



**T.C.**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİYANOBAKTERİLERİN NANOPARTİKÜL SENTEZLEME  
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HİLAL ÖZER**

**HAZİRAN**

**SİYANOBAKTERİLERİN NANOPARTİKÜL SENTEZLEME  
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Hilal ÖZER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman**

**Dr. Öğrt. Üyesi Önder İDİL**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZİRAN 2021**

## ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

Hilal ÖZER

(Tarih)

# SİYANOBAKTERİLERİN NANOPARTİKÜL SENTEZLEME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hilal ÖZER

AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2021

## ÖZET

Fiziksel ve kimyasal teknolojiler ile sentezlenen nanopartiküllerin, toksik içeriklerinin yüksek olması, kararlılıklarının iyi olmaması ve üretim teknolojilerinin pahalı olması gibi nedenlerle, nanopartiküllerin biyolojik moleküller kullanılarak sentezi güncel araştırma alanlarından biri haline gelmiştir. Yeşil sentez olarak adlandırılan yaklaşımla, çevre ve insan sağlığına zarar vermeyen bir yöntemle, toksik madde içermeyen nanopartiküllerin üretimi sağlanmıştır. Biosentezlenmiş nanopartiküller toksik olmamaları ve biyouyumlu olmaları sebebiyle, hedefe yönelik ilaç dağıtımı, kanser tedavisi, gen tedavisi, antibakteriyel ajan, DNA analizi gibi uygulamalarda kullanılabilirler. Siyanobakteriler, nanopartikül üretimi açısından umut verici organizmalar olarak görülmektedirler. Bu çalışmada, siyanobakteri izolatından gümüş nanopartikül sentezlemek ve sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda öncelikle Amasya ili sınırları içerisinde bulunan Tersakan Çayı'ndan su örnekleri alınmıştır. Alınan su örneklerinden saflaştırma işlemi sonucunda siyanobakteri izolatu elde edilmiştir. Tür tayini 16S rRNA ITS gen bölgesi sekanslanarak yapılmıştır. Sekans analizi sonucunda izole edilen tür %99,93 benzerlik oranıyla *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 olarak tanımlanmıştır. Türün kültürasyonu yapıldıktan sonra sulu ekstraktları kullanılarak yeşil sentez metoduyla gümüş nanopartikül sentezlenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküller geçirimli elektron mikroskopi (TEM) cihazı (JEOL JEM 1220 TEM Cihazı) ile görüntülenmiştir. Şekillerinin çoğunlukla yuvarlak, boyut dağılımının ise 40-200 nm olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri belirlenmiştir.

Sayfa adeti : 77  
Anahtar kelimeler : Siyanobakteri, gümüş nanopartikül, yeşil sentez  
Danışman : Dr. Öğrt. Üyesi Önder İDİL

# DETERMINATION OF NANOPARTICLE SYNTHESIS CAPABILITIES OF CYANOBACTERIA

(M. Sc. Thesis)

Hilal ÖZER

AMASYA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE

June 2021

## ABSTRACT

Synthesis of nanoparticles using biological molecules has become one of the current research areas due to reasons such as high toxic content of nanoparticles synthesized by physical and chemical technologies, poor stability and expensive production technologies. With the approach called green synthesis, nanoparticles that do not contain toxic substances have been produced with a method that does not harm the environment and human health. Biosynthesized nanoparticles can be used in applications such as targeted drug delivery, cancer therapy, gene therapy, antibacterial agent, DNA analysis, since they are non-toxic and biocompatible. Cyanobacteria are seen as promising organisms in terms of nanoparticle production. In this study, it was aimed to synthesize silver nanoparticles from cyanobacterium isolate and to determine the antioxidant and antimicrobial activity of the synthesized silver nanoparticles. For this purpose, firstly water samples were taken from Tersakan Stream located within the boundaries of Amasya province. Cyanobacterium isolate was obtained as a result of the purification process from the water samples taken. Species identification was made by sequencing the 16S rRNA ITS gene region. The species isolated as a result of the sequence analysis was defined as *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 with a similarity rate of 99.93%. After the cultivation of the species, silver nanoparticles were synthesized by green synthesis method using its aqueous extracts. The synthesized silver nanoparticles were visualized with a transmission electron microscopy (TEM) device (JEOL JEM 1220 TEM Device). It has been determined that their shapes are mostly round and the size distribution is 40-200 nm. Antimicrobial and antioxidant properties of the synthesized nanoparticles were determined.

Number of pages : 77  
Key words : Cyanobacteria, silver nanoparticles, green synthesis  
Supervisor : Dr. Öğrt. Üyesi Önder İDİL

## ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda, bana bu konuda çalışma imkanı veren ve tez çalışmamın başlangıcından sonuna kadar bilgi ve tecrübesinden faydalandığım, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen çok değerli hocam Dr. Öğrt. Üyesi Önder İDİL'e,

Bilgi birikimleri ve anlayışlı kişilikleriyle her zaman yanımda olan ve gece gündüz demeden çalışmalarına destek veren Arş. Gör. Umut ÇELİKOĞLU ve Arş. Gör. Emine ÇELİKOĞLU'na; Amasya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Laboratuvarı'ndaki tüm arkadaşlarıma,

Bu zahmetli süreçte her zaman desteğini hissettiğim çok değerli eşime, moral kaynağım sevgili kızım ve oğluma, kıymetli anneme ve babama,

Manevi desteklerini esirgemeyen değerli öğretmen arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Amasya Üniversitesi FMB-BAP 19-0416 kodlu proje tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLER .....	7
2.1. Siyanobakterilerin Genel Özellikleri.....	7
2.1.1. Hücre yapısı .....	9
2.1.2. Hücre duvarı.....	9
2.1.3. Tilakoid zar .....	10
2.1.4. Karboksizomlar .....	12
2.1.5. Gaz kesecikleri .....	12
2.1.6. Siyanofisin granülleri .....	13
2.1.7. Hücre hareketleri .....	13
2.1.8. Hücre formları.....	14
2.1.8.1. Heterosist .....	14
2.1.8.2. Akinet .....	15
2.1.8.3. Hormogoniyum.....	15
2.2. Siyanobakterilerin Ekolojisi.....	16

2.3. Gümüş Nanopartikül .....	17
2.4. Siyanobakterilerden Gümüş Nanopartikül Sentezi .....	19
2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....	24
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>25</b>
3.1. Su Örneklerinin Alındığı Bölgenin Koordinatları.....	25
3.2. Siyanobakterilerin Saflaştırılması .....	26
3.3. Siyanobakterilerin Kültürasyonu.....	30
3.4. Genomik DNA İzolasyonu.....	32
3.5. 16S rRNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Amplifikasyonu .....	33
3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Kontrolü .....	35
3.7. Gümüş Nanopartikül (Ag-NP) Sentezi .....	36
3.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi .....	40
3.9. Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi .....	41
3.10. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	42
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>43</b>
4.1. <i>Leptolyngbya boryana</i> (NIES-2135) Türünün Özellikleri.....	43
4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopi ile Karakterizasyonu .....	44
4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Boyut ve Morfoloji Analizi .....	46
4.4. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	48
4.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi.....	48
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>50</b>
<b>6. ÖNERİLER.....</b>	<b>55</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>56</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>75</b>
EK-1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	76
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>77</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Metalik nanopartiküllerin sentez metotları .....	19
Çizelge 3.1. Bg-11 besiyeri için stok solüsyonlar.....	27
Çizelge 3.2. Bir örneğin PZR amplifikasyonu için kullanılan reaksiyon karışımı .....	33
Çizelge 3.3. 16 S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyon şartları .....	34
Çizelge 3.4. Gümüş nanopartikül sentezi için reaksiyon koşulları.....	37
Çizelge 3.5. Antimikrobiyal aktivite testi için seçilen mikroorganizmalar .....	41
Çizelge 4.1. Gümüş nanopartiküllerin MİK değerleri ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) .....	48

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Siyanobakteri hücresi.....	9
Şekil 2.2. Bir siyanobakteriyel hücrenin tilakoid zarlarına gömülü fotosentetik ve solunum elektron taşıma zinciri bileşenlerinin şematik temsili. ....	11
Şekil 2.3. (A) Siyanobakterilerde PSII anten sisteminin yapısal organizasyonu (B) Fikobilizomlarda enerji transferi adımları. ....	11
Şekil 2.4. Aphanizomenon flos-aquae’de gaz keseciklerinin elektron mikroskobu görüntüleri, (v); gaz kesecikleri.....	13
Şekil 2.5. Siyanobakteride heterosist ve akinet hücresi.....	14
Şekil 2.6. <i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 türünün oluşturduğu hormogonyumlar .....	15
Şekil 2.7. Gümüş nanopartiküllerin sentezinin şematik tanıtımı .....	22
Şekil 4.1. 10 mM gümüş nitrat (AgNO <sub>3</sub> ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbands dalga boyu grafiği. ....	44
Şekil 4.2. 5 mM gümüş nitrat (AgNO <sub>3</sub> ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbands dalga boyu grafiği. ....	45
Şekil 4.3. 1 mM gümüş nitrat (AgNO <sub>3</sub> ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbands dalga boyu grafiği. ....	45
Şekil 4.4. 0,1 mM gümüş nitrat (AgNO <sub>3</sub> ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbands dalga boyu grafiği. ....	46
Şekil 4.5. <i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 türünden sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüleri.....	47
Şekil 4.6. <i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 türünden sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüleri.....	47
Şekil 4.7. DPPH radikal çözeltisinin Ag-NP konsantrasyonuna karşı absorbands değerleri.....	49

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.1. Örnek alınan bölgenin uydu görüntüsü.....	25
Resim 3.2. Örnek alınan bölgenin fotoğrafları .....	26
Resim 3.3. BG-11 ve BG-0 besiyeri içeren 250 ml'lik erlenler.. .....	26
Resim 3.4. BG-0 ve BG-11 besiyeri için hazırlanmış stok solüsyonlar .....	27
Resim 3.5. Siyanobakterilerin tüplerde gelişimi .....	28
Resim 3.6. BG-11 içeren katı besiyeri hazırlanışı .....	29
Resim 3.7. Katı besiyerine ekimi yapılmış örnekler.....	29
Resim 3.8. İzolatın katı besiyerinde gelişimi .....	29
Resim 3.9. Siyanobakterilerin ışıktaki gelişimi. ....	30
Resimfo 3.10. Siyanobakteri kültürü. ....	31
Resim 3.11. Siyanobakteri kültürlerinin santrifüj edilmesi. ....	31
Resim 3.12. Santrifüj edilmiş siyanobakteri kültürleri .....	31
Resim 3.13. Siyanobakterilerin sıvı azotla parçalanması. ....	32
Resim 3.14. Liyofilize edilmiş hücre ekstraktı. ....	32
Resim 3.15. PZR cihazı .....	34
Resim 3.16. Agaroz jel elektroforez cihazı.....	35
Resim 3.17. PZR ürünlerinin % 1 lik agaroz jeldeki görüntüleri. ....	36
Resim 3.18. Siyanobakteri ekstraktları.. .....	37
Resim 3.19. 5 mM gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları.....	37
Resim 3.20. 1 mM gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları.....	38
Resim 3.21. 10 mM gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları.....	38

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.22. 0,1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları.....	38
Resim 3.23. Beherlerin ışık altında inkübasyonu..	39
Resim 3.24. 10 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü.....	39
Resim 3.25. 1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü.....	39
Resim 3.26. 5 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü.....	40
Resim 3.27. 0,1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü.....	40
Resim 3.28. Mikrodilüsyon testi a) Ag-NP çözeltisi b) 1mM $\text{AgNO}_3$ çözeltisi.....	41
Resim 3.29. UV-vis spektrofotometre .....	42
Resim 3.30. UV küvet.....	42
Resim 4.1. (a) <i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 (ışık mikroskobu, 100x) (b) <i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 (ışık mikroskobu, 40x) .....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
-----------------	-----------------

<b>A</b>	Absorbans
----------	-----------

<b>cm</b>	Santimetre
-----------	------------

<b>g</b>	Gram
----------	------

<b>kg</b>	Kilogram
-----------	----------

<b>L</b>	Litre
----------	-------

<b>µg</b>	Mikrogram
-----------	-----------

<b>mg</b>	Miligram
-----------	----------

<b>µm</b>	Mikrometre
-----------	------------

<b>µl</b>	Mikrolitre
-----------	------------

<b>ml</b>	Mililitre
-----------	-----------

<b>mM</b>	Milimolar
-----------	-----------

<b>nm</b>	Nanometre
-----------	-----------

<b>mm</b>	Milimetre
-----------	-----------

<b>ng</b>	Nanogram
-----------	----------

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
--------------------	-----------------

<b>AFM</b>	Atomik kuvvet mikroskopisi
------------	----------------------------

<b>Ag-NP</b>	Gümüş nanopartikül
--------------	--------------------

<b>Ag</b>	Gümüş
-----------	-------

<b>Ag<sup>o</sup></b>	Gümüş iyonu
-----------------------	-------------

<b>AgNO<sub>3</sub></b>	Gümüş nitrat
<b>βCA</b>	β-karbonik anhidraz
<b>BMC</b>	Bakteriyal mikrokompartıman
<b>Bp</b>	Baz çifti
<b>DLS</b>	Dinamik ışık saçılımı metodu
<b>EPS</b>	Ekzopolisakkarit
<b>FTIR</b>	Fourier-dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi
<b>KOAC</b>	Potasyum asetat
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>MİK</b>	Mikrodilüsyon
<b>NP</b>	Nanopartikül
<b>PAH</b>	Polialkilamin hidroklorür
<b>PAA</b>	Poli (akrilamid)
<b>PVP</b>	Polivinil-pirolidon
<b>PZR</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>RUBİSCO</b>	Ribuloz 1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz
<b>NaBH</b>	Sodyum boro hidrit
<b>SEM</b>	Taramalı elektron mikroskopu
<b>SDS</b>	Sodyum dodesil sülfat
<b>TEM</b>	Geçirimli elektron mikroskopisi
<b>TSC</b>	Trisodyum sitrat
<b>UV-Vis</b>	Ultraviyole ve görünür ışık
<b>CTAB</b>	Setiltrimetilamonyum bromür
<b>XRD</b>	X ışını kırınımı yöntemi

## 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, nano boyutlarda malzemelerin hazırlanmasını, geliştirilmesini ve kontrol edilmesini içeren bir bilim dalıdır (Thota ve Crans, 2018). Nanoteknoloji, nanopartiküllerin üstün magnetik (Hu ve diğerleri, 2006; Bertorelle ve diğerleri, 2006), optik (Huang, 2007, Chen ve diğerleri, 2018), elektronik (Zhao ve diğerleri, 2005; Behafarid ve diğerleri, 2012) ve mekanik (Li, Cao, Zhang ve Dang, 2006; Kotov ve diğerleri, 2017) özelliklerinden dolayı yoğun bir bilimsel araştırma alanı haline gelmiştir.

Metal nanopartiküller sınıfına giren gümüş nanopartikül (Ag-NP), metalik gümüşün nano parçacıklara dönüştürülmesiyle elde edilmiştir. Diğer metalik nanopartiküllere kıyasla, gümüş nanopartiküller antibakteriyel (Krishnaraj ve diğerleri, 2010), antioksidan (Anand ve Mandal, 2015), antikanser (Sarkar ve Kotteeswaran, 2018) ve antifungal (Ishida ve diğerleri, 2014) aktivitelerinden dolayı daha çok ilgi çekmiştir.

Gümüş nanopartiküller antibakteriyel özelliklerinden dolayı, biyomedikal uygulamalar için antibakteriyel malzeme üretimi gibi sağlık (Mittal, Bhaumik, Kumar ve Banerjee, 2014) ve gıda (De Moura, Mattoso ve Zucolotto, 2012), antibakteriyel kumaş üretimi gibi tekstil (Budama, Çakır, Topel ve Hoda, 2013) ve atık su arıtımı gibi çevresel (Francis, Joseph, Koshy ve Mathew, 2017) uygulamalarda kullanılabilir.

Nanopartiküllerin pek çok alanda kullanımının artmasıyla birlikte, uygun maliyetli tekniklerle, büyük hacimlerde nanopartiküller üretmek için stratejiler geliştirilmeye başlanmıştır. Çevresel kirlenme ve insan sağlığı riskinin azaltılması amacıyla, doğal kaynakların kullanımını esas alan toksik olmayan, çevre dostu yöntemlerin kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Günümüzde önemi gittikçe artmakta olan yeşil nanoteknoloji, çevreye ve insan sağlığına zarar veren kimyasallar kullanmadan, daha az enerji ile, yenilenebilir kaynaklar kullanarak nanomateryal üretmeyi amaçlamaktadır (Hutchison, 2008). Yeşil nanoteknoloji, toksik olmayan, biyoyumlu nanopartiküller üretmek için yeşil kimya ilkelerini (Anastas ve Warner, 1998) esas almaktadır (Hutchison, 2008).

Yeşil kimya yaklaşımı ilk defa 1998 yılında Paul Anastas ve John Warner tarafından tanıtılmıştır.

Yeşil kimya yaklaşımı;

- Atık oluşumunu önleme,
- Üretimde harcanan malzemelerin verimli kullanılmasını sağlayacak üretim süreçlerini esas alan atom ekonomisi,
- Tehlikeli kimyasalların azaltılması için zararsız kimyasal sentez,
- Zararlı madde oluşmadan engellemeyi esas alan güvenli kimyasalların tasarımı,
- Güvenli çözücüler ve yardımcı kimyasalların kullanımı,
- Enerjinin verimli kullanımı,
- Yenilenebilir ham madde kullanımı,
- İlave reaktif gerektiren uygulamaları azaltma ve mümkünse kaçınma,
- Katalizörler kullanılarak verimin artırılması,
- Kimyasalların, ömrünü tamamladıktan sonra çevreye zarar vermeyen bozunma ürünlerine parçalanacak şekilde tasarımı,
- Kirliliğin önlenmesi için üretimin izlenmesi ve analitik yöntemlerle analizi,
- Kazaları önlemek için güvenli maddelerin kullanımı gibi ilkeleri içermektedir (Anastas ve Warner, 1998).

Son yıllarda, nanopartiküllerin biyolojik moleküller kullanılarak üretimi en etkili ve güncel araştırma alanlarından biri haline gelmiştir (Joerger, Klaus ve Granqvist, 2000; Lengke, Fleet ve Southam, 2007; Kalimuthu ve diğerleri, 2008; Awwad ve Salem, 2012; Moshfegh Jalali, Salehzadeh ve Jozani, 2019; Aygün ve diğerleri, 2020; Nilavukkarasi, Vijayakumar ve Kumar, 2020). Yeşil sentez denilen bu yaklaşımla, bilim insanları tarafından yeşil kimya ilkeleri esas alınarak, yenilenebilir kaynaklar kullanılarak, çevreye dost yöntemle, toksik olmayan, medikal uygulamalarda kullanılabilen nanopartiküller üretilmeye başlanmıştır (Sharma, Yngard ve Lin, 2009; Narayanan ve Sakthivel 2010; Iravani, 2011). Bu kapsamda biyolojik moleküller içeren bitkiler, algler, mantarlar, maya, bakteriler ve virüsler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik kaynaklar kullanılmış, hücre içi ve hücre dışı sentez yöntemiyle gümüş, altın, bakır, platin, çinko ve titanyum nanopartikülleri başarıyla



sentezlenmiştir (Klaus, Joerger,Olsson ve Granqvist, 1999; Smitha, Philip ve Gopchandran, 2009; Song, Kwon ve Kim, 2010; Subhankari ve Nayak, 2013; Raliya ve Tarafdar, 2014).

Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi, kimyasal sentezle karşılaştırıldığında, ucuz ve çevre açısından güvenli bir yöntemdir. Kimyasal sentezde kullanılan indirgeyici ajanlar, çevresel ve biyolojik riskleri olan kimyasallardır. Yeşil sentezde indirgeyici ajanlar ve stabilizatörler protein, karbonhidrat, bakteriler, mantarlar, mayalar, algler veya bitkiler tarafından üretilen biyomoleküllerdir. Biyomoleküller (alkaloidler, fenolik bileşikler, terpenoidler, enzimler, ko-enzimler, proteinler, şekerler vb.) metal tuzlarını pozitif oksidasyon durumundan sıfır oksidasyon durumuna indirgerler. Nanopartiküllerin yeşil sentezinde, biyolojik moleküller sadece metal tuzlarını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda oluşan nanoparçacıkları da kaplar ve kapatıcı ajan olarak işlev görürler. Kimyasal sentezle üretilen nanopartiküllerde indirgeyici ve stabilizatör olarak kullanılan toksik maddelerin bir kısmı partikül üzerinde kalır. Bu durum üretilen nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalarda kullanımını büyük ölçüde sınırlar.

Siyanobakteriler, gümüş nanopartiküllerin sentezinde kullanılabilirler. Siyanobakteriler, deniz, tatlı su, toprak gibi farklı habitatlara adapte olmuş prokaryotik, gram negatif ve fototrof bakterilerdir. Temel özellikleri bakterilere benzemesine rağmen ekolojik, biyolojik ve morfolojik özellikleri kendilerine özgüdür (Mishra, Tiwari ve Rai, 2018). Siyanobakterilerden yeşil sentez yoluyla gümüş nanopartikül sentezlenmesi, siyanobakterilerin sürdürülebilir bir kaynak olması ve sentez sırasında toksik kimyasal maddelerin kullanılmaması nedeniyle çevreye dost bir yöntemdir.

Sudha ve arkadaşları tarafından 2013 yılında, *Aphanothece sp*, *Oscillatoria sp*, *Microcoleus sp*, *Aphanocapsa sp*, *Phormidium sp*, *Lyngbya sp*, *Gleocapsa sp*, *Synechococcus sp* ve *Spirulina sp*. siyanobakteri izolatlarından 40-80 nm boyutlarında küresel morfolojiye sahip gümüş nanopartiküllerin sentezlendiği rapor edilmiştir. *Microcoleus sp.*'den elde edilen nanopartiküller, seçilen patojenik bakteriler (*Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus sp.*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*) üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir (Sudha ve diğerleri, 2013).

2014 yılında, Singh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, bir siyanobakteri türü olan *Anabaena doliolum*'dan elde edilen hücre ekstraktından gümüş nanopartikül sentezi yapılmıştır. Yapılan çalışmada sentezlenen nanopartiküllerin antibakteriyel ve antitümoral aktivitelerine bakılmıştır. Nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon testi ile değerlendirilmiştir. İnhibisyon bölgesinin en büyük çapı, 500 µg Ag-NP konsantrasyonu ile *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'ta kaydedilmiştir (Singh ve diğerleri, 2014).

2015 yılında, Patel ve arkadaşları tarafından, farklı siyanobakteri türleri kullanılarak, gümüş nanopartikül sentezi yapılmıştır. Elde edilen nanopartiküllerin antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmada kullanılan siyanobakteri türlerinden *Limnothrix sp.*'den sentezlenen nanopartiküller, herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermemişlerdir. Antibakteriyel aktiviteye sahip nanopartiküller, beş siyanobakteriyel suş (*Anabaena sp.* 66-2, *Lyngbya sp.* 15-2, *Synechococcus sp.* 145-6 ve *Synechocystis sp.* 48-3; *Cylindrospermopsis sp.* USC-CRB3) ve iki yeşil alg (*Botryococcus sp* ve *Coelastrum sp.* 143-1) tarafından üretilmiştir (Patel, Berthold, Puranik ve Gantar, 2015).

Siyanobakteri kullanımı öncesinde farklı bakteriler kullanılarak da gümüş nanopartikül sentezleme çalışmaları yapılmıştır. *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* gibi bakteri türlerinden elde edilen süpernatant kültürü kullanılarak hızlı bir şekilde gümüş nanopartikül sentezi gerçekleştirilmiştir. *K.pneumoniae*, *E.coli* ve *E.cloacae*'nin güçlü yüzey plazmon rezonanslarının sırasıyla 430, 419 ve 420 nm'de ortaladığı görülmüştür. Gümüş iyonları, *Enterobacteria* süpernatantlarına maruz kaldığında, solüsyon içinde hızla azalmıştır. En büyük plazmon rezonans zirvesi *K.Pneumoniae*'da gözlenmiştir (Shahverdi ve diğerleri, 2007). Bir diğer çalışmada *Bacillus licheniformis* bakterisi kullanılarak gümüş nanopartikül sentezi yapılmıştır. Nanopartikülün UV-vis spektroskopide 440 nm maksimum absorbanans gösterdiği gözlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) mikrografları, 50 nm'lik iyi dağılmış gümüş nanopartiküllerin oluşumunu ortaya çıkarmıştır (Kalimuthu, Babu, Venkataraman, Bilal ve Gurunathan, 2008).

Sintubin ve arkadaşları, laktik asit bakterisinden gümüş nanopartikül sentezi üzerinde çalışmışlardır. Birçok bakteri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda sadece dört bakterinin gümüş nanopartikül sentezi gerçekleştirdiğini ifade etmişlerdir. *L.fermentum* tarafından

üretilen gümüş nanopartiküllerin en küçük ortalama partikül boyutuna sahip olduğu (6.0-8.0 nm) görülmüştür (Sintubin ve diğerleri, 2009).

