



**İMİN BAĞI ÜZERİNDEN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİREBİLEN
HİDROJELLERE YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE SENTEZLENEN
GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERLE ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİK
KAZANDIRILMASI**

Ezgi Mürüvvet AKBAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2025

ETİK BEYAN

Gazi 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

Ezgi Mürüvvet AKBAŞ

18/04/2025

İMİN BAĞI ÜZERİNDEN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİREBİLEN HİDROJELLERE
YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERLE
ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİK KAZANDIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Ezgi Mürüvvet AKBAŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2025

ÖZET

Bu tez çalışmasında, potansiyel probiyotik *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşunun postbiyotığı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), 18 farklı parametre altında (1, 2, 3, 4 ve 5 mM AgNO₃ konsantrasyonu; 6, 12, 24 ve 48 saat inkübasyon süresi; 25, 30, 37 ve 40°C sıcaklık; 1:1, 1:2, 2:1, 1:3 ve 3:1 postbiyotik/AgNO₃ oranı, v/v) sentezlenmiştir. UV-Vis spektroskopisiyle (453 nm) en uygun koşullar 4 mM AgNO₃, 37°C, 24 saat inkübasyon süresi ve 1:2 (v/v) oranı olarak belirlenmiştir. Elde edilen AgNP'ler SEM-EDS, XRD, FTIR ve DLS analizleriyle karakterize edilmiş, sitotoksiteleri MTT testiyle değerlendirilmiştir. Antibakteriyel etkinlik, kuyu difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleriyle *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde, 0,00312; 0,00625; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,3 ve 0,5 mg/mL AgNP konsantrasyonlarında değerlendirilmiştir. *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* için minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) 0,05 mg/mL, *P. aeruginosa* için 0,025 mg/mL olarak belirlenmiş; en yüksek inhibisyon değeri 0,5 mg/mL konsantrasyonunda *P. aeruginosa* ATCC 27853'te 12,5 mm zon çapı olarak gözlenmiştir. Ayrıca %5 karboksimetil kitosan ve %2 yükseltgenmiş hiyalüronik asit ile kendi kendini iyileştirebilen hidrojel hazırlanmıştır. Jelleşme süresi 30 saniye olup, *S. epidermidis* ATCC 35984'e karşı 0,2 mg/mL'de 10 mm inhibisyon göstermiştir. Hidrojelin sitotoksitesi, hücre tipi, inkübasyon süresi ve konsantrasyona göre değişkenlik göstermiştir. 25, 50, 100, 200 ve 500 ppm AgNP içeren hidrojellerin gümüş iyonu salınımı ICP-MS ile analiz edilmiş, artan konsantrasyonla birlikte kontrollü salınım tespit edilmiştir.

Bilim Kodu	: 20309
Anahtar Kelimeler	: <i>Ligilactobacillus salivarius</i> , gümüş nanopartikül, kendi kendini iyileştiren hidrojel
Sayfa Adedi	: 149
Danışman	: Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

ANTIBACTERIAL ACTIVITY INDUCTION IN SELF-HEALING HYDROGELS VIA
SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY GREEN SYNTHESIS METHOD
THROUGH AMINE BONDING

(M. Sc. Thesis)

Ezgi Mürüvvet AKBAŞ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2025

ABSTRACT

In this thesis study, silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized via a green synthesis method using the postbiotic of the potential probiotic strain *Ligilactobacillus salivarius* KC66L under 18 different parameters (1, 2, 3, 4, and 5 mM AgNO₃ concentrations; 6, 12, 24, and 48 hours of incubation time; temperatures of 25, 30, 37, and 40°C; and postbiotic/AgNO₃ ratios of 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, and 3:1, v/v). Based on UV-Vis spectroscopy analysis (at 453 nm), the optimal conditions were determined to be 4 mM AgNO₃, 37°C, 24 hours of incubation, and a postbiotic/AgNO₃ ratio of 1:2 (v/v). The synthesized AgNPs were characterized using SEM-EDS, XRD, FTIR, and DLS analyses, and their cytotoxicity was evaluated via the MTT assay. Antibacterial activity was assessed using well diffusion and microdilution methods against *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 at AgNP concentrations of 0.00312, 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.3, and 0.5 mg/mL. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined as 0.05 mg/mL for *E. coli*, *S. aureus*, and *S. epidermidis*, and 0.025 mg/mL for *P. aeruginosa*. The highest inhibition zone, 12.5 mm, was observed for *P. aeruginosa* ATCC 27853 at 0.5 mg/mL. Additionally, a self-healing hydrogel was prepared using 5% carboxymethyl chitosan and 2% oxidized hyaluronic acid. The gelation time was 30 seconds, and it exhibited 10 mm inhibition against *S. epidermidis* ATCC 35984 at a concentration of 0.2 mg/mL. The cytotoxicity of the hydrogel varied depending on cell type, incubation time, and concentration. The release of silver ions from hydrogels containing 25, 50, 100, 200, and 500 ppm AgNPs was analyzed by ICP-MS, and a controlled release pattern was observed with increasing concentration.

Science Code : 20309

Key Words : *Ligilactobacillus salivarius*, silver nanoparticles, self-healing hydrogel

Page Number : 149

Supervisor : Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübesiyle beni aydınlatan, bu tez çalışmasının her aşamasında sabrı ve desteğiyle her zaman yanımda olan, yol gösteren, mücadelesi ve duruşuyla ilham veren, hayat tecrübesiyle yoluma ışık olan kıymetli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ'a yürekten teşekkür ederim. Kendisinin rehberliği olmadan bu çalışmayı tamamlamak bir hayalden öteye gidemezdi.

Yüksek lisans eğitimim esnasında kendisiyle tanışmış olmanın şansını kelimelerle ifade edemediğim, ne zaman kapısını çalsam beni boş çevirmeyip tüm donanımı ve güzel dilekleriyle yanımda olan, bildiğim her şeyin yarı yarıya mimarı, benim için iyi olacak her şeyi benden önce düşündüğüne tüm samimiyetimle inandığım ve üzerimdeki emeğinin tüm hayatıma tesir ettiği çok kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Berat ÇINAR ACAR'a en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında kendisiyle yolum kesiştiği, tanışmış, çalışmış, birlikte deney yapabilmış olduğum için çok şanslı hissettiğim, bana gösterdiği sabır, anlayış ve destekleri için saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Filiz KARA'ya teşekkür ederim. Laboratuvar imkânlarını sunarak bu tez çalışmasının tamamlanabilmesi adına destek veren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fadime KIRAN ve ekibine, özellikle Sultan GÖLPEK AYMELEK'e teşekkür ederim.

Tüm iyi dilekleri ile yanımda olan ve laboratuvarında soluksuz çalıştığımız günlerde motivasyonumu diri tutan canım arkadaşım Biyolog Gülsevim ANAR'a, kalben hep yanımda olan dostum Perfüzyonist Zahide ÇAKIR'a ve laboratuvarımızın çalışkan lisans öğrencileri Umut GÜR ve Azem SAYILIR'a en kalbi duygularla teşekkür ederim. Bu zorlu süreçteki desteklerinizi hayatım boyunca gülümseyerek hatırlayacağım.

Maddi desteklerini ve dualarını hep sırtımda hissettiğim, evlatları olmak en büyük şansım olan, olmak istediğim kişiyi inşa edebilmem için beni sürekli güdüleyen ve sadece var olduğum için beni böylesi özel hissettiren canım annem Saadet AKBAŞ ve canım babam Yunus AKBAŞ'a, ablam Zeliha TÖREN, ağabeyim Fatih AKBAŞ ve Sümeyye AKBAŞ'a tüm manevi destekleri için teşekkür ederim. Bu yüksek lisans tezim canım annem ve canım babama ithafımdır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Nanoteknoloji ve Nanobiyoteknoloji	3
2.2. Nanopartiküller	4
2.2.1. Nanopartikül sentez yöntemleri	4
2.2.2. Yeşil nanoteknoloji ve yeşil sentez yöntemi	5
2.2.3. Metal nanopartiküller	6
2.3. Gümüş Nanopartiküller	8
2.3.1. Gümüş nanopartiküllerin bakteri aracılı sentezi	10
2.3.2. Gümüş nanopartiküllerin laktik asit bakterileri aracılı sentezi	11
2.3.3. Gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu	12
2.3.4. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etki mekanizması	13
2.4. Hidrojeller	15
2.4.1. Hidrojel sentezi: Fiziksel ve kimyasal bağlanma yöntemleri	20
2.4.2. Kendi kendini iyileştiren hidrojeller	21
2.4.3. Yara örtüsü olarak hidrojel kullanımı	22

	Sayfa
2.4.4. Hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandırılması.....	30
3. MATERİYAL VE METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Çalışmada kullanılan bakteriler	33
3.1.2. Kullanılan besiyeri ve çözeltiler.....	33
3.1.3. Çalışmada kullanılan cihaz, ekipman ve kimyasallar	34
3.1.4. Çalışmada kullanılan hücre hatları.....	35
3.2. Metot	36
3.2.1. Bakterilerin aktifleştirilmesi, gelişme ortamları ve muhafazaları.....	36
3.2.2. <i>L. salivarius</i> KC66L suşunun postbiyotiğinden gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi	36
3.2.3. Gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu	37
3.2.4. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu	38
3.2.5. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi.....	39
3.2.6. Gümüş nanopartiküllerin sitotoksitesinin belirlenmesi	42
3.2.7. Hidrojel sentezi	43
3.3. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler	47
4.2. <i>L. salivarius</i> KC66L Suşunun Postbiyotiğinden Gümüş Nanopartikül Sentezi	47
4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Optimizasyonu	48
4.4. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	52
4.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	56
4.6. Gümüş Nanopartiküllerin Sitotoksitesisi	61
4.7. Hidrojel Sentezi.....	63
5. TARTIŞMA.....	79

	Sayfa
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	117
KAYNAKLAR	123
ÖZGEÇMİŞ	149



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma karşılaştırması	21
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan test bakterilerinin isimleri, kodları ve geliştirilme sıcaklıkları.....	33
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri, çözeltiler ve içerikleri	34
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan cihazlar	35
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	35
Çizelge 3.5. AgNP'lerin sentezinin optimizasyonu için kullanılan koşullar	38
Çizelge 4.1. KC66L-AgNP'lerin FTIR spektrumlarına ait pikler ve grupları	55
Çizelge 4.2. KC66L-AgNP'lerin test mikroorganizmaları üzerindeki MIK ve MLK değerleri	57
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi	60
Çizelge 4.4. CS ve CMCS'nin FTIR spektrumuna ait pikler ve grupları	65
Çizelge 4.5. HA ve OHA'nın FTIR spektrumuna ait pikler ve gruplar.....	67
Çizelge 4.6. Farklı hidrojel grupları ve jelleşme süreleri.....	68
Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin antimikrobiyal aktivitesi	75
Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin gümüş salınım miktarları	77

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Metal nanopartiküllerin yeşil sentezi.....	6
Şekil 2.2. AgNP’lerin antimikrobiyal etki mekanizması.....	14
Şekil 2.3. Kitin ve kitosanın yapıları	18
Şekil 2.4. Fizyolojik yara iyileşmesinin dört aşaması.....	24
Şekil 2.5. Yara iyileşmesinde nötrofillerin ve makrofajların rolü	25
Şekil 2.6. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.....	26
Şekil 2.7. Yara örtüsü hidrojellerin fonksiyonları	29
Şekil 3.1. <i>L. salivarius</i> KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP sentezi	37
Şekil 3.2. Mikrodilüsyon yöntemi	41
Şekil 3.3. Kuyu difüzyon yöntemi	42
Şekil 3.4. Karboksimetilasyon işlemi	44
Şekil 4.1. KC66L-AgNP’lerin sentez parametrelerinin optimizasyonu için UV-Visible spektrumları (a) AgNO ₃ konsantrasyonları reaksiyon süresi (b) Postbiyotiğin AgNO ₃ 'e hacim oranı (c) Sentez süresi (d) Sıcaklık.....	49
Şekil 4.2. KC66L-AgNP’lerin UV-Visible spektrumu.....	52
Şekil 4.3. KC66L-AgNP’lerin SEM görüntüsü	53
Şekil 4.4. KC66L-AgNP’lerin EDX spektrumu	54
Şekil 4.5. KC66L-AgNP’lerin DLS analizi	54
Şekil 4.6. KC66L-AgNP’lerin FTIR absorpsiyon spektrumu	55
Şekil 4.7. KC66L-AgNP’lerin XRD deseni.....	56
Şekil 4.8. HaCat hücrelerinin mikroskop görüntüsü (10x)	61
Şekil 4.9. HFF-1 hücrelerinin mikroskop görüntüsü (10x)	61
Şekil 4.10. HaCat hücre hattı üzerinde KC66L-AgNP’lerin sitotoksik etkisi	62
Şekil 4.11. HFF-1 hücre hattı üzerinde KC66L-AgNP’lerin sitotoksik etkisi.....	63
Şekil 4.12. Kitosan (a) ve CMCS’nin (b) FTIR analizi sonucu.....	64
Şekil 4.13. HA(a) ve OHA (b)’nın FTIR analizi sonucu	66

Şekil	Sayfa
Şekil 4.14. Hidrojelin FTIR analizi sonucu	70
Şekil 4.15. Hidrojel örneklerinin SEM görüntüleri (200 µm): a) AgNP içermeyen hidrojel örneği ve b) 0,2 mg/mL KC66L-AgNP ilave edilmiş hidrojel örneği	71
Şekil 4.16. KC66L-AgNP ilave edilmiş hidrojelin EDX analizi	71
Şekil 4.17. HaCat hücre hattı üzerinde hidrojellerin sitotoksik etkisi	73
Şekil 4.18. HFF-1 hücre hattı üzerinde hidrojellerin sitotoksik etkisi.....	74



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. <i>L. salivarius</i> (a) KC66L mikroskop görüntüsü (100X) (b) MRS katı besiyeri yerinde gelişimi	47
Resim 4.2. <i>L. salivarius</i> KC66L suşunun postbiyotiklerinden AgNP sentezi	48
Resim 4.3. Test bakterilerine ait inhibisyon zonlarının görüntüsü	58
Resim 4.4. Test bakterilerine ait inhibisyon zonu petri görüntüleri	58
Resim 4.5. Hidrojelin jelleşme süreci	68
Resim 4.6. Farklı konsantrasyonlarda CMCS ve OHA ile elde edilen jeller	69
Resim 4.7. OHA/CMCS'nin farklı birleştirme oranlarıyla hazırlanan hidrojeller	69
Resim 4.8. Farklı renklerde hazırlanan hidrojelin kendi kendini iyileştirme özelliği.....	72
Resim 4.9. %2 OHA %5 CMCS ile 1:1 (v/v) oranlarda hazırlanan hidrojelin şişme özelliği	73
Resim 4.10. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin antimikrobiyal aktivitesi	76

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat
μL	Mikrolitre
g	Gram
L	Litre
M	Molar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
OD	Optikal Yoğunluk
pH	Asitlik Bazlık Birimi
rpm	Dakikada Devir Sayısı
β	Beta
α	Alfa

Kısaltmalar	Açıklamalar
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
AgNP	Gümüş Nanopartilül
CMCS	Karboksimetil Kitosan
CS	Kitosan
DNA	Deoksiribonükleik Asit
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen
HA	Hiyalüronik asit

Kısaltmalar**Açıklamalar****HCl**

Hidroklorik Asit

ICP-MS

İndüktif Eşleşmiş Plazma ve Kütle Spektrometresi

LAB

Laktik Asit Bakterisi

MCA

Monokloro Asetik Asit

MRS

De Man Rogosa Sharpe

MTT

3-(4,5-dimetiltiyazol-2,5-difeniltetrazolyum-bromür)

NaOH

Sodyum Hidroksit

NB

Nutrient Sıvı Besiyeri

OHA

Yükseltgenmiş Hiyalüronik Asit

PBS

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

SEM

Taramalı Elektron Mikroskobu

SF

Serum Fizyolojik

UV

Ultraviyole

XRD

X-Işını Kristalografisi

1. GİRİŞ

Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), yüksek stabiliteye ve düşük kimyasal reaktiviteye sahip olmaları sayesinde nanoteknolojide önemli bir yenilik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nanopartiküller, biyolojik uygulamalarda fizikokimyasal özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. AgNP'lerin üretimi genellikle fiziksel ve kimyasal yöntemlerle yapılırken, bu yöntemler çoğunlukla toksik kimyasallar içerdiği için çevre dostu alternatif arayışlar gündeme gelmiştir. Son yıllarda, çevreye zarar vermeyen ve güvenli malzemeler kullanılarak yeşil sentez yöntemlerinin uygulanması önem kazanmıştır. AgNP'lerin biyolojik sentezi, yeşil sentez ilkeleriyle uyumlu olup, bakteriler, mantarlar, algler ve bitkiler gibi biyolojik kaynaklar kullanılarak yapılabilmektedir. Bu biyolojik kaynaklarda bulunan metabolitler biyosentez sürecinde indirgeme ve kaplama ajanları olarak görev görmektedir. Biyolojik olarak sentezlenen AgNP'ler, antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri ile farklı alanlardaki potansiyel kullanımları ile araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Farooq ve diğerleri, 2021; Nie, Zhao ve Xu, 2023; Bai ve diğerleri, 2024; Sati, Ranade, Mali, Ahmad Yasin ve Pratap, 2025).

Yüksek su içeriği, geniş gözenekli yapısı ve şişme özellikleriyle birlikte ekstraselüler matriksin yapısını taklit etme kapasitesine sahip hidrojeller, çok çeşitli uygulamalar için umut verici materyaller olarak öne çıkmaktadır. Son zamanlarda, üç boyutlu hidrojellerin şekil ve fonksiyonelliklerinin iyileştirilmesine yönelik önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu alandaki yapılan yeniliklerden biri, doğal ve sentetik polimerlerden (kitosan, karboksimetil kitosan, karboksimetil selüloz, hiyalüronik asit gibi) üretilen hidrojellere metal veya metal nanopartiküllerin eklenmesidir. Metal nanopartiküller, hidrojellerin fonksiyonlarını geliştirmekte ve bu materyalleri daha işlevsel hale getirmektedir (Mittal, Al Alili, Morajkar ve Alhassan, 2021; Ahmadian ve diğerleri, 2023). Metal bazlı hidrojeller ve metal-nanokompozit hidrojellerin sentezi bu alanda önemli gelişmelerdendir. Bu tür hidrojeller, mekanik güç, kendi kendini iyileştirme, biyo-bozunurluk, antibakteriyel aktivite gibi üstün özellikler sergileyebilmektedir. Metal-nanokompozit hidrojelleri, yara tedavi süreçlerinde önemli bir biyomateryal olarak karşımıza çıkmaktadır ve anjiyogenik proteinlerin ifadesini yükseltip, kolajen birikimini destekleyerek yara iyileştirme hızını artırma potansiyeline sahip olduğu üzerine çalışmalar yapılmıştır (Niu ve diğerleri, 2023; Zheng, Gan, Tian ve Chen, 2023; Khan ve diğerleri, 2024; Radoor ve diğerleri, 2024; Wen ve diğerleri, 2025).

Yara, deri veya dokuda meydana gelen hasar ya da bozulma olarak tanımlanmaktadır ve çeşitli stres faktörlerinden kaynaklanabilmektedir. Yaralar genel olarak mekanik travmalar, kimyasal travmalar ve kronik ülseratif travmalar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Toplumda travmaya bağlı yaralanmaların sıklığı göz önüne alındığında, cilt yaralarının iyileştirilmesi her zaman önemli bir tedavi alanı olmuştur. Cilt bariyerinin bozulması ve başarılı bir iyileşme sürecinin önündeki engeller, genellikle yaraların temel özelliklerini belirlemektedir ve uygun tedavi yöntemlerinin seçilmesini gerektirmektedir. Günümüzde modern tıp sayesinde yara tedavi yöntemleri büyük ölçüde gelişme göstermiştir. Hassas debridman, negatif basınç terapisi, büyüme faktörleri ve dermal uyarıcılar gibi çeşitli yenilikçi teknikler kullanılmaktadır. Ayrıca hidrojel pansumanlar, biyoaktif camlar ve nano-gümüş süngerler gibi biyomalzemeler, yara iyileşme sürecini hızlandırmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu yaklaşımlar ister akut ister kronik olsun, farklı yaraların ortak sorun ve zorluklarını gidermek üzere geliştirilmiştir (Liang, He ve Guo, 2021; Luo, Dai, Zhang ve Li, 2021; Freedman ve diğerleri, 2023; Zhang ve diğerleri, 2024; Liu ve diğerleri, 2025).

Bu tez çalışmasında, Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilidim Dalı, Biyoteknoloji Laboratuvarı stok kültür koleksiyonunda bulunan *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden sentezlenen gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) ile antibakteriyel özellik kazandırılmış kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin geliştirilerek, potansiyel yara iyileştirici ajanlar olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, bu tez çalışmasında;

1. *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP'lerin sentezlenmesi,
2. Sentezlenen AgNP'lerin optimizasyonu ve karakterizasyonu,
3. Sentezlenen AgNP'lerin patojen test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi,
4. Kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin sentezlenmesi,
5. Sentezi gerçekleştirilen hidrojellerin karakterize edilmesi,
6. Sentezlenen AgNP'ler ile hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandırılması hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji ve Nanobiyoteknoloji

"Nano" terimi, "çok küçük" anlamına gelir ve metrenin milyarda biri kadar küçük bir uzunluk birimini ifade etmektedir. Nanobilim, bu derece küçük boyutlarda bulunan maddelerin özelliklerini inceleyen ve bu özellikleri kullanarak yeni malzemeler ve cihazlar geliştirmeyi amaçlayan bir bilim dalıdır. Bu ölçek, atom ve moleküllerin boyutunu kapsadığı için, moleküllerin nanoskalada oluşturduğu daha büyük yapılar, malzemelerin elektriksel, optik, termal ve mekanik özelliklerini belirlemektedir. Ayrıca, bu boyutlarda kuantum mekanik etkilerin belirgin hale gelmesi, özelliklerin makroskaladaki yapılardan farklı olmasına neden olmaktadır (Akçay ve Avcı, 2018; Popescu ve diğerleri, 2019; Islam, Hossain, Awal, Rahman ve Alam, 2022; Xiao, Shen, Tang ve Yang, 2025).

Nano boyutun tanınması, Nobel ödüllü fizikçi Richard Feynman'ın 29 Aralık 1959'da Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü'ndeki konuşmasına dayanmaktadır. Feynman, bu konuşmasında nanometre aralığındaki malzemelerin gelecekte yeni fırsatlar sunacağını ifade etmiştir (Feynman, 1960). 1974 yılında, Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norino Taniguchi, "nanoteknoloji" terimini ilk kez kullanmıştır (Harris ve Bawendi, 2012). 1980'lerde K. Eric Drexler, moleküler üretimle ilgili temel fikirleri "Moleküler Üretim İçin Protein Tasarımı" makalesinde tanıtmıştır (Valizadeh ve diğerleri, 2012). Drexler, karmaşık atomik yapıların oluşturulmasına yönelik bir "derleyici" kavramını ortaya koymuş ve bu yaklaşım nanoteknoloji alanında önemli bir yere sahip olmuştur (Heiligttag ve Niederberger, 2013). Nanoteknolojinin gelişiminde önemli bir adım, 1981 yılında Taramalı Tünelleme Mikroskobu'nun keşfi ile sağlanmıştır; bu mikroskop, iletken yüzeylerdeki atomların hareket ettirilmesini mümkün kılmıştır. 1985'te Curl, Kroto ve Smalley, bu mikroskobu kullanarak "Buckyball" veya "Fullerenes" olarak bilinen yeni bir nano yapıli karbon modifikasyonunu keşfetmişlerdir. Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer, bu alandaki katkılarından ötürü 1986'da Nobel Fizik Ödülü'nü kazanmışlardır (Hulla, Sahu ve Hayes, 2015). 1991 yılında, fullerenler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, karbon atomlarının tüp benzeri yapılarının elektronik mühendisliğinde büyük potansiyele sahip olacağı öngörülmüştür. 2000 yılı itibariyle, Amerika Birleşik Devletleri'nin nanoteknoloji yatırımları, diğer ülkelerde de benzer araştırmaların başlamasına yol açmıştır ve günümüzde

bu alandaki gelişmeler hızla devam etmektedir (Gökdemir, Gündoğdu, Muftareviç, Sunar ve Eyidoğan, 2023; Hofstra ve diğerleri, 2025).

Nanobiyoteknoloji, nanoteknoloji ve biyoteknolojinin birleşimi olarak, biyolojik sistemlerin ve süreçlerin nanometre ölçeğinde değiştirilmesi ve kullanımıyla ilgilenmektedir. Bu disiplin, biyomoleküllerin, hücrelerin ve dokuların nano yapılarla etkileşimini inceleyerek, sağlık, tarım ve çevre alanlarında çözümler sunmayı hedeflemektedir. Özellikle tıbbi alanda, nanobiyoteknoloji, kanser tedavisinde hedeflenmiş ilaç dağıtım sistemleri geliştirmek için kullanılmakta; nanopartiküller, ilacın doğrudan tümör hücrelerine ulaşmasını sağlayarak mevcut yan etkileri minimize etmektedir. Ayrıca, biyosensörler aracılığıyla hastalıkların erken teşhisini mümkün kılan, yüksek hassasiyetli analiz yöntemleri geliştirmekte ve bu sayede hastalıkların daha etkin bir şekilde yönetilmesine katkıda bulunmaktadır. Nanobiyoteknoloji, birçok alanda önemli ilerlemelerin sağlanmasına katkıda bulunup hem bilimsel araştırmalar hem de endüstriyel uygulamalar açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır (Kantarci, 2022).

2.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller (NP'ler), boyutları 1 nm ile 100 nm arasında değişen oldukça küçük parçacıklardır. Bu boyutları, enzimler, reseptörler ve antikorlar gibi biyolojik moleküllerin boyutlarından yaklaşık 100 ila 10.000 kat daha küçüktür. Ultra küçük boyutları, geniş yüzey alanları ve yüksek yüzey aktiviteleri sayesinde NP'ler, hacimsel malzemelere göre dikkat çekici boyut/yapı bağımlı özellikler ve avantajlar sunmaktadır. Bu özellikler arasında elektriksel iletkenlik, manyetik, optik, yüksek yüzey/hacim oranı, boyutların dağılımı, artırılmış sıcaklık dayanımı, fotokatalitik aktivite, kimyasal, biyolojik ve biyoyumumluluk özellikleridir. Bu özellikleri sayesinde tıp, tarım, eczacılık ve görüntüleme gibi birçok alanda geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Çınar Acar, Yüksekdağ, Şahin, Açar ve Kara, 2023; Savvidou ve diğerleri, 2023).

