

Biyolojik Sistemli Nanopartiküller

İrem Yavuz^{1*}, Ebru Şebnem Yılmaz²

¹HatayMustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 06030, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06030, Hatay, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Çeşitli biyolojik sistemlerle nanopartiküllerin yeşil nanoteknoloji yöntemiyle sentezi
- Biyolojik sistemlerin nanopartiküllerle etkileşimi
- Nanopartiküllerin hücrelerde zamanla oluşan etkileri

Makale Bilgileri

Geliş: 29.03.2021

Kabul: 13.05.2021

Anahtar Kelimeler

Biyolojik sistemler,
Nanoteknoloji,
Nanopartikül

Özet

Nanopartiküller 100 nm ve daha küçük ölçülerde olan tozlar şeklinde tanımlanmaktadır ve nanoteknolojinin temellerini bu partiküller oluşturmaktadır. Nanoyapıların sahip olduğu olağandışı nitelikler uzun zaman önce öngörülmüştür. Nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki davranışlarını anlamak başta medikal tedavi yöntemleri olmak üzere, güvenli nanoteknolojinin geliştirilmesi için gereklidir. Günümüzde dünya genelinde ülkeler nanoteknoloji sahasında önemli yatırımlar yapmaktadır. Bununla birlikte nanometre boyutundaki malzemelere ait üstün nitelikler onların farklı araştırmalarda (tekstil, biyoteknoloji, eczacılık, medikal, savunma sanayi, malzeme, imalat sektörü, tarım vb.) yaygınlaşarak kullanılabilmelerine imkan sunmaktadır. Bu durum nanoteknolojiden daha fazla alanda yararlanılmasının dışında nanoteknolojiye dayalı devrim niteliğinde farklı ve çeşitli ürünlerin tasarlanabilmesini sağlamaktadır. Son yıllarda nanoteknoloji ve klinik uygulamaları hakkında giderek artan oranda literatür olmasına rağmen, nanopartiküller ve hücreler arasındaki moleküler düzeydeki etkileşim mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Nanopartiküllerin üretimi nanoteknolojide yapılması planlanan yeniliklerdeki ilk basamağı oluşturmakta; bu partiküller oldukça kapsamlı bir aralıkta fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle üretilmektedir. Bu çalışmada nanoteknoloji kavramı ve tarihçesine değinildikten sonra nanopartiküllerin biyolojik yöntemlere dayalı üretimleri ve etkileri detaylıca incelenmiştir.

Nanoparticules with Biological Systems

Highlights

- Synthesis of nanoparticles with various biological systems by green nanotechnology method
- Interaction of biological systems with nanoparticles
- The effects of nanoparticles on cells over time

Article Info

Received: 29.03.2021

Accepted: 13.05.2021

Keywords

Biological systems,
Nanotechnology,
Nanoparticles

Abstract

Nanoparticles are defined as dusts measuring 100 nm and smaller, and these particles form the basis of nanotechnology. The unusual qualities of nanostructures were foreseen a long time ago. Understanding the behavior of nanoparticles in biological systems is necessary for the development of safe nanotechnology, especially medical treatment methods. Nowadays, countries around the world are making significant investments in the field of nanotechnology. In addition to this, the superior qualities of nanometer-sized materials allow them to be widely used in different fields (textiles, biotechnology, pharmacy, medicine, defense industry, materials and manufacturing sector, agriculture, etc.). Apart from using nanotechnology in more areas, this enables the design of revolutionary different and diverse products based on nanotechnology. Although there has been increasing literature on nanotechnology and clinical applications in recent years, the mechanisms of interaction between nanoparticles and cells at the molecular level are not fully understood. The production of nanoparticles constitutes the first step in the planned innovations in nanotechnology; these particles can be produced in a wide range of physical, chemical and biological methods within the appropriate one. In this review, the biological method-based production of nanoparticles and their mode of action were examined in detail after the concept and history of nanotechnology was mentioned.



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji anlayışının ortaya çıkışı, 1959 tarihinde fizik alanında çalışmaları olan bilim insanı Dr. Feynman'ın kullanılan araç ve gereçlerin moleküler düzeyde yapılandırılabilceği konusundaki konuşması sonrasında hızlanmıştır [1]. Feynman, nanoteknolojinin ortaya çıkışında önemli bir isim olmakla birlikte, alana öncülük eden başka bilim insanları da olmuştur. Nanopartiküller üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda önemli bir araştırma alanı olması bakımından büyük bir ilerleme göstermektedir. Günümüzde ilgi gören ve değerli bir çalışma alanı haline gelmiş olan nanoteknoloji sayesinde meydana gelebilecek değişikliklerin fark edilmesi ile birlikte gelecek nesiller için yeni bir dönem başlatacağı öngörülmektedir. Bu konu üzerine olan ilginin artma sebebi maddelerin belli boyut aralığında hacimsel yapılarından farklı olarak olağandışı özellikler ve işlevsellik sergilemeleridir. Nanoteknolojinin temelinde moleküler seviyede çalışabilmek, atom atoma yapılanmak, öncelikli bir şekilde yeni moleküler düzenlemeler aracılığıyla kapsamlı yapılar düzenlemek yer almaktadır [1].

Nanopartiküller nano boyutlarından ötürü spesifik bazı özellikler barındırmaktadırlar. Metal nanopartiküllere dair talep gün geçtikçe artış göstermektedir. Bu yapıların katalize edici, manyetik kaydediciler ve elektrik gibi çeşitli araştırmalarda kullanılma potansiyeli olması bu durumun temel sebebini oluşturmaktadır [1].

Metal nanopartiküllerin kendilerine özgü yapılanmaları bu partiküllerden elektronik ve malzeme endüstrisinde yararlanılması konusundaki işlevselliklerini arttırmakta ve antimikrobiyal bileşiklerin sentezi, farmasotiklerin transportu, hastalık tanı ve sağaltımı gibi medikal alan tatbiklerinde farklı tekniklerin geliştirilmesini mümkün kılmaktadır [1].