Shivaji ve arkadaşları, gümüş nanopartikül sentezi için *Pseudomonas antarctica*, *Pseudomonas proteolytica*, *Pseudomonas meridiana*, *Arthrobacter kerguelensis* ve *Arthrobacter gangotriensis*, *Bacillus indicus*, *Bacillus cecembensis* bakteri türlerini kullanmışlardır. 6-13 nm boyutlarında nanopartikül sentezledikleri görülmüştür. Ag-NP'lerin antibakteriyel aktivitesi, farklı Ag-NP konsantrasyonları (2 µg/ml, 5 µg/ml ve 10 µg/ml ortam) kullanılarak, büyüme eğrisi yöntemi ile üç gram pozitif bakteri (*A. kerguelensis*, *A. gangotriensis* ve *B. indicus*) ve üç gram negatif bakteri (*P. antarctica*, *P. proteolytica* ve *E. coli*) üzerinde test edilmiştir. En düşük Ag-NP konsantrasyonu (2 µg/ml ortam) bakterilerin dördünde (*P. antarctica*, *A. kerguelensis*, *A. gangotriensis* ve *B. indicus*) büyümeyi tamamen durdurmuştur. *P. proteolytica* ve *E. coli*'de büyümeyi geciktirmiştir. Daha yüksek Ag-NP konsantrasyonları (sırasıyla 5 µg/ml ve 10 µg/ml), *P. proteolytica* ve *E. coli*'nin büyümesini inhibe etmiştir. Bu sonuçlar ayrıca agar difüzyon yöntemiyle de doğrulanmıştır (Shivaji, Madhu ve Singh, 2011).

Ghorbani tarafından yapılan bir çalışmada, biyosentez yoluyla gümüş nanopartikül sentezinde *Salmonella typhirium* kullanılmıştır. Nanopartiküllerin boyutunun 50-150 nm aralığında olduğu rapor edilmiştir (Ghorbani, Safekordi, Attar ve Sorkhabadi, 2013).

Bunların yanı sıra, mantar türlerinden nanopartikül sentezleme çalışmaları da literatürde geçmektedir. Ahmad ve arkadaşları bir mantar türü olan *Fusarium oxysporum*'dan hücre dışı biyosentez yoluyla gümüş nanopartikül sentezi gerçekleştirmişlerdir. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) analizleri sonucu sentezlenen nanopartiküllerin 5-15 nm boyutlarında, küresel bazen de üçgen morfolojiye sahip olduğu görülmüştür (Ahmad ve diğerleri, 2003).

Bu tez çalışmasının amacı, siyanobakterilerden gümüş nanopartikül sentezlemek ve sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi belirlemektir.

Çalışmada yeşil sentezle gümüş nanopartikül elde edilecektir. Gümüş nanopartikül sentezlemede ise sürdürülebilir bir kaynak olması, sentez sırasında toksik kimyasal maddelerin kullanılmaması nedenleriyle siyanobakteriler kullanılacaktır.

Bu kapsamda sırasıyla;

- Öncelikle Amasya Tersakan Çayı'ndan su örnekleri alınacak,
- Alınan su örneklerinden siyanobakteri izolatu saflaştırılacak,
- Saflaştırma işlemi sonrası tür tayini yapılacak,
- İzolatın kültüvasyonu yapıldıktan sonra sulu ekstraktlarından yeşil sentez metoduyla gümüş nanopartikül sentezlenecek,
- Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılacak,
- Gümüş nanopartiküllerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi belirlenecektir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Siyanobakterilerin Genel Özellikleri

Roger Y. Stanier ve Cornelis B. van Niel'in 1962 tarihli ünlü makaleleri olan "Bakteri Kavramı" yayınlanana kadar bakterileri alg, protozoa ve mantarlardan ayırt edecek tanım net değildi (Stanier ve Van Niel, 1962). Farklı kalıtsal özelliklere sahip bağımsız bir mikroorganizma grubu olarak bakteri kavramı ve bunların Schizophyceae (Cyanobacteria) ile ilişkisi R. Stanier ve C.B. van Niel tarafından bu makalelerinde ortaya konmuştur. Ayrıca, ökaryotik hücrelerin organizasyonundan farklı olan prokaryotik hücre organizasyonu terimini önermişler ve bilim camiası tarafından kabul görmüştür (Stanier ve Van Niel, 1962). Prokaryotik hücre organizasyonu olan siyanobakteriler 1974'lerde, Bergey'in Bakteriyoloji El Kitabı'na (Buchanan ve Gibbons, 1974) dahil edilmesiyle "resmi" hale gelmiştir.

Siyanobakteriler, ilk olarak biyolojik bir grup olarak tanımlandıktan sonra algler grubuna dahil edilmişlerdir. Mikroskopi, genetik ve moleküler biyolojideki gelişmeler siyanobakterilerin alglerden farklı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bakteriler ve siyanobakterilerin ortak yanı prokaryot hücre yapısına sahip olmalarıdır. Algler ise ökaryot hücre yapısına sahiptir. Siyanobakteriler, prokaryot hücre yapısına sahip olmalarına rağmen, bitki hücreleri gibi ökaryot hücrelerde bulunabilen, kloroplasta benzer, fotosentetik pigment sistemleri bulundurlar (Jones ve Myers, 1963). Siyanobakteriler, fotosentez yetenekleri sayesinde karbon döngüsünde, azot fiksasyonu yapabilmeleri sebebiyle azot döngüsünde önemli yere sahiptir (Fay, 1965).

Siyanobakteriler çok hücreli ve filamentli formları içeren çok farklı morfolojilere sahip türleri içermektedirler (Castenholz, 2001). Filamentli formlar trikom olarak adlandırılan hücre dizisine sahiptirler. Diğer prokaryotlara kıyasla büyük hücre yapısına ve kompleks morfolojiye sahip olmaları nedeniyle fosil kayıtlarında iz bırakma olasılıkları artan siyanobakterilerin, 2700–3000 milyon yıl önce ortaya çıktığı hipotezleri kabul görmektedir (Knoll, 1989, 2003, 2008). Oksijen üreten siyanobakterilerin fosilleşmiş stromatolitleri keşfedilmiştir. Stromatolitler, ipliksi ve kokoid siyanobakterilerin baskın olduğu mikrobiyal tabakalı birikintilerden oluşan mikrofosillerdir. Stromatolitler, kalsiyum

karbonat parçacıklarının siyanobakterilerin oluşturduğu filamentler üzerinde tutunmasıyla oluşurlar (Walter ve Dunlop, 1980; Knoll, 2008; Knoll ve diğerleri, 2016).

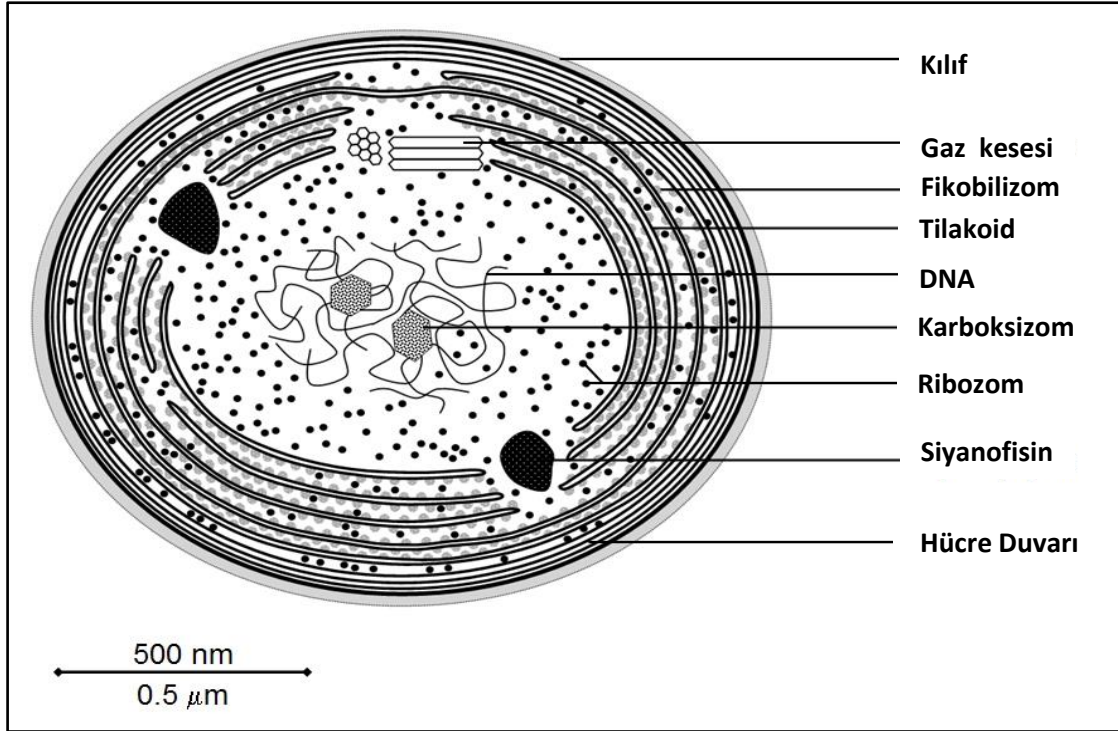
Siyanobakteriler antibakteriyel (Jaki ve Sticher, 2000; Swain, Paidesetty ve Padhy, 2017), antiviral (Kanekiyo ve diğerleri, 2005; El-Baz, El Senousy, El-Sayed ve Kamel, 2013), antifungal (Volk ve Furkert, 2006), anti-inflamatuar (Tabarзад ve Hosseinabadi, 2020), antioksidan (Sharathchandra ve Rajashekhar, 2013; Valuta ve diğerleri 2015; Patipong, Hibino, Waditee-Sirisattha, Kageyama, 2019) ve antikanser (Trimurtulu ve diğerleri, 1994; Subhashini ve diğerleri, 2004; Leao, 2013) aktivitesi bakımından güçlü biyoaktif bileşikler üretirler. Siyanobakterilerden endüstriyel olarak ticari öneme sahip amilaz, fosfataz, proteaz gibi enzimler de üretilmektedir (Padmapriya ve Anand, 2010).

Teknolojik ve endüstriyel ilerlemeler insanlığa olumlu katkılar sağlarken, bir yandan da habitatlarda çeşitli kirleticilerin artması sonucunu doğurmuştur. Kirlenme neticesinde suyun ve toprağın iyileştirilmesi bir zorunluluk haline gelmiştir. Siyanobakterilerin ağır metallere kontamine olmuş habitatlarda yaşayabilmelerinden yola çıkılarak, siyanobakterilerle ağır metallerin biyoremediasyonunu sağlayacak araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Dış hücre katmanlarında ekzopolisakkaritler (EPS) üreten siyanobakteriler, pozitif yüklü ağır metal iyonlarının biosorpsiyonunu sağlayarak sudan uzaklaştırılmasında olumlu sonuçlar vermiştir (Karna ve diğerleri, 1999; Chojnacka, Chojnacki ve Gorecka, 2005; Pereira ve diğerleri, 2011). Siyanobakteriler, yağ bileşiklerini ve herbisitleri okside etme yeteneklerinden dolayı atık su arıtımında başarılı bir şekilde kullanılmaktadırlar. Siyanobakteriler, hidrojen gazı üretmeleri sebebiyle, gelecekte fosil yakıtlara alternatif bir enerji kaynağı olarak düşünülmektedirler (Lindblad, 1999). Yapılan çalışmalar siyanobakteri türlerinin çeşitli kültür ortamlarında hidrojen gazı ürettiğini göstermektedir (Lambert ve Smith 1977; Borodin, Tsygankov, Rao ve Hall, 2000; Shah, Garg ve Madamwar, 2003).

Siyanobakteriler, azot fiksasyonu yapabilmelerinden dolayı, biyogübre olarak da kullanılmaktadırlar. Siyanobakterilerin toprağa aşılması başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bir siyanobakteri türü olan *Azolla*, birçok ülkede pirinç ekiminde organik bir gübre olarak kullanılmıştır. *Azolla* ilavesinin toprak mikroorganizmalarının büyümesini desteklediği gözlenmiştir (Kannaiyan, Aruna, Kumari ve Hall, 1997).

### 2.1.1. Hücre yapısı

Siyanobakterilerin hücre yapısı genel olarak Şekil 2.1’de şematize edildiği gibidir. Tüm prokaryot hücreli mikroorganizmalar gibi siyanobakteriler de zarla çevrili bir çekirdeğe sahip değildir. Genetik materyali sitoplazmasında bulunur. Fotosentez için özelleşmiş pigmentleri içeren tilakoid zara sahiplerdir. Bazı türlerde, hücre duvarı müsülaj bir kılıfla çevrilidir. Siyanobakteriler, siyanofisin granülleri, glikojen granülleri, gaz vakuolleri, polifosfat cisimleri ve karboksizomlar gibi farklı hücre içi partiküllere sahiplerdir (Lang, 1968).



Şekil 2.1. Siyanobakteri hücresi (URL-1)

### 2.1.2. Hücre duvarı

Hücre duvarı, hücreyi hem mekanik hem de ozmotik parçalanmaya karşı koruyan hücre zarının dışında yer alan sert bir yapıdır. Bakteriler genellikle hücre duvarı yapılarına göre gram negatif ve gram pozitif olmak üzere sınıflandırılırlar (Gram, 1884). Bu durum hücre duvarındaki peptidoglikan tabakanın gram negatif ve gram pozitif bakteride farklı olmasından ileri gelmektedir. Gram-pozitif bakterilerin çok katmanlı peptidoglikanı 20 ile 40 nm arasında değişen kalınlığa sahipken, gram-negatif bakterilerde, 2 ile 6 nm arasında

değişmektedir. Gram-negatif yapılarına rağmen, siyanobakterilerde bulunan peptidoglikan katmanı, gram pozitif bakterilerdeki gibi daha kalındır. *Synechococcus* gibi tek hücreli türlerde 10 nm kalınlığında iken *Phormidium uncinatum* gibi filamentli türlerde 15 ile 35 nm arasında değişmektedir. *Oscillatoria princeps* gibi büyük siyanobakterilerde ise peptidoglikan katman 700 nm'den fazladır (Hoiczky ve Baumeister, 1995). Yapılan çalışmalarda, Gram-negatif prokaryotların hücre duvarında bulunan yapıya benzer dış zar gözlemlenmiştir (Golecki, 1977).

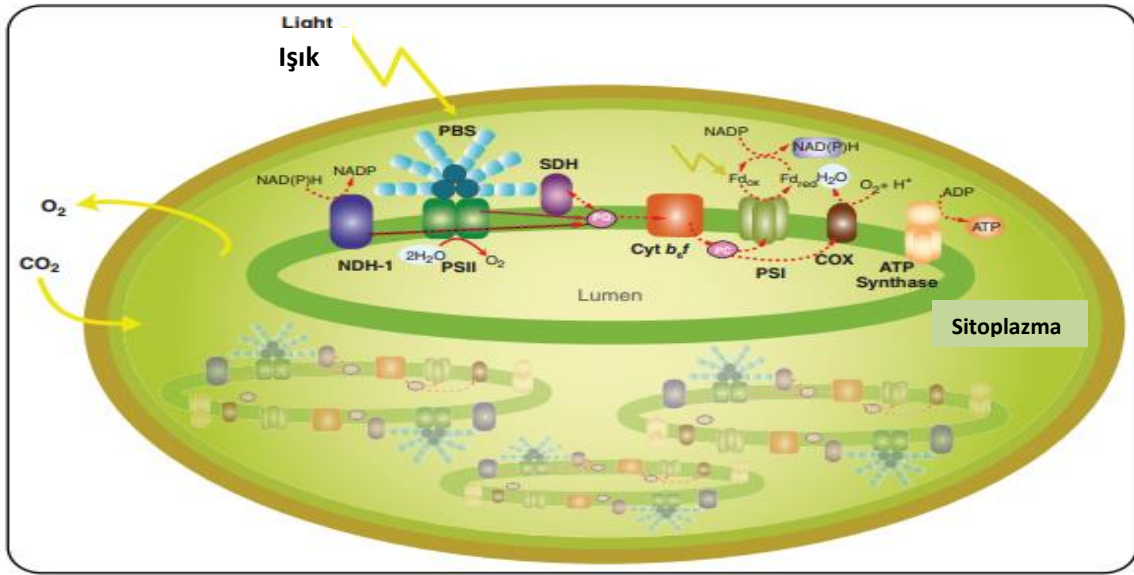
Çalışmalar değerlendirildiğinde, siyanobakterilerin, gram negatif veya gram pozitif hücre duvarı tipinin yapısal unsurlarını içeren bir hücre duvarı organizasyonuna sahip olduğu sonucuna varılabilir (Jürgens ve Weckesser, 1985).

### 2.1.3. Tilakoid zar

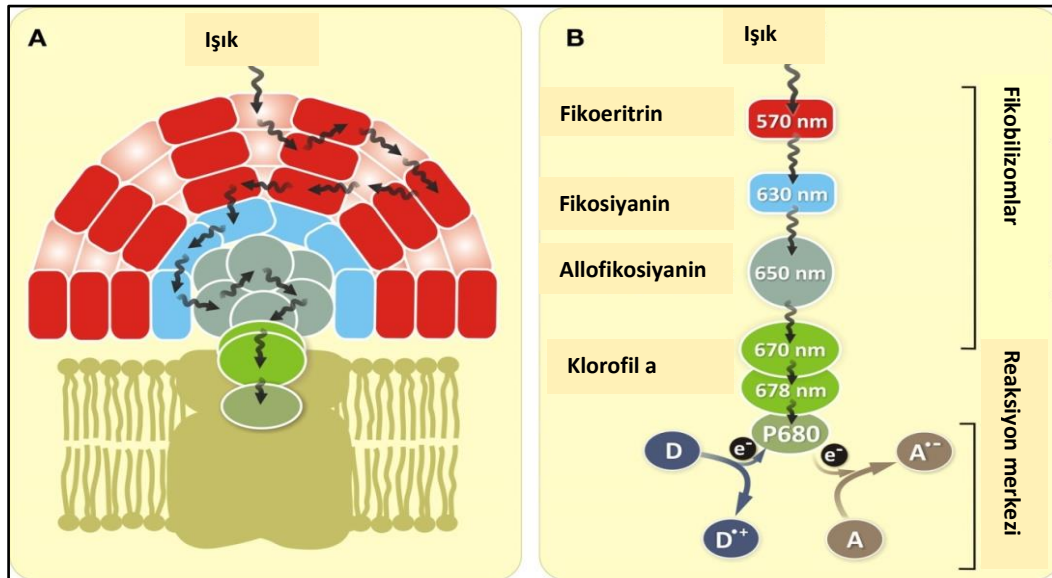
Siyanobakterilerde, klorofil içeren tilakoid membran ve klorofil içermeyen plazma membranı olmak üzere iki tip zar sistemi bulunmaktadır (Peschek, 1999). Fotosentez ve solunum, büyük ölçüde membranlardaki elektron taşıma yollarını gerektirir. Bitkilerde elektron taşıma sistemi elemanları kloroplastlarda bulunan granalara yerleşmişken, siyanobakterilerde ise tilakoid zarlarda bulunur. Hemen hemen tüm siyanobakterilerde bulunan iç membran sistemi olan tilakoid membran ise hem fotosentetik hem de solunum elektron taşıma zincirlerini içerir (Peschek, 1999). Bu iki elektron taşıma zinciri kesişir ve zardaki aynı bileşenleri kullanır (Şekil 2.2).

Siyanobakterilerde fotosentez sistemi, tilakoid membranda yer alan fotosistem I ve fotosistem II olmak üzere iki fotoreaksiyon merkezinden oluşmaktadır (Nagarajan ve Pakrasi, 2016). Fikobilizomlar, enerjiyi emerek fotosistem II'ye transfer eden fikobiliprotein pigmentlerinden oluşur. Tilakoid zarda bulunan fikobilizomlar, siyanobakterilerde ve kırmızı alglerde bulunur. (MacColl, 1998). Fikobiliproteinler absorpsiyon özelliklerine göre; fikoeritrinler, fikosiyeninler ve allofikosiyeninler olmak üzere üç ana sınıfa ayrılırlar. Fikobilizomlar en yüksek enerjiden en düşük enerjiye sahip pigmentlere enerji akışı gerçekleşecek şekilde düzenlenir (MacColl, 1998). Şekil 2.3'de şematize edildiği gibi fikobilizomlar tarafından yakalanan ışık enerjisi hızlı ve verimli bir şekilde fotosistem II'ye aktarılır. Tilakoidler boyunca ortaya çıkan proton gradyanı adenosintrifosfat (ATP) sentezi için kullanılır (Nagarajan ve Pakrasi, 2016).





Şekil 2.2. Bir siyanobakteriyel hücrenin tilakoid zarlarına gömülü fotosentetik ve solunum elektron taşıma zinciri bileşenlerinin şematik temsili [Elektron transfer reaksiyonları kırmızıyla vurgulanmıştır. Kısaltmalar: ADP; adenosindifosfat, ATP ; adenosintrifosfat, cyt b<sub>6</sub>f; sitokrom b<sub>6</sub>f, cyt c<sub>6</sub>; sitokrom c<sub>6</sub>, NADP (H); nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat, PC; plastosiyanin, PQ; plastokinon, SDH; süksinat dehidrojenaz, PBS; fikobilizom, PSI; Fotosistem I, PSII; Fotosistem II (Nagarajan ve Pakrasi, 2016)]



Şekil 2.3. (A) Siyanobakterilerde PSII anten sisteminin yapısal organizasyonu (B) Fikobilizomlarda enerji transferi adımları (Shevela, 2011)

Şekil 2.3’de şematize edildiği gibi soğurulan fotonların enerjisi, Klorofil a’ya (P680) ulaşana kadar fikobilozomların [fikoeritrin (çoğu siyanobakteride yoktur) → fikosiyenin → alofikosiyenin→ klorofil a ] içinden geçirilir (Chapman, 1973). Fikoeritrin olmayan siyanobakterilerde enerji aktarımı fikosiyaninden başlamaktadır (Shevela, 2011). Klorofil a’nın görevi ışığın soğurulmasının yanında, soğurulan enerjinin kimyasal enerjiye dönüşümünü sağlamasıdır (Mauzerall, 1976).

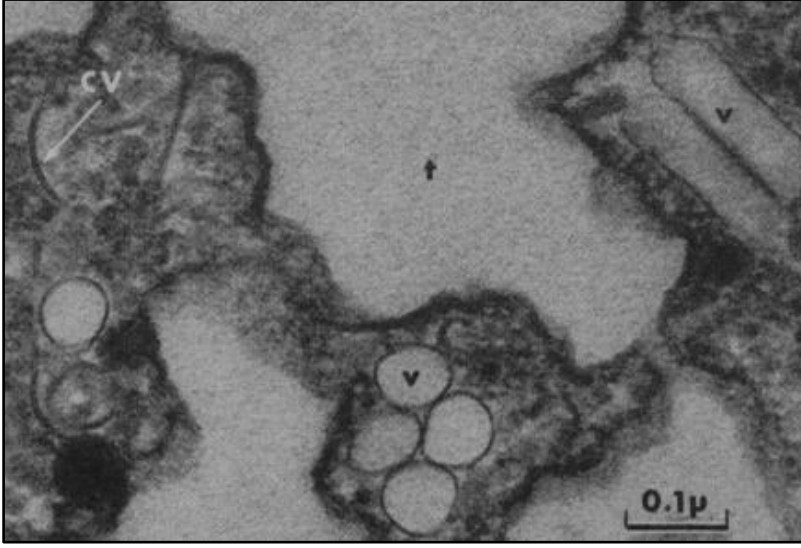
#### **2.1.4. Karboksizomlar**

Siyanobakteriler, karbondioksidi birincil karbon kaynağı olarak kullanırlar. Karboksizomlar, siyanobakterilerde karbon fiksasyonunda rol oynamaktadır. İçlerinde bolca ribuloz 1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO) enzimi içermeleri sebebiyle “karboksizomlar” adı verilmiştir. Ribuloz 1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco) ve  $\beta$ -karbonik anhidraz ( $\beta$ CA) enzimleri CO<sub>2</sub> fiksasyonunda rol oynar (Shively ve diğerleri, 1973).

#### **2.1.5. Gaz kesecikleri**

Siyanobakterilerde gaz kesecikleri ile ilgili araştırmalar, 1965 yılında, Bowen ve Jensen’in, siyanobakterilerde ki gaz keseciklerinin, 75 nm çapında ve 1.0 mm uzunluğa kadar olan silindirik vezikül yığınlarından oluştuğunu (Şekil 2.4.) keşfetmesiyle başlamıştır (Bowen ve Jensen, 1965).

