizasyonu" 3rd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2021), Ankara-Turkey, 15-17 December 2021

2. A. T. Koçer ve D. Özçimen, "Antarktika'dan İzole Edilen *Chlorella Variabilis* Mikroalgi Kullanılarak Yeşil Sentezle Gümüş Nanopartiküllerin Üretimi" 4. Ulusal Kutup Çalıştayı, Gebze-Türkiye, 22 Ekim 2020

3. A. T. Koçer, B. İnan ve D. Özçimen, "Production of iron oxide nanoparticles from *Ulva lactuca* with green synthesis for use in dye adsorption" 5th Eurasia Waste Management Symposium, Istanbul-Turkey, 26-28 October 2020

Projeler

1. Nanopartiküllerin Alglerden Yeşil Sentezi ve Doku Mühendisliğinde Kullanımı, BAP Doktora Projesi, FDK-2019-3816, 2019 – 2021, Yürütücü: Prof. Dr. Didem Özçimen, Görev: Araştırmacı

Ödüller

1. Tübitak 2211A Genel Doktora Burs Programı Bursiyerliği

2. YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı Bursiyerliği