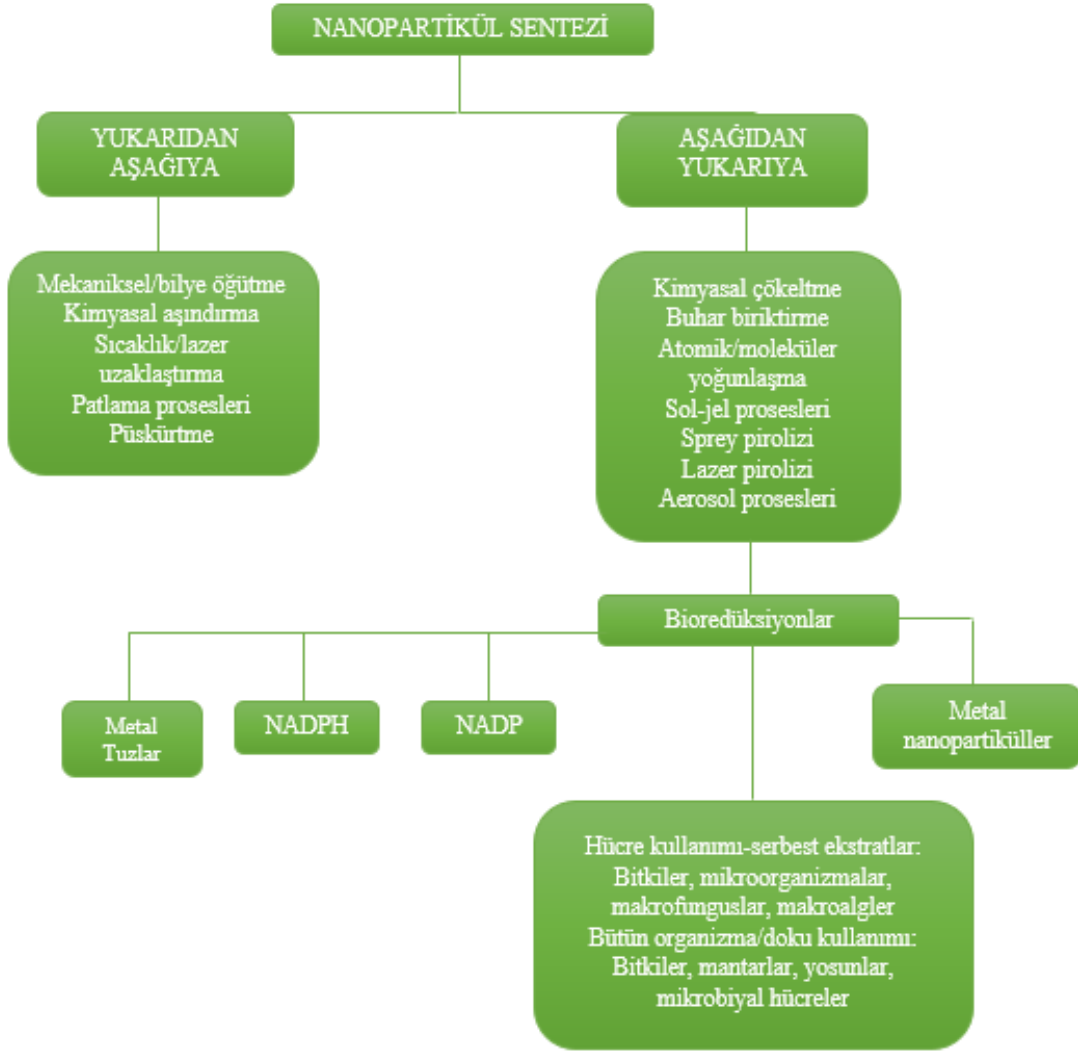
Nanoteknoloji, özellikle son on yıldır sıklıkla adı geçen bir kavram olmakla birlikte esasında bu konu ile ilgili dünya genelinde yapılmış olan çalışmaların temeli 1950'li yıllara dayanmaktadır. Nanometre aracılığıyla ölçülebilen boyutlarda olan bu teknolojinin sahip olduğu avantajlar sayesinde çok daha üst düzeylere taşınabileceği düşünülmektedir. Var olan teknolojiler maddelerin bilinen fiziksel özellikleri üzerinde durmakta; nano boyutlar incelendiğinde ise kuantum etkisi olarak ifade edilen ve malzemenin büyüklüğü ile farklılaşan yeni özelliklere ulaşılmaktadır. Nano yapıli malzemelerin sentezlenmesini kapsayan nanoteknoloji alanındaki yeni gelişmeler için ilk adım nanopartiküllerin üretimidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanopartiküllerin Üretimi

Nanopartiküllerin üretim sistematiği çoğunlukla yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya üretim şeklinde gerçekleştirilmektedir. Bu üretim şekillerinde hedefe yönelik olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler uygulanmaktadır (*Şekil 1*).

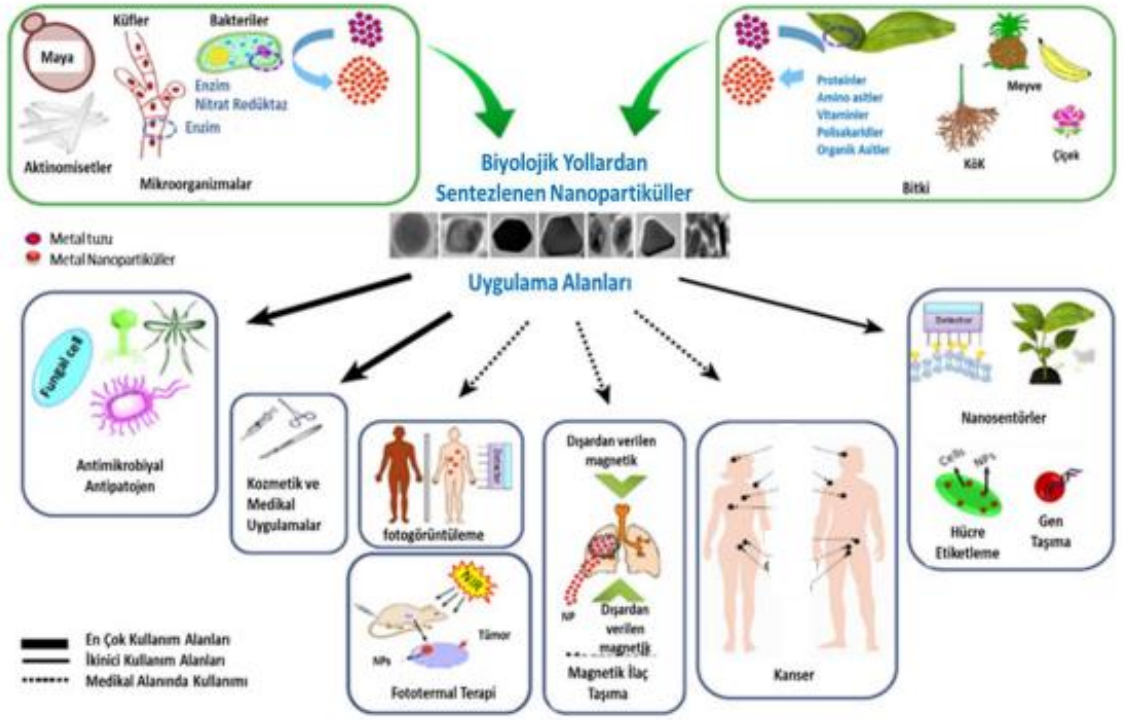
Metal nanopartiküllerin üretiminde yaş kimyasal yöntemlere örnek olarak; hidrotermal/solvotermal, sol-jel, fotokimyasal redüksiyon gibi tekniklerle, ultraviyole aerosol teknolojileri, taş baskı, lazer ablasyonu, ultrasonikasyon gibi yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır [1].