Bazı prokaryotik organizmalar planktoniktir. Yani göl ve okyanus suları içinde belli bir seviyede yaşarlar. Pek çok planktonik siyanobakteri gaz kesecikleri içermektedir (Walsby, Hayes, Boje ve Stal, 1997). Gaz kesecikleri, siyanobakterilerin ışığa doğru yüzmesini ve oksijen yönünden zengin yüzey sularına yükselmesini sağlar. Gaz vezikülleri içeren hücreler göl yüzeyine yükselirler. Rüzgarla sürüklenerek büyük kütleler oluştururlar (Walsby, 1994).



Şekil 2.4. *Aphanizomenon flos-aquae*'de gaz keseciklerinin elektron mikroskobu görüntüleri, (v); gaz kesecikleri (Bowen ve Jensen, 1965)

### 2.1.6. Siyanofisin granülleri

İlk defa *Anabaena cylindrica*'dan izole edilen siyanofisin granülleri, aspartik asit ve arginin aminoasitlerini içeren polipeptitlerdir (Simon,1971). Siyanofisin granüllerinin azot depolama işlevini yerine getirdikleri düşünülmektedir (Simon,1973).

### 2.1.7. Hücre hareketleri

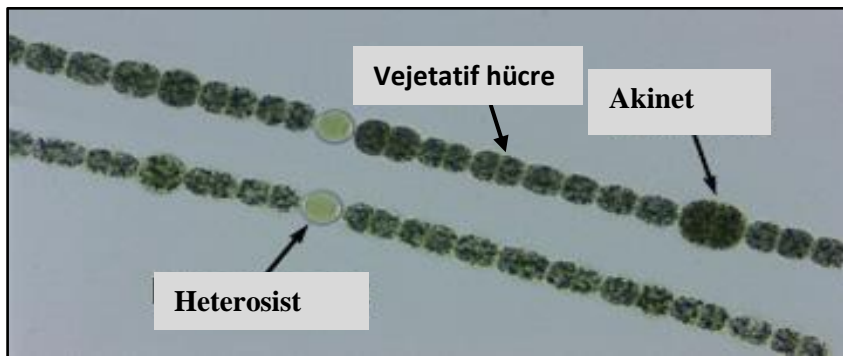
Siyanobakteriler kayma, bükülme veya dönme hareketleri yapabilirler fakat flagella veya kirpiklere sahip değildir. Bu hareketlere neden olan mekanizma anlaşılmamakla birlikte, hücrelerde ritmik büzülme dalgalarının yayılmasında, ozmoz veya yüzey gerilimi ile ilişkili mekanizmaları içeren çeşitli hipotezler öne sürülmüştür (MacColl, 1998). Bir çalışmada ipliksi mat oluşturan *Oscillatoria* hücrelerinin hareketliliği incelenmiş, filamentlerin ışık noktalarına doğru hızlı ve koordineli bir şekilde fototaksi sergilediği görülmüştür. Fototaksinın fotosentezin verimini artırdığı düşünülmektedir (Biddanda ve diğerleri, 2015).

### 2.1.8. Hücre formları

Organizmalar yapı, fonksiyon ve davranış bakımından çok çeşitli hücre formları geliştirmişlerdir. Prokaryotlarda hücre farklılaşması, olumsuz çevre koşullarına adaptasyonu ve hayatta kalmayı sağlamaktadır (Sukenic, 2015). Siyanobakteriler dört tip hücre çeşidine sahiptir. Bunlar; filamentlerin vejetatif hücreleri, nitrojen fiksasyonu yapan heterosistler, spor benzeri akinetler ve hormogoniyumlardır (Castenholz, 2015).

#### 2.1.8.1. Heterosistler

Tüm siyanobakteriler, nitrojen kaynağı olarak nitratla birlikte büyüebilme potansiyeline sahiptir (Holm-Hansen, 1968). Siyanobakterilerin fotosentez gerçekleştiren vejetatif hücreleri nitrojen kaynağından yoksun bırakıldıklarında heterosist adı verilen özelleşmiş hücrelere farklılaşırlar (Thiel, Lyons, Erker, Ernst, 1995). Heterosistler, sadece anaerobik koşullarda işlev görebilen nitrojenaz enzimi aracılığıyla azot fiksasyonu yaparlar (Thiel ve diğerleri, 1995). Heterosistler, fotosistem II'nin eksikliğinden dolayı oksijen üretmezler. Ayrıca heterosistler, peptidoglikan, glikolipit ve polisakkarit katmanla çevrili olduklarından içlerine oksijen girişi gerçekleşmez. Bu şekilde nitrojenazın oksijen tarafından inaktivasyonunda önlenmiş olur (Murry ve Wolk, 1989). Heterosist hücreleri, Şekil 2.5'de olduğu gibi ışık mikroskobuyla bakıldığında vejetatif hücrelerden rahatlıkla ayırt edilebilirler.



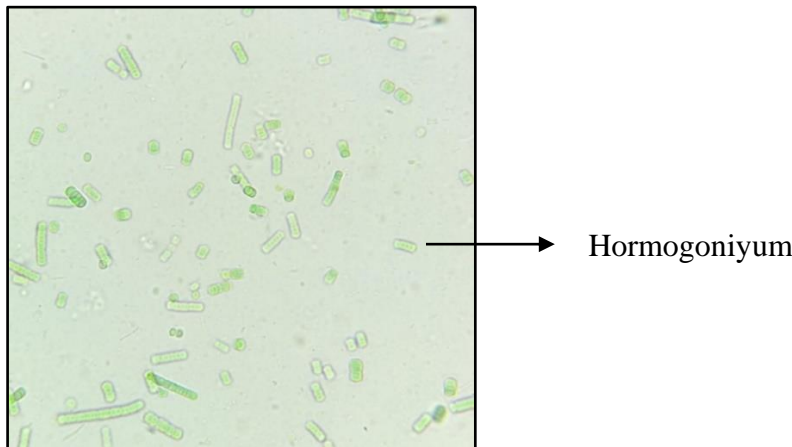
Şekil 2.5. Siyanobakteride heterosist, akinet ve vejetatif hücreleri ( URL-2)

### 2.1.8.2. Akinet

Akinetler genellikle vejetatif hücrelerden daha büyüktür. Granüller halinde görülebilen büyük miktarlarda depolanmış besin maddesi içerirler (Şekil 2.5). Akinetler olumsuz çevre koşullarına yanıt olarak farklılaşmış hücre yapılarıdır (Flores ve Herrero, 2010). Elverişsiz koşullarda (kuraklık, düşük sıcaklıklar vb.) ve durağan çevrelerde (göl çökeltileri, topraklar, vb.) oluşan üreme hücreleridir (Kaplan-Levy, 2010, Dvořák ve diğerleri, 2017). Siyanobakteriler akinete sebep olabilecek şartlara maruz kaldıklarında siyanofisin ve glikojen birikimi gerçekleştirmektedir (Wildman ve diğerleri, 1975, Sukenik ve ark, 2015). Çalışmalarda çeşitli faktörlerin sınırlanmasıyla akinet farklılaşması olup olmadığı gözlenmiştir. *Nostoc* PCC 7524 ile yapılan çalışmalarda ışık sınırlamasının akinet oluşumunda önemli bir faktör olduğu görülmüştür (Sutherland ve Stewart, 1979). *Anabaena circinalis* ile yapılan fosfor sınırlaması deneylerinde, fosfor eksikliğinin de akinet oluşumunu tetiklediği kanıtlanmıştır (Van Dok ve Hart, 1996).

### 2.1.8.3. Hormogoniyum

Koloni meydana getiren türlerde hücre bölünmesi ve fragmantasyon tarzında eşeysiz üreme görülür. İplikli yapı gösteren türlerin bazılarında aradaki hücrelerin ölmesiyle iplik birkaç hücreden ibaret parçalara ayrılır. Bu parçalara hormogoniyum denir. Hormogoniyumlar anormal şartlarda meydana gelir. Şartlar elverişli olduğu zaman gelişerek ipliği oluştururlar (Dvořák ve diğerleri, 2017).



Şekil 2.6. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünün oluşturduğu hormogoniyumlar (ışık mikroskobu, 100X)

## 2.2. Siyanobakterilerin Ekolojisi

Siyanobakteriler, yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere edebilme kabiliyetlerinden dolayı, tuz gölleri, aşırı tuzlu lagünler ve aşırı tuzlu sülfür kaynakları dahil olmak üzere aşırı tuzlu ortamlara adapte olmuşlardır (Oren, 2012). Siyanobakteriler aynı zamanda çeşitli karasal ortamlarda da yaşayabilmektedirler. Özellikle toprak, nemli olmasından dolayı büyümeleri için en potansiyel habitatlardan birisi olarak görülmektedir. Azot fiksasyonu yapmaları sebebiyle siyanobakteriler toprak verimliliğinin korunmasında ve toprak ıslahında önemli bir rol oynamaktadır (Thajuddin ve Subramanian, 2005). Siyanobakterilerin termal sularda da bulunabildiği bildirilmiştir. Setchell, siyanobakterilerin yaşayabildiği üst sıcaklık limitinin 65°C ile 68°C arasında olduğunu bildirmiştir (Setchell, 1903; Thajuddin ve Subramanian, 2005). Siyanobakteriler aynı zamanda düşük sıcaklıkları da tolere edebilirler. Wynn ve Williams sıcak ve soğuk çöllere adapte olmuş siyanobakterileri çalışmalarında listelemiştir (Wynn ve Williams, 2000). *Phormidium sp.*'nin geniş buz katmanlarında bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca *Chroococcus turgidus*, *Limnothrix sp.*, *Mastigocladus sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Spirulina sp.* ve *Synechococcus sp.* türlerinin Almanya'da asit gölünde bulunduğu gösterilmiştir (Steinberg, Schäfer ve Beisker, 1998). Siyanobakteriler yüksek oranda toksik metallerin (Cu, Cd, Zn vb.) bulunduğu ortamlarda da büyüebilmektedirler (Mallick ve Rai, 1990; Thajuddin ve Subramanian, 2005).

Siyanobakteriler ortamlarda tek başına bulunabildikleri gibi alglerle, mantarlarla, hayvanlarla, bitkilerle simbiyoz halinde de yaşayabilirler. Siyanobakterilerin simbiyozunun en bilinen örneği, bitkilerle heterosistli filamentli bir cins olan *Nostoc* arasında kurulan simbiyozdur. Simbiyotik formlarda serbest yaşayanlara göre heterosistli hücre oranı vejetatifli hücreden daha fazladır. Likenler, mantarlarla (ascomycetes ve basidiomycetes) siyanobakteri veya algler arasında kurulan simbiyoz örneğidir (Playfair, 1921; Thajuddin ve Subramanian, 2005). Tek başlarına hayatta kalamayacakları habitatlarda birliktelik oluştururlar. Likenler, alg ve mantarların nadir oldukları yerlerde yayılmışlardır. *Calothrix*, *Fischerella*, *Gloeothece*, *Nostoc* ve *Scytonema* gibi siyanobakteri türleri likenlerde bulunur (Hitch ve Millbank, 1975; Subramanian, 2005).

### 2.3. Gümüş Nanopartikül (Ag-Np)

Nano ölçekli yeni malzemelerin tasarımını, üretimini, karakterizasyonunu ve uygulanmasını içeren multidisipliner bir bilim dalı (Bhatia, 2016) olan nanoteknoloji, Ulusal Nanoteknoloji Girişimi Stratejik Planında (Aralık, 2007) şu şekilde tanımlanmaktadır; “Nanoteknoloji, benzersiz fenomenlerin yeni uygulamaları mümkün kıldığı yaklaşık 1 nm ve 100 nm arasındaki boyutlarda maddenin anlaşılması ve kontrol edilmesidir. Nano ölçekli bilim, mühendislik ve teknolojiyi kapsayan nanoteknoloji, maddeyi bu uzunluk ölçeğinde görüntüleme, ölçme ve modellemeyi içerir” (NNI, 2007). “Bir nanometre, bir metrenin milyarda biridir. Bir kağıt yaprağı yaklaşık 100.000 nm kalınlığındadır; tek bir altın atomu, çap olarak nanometrenin yaklaşık üçte biri kadardır. Yaklaşık 1 nm ile 100 nm arasındaki boyutlar nano ölçek olarak bilinmektedir.” (NNI, 2007).

Nanoteknoloji, nanopartiküllerin üstün magnetik (Hu ve diğerleri, 2006; Bertorelle ve diğerleri, 2006), optik (Huang, 2007; Chen ve diğerleri, 2018), elektronik (Zhao ve diğerleri, 2005; Behafarid ve diğerleri, 2012), mekanik (Li, Cao, Zhang ve Dang, 2006; Kotov, Mikhaylovskaya, Borisov, Yakovtseva, Portnoy, 2017) özelliklerinden dolayı yoğun bir bilimsel araştırma alanı haline gelmiştir.

Metalik nanopartiküller, altın, platin, gümüş, titanyum, çinko, seryum, demir ve talyum gibi saf metallere veya oksitler, hidroksitler, sülfidler, fosfatlar, florürler ve klorürler gibi saf metallerin bileşiklerinden üretilirler (Elizabeth, Néstor ve David, 2019).

Metalik nanopartiküller sınıfına giren gümüş nanopartiküller, metalik gümüşün, nanoteknoloji biliminin gündeme gelmesiyle birlikte nano parçacıklara dönüştürülmesiyle elde edilmiştir.

Gümüş nanopartiküller, antimikrobiyal özelliklerinden dolayı pek çok uygulamada kullanılabilir (De Moura, Mattoso ve Zucolotto, 2012; Mittal, Bhaumik, Kumar ve Banerjee, 2014; Budama, Çakır, Topel ve Hoda, 2013; Francis, Joseph, Koshy ve Mathew, 2017). Patojenik mikroorganizmaların ilaç direnci geliştirmesi, araştırmacıları yeni antimikrobiyal ajanlar bulmaya yöneltmiştir. Gümüşün ve gümüş bileşiklerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanımı uzun yıllardır bilinmektedir (Russell ve Hugo, 1994).

Gümüş içeren kremler yara ve yanık tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gümüşün sülfadiazin ile birleşimi olan gümüş sülfadiazinin, geniş antibakteriyel aktivite spektrumu, düşük toksisite, minimal doku reaksiyonu ve uygulama kolaylığı gibi özellikleri sebebiyle yara enfeksiyonlarına ve yara örtülerine güvenli bir şekilde uygulanabileceği gösterilmiştir (Fox, 1983).

Dakal ve arkadaşları “Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkilerinin mekanik temelleri” isimli derlemelerinde gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisinin aydınlatılması için şimdiye kadar tanımlanmış en iyi dört mekanizmaya yer verilmiştir. Bunlar; “(1) Ag-NP'lerin hücre duvarı ve zar yüzeyine yapışması, (2) Ag-NP'lerin hücre içine girmesi ve hücre içi yapıların (mitokondri, vakuoller, ribozomlar) ve biyomoleküllerin (protein, lipitler ve DNA) zarar görmesi, (3) Ag-NP'lerin, reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin oluşumuyla hücrel toksisiteye ve oksidatif strese neden olması (4) Sinyal iletim yollarının modülasyonu”dur (Dakal, Kumar, Majumdar ve Yadav, 2016).

Gümüş nanopartiküller nanosensör teknolojisinde de yer almaya başlamıştır. “En temel düzeyde bir nanosensörde bir nanomateryal, bir tanıma elemanı ve sinyal iletimi için bir mekanizma olması gerekmektedir”(Vikesland, 2018). Yeşil sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin suda amonyak tespiti için bir optik sensörde kullanıldığı rapor edilmiştir (Pandey, Goswami ve Nanda, 2012). 2018 yılında yapılan bir çalışmada, yeşil sentezle elde edilen gümüş nanopartiküllerin elektrokimyasal algılama davranışı incelenmiş, suda ki toksik civa iyonlarını hızlı bir şekilde algıladığı tespit edilmiştir (Sebastian, Aravind ve Mathew, 2018).



## 2.4. Siyanobakterilerden Gümüş Nanopartikül Sentezi

Gümüş nanopartiküllerin sentezinde kullanılan yöntem, indirgeyici madde ve stabilizatörün değiştirilmesiyle nanopartikülün şekil, boyut ve boyut dağılımının değiştiği görülmüştür (Wang ve Muhammed, 1999; Pal, Tak ve Song, 2007; Zielińska, Skwarek, Zaleska, Gazda ve Hupka, 2009). Nanopartiküllerin şekil ve boyutunun değişmesiyle nanopartikülün katalitik aktivitesi de değişmektedir (Morones ve diğerleri, 2005). Bu sebeble gümüş nanopartiküllerin sentezi aktif bir çalışma alanı haline gelmiştir.

Nanopartiküllerin sentezinde aşağıdan yukarı ve yukarıdan aşağı olmak üzere başlıca iki yaklaşım vardır (Jamkhande, Ghule, Bamer ve Kalaskar, 2019). Yukarıdan aşağı yaklaşımında öğütme gibi mekaniksel işlemlerle malzemeler nanoboyuta kadar küçültülebilmektedir (Jung, Sohn, Sung, Hyun ve Shin, 2015). Aşağıdan yukarıya yaklaşımında ise; atomik veya moleküler boyuttaki yapılar, kimyasal reaksiyonlar ile büyütülerek partikül oluşumu gerçekleştirilebilmektedir (Gürmen ve Ebin, 2008). Biyolojik kaynaklar kullanılarak nanopartikül sentezi aşağıdan yukarıya yaklaşımı ile gerçekleştirilmektedir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Metalik nanopartiküllerin sentez metotları (Jamkhande ve diğerleri, 2019)

<b>Yukarıdan aşağıya metotları</b>	<b>Aşağıdan yukarıya metotları</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lazer ablasyonu</li> <li>• Püskürtme</li> <li>• Mekanik öğütme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fiziksel buhar biriktirme</li> <li>• Kimyasal buhar biriktirme</li> <li>• Sol-jel metot</li> <li>• Kimyasal indirgeme</li> <li>• Hidrotermal yöntem</li> <li>• Solvotermal yöntem</li> <li>• Sprey pirolizi</li> <li>• Lazer pirolizi</li> <li>• Biyolojik metot</li> </ul>

Genel olarak nanopartiküller fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlarla hazırlanabilir. Gümüş nanopartiküllerin kimyasal sentezi için gümüş tuzu ( $AgNO_3$ ), indirgeyici ajan ve nanopartiküllerin bir araya toplanmasını ve büyümesini kontrol etmek için stabilizatöre

ihtiyaç vardır (Lee, Song ve Lee, 2010). Gümüş nitrat, gümüş nanopartiküller sentezi için sıklıkla kullanılan bir gümüş tuzudur (Lee ve diğerleri, 2010). Kimyasal sentezde indirgeyici olarak polioller (Favier, Pla ve Gómez, 2019), sodyum borhidrür (Mavani ve Shah, 2013), sodyum sitrat (Ranoszek ve diğerleri, 2017) ve N, N-dimetilformamid (Pastoriza-Santos ve Liz-Marzán, 1999) kullanılır. “Nanopartikül stabilitesi terimi, kümelenme, bileşim, kristallik, şekil, boyut ve yüzey kimyası gibi nanoyapı özelliklerinin korunmasını tanımlamak için kullanılan bir terimdir” (Phan ve Haes, 2019). Kimyasal sentezde stabilizatör olarak polivinil-pirolidon (PVP),  $\beta$ -siklodekstrin (He, Tan, Liew ve Liu, 2004), setiltrimetilamonyum bromür (CTAB), sodyum dodesil sülfat (SDS), polialkilamin hidroklorür (PAH); poli akrilamid (PAA) gibi çeşitli yüzey aktif maddeler yada polimerler kullanılabilir (Bae ve diğerleri, 2011). Stabilizatörler gümüş nanopartiküllerin yüzeylerine bağlanırlar ve nanopartiküllerin kümeleşmesini engellerler (Ghorbani, Safekordi, Attar, Sorkhabadi, 2011).

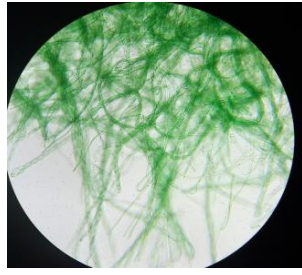
Bir araştırmada, gümüş nanoküpler, polivinil pirolidon (PVP) varlığında gümüş nitratin etilen glikol ile indirgenmesiyle büyük miktarlarda sentezlenmiştir. Bu süreçte, etilen glikol hem çözücü hem de indirgeme ajanı olarak kullanılmıştır. Gümüş nitrata göre PVP'nin varlığı ve molar oranı, ürünün geometrik şeklini ve boyutunu belirlemede önemli rol oynamıştır (Sun ve Xia, 2002). Diğer bir araştırmada, gümüş nanopartiküller, birincil indirgeyici olarak sodyum boro hidrit ( $\text{NaBH}_4$ ) ve hem ikincil indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak trisodyum sitrat (TSC) kullanılarak sentezlenmiştir. İndirgeme işlemleri iki farklı sıcaklıkta, yani  $60^\circ\text{C}$ 'de ve  $90^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Farklı boyutlarda nanopartikül sentezi için farklı reaksiyon koşulları denenmiştir. 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 63, 85 ve 100 nm boyutlarında gümüş nanopartiküller sentezlenmişlerdir (Agnihotri ve diğerleri, 2014).

Partikül boyutu ve boyut dağılımı, nanopartikül sistemlerinin en önemli özellikleridir. Nanopartikülleri mümkün olan en küçük boyutta ancak maksimum kararlılıkla sentezlemek zordur. Patel ve arkadaşlarının çalışmalarında, nanopartiküllerin boyutlarının kullanılan siyanobakteri türleri arasında önemli ölçüde değişiklik gösterdiği TEM görüntü sonuçlarıyla doğrulanmıştır (Patel ve diğerleri, 2015). Ayrıca reaksiyonun süresi, pH değeri, ekstrakt konsantrasyonu ve sıcaklık sentezlenen nanopartikülün morfolojisi üzerinde etkili olmaktadır (Kaviya, Santhanalakshmi, Viswanathan, Muthumary ve Srinivasan, 2011; Shah, Fawcett, Sharma, Tripathy ve Poinern, 2015). Gümüş

nanopartiküllerin bakterisidal etkisinin boyuta bağlı olduğu doğrulanmıştır (Morones ve diğerleri, 2005; Rai, Yadav ve Gade, 2009; Agnihotri ve diğerleri, 2014). Nanopartikül ne kadar küçükse o kadar yüksek spesifik yüzey alanına ve dolayısıyla o kadar yüksek aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte nanopartikül şeklinin de aktivite üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Pal, Tak ve Song, 2007; Lok ve diğerleri, 2007; Sintubin ve diğerleri, 2011). Ayrıca biyosentezlenen Ag-NP'ler uzun zaman periyotlarında stabil kalabilir. Nanopartiküllerin uzun süreler stabil kalması diğer moleküllerle daha kolay işlevselleşmesini ve bunun sonucu olarak mikroorganizmalarla etkileşimlerini geliştirerek antimikrobiyal aktivitesinin artmasını sağlar.

Mikrobiyal hücrelerle, biyoteknolojik bir süreçle nanopartikül üretimi kimyasal senteze alternatif bir yaklaşımdır. Yeşil sentezde indirgeyici ajanlar ve stabilizatörler protein, karbonhidrat, bakteriler, mantarlar, mayalar, algler veya bitkiler tarafından üretilen biyomoleküllerdir. Biyomoleküller (alkaloidler, fenolik bileşikler, terpenoidler, enzimler, ko-enzimler, proteinler, şekerler vb.) metal tuzlarını pozitif oksidasyon durumundan sıfır oksidasyon durumuna indirger. Siyanobakterilerde bulunan hem nitrojenaz hem de hidrojenaz enzimleri de indirgeyici maddeler olarak hareket ederek, gümüş iyonlarını azaltarak nano gümüş oluşturabilir (Brayner ve diğerleri, 2007). Metalik nanopartiküllerin boyutu ekstraktta bulunan biyolojik bileşiklere bağlıdır. Ekstraktta güçlü bir indirgeyicinin varlığı, hızlı bir reaksiyonu ve daha küçük nanopartiküllerin oluşumunu destekler (Roy, Bulut, Some, Mandal ve Yılmaz, 2019). Nanoparçacıkların yeşil sentezinde biyolojik moleküller sadece metal tuzlarını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda oluşan nanoparçacıkları da kaplar ve kapatıcı ajan olarak işlev görür. Kimyasal sentezle üretilen nanopartiküllerde indirgeyici ve stabilizatör olarak kullanılan toksik maddelerin bir kısmı partikül üzerinde kalır ve biyolojik uygulamalarda kullanımını kısıtlar.

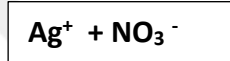
Biyolojik sentezde nanopartiküller hücre içi sentez ve hücre dışı sentez olmak üzere iki yöntemle sentezlenebilmektedir (Lengke, Fleet ve Southam, 2007; Singh ve diğerleri, 2014). Hücre içi sentez yöntemi, biriken nanopartikülleri hücrelerden kurtarmak için ek adımlar gerektirdiğinden daha az tercih edilir. Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi Şekil 2.15'de şematize edilmiştir.