2.2.1. Nanopartikül sentez yöntemleri

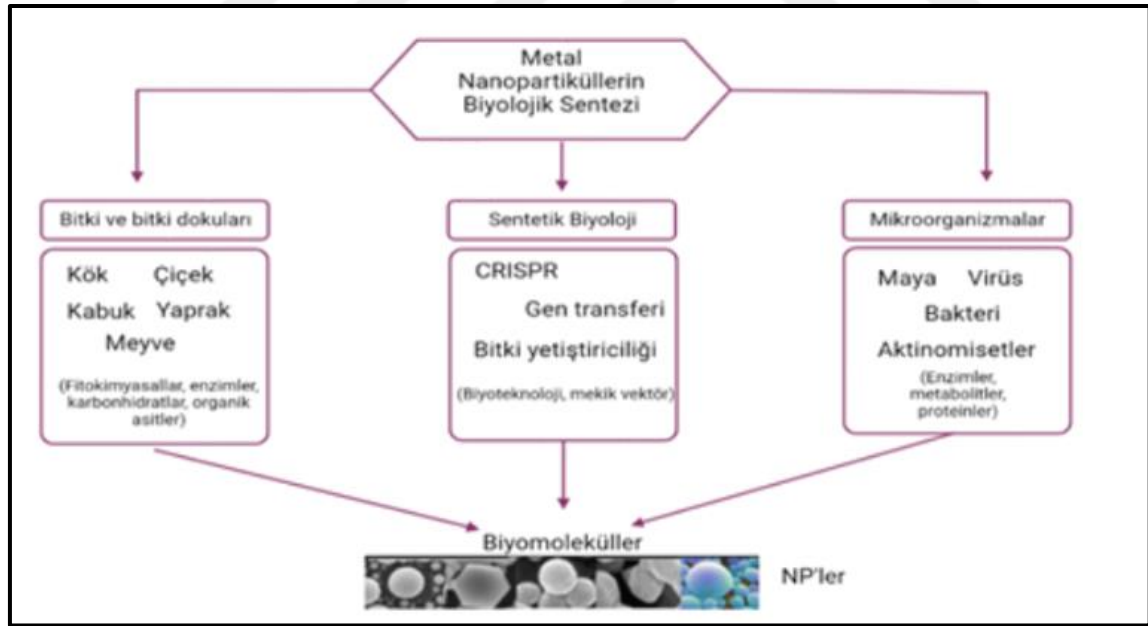
NP'lerin sentezinde geçmişte genellikle fiziksel ve kimyasal yöntemler tercih edilmiştir ve bu yöntemler yukarıdan aşağıya (top down) ve aşağıdan yukarıya (bottom up) olarak iki ana başlık altında toplanmıştır (Jaganathan ve diğerleri, 2016). Yukarıdan aşağıya sentez

yöntemleri, hacimsel malzemeye dışarıdan mekanik ve/veya kimyasal işlemler uygulanarak malzemenin nano boyutlara kadar küçültülmesi esasına dayanmaktadır. Bu yaklaşım genellikle gıda maddelerinin fiziksel işlenmesi yoluyla, örneğin öğütme yöntemleriyle elde edilmektedir. Mekanik öğütme ve kimyasal aşındırma, bu yöntemin en yaygın örnekleri arasında yer almaktadır (Zahoor ve diğerleri, 2021). Aşağıdan yukarıya yöntemi ise, atomlar veya moleküller kullanılarak organik veya inorganik yapılar inşa etme prensibine dayanmaktadır. Nano yapıları birleştirmek için doğada bulunan canlıların ve biyolojik sistemlerin, örneğin DNA'nın kendiliğinden birleşme yeteneğinden yararlanılarak karbon nanotüplerin kontrolü sağlanmaktadır. Bu yöntemde en yaygın kullanılan teknikler arasında kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol jel ve sprey piroliz yer almaktadır (Ghobashy ve diğerleri, 2021). Bu yöntemler, daha yüksek üretim oranları ve nanopartiküllerin yüzey kontrolü gibi avantajlar sunsa da yüksek enerji gereksinimleri, maliyetleri, toksik reaktiflerin kullanımı, anaerobik koşullar ve tehlikeli atık üretimi nedeniyle son yıllarda verimsiz ve istenmeyen yöntemler olarak değerlendirilmektedir. Bu dezavantajlar, üretim maliyetlerini artırmakta ve çevre açısından ciddi riskler taşımaktadır. Biyolojik sentez yöntemleri ile üretilen NP'lerin kimyasal yöntemlerle, üretilen NP'lere göre daha uygun olduğu bildirilmektedir. Zira kimyasal sentezde kullanılan maddeler, özellikle klinik uygulamalarda NP'lerin kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle, NP'lerin sentezi için çevresel olarak güvenli, ekonomik ve biyolojik olarak uygun yöntemlerin araştırılması gereksinimi doğmaktadır (Ahmad, Ashraf, Ashraf, Zhou ve Yin, 2019; Islam ve diğerleri, 2022).

2.2.2. Yeşil nanoteknoloji ve yeşil sentez yöntemi

Geleneksel yöntemlerdeki sınırlamalar ve son yıllarda artan insan sağlığı ve çevre konusundaki farkındalık, NP'lerin üretimi için daha sürdürülebilir yöntemlerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. Bu bağlamda, sürdürülebilirlik hedeflerini karşılayan “yeşil nanoteknoloji” günümüzde oldukça ilgi çekici bir alan haline gelmiştir (Moraes-de-Souza, Moraes, Silva, Ferrarini ve Gonçalves-de-Albuquerque, 2024; Gangal ve diğerleri, 2025). Geleneksel yöntemlerle sentezlenen nanopartiküllerin üretiminde toksik kimyasalların kullanılması, düşük partikül kararlılığı ve yüksek maliyetler gibi sorunlar ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, son yıllarda “yeşil sentez” adı verilen alternatif yöntemler ön plana çıkmaktadır (Aldakheel, Sayed, Mohsen, Fagir ve Dein, 2023). Yeşil nanoteknoloji, metal iyonlarının biyolojik organizmaların hücre içi ve hücre dışı metabolitleri aracılığıyla indirgenmesini ve

biyolojik polisakkaritlerle stabilize edilmesini amaçlayan bir yaklaşım olarak ifade edilmektedir. NP'lerin yeşil sentezi için bitkiler, funguslar, bakteriler, virüsler, mikroalgler ve aktinomisetler gibi biyolojik organizmalardan elde edilen ham ekstraktlar veya saflaştırılmış enzimler, pigmentler ve polisakkaritler gibi biyomoleküller, indirgeme ve stabilizasyon ajanı olarak kullanılabilir. Bakteriler, mantarlar veya algler, metal iyonlarını redükleyerek NP'ler oluşturabilmekte, altın ve gümüş gibi metal NP'lerin yeşil sentezinde etkili bir şekilde kullanılabilir (Şekil 2.1). Bitki özütleri, metal iyonlarının redüksiyonunu kolaylaştıran biyolojik bileşenler içerirken, bu yöntem genellikle daha az toksik olup çevre dostu olarak değerlendirilebilir. Ayrıca bazı enzimler, metal iyonlarının redüksiyonunu hızlandırarak nanopartikül oluşumunu destekleyebilir. Biyolojik sentez sürecinde, mikroorganizma bileşenleri stabilizasyon ajanı olarak işlev gördüğü için, NP'lerin ek bir stabilize edici maddeye ihtiyaç duymaması yöntemi ön plana çıkaran önemli bir avantaj olarak görülmektedir. Bu sayede, çevre üzerindeki kontrol kolaylığı ve büyük ölçekli sentez imkânı sağlanmaktadır (Asefian ve diğerleri, 2024; Singhal ve diğerleri, 2024).



Şekil 2.1. Metal nanopartiküllerin yeşil sentezi (Ahmad ve diğerleri 2019; Acar ve diğerleri, 2023).

2.2.3. Metal nanopartiküller

Metal nanopartiküller, bir yüzyılı aşkın süredir bilim insanlarının yoğun olarak ilgisini çekmiş ve biyomedikal bilimler ve mühendislik alanında yoğun olarak kullanılmaya

başlanmıştır. Nanoteknolojideki büyük potansiyelleri nedeniyle günümüzde de ilgi odağında kalmaktadırlar. Günümüzde bu malzemeler, antikorlar, ligandlar ve çeşitli ilaçlarla konjuge edilmesine olanak tanıyan çeşitli kimyasal fonksiyonel gruplarla sentezlenip modifiye edilebilmektedir. Bu da biyoteknoloji, manyetik ayırıştırma ve hedef analitlerin ön konsantrasyonu, hedefe yönelik ilaç iletimi, gen ve ilaç taşıyıcıları ve özellikle tanısal görüntüleme gibi geniş bir uygulama yelpazesini açmaktadır. Metal nanopartiküller, altın, gümüş, bakır ve çinko gibi çeşitli metallerden üretilebilmektedir (Akçay ve Avcı, 2018; Muta, Çalışkan, Şurişvan Öncel ve Elibol, 2023; Tiwari, Pandey, Gupta ve Narayan, 2025).

Altın nanopartiküller (AuNP'ler), uzun bir süredir bilim insanlarının ilgilini çekmekte ve kimya, biyoloji, mühendislik ile tıp alanlarında yoğun olarak kullanılmaktadır. AuNP'lerin kimyadaki uzun geçmişi, Antik Roma dönemine kadar uzanmakta olup o dönemde camları boyamak için dekoratif amaçlarla kullanılmıştır. Brust-Schiffrin yöntemi, çapı 1-3 nm arasında değişen monodispers AuNP'lerin sentezini mümkün kılmaktadır. Antikor etiketli AuNP'ler, neredeyse 40 yıldır immünohistokimyasal çalışmalarda yer almaktadır. Ayrıca, antikorlarla konjuge edilmiş AuNP'ler, kanserli hücrelere odaklanan fototermal terapi ajanları olarak geliştirilmiştir. AuNP'ler, temel hücre biyolojisi uygulamalarında etkili bir malzeme sınıfı olarak önemli bir rol oynamaktadır. Bu nanopartiküller, maddelerin hücrelere tanıtılmasında son derece etkili bir yöntem sunmaktadır ve farklı tür ve boyutlardaki AuNP'lerin toksisitesi birçok bağımsız araştırma grubu tarafından incelenmiştir (Sztandera, Gorzkiewicz ve Klajnert-Maculewicz, 2018; Hammami, Alabdallah, Al Jomaa ve Kamoun, 2021).

Bakır NP'ler, doğal olarak antimikrobiyal özelliğe sahip olan bakır elementinden elde edilen, yüksek yüzey alanına sahip nanopartiküllerdir. İyi bir iletken olması, reaktif ve katalitik açıdan avantajlı özellikleri sebebiyle elektronik ve enerji alanlarında kendine uygulama yeri bulan bakır NP'ler yüksek antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle de sağlık alanında ve su arıtımında kullanılmaktadır (Lalou, Yıldırım, Akkapulu, Yalın ve Yalın, 2023).

Çinko oksit NP'ler, geniş bir bant aralığına sahip olan yüksek fotokatalitik aktivite gösteren yarı iletken malzemeler olarak tanımlanmaktadır. Bu NP'ler, antibakteriyel özellikleri, UV filtreleme yetenekleri ve fotovoltaiik uygulamalardaki potansiyelleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Çinko oksit NP'ler, sıklıkla çeşitli sentez yöntemleriyle üretilmektedir.

NP'lerin morfolojik ve kristal yapısındaki değişiklikler, bu malzemelerin optoelektronik ve biyomedikal alanlarındaki performansını önemli ölçüde etkilemektedir. Ayrıca, çevresel güvenlik ve toksikolojik etkileri nedeniyle, özellikle nanomalzemelerin kullanımı artarken önemli bir araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Çinko oksit NP'lerin sunduğu fırsatlardan tam olarak yararlanabilmek için, bu NP'lerin hem faydalarının hem de risklerinin objektif bir şekilde değerlendirilmesi ve bu doğrultuda güvenlik standartlarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Mohd Yusof, Mohamad, Zaidan ve Abdul Rahman, 2020; Melamed ve diğerleri, 2021).

2.3. Gümüş Nanopartiküller

Gümüş (Ag), periyodik tabloda 47. element olarak yer almaktadır ve atom numarası 47'dir. Geçiş metallerinden biri olan gümüş, doğada genellikle saf halde veya çeşitli minerallerle bulunabilmektedir. Parlak beyaz-gri bir renge sahip olan gümüş, yüksek bir yansıtma kapasitesine sahiptir. Gümüş metalinin yoğunluğu yaklaşık olarak $10,49 \text{ g/cm}^3$, erime noktası $961,8^\circ\text{C}$ ve kaynama noktası ise 2162°C 'dir. Gümüş, elektrik ve ısı iletkenliği açısından en iyi metaldir. Gümüş genellikle +1 ve +2 oksidasyon durumunda bulunur ve en yaygın bileşiği gümüş nitrat (AgNO_3) ve gümüş klorür (AgCl)'dür. Gümüş, asidik ortamlarda çözünebilir ve hava ile temasında oksitlenebilir. Bu nedenle ışık ve hava ile doğrudan temas noktasında korunması gerekmektedir. Gümüş, antik uygarlıklarda para birimi olarak kullanılmış ve birçok kültürde simgesel anlamlar taşıyan, tarih boyunca değerli bir malzeme olarak kabul edilmiştir. Malzemenin sunduğu ekonomik avantajlar ve estetik değerler, piyasada yüksek bir talep oluşturarak, tüketici tercihlerinde belirleyici bir faktör haline gelmiştir (Hamad, Khashan ve Hadi, 2020; Korkmaz ve Karadağ, 2021).

Yüzyıllar boyunca gümüş bileşikleri ve gümüş iyonları, geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikleri ve güçlü bakterisidal etkileri sayesinde birçok alanda yaygın olarak kullanılmıştır. Gümüş nitrat, 17. ve 18. yüzyıllarda ülser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir bileşikken, 1960'lardan itibaren yanık yaraları üzerindeki iyileştirici etkileriyle dikkat çekerek bu alanda da terapötik bir ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Biyoloji ve biyoteknoloji alanında, AgNP'lerin sentezinde, hücre kültürü çalışmalarında kontaminasyonu engellemek amacıyla ve biyosensörler başta olmak üzere birçok alanda önemli rol oynamaktadır. Yara tedavisinde antibakteriyel bandajlar ve gümüş sulfadiazin gibi bileşenler olarak öne çıkmakta ve enfeksiyon riskini azaltmaktadır. Medikal cihazlarda,

önemli implantlar ve kateterlerde, gümüş kaplamalar kullanılarak bakteriyel kontaminasyon önlenmektedir. Diş hekimliğinde, dental amalgamlar gibi dolgu malzemelerinde kullanılarak diş enfeksiyonlarının önlenmesine yardımcı olmaktadır. Bu geniş kullanım yelpazesi, gümüşün bilimsel çalışmalar ve endüstrideki önemini ortaya koymaktadır (Cui, Shao, Zhang, Zhang ve Zhu, 2021).

AgNP'ler, sağlık hizmetleri, kozmetik, tarım, su artıma, biyosensörler, tekstil ve gıda endüstrisi gibi birçok alanda önemli katkılar sağlamaktadır. Bu nanopartiküllerin antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar ve katalitik özellikleri spesifikliğini ve önemini artırmaktadır. Özellikle, AgNP'lerin yeşil sentezi, çeşitli biyolojik materyaller aracılığıyla geliştirilmekte ve bu süreçte mantarlar, algler, bakteriler ve bitkiler gibi organizmalar kullanılmaktadır. Bu organizmaların metabolitleri, fizikokimyasal yöntemlerle sentezlenen AgNP'lerle benzer özellikler sergilemektedir ve bu yönleriyle AgNP'ler metal nanopartiküller arasında öne çıkan bir konuma sahip olmaktadır (Asefian ve Ghavam, 2024; Savvidou ve diğerleri, 2023).

Mantarlar kullanılarak AgNP sentezi, etkili ve basit bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu süreçte, NP'lerin konumuna bağlı olarak, mantar aracılı sentez hem hücre içi hem de hücre dışı AgNP'ler elde etme imkânı sunmaktadır. Ancak hücre dışı sentez, uygun toplama ve akış sonrası işleme avantajları nedeniyle genellikle daha fazla tercih edilmektedir. Mantar özütü kullanılarak gerçekleştirilen hücre dışı sentezde, istenmeyen mantar bileşenleri yıkanarak veya çöktürülerek uzaklaştırılabilir. Mantarların organik bileşenleri, AgNP sentezinde önemli bir rol oynayan nitrat bağımlı redüktaz, ksilanaz, naftokinon ve antrakinin gibi maddeler içermektedir. Ayrıca inkübasyon koşulları, karbon ve nitrojen kaynakları, sıcaklık ve ışık gibi faktörler, AgNP'lerin özelliklerini etkileyebilmektedir. Bu bağlamda, mantar aracılı sentez, düşük maliyetli ve enerji tasarrufu sağlayan bir biyolojik yöntem olarak değerlendirilmektedir (Xu, Wang, Chen, Wang ve Xie, 2020).

AgNP'lerin yeşil sentezi, çevre dostu ve sürdürülebilir yöntemler arayışında önemli bir yer tutmaktadır. Bu süreçte, alglerin biyomasından yararlanarak gümüş iyonlarının biyomoleküllere indirgenmesi sağlanmaktadır. Algler, yüksek düzeyde polifenol ve diğer organik bileşikler içermesi sayesinde gümüş iyonlarını etkili bir şekilde indirgeme kapasitesine sahiptir. Alglerden elde edilen ekstraktlar, AgNP'lerin boyutunu ve morfolojisini kontrol etmede kritik bir rol oynamakta; ayrıca elde edilen nanopartiküllerin

biyoyuymumluluğu ve antimikrobiyal özellikleri gibi önemli özellikleri artırmaktadır. Bu yöntem hem düşük maliyetli hem de zararlı kimyasallar kullanmadan gerçekleştirilmesi bakımından avantajlar sunmaktadır. Dolayısıyla, algler kullanılarak gerçekleştirilen AgNP sentezi, nanoteknoloji ve biyomühendislik disiplinlerinde yenilikçi bir yaklaşım sunarak yeni uygulama alanlarının kapılarını aralamaktadır (Mutaf ve diğerleri, 2023).

Bitki ekstraktlarının metal iyonlarını indirgemek için kullanımı, 1900'lü yıllardan beri bilinmektedir. Ancak süreçteki indirgeyici ajanların doğasının aydınlatılması mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Son 30 yıl içinde, bitkilerin kendisi, ekstraktları veya bitki dokularının metal iyonlarını nanopartiküllere indirgemek için kullanılması dikkat çekici bir ilgi görmüştür. Yapılan araştırmalar, bitki dokusuna göre bitki ekstraktlarının AgNP sentezinde daha basit ve etkili bir yöntem sunduğunu göstermektedir. Ayrıca, bitki ekstraktları kullanılarak AgNP sentezi gerçekleştirmek, mikrobiyal süreçlere veya tüm bitkilerin kullanılmasına dayalı yöntemlere kıyasla daha az maliyetli ve daha kolay olarak görülmektedir. Bu sebeple, bitki ekstraktları ile AgNP sentezine olan ilgi giderek artmaktadır (Beykaya ve Çağlar, 2016; Singh ve diğerleri, 2020; Velsankar, Preethi, Jeevan Ram, Ramesh ve Sudhahar, 2020; Gevrek, Yiğit ve Türkkan, 2023; Dhir ve diğerleri, 2024).

2.3.1. Gümüş nanopartiküllerin bakteri aracılı sentezi

AgNP'ler benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde birçok endüstriyel ve biyomedikal uygulamada önemli bir yere sahiptir. Sürdürülebilir nanoteknoloji alanında önemli bir gelişme olarak, AgNP üretimi için mikroorganizmalar, başta bakteriler olmak üzere, biyokatalizör olarak kullanılmaktadır. Bu biyosentez yöntemleri, geleneksel kimyasal yöntemlerin çevresel etkilerini azaltarak daha yeşil ve sürdürülebilir üretim süreçleri sunmaktadır (Du ve Yi, 2016; Tharani, Bharathi ve Ranjithkumar, 2020). Bakteriler, gümüş iyonlarını (Ag^+) AgNP'lere dönüştürme yeteneğine sahiptir. Bu süreç, bakterilerin enzimatik aktiviteleri ve metabolik yolları aracılığıyla gerçekleşmektedir. Özellikle *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Escherichia coli* gibi bakterilerin gümüş iyonlarını metalik AgNP'lere indirgeme mekanizması, biyoremediasyon ve biyomineralizasyon süreçleriyle paralellik göstermektedir (Mondal, Maity, Mondal ve Mondal, 2024).

AgNP'lerin bakteriyel biyosentezi genellikle belirli adımlarla gerçekleştirilmektedir. İlk olarak uygun bir bakteriyel suş seçilerek kültür ortamında geliştirilmektedir. Ardından

kültürlere belirli bir konsantrasyonda AgNO_3 çözeltisi eklenmektedir. Bu aşamada bakteriler, gümüş iyonlarını redükleyerek AgNP'leri sentezlemeye başlamaktadır ve bu süreç genellikle 24-48 saat sürmektedir. Elde edilen AgNP'lerin boyut, şekil ve morfoloji gibi özellikleri çeşitli karakterizasyon teknikleri (UV-Vis spektroskopisi, Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM), Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)) ile incelenmektedir (Qiao, Kang, Song, Zhou, Zhang ve Song, 2024). Bakteriyel yöntemler, düşük maliyetli, çevre dostu olması, zararlı kimyasal kullanımını azaltması ve nanopartikül boyut ve morfolojisi üzerindeki kontrol imkânı sunması gibi avantajlarla, nanopartikül üretimi için sürdürülebilir ve yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır. Ancak kimyasal yöntemlere kıyasla daha düşük verim ve daha uzun işlem süreleri gibi sınırlamalar içermektedir (Asefian ve Ghavam, 2024). Sonuç olarak, bakteriler kullanılarak AgNP sentezi, sürdürülebilir bir yaklaşım sunmakta ve çeşitli uygulama alanları için potansiyel taşımaktadır. Ancak bu yöntemlerin endüstriyel ölçeklere taşınabilmesi için verimlilik ve hız konularında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Gelecek çalışmalarda, farklı bakteriyel suşların ve koşulların nanopartikül sentezine etkilerinin daha ayrıntılı incelenmesi, bu alandaki gelişmelere katkıda bulunacaktır (Singhal ve diğerleri, 2024).

2.3.2. Gümüş nanopartiküllerin laktik asit bakterileri aracılı sentezi

Laktik asit bakterileri (LAB), fermente gıdaların ve içeceklerin üretiminde ve korunmasında eski zamanlardan beri kullanılan önemli probiyotik mikroorganizmalardır. İnsan tüketiminde güvenli oldukları uzun bir geçmişle kanıtlanmış bazı LAB suşları, Avrupa Gıda ve Güvenlik Otoritesi (EFSA) ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından Nitelikli Güvenlik Karinesi (QPS) ve Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) statüsüne sahiptir. Bu bakteriler arasında *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Weissella* gibi cinsler, probiyotik özellikleri ile dikkat çekmekte ve gastrointestinal sistem üzerinde faydalı etkiler göstermektedir (George ve diğerleri, 2018; Coelho, Malcata ve Silva, 2022). LAB, besinsel olarak zengin ortamları tercih eder ve optimum büyüme pH'ı 5,5-5,8 arasında gerçekleşmektedir. Bu bakteriler, sebzelerden süt ve et ürünlerine, içeceklerden insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerine kadar geniş bir yelpazede bulunmaktadır (Nicolescu ve diğerleri, 2023). Probiyotiklerin sağlık yararları, klinik deneylerle incelenmektedir ve henüz yeterince kapsamlı araştırma yapılmamıştır. Ancak, bu mikroorganizmaların anti-diyabetik, anti-patojenik, anti-inflamatuar, anti-obezite, anti-alerjik ve anti-kanser özellikleri taşıdığı bilinmektedir. Ayrıca, probiyotikler, konak

hücrelerde belirli genleri aktive ederek immün yanıtı uyarmakta ve düzenlemekte, bağırsak-beyin eksenini üzerinden gastrointestinal hormonların salınımını etkileyerek beyin fonksiyonunu düzenleyebilmektedir (Mohammed, Hegazy ve Salah, 2023).

Son araştırmalar, LAB'nin çevre dostu ve sürdürülebilir AgNP'lerin biyosentezinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bu bakterilerin etkili antimikrobiyal, anti-biyofilm, anti-oksidan ve terapötik özellikleri dikkat çekmektedir. *Lactobacillus plantarum*, nitrat redüktaz enzimi üretimiyle AgNP'lerin sentezini optimize ederek hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir (Alagumuthu, Samidurai, Khambhaty ve James, 2023). *L. brevis* ile hücre dışı kültür süpernatantı kullanılarak yeşil sentez ile AgNP'ler üretilmiş ve bu nanopartiküllerin patojenik bakterilere karşı etkili bir koruma sağladığı bildirilmiştir (Siddiqui ve diğerleri, 2023). LAB'nin bu özellikleri, sağlık, gıda koruma ve biyomedikal uygulamalarda yenilikçi çözümler geliştirmek için büyük bir potansiyele sahip olarak yorumlanmıştır (Chegini, Salimi, Zare ve Farrokh, 2024).

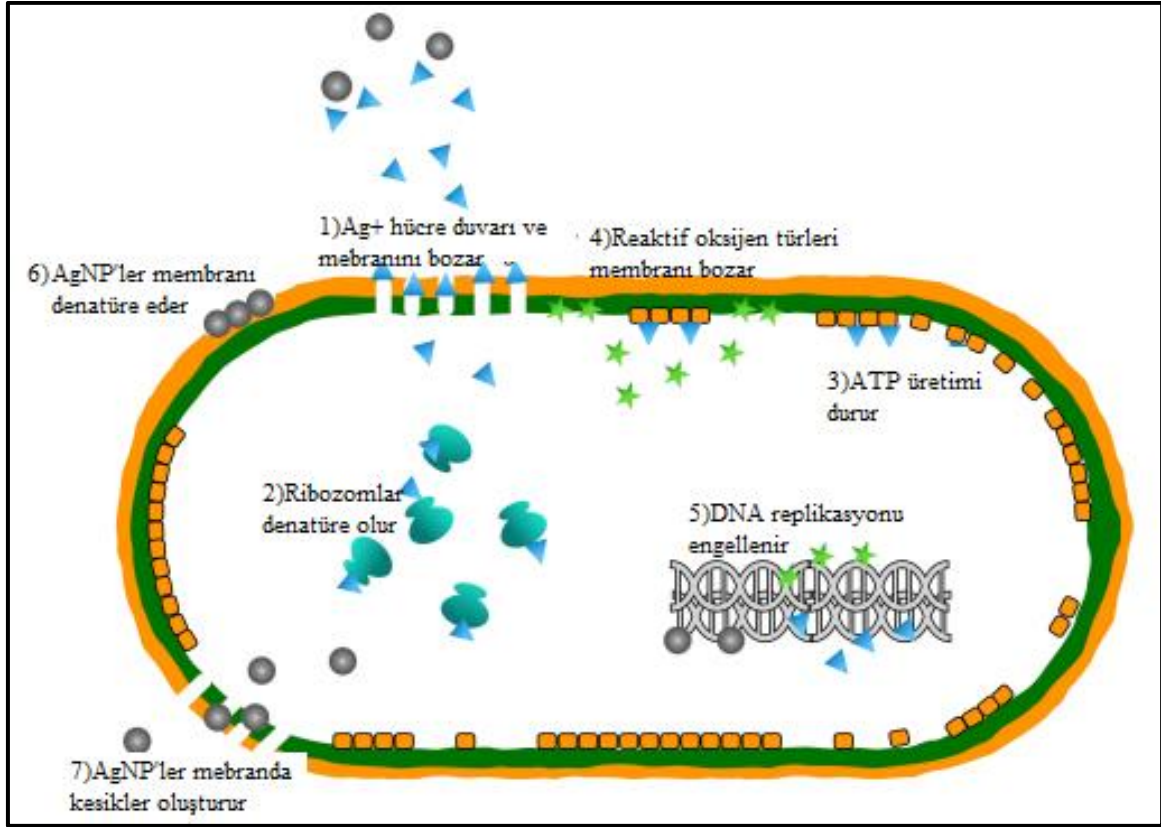
2.3.3. Gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu

AgNP sentez sürecinin optimizasyonu, birden fazla deney düzeneği ve farklı deneysel koşulların yanı sıra, kullanılan sistemlerin türü, konsantrasyonlar, sıcaklık, düzenek tasarımı ve karıştırma parametrelerini içermesi nedeniyle oldukça karmaşık, maliyetli ve zaman alıcı bir süreçtir. AgNP'lerin boyutu, şayet sentezde kullanılıyor ise stabilizatörün türüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir ve genellikle çözeltinin pH'ı ile ilişkilidir. Reaksiyon parametrelerinin rolü, biyosentezlenmiş AgNP'lerin boyutunu, stabilitesini ve verimini optimize etmede kritik öneme sahiptir. Biyolojik örneğin konsantrasyonu, pH, inkübasyon süresi, gümüş tuzunun konsantrasyonu ve sıcaklığın değiştirilmesi, AgNP sentezi için uygun optimizasyon koşulları olarak çalışmalarda belirtilmiş ve AgNP'lerin özellikleri büyük ölçüde bu optimizasyon koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir (Marciniak, Nowak, Trojanowska, Tytkowski ve Jastrzab, 2020). Birçok araştırmacı, AgNP sentezi için uygun pH değerinin 2 ile 14 arasında değişebileceğini bildirmiştir (Khan, Singh, Gaikwad, Nawani, Junnarkar ve Pawar, 2020; Fu ve diğerleri, 2021; Dorgham, Abd Al Moaty, Chong ve Elwakil, 2022). AgNP'lerin sentezi çeşitli sıcaklıklarda gerçekleştirilmektedir; ancak 25°C (oda sıcaklığı), küçük boyutlu ve yuvarlak AgNP'lerin sentezi için uygun sıcaklık olarak tanımlanmıştır. Sıcaklık, sentezlenen AgNP'lerin

karakteristik özelliklerini belirlemede etkili bir parametre olarak görülmektedir. İndirgeyici olarak kullanılan gümüş tuzunun konsantrasyonu, AgNP'lerin sentezindeki aglomerasyon seviyesinin belirlenmesinde kritik bir faktör olarak yer almaktadır. Yüksek konsantrasyonlardaki gümüş tuzuları, AgNP'lerin aglomerasyonuna ve bulanık yüzeylerin oluşumuna sebep olmaktadır (Nathanael, Cheng, Kovalchuk, Arcucci ve Simmons, 2023; Naysmith, Mian ve Rana, 2023).