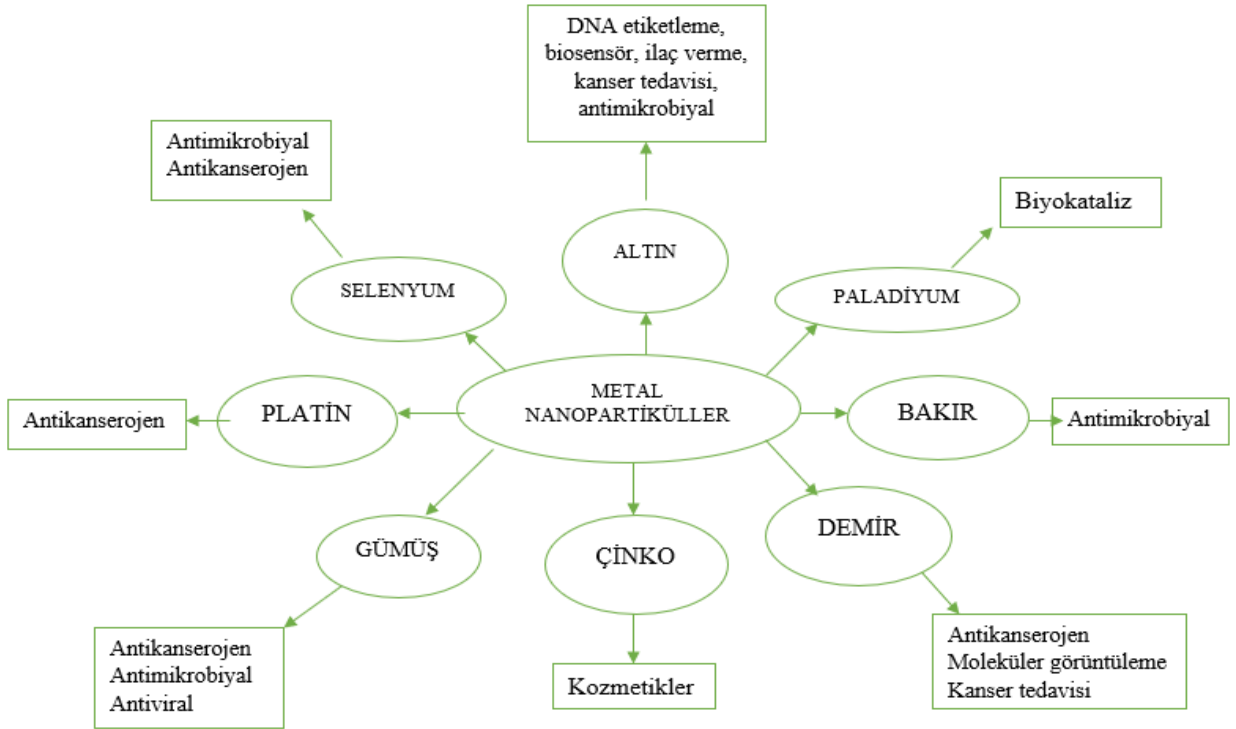
Şekil 1. Bioreduksiyon ile nanopartikül sentezi için kullanılan çeşitli yöntemler [2]

2.2. Biyolojik Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

Biyolojik nanoteknolojilerin uygulama alanları oldukça geniştir ve gelişmeye devam etmektedir. Multidisipliner bir bilim olan nanoteknoloji, fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, malzeme bilimi, elektronik gibi alanlarda kullanımının yanında tıp alanında da önem arz etmeye başlamıştır. Bunun yanısıra kozmetik, tarım ve medikal alanda da uygulamaları bulunmaktadır (Şekil 2,3).



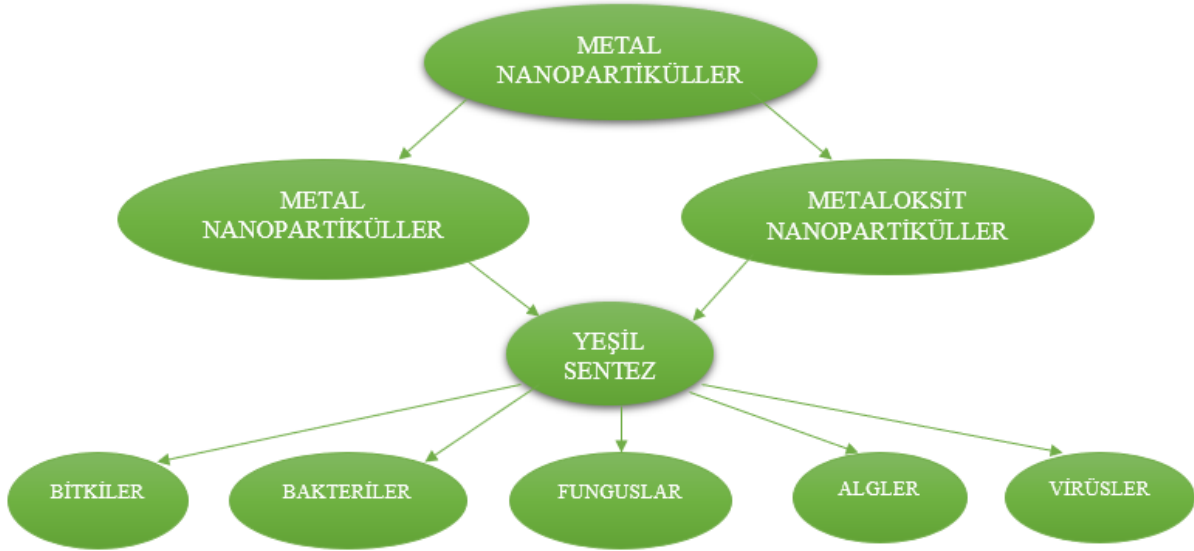
Şekil 2. Biyolojik yollarla sentezlenen nanopartiküller ve uygulama alanları [3]



Şekil 3. Çeşitli metal nanopartiküller ve bunların uygulama alanları [4]

3. YEŞİL NANOTEKNOLOJİ

Yapılan çalışmalardan elde edilmiş olan bulgular çevre yanlısı, düşük toksisite, canlı hücrelerden nanopartikül üretimini esas alan Yeşil Nanoteknoloji kavramının oluşmasını sağlamıştır. Bu kavram atık ürünlerin oluşturduğu sorunların çözülmesine yardımcı olan, insan sağlığı açısından risk teşkil etmeyen, pratik teknikleri, nanoteknoloji alanı içinde inceleyen çalışma teknikleri şeklinde ifade edilmektedir. Yeşil nanoteknoloji çalışmaları dahilinde yeşil bitki ekstraktları ve mikroorganizmalardan yaygın olarak yararlanılmaktadır (Şekil 4). Bu kapsamda pek çok canlıdan yararlanılmakla birlikte yeşil bitki ekstraktları örneklerinden bazıları *Aloe vera*, *Azadirachta indica*, *Camellia sinensis*, *Jatropha curcas* ve *Acalypha indica*'dır [2].



Şekil 4. Nanopartiküllerin yeşil sentezi için kullanılan biyolojik sistemler [4]

3.1. Bitkisel Nanopartikül Sentezi

Kolay ulaşılabilir ve yaygın olma özelliklerinden ötürü bitkilerden sentezlenerek hazırlanan nanopartiküller hızlı, kararlı ve ekonomik olarak anılmaktadır. Bitki ekstraktlarının metal iyonlarını indirgeyebilmeleri 20. yüzyılın başından beri bilinen bir özellik olmakla birlikte, indirgeme ajanlarının doğal mekanizmaları henüz bütünüyle anlaşılabilmiş değildir. *Acalypha indica*, *Allium sativum*, *Boswellia ovalifoliolata*, *Calotropis procera*, *Camelia sinensis* gibi tıbbi bitkiler gümüş nanopartikül üretiminde kullanılan bitkilerden bazılarıdır. Kinonlar ve protein gibi fitokimyasallar açısından güçlü içeriğe sahip bitkilerden elde edilen gümüş nanopartiküllerin daha kararlı yapıda kaldıkları bildirilmiştir [2].

İran'da endemik bitkiler arasında yer alan *Salvia limbata* ekstresinden gümüş nanopartikül (AgNP) sentezlenerek, elde edilen nanopartiküllerin toksik etkiyi ortadan kaldırıp, çevreyi koruyan nitelikte olduğu ifade edilmiştir. Toz şeklinde olan gümüş nanopartikül ekstrelerinden biyolojik sentezlemelerde çabuk bir şekilde yararlanılması pratik ve verimli olmasının dışında çevreci olmasını da sağlamaktadır. Bununla birlikte biyomedikal çalışmalarda farklı şekillerde kullanılabilmeleri, ekonomik olmaları, tıbbi ve medikal çalışmalara yatkınlığı dışında ticari ürün olma potansiyelini de barındırmaktadır. İlgili bir çalışmada elde edilen sonuçlar, *Argyria nervosa* tohum ekstreleri ile üretilmiş olan nanopartiküllerin funguslar ve bakteriler için güçlü bir antagonistik etki içerdiğini göstermiştir [2].