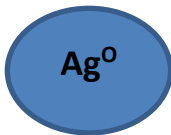
Siyanobakteri hücreleri



Siyanobakteri ekstraktı



Gümüş nitratın indirgenmesi



Yeşil sentez



Gümüş nanopartikül ( Ag-NP)

Şekil 2.7. Gümüş nanopartikül sentezinin şematik tanıtımı

## 2.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde çok çeşitli karakterizasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Bunlar mikroskobik ve spektroskopik yöntemler olabilmektedir.

Nanopartiküllerin morfolojik değerlendirmesinde kullanılan mikroskobik tekniklerin en önemlileri; taramalı elektron mikroskopisi (SEM) (Kalimuthu ve diğerleri, 2008), geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) (Gurunathan ve diğerleri, 2009) dir. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), elektron mikroskopi tabanlı teknik nanopartiküllerin doğrudan görüntülenmesi ile boyut, şekil ve yüzey morfolojisini belirler. SEM tekniği elektron tarama prensibine dayanmaktadır (Khan, Shameli, Sazili, Selamat ve Kumari, 2019). SEM'de bir elektron ışını objektif mercekle numuneye yansıtılır. Bu ışın numunenin yüzeyi üzerinden tarar, foton ve elektronlar dahil çeşitli sinyaller numune yüzeyinden yayılır. Numune ve ışın arasındaki etkileşim nanomalzemelerin yüzey yapısı ve morfolojisi hakkında farklı sinyaller üretir (Bhaumik ve diğerleri, 2015). SEM karakterizasyonu sürecinde öncelikle, nanopartiküllerin çözeltisi başlangıçta kuru bir toza dönüştürülmelidir. Bu kuru toz bir numune tutucu üzerine monte edilir, ardından bir püskürtme kaplayıcı kullanılarak iletken bir metalle (örneğin altın) kaplama yapılır (Bhatia, 2016). Tüm numune daha sonra odaklanmış bir elektron ışını ile taranarak analiz edilir. Nanopartiküllerin şeklinin ve boyutunun belirlenmesinde kullanılan geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) tekniği, çok ince bir numunenin yüksek enerjili bir elektron ışınıyla ışınlanmasını içerir (Bhaumik ve diğerleri, 2015). TEM tekniği sulu çözeltilerde de kullanılabilirdiği için SEM'e göre daha kullanışlıdır.

Spektroskopik yöntemlerden en çok kullanılanları ise XRD (X-Işını kırınımı), X-ışını fotoelektronunu (XPS), Dinamik ışık saçılımı metodu (DLS) ve UV-Görünür spektroskopisidir (Khan ve diğerleri, 2019). Sentezlenen nanopartiküllerin analizi için ilk karakterizasyon yöntemi UV-vis spektroskopisidir (Gurunathan ve diğerleri, 2009). UV-vis spektrumu absorpsiyon pikleri gümüş nanopartiküllerin varlığını göstermektedir (Aziz, Abdullah, Saber, Rasheed ve Ahmed, 2017). X ışını kırınımı (XRD) yöntemi, nanopartiküllerin kristal yapısı hakkında bilgi verebilir (Mehta, Chhajlani ve Shrivastava, 2017). Nanopartikül yüzeylerini ve kaplamaları karakterize etmek amacıyla kullanılan X-ışını fotoelektronu (XPS), en hassas teknik olarak kabul edilir. (Khan ve diğerleri, 2019).

Kolloidal malzemenin stabilitesi genellikle nanopartiküllerin zeta potansiyeli ile analiz edilir. Zeta potansiyel değerleri, yüzey hidrofobikliğinin ve nanokapsüller içinde kapsüllenmiş veya yüzeye kaplanmış malzemenin değerlendirilmesinde kullanılabilir (Bhatia, 2016).



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Su Örneklerinin Alındığı Bölgenin Koordinatları

Bu çalışmada, su örnekleri 17.02.2019 tarihinde Amasya ili sınırları içerisinde bulunan Tersakan Çayı'ndan ( $40^{\circ}52'55.6''N$   $35^{\circ}38'00.4''E$ ) alınmıştır. Suyun sıcaklığı saat 12:00'da  $10^{\circ}C$  ve  $ph:7,6$  olarak ölçülmüştür. Örnek alınan noktalar Resim 3.1 ve Resim 3.2'de işaretlenmiştir.



Resim 3.1. Örnek alınan bölgenin uydu görüntüsü (URL-3)



Resim 3.2. Örnek alınan bölgenin fotoğrafı

### 3.2. Siyanobakterilerin Saflaştırılması

Su örnekleri aynı gün içerisinde laboratuvara getirilmiştir. 100 ml BG-11 ve BG-0 besiyeri (Allen ve Stainer, 1968; Allen, 1968; Rippka, Deruelles, Waterbury, Herdman ve Stanier, 1979) içeren steril sekiz adet erlen hazırlanmıştır (Resim 3.4). BG-11 ve BG-0 besiyeri hazırlanırken Çizelge 3.1’de verildiği şekilde hazırlanan stok solüsyonlardan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8. stoktan 10 ml, 9. stoktan 1 ml alınıp üzerine son hacim 1000 ml olacak şekilde saf su eklenmiştir. BG-0 besiyeri hazırlanırken 1. stok kullanılmamıştır (Resim 3.3). Herbir erlene 100 ml su örneği eklenmiştir. Ayrıca her bir besi ortamına ökaryotik mikroorganizmaların gelişmesini engellemek için 0.1 gr/L sikloheksimid eklenmiştir. Siyanobakteriler 22 °C’de oda sıcaklığında 10 gün boyunca aydınlık/ karanlık periyodunda inkübe edilmiştir.

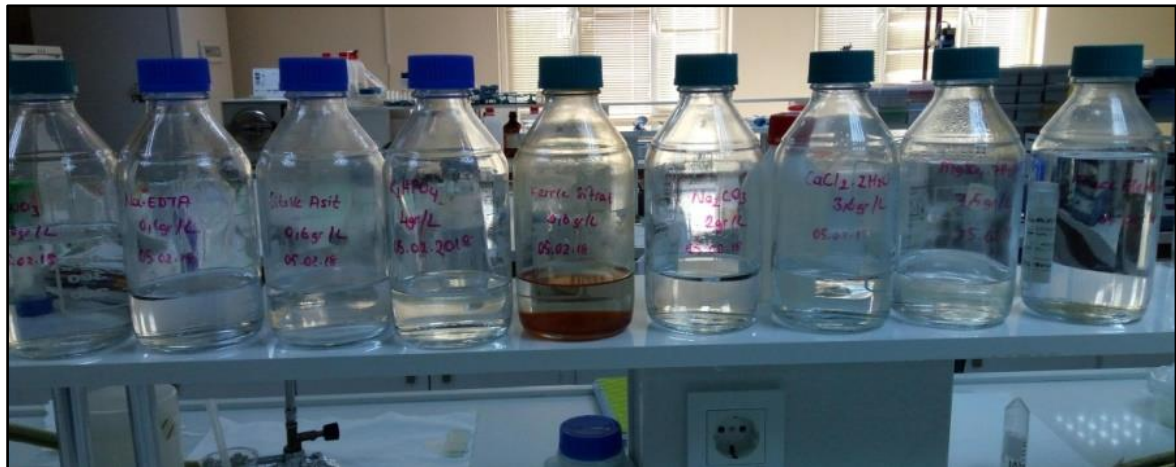


Resim 3.3. BG-11 ve BG-0 besiyeri içeren 250 ml’lik erlenler



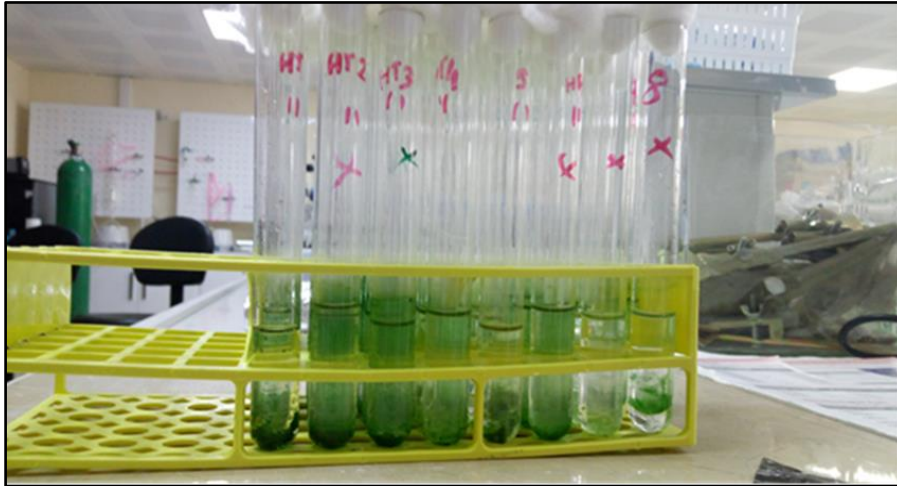
Çizelge 3.1. Bg-11 besiyeri için stok solüsyonlar (Allen and Stainer, 1968)

STOK SOLÜSYONLAR	KİMYASALLAR	gr/ L
1.Stok	NaNO <sub>3</sub>	150
2.Stok	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4
3. Stok	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	6
4. Stok	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	3,6
5. Stok	Sitrik asit	0,6
6. Stok	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,6
7. Stok	Na <sub>2</sub> Edta2H <sub>2</sub> O	0,1
8. Stok	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2
9.Stok (Mikroelementler)	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86
	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	1.81
	ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,222
	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0.079
	COCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.050
	NaMoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.391

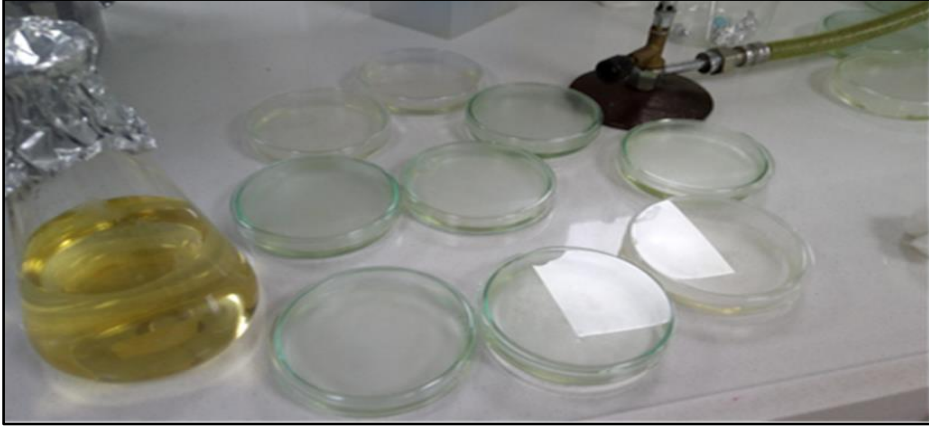


Resim 3.4. BG-0 ve BG-11 besiyeri için hazırlanmış stok solüsyonlar

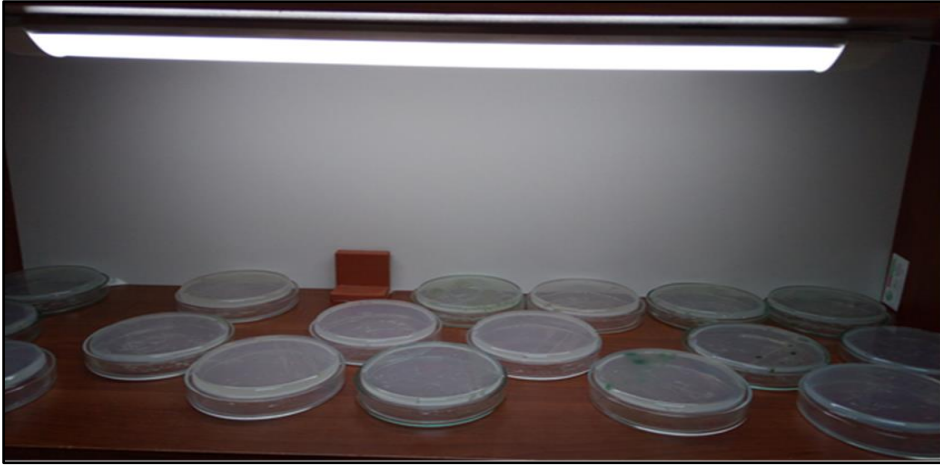
Gelişim gözlenen erlenlerden alınan örnekler, BG-O ve BG-11 besiyeri içeren tüplere ekilmiştir (Resim 3.4). Tüplerde gelişim gözlendikten sonra, steril öze ile alınan örnekler mikroskop altında incelenmiştir. Farklı morfolojilere sahip siyanobakteriler gözlemlenmiştir. Seri dilüsyon metodu ile besiyerindeki mikroorganizma popülasyonunun kademeli bir şekilde azaltılması siyanobakterilerin izole edilmesine yardımcı olmaktadır (Waterbury, 2006). Seri dilüsyon için öncelikle her tüpte 15 ml besiyeri olacak şekilde 8 tüp hazırlanmıştır. İlk tüp iyice vortekslenerek siyanobakterilerin homojen dağılması sağlanmıştır. Daha sonra ilk tüpten mikropipetle 1 ml alınarak ikinci tüpe eklenmiştir. İkinci tüpten 1 ml alınarak üçüncü tüpe eklenmiştir. Son tüpe kadar dilüsyona devam edilmiştir (Resim 3.5). Her aşamada örnek eklendikten sonra tüpler vortekslenmiştir. Tüpler floresan ışık altında gelişim gözlenene kadar bekletilmiştir. Son tüpte gelişim gözlendikten sonra mikroskop altında incelenmiştir. Dilüsyon sonucu bazı tüplerde saflaşma görülmüştür. Bazı tüplerde ise filamentli siyanobakterilerin ve tek hücreli siyanobakterilerin bir arada geliştiği gözlemlenmiştir. Filamentli siyanobakterilerin ayrılması için BG-11 besiyeri ve agaroz içeren plaklara steril pastör pipeti ile ekim yapılmıştır (Resim 3.6, Resim 3.7). Filamentli siyanobakteriler gelişerek besiyerinin içerisinde yayılmış ve tek hücreli siyanobakterilerden ayrılmıştır (Resim 3.8).



Resim 3.5. Siyanobakterilerin tüplerde gelişimi



Resim 3.6. BG-11 içeren katı besiyeri hazırlanışı



Resim 3.7. Katı besiyerine ekimi yapılmış örnekler



Resim 3.8. İzolatın katı besiyerinde gelişimi

Katı besiyerinde üreme gözlemlendiğinde, siyanobakterilerin gelişim gösterdiği en son bölgeden örnek alınıp mikroskopta incelenmiştir. Saflaştırma sağlandığı görülmüştür. Aynı bölgeden örnek alınarak saf kültür elde etmek için tekrar tüplere ekilmiştir.

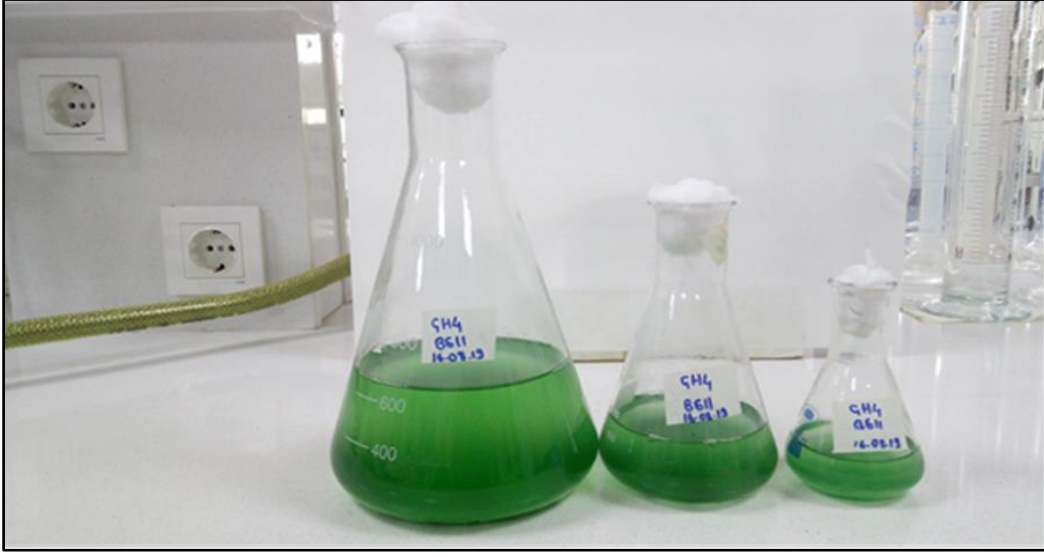
### 3.3. Siyanobakterilerin Kültürasyonu

Saflaştırdığımız izolatın, azot içeren BG-11 besiyerinde gelişim gösterdiği görülmüştür. Bu sebeple içerisinde BG-11 besiyeri bulunan 100 ml'lik erlenlere ekilmiştir. 100 ml'lik erlenlerde geliştirdiğimiz örnekler, içerisinde BG-11 besiyeri bulunan steril edilmiş 250 ml'lik erlenlere geçirilmiştir. 250 ml'lik erlenlerde gelişen siyanobakteriler 10. gün sonunda içerisinde BG-11 besiyeri bulunan steril edilmiş 1000 ml'lik erlenlere geçirilmiştir. Kültürler, laboratuvar koşullarında 22°C de, ışık altında, BG-11 besiyeri ortamında (pH: 7.0) 10 gün süreyle tutulmuştur (Resim 3.9). Kültürlerde kontaminasyon olup olmadığını kontrol etmek amacıyla erlenlerden her aşama öncesi örnek alınarak mikroskopta incelenmiştir.

1000'lik erlende bulunan siyanobakteri kültürleri falkon tüplere alınıp soğutmalı santrifüjde 14.000 devirde 15 dk santrifüj edilerek pelet elde edilmiştir. Pelet liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulmuş örneklerin üzerine sıvı azot eklenerek porselen bir havanda dövülmüştür. Hücrelerin tamamen parçalanması sağlanmış, üç katı oranında su eklenerek 14.000 devirde 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınıp liyofilize edilmiştir (Resim 3.9-14).



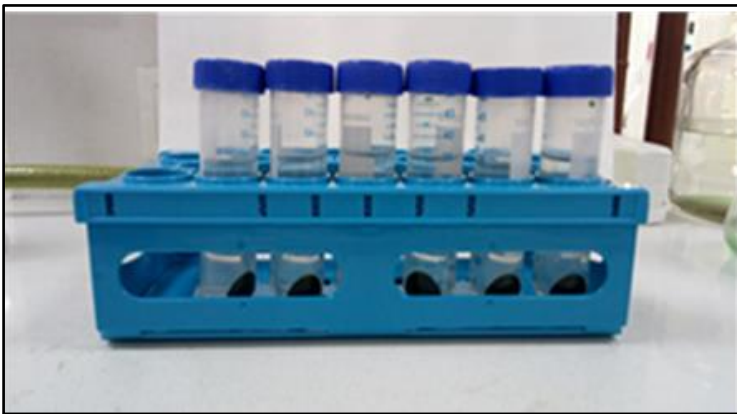
Resim 3.9. Siyanobakterilerin ışıkta gelişimi



Resim 3.10. Siyanobakteri kültürü



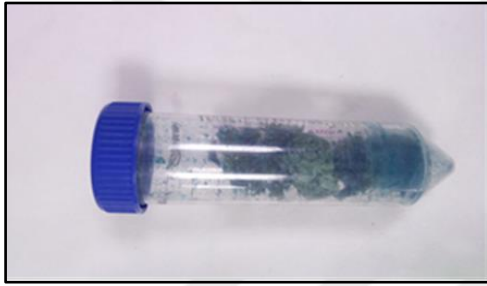
Resim 3.11. Siyanobakteri kültürlerinin santrifüj edilmesi



Resim 3.12. Santrifüj edilmiş siyanobakteri kültürleri



Şekil 3.13. Siyanobakterilerin sıvı azotla parçalanması



Şekil 3.14. Liyofilize edilmiş hücre ekstraktı

### 3.4. Genomik DNA İzolasyonu

Saf izolatların DNA izolasyonu, KOAC (potasyum asetat) DNA izolasyon metodu (Bozkaya, 2012) ile gerçekleştirilmiştir. Siyanobakteri hücre pelletleri öncelikle ependorf tüplere koyulmuştur. Her bir ependorf üzerine 60  $\mu$ l liziz tamponu ve 50  $\mu$ l lizozim eklenmiştir. Karışım 37°C de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. 20  $\mu$ l N-Lauryl sülfat (%30) eklenerek, 65°C'de 3 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Ependorf tüpler buz üzerine alınıp 10 dk bekletilmiştir. 200  $\mu$ l KOAC (5 M) eklenip, shakerda 2 dk 100 rpm karıştırılmıştır. Soğutmalı santrifüjde 10.000 g devirde 15 dk + 4°C santrifüj edilmiştir. Pellet üzerine 600  $\mu$ l % 70'lik soğuk etanol dökülüp soğutmalı santrifüjde 13.000 g devirde 15 dk + 4°C santrifüj edilmiştir. Etanolü uzaklaştırmak için ependorflar ters çevrilip 15-20 dk bekletilmiştir. Elde edilen DNA 50  $\mu$ l TE tamponunda çözülüp, - 20 °C de saklanmıştır.

### 3.5. 16S rRNA'nın PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Amplifikasyonu

Amplifikasyon, moleküler tanıda genetik materyalin (RNA, DNA) kopyalarının elde edilmesi işlemidir. Amplifikasyon, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) aracılığıyla, gerçekleştirilmektedir. PZR tekniği, çift sarmal DNA zincirinin yüksek sıcaklıkta çözülmesi (denatürasyon), primer olarak kullanılan oligonükleotitlerin DNA'ya bağlanması (primer eşleşmesi) ve taq polimeraz enzimi sayesinde primerlere nükleotit eklenmesi (primer uzaması) işlem döngülerinin tekrarından oluşur (Mullis ve diğerleri, 1986). Siyanobakteri izolatlarının tür tespiti için 16S rRNA gen bölgesi DNA dizileri kullanılmaktadır. PZR çalışması için, siyanobakterilere özel primer dizileri seçilmiştir. Forward primer olarak CYA359F (5'-GGG GAA TYT TCC GCA ATG GGd 3') (Nübel, Garcia-Pichel ve Muyzer, 1997) ve reverse primer olarak 23S30R (5'-CTT CGC CTC TGT GTG CCT AGG T-3') (Taton, Grubisic, Brambilla, Wit ve Wilmotte, 2003) kullanılmıştır. Bir izolatın PZR amplifikasyonu için 25 µl reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Çizelge 3.2'de verilen tüm maddeler değerlere uygun olarak ependorf tüpte karıştırıldıktan sonra son hacim 24 µl olacak şekilde distile su eklenmiştir. Karışım üzerine siyanobakteri izolatından elde edilen DNA (1 µl) eklenmiştir. PZR cihazında (Resim 3.15) reaksiyon şartları, Çizelge 3.3'de verildiği gibi oluşturulmuştur (PeQLAB PeQ STAR Thermal Cycler).