2.3.4. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etki mekanizması

AgNP'lerin bakterilere karşı gösterdiği etki mekanizması tam olarak aydınlatılabilmiş olmasa da çeşitli mekanizmalar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. AgNP'lerin bakterileri inhibe etmesindeki temel etki, Ag^+ iyonlarının salınımıdır. Salınan Ag^+ iyonları, bakteriyel hücre zarına yapışmakta, hücre zarı geçirgenliğini azaltmakta ve hücre içine girmektedir. Hücre içine giren iyonlar, solunum enzimlerini inaktive ederek enerji üretim süreçlerini bozmaktadır ve ayrıca reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu tetikleyerek hücre hasarı artırmaktadır. Ag^+ iyonlarının DNA ile etkileşime girmesi sonucu ise DNA replikasyonu ve protein sentezi gibi hayati süreçler inhibe edilmiş olmaktadır. Bu mekanizmaların bir veya birkaçının birlikte çalışmasıyla AgNP'ler bakterilerin gelişimini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Şekil 2.2) (Liao, Li ve Tjong, 2019; Yin ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.2. AgNP'lerin antimikrobiyal etki mekanizması (Yin ve diğerleri, 2020).

AgNP'lerin bakterisidal etkisi, yalnızca Ag^+ iyonu salınımıyla sınırlı değildir. AgNP'lerin kendilerinin doğrudan bakteriyel hücrelere zarar verme yeteği de bulunmaktadır. AgNP'ler bakteri hücre yüzeyine adsorbe olarak hücre duvarında lokalizasyonlar oluşturmaktadır. Bu lokalizasyonlar, hücre duvarında fiziksel hasarlara yol açarak membranın denatürasyonunu tetikleyebilmektedir. AgNP'lerin boyutlarının küçüklüğü, bakteriyel hücre duvarını penetre etmelerine olanak tanımakta ve hücre membranının integral yapısını bozmaktadır. Sitoplazmik membranın bozulması, hücre içi organellerin fonksiyon kaybına uğramasına ve nihayetinde hücre parçalanmasına neden olabilmektedir. Bununla birlikte, AgNP'ler bakteriyel sinyal iletim mekanizmalarını da etkileyebilmektedir. Protein fosforilasyonuna bağlı sinyal iletim yolları, nanopartiküller tarafından inhibe edilerek tirozin kalıntılarının defosforilasyonuna neden olabilmektedir. Bu durum, hücresel sinyalleşmedeki bozulmalar sonucu apoptoz ve hücre çoğalmasının inhibisyonu gibi sonuçlar doğurabilmektedir (Kattan, Abdoun ve Kareem, 2024; Luo, Huang, Zhang, Yu ve Sun, 2024).

2.4. Hidrojeller

Hidrojeller, büyük oranda su tutabilen ve üç boyutlu ağ yapısına sahip polimerik malzemelerdir (Fang ve diğerleri, 2023; Ijaz ve diğerleri, 2023; Radoor ve diğerleri, 2024; Wang, Wang, Lu ve Hu, 2024; Chen, Feng, Zhang, Ni, Xue ve Liu, 2025). İlk olarak 1960 yılında Wichterle ve Lim tarafından sentetik olarak üretilmiş ve kontakt lenslerin üretiminde kullanılmıştır. Bu malzemeler, şiştiklerinde biyolojik sıvıları taşıma kapasitesine sahip oldukları için, doğal dokuları taklit etme potansiyeline sahiptir. Hidrojeller çapraz bağlı polimer zincirlerinin oluşturduğu yapılar sayesinde suda çözünmezler ve aynı zamanda fiziksel bütünlük ile mekanik kuvvet kazanırlar. Polimer malzemenin birleşimi, sertlik ve biyolojik dayanıklılık üzerine önemli bir etkiye sahip olmaktadır (Herrmann, Haag ve Schedler, 2021; Bertsch, Diba, Mooney ve Leeuwenburgh, 2022). Yüksek su içeriği, hidrofilik olma yetenekleri, biyoyumlulukları, esnekliği ve ışığa, sıcaklığa, pH'ye ve enzimlere tepki verme özellikleriyle iyi bir biyomalzeme sınıfı olan hidrojeller, biyomedikal uygulamalarda umut verici malzemeler olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu alanlar arasında yara iyileşmesi, cerrahi doku yapıştırıcıları, kanama durdurma yöntemleri, akıllı ilaç salınım sistemleri, biyosensörler ve doku mühendisliği gibi birçok önemli alan yer almaktadır (Murugan, Sruthi, Gopan, Mani ve Kannan, 2023; Tian ve Liu, 2023).

Hidrojeller, ilaç taşıma sistemlerinde kontrollü ve hedefe yönelik ilaç salınımı sağlayan önemli taşıyıcı adaylardır. Boyutları, uygulanabilecek taşıma yollarını belirler; transdermal hidrojeller ciltten ilaç salınımı yaparken, mikrojel formunda olanlar ise oral veya pulmoner yolla kullanılabilir. İlaç yüklü hidrojel kaplamalar, stentler ve nöral elektrotlar gibi tıbbi implantlarda antibakteriyel, antikoagülan ve anti-inflamatuar gibi işlevler de üstlenmektedir (Li ve Mooney, 2016; Takahashi ve diğerleri, 2018; Yuan ve diğerleri, 2025). İlaçlar, genellikle hidrojel yapıya dağıtılarak hapsedilir veya hidrojel, ilaç çözeltisine batırılarak ilaçla yüklenir. Salınım hızı, ilacın çevre dokulara difüzyonu ve hidrojel polimer ağı ile ilaç arasındaki moleküler etkileşimlere bağlı olarak ayarlanabilmektedir. Bu etkileşimler, kovalent kovalent bağlanma, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimlerle düzenlenerek kontröllü ilaç salınımı sağlanabilmektedir (Cheng ve diğerleri, 2017; Liu, Qu, Suo ve Yang, 2021; Hu ve diğerleri, 2024).

Hidrojel bazlı biyosensörler, analitlerle etkileşimde bulunarak çevresel değişikliklere duyarlı bir şekilde çalışan sistemlerdir (Hasanah ve diğerleri, 2019). Hidrojeller, biyosensörlerde

analitlerle etkileşebilmek için iyi biyouyumluluk ve geniş yüzey alanı sağlamakla birlikte, çevresel uyarıcılara tepki olarak fiziksel değişiklikler de geçirebilmektedir. Bu değişiklikler, polimer zincirinin şekil değiştirmesi, çapraz bağlanma noktalarının kaybolması veya su moleküllerinin alınıp verilmesi gibi süreçlerle gerçekleşmektedir. Bu hacim değişiklikleri, fonksiyonel dolgu malzemeleri sayesinde optik ve elektriksel sinyallere dönüşebilmektedir (Tan ve diğerleri, 2017; Lu ve diğerleri, 2020; Wei ve diğerleri, 2020).

Polimer bazlı hidrojeller

Polimerler, bir veya birden fazla monomer ünitesinin kovalent bağlarla tekrarlanan birleşimi sonucu oluşan yüksek moleküler ağırlıklı makromoleküllerdir. Bu uzun molekül zincirleri doğal ve sentetik olmak üzere çeşitli türlerde bulunmaktadır. Polimerlerin molekül ağırlıkları ve yapısal düzenlenmeleri, onlara geniş bir fiziksel özellik yelpazesi kazandırmaktadır. Bu özellikler arasında yüksek viskozite, elastikiyet, dayanıklılık ve çeşitli kristalinite dereceleri sayılabilmektedir. Polimerlerin benzersiz özellikleri, onları malzeme bilimi ve malzeme mühendisliğinde vazgeçilmez kılmaktadır. Günlük hayattan endüstriyel uygulamalara kadar pek çok alanda polimer malzemeler kullanılmaktadır (Golhin, Tonello, Frisvad, Grammatikos ve Strandlie, 2023; Zheng ve diğerleri, 2023).

Polimer bazlı hidrojeller, yüksek su tutma kapasitesine sahip ve biyolojik sıvıları emme yeteneğine sahip olan, üç boyutlu yapılarında suyu tutarken aynı zamanda çapraz bağlı hidrofilik polimerlerden oluşan özel materyallerdir. Bu hidrojellerin, yüksek su içeriği, gözeneklilik yapısı ve yumuşak kıvam gibi özellikleri, onları ilaç taşıma, doku mühendiliği ve yara iyileşmesi gibi biyomedikal uygulamalar için son derece çekici hale getirmektedir. Polimer bazlı hidrojeller, doğal dokulara benzer özellikler sergileyerek, bu uygulamalar için büyük bir potansiyel taşımaktadır. Özellikle bu hidrojellerin şişme özellikleri dikkat çekmektedir. Çünkü bu özellikleri sayesinde büyük miktarda su ve biyolojik sıvıyı bünyelerinde tutabilmektedirler. Bu durum, onları tıp ve sağlık alanında önemli bir malzeme haline getirirken, hücrelerin çoğalması, yapışma ve farklılaşma gibi biyolojik etkileşimleri kolaylaştıran ideal bir ortam sunmaktadır. Bu nedenle polimer bazlı hidrojeller biyomalzeme çalışmaları için umut verici adaylar olarak ön plana çıkmaktadır (Fraser ve diğerleri, 2022; Huang ve diğerleri, 2023).

Polimer ağındaki çapraz bağlar, hidrojelere üç boyutlu yapılarını kazandırmakta ve onların suda çözünmesini engellemektedir. Hidrojel sentezinde kullanılan polimerler doğal veya sentetik olabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan doğal polimerler arasında aljinat, kitosan, kollajen, hiyalüronik asit ve jelatin yer almaktadır. Sentetik polimerler ise polietilen glikol (PEG), poliakrilamid (PAAm) ve poli(N-izopropilakrilamid) (PNIPAAm) gibi bileşenleri içermektedir ve hidrojel sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Sievers ve diğerleri, 2021; Jozaghkar, Azar ve Ziaee, 2022; Li ve diğerleri, 2023; Wu ve diğerleri, 2023).

Doğal polimer bazlı hidrojeller, her zaman iyi biyouyumluluğa ve biyobozunabilirlik özelliğine sahiptir ancak bu hidrojellerin mekanik özellikleri, özellikle sertlik ve esneklik açısından zayıftır ve bu da kullanım alanlarını kısıtlamaktadır. Buna karşılık sentetik polimer bazlı hidrojeller, kimyasal çapraz bağlarla daha yüksek mekanik özellikler kazandırılmıştır, güçlülerdir ve mekanik yüklere karşı dayanıklıdır. Ancak biyolojik aktivite açısından zayıf ve biyouyumluluk açısından tatmin edici değildir. Kullanılacak polimerin seçimi, hidrojellerin istenen özelliklerine ve amaçlanan uygulama alanlarına bağlı olmaktadır (Cao, Duan, Zhang, Cao ve Zhang, 2021).

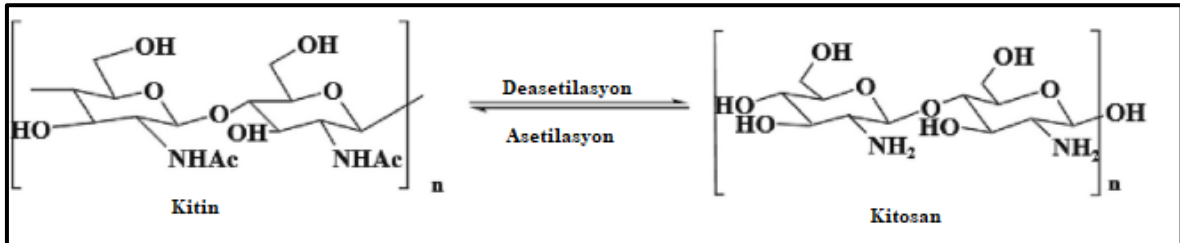
Doğal polimer bazlı hidrojeller

Doğal polimer bazlı hidrojeller, biyouyumlulukları, çevresel sürdürülebilirlikleri ve doğal doku özelliklerine benzer yapılandırılmaları sayesinde biyomedikal uygulamalarda giderek daha fazla ilgi gören, yüksek su tutma kapasitesine sahip biyomalzeme sınıfını oluşturmaktadır (Laftah, Hashim ve Ibrahim, 2011; Abobatta, 2018; El Sayed, 2023).

Aljinat; kahverengi yosunlardan ve bakterilerden üretilen, β -1,4 bağlı, D-mannuronik asit (M) ve L-guluronik asit (G) birimlerinin çeşitli oranlarda tekrarlanan bir yapıya sahip olduğu doğrusal anyonik bir polisakkarittir. Aljinatın yüksek G blok içeriği Ca^{+2} gibi iki değerlikli katyonlarla sert hidrojeller oluşturulabilmektedir ve her bir G bloğu, karşıt G bloklarıyla düzenli bir şekilde bağlanarak “yumurta kutusu” konformasyonu adı verilen bir yapıyı oluşturmaktadır. Yüksek M blok içeriği, yapışma özelliklerini azaltmakta ve bağışıklık uyarıcı aktivite göstermektedir. Aljinatın hidrofilikliği, mükemmel biyouyumluluğu ve sıvı emme kapasitesi, onu hidrojel isketlerine katılabilmek için ilgi çekici bir malzeme yapmaktadır. Aljinat makrofajları aktive edebilmekte ve monositleri interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) üretmesi için uyarak kronik yara iyileşmesini

hızlandırabilmektedir (Ooi ve diğerleri, 2020; Weller, Team ve Sussman, 2020; Zhang ve Zhao, 2020).

Kitosan; kabuklular, böcekler ve bazı mikroorganizmalar gibi kaynaklardan elde edilen kitinin kimyasal ve enzimatik deasetilasyon (Şekil 2.3) işlemiyle üretilen bir polisakkarittir. Kitosan, glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinin β -1,4 glikozidik bağlarla bağlandığı, biyobozunabilirlik özellikleri gösteren bir yapı sunmaktadır; bu bağlar, enzimatik reaksiyonlarla bozulabilmektedir. Kitosanın hidrofilikliği ve bozulma hızı, deasetilasyon derecesine bağlı olarak değişmekte ve bu değer %30-95 arasında farklılık göstermektedir. Ayrıca, kitosan, biyouyumluluk, biyo güvenlik, osteoindüksiyon, antibakteriyel özellikler ve immünomodülasyon gibi özelliklere sahiptir. Katyonik özellikleri kitosanın hemostaz sağlama, mukozal yüzeylere yapışma ve hidrojellerde etkin bir ilaç taşıyıcı olarak işlev görmesini sağlamaktadır. Kitosanın fizikokimyasal özellikleri, özellikle deasetilasyon derecesi moleküler ağırlıkla ilişkilidir. Bu nedenle, kitosanın vizkozite, biyouyumluluk, antibakteriyel özellik, mukozal yüzeylere yapışma ve hemostatik özellikleri deasetilasyon derecesi ile doğru orantılıdır (Soriente ve diğerleri, 2022; Wang ve diğerleri, 2024).



Şekil 2.3. Kitin ve kitosanın yapıları (Zhao ve diğerleri, 2023).

Kollajen; omurgalıların başlıca ekstrasellüler matris bileşenidir ve hayvanlar âleminde en bol bulunan proteindir. İnsan vücudunda kollajenin %90'ından fazlası tipI, tipII, tipIII kollajendir. Kollajen, fizyolojik koşullarda pH ve sıcaklık bağımlı olarak kendi kendine fibrilasyon süreçleriyle jelleşmekte ve hidrojellere dönüşmektedir. Kollajen fibrilleri ve lifleri, yalnızca yüzlerce nanometre kalınlığında olup, hücre yapışma peptit ligandlarınca zengindir. Bu peptidler, α 1 β 1 ve α 2 β 1 integrinleri gibi hücre zarındaki reseptörlerle bağlanabilmektedir. Kollajen hidrojelleri, *in vivo* hücresel mikroçerçeveyi fizyolojik olarak taklit edebilen biyomimetik bir polimer olarak kabul edilebilmektedir. Yüksek biyouyumluluk özelliği göstermekte ve hücre proliferasyonu için uygun ortam

sağlamaktadır. Bu özellikleri kollajeni doku mühendisliği ve biyomalzeme alanında öncü bir aday yapmaktadır (Sarrigiannidis ve diğerleri, 2021).

Jelatin; hayvanların derisinden (özellikle domuz derisi) ve kemiklerinden asidik veya alkalın işlemlerle elde edilen, hidroliz olmuş ve denatüre edilmiş bir kollajen türevidir. Jelatin, kollajenin yapısındaki glisin-X-Y amino asit dizilerini koruyarak, kollajenin temel yapısal özelliklerini taşımaktadır. Jelatin, hücrelerin yapışmasını sağlayan ve integrinlerin jelatin ağ yapısına bağlanmasına yardımcı olan arginil-glisil-aspartik asit (RGD-hücre yapışma motifi) dizisini de içermektedir. Jelatinin biyomalzemelere dâhil edilmesi, farklı uygulamalarda hücre entegrasyonunu ve doku onarımını iyileştirmektedir. Jelatin, gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak stabilizatör, kalınlaştırıcı, doku düzenleyici ve emülsifiye edici olarak kullanılmaktadır. Klinik alanda ise jelatin, kapsüller, tabletler ve süngerler gibi ürünlerde bileşen olarak tercih edilmektedir. Jelatin partikülleri, kırık ve kemik defektlerini onarmak amacıyla hemostatik ajanlar olarak geniş bir uygulama alanına sahiptir ve aynı zamanda jelatinin biyolojik işlevselliği (örneğin, RGD dizisi) doku mühendisliği alanında sağladığı avantajları ortaya koymaktadır. Bu nedenle, jelatinin çeşitli fonksiyonel gruplarla bağlanarak kopolimerik hidrojelatinin oluşturulması, daha iyi biyolojik ve mekanik özelliklerin elde edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Davidenko ve diğerleri, 2016; Bello, Kim, Kim, Park ve Lee, 2020).

Hiyalüronik asit; D-glukuronid ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinin oluşturduğu, sülfatlanmış bir glikozaminoglikandır ve ekstrasellüler matrisin temel bileşenlerinden biridir. Hiyalüronik asit, hücre proliferasyonunu ve göçünü teşvik etme, yara iyileşmesi ve rejenerasyonunu destekleme, kan damarlarının geçirgenliğini düzenleme gibi pek çok biyolojik işlevi yerine getirmektedir. Ayrıca, polimerin moleküler ağırlığı ve kimyasal modifikasyonları (örneğin karboksimetilasyon ve hidrosilasyon) ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri geliştirilebilmektedir. Araştırmacılar, uygun tasarım stratejileri kullanılarak hiyalüronik asit bazlı hidrojelatinin, stabil fiziko-kimyasal ve çeşitli biyolojik özelliklerle elde edilmesini sağlamışlardır. Benzer şekilde kimyasal olarak modifiye edilmiş hiyalüronik asit, kendi kendini iyileştirme davranışı gösteren bir hidrojel olarak tasarlanabilmektedir (Xue ve diğerleri, 2020; Lei ve diğerleri, 2021; Liu ve diğerleri, 2022; Yang, Li, Fang ve Liu, 2023).

2.4.1. Hidrojel sentezi: Fiziksel ve kimyasal bağlanma yöntemleri

Hidrojeller, yapılarındaki bağların türüne göre; kimyasal bağlarla bir arada tutulan kimyasal çapraz bağlı hidrojeller ve fiziksel etkileşimlerle bir arada tutulan fiziksel çapraz bağlı hidrojeller olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Fiziksel çapraz bağlanmada hidrojen bağı, ısı, iyonik etkileşimler gibi çeşitli kuvvetler kullanılırken, kimyasal çapraz bağlanmada radikal polimerizasyon, kondensasyon gibi kimyasal reaksiyonlar tercih edilmektedir (Gupta ve diğerleri, 2019). Fiziksel çapraz bağlanma ile oluşturulan hidrojeller, kolayca üretilirken, kimyasal çapraz bağlayıcıların içerdiği toksikliği bulundurmamaktadır. Fiziksel hidrojel ağının ana bağlayıcı kuvvetleri iyon etkileşimi, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve moleküler dolaşım olup bu etkileşimler pH ve sıcaklıktan etkilendiklerinden dolayı nispeten kararsız yapılardır. Fiziksel çapraz bağlı hidrojeller basit bir şekilde hazırlanabilmektedir ancak düşük mekanizma dayanıklılıkları sebebiyle uzun vadeli uygulamaları sınırlı olabilmektedir (Hamedi, Moradi, Hudson ve Tonelli, 2018; Baran ve Nasrollahzadeh, 2021). Kimyasal çapraz bağlanma ile oluşturulan hidrojeller, genellikle fiziksel çapraz bağlanma ile oluşturulan hidrojellerden daha yüksek mekanik dayanıklılığa sahip olmaktadır. Kovalent bağlarla oluşan kimyasal çapraz bağlanma ağı, bir çapraz bağlayıcı ile fonksiyonelize edilmiş bir monomer veya polimer arasındaki reaksiyonu gerektirmektedir ve kovalent bağ kırılana kadar çözücü ile çözünmemektedir (Shafique ve diğerleri, 2021). Kitosan hidrojellerin hazırlanmasında Schiff bazı reaksiyonu sıklıkla tercih edilmektedir. Bu reaksiyonda, bifonksiyonel aldehytler, kitosanın amino gruplarıyla etkileşime girerek Schiff bazı köprüleri oluşturmaktadır ve böylece jelleşme sağlanmış olmaktadır. Bu reaksiyonun hızlı gerçekleşmesi hidrojelin stabilizasyonunu artırırken aynı zamanda mekanik özelliklerini de iyileştirmektedir (Shen, Wang, Wang, Meng ve Zhao, 2021; Niu ve diğerleri, 2023). Çizelge 2.1’de fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma karşılaştırması yapılmıştır.

Çizelge 2.1. Fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma karşılaştırması (Niu ve diğerleri, 2023).

Özellik	Fiziksel Çapraz Bağlanma	Kimyasal Çapraz Bağlanma
Bağ Kuvveti	Zayıf bağlar (hidrojen bağları, Van der Waals)	Güçlü kovalent bağlar
Stabilite	Çevresel faktörlere duyarlı (Sıcaklık, pH)	Çevresel faktörlere karşı daha stabil
Şişme Davranışı	Yüksek su tutma kapasitesi, şişme eğilimi	Düşük şişme, sabit yapılar
Mekizmalar	Dinamik, değişken	Sabit, daha kalıcı
Kullanım Alanları	Yumuşak ve elastik uygulamalar	Daha güçlü, dayanıklı yapılar gerektiren uygulamalar

2.4.2. Kendi kendini iyileştiren hidrojeller

“Akıllı malzeme” sınıfında yer alan kendi kendini iyileştiren malzemeler, dışarıdan müdahaleler olmaksızın yapısındaki dinamik/tersine çevrilebilir bağlar nedeniyle otomatik hasar onarım özelliği sergilemektedir. Kendi kendini iyileştiren hidrojeller, dinamik kovalent bağlar ve kovalent olmayan etkileşimler yoluyla hazırlanabilmektedir. Genel olarak, dinamik kovalent bağlarla inşa edilen hidrojeller, kovalent olmayan etkileşimlerle oluşturulan hidrojellere kıyasla çok daha güçlü bağlara sahiptir. Bu da daha hızlı kendi kendini iyileştirme sürecine ve daha yüksek mekanik mukavemete yol açmaktadır. Kovalent olmayan etkileşimler ise kovalent etkileşimlere kıyasla daha az kararlı ve çevresel koşullara (pH, sıcaklık gibi) daha duyarlıdır. Son yıllarda, sahip olduğu üstün özelliklerinden dolayı dinamik kovalent bağ yoluyla kendi kendini iyileştirebilen hidrojel geliştirme çalışmaları artmaktadır. Diğer dinamik kovalent bağlarla hazırlanan hidrojeller ile kıyas edildiğinde imin bağından elde edilen hidrojellerin harici uyarıcı olmaksızın amin ve aldehit grupların çapraz bağlanması (Schiff reaksiyonu) yoluyla kolayca hazırlanabilmesi, *in vivo* ortamda hazırlanabilir olması ve nötr pH’de uygulanabilirliği gibi bazı avantajları bulunmaktadır. Ayrıca bu yolla elde edilen hidrojeller biyouyumlu ve kolay işlevselliğe de sahiptir (Bertsch ve diğerleri, 2022; Niu ve diğerleri, 2023; Lokare ve diğerleri, 2023; Liang ve diğerleri, 2025).

İmin bağı üzerinden kendi kendini iyileştirebilen hidrojel

Organik kimyada, imin, bir karbon-azot çift bağı ($C=N$) içeren fonksiyonel bir grup veya organik bir bileşiktir. Azot atomu bir hidrojene veya organik bir gruba bağlanabilir. Karbon atomu iki tane tek bağı sahiptir. İminler sentetik ve doğal olarak oluşan bileşiklerde yaygınlardır ve birçok reaksiyona katılmaktadır (Liu ve diğerleri, 2018). İmin bazı hidrojellerle yapılan birçok çalışmada, polisakkaritler periyodotla yapılan oksidasyon yoluyla aldehit grupları ile modifiye edilmiştir ve ardından oksitlenmiş polisakkaritler çeşitli polisakkarit türevleriyle imin bazı hidrojeller oluşturmak için kullanılmaktadır. Liu ve arkadaşlarının (2018), oksitlenmiş aljinat ve akrilamid arasındaki imin bağı oluşumu ve ardından bağlanmış akrilamid grupları ile serbest akrilamid monomerleri arasındaki radikal polimerizasyon yoluyla, sağlam ve kendi kendini iyileştirebilen mekanik özelliklere sahip hidrojel hazırlamışlardır. Bu hidrojel, oksitlenmiş aljinat ve poliakrilamid karışımı kullanılarak hazırlanan hidrojellere kıyasla daha iyi kendi kendini iyileştirme özellikleri sergilemişlerdir. Benzoik iminler, biyomalzemelerde kendi kendini iyileştirme özelliği nedeniyle sıklıkla ilgi görmeye başlamıştır (Nguyen ve diğerleri, 2019; Xu, Liu ve Hsu, 2019).

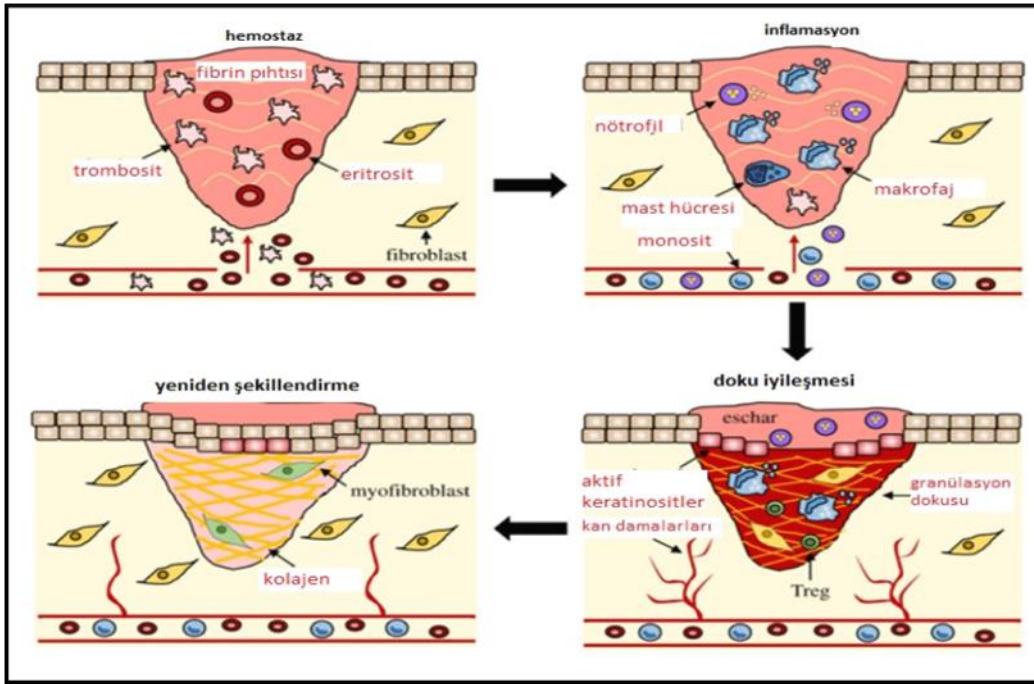
2.4.3. Yara örtüsü olarak hidrojel kullanımı

Yara ve yara tipleri: Vücudumuzun en büyük organı olan deri, epidermis, dermis ve dermal uzantılardan oluşmaktadır. Derinin birincil görevi, vücudu dış dünyanın zararlı etkilerinden korumaktır. Dermis tabakası, cilde güç ve esneklik kazandıran önemli bir yapıdır. Derinin altında yer alan subkutan doku ise yalıtım, koruma ve enerji depolamada rol oynamaktadır. Cilt sadece bir koruyucu bariyer değildir, aynı zamanda vücut ısısını düzenleme, dokunma gibi duyuları sağlayan bağışıklık sisteminin bir parçası olarak görev yapmaktadır. Kazalar, ameliyatlara ve/veya hastalıklar nedeniyle cilt yaralanabilmektedir ve bu durum yara oluşumuna neden olabilmektedir (Ramey-Ward, Walthall, Smith ve Barrows, 2024; Fu ve diğerleri, 2024).