Diğer bir çalışmada elde edilen bulgular *Ficus benghalensis* yaprak özütü ile üretilen gümüş nanopartiküllerinin çevre dostu olma özellikleri taşıdığını, ayrıca proteinlerin amino gruplarının üretilen partiküllerin çözültide stabil kalmasında belirgin görev üstlendiğini göstermiştir [2].

Son yıllardaki uygulamalarda bitkilerin metal tuzlarını indirgeme özelliği kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküllerin yapısal özelliklerinin uygun oluşu ve antimikrobiyal işlevselliği dışında hücredeki toksisiteyi azaltabilmesi de bu partiküllere has bir özelliktir. Rooibos çayı dışında *Argyrea cymosa* ile karanlıkta gerçekleştirilen bir araştırmada, çevreye duyarlı yeşil nanoteknolojiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* türleri ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir. Partikül sentezinde ortamda bulunan metal iyonunun da stabil bulunduğu belirlenmiştir [2].

A. cymosa gibi bitkilerden yeşil nanoteknolojiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerin sahip oldukları etkili antimikrobiyal aktivite ile medikal alanlarda önemli bir potansiyel taşıdığı ifade edilmektedir [2] (Çizelge 1-2).

Çizelge 1. Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen nanopartiküllerin disk difüzyon yöntemi ile yapılan bazı antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Biyolojik İndirgeyici	Organizma	NP	Boyut/Şekil	Mikroorganizma	Etkili Konsantrasyon	Referans
Bitki	Bambu	Ag	≤100 nm Küresel, üçgensel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20-80 µL	[6]
Bitki	<i>Psidium guajava</i>	Ti	32 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20 µg/mL	[7]
Bitki	<i>Gloriosa superba</i>	Ru	25-90 nm Altıgen	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	100 µL	[8]
Fungus	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Ag	≤40 nm Küresel	<i>P. aeruginosa</i> <i>B. subtilis</i>	13-27 µg/mL	[9]
Fungus	<i>Aspergillus clavatus</i>	Ag	550-650 nm	<i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i>	10-15 µg/mL	[10]

Çizelge 2. Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen nanopartiküllerin mikrodilüsyon MİK yöntemi ile yapılan bazı antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Biyolojik İndirgeyici	Organizma	NP	Boyut/Şekil	Mikroorganizma	Etkili Konsantrasyon	Referans
Bitki	Zeytin ağacı yaprakları	Ag	23 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	0.11 µg/mL 0.03 µg/mL 0.03 µg/mL	[11]
Bitki	Tarımsal atık (Hindistan cevizi kabuğu)	Ag	14-22 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	26 µg/mL 53 µg/mL	[12]
Bitki	<i>Cichorium intybus</i>	Ag	19-64 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	4.8 µL 8.4 µL	[13]
Bitki	<i>Capsicum annum L.</i>	Au	13 nm Piramit, Küresel	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i>	0.05 µL 0.22 µL	[14]

Gümüş nanopartiküllerin insanlarda patojen mikroorganizmalara ve çeşitli kanser hücre hatlarına ilişkin yapılmış toksisite çalışmalarında, yeni bir yaklaşımla antimikrobiyal ve antikanser ajan oluşumuna öncülük ettikleri bildirilmektedir [2].

3.2. Funguslarla Yapılan Nanopartikül Çalışmaları

Hindistan'da topraktan izole edilen *Fusarium oxysporum* ve farklı cins fungus izolatları kullanılarak gümüş nanopartikül sentezinin çok hızlı gerçekleştiği görülmüştür [2]. Nanopartiküllerin çeşitli biyolojik sistemler ile sentezi Çizelge 3'te verilmiştir.

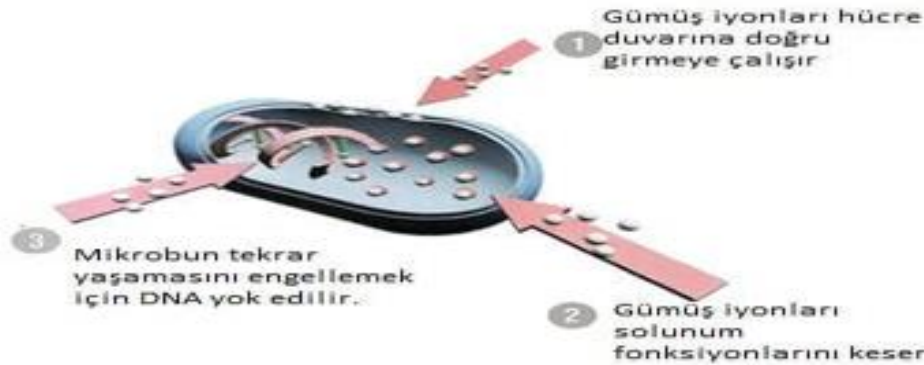
Çizelge 3. Nanopartiküllerin çeşitli biyolojik sistemler ile sentezi

Biyolojik Sistemler	Adı	NP	Referans
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Ag	[15]
Alg	<i>Dunaliella salina</i>	Au	[16]
Bitki	<i>Capsicum annuum L.</i>	Au	[14]
Fungus	<i>Pleurotus eryngii</i>	Ag	[17]
Bakteri	<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Au	[18]
Fungus	<i>Penicillium decumbens</i>	Ag	[19]
Bitki	<i>Prunus avium</i>	Au	[20]
Bitki	<i>Hypericum triquetrifolium</i>	Ag	[21]
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Au	[22]

4. GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliği sebebiyle gümüş iyonu çok uzun yıllardan beri farklı alanlarda kullanılmaktadır. Bilindiği üzere bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonları da antimikrobiyal niteliğe sahiptir ancak bu alanda yapılmış olan çalışmalar bakteri, virüs ve diğer ökaryotik mikroorganizmalar için en yüksek etkinliğe sahip olan iyonun gümüş olduğunu kanıtlamıştır [2].

Gümüşün mikroorganizmaları yok etme sistematığı henüz netlik kazanmamış olsa da gümüşün ve sentezlenen nanopartiküllerinin prokaryot hücrede oluşturduğu morfolojik ve yapısal farklılıkların ele alınması ile bu sistematik netleştirilmeye çalışılmaktadır [2] (Şekil 5).



Şekil 5. Gümüş iyonlarının çalışma prensibi [1]

Gümüşün prokaryotlarda hücre membranıyla etkileşime girerek, sulfidril grubu içeren proteinlerle etkileşimi sonucunda bu proteinleri etkisizleştirdiği ve zar geçirgenliğini azaltmak yolu ile hidrojen katyonuyla yer değişikliği yaparak bakteri hücrelerini yok ettiği bir teoriyle ifade edilmektedir [2].

Gümüş (Ag) dört farklı iyonik formda bulunur. Bunlardan Ag^+ çözücülerde daha serbest halde kalabilirken, Ag^{+2} ve Ag^{+3} kararsız yapıdadır. Nanometre boyutundaki partiküllerde yüzey alanı arttığından antimikrobiyal etkileşimin de arttığı düşünülmektedir [2].

Ag^+ 'nin antimikrobiyal etki sistematiği; etki ettiği mikroorganizma tipine göre değişmekle beraber, absorpsiyon, akümülyasyon ve sitoplazmik zarın polaritesinin bozulması olarak ifade edilmektedir. Bu durumlarda hücre genetik materyali zarar göreceğinden ve +1 bir değerlikli gümüş iyonunun birikimine bağlı olarak hücrelerin çoğalabilme özelliklerinin ortadan kalktığı belirtilmektedir. Hücredeki proteinlerin inhibisyonunda gümüşün tiyol grupları ile etkileşimle olduğu ispat edilmiştir [2].