Çizelge 3.2. Bir örneğin PZR amplifikasyonu için kullanılan reaksiyon karışımı

Reaksiyon karışımındaki malzemeler	Hacim
10X PZR tamponu	2,5 µl
Primer F 10 mM	1 µl
Primer R 10 mM	1 µl
BSA 10 mg/ml	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub> 25 mM	2 µl
10 mM dNTP karışımı	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,2 µl
Kalıp DNA	1 µl
Saf su	13,7 µl
Toplam hacim	25 µl

Çizelge 3.3. 16 S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyon şartları

Reaksiyon basamağı	Sıcaklık	Süre	Döngü
Başlangıç Denatürasyon	94° C	5 dakika	1
Denatürasyon	94° C	1 dakika	35
Primer Bağlanması	60° C	1 dakika	
Primer uzaması	72° C	3 dakika	
Bitiş uzaması	72° C	10 dakika	1
Soğuma	25° C	1 dakika	1



Resim 3.15. PZR cihazı (PeQLAB PeQ STAR Thermal Cycler)

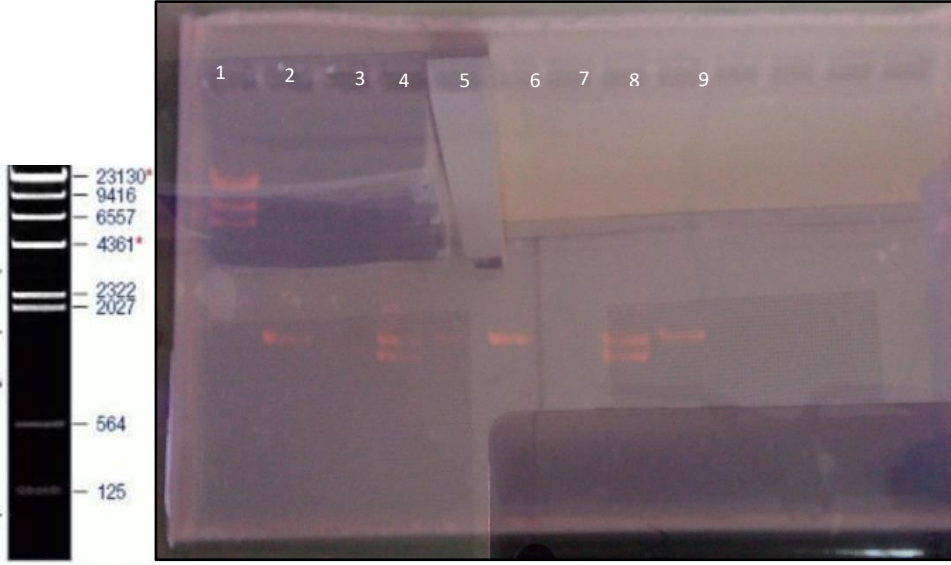


### 3.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Kontrolü

İzolasyon sonucunda elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi (Resim 3.16) kullanılarak kontrol edilmiştir. % 1'lik agaroz jel hazırlanarak jel tankına dökülmüştür. Jele yükleme yaparken 3 mikrolitre PZR ürünü, yükleme boyası ile karıştırılarak kuyucuklara bırakılmıştır. İlk kuyucuğa marker (Lambda DNA/HindIII Marker, Thermo Scientific) yüklenmiştir. Diğer kuyucuklara PZR ürünleri yüklenmiştir (Resim 3.17). PZR ürünleri, agaroz jelde agaroz jel elektroforez cihazında (Resim 3.16), 100 voltta bir saat yürütülmüştür. Floresan özelliğinden dolayı PZR ürünlerini görünür hale getireceğinden agaroz jel, etidyum bromürde (5 mg/ml) 10 dk bekletilmiştir. Sonrasında UV transillüminatör'de (Clear View UV Transilluminatör) kontrol edilmiştir. Tez çalışmamızda kullanılan izolata ait PZR ürününden elde edilen bantlar, 4. ve 8. kuyucuklarda görülmektedir (Resim 3.17).



Resim 3.16. Agaroz jel elektroforez cihazı (PeQLAB PeQPOWER )

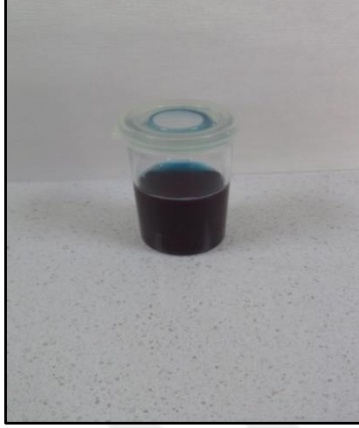


Resim 3.17. PZR ürünlerinin % 1 lik agaroz jeldeki görüntüleri

### 3.7. Gümüş Nanopartikül (Ag-NP) Sentezi

Ag-NP'ler yeşil sentez metoduyla sentezlenmiştir (Singh ve diğerleri, 2014). Gümüş nanopartikül sentezi için öncelikle gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) ( $\text{MA:169.87 g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) kullanılarak 10 mM, 5 mM, 1 mM, 0,1 mM'lık dört ayrı 100 ml'lik gümüş nitrat çözeltisi hazırlanmıştır. Liyofilize edilmiş siyanobakteri hücre içeriği saf suda çözülerek (10 mg/ml) siyanobakteri ekstraktı hazırlanmıştır (Resim 3.18). Çizelge 3.4'de verilen reaksiyon koşulları gümüş nitratın dört ayrı çözeltisi (10 mM, 5 mM, 1 mM, 0,1 mM) (Resim 19-22) için kurulmuştur. Herbir behere 10 mL gümüş nitrat solüsyonu, Çizelge 3.4'de verilen miktarlarda ekstrakt ve saf su eklenmiştir. Beherler floresans ışık altında çalkalayıcıda (Stuart Orbital Shaker) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.23). İnkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası çözeltilerin renklerini karşılaştırdığımızda 24 saat floresan ışıkta inkübasyona bırakıldıktan sonra çözelti renginin yeşilden kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiştir (Resim 3.23-27). Ag-NP'lerin oluşum ve varlığının incelenmesi UV-vis spektrofotometre ile yapılan ölçümlerle ortaya konulmuştur. Sentezlenen Ag-NP'lerin UV-vis spektroskopisinde (Thermo Scientific Genesys 10S Uv-Vis) 200-800 nm (Awwad ve Salem, 2012) aralığında dalga boyu taraması yapılarak absorbans değerleri belirlenmiştir. Oluşan Ag-NP'ler 14.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek üst sıvı faz uzaklaştırılmış ve kalan katı kısım üç kez saf su ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Elde

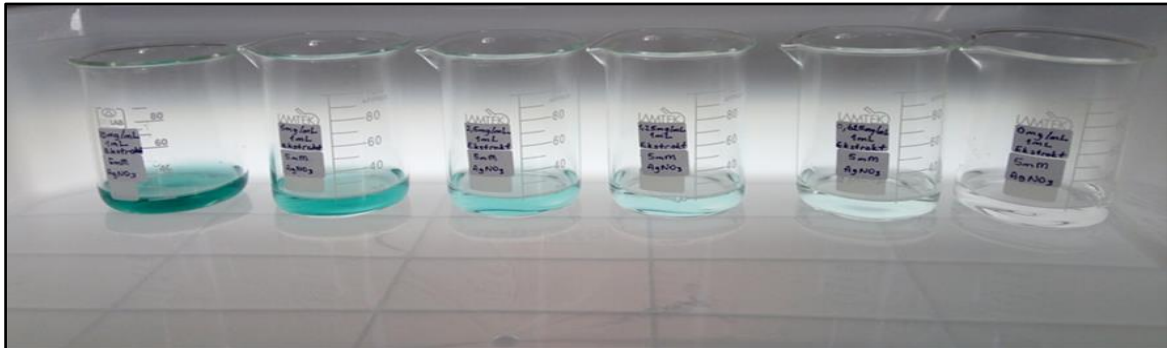
edilen pelet liyofilizatörde (Labconco Freezone 6 Plus) kurutulmuştur. Karakterizasyon işlemlerinde kullanılmak üzere buzdolabında  $-20^{\circ}\text{C}$  saklanmıştır.



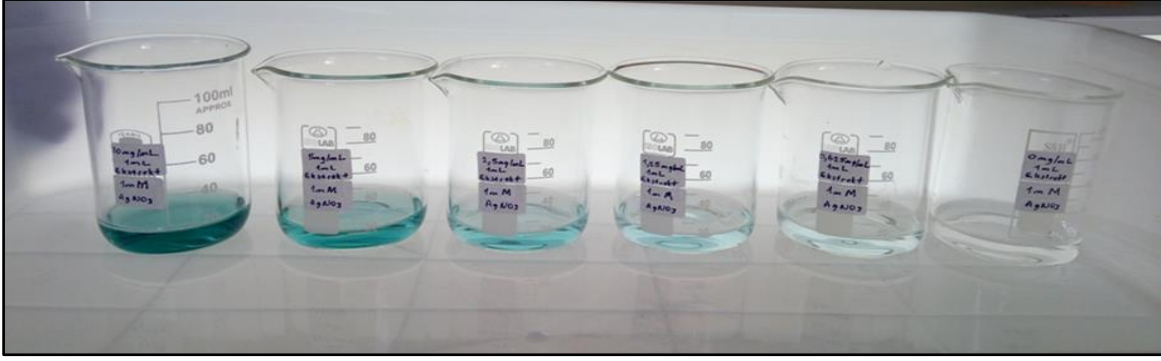
Resim 3.18. Siyanobakteri ekstraktı

Çizelge 3.4. Gümüş nanopartikül sentezi için reaksiyon koşulları

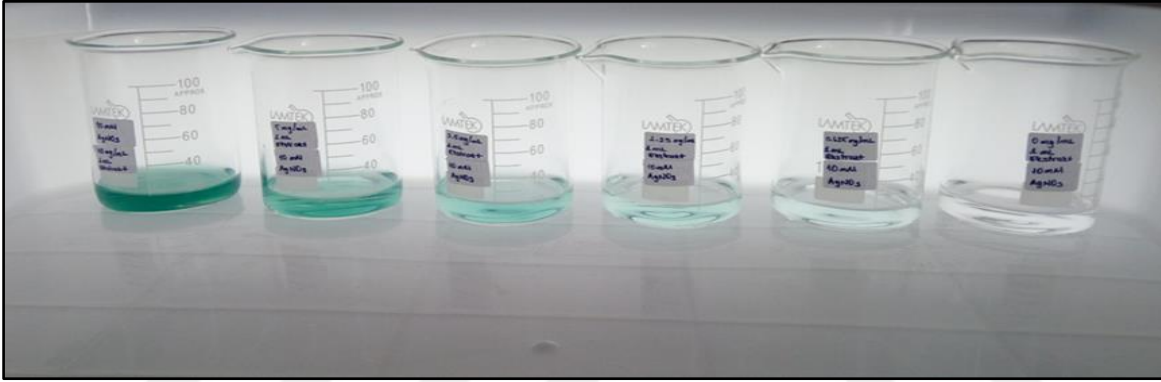
	10 mg/ml 1mL Ekstrakt	5 mg/ml 1mL Ekstrakt	2,5 mg/mL 1mL Ekstrakt	1,25 mg/mL 1mL Ekstrakt	0,625 mg/ml 1mL Ekstrakt	0 mg/ml 1mL Ekstrakt
Su	0 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$	750 $\mu\text{L}$	875 $\mu\text{L}$	937 $\mu\text{L}$	1000 $\mu\text{L}$
Ekstrakt	1000 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$	250 $\mu\text{L}$	125 $\mu\text{L}$	62,5 $\mu\text{L}$	0 $\mu\text{L}$
AgNO <sub>3</sub>	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL



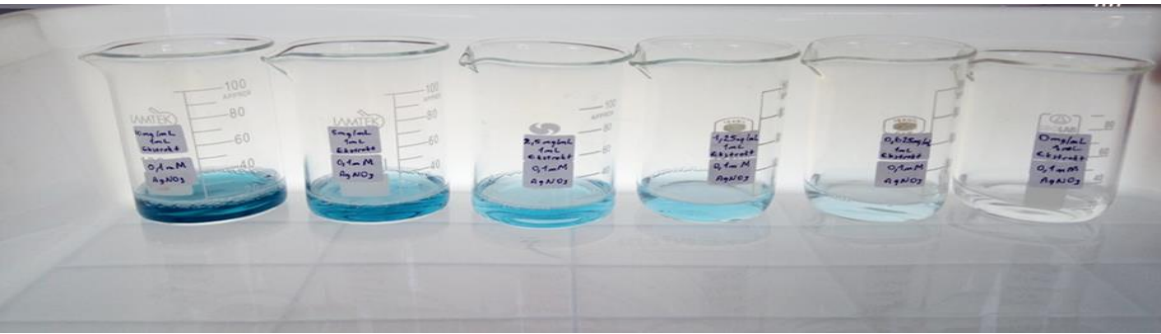
Resim 3.19. 5 mM gümüş nitrat (AgNO<sub>3</sub>) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları



Resim 3.20. 1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları



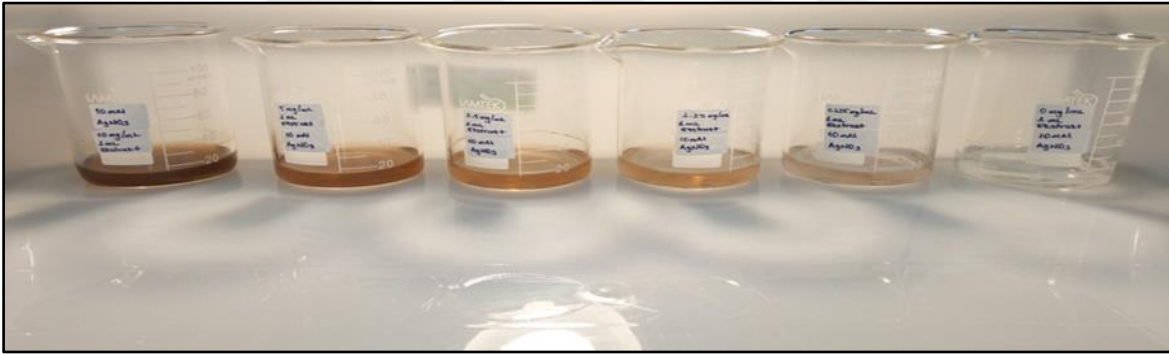
Resim 3.21. 10 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları



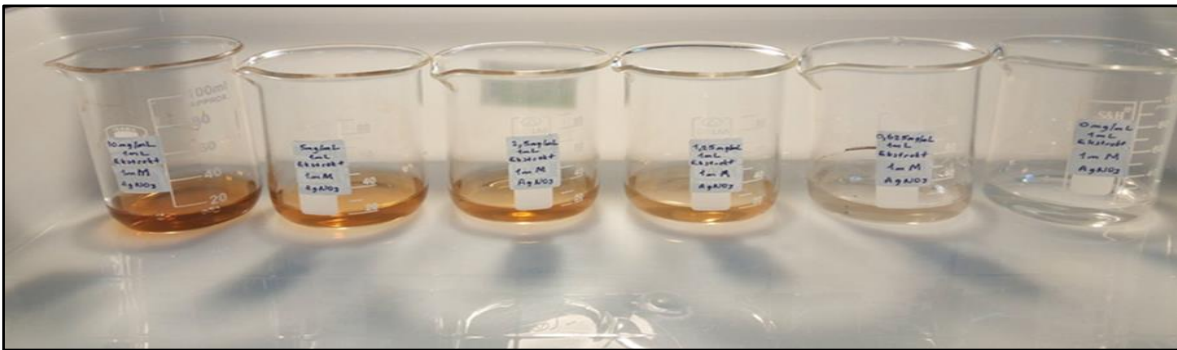
Resim 3.22. 0,1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımları



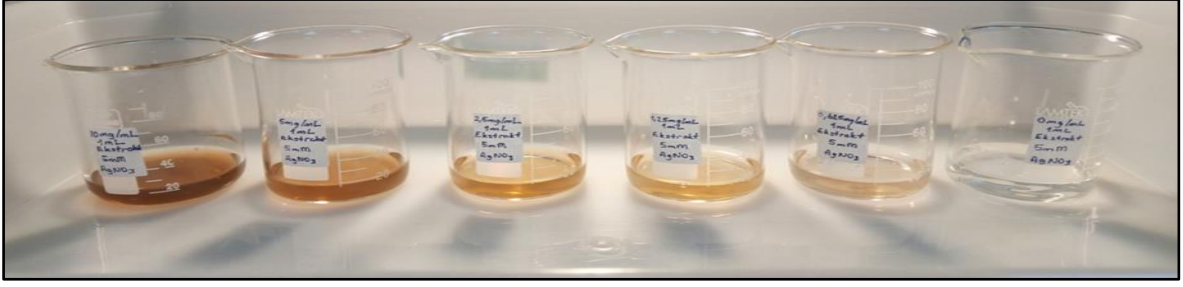
Resim 3.23. Beherlerin ışık altında inkübasyonu



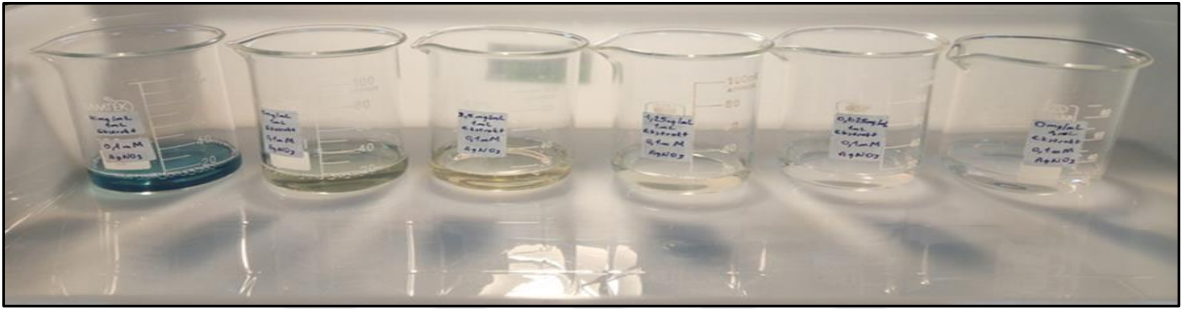
Resim 3.24. 10 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü



Resim 3.25. 1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü



Resim 3.26. 5 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü



Resim 3.27. 0,1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisi ve siyanobakteri ekstraktları ile hazırlanan reaksiyon karışımlarının inkübasyon sonrası görüntüsü

### 3.8. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliğini değerlendirmek amacıyla gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve maya kültürü (*Candida albicans* ATCC 14053) kullanılmıştır.

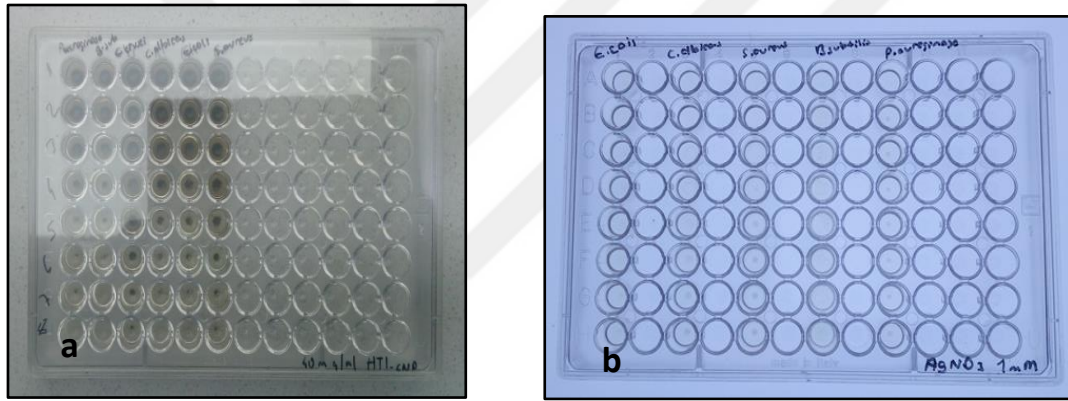
Mikrodilüsyon yöntemi (MİK) ile yapılan çalışmada, 18 saat öncesinden 5 ml nutrient broth besiyeri içeren tüplere ekimi yapılan mikroorganizmalar (Çizelge 3.5),  $37^\circ\text{C}$ 'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerindeki bakteri yoğunluğunu belirlemek amacıyla UV-vis spektrofotometre (Thermo Scientific Genesys 10S UV-vis) ile 600 nm ( $\text{OD}_{600}$ ) de ölçüm yapılmıştır. Mikroplakanın tüm kuyucuklarına  $\text{OD}_{600}=0,1$  olarak ayarlanmış bakteri kültüründen 180  $\mu\text{l}$  eklenmiştir. 40 mg/ml olarak hazırlanan Ag-NP stok çözeltisinden, ilk kuyucuğa 20  $\mu\text{l}$  eklenmiştir. İlk kuyucuktan 100  $\mu\text{l}$  alınarak sırasıyla son kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldıktan sonra, mikroplakalar  $37^\circ\text{C}$ 'de 24

saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklardan steril kürdanla alınan örnekler nutrient agar içeren petrilere ekilmiştir. İnkübasyon sonrasında üremenin olmadığı son kuyucuk MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. Antimikrobiyal aktivite testi için seçilen mikroorganizmalar

1.	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053
2.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
4.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
5.	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633

ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu ) 12301 Parklawn Drive, Rockville, Md., USA



Resim 3.28. Mikrodilüsyon testi a) Ag-NP çözeltisi b) 1mM AgNO<sub>3</sub> çözeltisi

### 3.9. Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen Ag-NP'lerin antioksidan aktiviteleri radikal süpürme deneylerinden olan DPPH testi ile yapılmıştır. DPPH yöntemi antioksidan aktivite ölçümünde en çok kullanılan spektrofotometrik yöntemlerden biridir (Sharma ve Bhat, 2009). 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) (25 mg/L) solüsyonu hazırlamak için DPPH serbest radikali metanol içinde çözüldükten sonra alüminyum folyo ile sarılarak 1 saat karıştırıcıda karışması sağlanmıştır. Öncelikle sekiz ependorf tüpe 100 µl saf su eklenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerden 40 mg/ml hazırlanan stok çözeltisinden ilk tüpe 100 µl eklenmiştir. Nanopartiküllerle saf suyun iyice karışması için tüpler iyice vortekslenmiştir. 100 µl alınarak son tüpe kadar seri dilüsyon yapıldıktan sonra

bütün tüplere 900 µl DPPH solüsyonu eklenerek karıştırılmıştır. Tüpler 30 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 517 nm absorpsiyon değeri metanol blanke karşı ölçülmüştür (Sarıkurkcu ve diğerleri, 2009).

### 3.10. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

TEM ölçümleri Osmangazi Üniversitesi ARUM biriminde (JEOL JEM 1220 Tem Cihazı) gerçekleştirilmiştir. Ag-NP'lerin oluşumu ve stabilitesi Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-vis) Absorpsiyon Spektroskopisi (Thermo Scientific Genesys 10S UV-vis) kullanılarak belirlenmiştir. UV-vis analizleri için UV küvet kullanılmıştır (Resim 3.30).



Resim 3.29. UV-vis spektrofotometre



Resim 3.30. UV küvet



## 4. BULGULAR

### 4.1. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 Türünün Özellikleri

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135, Amasya il sınırları içerisinde bulunan Tersakan Çayı'ndan (40°52'55.6"N 35°38'00.4"E) toplanan su örneklerinden izole edilmiştir. 16S rRNA ITS gen bölgesi sekans analizi, MacroGen firması tarafından yapılmıştır. Elde edilen diziler BLAST yazılımı kullanılarak GenBank'tan temin edilen siyanobakteriyel dizilerle doğrulanmıştır. Sekans analizi sonucunda izole edilen tür % 99,93 benzerlik oranıyla *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 olarak tanımlanmıştır. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135, ışık mikroskobunda görüntülenmiş (Resim 4.1), filamentli hücrelere sahip olduğu görülmüştür.

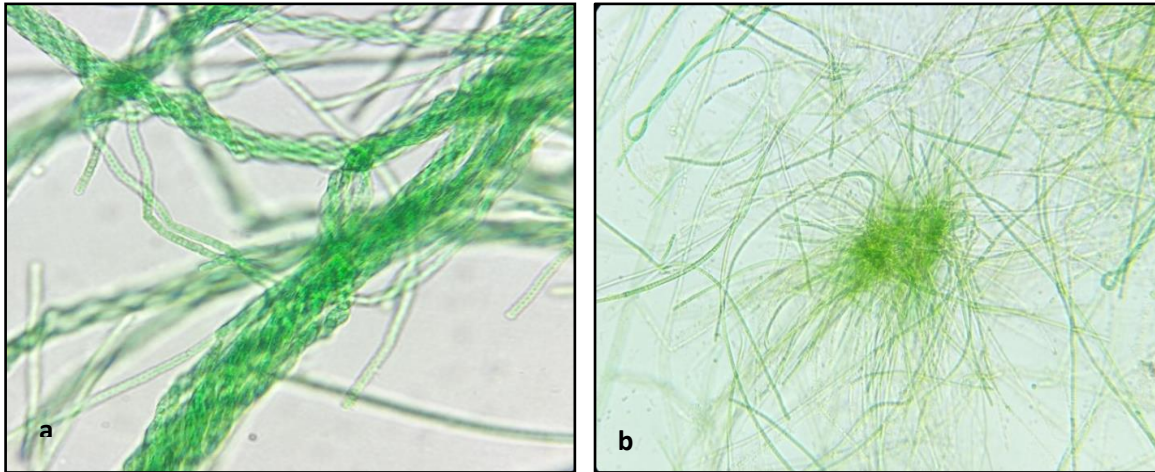
Alem : Bacteria

Şube : Cyanobacteria

Takım : Synechococcales (Hoffmann, Komárek ve Kaštovský, 2005).

Aile : Leptolyngbyaceae (Komárek, Kaštovský, Mareš ve Johansen, 2014).