Yara, canlı vücut dokusunun fiziksel, kimyasal ve/veya biyolojik bir travma sonrası anatomik ve fonksiyonel sürekliliğinin bozulması olarak tanımlanmaktadır (Fu ve diğerleri, 2024). Yara fiziksel ve kimyasal yanmalar, basınç, hayvan ısırığı veya sokması, diyabet gibi metabolik bozukluklar, travma, çeşitli ilaç etkileşimleri veya beslenme yetersizlikleri gibi

nedenlerle meydana gelebilmektedir. Yaralar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilir. Yara iyileşme sürecinin doğasına göre akut yara ve kronik yara şeklinde ayrılırlarken, derinliği, deri tabakası ve etkilenen cilt alanına göre birinci derece yara, ikinci derece yara, üçüncü derece yara ve dördüncü derece yara şeklinde kategorize edilebilmektedirler ve yaraya sebep olan etkenin vücuda giriş yoluna göre de sınıflandırma yapmak mümkün olabilmektedir. Kendiliğinden, zamanında ve vücut bütünlüğüne uygun olarak düzenli bir iyileşme sürecini takip ederek hem fonksiyonel hem de anatomik yenilenmeyle sonuçlanan yaralar akut yara olarak sınıflandırılmaktadır. Akut yaraya neden olan etmenin geçici olması sebebiyle bu yaralar beklenen sürede (5-10 gün içinde) iyileşmektedir. Cerrahi yaralar, yanıklar, ısırıklar, küçük kesik ve sıyrıklar, lazer ve silahla yaralanma gibi çeşitli travmatik yaralanmalar akut yara sınıfında yer almaktadır. Normal iyileşme aşamalarını geçemeyen, düzenli ve zamanında onarılamayan (3 ay içinde iyileşemeyen) yaralar ise kronik yara olarak sınıflandırılmaktadır. Kronik yaraya sebep olan etmenin sürekli olması sebebiyle yara çok yavaş iyileşme sürecini ilerletmekte hatta bazen tamamlayamamaktadır. İyileşme sürecinin çeşitli faktörler sebebiyle düzensiz ilerlemesinin sonucu olarak fonksiyonel ve anatomik cevaplar zayıftır ve bu yaralar sürekli tekrarlamaktadır. Yatak yaraları, venöz yaralar, diyabetik yaralar kronik yara sınıfında yer almaktadır ve naturopatik nedenler, basınç, venöz yetersizlikler ve vaskülit gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanabilmektedir (Werner ve Grose, 2003; Werner, Krieg ve Smola, 2007; Velnar, Bailey ve Smrkoj, 2009). Yaranın derinliği, deri tabakası ve etkilenen cilt alanına göre yapılan sınıflandırmada ise birinci derece yara (epidermal yara), sadece cildin üst tabakası olan epidermisi etkilemektedir. Genellikle hafif yanıklar ve sıyrıklar bu kategoride yer almaktadır. Bu yaralar genellikle hızlı bir şekilde iyileşmektedir ve iz bırakmadan tamamen kapanmaktadır. İkinci derece yara (dermal yara), cildin hem üst tabakası olan epidermisi hem de alt tabakası olan dermisi etkileyen yaralardır. Bu yaralar genellikle daha derin olup, daha fazla ağrıya sebep olmakta ve daha uzun iyileşme süresini gerektirmektedir. İkinci derece yanıklar bu yara grubuna dâhildir ve iyileşme sürecinde kabuklanmaya bağlı olarak bazen iz bırakabilmektedir. Üçüncü derece yara (full-thickness yara), cildin tüm tabakalarını (epidermis, dermis ve altındaki doku) etkileyen yaralardır. Bu tür yaralar genellikle çok derindir ve iyileşmesi daha uzun sürebilmektedir. Geniş yaralar, büyük yanıklar veya ciddi travmalar bu kategoride yer almaktadır ve bu yaralara genellikle cerrahi müdahale gerekmektedir. Dördüncü derece yara ise, cildin tüm tabakalarının yanı sıra altındaki kasları, kemikleri ve diğer iç yapıları da etkileyen yaralardır. Bu yaralar ciddi olup, kapsamlı cerrahi müdahale ve uzun bir iyileşme süreci gerektirmektedir (Velnar ve diğerleri, 2009).

Yara iyileşmesinin aşamaları: Yara iyileşmesi, vücuttaki tüm doku ve organlarda gerçekleşmektedir ve bu onarım süreçlerinin birçoğu tüm dokular için ortaktır. Yara iyileşmesi, birçok farklı biyolojik faktör tarafından düzenlenen, immünolojik ve biyolojik süreçlerin karmaşık bir etkileşimidir ve birbirini takip eden dört evreden oluşmaktadır (Wilkinson ve Hardman, 2020; Karabulut, 2024; Mahmoud ve diğerleri, 2024; Yang ve diğerleri, 2024). Bunlar; hemostaz fazı, inflamasyon fazı, proliferasyon fazı (yeniden doku büyümesi) ve remodelling (yeniden şekillendirme) fazıdır ve bu aşamalar Şekil 2.4'te gösterilmiştir.

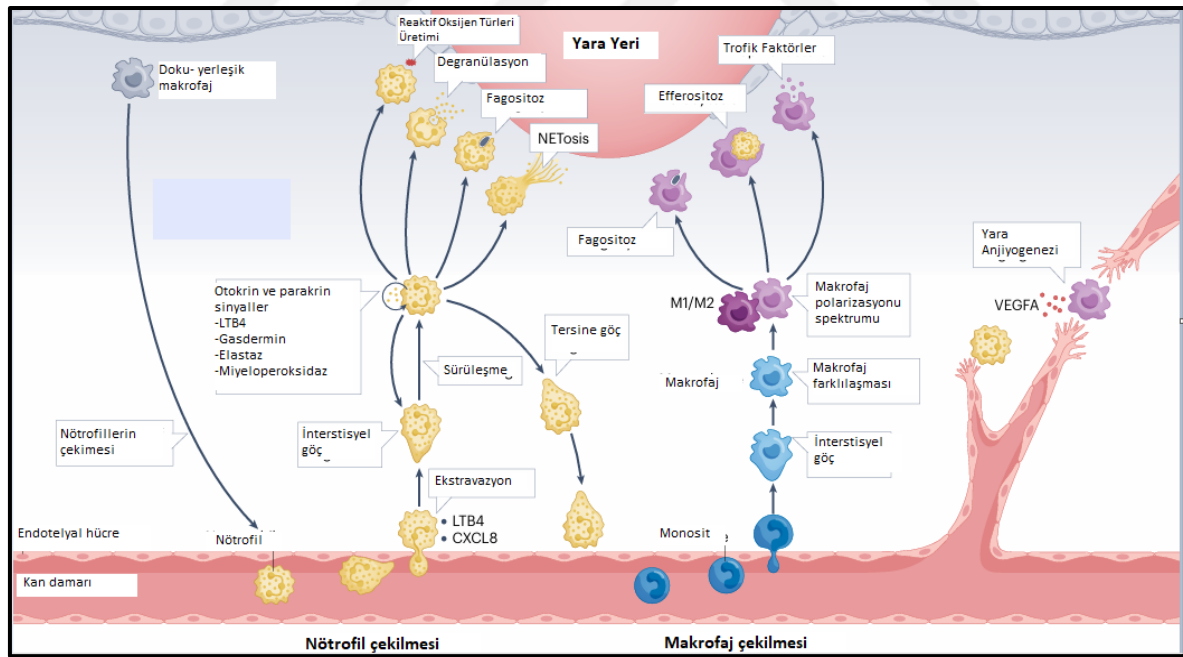


Şekil 2.4. Fizyolojik yara iyileşmesinin dört aşaması (Fu ve diğerleri, 2024).

Hemostaz fazı; Hemostaz fazı, bir yaralanma sonucu meydana gelen damar hasarının hemen ardından başlayan ve kanamayı durdurarak yara iyileşmesinin ilk aşamasını oluşturan karmaşık bir süreci ifade etmektedir (Kumar, Mahmood, Chopra ve Bhatia, 2024). Damarların daralması, birincil ve ikincil hemostaz olmak üzere üç aşamada gerçekleşen bu karmaşık faz, sadece kanamayı durdurmakla kalmayıp, aynı zamanda kan pıhtıları oluşturarak yara iyileşmesinin sonraki evreleri için temel oluşturmaktadır (Rodrigues, Kosaric, Bonham ve Gurtner, 2019; Aslan ve Erol, 2022).

İnflamasyon fazı; hemostaz evresinin başlaması, vazokonstriksiyon (kan damarlarının büzülmesi) ve vazodilatasyon (kan damarlarının genişlemesi), çeşitli büyüme faktörleri ve

nötrofillerin artışıyla karakterize edilmektedir. Bu süreçte nötrofiller, yara bölgesine ilk gelen lökositler olup bölgesel patojenleri yok etmek, lokal bakteri kontaminasyonunu ve enfeksiyonu engelleyip enzimler ve fagositoz yeteneği ile önemli bir rol oynamaktadır. Nötrofiller, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-1 β (IL-1 β) ve interlökin-6 (IL-6) salgılamaktadır. Bu evrede makrofaflar devreye girerek patojenlerin fagositozunu sağlayarak, büyüme faktörleri, kemokinler ve sitokinlerin salgılanmasını sağlama görevine ek olarak apoptotik hücrelerin temizlenmesi, hücre proliferasyonu ve doku yenilenmesi gibi önemli işlevleri de yerine getirmektedir. Monositler, bölgedeki bakterilerin salgıladığı maddeler etkisiyle yara bölgesine çekilmektedir. Trombositler ve nötrofiller tarafından salgılanan transforme edici büyüme faktör beta (TGF- β), monositler için güçlü kemotaktik ajanlardan biridir ve yara bölgesine ulaştığında damarsal dolaşımdaki monositler aktif hale gelerek makrofajlara dönüşmektedir. Makrofajlar ise, yara bölgesinin temizlenerek ortamdaki bakterilerin yok edilmesini sağlamaktadır. Yara iyileşmesinde nötrofillerin ve makrofajların rolü Şekil 2.5'te özetlenmiştir (Gence, 2008; Reinke ve Sorg, 2012; Olteanu ve diğerleri, 2024).

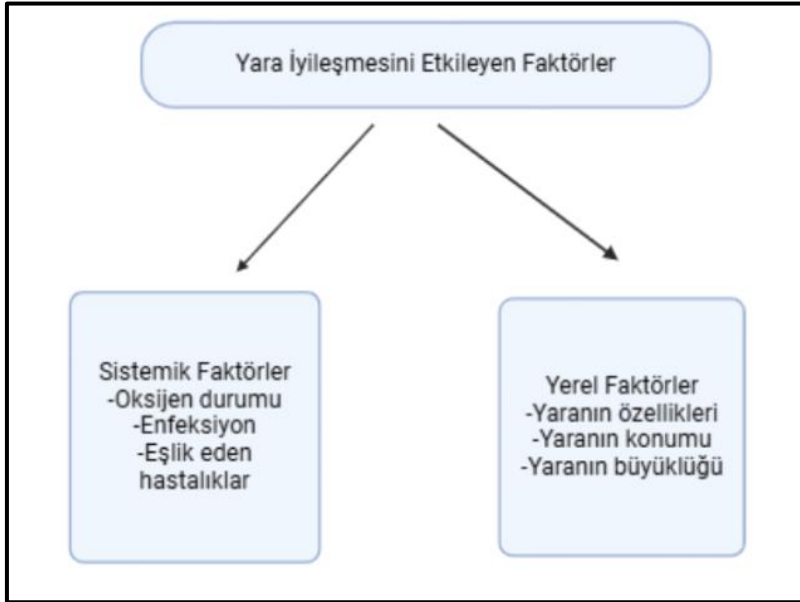


Şekil 2.5. Yara iyileşmesinde nötrofillerin ve makrofajların rolü (Peña ve Martin, 2024).

Proliferasyon fazı (yeniden doku büyümesi); akut inflamatuvar sürecin sona ermesiyle başlayıp yaklaşık iki hafta süren, nekrotik doku, pıhtı ve enfeksiyonun temizlendiği, yeni doku oluşumunun başladığı ve yaranın kapatılmaya çalışıldığı bir dönemdir. Proliferatif evre, fibroblast göçü, kolajen sentezi, anjiyogenez ve granülasyon dokusunun oluşması gibi

önemli basamakları içermesiyle karakterize edilmektedir. Makroskopik olarak bu evre, granülasyon dokusunun bol miktarda oluşumu ile belirlenmektedir. Proliferatif evrede gerçekleşen süreçler, yara iyileşmesinin temel aşamalarını oluşturmaktadır (Tomasek, Gabbiani, Hinz, Chaponneir ve Brown, 2002; Velnar ve diğerleri, 2009; Seifert ve diğerleri, 2012; Pakdemirli ve Toksöz, 2019; Kimura ve Tsuji, 2021; Öztaş, 2021).

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler: Yara iyileşmesi hem yara bölgesinde hem de vücudun genelinde etkili olan çeşitli faktörlerin bir araya gelmesiyle oluşan karmaşık bir süreçtir ve bu faktörler Şekil 2.6'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir (Guo ve DiPietro, 2010).



Şekil 2.6. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler (Lee ve diğerleri, 2024)

Oksijen, yara iyileşmesi için kritik olup, enfeksiyonla savaşma ve yeni doku oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Yetersiz oksijen, iyileşmeyi geciktirirken enfeksiyon riskini de artırabilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS) düşük seviyelerde faydalı olsa da aşırı üretimi doku hasarına yol açabilmektedir (Rodriguez, Felix, Woodley ve Shim, 2008; Bishop, 2008).

İyileşme sürecinde inflamasyon gereklidir ancak, kontrolsüz inflamasyon kronik yaralara sebep olmaktadır. Enfeksiyöz ajanlar, özellikle de biyofilm oluşturan bakteriler, inflamatuvar yanıtı uzatarak iyileşmeyi geciktirmektedir. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteriler, kronik yaralarda sıklıkla izlenen

biyofilm oluşumuna neden olarak antibiyotik tedavilerine direnç göstermektedir (Keylock ve diğerleri, 2008).

Yaşlanma, bağışıklık sistemindeki değişiklikler nedeniyle iyileşmeyi yavaşlatırken, yaşlı bireylerde, yara iyileşmesi genç bireylere göre daha uzun sürmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde de yaşlı denek hayvanlarında yeni doku oluşumu, damar gelişimi ve yara kapanma sürecinde gecikmeler gözlenmiştir (Keylock ve diğerleri, 2008).

Cinsiyet hormonları yara iyileşmesi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Özellikle östrojen, yara iyileşmesini destekleyen birçok farklı mekanizmaya sahiptir. Östrojen, yeni doku oluşumu, yara dokusunun güçlenmesi, iltihap düzenleme ve cilt bariyerini onarma gibi süreçleri etkileyerek yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Testosteronun ise yara iyileşme sürecini genel olarak olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Yaşlı erkek bireylerde gözlenen yara iyileşmesindeki gecikmeler, kısmen testosteron ve diğer erkeklik hormonlarının seviyelerindeki düşüşle açıklanabilmektedir (Gilliver, Ashworth ve Ashcroft, 2007; Hardman ve Ashcroft, 2008).

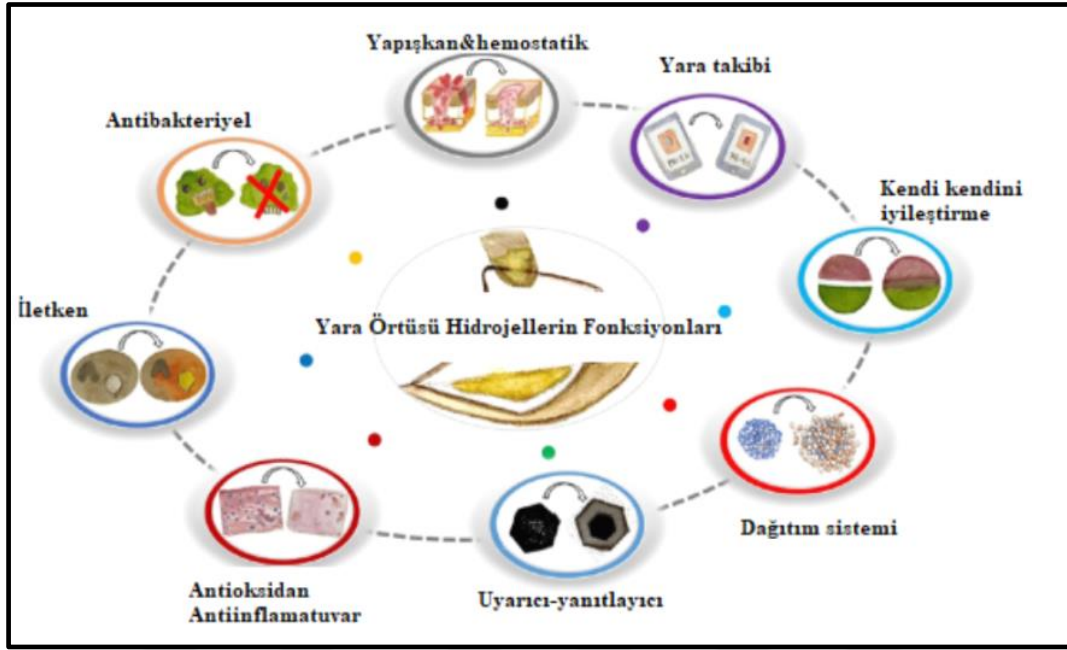
Diyabet, yara iyileşmesini önemli ölçüde zorlaştıran ciddi komplikasyonlara sebep olmaktadır. Diyabetik hastalarda gözlenen kronik yaralar, temelde yetersiz anjiyogenez ile ilişkilidir. Bir yara oluştuğunda, anjiyogenez, yaranın oksijen ve besin maddelerine ulaşmasını sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Ancak diyabet, bu süreçte önemli bozulmalara neden olmaktadır. Diyabetik yaralarda, anjiyogenez yetersiz olduğu için yara bölgesine kan akışı azalmakta ve bu da yaranın oksijensiz kalmasına ve iyileşmesinin gecikmesine yol açmaktadır. Birçok çalışma diyabetik hastalarda görülen patolojik yara iyileşmesi ile bozulmuş anjiyogenez arasında doğrudan bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Altabas, 2015; Okonkwo ve DiPietro, 2017).

Yaranın büyüklüğü, konumu ve özellikleri de yaranın iyileşme sürecini önemli ölçüde etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Büyük yaralar, daha fazla doku kaybına sebep olmaktadır ve daha geniş bir onarım alanı anlamına gelmektedir. Bu durum komplikasyon riskini artırmaktadır. Yüz bölgesinde meydana gelen bir yara ekstremitelerde meydana gelen yaralara kıyasla daha hızlı iyileşme göstermektedir. Çünkü yüz derisi daha hızlı kanlanma ve hızlı hücre yenilenmesi özelliklerine sahiptir. Yaranın derinliği, kontaminasyon durumu,

doku kaybının miktarı ve yara çevresindeki dokuların durumu iyileşme sürecini önemli ölçüde etkileyen faktörlerdendir (Kremer ve Burkemper, 2024; Peña ve Martin, 2024).

Yara enfeksiyonları, iyileşme sürecini önemli ölçüde yavaşlatabilmektedir. Eğer zamanında tedavi edilmezse, sepsisemi, osteomyelit gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmekte ve bu durum ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Geleneksel olarak, enfeksiyonları kontrol altına almak için antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak, antibiyotiklerin aşırı kullanımı, ilaçlara karşı dirençli bakterilerin gelişmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle, antibakteriyel özelliklere sahip ve bakteriyel dirençle mücadele edebilen hidrojeller, son zamanlarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiş ve yara iyileşmesinde popüler bir malzeme olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bir yara örtüsü olarak, hidrojeller başlangıçta yalnızca basit bir fiziksel izolasyon sağlama ve nemli bir ortam yaratma rolü oynamaktadır. Ancak yara iyileşmesi için klinik gereksinimler arttıkça, malzeme performansı için daha fazla talep ortaya çıkmış ve temel araştırmaların derinleşmesiyle birlikte, tek/çoklu biyolojik fonksiyonları artırılmış daha fazla hidrojel örtüsü ve gelişmiş fonksiyonları (Şekil 2.7) ortaya çıkmaya başlamıştır (Chen ve diğerleri, 2021; Liang, He ve Guo, 2021; Michalicha, Belcarz, Giannakoudakis, Staniszewska ve Barczak, 2024).

Kitosan (CS) ve türevleri, yara iyileşmesinin üç aşamasına da etki etmektedir. İlk olarak, hemostaz aşamasında bu bileşikler kanamayı durdurmakta, trombositlerin ve kırmızı kan hücrelerinin birikmesini teşvik etmekte ve fibrin çözülmesini engellemektedir. İkinci aşama olan inflamasyon sürecinde, bu bileşikler yaralardan bakterileri temizleyerek enfeksiyonla mücadele etmektedir. Son olarak, proliferasyon aşamasında, granülasyon dokusunun gelişimini teşvik ederek cilt yenilenmesini hızlandırmaktadır. Bu aşamalar tamamlandığında yara iyileşmekte, cilt yeniden oluşmakta ve iyileşme süreci sona ermektedir (Rezaei, Ehtesabi ve Ebrahimi, 2023; Wang ve diğerleri, 2024).



Şekil 2.7. Yara örtüsü hidrojellerin fonksiyonları (Liang ve diğerleri, 2021).

Rezaei ve arkadaşları (2023), Saez esansiyel yağı (SEO) ekleyerek polivinil alkol (PVA) ve CS kullanarak yeni tarz bir çift katmanlı hidrojel sentezlemişlerdir. SEO'nun PVA ve CS ile kombinasyonu, çift katmanlı hidrojelde oldukça etkili antioksidan ve antibakteriyel aktiviteler sağlamıştır. Genel olarak, bu çift katmanlı hidrojellerin yara örtüsü olarak umut verici olduğu sonucuna varılmıştır. Nemli yara iyileşmesinin biyolojik prensiplerinden esinlenerek tasarlanan enjeksiyonla uygulanabilen ve kendiliğinden iyileşen adenine-modifiye kitosan (AC) hidrojelleri, herhangi bir terapötik ilaç içermeyen yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandıracak şekilde tasarlanmıştır. AC hidrojel, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltmış ve yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırmıştır. Bu hidrojellerin, yeni çok fonksiyonlu yara iyileştirme örtülerinin tasarımı için bir temel sağlayabileceği bildirilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2023).

Shang ve arkadaşları (2024), akut ve kronik diyabetik cilt yaralarının iyileşmesini destekleyen biyolojik olarak aktif bir kompozit hidrojel geliştirmiş ve değerlendirmişlerdir. Bu hidrojel, mezankimal kök hücrelerden türetilen eksozomlar (MSC-Exos), CS, biyoaktif cam (BG) ve titanyumoksit (TiO₂) nanopartiküllerinden sentezlenmiştir. Çalışmanın *in vitro* analizleri, bu hidrojelin hücre uyumluluğuna sahip olduğunu, endotelial hücre yapışmasını ve proliferasyonunu teşvik ettiğini, ayrıca anti-inflamatuvar, anjiyojenik ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. *iv vivo* deneylerde ise, kompozit hidrojel

pansumanının yara iyileşmesini hızlandırdığı, anjiyogenezi uyardığı, kolajen birikimini artırdığı ve anti-inflamatuvar faktörlerin ifadesini yükselttiği gözlenmiştir.

2.4.4. Hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandırılması

Antibakteriyel malzemeler, genellikle metal iyonları ve metal oksit nanopartiküllerden oluşmaktadır. Yaygın olarak kullanılan metal iyonları arasında gümüş, altın ve bakır bulunurken, metal oksit nanopartiküller arasında çinko oksit, titanyum oksit ve nikel oksit yer almaktadır. Bu malzemelerden özellikle AgNP'ler öne çıkmaktadır. Antibakteriyel malzeme yüklenmiş hidrojeller, yalnızca antibakteriyel özellikleri artırmakla kalmaz, aynı zamanda bu özelliklerin uzun süre korunmasını sağlamakta, böylece bakteriyel direnç mekanizması gelişmesi riskini de azaltmaktadır. Nanopartiküller, bakteriyel hücre zarını tahrip ederek veya hücre içindeki orgallerde olumsuz değişiklikler yaparak antibakteriyel etkinlik göstermektedir. Ancak bu mekanizmaların bazıları henüz tam olarak anlaşılamamış olup, daha fazla çalışma ve kanıt gerektirmektedir (Li ve diğerleri, 2018; Mondal ve diğerleri, 2024).

Hibrit nanokompozit hidrojeller, organik ve inorganik birleşimlerden oluşmakta ve boyutları birkaç angstromdan yüzlerce nanometreye kadar değişebilmektedir. Bu malzemeler özellikle termal ve mekanik stabilitealarının önemli ölçüde artırılması sayesinde ileri düzey biyomalzeme uygulamalarında tercih edilmektedir. Özellikle gözeneklilik gibi özellikler, bu malzemelerin ilaç taşıma, hücre tedavisi ve doku rejenerasyonu gibi alanlarda etkin kullanımını mümkün kılmaktadır. Birçok organik ve inorganik hibrit hidrojel, fonksiyonel malzeme olarak kullanılmaktadır (Wahid, Zhao, Lia, Bai ve Zhong, 2020; Makhathini ve diğerleri, 2022; Lanzalaco, Mingot, Torras, Aleman ve Armelin, 2023).

Hidrojel nanokompozitler, uyarıcıya duyarlı akıllı malzemeler olarak geliştirilmiş olup, ilaç taşıma sistemlerinde potansiyel taşımaktadır. Bu malzemeler, içsel ve dışsal parametrelerden, örneğin pH seviyeleri veya sıcaklık değişikliklerinden etkilenecek ilaç salınımını tetikleyebilmektedir. Yapılan araştırmalar, kompozit hidrojellerin ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmasının amacının genellikle ilaçların kontrollü salınımını sağlamak ve biyoyararlanımların artırmak olduğunu bildirmektedir. Bu tür malzemeler, nanolifler, nanometaller, nano-biyomalzemeler ve lipozomlar gibi farklı nanopartikül türleriyle entegre edilebilir. Ayrıca, ilaçlar hidrojel iskeletindeki nanopartiküllere veya doğrudan iskele

ortamına yüklenebilmektedir. Bu özellikler, hibrit nanokompozitlerin biyomedikal uygulamalarda geniş bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Cai ve diğerleri, 2021; Siafaka, Okur, Karantaş, Okur ve Gündoğdu, 2021; Umeyor, Uronnachi ve Kakade, 2023; Wu, Xue, Yun, Liu ve Sun, 2024)

2019 yılında yapılan bir çalışmada, kimyasal buhar biriktirme (CVD) yöntemi ile bir altın nanorod grafitik nanokapsül (AuNR@G) üretilmiş ve bu kapsülleri gluteraldehitte çapraz bağlı PVA/CS hidrojellerine yüklenilmiştir. Bu sentezlenen hidrojin, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı stabil ve etkili antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Xu, Guan, Li, Chen ve Chen, 2019). Fosfolipid-polietilen glikol (PEG) ile yüzeyi modifiye edilmiş AuNR'ler poloksamer 407'ye yüklenerek hibrit bir hidrojel oluşturulan bir başka çalışmada bu hidrojin *P. aeruginosa* biyofilmine karşı yüksek verimlilikle mücadele ederek antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Al-Bakri ve Mahmoud, 2019).