Ayrıca, prokaryot hücrelerden oksidasyonla gümüş nanopartikül sentezlenen çözeltilere eklenen O_2 'nin katalitik etkili olduğu bildirilmiştir. *E. coli* için denenen farklı büyüklükteki (3,3-6,6nm) gümüş nanopartiküllerin öngörülebilir MİK değerleri ile çoğalma inhibisyonu etkisinin derişimle bağımlı olduğu belirlenmiştir. Buna karşın *S. aureus* için, bu nanopartiküllerin yüksek konsantrasyonda dahi çoğalma üzerinde az bir inhibitör etki ortaya koyduğu tespit edilmiş ve sonuçlar kontrol antibiyotiğiyle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir inhibisyon etkinin yer almadığı belirlenmiştir [2].

Gümüş nanopartiküllerin büyüme üzerine önleyici etkisi içerip içermediğinin tespit edilmesi amacıyla, yaklaşık otuz nm'lik altın nano-tanecikleriyle denemeler yapılmıştır. Bununla birlikte metal olarak kullanılan altın nanopartiküllerinin deney şartlarında, denenen farklı mikroorganizma gruplarına karşı herhangi bir inhibisyon etkisine sahip olmadığı yine bu araştırmacılarca belirlenmiştir [2].

5. BAKTERİLERLE METAL NANOPARTİKÜL BİYOSENTEZİ

Bakteriler aracılığı ile nanopartiküllerin sentezine dair çeşitli çalışmalar olsa da sentezin mekanizması tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Sentez, konumuna göre hücre içi (intraselüler) ve hücre dışı (ekstraselüler) olarak kategorize edilmektedir [5].

5.1. Bakteriyel Nanopartiküllerin Hücre İçi Biyosentezi

Bazı metallerin birtakım bakterilere toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte, toksik metallerin varlığında gelişme yeteneğinde olan bakteriler de mevcuttur. Metal varlığında gelişebilen bu bakterilerin söz konusu metalleri hücre içinde daha az toksik olan nanopartiküllere indirgeyerek hücreye toksisite direnci kazandırdıkları bildirilmiştir [5]. Sentez sitoplazma veya sitozolda gerçekleşir.

Metal iyonlarının metal nanopartiküllere indirgenmesi için redoks sentez mekanizmasında ortamda elektron taşıyıcı bir sistemin bulunması gerekmektedir. Bu hedefle bakterilerin enzimler, tiyoller ve hidrokionlar gibi redoks bileşiklerini salgıladıkları belirlenmiştir. Bakteriyel nanopartiküllerin hücre içi üretim mekanizmasının, iyonların bulunduğu ortamdan bakteri hücresinin içine çoğunlukla enzimler aracılığıyla taşınması şeklinde olduğu bildirilmiştir [5].

Pozitif yüklü metal iyonları ile negatif yüklü hücre duvarı arasındaki elektrostatik etkileşim neticesinde gerçekleşen mekanizmada, bakterinin hücre duvarı önemli bir role sahiptir [5]. Yapılan çalışmalar, NADH ve NADPH bağımlı nitrat redüktaz enzimlerinin metal nanopartiküllerinin sentezinde önemli role sahip olduğunu göstermiştir. Oldukça yüksek bir redoks potansiyeline sahip olan nitrat redüktaz enzimi, metal iyonlarının indirgenmesinde elektron taşıyıcısı olarak görev yapmaktadır. *Bacillus thuringiensis* tarafından gümüş nanopartiküllerinin hücre içi sentezi sırasında nitrat redüktazın gümüş iyonlarını nanoboyuta indirgediği belirlenmiştir [5].

Araştırmacılar, gümüş iyonlarının öncelikle hücre membranındaki porin adı verilen kanallardan veya elektromotor kuvvetlerin etkisiyle hücre içine girdiğini, daha sonra hücre içinde NADH'nin NAD^+ 'ye dönüşmesiyle sonuçlanan bir elektron alımı ile elementel gümüşe indirgeniğini saptamışlardır [5]. Hücre içi sentezin akış diyagramı aşağıda gösterilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Nanopartiküllerin hücre içi sentezlerinin şematik akış diyagramı [3]

Bu dönüşümde gümüş iyonlarını yüksek bağlama kapasitesine sahip tiyol(-SH) içeren proteinlerin de önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Ortamda indirgen özelliğe proteinlerin bulunmaması durumunda hücrenin öldüğü; bu nedenle metallerin indirgenmesinin sadece NADH bağımlı reduktaz enzimleri ile mümkün olduğu belirtilmiştir [5].

Selenitin (SeO_3^{2-}) selenyum nanopartiküllerine indirgenmesinde de benzer şekilde periplazmik nitrat redüktaz enziminin veya glutatyon gibi hücre içi reaktif tiyollerin rol oynadığı bildirilmiştir. Selenitin protein ve/veya peptitlerin tiyol grupları aracılığı ile nanopartiküllere indirgenmesinin oksianyonların genel detoksifikasyon reaksiyonlarını ifade eden Painter-tipi reaksiyonlardan olduğu belirlenmiştir [5].

Bacillus mycooides ile yapılan bir çalışmada ise hücre içinde sentezlenerek biriken bu nanopartiküllerin hücre lizisi ile hücre dışına çıktığı belirlenmiştir. Nanopartiküllerin biyosentezinde görev alan proteinler ile birlikte ortamda bulunan vitamin ve polisakkarit gibi bazı organik moleküllerin nanopartikül yüzeylerini kaplayarak partiküllerin serbest enerjilerinin düşmesini sağladığı belirlenmiştir [5].

Nanopartiküllerin geri kazanımındaki güçlükler ve yüksek maliyeti nedeni ile hücre içi biyosentez çok tercih edilmemektedir [5]. Başta *Bacillus* cinsi olmak üzere *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Magnetospirillum*, *Clostridium* cinslerine ait türlerin çeşitli nanopartikülleri sentezleme yeteneğinde oldukları bildirilmiştir [5].

Bakteriler tarafından hücre içi olarak sentezi gerçekleştirilen nanopartiküller arasında altın, gümüş, selenyum, paladyum, demir oksit, magnetit, kadmiyum sülfür, çinko sülfür ve çinko oksit bulunmaktadır [5](Çizelge 4).

Çizelge 4. Bazı bakteriler tarafından hücre içi üretilen nanopartiküller ve morfolojik özellikleri

Bakteri Adı	NP Çeşidi	Boyut (nm)	Şekil	Referans
<i>B. mycooides</i>	Selenyum	50-400	Küresel	[23]
<i>Bacillus</i> sp. MSh-1	Selenyum	50-220	Küresel	[24]
<i>B. cereus</i>	Selenyum	150-200	Küresel	[25]
<i>B. cereus</i>	Kadmiyum	30-200	Nanokompozit	[26]
<i>B. licheniformis</i>	Kadmiyum	5	Küresel	[27]
<i>B. thuringiensis</i>	Gümüş	10-30	Küresel	[28]
<i>E. coli</i>	Kadmiyum sülfür	2-5	-	[29]
<i>L. kimchicus</i> DCY51	Altın	5-30	Küresel	[30]

5.2. Bakteriyel Nanopartiküllerin Hücre Dışı Biyosentezi

Hücre içi sentezlenen nanopartiküllerin geri kazanımında ortaya çıkan dezavantajlar, hücre dışı sentez yollarını daha ilgi çekici hale getirmiştir. Geri kazanım kolaylığı, bu yolla üretimin maliyetinin hücre içi senteze göre daha düşük olmasını sağlamaktadır.