Cins : *Leptolyngbya* (Anagnostidis ve Komrek, 1988)

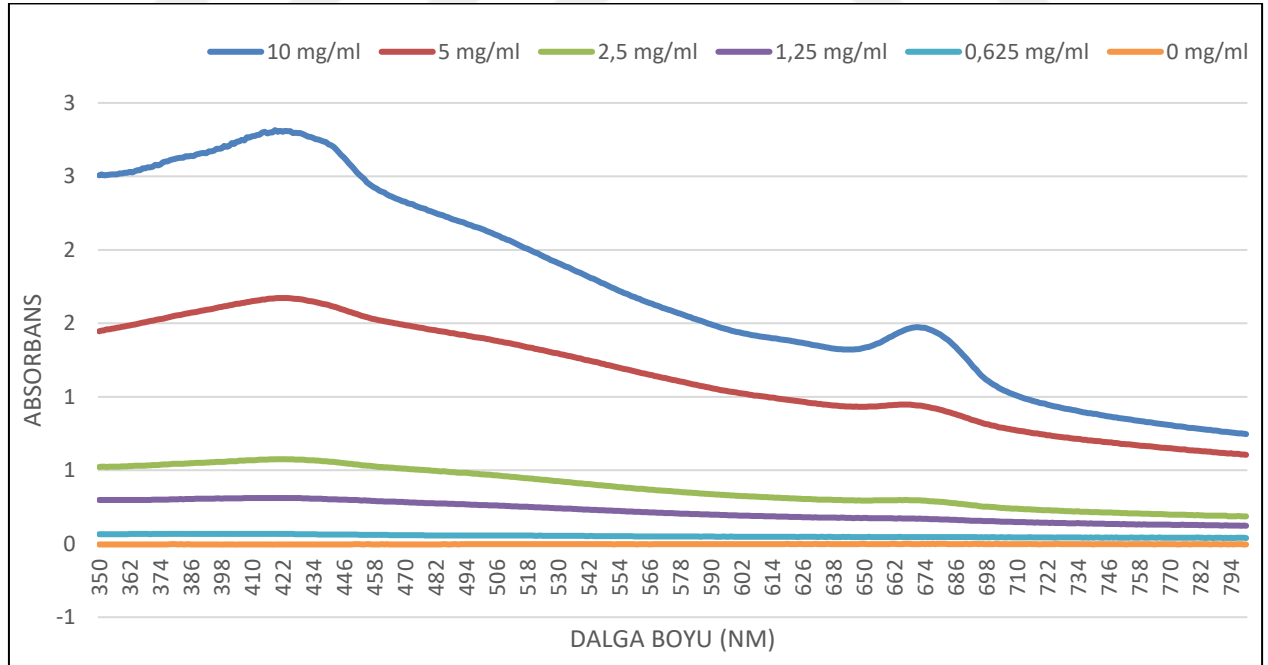


Resim 4.1. (a) *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 (ışık mikroskobu, 100x)

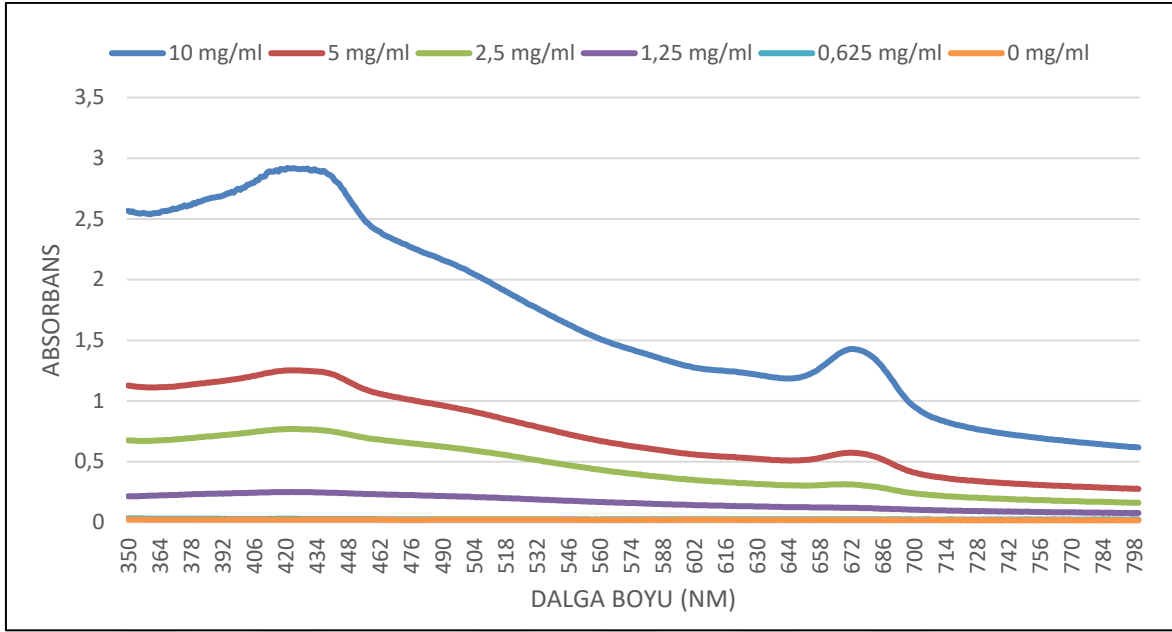
(b) *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 (ışık mikroskobu, 40x)

## 4.2. Gümüş Nanopartiküllerin (Ag-NP) Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi ile Karakterizasyonu

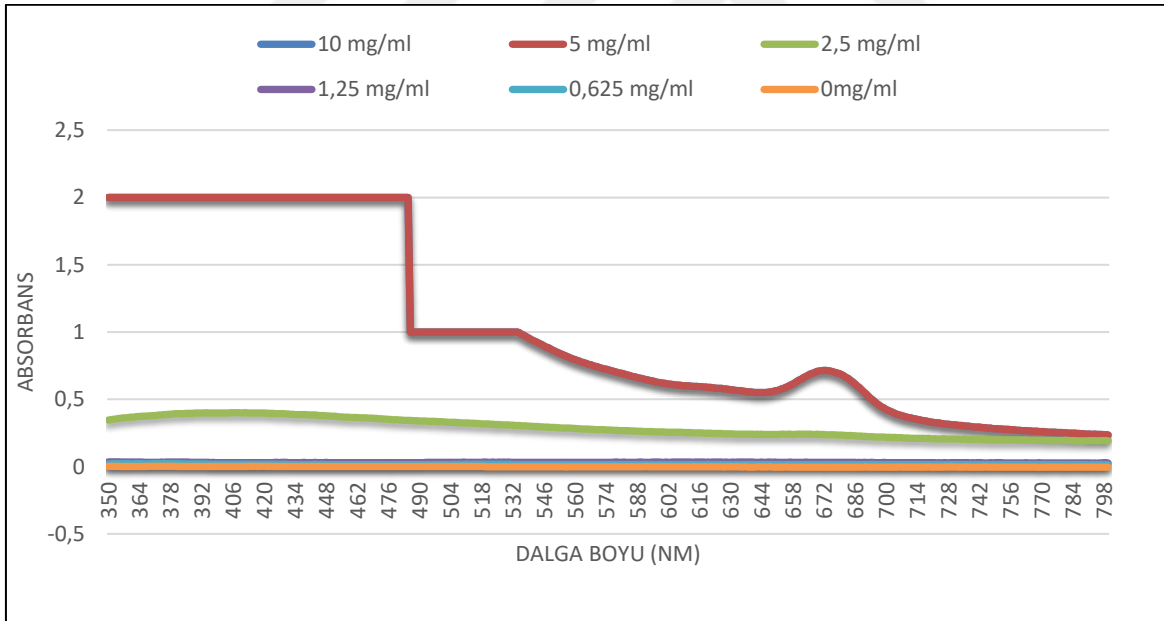
*Leptolyngbya boryana* NIES-2135' den elde edilen Ag-NP'lerin oluşumu ve stabilitesi ultraviyole görünür spektrofotometre (UV-vis) kullanılarak onaylanmıştır. Sentezlenen Ag-NP'lerin ultraviyole görünür spektrofotometrede (UV-vis) (Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis) 200-800 nm (Awwad ve Salem, 2012) aralığında dalga boyu taraması yapılarak absorbans değerleri belirlenmiştir (Şekil 4.1-4). Bu aralıkta ki spektrum, UV ışığına maruz kaldıktan sonra çözeltide ki gümüş nanopartiküllerin oluşumunu teyit etmektedir. Ag-NP'ler 400 nm-450 nm aralığında güçlü bir pik sergilemiştir. Absorpsiyon zirveleri gümüş nanopartiküllerin varlığını göstermektedir (Aziz ve diğerleri, 2017). Benzer çalışmalarda da nanopartiküllerin 400-450 arası absorbans aralığında pik yaptığı görülmüştür (Awwad ve Salem 2012; Patel ve diğerleri, 2015; Tomer, Rahi, Neelam ve Dadheech, 2019; Behravan ve diğerleri, 2019). 10 mM gümüş nitrat konsantrasyonunun kullanıldığı sentezde, en yüksek gümüş nanopartikül konsantrasyonuna ulaşıldığı görülmüştür (Şekil 4.1).



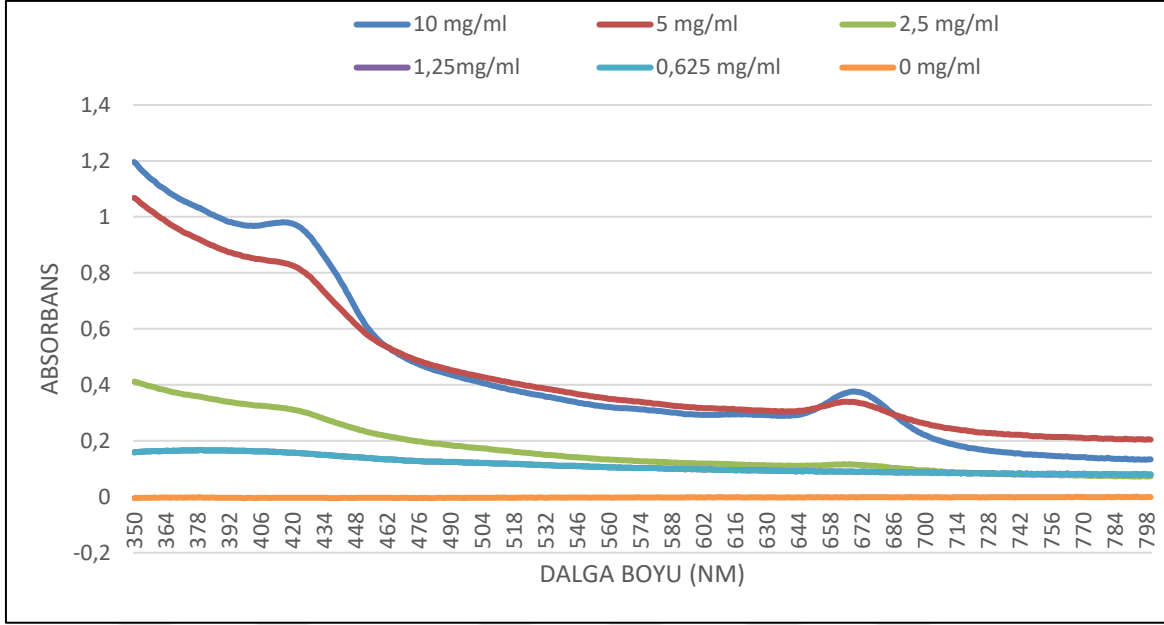
Şekil 4.1. 10 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbans dalga boyu grafiği



Şekil 4.2. 5mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbans dalga boyu grafiği



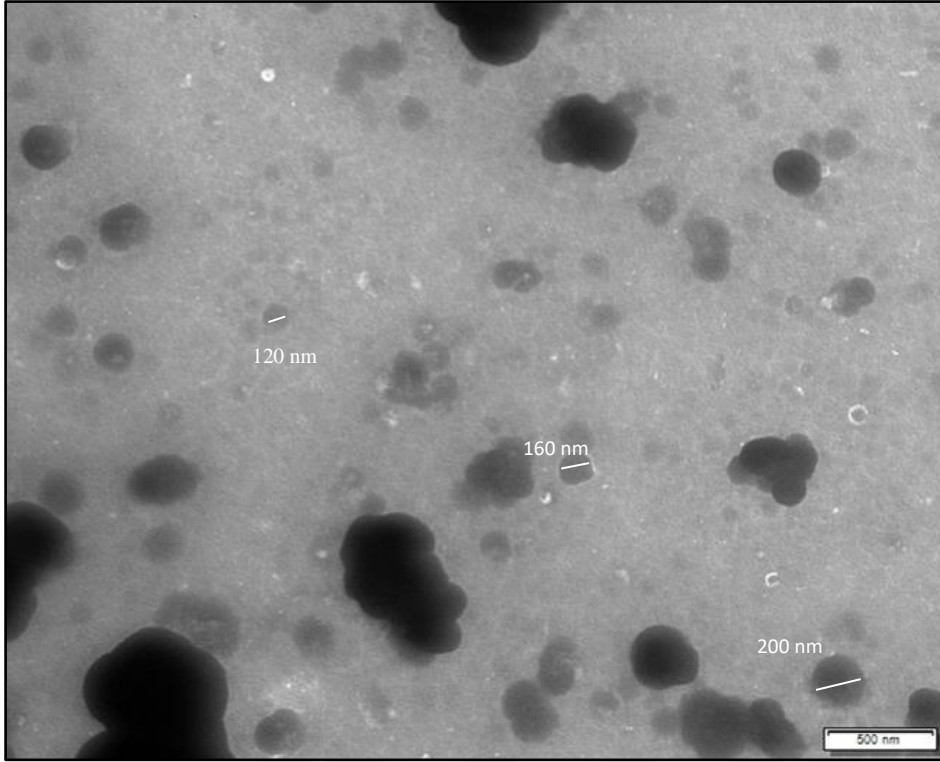
Şekil 4.3. 1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbans dalga boyu grafiği



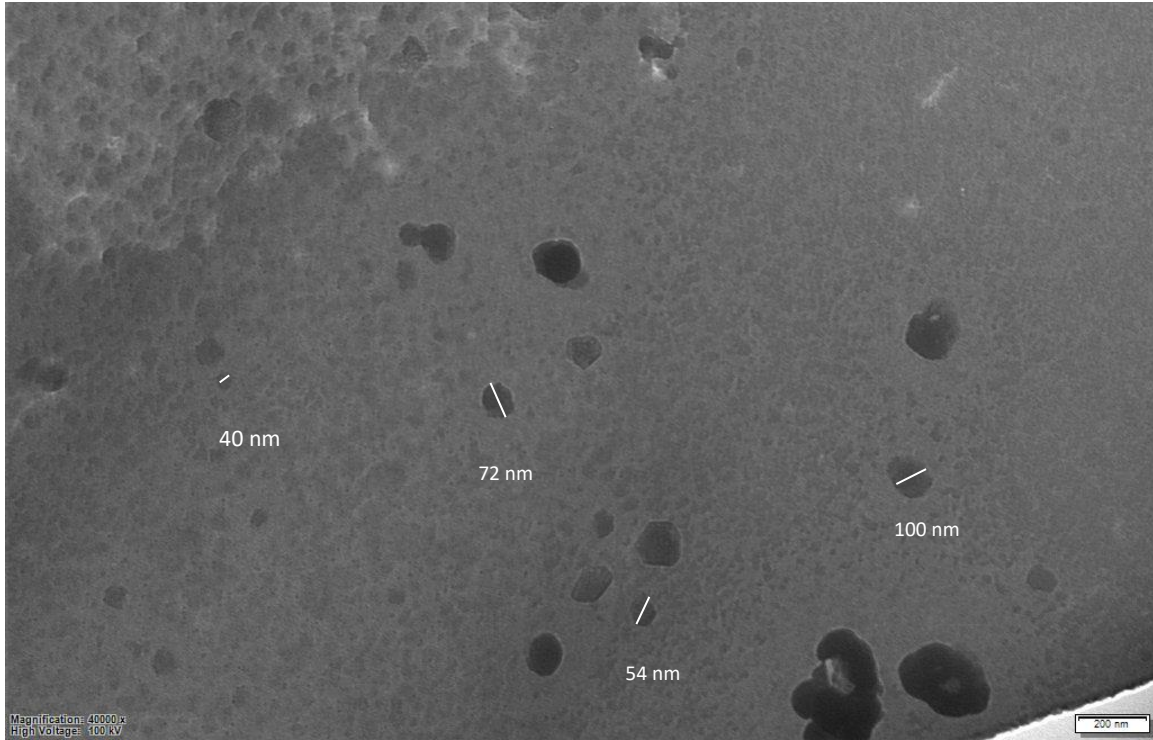
Şekil 4.4. 0,1 mM gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) çözeltisiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin absorbans dalga boyu grafiği

### 4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Boyut ve Morfoloji Analizi

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135'den sentezlenen gümüş nanopartiküller Geçirimli Elektron Mikroskopi (TEM) cihazı ile Osmangazi Üniversitesi ARUM (Merkezi Araştırma Laboratuvarı Araştırma ve Uygulama Merkezi) biriminde (JEOL JEM 1220 Tem Cihazı) görüntülenmiştir. Şekillerinin çoğunlukla yuvarlak, boyut dağılımının ise 40-200 nm olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5-4.6).



Şekil 4.5. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüleri



Şekil 4.6. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen Ag-NP'lerin TEM görüntüleri

#### 4.4. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliğini değerlendirmek amacıyla gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) ve gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve maya kültürü (*Candida albicans* ATCC 14053) kullanılmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonları seri dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden hazırlanan nanopartiküllerin MİK değerleri 50-250 µg /ml konsantrasyon aralığında bulunmuştur (Çizelge 4.1).

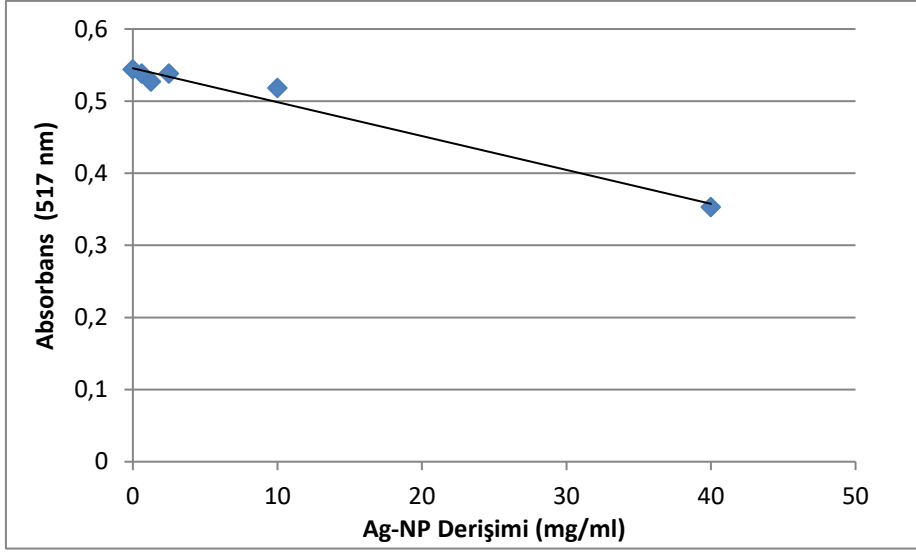
Çizelge 4.1. Gümüş nanopartiküllerin MİK değerleri ( µg /ml)

	GRAM (-)		GRAM(+)		MAYA
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053
<i>Leptolyngbya boryana</i> NIES-2135 AgNP	<b>50</b>	<b>250</b>	<b>100</b>	<b>125</b>	<b>62,5</b>
AgNO <sub>3</sub> çözeltisi (1mM)	<b>8,45</b>	<b>16,9</b>	<b>16,9</b>	<b>16,9</b>	<b>16,9</b>

\*ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu ) 12301 Parklawn Drive, Rockville, Md., USA

#### 4.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesi

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktiviteleri radikal süpürme deneylerinden olan DPPH testi ile değerlendirilmiştir. Ultraviyole görünür spektrofotometre (UV-vis) kullanılarak 517 nm'de dalga boyu taraması yapılmıştır. DPPH radikal çözeltisinin Ag-NP derişimine karşı absorbans değerleri belirlenmiştir. Daha sonra Ag-NP derişimine karşılık absorbans grafiği çizilmiştir (Şekil4.6). Maksimum inhibitör konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) değeri 23,64 mg/ml olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.7. DPPH radikal çözeltilisinin Ag-NP derişimine karşı absorbans değerleri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, bir siyanobakteri türü olan *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 ile yeşil sentez metoduyla gümüş nanopartikül (Ag-NP) biyosentezlenmiştir (Singh ve diğerleri, 2014).

Öncelikle Amasya ili sınırları içerisinde yer alan Tersakan Çayı'ndan alınan su örneklerinden siyanobakteri izolatu elde edilmiştir. 16S rRNA ITS gen bölgesi sekans analizi sonucunda izole edilen türün % 99,93 benzerlik oranıyla *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 olduğu tespit edilmiştir.

İzolatuın kültürasyonu yapıldıktan sonra, gümüş nanopartikül sentezlemek için sulu ekstraktları hazırlanmıştır. Siyanobakteri ekstraksiyonunda metanol, etanol, aseton, hekzan gibi farklı kimyasal solventler de kullanılabilir. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 ile gümüş nanopartikül sentezinde, yeşil sentez metodu kullanıldığından siyanobakteri ekstraksiyon aşamaları sadece distile su ile yapılmıştır.

Çalışmamızda, *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 sulu ekstraktlarından, 25°C'de ve ışık altında 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde (100 rpm) gümüş nanopartikül sentezlenmiştir (Singh ve diğerleri, 2014). Farklı çalışmalarda da ışık altında gerçekleştirilen inkübasyon sonucu nanopartikül oluştuğu rapor edilmiştir (Shivaji ve diğerleri, 2011, Devi ve diğerleri, 2016). Singh ve arkadaşlarının çalışmasında, nanopartikül sentezlenmek için hazırlanan ekstraktlar, 25°C'de fakat karanlıkta 72 saat boyunca inkübe edilmiştir (Singh ve diğerleri, 2014).

Biyolojik sentezde, nanopartiküller hücre içi ve hücre dışı olmak üzere iki yöntemle sentezlenebilmektedir. *Leptolyngbya boryana* NIES-2135'nin sulu ekstraktları kullanılarak yapılan çalışmada hücre dışı sentez yöntemi kullanılmıştır. Genellikle, Ag-NP oluşumunun birincil tespiti çıplak gözle yapılmaktadır. Çalışmamızda, AgNO<sub>3</sub>'ün Ag-NP'ye indirgenme süreci, 24 saatin sonunda renkte yeşilden koyu kahverengiye doğru bir değişiklik ile karakterize edilmiştir. Çözeltide ki bu kahverengi görünüm, gümüş nanopartikül oluşumunun açık bir göstergesidir. Renk değişikliği, oluşan nanopartiküllerin yüzey plazmonlarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Mulvaney, 1966). Hücre içi



sentez yöntemi, biriken nanopartikülleri hücrelerden kurtarmak için ek adımlar gerektirdiğinden daha az tercih edilmektedir (Klaus ve diğerleri, 1999; Oves ve diğerleri, 2013; Singh ve diğerleri, 2013; Singh, 2015). Hücre dışı sentezin reaksiyon hızı da hücre içi sentezine kıyasla çok daha hızlı gerçekleşmektedir. Lengke ve arkadaşları, hücre içi sentezle *Plectonema boryanum* UTEX 485 kullanarak 28 gün inkübasyon sonucunda gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir (Lengke ve diğerleri, 2007). Çalışmamızda, gümüş nanopartikül oluşumu 24 saat sonunda gerçekleşmiştir.

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135 ile sentezlediğimiz Ag-NP'lerin, UV-vis spektroskopisinde (Thermo Scientific Genesys 10S UV-vis) 200-800 nm (Awwad ve Salem, 2012) aralığında dalga boyu taraması yapılarak absorptans değerleri belirlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon spektrumu 400-450 nm'de güçlü bir pik sergilemiştir. Benzer çalışmalarda da nanopartiküllerin 400-450 nm arası absorptans aralığında pik yaptığı görülmüştür (Awwad ve Salem, 2012, Patel ve diğerleri, 2015, Tomer ve diğerleri, 2019, Behravan ve diğerleri, 2019). Bu sonuç da Ag-NP'lerin başarıyla sentezlendiğini göstermiştir.

Çalışmamızda, elde edilen gümüş nanopartiküllerin morfolojisini belirlemek için geçirimli elektron mikroskobu (JEOL JEM 1220 TEM Cihazı) kullanılmıştır. Boyut dağılımının 40-200 nm, şekillerinin ise çoğunlukla yuvarlak olduğu belirlenmiştir.

Literatür taraması yapıldığında farklı siyanobakteri türlerinin farklı boyutlarda nanopartikül sentezlediği görülmüştür. Husain ve arkadaşları (2015), çeşitli siyanobakteri türleri kullanarak gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. *Gloeocapsa gelatinosa* NCCU-430'den 88 nm, *Microchaete sp.* NCCU-342'dan ise 40 nm çapında nanopartikül sentezlendiği bildirilmiştir (Husain ve diğerleri, 2015).