CS, yüksek yoğunluktaki pozitif yüklü amino grupları nedeniyle antibakteriyel doğal biyopolimerler olarak hidrojel üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. CS bazlı hidrojellerin mekanik özelliklerini artırmak için C=C çift bağlarının kovalent çapraz bağlanması ve katekol-Fe³⁺ koordinasyonunun kovalent olmayan çapraz bağlanması yoluyla çift ağ yapılı enjekte edilebilir CS hidrojeller bandajları üretilmiştir. Bu bandajlar iyi mekanik özellik ve doku yapışmasının yanında, *E. coli* ve *S. aureus* patojen mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Wang ve diğerleri, 2020).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan bakteriler

Bu tez çalışmasında; Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı stok kültür koleksiyonunda bulunan, 16S rRNA temelli dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlanmış ve prebiyotik özellikleri daha önce belirlenmiş (Çelik, Yüksekdağ, Çınar Acar ve Kara, 2024) *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşu AgNP sentezinde kullanılmıştır. Sentezlenen AgNP'lerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan test bakterilerinin isimleri ve kodları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan test bakterilerinin isimleri, kodları ve geliştirilme sıcaklıkları

İsimler	Kod	Geliştirilme sıcaklıkları (°C)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11229	37
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	37
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 35984	37

3.1.2. Kullanılan besiyeri ve çözeltiler

Tez çalışması süresince AgNP sentezinde kullanılan *L. salivarius* KC66L suşunun geliştirilmesi için De Man Rogasa and Sharp Sıvı (MRS) besiyeri kullanılmıştır. Sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 bakterilerinin geliştirilebilmesi için Nutrient Sıvı besiyeri (NB) kullanılmıştır. Besiyerlerinin içeriği Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Sıvı besiyerlerinin hazırlanabilmesi için Çizelge 3.2.'de verilen maddeler uygun miktarlarda tartılıp bir miktar distile su ile manyetik karıştırıcıda tamamen çözünüp homojen olana kadar karıştırılmış ve sonra kalan hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri otoklavda 121°C ve 15 dakika steril edildikten sonra kullanıma hazır hale getirilmiştir. Katı besiyeri hazırlamak için sıvı besiyerine 15 g/L olacak şekilde bakteriyolojik agar (Merck) ilave edilmiştir ve sıvı besiyerinde olduğu gibi 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Katı besiyerleri otoklavda steril edilme işlemi sonrası

oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Uygun sıcaklığa gelen besiyeri petri kaplarına steril şartlar altında dökülmüş ve hazırlanan katı besiyerleri petri kaplarına dökülme esnasında bir kontaminasyon olup olmadığının tespiti amacıyla 1 gece 37°C’de bekletilmiştir. Katı besiyerlerinde kontaminasyon olmadığından emin olunduktan sonra çalışmalarda kullanılabilecek kadar +4°C’ye kaldırılmıştır.

Çalışma esnasında kullanılacak olan tüm cam malzemelerin sterilizasyonu da Pastör fırınında (Nüve) 180°C’de 2 saat yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri, çözeltiler ve içerikleri

Besiyeri Adı	İçerik (L)
De Man Rogase and Sharp Sıvı Besiyeri (MRS)	Pepton (10 g) Glikoz (20 g) Sodyum asetat (5 g) Maya ekstraktı (5 g) Amonyum sitrat (2 g) Magnezyum sülfat (0,05 g) Manganez sülfat (0,2 g) Tween 80 (1,80 mL) Et ekstraktı (10 g) Dipotasyum fosfat (2 g) (pH 6,2±0,2)
Nutrient Sıvı Besiyeri (NB)	Et ekstraktı (10 g) Sodyum klorür (5 g) Pepton (10 g) (pH 7,0±0,2)
Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri (MHB)	Et infüzyonu (2,0 g) Kazein hidrolizat (17,5 g) Nişasta (1,5 g) (pH 7,4±0,2)
Serum Fizyolojik (SF)	NaCl (8,5 g) (pH 7,4±0,2)
Potasyum Fosfat Tamponu (PBS)	Dipotasyum fosfat (8,7 g) Potasyum fosfat (6,8 g) (pH 7,4±0,2)

3.1.3. Çalışmada kullanılan cihaz, ekipman ve kimyasallar

Bu tez çalışmasının deneylerinin yürütülmesi ve tamamlanması süresince Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında bulunan cihaz (Çizelge 3.3) ve ekipmanlar kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan kimyasallar ise Çizelge 3.4’te listelenmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka
Otoklav	Nüve
Vorteks	Dragonlab
pH metre	Jenca 1673
McFarland Densitometre	Biosan Den-1
Spektrofotometre	Digilab Hitachi U-1800
Etüv	Raypa/Digit/Incuberm
Manyetik Karıştırıcı	Velp
-80°C ve -30°C Derin Dondurucu	Senyo
Mini Santrifüj	Selectra
Çeker Ocak	Vortice
Işık Mikroskobu	Leica
Liyofilizatör	Christ Alpha 2-4 LD Plus
Distile Su Cihazı	Mes/MES06
Mikroplak Okuyucu	Epoch, BioTek
Santrifüj	Nüve
Pastör Fırını	Nüve
Sonikatör	Sonics Materials
Hücre Sayım Cihazı	BioRad
İnverted Mikroskop	Olympus
CO ₂ 'li İnkübatör	Nüve

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Marka
Gümüş Nitrat	Sigma
Sodyum Periyodat	Isolab
Hiyalüronik asit	Biosynth
Trikloroasetik Asit	Sigma
Kitosan	Sigma
İzopropanol	Merck
Monokloroasetik asit	Tekkim
Sodyum Hidroksit	Sigma
Etilen glikol	Sigma
Fetal Bovin Serum	Sartorius

3.1.4. Çalışmada kullanılan hücre hatları

Tez çalışmasında insan sünnet derisinden izole edilen fibroblast hücre hattı (HFF-1) ve yetişkin insan derisi keratinosit hücre hattı (HaCat), Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Fadime KIRAN'dan temin edilmiştir. Her iki hücre hattı, %10 fetal bovin serumu (FBS), %1 L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin (100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin) içeren Roswell Park Memorial Institute (RPMI)

besiyerinde %5 CO₂'li (karbonsioksit) inkübatörde 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. T-25 kültür kaplarında kültüre edilen hücreler yeterli yoğunluğa (%80-90) ulaştığında, tripsin-EDTA çözeltisi ile enzimatik olarak ayrıştırılarak kültür kaplarından uzaklaştırılmıştır. Hücre sayımı, tripan mavisi (Bio-Rad) boyama yöntemi kullanılarak otomatik hücre sayım cihazı (TC20™ Bio-Rad) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, 10-20 numaralı pasajlardan alınan ve mikoplazma kontaminasyonu açısından negatif olan hücreler kullanılmıştır.

3.2. Metot

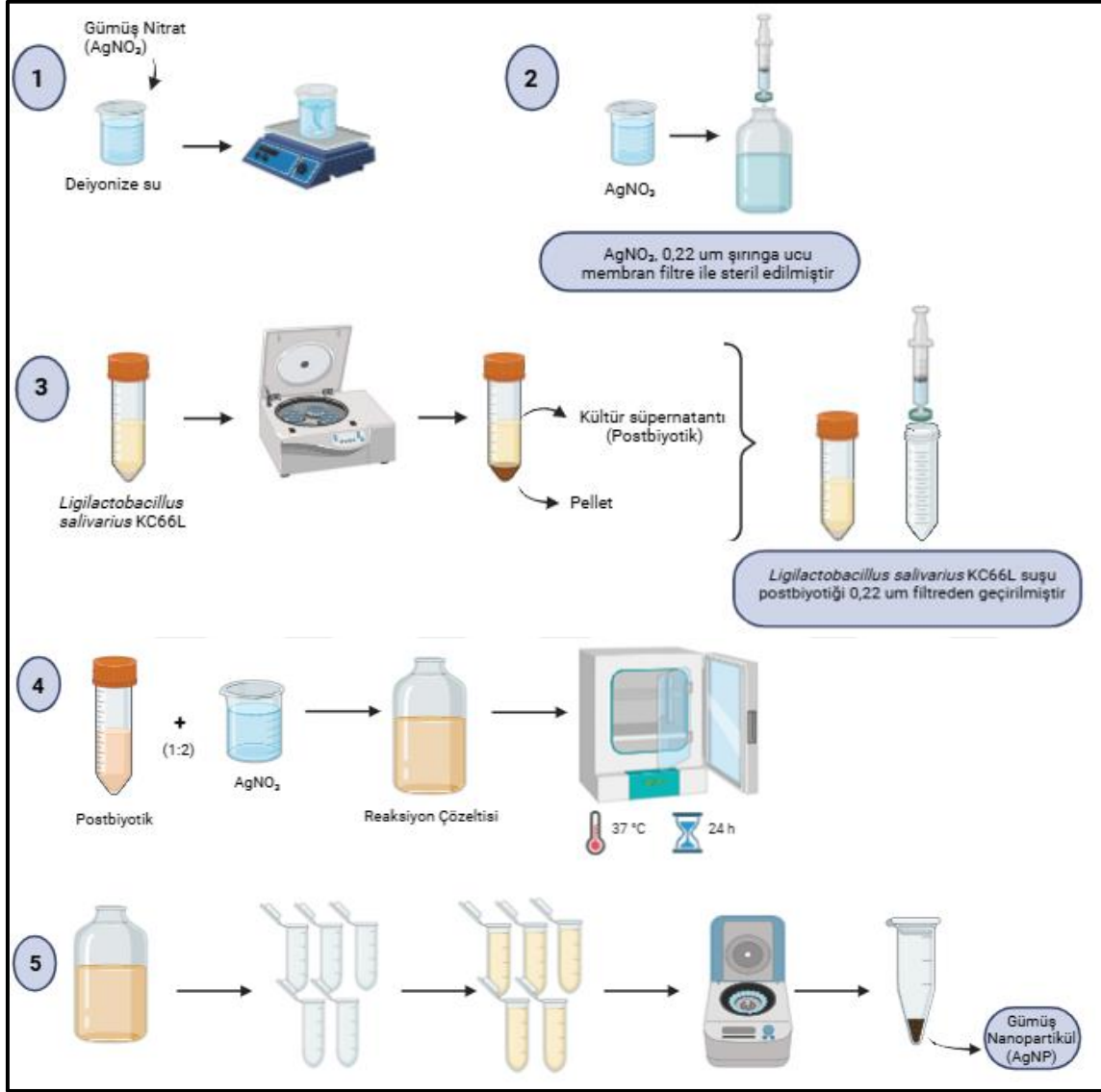
3.2.1. Bakterilerin aktifleştirilmesi, gelişme ortamları ve muhafazaları

Bu tez çalışmasında AgNP'lerin sentezi amacıyla kullanılan *L. salivarius* KC66L suşu MRS besiyerine %2 oranında aşılansak 37°C'de 24 saat art arda iki kez aktifleştirilmiştir. Çalışmada sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. epidermidis* ATCC 35984 suşları besiyerine %2 oranında aşılansak 37°C'de 24 saat art arda iki kez aktifleştirilmiştir. Deney çalışması öncesinde aktifleştirmesi yapılan bakteri kültürlerinde agara tek koloni ekim yöntemi ve Gram boyama tekniği ile herhangi bir kontaminasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir. Bu kontrol sonrasında temiz olduğundan emin olunan bakteri kültürüyle deneyler gerçekleştirilmiştir. Bakteri kültürlerinin ileri çalışmalarda kullanılması için daha uzun süreli muhafazası: (1) %20 gliserol içeren kriyovialler otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Uygun besiyerinde geliştirilmiş olan aktif kültürlerden 1000 µL gliserolün üzerine koyularak iyice vorteks edildikten sonra -30°C'de muhafazaya bırakılmıştır, (2) Bakteri kültürleri Skim Milk Sıvı besiyeri içerisinde liyofilizatörde liyofilize edilmiştir. Muhafazaya alınan kültürler iki ayda bir yenilenmiştir.

3.2.2. *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi

Çalışmamızda, *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP'lerin ekstraselüler sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, KC66L suşu MRS sıvı besi yerinde 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra, 4100 rpm de 15 dakika santrifüj edildikten sonra kültür süpernatantı (postbiyotik) elde edilmiştir. Elde edilen kültür süpernatantı 0,22 µm por çaplı vakum filtrasyon sisteminde süzülerek steril edilmiştir. Kültür süpernatantı 0,22 µm por çaplı

şırınga ucu membran filtre ile süzülerek hazırlanan 4 mM gümüş nitrat (AgNO_3) ile 1:2 (v/v) oranında bir araya getirilmiştir. Çözelti, 24 saat karanlıkta 37°C 'de inkübe edilmiştir (Matei, 2020). İnkübasyon süresi sonunda reaksiyon karışımı 5 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve sentezlenen AgNP'lerin bir araya toplanması sağlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP sentezi (BioRender.com kullanılarak hazırlanmıştır).

3.2.3. Gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu

AgNP'lerin sentezinde en uygun koşulların belirlenmesi amacıyla farklı AgNO_3 konsantrasyonları, süre, sıcaklık ve oranlarda AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon deneyi için belirlenen koşullar Çizelge 3.5.'te verilmiştir. Optimizasyon

deneyinde elde edilen AgNP'lerin optik yoğunluğu UV-Visible spektrofotometrede 300-900 nm dalga boyları arasında ölçülerek tespit edilmiştir.

Çizelge 3.5. AgNP'lerin sentezinin optimizasyonu için kullanılan koşullar

AgNO ₃ Konsantrasyonu (mM)	Süre (Saat)	Sıcaklık (°C)	Oran (Kültür Süpernatantı/AgNO ₃)
1	6	25	1:1
2	12	30	1:2
3	24	37	2:1
4	48	40	1:3
5			3:1

3.2.4. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu

L. salivarius KC66L suşunun postbiyotiğinden ekstraselüler olarak sentezlenen AgNP'lerin (KC66L-AgNP'ler) karakterizasyonu için UV-Vis Spektroskopi, SEM-EDX (Taramalı Elektron Mikroskobu- Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektrometrisi), DLS (Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi) Analizi, FTIR (Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi) ve XRD (X-Işını Kristalografisi) analizleri hizmet alımı ile Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında (ODTÜ MERLAB) hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. AgNP'lerin optik yoğunluğu UV-Vis spektroskopisi ile belirlenmiştir.

UV-vis Spektroskopisi

UV-Vis spektrofotometri, metal nanopartiküllerin sentezinde, oluşumun ilk göstergesi olarak kullanılmaktadır. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu için hızlı, kolay ve hassas bir teknik olan UV-Vis Spektroskopisi analizi ile farklı dalga boylarında (300-900 nm arası) nanopartiküllerin optik yoğunlukları okunmuştur. Analiz U-1800 Soectrophotometer, HITACHI cihazı ile yapılmıştır.

SEM-EDX (Taramalı Elektron Mikroskobu-Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektrometrisi) analizi

Sentezlenen KC66L-AgNP'lerin boyut ve şekillerinin aydınlatılabilmesi amacıyla SEM-EDX analizi yapılmıştır. Hazırlanan numuneler sıvı şekilde 2 mL'lik ependorf tüpleri içerisinde 1:1 oranında deiyonize su ile seyreltilip sonike edilerek hazırlanmıştır. ODTÜ MERLAB'da analiz Elektron Mikroskopi Laboratuvarında (EML) QUANTA 400F Field

Emission SEM (Yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu, 1,2 nm çözünürlükte) cihazı ile yapılmıştır.

DLS (Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi) analizi

Kolloidal süspansiyonlar ve nano ölçekli partiküllerin boyut dağılımını belirlemek için kullanılan optik tekniklerden biri olan DLS ile sentezlenen KC66L-AgNP'lerin boyut analizi yapılmıştır. KC66L-AgNP'ler 2 mL'lik ependorf tüp içerisinde sıvı halde analizi gerçekleştirilmek üzere ODTÜ MERLAB Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçüm Laboratuvarına (PZL) götürülmüştür. Analiz hizmet alımıyla Malvern GCS-3 cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizi

Sentezlenen KC66L-AgNP'lerin moleküler yapısı ve fonksiyonel gruplarının belirlenebilmesi için bu analiz ODTÜ MERLAB Kızıl Ötesi ve Raman Spektroskopisi Laboratuvarında GladiATR 10 (Mid-IR (400-4000 cm^{-1}) cihazı ile yapılmıştır.

XRD (X-Işını Kristalografisi) analizi

Sentezlenen KC66L-AgNP'lerin kristalografik yapısının incelenebilmesi amacıyla hizmet alımı ile XRD analizi yapılmıştır. Sentezi gerçekleştirilen AgNP'ler vorteks ve sonikatör ile deiyonize su içerisinde homojen bir dağılım gösterene kadar muamele edilmiştir. Disperse edilmiş örnekler 25-30°C'de kurumaya bırakılmıştır. ODTÜ MERLAB'da analiz X-Işını Difraksiyon Laboratuvarında Riyaku Ultima-IV X-ışını kırınım cihazı ile analiz edilmiştir.

3.2.5. Gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Sentezlenen KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılabilirliği antimikrobiyal altivite deneylerinden kuyu difüzyon yöntemi (Collins ve diğerleri, 1995; Wang ve diğerleri, 2009) ve mikrodilüsyon yöntemi (Wikler, 2006) ile test edilmiştir.

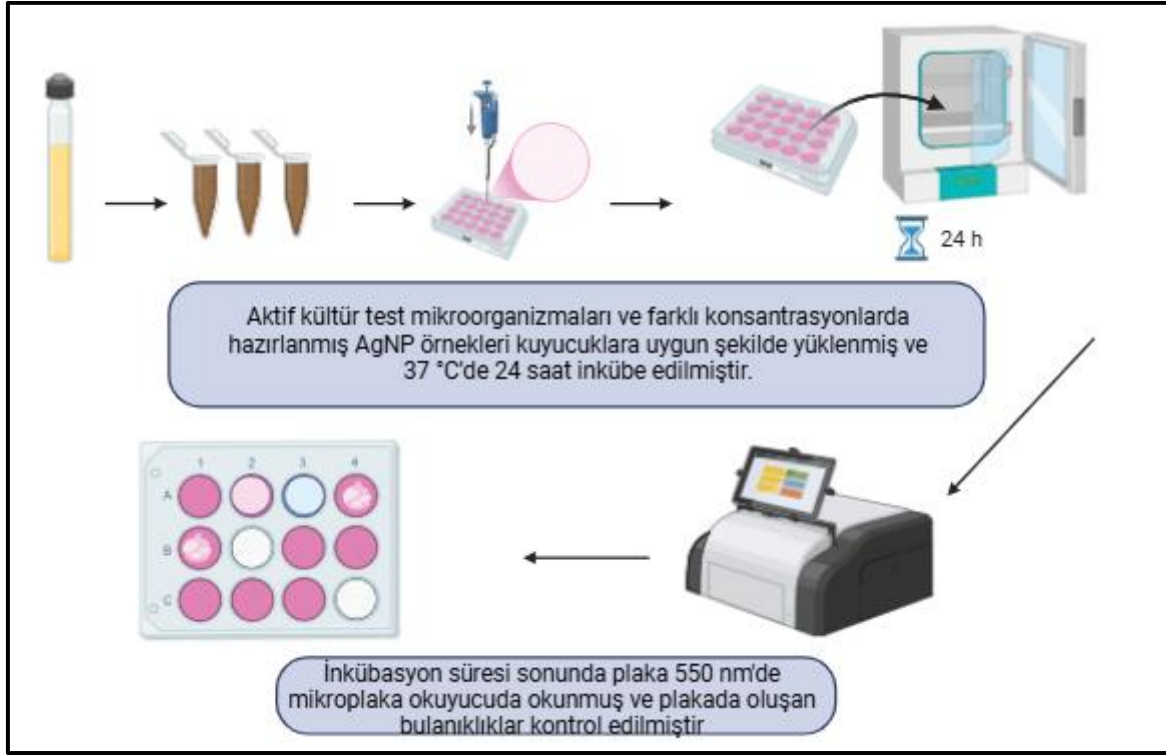
McFarland değeri ayarlaması

Bu tez çalışması kapsamında kültürlerin optik yoğunlukları McFarland yöntemi kullanılarak ayarlanmıştır. İlk aktifleştirmesi yapılan bakteriler 4100 rpm 15 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı atılmıştır. Pellet üzerine 5 mL serum fizyolojik (SF, %0,8 NaCl) eklenmiş ve iyice vortekslenerek tekrar 4100 rpm 15 dakika santrifüj edilmiştir. NaCl ile yıkama işlemi iki kez tekrarlanmıştır. Bu yıkama işlemiyle süpernatantta bulunan besiyeri atıklarının uzaklaştırılması hedeflenmiştir. Yıkama işlemi sonunda elde edilen bakteri pelleti 5 mL serum fizyolojikte çözülmüş ve yine 5 mL serum fizyolojik bulunan steril cam tüplere 200 µL eklenmiştir. Densitometre cihazı kullanılarak ölçülen optik yoğunluk kullanılacak McFarland değerine ayarlanmıştır.

Mikrodilüsyon yöntemi

L. salivarius KC66L suşunun postbiyotiğinden elde edilen AgNP'lerin çalışma kapsamında kullanılan test mikroorganizmalarına karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK) değerleri mikrodilüsyon yöntemine göre test edilmiştir. Mueller-Hinton sıvı besiyerinde aktifleştirilen test mikroorganizmalarının McFarland değeri yukarıda anlatılan yöntem ile 0,5 (1.5×10^8 CFU/mL) olarak ayarlanmıştır. Bu deney çalışması 96 kuyucuklu mikropalaklarda yapılmış ve örnekler mikropalaklara şu sıra ile yüklenmiştir: (1) besiyeri, (2) besiyeri+ farklı konsantrasyonlarda (0,0312-0,5 mg/mL) AgNP sulu kolloidal çözeltisi., (3-10) besiyeri +farklı konsantrasyonlarda (0,0312-0,5 mg/mL) AgNP sulu kolloidal çözeltisi+test mikroorganizması.

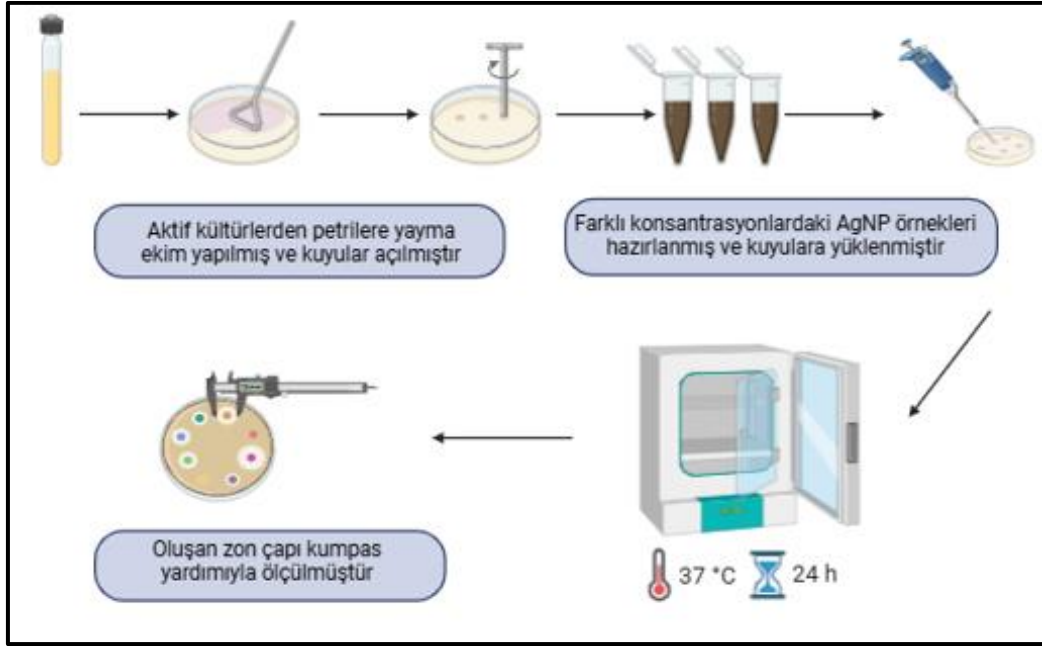
Yükleme işlemi sonunda mikropalakalar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda MIK ölçümleri mikropalaka okuyucuda 550 nm dalga boyunda üç tekrarlı olarak yapılmıştır (Şekil 3.2). Bakteri gelişiminin gözlenmediği (bulanıklığın olmadığı) en düşük AgNP konsantrasyonu MIK olarak, bulanıklığın gözlenmediği kuyucuklardan katı besiyerine aktarılan örneklerde koloni oluşumunun gözlenmediği en düşük AgNP konsantrasyonu ise Minimum Letal Konsantrasyon (MLK), olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Mikrodilüsyon yöntemi (BioRender.com kullanılarak hazırlanmıştır).

Kuyu difüzyon yöntemi

KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri patojen test bakterilerine karşı kuyu difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Test bakterileri olarak Gram pozitif *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* 35984, Gram negatif *E. coli* ATCC 11229 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır. Patojen bakteriler Nutrient besiyerinde 37°C'de 16-18 saat aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerin optik yoğunları 0,5 McFarland standardına ayarlandıktan sonra aktif kültürlerden Mueller-Hinton katı besiyeri üzerine 100 µL aktarılmış ve steril drigalski özesi yardımıyla yayılmıştır. Ardından petri kapları üzerinde 6 mm çapında cam çubuklar yardımıyla kuyular açılmıştır. Kuyulara 100 µL farklı konsantrasyonlarda (0,0312; 0,00625; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,3 ve 0,5 mg/mL) hazırlanmış AgNP sulu koloidal çözeltileri ve kontroller (antibiyotik diskler: *E. coli* ve *P. aeruginosa* için gentamisin; *S. aureus* ve *S. epidermidis* için amoksisilin (Kontrol 1) ve bakteri kültür süpernatantı (Kontrol 2) eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zon çapı kumpas yardımıyla ölçülmüştür (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kuyu difüzyon yöntemi (BioRender.com kullanılarak hazırlanmıştır).