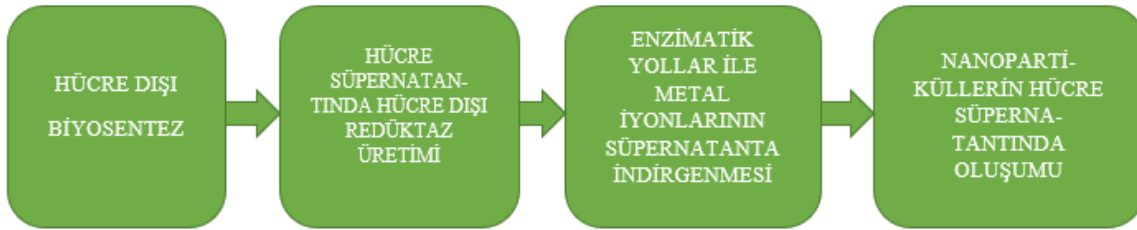
Hücre dışı nanopartikül sentezinde iki farklı yol izlenebilmektedir:

1. Bakteri uygun koşullarda geliştirildikten sonra hücreler ortamdan uzaklaştırılmakta ve elde edilen supernatant ile nanopartikül üretimi gerçekleştirilmektedir. Oluşan nanopartiküllerin geri kazanımı; santrifüj yardımıyla nanopartiküllerin çöktürülmesi ve sonrasında yıkanıp kurutulması şeklinde olmaktadır [5].

2. Uygun besi ortamında geliştirilen bakteri kültürü santrifüjlenip yıkandıktan sonra distile suda süspansiyon edilip metal çözeltisi ile uygun koşullarda inkübe edilmektedir. Elde edilen nanopartiküller ve hücreler santrifüj ile ayrılmaktadır [5].

Metal nanopartiküllerin bakteriler ile hücre dışı üretim mekanizması da tam olarak aydınlatılamamakla birlikte pek çok araştırma, burada da hücre içi sentezde olduğu gibi özellikle enzimlerin aracılık ettiği bir mekanizmanın olduğu ortaya koymuştur [5] (Şekil 7).

Doğrudan bakteri kullanılarak gerçekleştirilen hücre dışı kadmiyum sülfür nanopartiküllerinin sentezinde ortamda bulunan metallerin etkisi ile metal stresine maruz kalan bakterinin metalleri detoksifiye etmek amacıyla hücre dışına birtakım enzimler/proteinler salgıladığını bildirilmiştir [5]. Nitrat redüktaz enziminin yanında, bakterinin gelişmesi ile oluşan ortamdaki peptid hidrolizatlarının da gümüş iyonlarının indirgenmesine yardımcı oldukları belirtilmiştir [5].



Şekil 7. Nanopartiküllerin hücre dışı sentezlerinin şematik akış diyagramı [3]

Çeşitli araştırmacılar tarafından başta gümüş ve altın olmak üzere, titanyum dioksit, demir oksit, kadmiyum sülfür, bakır, kurşun ve çinko oksit gibi metal nanopartiküllerinin üretimi hücre dışı yollarla başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir [5]. Hücre dışı biyosentezi yapılan çeşitli nanopartiküller, kullanılan bakteri ve oluşan nanopartiküllerin çeşitli morfolojik özellikleri Çizelge 5’ de verilmiştir.

Çizelge 5. Bazı bakteriler tarafından hücre dışı üretilen nanopartiküller ve morfolojik özellikleri

Bakteri Adı	NP Çeşidi	Boyut (nm)	Şekil	Referans
<i>B. subtilis</i>	Titanyum	66-77	Küresel Oval	[31]
<i>B. cereus</i>	Bakır	11-33	Küresel	[32]
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Çinko	57	Küresel	[33]
<i>B. safensis LAU13</i>	Altın	10-45	Küresel	[34]
<i>R. capsula</i>	Altın	10-20	Küresel	[18]
<i>B. safensis LAU13</i>	Gümüş	5-95	Küresel	[35]
<i>B. methylotrophicus</i>	Gümüş	10-30	Küresel	[36]
<i>Bacillus sp. AZ1</i>	Gümüş	7-31	Küresel	[37]
<i>Bacillus sp. CS11</i>	Gümüş	42-92	Küresel	[38]
<i>V. guangxiensis</i>	Gümüş	10-40	Düzensiz küresel	[39]
<i>A. amyloliquefaciens</i>	Gümüş	14,6	Dairesel Üçgen	[40]
<i>B. subtilis</i>	Demir oksit	60-80	Küresel	[41]

6. TARTIŞMA

Nano boyutlu üretilen partiküllerin pek çok kullanım alanı bulunmaktadır. Bu partiküllerin farklı elde etme yöntemleri mevcuttur. Çevre dostu indirgeyici ajan olarak biyolojik sistemlerin kullandığı yöntemler büyük ilgi görmektedir [42]. Biyoyumlu ve düşük sitotoksiteli olmak biyomedikal süreçlerde yer alan nanopartiküller için bir zorunluluktur. Biyojenik teknikler aracılığıyla üretilen nanopartiküller fizikokimyasal üretilen nanopartiküller ile karşılaştırıldığında, fizikokimyasal oluşum esnasında nanoyapılara tutunan istenmeyen oluşumların toksik yapıları biyomedikal süreçler için bir sınırlılık oluşturmaktadır [3].

Başta pratik ve çevreci üretim tekniklerine sahip olmaları, elde edilen partiküllerin ekonomik ve biyoyumlu içerikleri nanopartiküllerin yeşil nanoteknoloji ile sentezinde pek çok avantajı da beraberinde getirmektedir.

Bunların dışında, yeşil bitkiler ve prokaryot gibi canlı sistemleri kendiliğinden kaplamaları ve stabilizasyon şeklindeki mobilite sistemleri nedeniyle biyolojik yöntemle üretilen nanopartiküller stabilize edici farklı ajanlara gereksinim duymamaktadır [3].

Fizikokimyasal sentezde nanopartiküllerin aktive edilebilmesi için yüzeylerine kimi fonksiyonel grupların dahil olması zorunlu iken biyolojik sentezlerde bu zorunluluğun olmaması diğer bir önemli avantajdır. Ayrıca, biyolojik sentez için ihtiyaç duyulan zaman fizikokimyasal senteze göre daha azdır. Fizikokimyasal nanopartiküllere göre biyolojik nanopartiküllerin etkinliğinin daha fazla olmasından ötürü bu partiküller antikanser ve antimikrobiyal çalışmalar dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal süreçlerde kullanılmaktadır [3]. NP'lerin özellikle mikroorganizmalar aracılığıyla sentezi, redoks temelli savunma mekanizmasına dayalı detoksifikasyonun bir parçası olarak aşağıdan yukarıya yaklaşımlı çeşitli metal iyonlarının sentezini kapsamaktadır [43]. Metalik NP'ler, gram pozitiflere oranla Gram negatif bakterilere karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirler. Bu aktivite, NP'lerin bakteri hücre duvarına yapışmasına izin veren lipopolisakarit (LPS)'nin negatif yüküne atfedilebilir. Pozitif yüklü nanopartiküller bu çekim yoluyla, bakteriyel hücre duvarı ile etkileşime girerek, hücre

zarının geçirgenliğini ve hücre bütünlüğünü bozarak bakterinin ölümüne neden olurlar. İlginç bir şekilde, hücrenin organik bileşikleri (protein, nükleik asit vs.) hücre zarından dışarı kaçarak hücrenel aktiviteyi ters yönde etkiler. Bu yüzden, bakteri hücre duvarı ve hücre zarının NP'lerin yapışmasına bağlı olarak bozulması, antimikrobiyal aktivite için ilk gösterge olarak kabul edilmektedir [44]. Diğer yandan Ghosh ve arkadaşları (2012) nanopartiküllerin bakteri dış zarındaki proteinlerle etkileşime girerek, hücre duvarında zararlı değişikliklere neden olduklarını bildirmişlerdir [45].