Farklı siyanobakteri suşlarından elde edilen nanopartiküllerin boyutlarının yanı sıra şekilleri de farklılık göstermektedir. Siyanobakteri suşlarından;

- *Arthrospira indica* (PCC7940), *Arthrospira indica* (SAE-85), *Arthrospira indica* (SOSA-4), *Chroococcus* (NCCU-207 ), *Gloeocapsa gelatinosa* (NCCU430), *Lyngbya* (NCCU-102), *Oscillatoria sp.* (NCCU-369), *Plectonema sp.* (NCCU-204), *Spirulina* (NCCU-479), *Spirulina* (NCCU-482), *Spirulina platensis* (NCCUS5), *Synechocystis* (NCCU-370), *Anabaena ambigua* (NCCU-1), *Anabaena variabilis* (NCCU-441), *Aulosira*

*fertilissima* (NCCU-443), *Microchaete sp.* (NCCU-342), *Nostoc muscorum* (NCCU-442), *Scytonema sp.* (NCCU-1269), *Tolypothrix tenuis* (NCCU-1229 ve *Westiellopsis prolifica* (NCCU-331) küresel,

- *Arthrospira maxima* SAE-49- 88, *Arthrospira platensis* NEERI ve *Hapalosiphon fontinalis* (NCCU-3399) üçgen,
- *Spirulina* (NCCU-483) ve *Cylindrospermum stagnale* (NCCU) ise beşgen
- *Spirulina* (NCCU-477) ve *Calothrix brevissema* (NCCU-65), *Spirulina* CFTRI, altıgen,
- *Phormidium sp* (NCCU-1049) kübik Ag-NP üretmiştir (Husain ve diğerleri, 2015).

*Leptolyngbya boryana* NIES-2135'in sulu ekstraktlarından sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan aktiviteleri radikal süpürme deneylerinden olan DPPH testi ile değerlendirilmiştir. Ultraviyole görünür spektrofotometre (UV-vis) kullanılarak 517 nm de dalga boyu taraması yapılmıştır. DPPH radikal çözeltisinin Ag-NP derişimine karşı absorbans değerleri belirlenmiştir. Maksimum inhibitör konsantrasyon (IC50) değeri, 23,64 mg/ml olarak hesaplanmıştır.

Literatür taraması yapıldığında, biyolojik moleküller kullanılarak elde edilmiş gümüş nanopartiküllerin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği pek çok çalışmada bildirilmiştir. Bir alg türü olan *Ecklonia cava*'dan 43 nm boyutunda küresel gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir. Nanopartiküllerin, IC50 değeri 198 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Azhadirachta indica*'dan elde edilen ekstraktından elde edilen gümüş nanopartiküllerin IC50 değeri 250 µg/ml olduğu bildirilmiştir (Lalitha, Subbaiya ve Ponmurugan, 2013). *Alternanthera sessilis* bitkisinden gümüş nanopartikül sentezlenmiştir. Nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi DPPH radikali süpürme aktivitesi ile belirlenmiş, IC50 değeri 300.6 µg/ml olarak belirlenmiştir (Niraimathi, Sudha, Lavanya ve Brindha, 2013). Bu değerlerle kıyaslandığında, *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin orta seviyede bir antioksidan özelliği olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, *Leptolyngbya boryana* NIES-2135 türünden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliğini değerlendirmek amacıyla gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve maya kültürü (*Candida albicans* ATCC 14053) kullanılmıştır. Minimum inhibitör

konsantrasyon (MİK) değerleri, *Escherichia coli* ATCC 25922 için 50 µg/ml, *Candida albicans* ATCC 14053 için 62,5 µg/ml, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için 100 µg/ml, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 için 125 µg/ml, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 için 250 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, kullanılan gram pozitif, gram negatif bakteriler ve mayaların büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'da gümüş nanopartiküllerinin inhibe edici etkisi daha hafif olduğu görülmüştür. MİK sonuçları, gümüş nanopartiküllerin gram pozitif bakterilerden, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 üzerinde *Bacillus subtilis* ATCC 6633'e göre daha etkili antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Gümüş nanopartiküllerin, gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 2592 üzerinde, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 göre daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca MİK sonuçları, elde ettiğimiz gümüş nanopartiküllerin *Candida albicans* ATCC 14053 üzerinde de güçlü bir antimikrobiyal aktivitesi olduğunu göstermiştir. Sentezlediğimiz gümüş nanopartiküllerin, çalışmada kullanılan gram pozitif bakteriler, gram negatif bakteriler ve mayaya kıyasla *Escherichia coli* ATCC 2592 üzerinde en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Morsy ve arkadaşları, *Nostoc commune*'den elde ettikleri hücre dışı polisakkaritlerden 15-54 nm çapında gümüş nanopartiküller sentezlemişlerdir. Elde ettikleri nanopartiküllerin *Escherichia coli*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri 12 µg/ml olarak belirlenmiştir (Morsy, Nafady, Abd-Alla ve Elhady, 2014).

Başka bir araştırmada, gümüş nitrat çözeltisinden gümüş nanopartiküllerin hücre dışı biyosentezi için mantar türü olan *Guignardia mangiferae* (Bios PTK 4) kullanımı bildirilmiştir. 5-30 nm çapında gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir. *G. mangiferae*'den sentezlenen gümüş nanopartiküllerin kayda değer antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a MİK değeri 3.12 µg/ml, *E. coli*, *S. epidermidis* ve *B. subtilis* için MİK değeri 6.25 µg/ml olarak bulunurken, *E. faecalis*'e karşı 12.5 µg/ml olduğu kanıtlanmıştır (Balakumaran ve diğerleri, 2015).

Salari ve arkadaşları, bir makroalg türü olan *Spirogyra varians*'dan 35 nm çapında gümüş nanopartikül sentezlemişlerdir. Nanopartiküllerin patojenik bakterilere (*S. aureus*, *B. cereus*, *S.typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P.aeruginosa*, *Klebsiella*) karşı

antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Gümüş nanopartiküllerin MİK değerleri *E.coli* ve *B.cereus* için 250 µg/ml, diğer patojen test bakterileri için 500 µg/ml olarak belirlenmiştir (Salari ve diğerleri, 2016).

Zada ve arkadaşları, *Leptolyngbya JSC-1* özütlerini kullanarak 12-50 nm çapında gümüş nanopartikül sentezlemiştir. Biyosentezlenmiş Ag-NP'lerin antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmek amacıyla *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri kullanılmıştır. MİK değerinin her iki bakteri için 25 µg/ml olduğu bildirilmiştir (Zada ve diğerleri, 2018).

Bu sonuçlar, gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin ekstraktın elde edildiği türe, ekstrakt içerisindeki biyomoleküllere, gümüş nanopartiküllerin şekli ve boyutuna göre değiştiğini göstermiştir.

Yeşil sentez metoduyla gümüş nanopartiküllerin üretiminde çevre ve insan sağlığı için risk oluşturabilecek toksik kimyasal madde kullanılmamaktadır. Nanopartiküllerin yeşil sentezinde indirgeyici ajan olarak biyolojik moleküller kullanılmaktadır. Biyomoleküller sadece gümüş nitrata azaltmakla kalmaz, aynı zamanda oluşan nanoparçacıkları da kaplar. Eğer biyomoleküllerin kendi antimikrobiyal aktivitesi varsa sinerjik bir etkisi olur ve elde edilen nanopartikülün de antimikrobiyal ve antioksidan etkinliği artar. Kimyasal sentezle üretilen nanopartiküllerde ise indirgeyici ve stabilizatör olarak kullanılan toksik maddelerin bir kısmı partikül üzerinde kalır. Bu durum, kimyasal sentezle elde edilen nanopartiküllerin biyolojik uygulamalarda kullanımını kısıtlamaktadır.

Buna ilave olarak siyanobakterilerin, büyük ölçekli ve pahalı olmayan sıvı kültür ortamlarında kısa sürede üreme yeteneğine sahip olması, kolayca kültüvasyonunun yapılabilmesi, nanopartikül biyosentezinde kullanılan bitki ekstraktlarına göre avantajlı tarafıdır.

Özetle çalışma kapsamında düşük maliyetli ve çevre dostu bir yöntemle, antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip, biyolojik uygulamalarda kullanılabilen gümüş nanopartikül sentezlenmiştir.

## 6. ÖNERİLER

Nanopartiküllerin boyut, stabilite, şekil ve aktivite gibi özellikleri üretim yöntemine bağlıdır. İleride yapılacak çalışmalarda farklı sucul ortamlardan alınan örneklerden siyanobakteriler izole edildikten sonra bu izolatlardan farklı reaksiyon koşullarında gümüş nanopartikül sentezlenebilir. Elde edilen nanopartiküllerin şekil ve boyutlarına göre antimikrobiyal ve antioksidan etkileri karşılaştırılabilir.



## KAYNAKLAR

- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances*, 4(8), 3974-3983.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M. I., Kumar, R., & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 28(4), 313-318.
- Alma, M. H., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M., & Hirata, T. (2003). Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(12), 1725-1729.
- Allen, M. M. (1968). Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates 1, 2. *Journal of Phycology*, 4(1), 1-4.
- Allen, M. M., & Stanier, R. Y. (1968). Selective isolation of blue-green algae from water and soil. *Microbiology*, 51(2), 203-209
- Ali, D. M., Sasikala, M., Gunasekaran, M., & Thajuddin, N. (2011). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using marine cyanobacterium, *Oscillatoria willei* NTDM01. *Dig J Nanomater Biostruct*, 6, 385-390.
- Anand, K. K. H., & Mandal, B. K. (2015). Activity study of biogenic spherical silver nanoparticles towards microbes and oxidants. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135, 639-645.
- Anastas, P. T., & Warner, J. C. (1998). Green chemistry. *Frontiers*, 640.
- Anil Kumar S, Abyaneh MK, Gosavi SW, et al. Nitrate reductasemediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO<sub>3</sub>. *Biotechnol Lett*. 2007;29(3):439–445.
- Awwad, A. M., & Salem, N. M. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles by Mulberry Leaves Extract. *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(4), 125-128.
- Aygün, A., Gülbağça, F., Nas, M. S., Alma, M. H., Çalimli, M. H., Ustaoglu, B., ... & Şen, F. (2020). Biological synthesis of silver nanoparticles using *Rheum ribes* and evaluation of their anticarcinogenic and antimicrobial potential: A novel approach in phytonanotechnology. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 179, 113012.
- Aziz, S. B., Abdullah, O. G., Saber, D. R., Rasheed, M. A., & Ahmed, H. M. (2017). Investigation of metallic silver nanoparticles through UV-Vis and optical micrograph techniques. *Int. J. Electrochem. Sci*, 12, 363-373.

- Bae, E. J., Park, H. J., Park, J. S., Yoon, J. Y., Kim, Y. H., Choi, K. H., & Yi, J. H. (2011). Effect of chemical stabilizers in silver nanoparticle suspensions on nanotoxicity. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(2), 613-619.
- Balakumaran, M. D., Ramachandran, R., & Kalaichelvan, P. T. (2015). Exploitation of endophytic fungus, *Guignardia mangiferae* for extracellular synthesis of silver nanoparticles and their in vitro biological activities. *Microbiological research*, 178, 9-17.
- Bar, H., Bhui, D. K., Sahoo, G. P., Sarkar, P., De, S. P., & Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 339(1-3), 134-139.
- Behravan, M., Panahi, A. H., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi, R., & Mirzapour, A. (2019). Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International journal of biological macromolecules*, 124, 148-154.
- Behafarid, F., Ono, L. K., Mostafa, S., Croy, J. R., Shafai, G., Hong, S., ... & Cuenya, B. R. (2012). Electronic properties and charge transfer phenomena in Pt nanoparticles on  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: size, shape, support, and adsorbate effects. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(33), 11766-11779.
- Bermejo, P., Piñero, E., & Villar, Á. M. (2008). Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 110 (2), 436-445.
- Berman-Frank, I., Lundgren, P., & Falkowski, P. (2003). Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. *Research in microbiology*, 154(3), 157-164.
- Bertorelle, F., Wilhelm, C., Roger, J., Gazeau, F., Ménager, C., & Cabuil, V. (2006). Fluorescence-modified superparamagnetic nanoparticles: intracellular uptake and use in cellular imaging. *Langmuir*, 22(12), 5385-5391.
- Bhatia, S. (2016). Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In *Natural polymer drug delivery systems* (pp. 33-93). Springer, Cham.
- Bhainsa, K. C., & D'souza, S. F. (2006). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 47(2), 160-164.
- Bhaumik, J., Thakur, N. S., Aili, P. K., Ghanghoriya, A., Mittal, A. K., & Banerjee, U. C. (2015). Bioinspired nanotheranostic agents: synthesis, surface functionalization, and antioxidant potential. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 1(6), 382-392.

- Biddanda, B. A., McMillan, A. C., Long, S. A., Snider, M. J., & Weinke, A. D. (2015). Seeking sunlight: rapid phototactic motility of filamentous mat-forming cyanobacteria optimize photosynthesis and enhance carbon burial in Lake Huron's submerged sinkholes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 930.
- Bloor, S., & England, R. R. (1989). Antibiotic production by the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Journal of Applied Phycology*, 1(4), 367-372.
- Bonacci, W., Teng, P. K., Afonso, B., Niederholtmeyer, H., Grob, P., Silver, P. A., & Savage, D. F. (2012). Modularity of a carbon-fixing protein organelle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(2), 478-483.
- Borodin, V. B., Tsygankov, A. A., Rao, K. K., & Hall, D. O. (2000). Hydrogen production by *Anabaena variabilis* PK84 under simulated outdoor conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 69(5), 478-485.
- Bothe, H., Schmitz, O., Yates, M. G., & Newton, W. E. (2010). Nitrogen fixation and hydrogen metabolism in cyanobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(4), 529-551.
- Boundless, "Primary and Secondary Metabolites." *Boundless Microbiology*. Boundless, <https://www.boundless.com/microbiology/textbooks/boundless-microbiology-textbook/industrial-microbiology-17/industrial-microbiology-198/primary-and-secondary-metabolites-999-5345>. (Temmuz, 2015).
- Bonnet, S., Webb, E. A., Panzeca, C., Karl, D. M., Capone, D. G., & Wilhelmy, S. A. S. (2010). Vitamin B12 excretion by cultures of the marine cyanobacteria *Crocospaera* and *Synechococcus*. *Limnology and oceanography*, 55(5), 1959-1964.
- Bowen, C. C., & Jensen, T. E. (1965). Blue-green algae: fine structure of the gas vacuoles. *Science*, 147(3664), 1460-1462.
- Brayner, R., Barberousse, H., Hemadi, M., Djedjat, C., Yéprémian, C., Coradin, T., ... & Couté, A. (2007). Cyanobacteria as bioreactors for the synthesis of Au, Ag, Pd, and Pt nanoparticles via an enzyme-mediated route. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7(8), 2696-2708.
- Bozkaya, F. (2012). DNA İzolasyonunda Fenol-Kloroform Yerine Potasyum Asetat Kullanımının DNA Miktarı ve Kalitesi Üzerine Etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2), 92-96.
- Budama, L., Çakır, B. A., Topel, Ö., & Hoda, N. (2013). A new strategy for producing antibacterial textile surfaces using silver nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 228, 489-495.
- Cannon, G. C., Bradburne, C. E., Aldrich, H. C., Baker, S. H., Heinhorst, S., & Shively, J. M. (2001). Microcompartments in prokaryotes: carboxysomes and related polyhedra. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(12), 5351-5361.



- Carbone, M., Donia, D. T., Sabbatella, G., & Antiochia, R. (2016). Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University-Science*, 28(4), 273-279.
- Castenholz, R. W., Wilmotte, A., Herdman, M., Rippka, R., Waterbury, J. B., Itean, I., & Hoffmann, L. (2001). Phylum BX. cyanobacteria. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 473-599). Springer, New York, NY.
- Castenholz, R. W. (2015). General characteristics of the cyanobacteria. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-23.
- Chojnacka, K., Chojnacki, A., & Gorecka, H. (2005). Biosorption of Cr<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions by blue-green algae *Spirulina sp.*: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 59(1), 75-84.
- Chapman, D. J. (1973). Biliproteins and bile pigments. *Botanical monographs*.
- Chen, B., Su, Q., Kong, W., Wang, Y., Shi, P., & Wang, F. (2018). Energy transfer-based biodetection using optical nanomaterials. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(19), 2924-2944.
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in microbiology*, 7, 1831.
- De Moura, M. R., Mattoso, L. H., & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 520-524.
- Debabov, V. G., Voeikova, T. A., Shebanova, A. S., Shaitan, K. V., Emel'yanova, L. K., Novikova, L. M., & Kirpichnikov, M. P. (2013). Bacterial synthesis of silver sulfide nanoparticles. *Nanotechnologies in Russia*, 8(3-4), 269-276.
- Devi, T. A., Ananthi, N., & Amaladhas, T. P. (2016). Photobiological synthesis of noble metal nanoparticles using *Hydrocotyle asiatica* and application as catalyst for the photodegradation of cationic dyes. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6(1), 75-92.
- Dhand, V., Soumya, L., Bharadwaj, S., Chakra, S., Bhatt, D., & Sreedhar, B. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and its antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 36-43.
- Drews, G. (2000). The roots of microbiology and the influence of Ferdinand Cohn on microbiology of the 19th century. *FEMS microbiology reviews*, 24(3), 225-249.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., & El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740-2779.

- Echlin, P. (1966). The blue-green algae. *Scientific American*, 214(6), 74-83.
- Ehling-Schulz, M., & Scherer, S. (1999). UV protection in cyanobacteria. *European Journal of Phycology*, 34(4), 329-338.
- El-Baz, F. K., El-Senousy, W. M., El-Sayed, A. B., & Kamel, M. M. (2013). In vitro antiviral and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extract. *J. Appl. Pharm. Sci*, 3(12), 52-56.
- Elizabeth, P. S., Néstor, M. M., & David, Q. G. (2019). Nanoparticles as dental drug-delivery systems. In *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry* (pp. 567-593). Elsevier.
- El-Rafie, H. M., El-Rafie, M., & Zahran, M. K. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydrate Polymers*, 96(2), 403-410.
- Favier, I., Pla, D., & Gómez, M. (2019). Palladium Nanoparticles in Polyols: Synthesis, Catalytic Couplings, and Hydrogenations. *Chemical Reviews*, 120(2), 1146-1183.
- Fay, P. (1965). Heterotrophy and nitrogen fixation in *Chlorogloea fritschii*. *Microbiology*, 39(1), 11-20.
- Flores, E., & Herrero, A. (2010). Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 39.
- Fox Jr, C. L. (1983). Topical therapy and the development of silver sulfadiazine. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 157(1), 82-88.
- Francis, S., Joseph, S., Koshy, E. P., & Mathew, B. (2017). Green synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles using *Mussaenda glabrata* leaf extract and their environmental applications to dye degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17347-17357.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. G. (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, New York, Berlin, Heidelberg.
- Ganeshkumar, M., Ponrasu, T., Raja, M. D., Subamekala, M. K., & Suguna, L. (2014). Green synthesis of pullulan stabilized gold nanoparticles for cancer targeted drug delivery. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 130, 64-71.
- Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X., & Xing, M. M. (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 2399.
- Ghorbani, H. R. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Salmonella typhirium*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3(1), 29.

- Ghorbani, H. R., Safekordi, A. A., Attar, H., & Sorkhabadi, S. M. (2011). Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 25(3), 317-326.
- Golecki, J. R. (1977). Studies on ultrastructure and composition of cell walls of the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. *Archives of Microbiology*, 114(1), 35-41.
- Gram, C. (1884). The differential staining of Schizomycetes in tissue sections and in dried preparations. *Fortschritte der Medicin*, 2(6), 185-189.
- Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Venkataraman, D., Pandian, S. R. K., Muniyandi, J., ... & Eom, S. H. (2009). Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 328-335.
- Gürmen, S., Ebin, B., & İTÜ, M. (2008). Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1. *Metalurji Dergisi*, 150, 31-38.
- He, B., Tan, J. J., Liew, K. Y., & Liu, H. (2004). Synthesis of size controlled Ag nanoparticles. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 221(1-2), 121-126.
- Hitch, C. J. B., & Millbank, J. W. (1975). Nitrogen metabolism in Lichens. *New Phytologist*, 75(2), 239-244
- Hoffmann, L., Komárek, J., & Kaštovský, J. (2005). System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) state in 2004. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 95-115.
- Hoiczuk, E. G. B. E. R. T., & Baumeister, W. (1995). Envelope structure of four gliding filamentous cyanobacteria. *Journal of Bacteriology*, 177(9), 2387-2395.
- Holm-Hansen, O. (1968). Ecology, physiology, and biochemistry of blue-green algae. *Annual Reviews in Microbiology*, 22(1), 47-70.
- Hong, J. W., Kim, O. H., Jo, S. W., Kim, H., Jeong, M. R., & Yoon, H. S. (2018). Characterization of Alkane-Producing *Nostoc sp.* Isolated from a Summer Bloom for Biofuel Potential. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 12(3), 244-251.
- Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Husain, S., Sardar, M., & Fatma, T. (2015). Screening of cyanobacterial extracts for synthesis of silver nanoparticles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(8), 1279-1283.
- Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2007). Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy.

- Hu, F. Q., Wei, L., Zhou, Z., Ran, Y. L., Li, Z., & Gao, M. Y. (2006). Preparation of biocompatible magnetite nanocrystals for in vivo magnetic resonance detection of cancer. *Advanced Materials*, 18(19), 2553-2556.
- Hutchison, J. E. (2008). Greener nanoscience: a proactive approach to advancing applications and reducing implications of nanotechnology. *ACS nano*, 2(3), 395-402.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- Ishida, K., Cipriano, T. F., Rocha, G. M., Weissmüller, G., Gomes, F., Miranda, K., & Rozental, S. (2014). Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterisation and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109(2), 220-228.
- İnternet: Siyanobakteri hücresi, [URL1: https://www.cronodon.com/BioTech/Cyanobacteria.Html](https://www.cronodon.com/BioTech/Cyanobacteria.Html). Son Erişim Tarihi: 12.04.2021
- İnternet: Siyanobakteride heterosist, akinet ve vejetatif hücreleri, [URL2: https://www.soilalgae.com/pages/heterocysts](https://www.soilalgae.com/pages/heterocysts). Son Erişim Tarihi: : 12.04.2021
- İnternet: Örnek alınan bölgenin uydu görüntüsü, Tersakan Çayı, Amasya, [URL3:https://www.google.com/maps/place/40%C2%B052'55.6%22N+35%C2%038'00.4%22E/@40.8821111,35.6312557,17z/data=3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d40.8821111!](https://www.google.com/maps/place/40%C2%B052'55.6%22N+35%C2%038'00.4%22E/@40.8821111,35.6312557,17z/data=3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d40.8821111!). Son Erişim Tarihi: 12.04.2021
- Jaki, B., Heilmann, J., & Sticher, O. (2000). New Antibacterial Metabolites from the Cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b). *Journal of Natural Products*, 63(9), 1283-1285.
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101174.
- Jerez-Martel, I., García-Poza, S., Rodríguez-Martel, G., Rico, M., Afonso-Olivares, C., & Gómez-Pinchetti, J. L. (2017). Phenolic profile and antioxidant activity of crude extracts from microalgae and cyanobacteria strains. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Joerger, R., Klaus, T., & Granqvist, C. G. (2000). Biologically Produced Silver–Carbon Composite Materials for Optically Functional Thin-Film Coatings. *Advanced Materials*, 12(6), 407-409
- Jones, L. W., & Myers, J. (1963). A common link between photosynthesis and respiration in a blue-green alga. *Nature*, 199(4894), 670-672.
- Jung, H. J., Sohn, Y., Sung, H. G., Hyun, H. S., & Shin, W. G. (2015). Physicochemical properties of ball milled boron particles: dry vs. wet ball milling process. *Powder Technology*, 269, 548-553.

- Jürgens, U. J., & Weckesser, J. (1985, January). The fine structure and chemical composition of the cell wall and sheath layers of cyanobacteria. In *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie* (Vol. 136, No. 1, pp. 41-44). Elsevier Masson.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638-2650.
- Kalimuthu, K., Babu, R. S., Venkataraman, D., Bilal, M., & Gurunathan, S. (2008). Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65(1), 150-153.
- Kanekiyo, K., Lee, J. B., Hayashi, K., Takenaka, H., Hayakawa, Y., Endo, S., & Hayashi, T. (2005). Isolation of an antiviral polysaccharide, nostoflan, from a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc flagelliforme*. *Journal of Natural Products*, 68(7), 1037-1041.
- Kannaiyan, S., Aruna, S. J., Kumari, S. M. P., & Hall, D. O. (1997). Immobilized cyanobacteria as a biofertilizer for rice crops; Intl. Conference on Applied Algology, Knysna, South Africa, April 1996. *Journal of Applied Phycology*, 9(2), 167-174.
- Kaplan-Levy, R. N., Hadas, O., Summers, M. L., Rücker, J., & Sukenik, A. (2010). Akinetes: dormant cells of cyanobacteria. In *Dormancy and resistance in harsh environments* (pp. 5-27). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Karthik, L., Kumar, G., Kirthi, A. V., Rahuman, A. A., & Rao, K. B. (2014). *Streptomyces* sp. LK3 mediated synthesis of silver nanoparticles and its biomedical application. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(2), 261-267.
- Karna, R. R., Uma, L., Subramanian, G., & Mohan, P. M. (1999). Biosorption of toxic metal ions by alkali-extracted biomass of a marine cyanobacterium, *Phormidium valderianum* BDU 30501. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(6), 729-732.
- Kaushik, B. D., & Venkataraman, G. S. (1979). Effect of algal inoculation on the yield and vitamin C content of two varieties of tomato. *Plant and Soil*, 52(1), 135-137.
- Kaviya, S., Santhanalakshmi, J., Viswanathan, B., Muthumary, J., & Srinivasan, K. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(3), 594-598.
- Kim, Y. I., Kim, D., & Lee, C. S. (2003). Synthesis and characterization of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles prepared by temperature-controlled coprecipitation method. *Physica B: Condensed Matter*, 337(1-4), 42-51.
- Klaus, T., Joerger, R., Olsson, E., & Granqvist, C. G. (1999). Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(24), 13611-13614.
- Knoll, A. H. (1989). The paleomicrobiological information in Proterozoic rocks.