3.2.6. Gümüş nanopartiküllerin sitotoksitesinin belirlenmesi

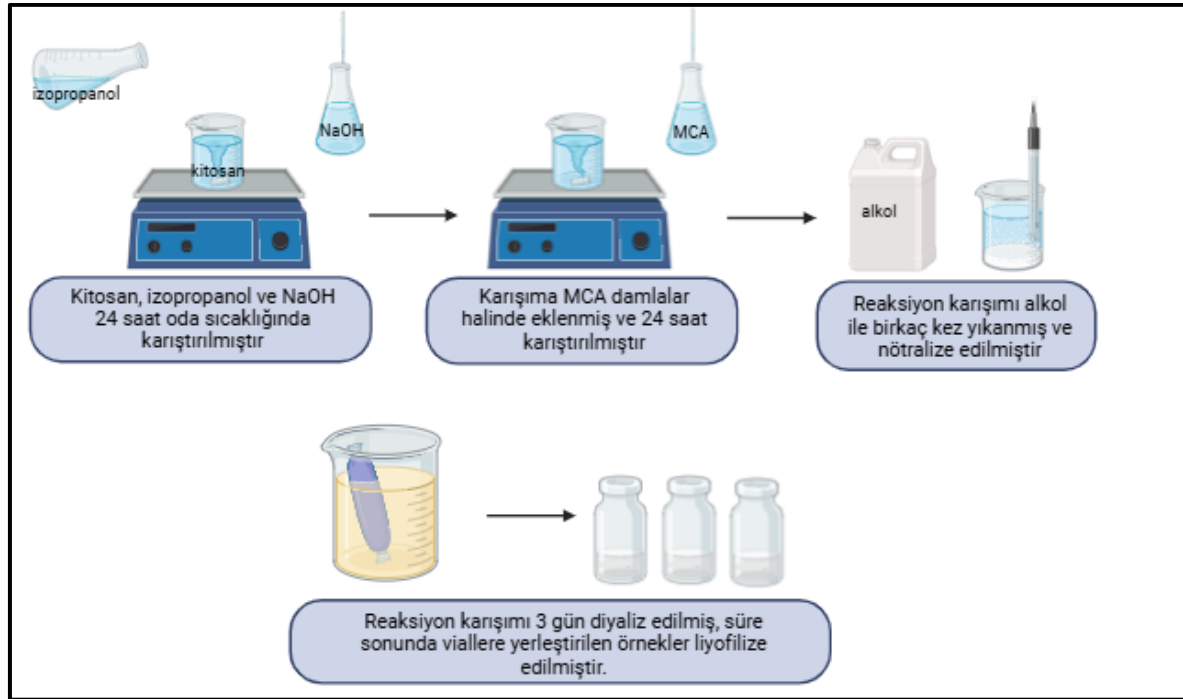
KC66L-AgNP'lerin sitotoksitesini değerlendirmek amacıyla insan sünnet derisinden izole edilen fibroblast hüce hattı (HFF-1) ve yetişkin insan derisi keratinosit hüce hattı (HaCat) kullanılmıştır. Sitotoksite deneyi 3-(4,5-Dimethylthiazol-2yl)-2,5-Diphenyltetrazoliumbromid (MTT) analizi Mossman'ın metoduna göre bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirilmiştir. Hücreler, 96 kuyucuklu mikropalakalara her kuyucukta 1×10^4 hüce olacak şekilde ekilmiş, %5 CO₂ içeren 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonrası mevcut besiortamı uzaklaştırılmış yerine 0,01; 0,025; 0,05 ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarında AgNP içeren taze besiortamı eklenerek hücreler aynı koşullarda 24 saat daha inkübe edilmiştir. Süre sonunda, her kuyucuğa 5 mg/mL konsantrasyonunda tetrazolyum boyası (MTT) içeren 10 µL çözelti eklenen mikropalakalar 4 saat inkübe edilmiştir. Sonra her bir kuyucuğa 100 µL dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek kristallerin tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Meydana gelen renk değişimi 570 nm dalga boyunda mikropalaka okuyucuda optik yoğunlukları belirlenmiştir. Deneyde, AgNP içermeyen kuyucuklar kontrol grubu olarak değerlendirilmiş olup çalışma üç paralel tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. (Mossmann, 1983; Van Meerloo, Kaspers ve Cloos, 2011).

3.2.7. Hidrojel sentezi

Kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin hazırlanmasında yükseltgenmiş hiyalüronik asit (OHA) ve karboksimetil kitosan (CMCS) kullanılmıştır (Lee ve diğerleri, 2020).

Karboksimetilasyon ile karboksimetil kitosan eldesi

Kitosanın suda çözülebilir forma gelmesi için karboksimetilasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla Galdino ve diğerleri (2022) tarafından belirtilen yöntem üzerinde bazı değişiklikler yapılarak kitosandan karboksimetil kitosan elde edilmiştir (Galdino ve diğerleri, 2022). 750 mg kitosan 9 mL izopropanol ile yarım saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. 500 mg NaOH 1 mL ultra saf su içinde çözünmüş ve kitosan karışımı içerisine damlalar halinde eklenmiştir. Elde edilen karışım 24 saat oda sıcaklığı koşullarında manyetik karıştırıcıda karışmaya bırakılmıştır. Sürenin sonunda 750 mg monokloroasetik asit (MCA) 2 mL izopropanol içinde çözülüp kitosan karışımına damlalar halinde her damla arasında 20 saniye beklenerek eklenmiş ve tekrar 24 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Sürenin sonunda reaksiyon karışımı mutlak etanol ile birkaç kez yıkanmıştır. Yıkamanın ardından %80 etanol ile nötralize edilmiştir. Nötralizasyon işleminin ardından ortamdaki safsızlıkların giderilmesi için karışım 3 gün süreyle diyaliz (Spectrum Spectra, 35 kDa) edilmiştir. Sonrasında kuru numune eldesi için liyofilize edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Karboksimetilasyon işlemi (BioRender.com kullanılarak hazırlanmıştır).

OHA eldesi

OHA, Lee ve diğerleri tarafından 2020 yılında yapılan çalışmada bazı değişiklikler yapılarak elde edilmiştir. Oksidasyon işlemi için sodyum periyodat (NaIO_4) kullanılmıştır. İlk olarak, %1'lik 40 mL hiyalüronik asit (HA) çözünene kadar karıştırılmış ve 1 gece $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Ertesi gün 0,084 mg 2 mL NaIO_4 çözeltisi hazırlanmış, ışıktan korunarak damla damla hiyalüronik asit çözeltisine eklenmiş ve bir gece $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Sürenin sonunda reaktifi nötralize etmek amacıyla karışıma 0,2 mL etilen glikol damlalar halinde eklenmiştir. Nötralizasyon işleminden sonra, karışımdaki safsızlıkları gidermek amacıyla 1 gün diyaliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılmış çözelti liyofilize edilerek kurutulmuştur. OHA eldesi sırasında tüm reaksiyon $+4^\circ\text{C}$ 'de karanlık koşullarda çalışılmıştır.

OHA karakterizasyonu

Elde edilen OHA'nın karakterizasyonu için OHA yapısındaki aldehit gruplarının varlığı FTIR ile tespit edilmiştir. Analiz Orta Doğu Teknik Üniversitesi MERLAB'da hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Karboksümetil kitosan (CMCS) – Yükseltgenmiş hiyalüronik asit (OHA) hidrojenlerin eldesi

Hidrojenin eldesinde OHA ile CMCS kullanılmıştır. Farklı bileşen oranlarına sahip *hidrojenlerin en iyi oluşum koşullarını* belirlemek amacıyla, distile su içinde %5'lik (w/v) CMCS ve %2'lik (w/v) OHA çözeltileri hazırlanmıştır. Farklı CMCS/OHA oranlarında (1/1; 2/1; 3/1; 4/1) hazırlanan *hidrojenlerin jelleşme durumları* gözlemlenmiştir (Kim, Park, Kim, Lee ve Lee, 2017; Lee ve diğerleri, 2020). Elde edilen hidrojenlerin oluşumundaki *imin bağlarının* varlığı FTIR analizi ile morfolojik yapıları SEM analizi ile sitotoksiteleri ise Bölüm 3.2.6'da verilen MTT analizi ile 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL dozlarında belirlenmiştir.

Karboksümetil kitosan (CMCS)- yükseltgenmiş hiyalüronik asit (OHA) hidrojele antibakteriyel etkinlik kazandırılması (AgNP eklenmesi ile)

Sentezlenen hidrojenin antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır. Tez çalışması kapsamında KC66L-AgNP'lerin MİK değerleri, *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 35984 için 0,05 mg/mL ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 için 0,025 mg/mL olarak belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda (0,1 ve 0,2 mg/mL) KC66L-AgNP içeren hidrojenlerinde antimikrobiyal özellik üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını karşılaştırılabilmek için bu konsantrasyonları içeren hidrojenlerinde antimikrobiyal özellikleri de belirlenmiştir. AgNP içermeyen hidrojenler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bu amaçla çalışmada 0,025 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL ve 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında KC66L-AgNP'ler içeren CMCS karışımları hazırlanmıştır. Bu işlem için, farklı konsantrasyonlardaki KC66L-AgNP'ler PBS tamponu içinde sonikasyon ile homojen bir şekilde dağıtılmış ve ardından %5'lik (w/v) CMCS eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım %2'lik (w/v) OHA çözeltisi ile birleştirilmiştir (Liu, Dai, Si ve Zeng, 2018). Farklı konsantrasyonlarında KC66L-AgNP'ler içeren *hidrojenin antibakteriyel özellikleri* Bölüm 3.2.5'te verilen kuyu difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Hidrojendeki kararlılıkların tespit edilebilmesi için, KC66L-AgNP'lerin hidrojenlerden salımı incelenmiştir. Bu amaçla antibakteriyel etkinlik çalışmaları kapsamında belirlenen 0,025; 0,05; 0,1 ve 0,2 ve üst değerlendirme limiti olduğu için dahil edilen 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında KC66L-AgNP'leri içeren hidrojenler 50 mL PBS içinde +4°C'de 21 gün bekletilmiştir. 0, 1, 2, 7, 10, 14 ve 21. günlerde PBS örneklerindeki serbest gümüş iyon

konsantrasyonu (Ag miktarı) Endüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS, Agilent Technologies 5100 SVDV) kullanılarak belirlenmiştir. Bu analiz ile hidrojellerin kontrollü gümüş salım profillerini değerlendirilmiştir.

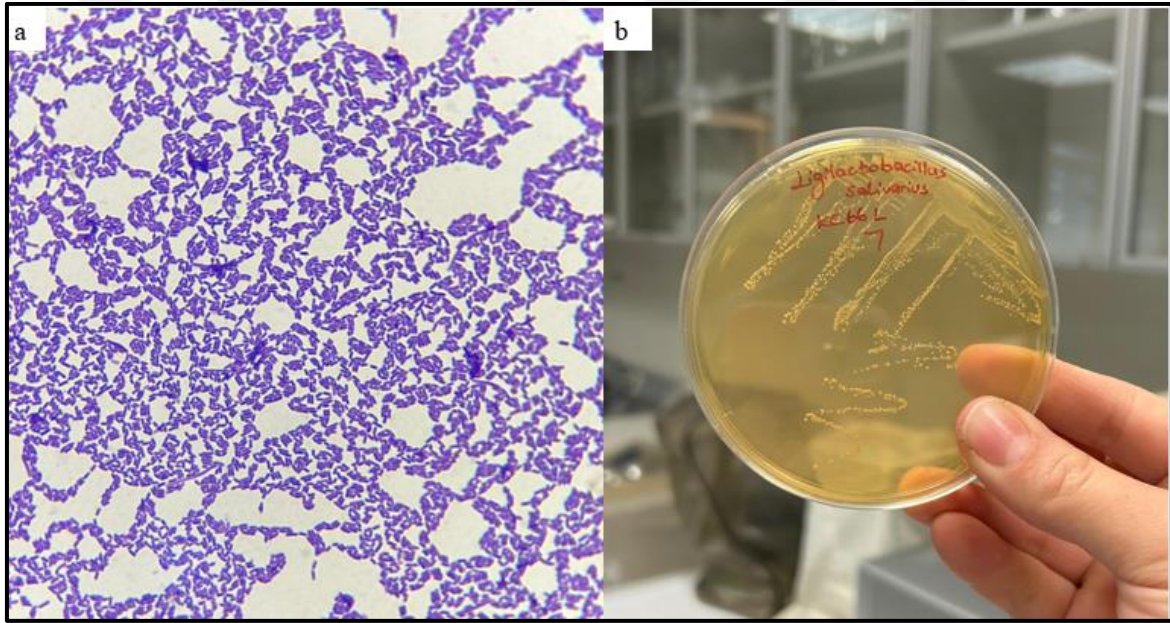
3.3. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında tüm deneyler üç paralel olarak yürütülmüştür ve değerlerin ortalama sonuçları verilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen veriler bu sonuçların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. MTT analizinden elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ONE WAY-ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. $p<0,05$ anlamlı bir farkı belirtmek için kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

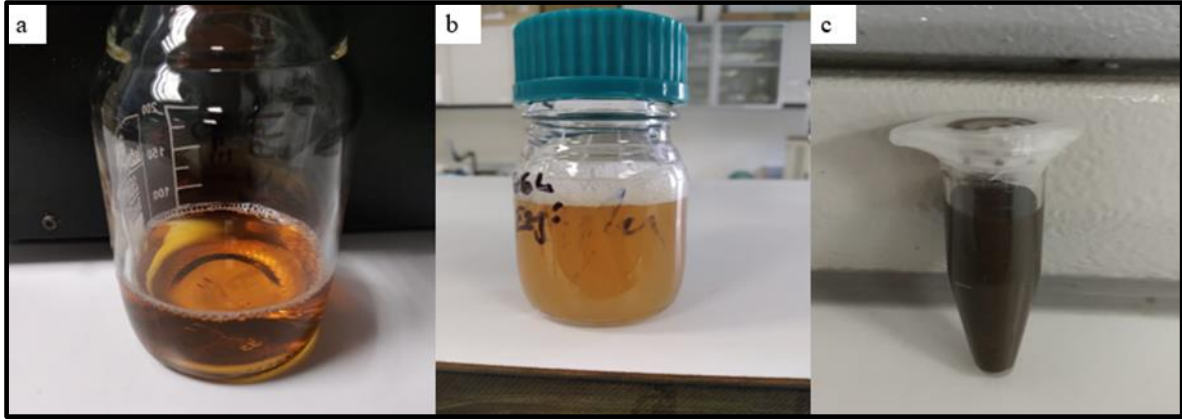
Tez çalışmasında AgNP sentezinde kullanılan *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşuna ait mikroskopik morfolojisi (Resim 4.1a) ve MRS katı besiyerindeki koloni özelliklerini gösteren görüntü Resim 4.1b’de verilmiştir. Resim 4.1a’da, *L. salivarius* KC66L suşunun ışık mikroskopunda çomak şeklinde bir morfolojiye sahip olduğu ve Resim 4.1b’de MRS katı besiyerinde kremi süt beyazı, yuvarlak, düzgün sınırlı, smooth (düz) ve 1–3 mm arasında değişen koloni çaplı koloniler oluşturduğu gözlemlenmiştir.



Resim 4.1. *L. salivarius* (a) KC66L mikroskop görüntüsü (100X) (b) MRS katı besi yerinde gelişimi

4.2. *L. salivarius* KC66L Suşunun Postbiyotiğinden Gümüş Nanopartikül Sentezi

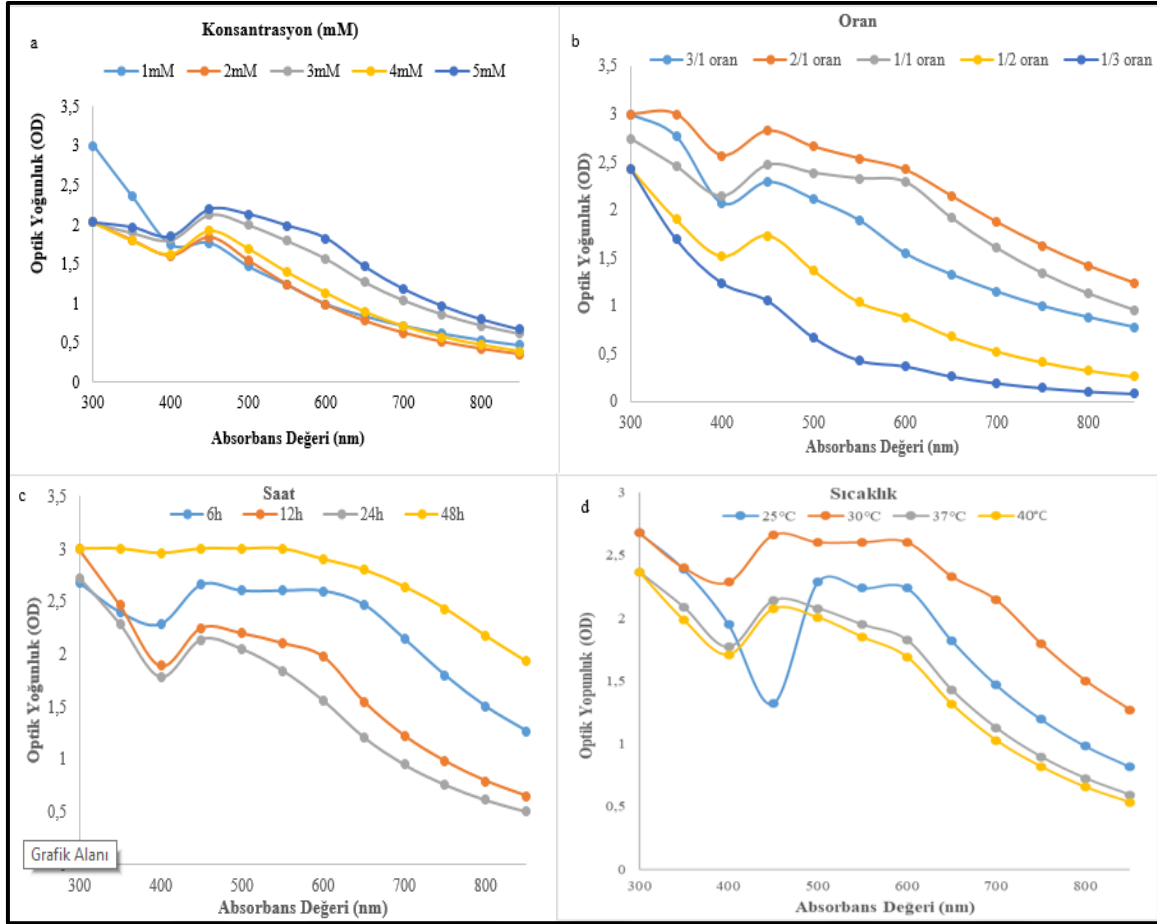
L. salivarius KC66L suşunun postbiyotiğinden ekstraselüler olarak AgNP’lerin sentezi (KC66L-AgNP’ler) gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan postbiyotik ve AgNO₃ çözeltisi birleştirildiğinde reaksiyon karışımının rengi inkübasyon süresinin başlangıcında açık kahverenginden reaksiyon süresinin sonunda koyu kahverengine dönmüştür. Bu renk değişimi gümüş iyonlarının indirgenmesiyle AgNP’lerin sentezinin gerçekleştiğinin bir göstergesi olarak düşünülmüştür. *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP’lerin sentezine ait görsel Resim 4.2’de verilmiştir.



Resim 4.2. *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP sentezi (a) postbiyotik (b) postbiyotik ve AgNO_3 çözeltisi birleştirildikten sonra, (c) inkübasyon süresi sonundaki reaksiyon karışımı

4.3. Gümüş Nanopartiküllerin Optimizasyonu

KC66L-AgNP'lerin optimal sentez koşullarını belirlemek amacıyla, gümüş nitrat konsantrasyonu (1, 2, 3, 4 ve 5 mM), inkübasyon süresi (6, 12, 24 ve 48 saat), sıcaklık (25, 30, 37 ve 40°C) ve postbiyotik/gümüş nitrat oranı (1:1, 1:2, 2:1, 1:3 ve 3:1, v/v) olmak üzere farklı parametre kombinasyonları test edilmiştir. Farklı koşullarda yapılan sentez reaksiyon karışımının rengindeki değişim ve UV-Vis spektrofotometrik analizlerle değerlendirilmiştir. Sentez sonrası reaksiyon karışımının adsorpsiyon spektrumları çizilerek, AgNP'lerin karakteristik pikleri belirlenmiştir. Farklı deneysel parametrelerin KC66L-AgNP'lerin sentezine etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen UV-Vis spektrofotometrik analiz sonuçları Şekil 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. KC66L-AgNP'lerin sentez parametrelerinin optimizasyonu için UV-Visible spektrumları (a) AgNO₃ konsantrasyonları reaksiyon süresi (b) Postbiyotiğin AgNO₃'e hacim oranı (c) Sentez süresi (d) Sıcaklık

Şekil 4.1a'da, farklı AgNO₃ konsantrasyonlarında (1–5 mM) sentezlenen KC66L-AgNP'lerin UV-Vis spektrumlarını gösterilmiştir. Tüm örneklerde 450 nm'de absorbans piki gözlemlenmiştir. Her bir konsantrasyona ait eğriler nanopartikül oluşumunun gerçekleştiğini doğrulamıştır. Ancak eğrinin şekli, partiküllerin dağılımı ve stabilitesi açısından farklılıklar gözlemlenmiştir. Konsantrasyon farklılığının sentez verimi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bu çalışmada, AgNO₃ miktarı arttıkça nanopartikül oluşumunun arttığı; ancak düşük konsantrasyonlarda indirgenmenin kısıtlı kaldığı anlaşılmıştır. Öte yandan, tüm eğrilerin geniş pik profiline sahip olması, sentezlenen KC66L-AgNP'lerin polidispers yapıda olduğunu, yani farklı boyutlarda nanopartiküller içerdiğini göstermektedir. En yüksek optik yoğunluk (OD) değeri ve pik şiddeti 5 mM AgNO₃ konsantrasyonda gözlenmiş (2,19 OD) olup bu yüksek yoğunluk, agregasyon riskini artırmaktadır. Ayrıca, 5 mM AgNO₃ konsantrasyonunda sentezlenen KC66L-AgNP'lerin, 600 nm civarında da bir pik vermesi, bu koşullarda safsızlıkların veya farklı fazların

varlığına işaret etmektedir. KC66L-AgNP'lerin sentezinde kullanılan 3 mM AgNO_3 konsantrasyonunda elde edilen nanopartiküllerin OD'si, 4 mM AgNO_3 konsantrasyonunda sentezlenenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak, piklerin şekli ve simetrisi incelendiğinde, 4 mM AgNO_3 konsantrasyonunda elde edilen piklerin daha dar ve simetrik bir yapı sergilerken 3 mM AgNO_3 konsantrasyonundaki pikler daha geniş ve asimetrik bir yapı göstermiştir. Bu durum, 4 mM AgNO_3 konsantrasyonunda daha homojen ve kararlı nanopartikül oluşumunun gerçekleştiğini, 3 mM AgNO_3 konsantrasyonunda ise daha heterojen ve kararsız nanopartiküllerin oluştuğunu göstermektedir. Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde, 4 mM AgNO_3 konsantrasyonunda elde edilen spektral pik, diğer konsantrasyonlara kıyasla daha net, simetrik ve düzgün bir yapıya sahip olup, pik genişliğinin daha düşük olması nedeniyle bu konsantrasyonun homojen, stabil ve kontrollü nanopartikül sentezi açısından en uygun koşul olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.1b'de, farklı postbiyotik/ AgNO_3 oranlarında sentezlenen KC66L-AgNP'lerin UV-Vis spektrumları karşılaştırılmıştır. Tüm oranlarda 450 nm'de absorban pikleri, AgNP'lerin oluşumunu doğrulamıştır. Ancak spektral eğrilerin pik yoğunluğu, genişliği ve formu nanoparçacıkların boyutu, dağılımı ve stabilitesi açısından farklılık göstermiştir. En yüksek optik yoğunluk, 2:1 oranında gözlemlenmiştir ve bu oran, 450 nm de 2,82 OD değeriyle, sentezde en fazla nanopartikül oluştuğu belirlenmiştir. Bu oran, indirgen madde olan postbiyotiğin, Ag^+ iyonlarını etkin şekilde indirgediğini ve partikül oluşumunu maksimum düzeye çıkardığını göstermiştir. 2:1 ve 1:1 oranında sentezlenen KC66L-AgNP'lerin, 450 nm'ye ek olarak 600 nm civarında da bir pik vermesi, bu koşullarda safsızlıkların veya farklı fazların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, 3:1 oranı gibi yüksek postbiyotik oranlarında, diğer oranlara göre en geniş pik profiline sahip olması, sentezlenen KC66L-AgNP'lerin polidispers yapıda olduğunu, yani farklı boyutlarda nanopartiküller içerdiğini göstermektedir. 1:3 oranında, OD değeri (1,05) belirgin bir şekilde düşmüştür. Bu, yetersiz indirgeme nanopartikül oluşumunun sınırlı kaldığını ya da oluşan partiküllerin agregasyona uğradığını göstermektedir. 1:2 oranında elde edilen spektral eğri, 1:3 oranına göre daha düşük optik yoğunluğa sahip olmasına rağmen, daha dar, keskin ve belirgin bir profile sahip olması nedeniyle nanopartikül sentezi için en uygun oran olarak değerlendirilmiştir.

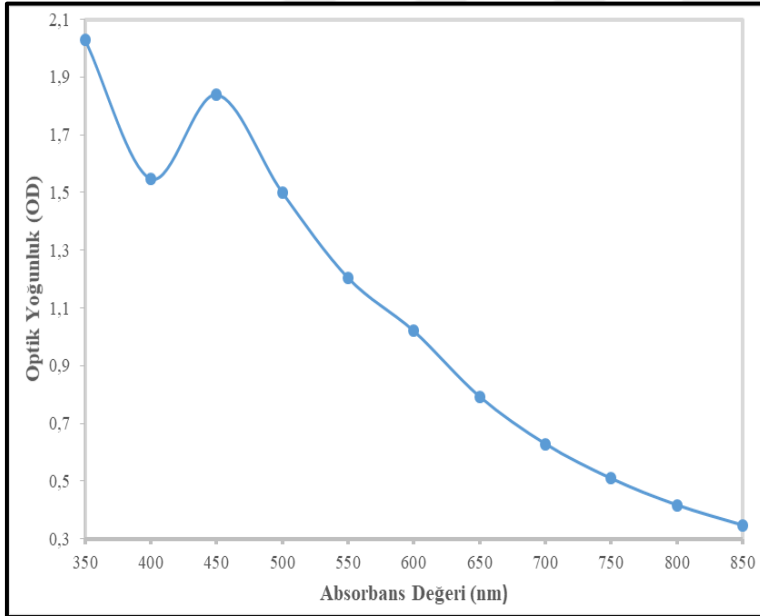
Şekil 4.1c'de, KC66L-AgNP'lerin farklı inkübasyon sürelerinde (6, 12, 24 ve 48 saat) sentezlenmesi sonucunda elde edilen UV-Vis spektrumları karşılaştırılmıştır. 48. saat hariç diğer KC66L-AgNP'ler 450 nm dalga boyunda pik vermiş ve nanopartikül oluşumunun

başarıyla gerçekleştiği görülmüştür. Ancak zaman faktörü hem OD hem de spektral eğrinin formu açısından sentez verimini önemli ölçüde etkilemiştir. 48 saatlik inkübasyon süresinde, optik yoğunluk yüksek olsa da 450 nm’de belirgin bir pik oluşmadığı açıkça görülmüştür. Bu durumun, oluşan nanoparçacıkların agregasyon veya optik özelliklerini kaybetmeleri gibi nedenlerden olabileceği düşünülmüştür. 6 ve 12 saatlik inkübasyon sürelerinde OD değerleri yüksek olmakla birlikte, 24 saate kıyasla eğrilerin daha geniş, düzensiz ve dalgalı bir profile sahip olması, indirgeme sürecinin henüz tamamlanmadığını ya da oluşan nanoparçacıkların yeterince stabil hale gelmediğini düşündürmüştür. 24 saatlik inkübasyon süresine ait eğride, 450 nm’de diğer eğrilere göre belirgin ve dengeli bir pik gözlemlenmiş, bu da indirgeme sürecinin tamamlandığını ve homojen, stabil nanoparçacık oluşumunun gerçekleştiğini göstermektedir. Elde edilen tüm bulgular, 24 saatlik inkübasyon süresinin hem indirgeme hem de stabilizasyon açısından en uygun dengeyi sağladığını, bu nedenle AgNP sentezi için en verimli inkübasyon süresi olarak öne çıktığını göstermiştir.