Mukherjee ve arkadaşları (2003) tarafından yapılmış olan antikanser çalışmasında, *Ola scandens* yaprağından üretilen gümüş nanopartiküllerle ilaç dağıtımı, biyoyumluluk ve görüntüleme, hızlandırıcı gibi özellikler yönünden kimyasal şekilde elde edilen nanopartiküllere göre daha güçlü sonuçlar elde edilmiştir. Partiküllerin ebat ve biçimlerinin sonuçlarla bağlantılı olduğu da gösterilmiştir. Bununla birlikte nanopartiküller mitokondri ve kaspaz ile ilişkili yollar ile apoptozis ortaya çıkarabilmektedir [3]. Araştırmacılar, 30 nm' lik biyolojik sentezli nanopartiküllerin %96,67 antibakteriyel aktivite gösterdiğini, ancak kimyasal şekilde elde edilen nanopartiküllerin aynı konsantrasyonda anlamlı etkiye sahip olmadığını kanıtlamışlardır [3].

Başka bir çalışma sonucunda, *Desmodium gangeticum*'dan üretilen biyolojik nanopartiküllerin, kimyasal şekilde sentezlenen nikel nanopartiküllerine göre epitel hücre hatlarında daha tekil dağılıma sahip olduğunu ve daha fazla antioksidan, antibakteriyel ve biyoyumlu aktiviteleri içerdiği ileri sürülmüştür. Farklı bir çalışmada, biyolojik sentezlenen çinko nanopartiküllerinin, kimyasal sentezlenen çinko 23 nanopartiküllerine göre *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium* ve *B. subtilis*'e karşı daha fazla antimikrobiyal potansiyelini içerdiği belirtilmiştir [3].

Antikanser ve antimikrobiyal aktivitelerin yanı sıra biyosensörlerin hazırlanmasında biyomedikal süreçlerde yer alan nanopartiküllerin işlevselliğinin daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır [3].

Biyolojik metal nanopartiküllerin etkinliği fazla ve beraberinde biyoyumlu karakteristiği nedeni ile biyolojik nanopartiküllerin, ihtiyaç duyulan ilaç dozunu azaltan ve fazla ilaç miktarının yan etkilerini engelleyen, bazı hücrelere karşı ilaç dağıtımının hızını arttırarak herhangi bir antikanser ilaç etkisini oluşturabileceği öngörülmüştür. Bununla birlikte, yeşil teknolojiyle üretilen partiküller foto görüntüleme ve termal tedavilerde fizyokimyasal metotlarla sentezlenen altın ve demir nanopartiküllerin görevlerini devralabilirler [3].

Tüm bunların dışında, biyolojik nanopartiküllerden kozmetik ve tıbbi süreçlerde de yararlanılması mümkündür. Gümüş nanopartiküllerin sahip oldukları antimikrobiyal etkiler nedeniyle genellikle bu partiküllerden tıbbi uygulamalarda yararlanılmakta; çinko ve titanyum nanopartiküller ise kozmetik sektöründe öne çıkmaktadır. Gümüş, çinko ve diğer metal nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri bu partiküllerden gıda ambalajlamada, yara pansumanları, ilaç salınımda yararlanılmasını mümkün kılmaktadır [3].

Biyolojik nanopartiküllerden yararlanılan başka bir saha da çevresel unsurlar ve tarım ile ilişkili biyomoleküller için sensör tasarlanmasıdır. Bunun dışında, nanopartiküllerden bitkiler için ve tıp alanında gen transportu ve hücre etiketleme amacıyla yararlanılmaktadır. Fotogörüntüleme, fototermal tedavi ve manyetik açıdan duyarlı ilaç verimi gibi metal nanopartiküllere ait kimi çalışmalar ise geliştirilmeye devam etmektedir [3].

Sonuç olarak, her süreçte biyolojik sistemler adeta nanoteknolojik fabrikalar gibi çalışmaktadır. Nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki davranışını anlamak, özellikle medikal alanda tedavi geliştirmek için yeni yollar açmakta ve bu da güvenli nanoteknolojinin geliştirilmesi için gerekmektedir. Bu bilgiler ışığında nanoteknoloji ile sağlanan ilerlemeler sayesinde vaat edilenden daha fazla avantaj elde edilmeye devam edilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Kıyar, Şule. (2020). Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinde Nanopartikül Boyut Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya. 33.
- [2] Beykaya, Ç. ve Çağlar A. (2016). Bitkisel Özütlere Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3, 631 – 641.
- [3] Hammamchi, Hamideh. (2019). Biyolojik Yollar ile Sentezlenen Organik / İnorganik Nanopartiküllerin Bioaktivitelerinin Belirlenmesi ve Tedavi Amaçlı Kullanımları. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara 166.
- [4] Akgül, Hasan. (Ed.).(2020). Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Akademik Çalışmalar. Ankara: Gece Kitaplığı, 3-10.
- [5] Akçay, F.A. ve Avcı, A. (2018). Bakteriyel Yollarla Metal Nanopartiküllerin Sentezi, Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6(4), 408-414.
- [6] Yasin, S., Lui, L., & Yao, J. (2013). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Bamboo Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity. Journal of Fiber Bioengineering and Informatics I(March), 77-84.
- [7] Santhoshkumar, T., Rahuman, A. A., Jayaseelan, C., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Kirthi, A. V., Kim, S. K. (2014). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 7(12), 968-976.
- [8] Gopinath, K., Karthika, V., Gowri, S., Senthilkumar, V., Kumaresan, S., & Arumugam, A. (2014). Antibacterial activity of ruthenium nanoparticles synthesized using *Gloriosa superba* L. Leaf extract. Journal of Nanostructure in Chemistry, 4(1), 83.
- [9] Al-Bahrani, R., Raman, J., Lakshmanan, H., Hassan, A. A., & Sabaratnam, V. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using tree oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* and its inhibitory activity against pathogenic bacteria. Materials Letters, 186, 21-25.
- [10] Saravanan, M., & Nanda, A. (2010). Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 77(2), 212-214.
- [11] Baran, M.F., Saydut, A., Umaz, A., (2019). Gümüş Nanomalzeme Sentezi ve Antimikrobiyal Uygulamaları, Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi. 10 (2), 689–695.
- [12] Sinsinwar, S., Sarkar, M.K., Suriya, K.R., Nithyanand, P., & Vadivel, V. (2018). Use of agricultural waste (coconut shell) for the synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity against selected human pathogens. Microbial Pathogenesis, 124: 30-37.
- [13] Gallucci, M.N., Fraire, J.C., Ferreyra Maillard, A. P. V, Pez, P. L., Aiassa Martnez, I. M., Pannunzio Miner, E. V., Dalmaso, P.R. (2017). Silver nanoparticles from leafy green extract of Belgian endive (*Cichorium intybus* L. Var. Sativus): Biosynthesis, characterization and antibacterial activity. Materials Letters, 197, 98-101.
- [14] Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C. (2020). Determination of Antimicrobial and Toxic Metal Removal Activities of Plant-Based Synthesized (*Capsicum annuum* L. Leaves), Ecofriendly, Gold Nanomaterials. Global Challenges, 4(5): 1900104.
- [15] Baran, M.F. (2019). *Prunus avium* kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi, DUMF Mühendislik Dergisi, 10:1, 221-227.
- [16] Singh, A.K., Garg, A., Pandit, S., Mokkaleti, V.R.S.S., Mijakovic, I. (2018). Antimicrobial Effects of Biogenic Nanoparticles, Nanomaterials(Basel) 8(12):1009.
- [17] Acay, H., Baran, M.F. (2019). Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using King Oyster (*Pleurotus Eryngii*) Extract: Effect on Some Microorganisms, App Eco Environ Research 17(4), 9205-9214.
- [18] He S, Guo Z, Zhang Y, Zhang S, Wang J, Gu N. (2007). Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using the Bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*. Materials Letters, 61(18): 3984-3987.
- [19] S, Majeed, Mohd Syafiq bin Abdullah I, Gouri Kumar Dash I, Mohammed Tahir Ansarş 1, A.N.2. (2016). Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. Chinese Journal of Natural Medicines, 14(8), 615-620.
- [20] Baran, M.F., Acay, H., (2019) Kiraz Yaprak Özütü (*Prunus avium*) Kullanılarak Altın Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu. International Journal of Mathematic, Engineering and Natural Sciences, 9,1-7.
- [21] Umaz, A., Koç, A., Baran, M. F. Keskin, C., Atalar, M.N. (2019). *Hypericum Triquetrifolium Turra* Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi, Journal of the Institute of Science and Technology, 9(3), 1467-1475.
- [22] Baran, M.F., Saydut, A., (2019) Altın nanomalzeme sentezi ve karakterizasyonu. Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi, 3,1033-1040.