- Knoll, A. H. (2003). Life on a young planet: the first three billion years of evolution on earth. Princeton Univ.
- Knoll, A. H. (2008). Cyanobacteria and earth history. The cyanobacteria: molecular biology, genomics, and evolution, 484.
- Knoll, A. H., Bergmann, K. D., & Strauss, J. V. (2016). Life: the first two billion years. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 371(1707), 20150493.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. Preslia, 86(4), 295-335.
- Kotov, A. D., Mikhaylovskaya, A. V., Borisov, A. A., Yakovtseva, O. A., & Portnoy, V. K. (2017). High-strain-rate superplasticity of the Al–Zn–Mg–Cu alloys with Fe and Ni additions. Physics of Metals and Metallography, 118(9), 913-921.
- Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P. T., & Mohan, N. J. C. S. B. B. (2010). Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 76(1), 50-56.
- Kumar, K., Mella-Herrera, R. A., & Golden, J. W. (2010). Cyanobacterial heterocysts. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, a000315.
- Lalitha, A., Subbaiya, R., & Ponmurugan, P. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract *Azadirachta indica* and to study its anti-bacterial and antioxidant property. Int J Curr Microbiol App Sci, 2(6), 228-235.
- Lambert, G. R., & Smith, G. D. (1977). Hydrogen formation by marine blue—green algae. FEBS letters, 83(1), 159-162.
- Lang, N. J. (1968). The fine structure of blue-green algae. Annual Reviews in Microbiology, 22(1), 15-46.
- Lewinski, N., Colvin, V., & Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. small, 4(1), 26-49.
- Leao, P. N., Costa, M., Ramos, V., Pereira, A. R., Fernandes, V. C., Domingues, V. F., ... & Martins, R. (2013). Antitumor activity of hierridin B, a cyanobacterial secondary metabolite found in both filamentous and unicellular marine strains. PLoS One, 8(7), e69562.
- Lee, S. M., Song, K. C., & Lee, B. S. (2010). Antibacterial activity of silver nanoparticles prepared by a chemical reduction method. Korean Journal of Chemical Engineering, 27(2), 688-692.

- Lengke, M. F., Fleet, M. E., & Southam, G. (2007). Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver (I) nitrate complex. *Langmuir*, 23(5), 2694-2699.
- Li, X., Cao, Z., Zhang, Z., & Dang, H. (2006). Surface-modification in situ of nano-SiO<sub>2</sub> and its structure and tribological properties. *Applied Surface Science*, 252(22), 7856-7861.
- Liu, L. N. (2016). Distribution and dynamics of electron transport complexes in cyanobacterial thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1857(3), 256-265..
- Lindblad, P. (1999). Cyanobacterial H<sub>2</sub> metabolism: knowledge and potential/strategies for a photobiotechnological production of H<sub>2</sub>. *Biotechnologia Aplicada*, 16(3), 141-144.
- Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., ... & Che, C. M. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12(4), 527-534.
- Lykhach, Y., Kozlov, S. M., Skála, T., Tovt, A., Stetsovych, V., Tsud, N., ... & Fabris, S. (2016). Counting electrons on supported nanoparticles. *Nature Materials*, 15(3), 284-288.
- MacColl, R. (1998). Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*, 124(2-3), 311-334.
- MacColl, R. (1998). Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*, 124(2-3), 311-334.
- Mallick, N., & Rai, L. C. (1990). Effects of heavy metals on the biology of a N<sub>2</sub>-fixing cyanobacterium *Anabaena doliolum*. *Toxicity Assessment*, 5(3), 207-219.
- Mauzerall, D. (1976). Chlorophyll and photosynthesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 287-294.
- Mahdieh, M., Zolanvari, A., & Azimee, A. S. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles by *Spirulina platensis*. *Scientia Iranica*, 19(3), 926-929.
- Mavani, K., & Shah, M. (2013). Synthesis of silver nanoparticles by using sodium borohydride as a reducing agent. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 2(3), 1-5.
- Mehta, B. K., Chhajlani, M., & Shrivastava, B. D. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles and their characterization by XRD. In *Journal of physics: conference series* (Vol. 836, No. 1, p. 012050). IOP Publishing.
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles-a review. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 5(1), 561-573.

- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
- Mishra, A. K., Tiwari, D. N., & Rai, A. N. (Eds.). (2018). *Cyanobacteria: From Basic Science to Applications*. Academic Press.
- Miller, J. C., Serrato, R., Represas-Cardenas, J. M., & Kundahl, G. (2004). *The handbook of nanotechnology: Business, policy, and intellectual property law*. John Wiley & Sons.
- Mittal, A. K., Bhaumik, J., Kumar, S., & Banerjee, U. C. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles: elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. *Journal of Colloid and Interface Science*, 415, 39-47.
- Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517.
- Morsy, F. M., Nafady, N. A., Abd-Alla, M. H., & Elhady, D. A. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles by water soluble fraction of the extracellular polysaccharides/matrix of the cyanobacterium *Nostoc commune* and its application as a potent fungal surface sterilizing agent of seed crops. *Univ J Microbiol Res*, 2(2), 36-43.
- Moshfegh, A., Jalali, A., Salehzadeh, A., & Jozani, A. S. (2019). Biological synthesis of silver nanoparticles by cell-free extract of *Polysiphonia algae* and their anticancer activity against breast cancer MCF-7 cell lines. *Micro & Nano Letters*, 14(5), 581-584.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R. K., Horn, G. T., & Erlich, H. (1986, January). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 51, pp. 263-273). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Mulvaney, P. (1996). Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles. *Langmuir*, 12(3), 788-800.
- Murry, M. A., & Wolk, C. P. (1989). Evidence that the barrier to the penetration of oxygen into heterocysts depends upon two layers of the cell envelope. *Archives of Microbiology*, 151(6), 469-474.
- Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in colloid and interface science*, 156(1-2), 1-13.
- National Nanotechnology Initiative. (2007). *National Nanotechnology Initiative Strategic Plan*.
- Nagarajan, A., & Pakrasi, H. B. (2016). Membrane-Bound Protein Complexes for Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria. *eLS*, 1-8.



- Nilavukkarasi, M., Vijayakumar, S., & Kumar, S. P. (2020). Biological synthesis and characterization of silver nanoparticles with *Capparis zeylanica* L. leaf extract for potent antimicrobial and anti proliferation efficiency. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 371-376.
- Niraimathi, K. L., Sudha, V., Lavanya, R., & Brindha, P. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera sessilis* (Linn.) extract and their antimicrobial, antioxidant activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 288-291.
- Nübel, U., Garcia-Pichel, F., & Muyzer, G. (1997). PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3327-3332.
- Oren, A. (2012). Salts and brines. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 401-426). Springer, Dordrecht.
- Pastoriza-Santos, I., & Liz-Marzán, L. M. (1999). Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N, N-dimethylformamide. *Langmuir*, 15(4), 948-951.
- Padmapriya, V., & Anand, N. (2010). Evaluation of some industrially important enzymes in filamentous cyanobacteria. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 5(5), 86-97.
- Patipong, T., Hibino, T., Waditee-Sirisattha, R., & Kageyama, H. (2019). Induction of Antioxidative Activity and Antioxidant Molecules in the Halotolerant Cyanobacterium *Halothece* sp. PCC7418 by Temperature Shift. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X19865680.
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6), 1712-1720.
- Pandey, S., Goswami, G. K., & Nanda, K. K. (2012). Green synthesis of biopolymer–silver nanoparticle nanocomposite: An optical sensor for ammonia detection. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4), 583-589.
- Pastoriza-Santos, I., & Liz-Marzán, L. M. (1999). Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N, N-dimethylformamide. *Langmuir*, 15(4), 948-951.
- Patel, V., Berthold, D., Puranik, P., & Gantar, M. (2015). Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 5, 112-119.
- Peschek, G. A. (1999). Photosynthesis and respiration of cyanobacteria. In *The phototrophic prokaryotes* (pp. 201-209). Springer, Boston, MA.

- Pereira, S., Micheletti, E., Zille, A., Santos, A., Moradas-Ferreira, P., Tamagnini, P., & De Philippis, R. (2011). Using extracellular polymeric substances (EPS)-producing cyanobacteria for the bioremediation of heavy metals: do cations compete for the EPS functional groups and also accumulate inside the cell?. *Microbiology*, 157(2), 451-458.
- Phan, H. T., & Haes, A. J. (2019). What does nanoparticle stability mean?. *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(27), 16495-16507.
- Pierce, J., & Omata, T. (1988). Uptake and utilization of inorganic carbon by cyanobacteria. In *Molecular Biology of Photosynthesis* (pp. 593-606). Springer, Dordrecht.
- Playfair, G. I. (1921). Australian freshwater flagellates. Vermaas, W. F. (2001). Photosynthesis and respiration in cyanobacteria. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1, 1-7.
- Pyatenko A, Yamaguchi M, Suzuki M. Synthesis of spherical silver nanoparticles with controllable sizes in aqueous solutions. *J Phys Chem C*. 2007;111(22):7910–7917.
- Ranoszek-Soliwoda, K., Tomaszewska, E., Socha, E., Krzyczmonik, P., Ignaczak, A., Orłowski, P., ... & Grobelny, J. (2017). The role of tannic acid and sodium citrate in the synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 19(8), 273.
- Rai, M. K., Deshmukh, S. D., Ingle, A. P., & Gade, A. K. (2012). Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 841-852.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83.
- Raliya, R., & Tarafdar, J. C. (2014). Biosynthesis and characterization of zinc, magnesium and titanium nanoparticles: an eco-friendly approach. *International Nano Letters*, 4(1), 93.
- Redhead, H. M., Davis, S. S., & Illum, L. (2001). Drug delivery in poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles surface modified with poloxamer 407 and poloxamine 908: in vitro characterisation and in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*, 70(3), 353-363.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., & Stanier, R. Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Microbiology*, 111(1), 1-61.
- Rogers, H. J., Perkins, H. R., & Ward, J. B. (1980). Biosynthesis of peptidoglycan. In *microbial cell walls and membranes* (pp. 239-297). Springer, Dordrecht.

- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC advances*, 9(5), 2673-2702.
- Russell, A. D., & Hugo, W. B. (1994). 7 antimicrobial activity and action of silver. In *Progress in medicinal chemistry* (Vol. 31, pp. 351-370). Elsevier.
- Salton, M. R. (1994). The bacterial cell envelope-a historical perspective. In *New Comprehensive Biochemistry* (Vol. 27, pp. 1-22). Elsevier.
- Salari, Z., Danafar, F., Dabaghi, S., & Ataei, S. A. (2016). Sustainable synthesis of silver nanoparticles using macroalgae *Spirogyra varians* and analysis of their antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20(4), 459-464.
- Sarikurkcü, C., Arisoy, K., Tepe, B., Cakir, A., Abali, G., & Mete, E. (2009). Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2479-2483.
- Sarkar, S., & Kotteswaran, V. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous leaf extract of Pomegranate (*Punica granatum*) and their anticancer activity on human cervical cancer cells. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(2), 025014.
- Schubert, R. H., Buchanan, R. E., & Gibbons, N. E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. by RE Buchanan and NE Gibbons, 354.
- Sebastian, M., Aravind, A., & Mathew, B. (2018). Green silver-nanoparticle-based dual sensor for toxic Hg (II) ions. *Nanotechnology*, 29(35), 355502.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 3(1), 91-100.
- Setchell, W. A. (1903). The upper temperature limits of life. *Science*, 17(441), 934-937.
- Sensing, N. E. Report on the National Nanotechnology Initiative Workshop, Arlington, Virginia, May 5-7 (2009).
- Sharathchandra, K., & Rajashekhar, M. (2013). Antioxidant activity in the four species of cyanobacteria isolated from a sulfur spring in the Western Ghats of Karnataka. *Int J Pharm Bio Sci*, 4(1), 275-85.
- Shevela, D. (2011). Adventures with cyanobacteria: a personal perspective. *Frontiers in plant science*, 2, 28.
- Shah, V., Garg, N., & Madamwar, D. (2003). Ultrastructure of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* and exploitation of the culture for hydrogen production. *Folia Microbiologica*, 48(1), 65.

- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K., & Poinern, G. E. J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308.
- Shively, J. M., Ball, F., Brown, D. H., & Saunders, R. E. (1973). Functional organelles in prokaryotes: polyhedral inclusions (carboxysomes) of *Thiobacillus neapolitanus*. *Science*, 584-586.
- S. Mohanty, S. Mishra, P. Jena, B. Jacob, B. Sarkar, A. Sonawane, An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles, *Nanomedicine: NBM* 8 (2012) 916–924.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*, 145(1-2), 83-96.
- Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., & Nohi, A. A. (2007).
- Sharma, N. K., Rai, A. K., & Stal, L. J. (2013). *Cyanobacteria: an economic perspective*. John Wiley & Sons
- Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., & Nohi, A. A. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42(5), 919-923.
- Shivaji, S., Madhu, S., & Singh, S. (2011). Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria. *Process Biochemistry*, 46(9), 1800-1807.
- Stanier, R. Y., & Van Niel, C. B. (1962). The concept of a bacterium. *Archiv für Mikrobiologie*, 42(1), 17-35.
- Stanier, R. Y., & Cohen-Bazire, G. (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 31(1), 225-274.
- Sintubin, L., De Windt, W., Dick, J., Mast, J., van der Ha, D., Verstraete, W., & Boon, N. (2009). Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(4), 741-749.
- Sintubin, L., De Gusseme, B., Van der Meeren, P., Pycke, B. F., Verstraete, W., & Boon, N. (2011). The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(1), 153-162.
- Simon, R. D. (1971). Cyanophycin granules from the blue-green alga *Anabaena cylindrica*: a reserve material consisting of copolymers of aspartic acid and arginine. *Proceedings of the national academy of sciences*, 68(2), 265-267.

- Simon, R. D. (1973). Measurement of the cyanophycin granule polypeptide contained in the blue-green alga *Anabaena cylindrica*. *Journal of Bacteriology*, 114(3), 1213-1216.
- Smitha, S. L., Philip, D., & Gopchandran, K. G. (2009). Green synthesis of gold nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* leaf broth. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74(3), 735-739.
- Singh, R., Wagh, P., Wadhvani, S., Gaidhani, S., Kumbhar, A., Bellare, J., & Chopade, B. A. (2013). Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 4277.
- Singh, G., Babele, P. K., Shahi, S. K., Sinha, R. P., Tyagi, M. B., & Kumar, A. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using cell extracts of *Anabaena doliolum* and screening of its antibacterial and antitumor activity. *J. Microbiol. Biotechnol*, 24(10), 1354-1367
- Slawson, R. M., Trevors, J. T., & Lee, H. (1992). Silver accumulation and resistance in *Pseudomonas stutzeri*. *Archives of Microbiology*, 158(6), 398-404.
- Šmarda, J., Šmajš, D., Komrska, J., & Krzyžánek, V. (2002). S-layers on cell walls of cyanobacteria. *Micron*, 33(3), 257-277.
- Stanier, R. Y., & Bazine, G. C. (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 31(1), 225-274.
- Song, J. Y., & Kim, B. S. (2009). Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(1), 79.
- Song, J. Y., Kwon, E. Y., & Kim, B. S. (2010). Biological synthesis of platinum nanoparticles using *Diopyros kaki* leaf extract. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33(1), 159.
- Taton, A., Grubisic, S., Brambilla, E., De Wit, R., & Wilmotte, A. (2003). Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Applied and environmental microbiology*, 69(9), 5157-5169
- Thiel, T., Lyons, E. M., Erker, J. C., & Ernst, A. (1995). A second nitrogenase in vegetative cells of a heterocyst-forming cyanobacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(20), 9358-9362.
- Thajuddin, N., & Subramanian, G. (2005). Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. *Current Science*, 47-57.
- Thota, S., & Crans, D. C. (Eds.). (2018). *Metal nanoparticles: synthesis and applications in pharmaceutical sciences*. John Wiley & Sons.

- Tomer, A. K., Rahi, T., Neelam, D. K., & Dadheech, P. K. (2019). Cyanobacterial extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and their application in ammonia sensing. *International Microbiology*, 22(1), 49-58.
- Trimurtulu, G., Ohtani, I., Patterson, G. M., Moore, R. E., Corbett, T. H., Valeriote, F. A., & Demchik, L. (1994). Total structures of cryptophycins, potent antitumor depsipeptides from the blue-green alga *Nostoc sp.* strain GSV 224. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4729-4737.
- Walsby, A. E. (1994). Gas vesicles. *Microbiological reviews*, 58(1), 94-144.
- Walsby, A. E., Hayes, P. K., Boje, R., & Stal, L. J. (1997). The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New Phytologist*, 136(3), 407-417.
- Wang, L., & Muhammed, M. (1999). Synthesis of zinc oxide nanoparticles with controlled morphology. *Journal of Materials Chemistry*, 9(11), 2871-2878.
- Wang, H., Chen, H., Wang, Y., Huang, J., Kong, T., Lin, W., ... & Li, Q. (2012). Stable silver nanoparticles with narrow size distribution non-enzymatically synthesized by *Aeromonas sp.* SH10 cells in the presence of hydroxyl ions. *Current Nanoscience*, 8(6), 838-846.
- Watanabe, M., Semchonok, D. A., Webber-Birungi, M. T., Ehira, S., Kondo, K., Narikawa, R., ... & Ikeuchi, M. (2014). Attachment of phycobilisomes in an antenna-photosystem I supercomplex of cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(7), 2512-2517.
- Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 1-13). Springer, Dordrecht.
- Walter, M. R., Buick, R., & Dunlop, J. S. R. (1980). Stromatolites 3,400–3,500 Myr old from the North pole area, Western Australia. *Nature*, 284(5755), 443-445.
- Wani, I. A., Ganguly, A., Ahmed, J., & Ahmad, T. (2011). Silver nanoparticles: ultrasonic wave assisted synthesis, optical characterization and surface area studies. *Materials Letters*, 65(3), 520-522.
- Waterbury, J. B. (2006). The cyanobacteria isolation, purification and identification. *The Prokaryotes*, 4, 1053-1073.
- Wynn-Williams, D. D. (2000). Cyanobacteria in deserts life at the limit?. In *The Ecology of Cyanobacteria* (pp. 341-366). Springer, Dordrecht.
- Wildman, R. B., Loescher, J. H., & Carol, L. W. (1975). Development and Germination of Aknetes of *Aphanizomenon flos-aquae* 1. *Journal of Phycology*, 11(1), 96-104.
- Wolk, C. P., Ernst, A., & Elhai, J. (1994). Heterocyst metabolism and development. In *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (pp. 769-823). Springer, Dordrecht.

- Van Zee, R. D., Pomrenke, G. S., & Evans, H. M. (2009). Nanotechnology-Enabled Sensing: Report of the National Nanotechnology Initiative Workshop, Held in Arlington, Virginia on May 5-7, 2009. National Nanotechnology Coordination Office Arlington va.
- Valuta, A., Cepoi, L., Rudi, L., Bulhac, I., Bourosh, P., & Bologa, O. (2015). Phycobiliprotein accumulation in cyanobacterium *Nostoc linckia* and modification of antioxidant activity. *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 22(1), 13-19.
- Vanlalveni, C., Rajkumari, K., Biswas, A., Adhikari, P. P., Lalfakzuala, R., & Rokhum, L. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Nostoc linckia* and its antimicrobial activity: a novel biological approach. *BioNanoScience*, 8(2), 624-631.
- Van Dok, W., & Hart, B. T. (1996). Akinete Differentiation in *Anabaena circinalis* (Cyanophyta) 1. *Journal of Phycology*, 32(4), 557-565.
- Vikesland, P. J. (2018). Nanosensors for water quality monitoring. *Nature Nanotechnology*, 13(8), 651-660.
- V.S. Kumar, B.M. Nagaraja, V. Shashikala, A.H. Padmasri, S.S. Madhavendra, B.D. Raju, Highly efficient Ag/C catalyst prepared by electro-chemical deposition method in controlling microorganisms in water, *J. Mol. Catal. A* 223 (2004) 313–319.
- Volk, R. B., & Furkert, F. H. (2006). Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. *Microbiological Research*, 161(2), 180-186.
- Yarsan, E. (1998). Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(1), 89-95.
- Yazdani, D., Tan Y. H., Zainal Abidin M., and Jaganath I. A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(30), 6584–6589, 2011.
- Yu, D., & Yam, V. W. W. (2005). Hydrothermal-induced assembly of colloidal silver spheres into various nanoparticles on the basis of HTAB-modified silver mirror reaction. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(12), 5497-5503.
- Zada, S., Ahmad, A., Khan, S., Yu, X., Chang, K., Iqbal, A., ... & Fu, P. (2018). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Leptolyngbya* JSC-1 that induce apoptosis in HeLa cell line and exterminate pathogenic bacteria. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(sup3), S471-S480.
- Zhao, X., Ding, X., Deng, Z., Zheng, Z., Peng, Y., & Long, X. (2005). Thermoswitchable electronic properties of a gold nanoparticle/hydrogel composite. *Macromolecular rapid communications*, 26(22), 1784-1787.
- Zhang, B. T., Zheng, X., Li, H. F., & Lin, J. M. (2013). Application of carbon-based nanomaterials in sample preparation: a review. *Analytica chimica acta*, 784, 1-17.

Zielińska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., & Hupka, J. (2009). Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chemistry*, 1(2), 1560-1566.

Zur Mühlen, A., Zur Mühlen, E., Niehus, H., & Mehnert, W. (1996). Atomic force microscopy studies of solid lipid nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 13(9), 1411-1416.







**EKLER**

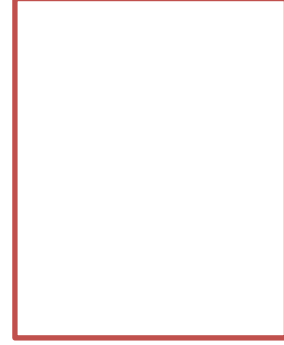
**EK 1: Kullanılan Kimyasal Maddeler**

<b>KİMYASAL ADI</b>	<b>FİRMA</b>	<b>KOD</b>
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Riedel-de Haen	13418
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	MERCK	A0289501208
Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	CODEX	344007
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	SIGMA-ALDRICH	12022-1KG
Trishydroxymethyl	SIGMA-ALDRICH	252859-500G
Edta	SIGMA	E5134-500G
Nutrient agar	MERCK	VM737743618
Nutrient broth	MERCK	VM737743618
Silver nitrate	SIGMA-ALDRICH	100894969
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	KİMETSAN	10043-35-3
Trisma base	SIGMA-ALDRICK	1001356498
Sucrose	Park Scientific Limited	P715A
NaCl	MERCK	K41653304 049
NaNO <sub>3</sub>	MERCK	1115314
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	MERCK	2644217
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	MERCK	A0229883201
Na <sub>2</sub> MO <sub>4</sub>	Riedel-de Haen	31439
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	SIGMA-ALDRICH	12849
Agarose	SIGMA-ALDRICH	A9539-100G
N-Lauroylsarcosine sodium salt	SIGMA	L9150-100G
Citric acid monohydrate	Park Scientific Limited	P9412
2,2-Diphenyl-1-pichydrazyl	SIGMA-ALDRICH	D9132-1G

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hilal ÖZER  
 Uyuğu : Türkiye Cumhuriyeti  
 Doğum tarihi ve yeri  
 Medeni hali  
 e-posta



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2003
Tezsiz Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi / Fen Bilimleri Enst.	2005
Yüksek lisans	Amasya Üniversitesi / Biyoteknoloji A.B.D.	2021
İş Deneyimi	Çalıştığı yer	Görevi
2009 - Halen	Milli Eğitim Bakanlığı	Öğretmen
Yabancı Dili		

İngilizce

### Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1.Özer, H., Çelikoğlu, U.,Çelikoğlu, E., İdil, Ö. (2019). Siyanobakterilerden sentezlenen gümüş nanopartiküllerin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi, 4th International Symposium on Innovative Approaches in Engineering and Natural Sciences Samsun, Turkey (Sözlü sunum)

2.Özer, H., Çelikoğlu, U.,Çelikoğlu, E., İdil, Ö. (2021). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from *Leptolyngbya boryana* NIES-2135, 5. Uluslararası Mardin Artuklu Bilimsel Araştırmalar Kongresi Mardin, Turkey (Sözlü sunum)