Şekil 4.1d’de, KC66L postbiyotiği ile farklı sıcaklıklarda (25°C, 30°C, 37°C ve 40°C) sentezlenen AgNP’lerin UV-Vis spektrumları verilmiştir. 25°C hariç diğer sıcaklıklarda 450 nm dalga boyunda pik görülmüştür. 25°C’de elde edilen spektrum, düşük OD değerleri ve net olmayan bir eğri nedeniyle indirgeme veriminin yetersiz olduğunu, nanopartikül sentezinin sınırlı kaldığını düşündürmüştür. Bu sıcaklıkta reaksiyonun yavaşlaması, partikül oluşumunu olumsuz yönde etkilemiş olabilir. En yüksek OD 30°C sıcaklıkta (2,65) elde edilmiş ve bu sıcaklıkta, 450 nm civarında keskin olmayan zayıf bir pik gözlemlenmiştir. 30°C sıcaklığında elde edilen UV-Vis spektrumunda 600 nm’de ikinci bir pik gözlemlenmiştir. Bu ikili pik profili, reaksiyon ortamında farklı boyut ve morfolojide nanopartiküllerin oluştuğunu göstermektedir. 600 nm’deki ikinci pik, sistemde daha büyük boyutlu veya şekilce farklı (elipsoidal, prizmatik) nanoparçacıkların oluştuğuna ya da agregasyon eğilimindeki yapılar bulunduğuna işaret etmektedir. Bu durum, 30 °C’nin nanoparçacık oluşumu açısından yüksek verimli olsa da partikül homojenliği açısından sınırlayıcı olabileceğini ortaya koymaktadır. 37°C ve 40°C sıcaklıklarında sentezlenen AgNP’lerin UV-Vis spektrumlarında gözlemlenen piklerin dalga boyu, yükseklik ve form açısından büyük ölçüde benzerlik göstermesi, nanopartikül oluşumunun her iki sıcaklıkta da benzer yoğunlukta ve yakın boyut dağılımında gerçekleştiğini düşündürmektedir. Her iki durumda da 450 nm’de belirgin bir pik oluşması, indirgeme reaksiyonunun yeterli düzeyde gerçekleştiğini ve Ag⁺ iyonlarının başarıyla nanoparçacıklara dönüştüğünü ortaya koymaktadır. Ancak 40°C’nin 37°C’ye kıyasla daha yüksek bir sıcaklık olması, partikül

stabilitesini olumsuz yönde etkileyerek agregasyon riskini artırabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, partikül kararlılığı ve kontrol edilebilirliği açısından daha güvenli koşullar sunan 37°C, AgNP sentezi için en uygun sıcaklık olarak belirlenmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda, KC66L-AgNP'lerin sentezi için 4 mM AgNO₃ konsantrasyonu, 24 saat inkübasyon süresi, 37°C sıcaklık ve 1:2 postbiyotik/AgNO₃ hacim oranı kombinasyonunun en uygun sentez koşullarını sağladığı belirlenmiştir. Bu koşullar altında, yüksek verim, kararlı nanopartikül dağılımı ve keskin bir absorbands piki elde edilmiştir. Optimum koşullarda sentezlenen KC66L-AgNP'lerin UV-Vis Spektrofotometrik analiz sonucu Şekil 4.2'de verilmiş olup spektrumunda, 453 nm dalga boyunda belirgin bir pik gözlemlenmiştir. Bu pik, AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve kolloidal ortamda stabil bir dağılıma sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, elde edilen yüksek OD (1,83) değeri, sentezlenen AgNP'lerin yüksek verimlilikle ve büyük oranda monodispers boyutlarda sentezlendiğini desteklemiştir.



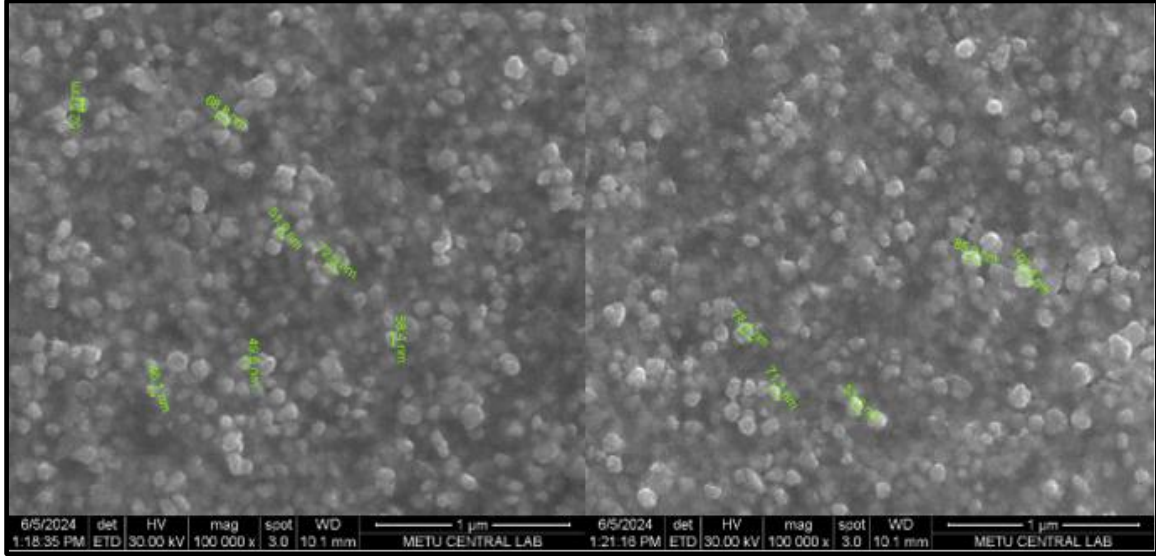
Şekil 4.2. KC66L-AgNP'lerin UV-Visible spektrumu

4.4. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

SEM-EDX (Taramalı Elektron Mikroskobu- Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektrometrisi) analizi

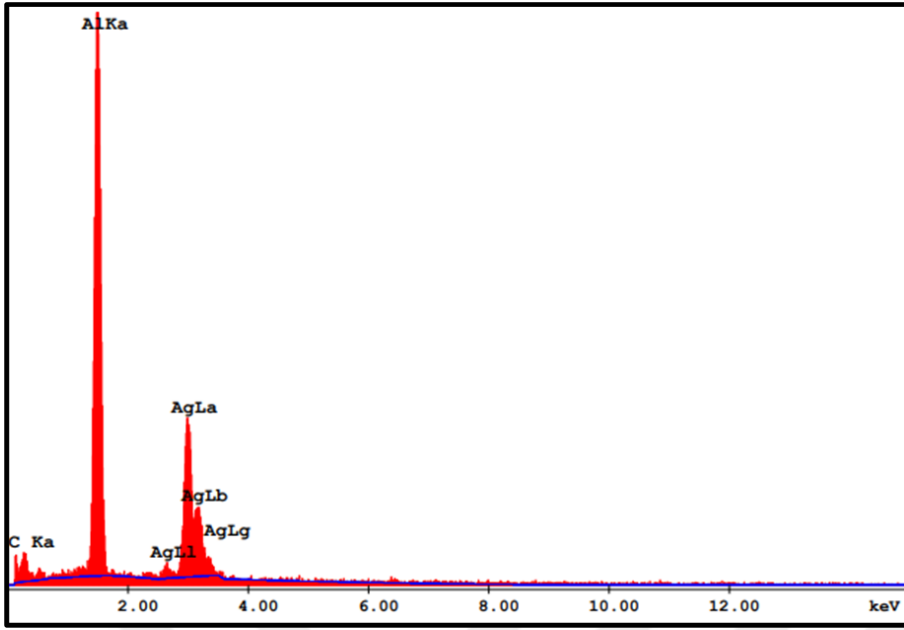
KC66L-AgNP'lerin boyut, şekil ve dağılımlarını aydınlatabilmek amacıyla gerçekleştirilen SEM-EDX analizi sonuçlarına göre ortalama $57,6 \pm 8,2$ nm çaplara ve düzensiz konturlara

sahip, aglomere şekilde bulunan AgNP'ler elde edilmiştir. SEM analizi sonucuna ait görsel Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. KC66L-AgNP'lerin SEM görüntüsü

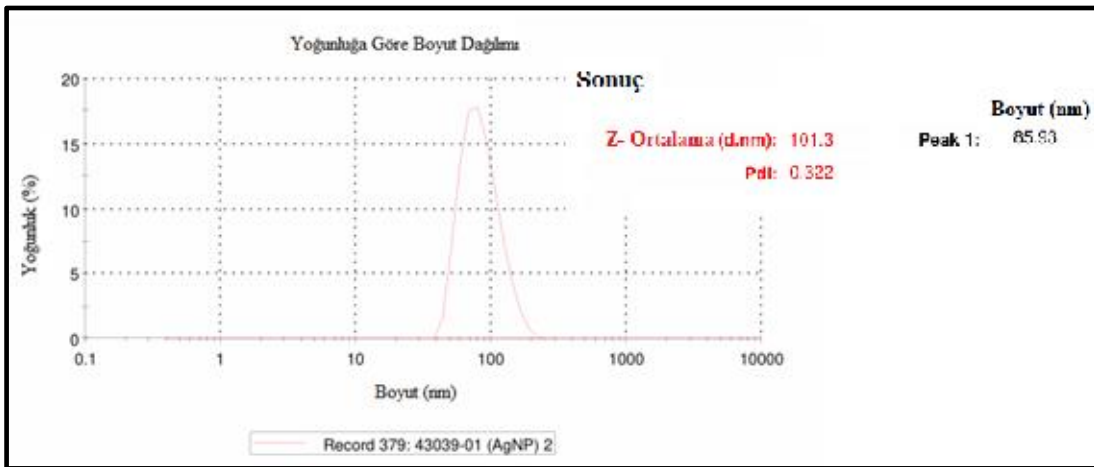
KC66L suşuna ait postbiyotik ile sentezlenen AgNP'lerin enerji dağılımlı X-ışını (EDX) spektrumu ise Şekil 4.4'te verilmiştir. Spektrumda yaklaşık 3 keV'de belirgin şekilde gözlenen Ag pikleri, nanoparçacık yapısında gümüş elementinin başarılı bir şekilde bulunduğunu ve sentezlenen AgNP'lerin saf halde bulunduğunu doğrulamıştır. Al (Alüminyum) piki (~1,5 keV) ise yüksek yoğunlukta gözlenmiş olup, analiz sırasında kullanılan alüminyum tabanlı numune taşıyıcısından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, düşük enerjili bölgede C Ka piki tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. KC66L-AgNP'lerin EDX spektrumu

DLS (Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi) analizi

DLS analizi sonuçlarına göre (Şekil 4.5), KC66L-AgNP'lerin boyut dağılımı dar bir aralıkta olup, AgNP'lerin boyutlarının büyük oranda 80–100 nm aralığında yoğunlaştığı göstermiştir. Bu durum nanoparçacıkların kolloidal stabilitesinin yüksek olduğunu ve metabolitlerle başarıyla stabilize edildiğini belirtmektedir. Polidispersite İndeksi (PDI) 0,3 olarak ölçülmüş olup, sistemin düşük polidispersiteye sahip olduğu ve büyük ölçüde homojen bir partikül dağılımı sergilediği tespit edilmiştir.



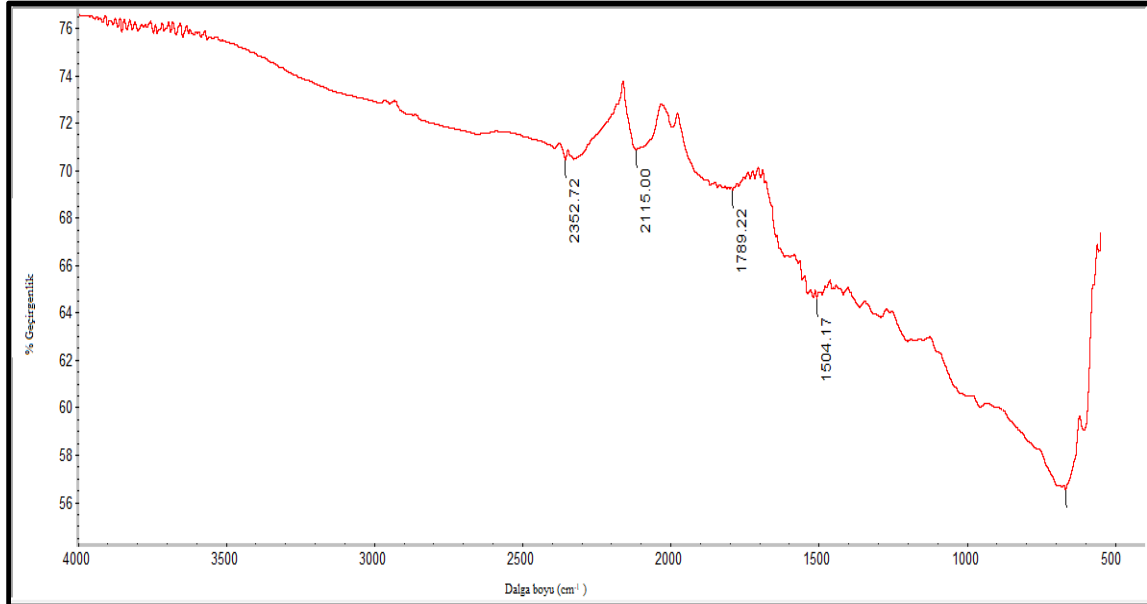
Şekil 4.5. KC66L-AgNP'lerin DLS analizi

FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizi

Ag⁺'nın AgNP'lere indirgenmesinden sorumlu olan fonksiyonel grupların postbiyotikte bulunan proteinler gibi yapıların katkısının belirlenmesi amacıyla FTIR analizi yapılmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.6). Spektrumda, 2352,72 cm⁻¹, 2115 cm⁻¹, 1789,22 cm⁻¹ ve 1504,17 cm⁻¹ olmak üzere dört belirgin pik gözlenmiştir. Bu pikler sırasıyla C-H gerilmesi, S=C-N gerilmesi, C=O gerilmesi ve N-H gerilmesi veya C=C gerilmesi fonksiyonel gruplarına karşılık gelmektedir (Çizelge 4.1). Genel olarak bu analizde elde edilen pikler laktik asit bakterisinin postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerle ilişkilendirilebilecek bileşenlerin varlığını ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.1. KC66L-AgNP'lerin FTIR spektrumlarına ait pikler ve grupları

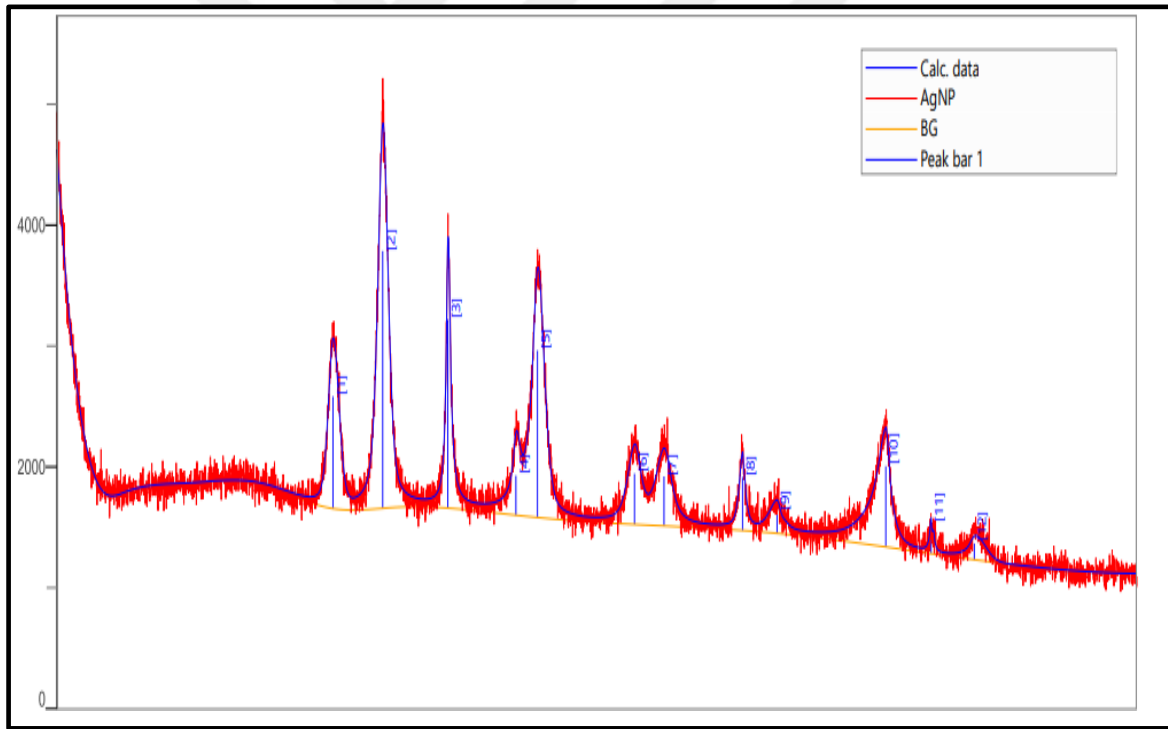
Dalga boyu (cm ⁻¹)	Gruplar
2352,72	C≡C gerilme
2115	C≡C gerilme
1789,22	C=O gerilme
1504,17	C=C gerilme



Şekil 4.6. KC66L-AgNP'lerin FTIR absorpsiyon spektrumu

XRD (X-Işını Kristalografisi) analizi

L. salivarius KC66L suşunun postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin kristalografik yapısının incelenebilmesi için 40 kV gerilim ve 15 mA akımda, 5.00°/dakika tarama hızıyla XRD analizi yapılmıştır (Şekil 4.7). XRD analizi sonucu 2θ değeri $27,68^\circ$ (200); $32,05^\circ$ (111); $44,23^\circ$ (220); $46,10^\circ$ (220); $54,71^\circ$ (311); $57,22^\circ$ (222); $64,43^\circ$ (220); $77,37^\circ$ (420) ve $81,42^\circ$ (311) olan dokuz kırınım piki gözlemlenmiştir. Şekil 4.7'de kırmızı renkli XRD deseni, sentezlenen KC66L-AgNP'lere aittir. Desende 2θ değerlerinde ($27,68^\circ$ / $44,23^\circ$ / $64,43^\circ$ ve $77,37^\circ$) belirgin pikler gözlemlenmiş olup, bu pikler Face Centered Cubic (FCC) kristal yapısına sahip elementel gümüşün (Ag^0) karakteristik difraksiyon düzlemleri olan (111), (200), (220) ve (311) ile uyumlu bulunmuştur. Bu piklerin varlığı, sentezlenen nanoparçacıkların kristal yapıda ve saf olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.7. KC66L-AgNP'lerin XRD deseni

4.5. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Farklı konsantrasyonlarda (0,0125; 0,025; 0,0312; 0,05; 0,0625; 0,1; 0,3 ve 0,5 mg/mL) KC66L-AgNP'lerin *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* 35984, *E. coli* ATCC 11229 ve

P. aeruginosa ATCC 27853 test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite çalışmaları mikrodilüsyon ve kuyu difüzyon yöntemleri ile yapılmıştır.

Mikrodilüsyon yöntemi

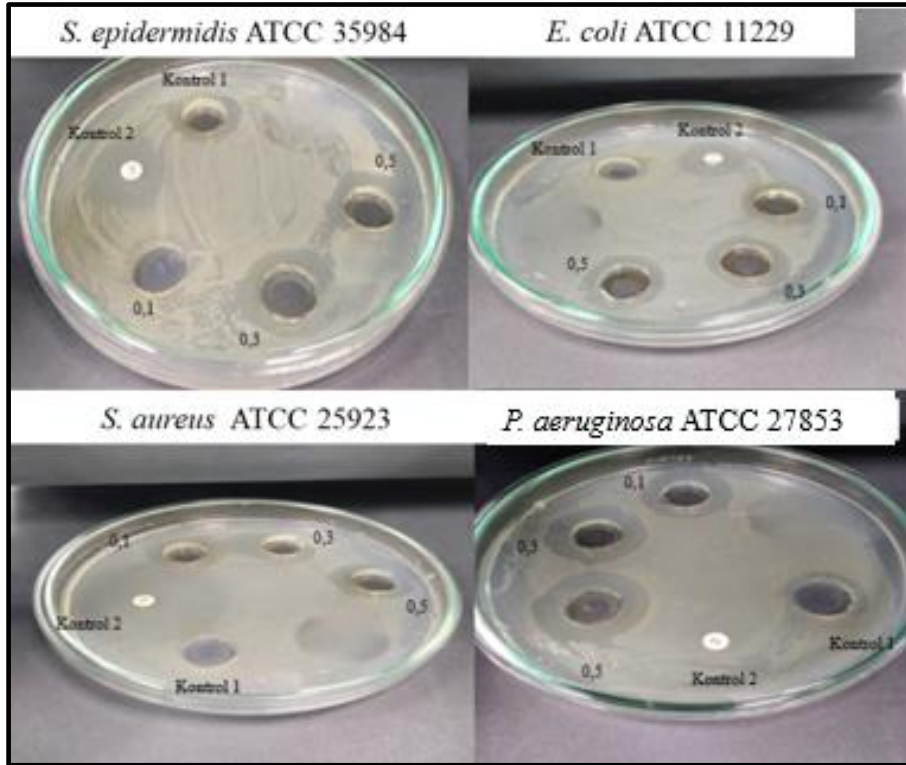
L. salivarius KC66L postbiyotiğinden sentezlenen AgNP'lerin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) ve Minimum Letal Konsantrasyon (MLK) testleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, KC66L suşuna ait postbiyotiklerle sentezlenen AgNP'lerin patojen bakterilerin büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla; 0,0125; 0,025; 0,0312; 0,05; 0,0625; 0,1; 0,3 ve 0,5 mg/mL'lik konsantrasyonlarda uygulamalar gerçekleştirilmiştir. KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliği değerlendirildiğinde, MIK değerleri *E. coli*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşları için 0,05 mg/mL, *P. aeruginosa* için ise 0,025 mg/mL olarak belirlenmiştir. MLK değerleri ise 0,1 mg/mL (*E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*) ve 0,05 mg/mL (*P. aeruginosa*) olup, en düşük MIK ve MLK değerleri *P. aeruginosa* suşunda gözlenerek bu patojene karşı KC66L-AgNP'lerin daha güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği ortaya koyulmuştur. Patojen bakterilerin hiçbirisi 0,1; 0,3; 0,5 mg/mL'lik konsantrasyonlarda gelişme göstermemiştir. (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. KC66L-AgNP'lerin test mikroorganizmaları üzerindeki MIK ve MLK değerleri

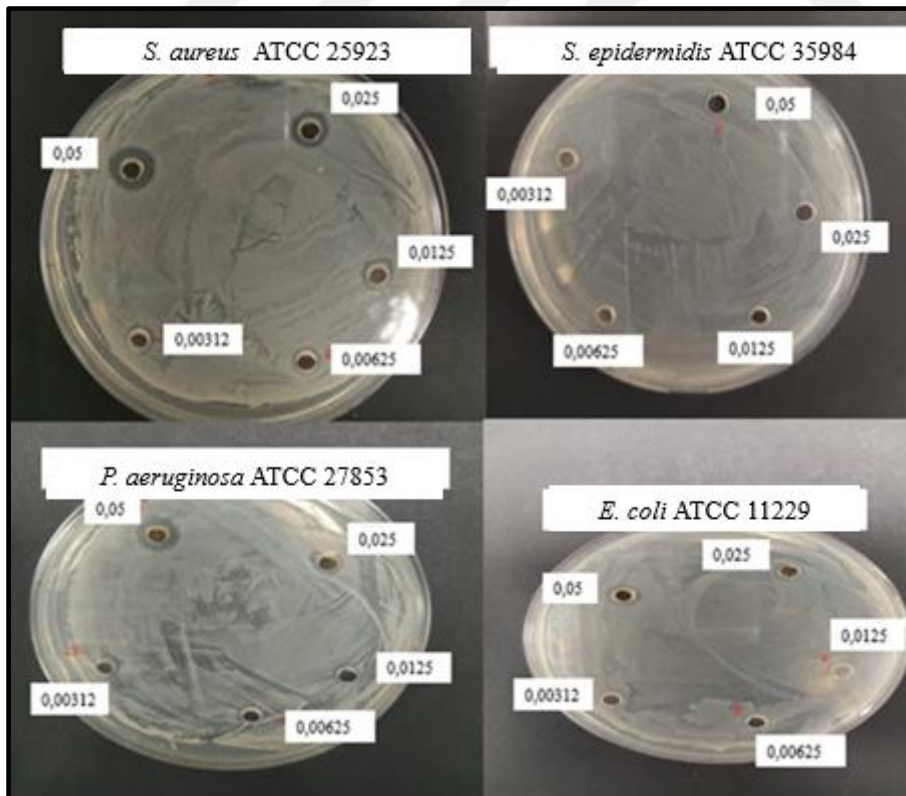
Mikroorganizma	MIK (mg/mL)	MLK (mg/mL)
<i>E. coli</i> ATCC 11229	0,05	0,1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,05	0,1
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	0,05	0,1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27953	0,025	0,05

Kuyu Difüzyon yöntemi

Farklı konsantrasyonlardaki (0,0125; 0,025; 0,0312; 0,05; 0,0625; 0,1; 0,3 ve 0,5mg/mL) KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri ayrıca, kuyu difüzyon yöntemi ile de test edilmiş ve elde edilen inhibisyon zonları Çizelge 4.3'te, test bakterilerine ait inhibisyon zonlarının petri görüntüleri Resim 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.



Resim 4.3. Test bakterilerine ait inhibisyon zonlarının görüntüsü



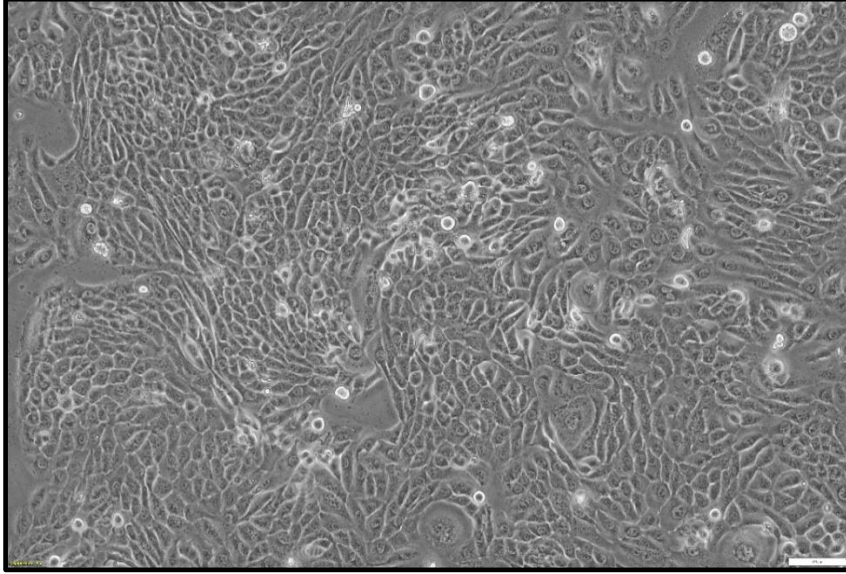
Resim 4.4. Test bakterilerine ait inhibisyon zonu petri görüntüleri

KC66L-AgNP'lerin farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel etkinliği, seçilen dört farklı patojen mikroorganizma üzerinde değerlendirilmiştir. Kontrol gruplarına kıyasla, test edilen farklı konsantrasyonlardaki AgNP'lerin bazı mikroorganizmalar üzerinde konsantrasyona bağlı olarak değişen düzeylerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol grubu süpernatantlar (postbiyotikler) sınırlı antimikrobiyal etki gösterirken (en fazla 9,2 mm) pozitif kontrol olan antibiyotikler, tüm bakterilere karşı yüksek inhibisyon göstermiştir (11–28 mm). KC66L-AgNP'ler, doz bağımlı bir artışla etkili olmuş; yüksek konsantrasyonlarda antibiyotiğe yakın veya benzer düzeyde antimikrobiyal etki göstermiştir.

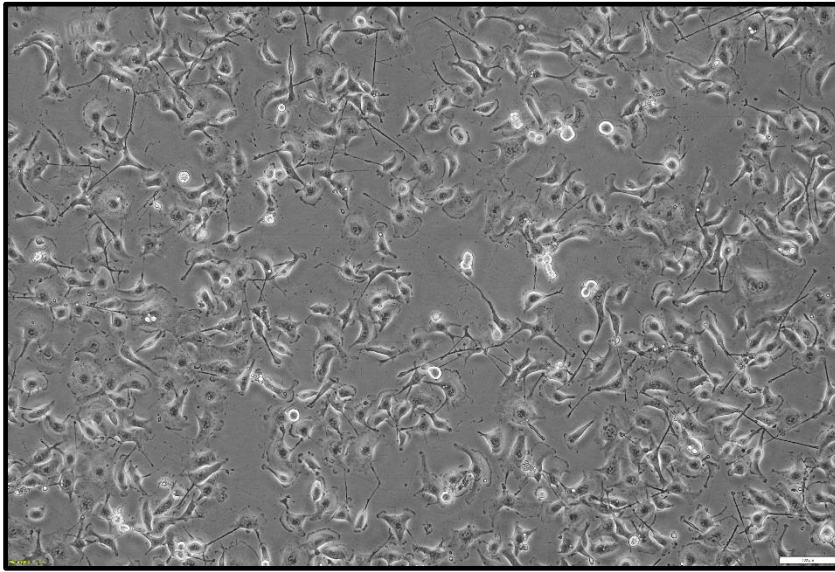
Gram (-) *E. coli* ATCC 11229, düşük konsantrasyonlarda (0,00312-0,00625 mg/mL) inhibisyon göstermemiş olup, 0,0125 mg/mL ve üzerindeki dozlarda inhibisyon göstermiştir (1,1-9,0 mm). En yüksek konsantrasyon olan 0,5 mg/mL'de inhibisyon çapı $9 \pm 0,6$ mm olarak ölçülmüştür. Çalışmada tüm konsantrasyonlarda Gram (-) *P. aeruginosa* ATCC 27953 suşuna karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilirken (1,6-12,5 mm) en yüksek antimikrobiyal aktivite, 0,5 mg/mL'lik en yüksek konsantrasyonda belirlenmiştir. Gram (+) *S. aureus* ATCC 25923, düşük konsantrasyonlarda (0,00312-0,00625 mg/mL) sınırlı bir inhibisyon gösterirken (sırasıyla, 1,1-1,3 mm) 0,0125 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda inhibisyon çapı artış (3,7-12,2 mm) göstermiştir. 0,00312- 0,00625- 0,0125-0,025 ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlardaki KC66L-AgNP'ler Gram (+) *S. epidermidis* ATCC 35984'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken en yüksek antimikrobiyal aktivite, 0,3 mg/mL'lik konsantrasyonda ($7,4 \pm 0,9$ mm) belirlenmiştir.