- [23] Lampis S, Zonaro E, Bertolini C, Bernardi P, Butler CS, Vallini G. (2014). Delayed Formation of Zero-Valent Selenium Nanoparticles by *Bacillus mycoides* SelTE01 as a Consequence of Selenite Reduction Under Aerobic Conditions. *Microbial Cell Factories*, 13(1): 35.
- [24] Beheshti N, Soflaei S, Shakibaie M, Yazdi MH, Ghaffarifar F, Dalimi A, Shahverdi AR. (2013). Efficacy of Biogenic Selenium Nanoparticles Against Leishmania Major: In Vitro and In Vivo Studies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27(3), 203-207.
- [25] Dhanjal S, Cameotra SS. (2010). Aerobic Biogenesis of Selenium Nanospheres by *Bacillus cereus* Isolated from Coalmine Soil. *Microbial Cell Factories*, 9(1): 52.
- [26] Harikrishnan H, Shine K, Ponnurugan K, Moorthy IG, Kumar RS (2014). In Vitro Eco-Friendly Synthesis of Cadmium Sulfide Nanoparticles Using Heterotrophic *Bacillus cereus*. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, 6(1): 1-7.
- [27] Tripathi RM, Bhadwal AS, Singh P, Shrivastav A, Singh MP, Shrivastav BR. (2014) Mechanistic Aspects of Biogenic Synthesis of CdS Nanoparticles Using *Bacillus licheniformis*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2): 025006.
- [28] Nayak PS, Arakha M, Kumar A, Asthana S, Mallick BC, Jha S. (2016). An Approach Towards Continuous Production of Silver Nanoparticles Using *Bacillus thuringiensis*. *RSC Advances*, 6(10): 8232-8242.
- [29] Sweeney RY, Mao C, Gao X, Burt JL, Belcher AM, Georgiou G, Iverson BL. (2004). Bacterial Biosynthesis of Cadmium Sulfide Nanocrystals. *Chemistry and Biology*, 11(11): 1553- 1559.
- [30] Markus J, Mathiyalagan R, Kim YJ, Abbai R, Singh P, Ahn S, Yang DC. (2016). Intracellular Synthesis of Gold Nanoparticles with Antioxidant Activity by Probiotic Lactobacillus Kimchicus DCY51 T Isolated from Korean Kimchi. *Enzyme and Microbial Technology*, 95: 85-93
- [31] Kirthi AV, Rahuman AA, Rajakumar G, Marimuthu S, Santhoshkumar T, Jayaseelan C, Bagavan A. (2011). Biosynthesis of Titanium Dioxide Nanoparticles Using Bacterium *Bacillus subtilis*. *Materials Letters*, 65(17): 2745- 2747.
- [32] Tiwari M, Jain P, Hariharapura RC, Narayanan K, Bhat U, Udupa N, Rao JV. (2016) Biosynthesis of Copper Nanoparticles Using Copper-Resistant *Bacillus cereus*, A Soil Isolate. *Process Biochemistry*, 51(10): 1348-1356.
- [33] Jayaseelan C, Rahuman AA, Kirthi AV, Marimuthu S, Santhoshkumar T, Bagava A, Rao KB. (2012). Novel Microbial Route to Synthesize ZnO Nanoparticles Using *Aeromonas hydrophila* and Their Activity Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90: 78-84.
- [34] Ojo SA, Lateef A, Azeez MA, Oladejo SM, Akinwale AS, Asafa TB, Beukes LS. (2016). Biomedical and Catalytic Applications of Gold and Silver-Gold Alloy Nanoparticles Biosynthesized Using Cell-Free Extract of *Bacillus safensis* LAU 13: Antifungal, Dye Degradation, Anti-Coagulant and Thrombolytic Activities. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 15(5): 433-442.
- [35] Lateef A, Ojo SA, Oladejo SM. (2016). Anti-Candida, AntiCoagulant and Thrombolytic Activities of Biosynthesized Silver Nanoparticles Using Cell-Free Extract of *Bacillus safensis* LAU 13. *Process Biochemistry*, 51(10): 1406-1412.
- [36] Wang C, Kim YJ, Singh P, Mathiyalagan R, Jin Y, Yang DC. (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and Their Antimicrobial Activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(4): 1127-1132.
- [37] Deljou A, Goudarzi S. (2016). Green Extracellular Synthesis of the Silver Nanoparticles Using Thermophilic *Bacillus* Sp. AZ1 and its Antimicrobial Activity Against Several Human Pathogenetic Bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 14(2), 25-32.
- [38] Das VL, Thomas R, Varghese RT, Soniya EV, Mathew J, Radhakrishnan EK. (2014) Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles by the *Bacillus* Strain CS 11 Isolated from Industrialized Area. *3 Biotech*, 4(2): 121-126.
- [39] Du J, Yi TH. (2016). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *Variovorax guangxiensis* THG-SQL3 and Their Antimicrobial Potential. *Materials Letters*, 178: 75-78.
- [40] Wei X, Luo M, Li W, Yang L, Liang X, Xu L, Liu H. (2012). Synthesis of Silver Nanoparticles by Solar Irradiation of Cell-Free *Bacillus amyloliquefaciens* Extracts and AgNO₃. *Bioresource Technology*, 103(1): 273-278.
- [41] Sundaram PA, Augustine R, Kannan M. (2012). Extracellular Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles by *Bacillus subtilis* Strains Isolated from Rhizosphere Soil. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(4): 835-840.
- [42] Baran A. (2021). Eco-friendly, rapid synthesis of silver nanomaterials and their use for biomedical applications. *Dicle University Journal of Engineering*, 12(2): 329-336.
- [43] Rónavári A, Igaz N, Adamecz DI, Szerencsés B, Molnar C, Kónya Z, Pfeiffer I, Kiricsi M. (2021). Green Silver and Gold Nanoparticles: Biological Synthesis Approaches and Potentials for Biomedical Applications. *Molecules*, 26, 844.

- [44] Salem S, Fouda A. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological Trace Element Research*, 199:344–370.
- [45] Ghosh S, Patil S, Ahire M, Kitture R, Kale S, Pardesi K, Cameotra SS, Bellare J, Dhavale DD, Jabgunde A (2012). Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine*, 7:483.