4.6. Gümüş Nanopartiküllerin Sitotoksitesi

KC66L-AgNP'lerin sitotoksite analizleri, HaCat (insan keratinosit, Şekil 4.8) ve HFF-1 (insan dermal fibroblast, Şekil 4.9) hücre hatlarıyla 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleriyle gerçekleştirilmiştir. KC66L-AgNP'lerin hücre tipi, konsantrasyon ve süreye bağlı olarak farklı toksik etki gösterdiği belirlenmiştir.



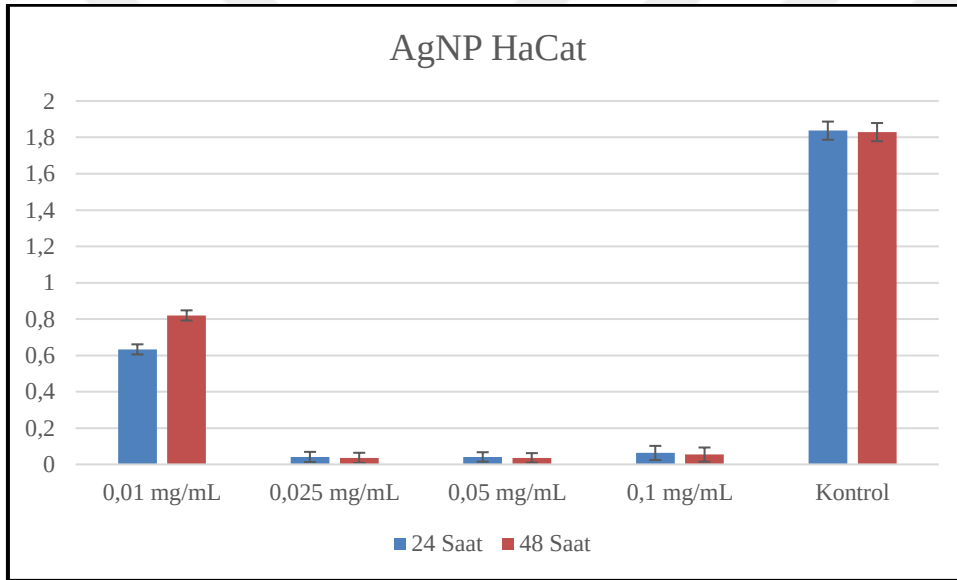
Şekil 4.8. HaCat hücrelerinin mikroskop görüntüsü (10x)



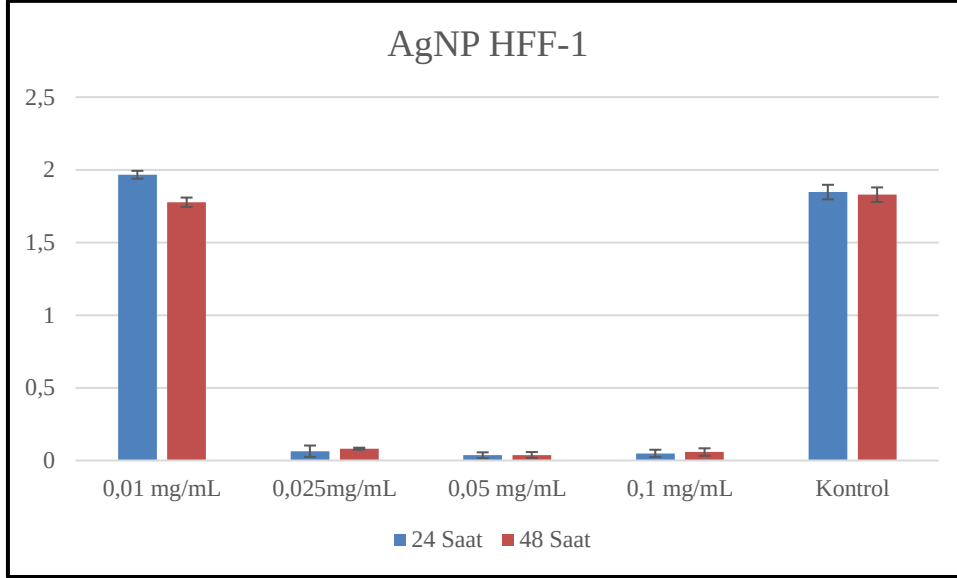
Şekil 4.9. HFF-1 hücrelerinin mikroskop görüntüsü (10x)

HaCat hücreleri üzerinde gerçekleştirilen MTT analizi sonuçları Şekil 4.10’da verilmiştir. KC66L-AgNP’ler, HaCat hücre hattı üzerinde hem 24 saatlik hem de 48 saatlik inkübasyon sürelerinde, artan konsantrasyonlarla birlikte istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.0001$) doza bağımlı sitotoksik etki göstermiştir.

HFF-1 hücreleri üzerinde yapılan MTT analizi sonuçları ise Şekil 4.11’de verilmiştir. KC66L-AgNP’lerin 0,025 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda, hem 24 saat hem de 48 saatte hücre canlılığında azalma gözlemlenmiştir. Düşük konsantrasyonlarda (0,01 mg/mL) ise, 24 saatlik inkübasyon süresince kontrol grubu ile fark gözlenmezken ($p < 0,01$), 48 saatlik inkübasyon süresinde kontrol grubuna göre bir düşüş gözlenmiştir ($p < 0,0001$).



Şekil 4.10. HaCat hücre hattı üzerinde KC66L-AgNP’lerin sitotoksik etkisi

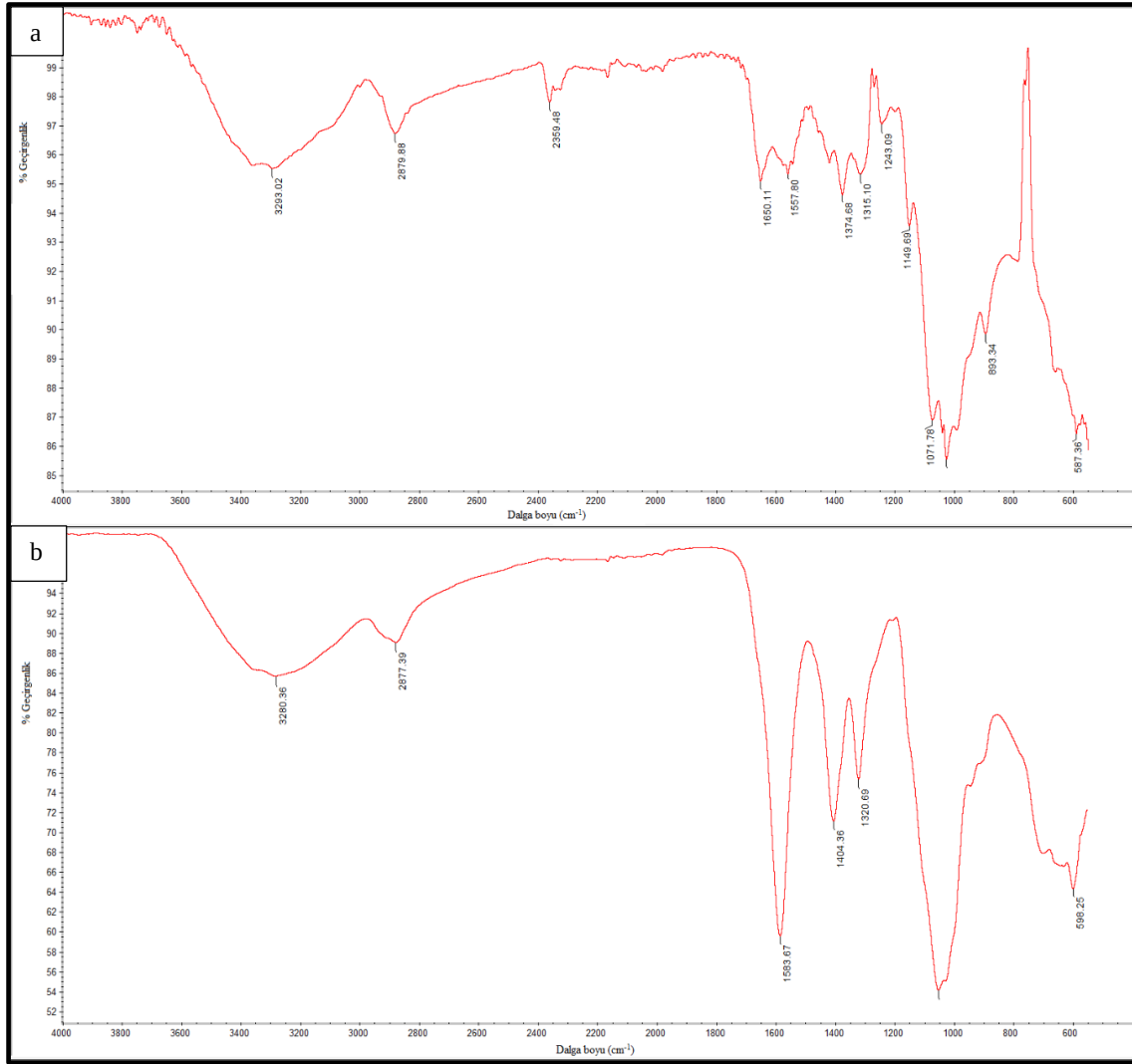


Şekil 4.11. HFF-1 hücre hattı üzerinde KC66L-AgNP'lerin sitotoksik etkisi

4.7. Hidrojel Sentezi

Karboksimetil kitosan eldesi

Bu tez çalışmasında, kitosanın suda çözünürlüğünü artırmak amacıyla karboksimetilasyon işlemi uygulanmıştır. Karboksimetilasyon işleminin gerçekleştirildiğinin doğrulanması amacıyla, kitosanın (CM) ve karboksimetil kitosanın (CMCS) yapısal karakterizasyonu FTIR ile analiz edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Kitosan (a) ve CMCS'nin (b) FTIR analizi sonucu

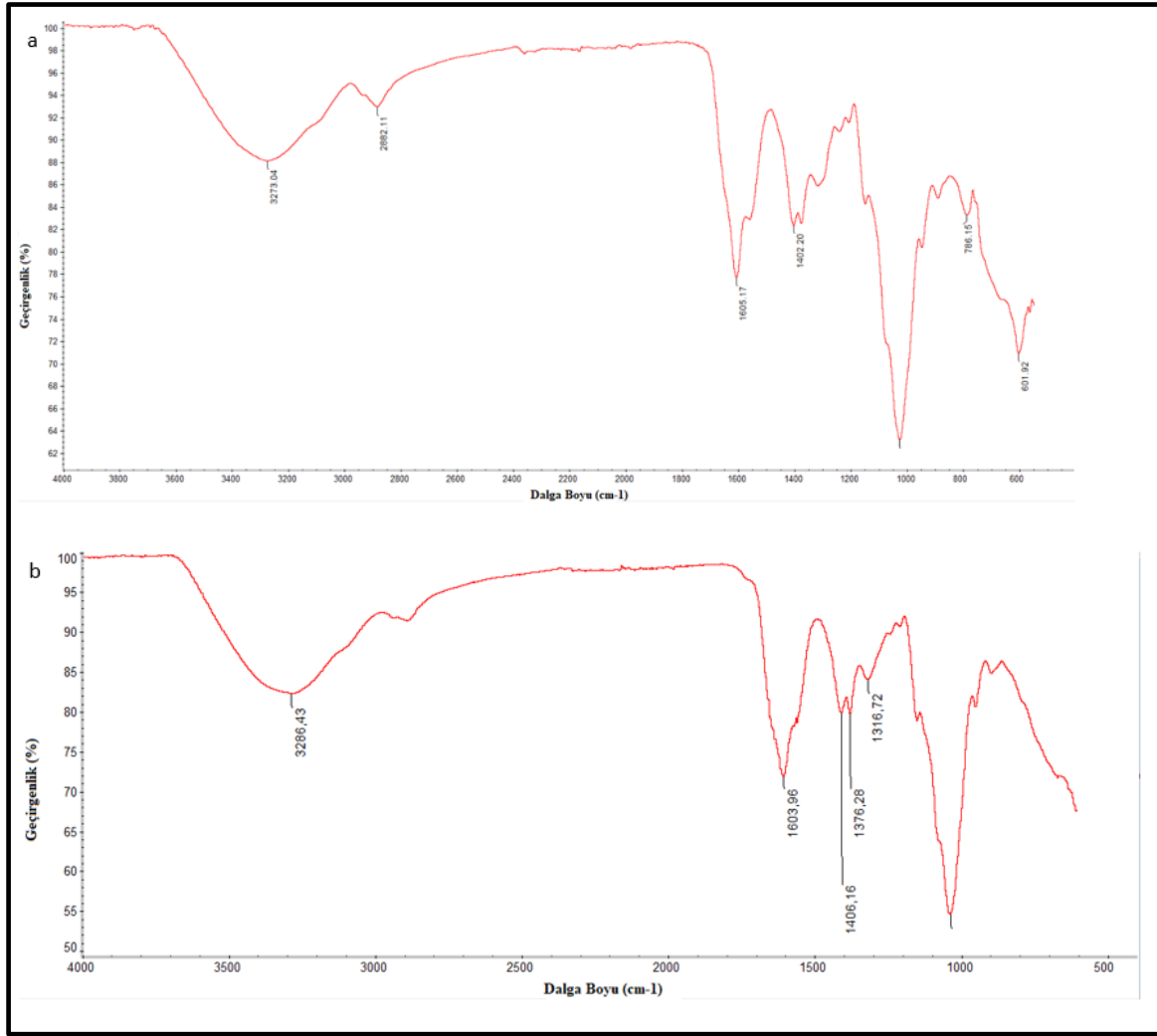
Çizelge 4.4'te, CS ve CMCS örneklerinin FTIR spektrumlarındaki karakteristik pikleri ve karşılık gelen fonksiyonel grupları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. CMCS spektrumunda, C-N grubuna ait 1404,36 cm⁻¹ ve C-O ve C-O-C grubuna ait 1320,69 cm⁻¹ piklerinin varlığı, kitosan yapısında karboksimetilasyon reaksiyonunun hem amino hem de hidroksil gruplarında meydana geldiğini ve başarıyla gerçekleştiğini göstermiştir.

Çizelge 4.4. CS ve CMCS'nin FTIR spektrumuna ait pikler ve grupları

CM		CMCS	
Dalga boyu (cm ⁻¹)	Gruplar	Dalga boyu (cm ⁻¹)	Gruplar
3293,02	-OH veya -NH ₂ gerilme	3280,36	-OH ve -NH gerilme
2879,88	C-H gerilme	2877,39	C-H gerilme
2359,48	C≡N uzama	1583,67	-NH bükülme
1650,11	C=N amid piki	1404,36	C-N gerilme
1557,80	C=O asimetrik gerilme	1320,69	C-O ve C-O-C gerilme
1374,68	C-O gerilme		

OHA karakterizasyonu

Tez çalışmasında, hiyalüronik asidin (HA) periyodat oksidasyonu yöntemiyle yükseltgenmiş/oksitlenmiş hiyalüronik asit (OHA) elde edilmiştir. OHA sentezi için HA, spesifik oksitleyici reaktiflerle kontrollü bir reaksiyona tabi tutulmuştur. Oksidasyon reaksiyonunun başarısını ve elde edilen ürünün (hiyalüronik asit yapısına aldehit gruplarının eklenmesi) kimyasal yapısını doğrulamak amacıyla, başlangıç materyali olan HA ve sentezlenen OHA örnekleri FTIR ile analiz edilmiştir. Şekil 4.13'te, HA (a) ve OHA (b) örneklerinin FTIR spektrumları verilmiştir.



Şekil 4.13. HA(a) ve OHA (b)'nin FTIR analizi sonucu

Çizelge 4.5'te HA ve OHA örneklerinin FTIR spektrumlarındaki karakteristik pikleri ve karşılık gelen fonksiyonel grupları karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. HA spektrumunda, ~ 3400 cm⁻¹'de OH gruplarına ait geniş bir bant, ~ 1610 ve ~ 1410 cm⁻¹'de ise karboksilat gruplarına ait asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri gözlenmiştir. Ayrıca, ~ 1040 – 1150 cm⁻¹ aralığında polisakkarit iskeletine ait glikozidik bağlar ve ~ 890 cm⁻¹ civarında β -glikozidik bağlantının karakteristik pikleri tanımlanmıştır. OHA spektrumunda $1603,96$ cm⁻¹ noktasından önce görülen hafif omuz ~ 1720 – 1740 cm⁻¹ C=O (karbonil) grubu yapıdaki aldehit grubu varlığının kanıtıdır.

Çizelge 4.5. HA ve OHA'nın FTIR spektrumuna ait pikler ve gruplar

Hyalüronik asit		OHA	
Dalga boyu (cm ⁻¹)	Gruplar	Dalga boyu (cm ⁻¹)	Gruplar
3273,04	O-H veya N-H gerilme	3286,43	O-H gerilme
2882,11	O-H veya C-H gerilme	1603,96	C=O gerilme
1605,17	COO ⁻ gruplarına ait asimetric veya simetric gerilme	1406,16	COO ⁻ asimetric bükülme
1402,20	C-O-C gerilme	1376,28	C-O ve C- C titreşim
786,15-601,92	C-H titreşim	1316,72	C-C veya C-O titreşim

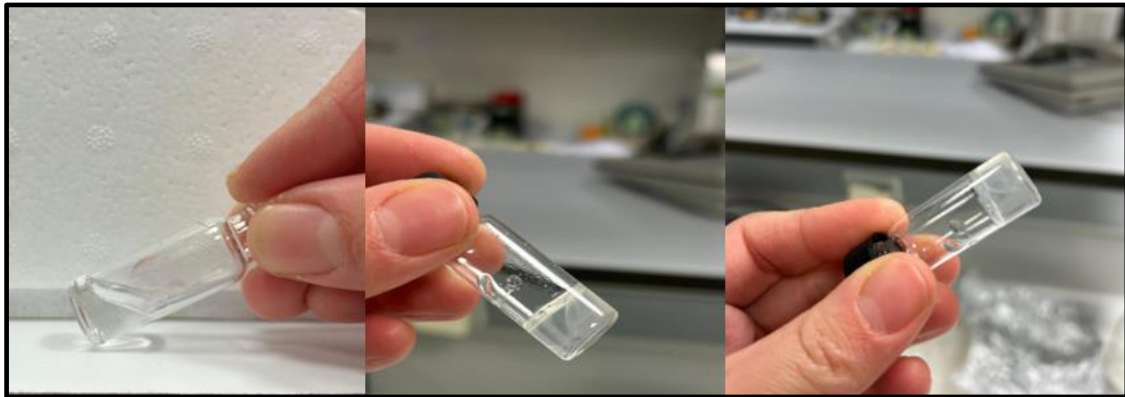
Karboksimetil kitosan (CMCS) – yükseltgenmiş hyalüronik asit (OHA) hidrojellerin eldesi

Çalışma kapsamında farklı parametrelerin hidrojel oluşumuna etkisini değerlendirmek amacıyla, değişen konsantrasyonlarda OHA ve CMCS çözeltileri ile hidrojeller hazırlanmıştır. OHA konsantrasyonu %1 ve %2 olarak çalışmış olup, %3'ün üzerindeki konsantrasyonlarda çözünürlük problemi sebebiyle hidrojel sentezlenememiştir. Ayrıca, CMCS konsantrasyonu %1, %2, %3, %4 ve %5 olacak şekilde hazırlanıp jelleşme özellikleri gözlemlenmiştir. OHA/CMCS hacim oranı 1/1, 2/1, 3/1, 4/1 ve 5/1 (v/v) olacak şekilde farklı kombinasyonlarla da denemeler yapılmıştır. Hidrojel oluşumu, gözlemsel analizler ve jelleşme süreleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Tam olarak hiç su kalıntısı olmaksızın hidrojel oluşum süresi “jelleşme süresi” olarak tanımlandığı için tüp ters çevirme yöntemiyle jelleşme süresi belirlenmiştir (Resim 4.5). Bu çalışma kapsamında, hidrojel oluşumunu etkileyen parametreler sistematik olarak araştırılmış ve farklı günlerde değişen konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda çok sayıda deney gerçekleştirilmiştir. Denemeler raslantısal olarak değil, belirlenen değişkenlerin hidrojel oluşumu ve jelleşme süresi üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik planlanmıştır. Her bir deney setinde farklı OHA ve CMCS konsantrasyonları ile farklı OHA/CMCS hacim oranları kullanılarak sentezlenen hidrojeller gözlemsel analizlerle değerlendirilmiş ve jelleşme süreleri kaydedilmiştir. Hidrojinin denenmiş farklı örnek grupları ve jelleşme süreleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. En kısa jelleşme süresi, %2 OHA ve %2 CMCS içeren grupta ($30 \pm 0,6$ sn) gözlenmiştir. Çizelgede 4.7’de verilen ilk altı örnekte OHA konsantrasyonu %2 sabit tutulmuş ve CMCS

konsantrasyonu %1'den %5'e kadar (%1 OHA:%1CMCS, %2 OHA:%1 CMCS, %2 OHA: %2 CMCS, %2 OHA:%3 CMCS, %2 OHA:%4 CMCS ve %2 OHA: %5 CMCS) artırılmıştır. Çalışmada, CMCS konsantrasyonu arttıkça jelleşme süresinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, CMCS'nin jelleşme sürecini hızlandırdığını düşündürmüştür. Son dört örnekte, OHA konsantrasyonu %2 ve CMCS konsantrasyonu %5 sabit tutulmuş, ancak CMCS'nin toplam hacme oranı değiştirilmiştir. Bu seride, 4/1 oran hariç %2 OHA konsantrasyonu arttıkça jelleşme süresi artmıştır. Bu durum, jelleşme sürecinin sadece konsantrasyondan değil, aynı zamanda oranlardan da etkilendiğini göstermiştir.

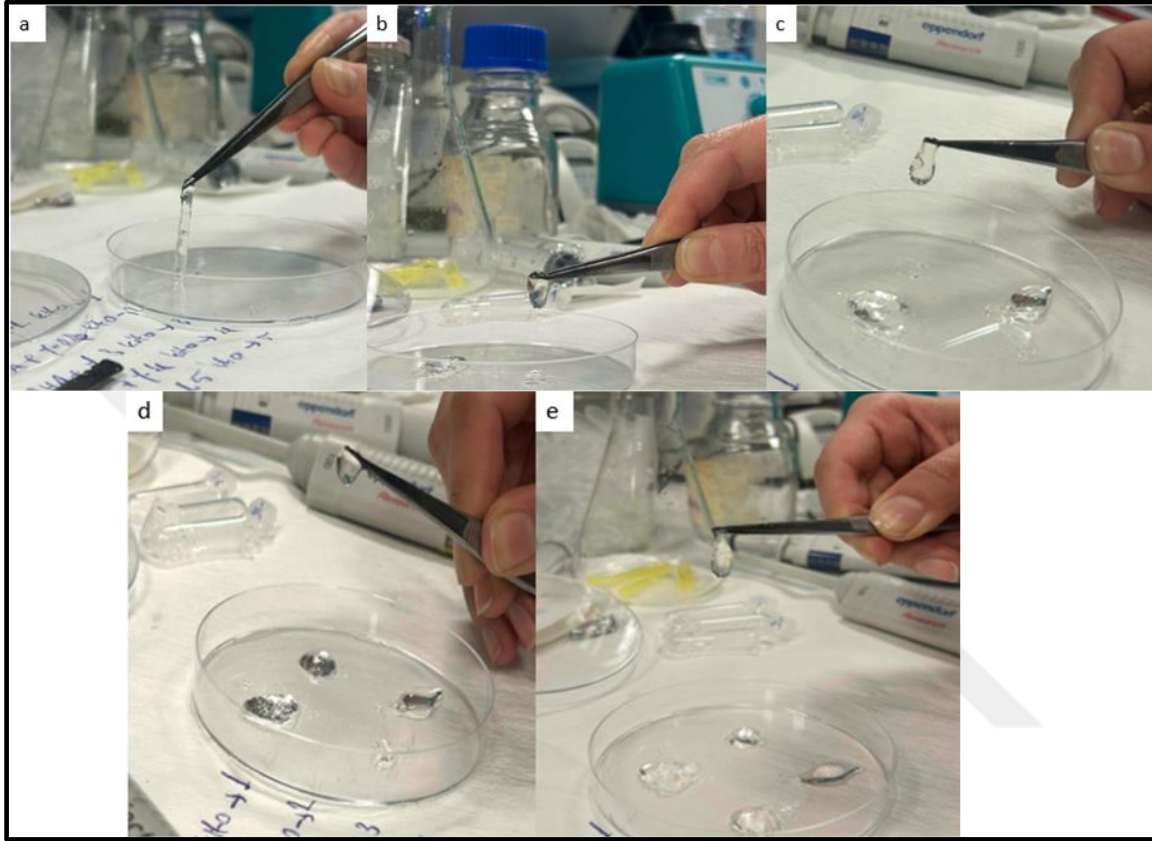
Çizelge 4.6. Farklı hidrojel grupları ve jelleşme süreleri

No	Örnek Grup	Jelleşme Süresi (saniye)
1	%1 OHA: %1CMCS (v/v), 1/1	165±1,1
2	%2 OHA: %1 CMCS (v/v), 1/1	90±0,6
3	%2 OHA: %2 CMCS (v/v), 1/1	60 ±0,6
4	%2 OHA: %3 CMCS (v/v), 1/1	53±0,8
5	%2 OHA: %4 CMCS (v/v), 1/1	40±0,6
6	%2 OHA: %5 CMCS (v/v), 1/1	30±0,1
7	%2 OHA: %5 CMCS (v/v), 2/1	108±0,9
8	%2 OHA: %5 CMCS (v/v), 3/1	118±0,5
9	%2 OHA: %5 CMCS (v/v), 4/1	81±0,6
10	%2 OHA: %5 CMCS (v/v), 5/1	130±1,2

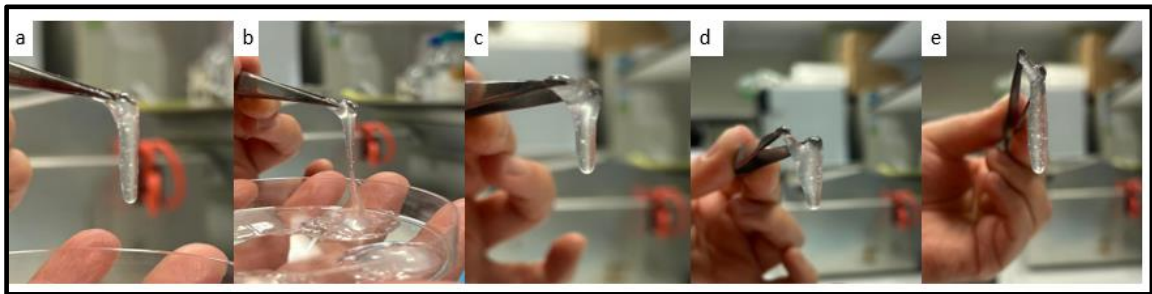


Resim 4.5. Hidrojelin jelleşme süreci

Hidrojel eldesinde çalışılan farklı CMCS konsantrasyonlarında elde edilen hidrojellere ait görsel Resim 4.6’de ve CMCS ve OHA’nın hacimce farklı birleştirme oranlarıyla (v/v) elde edilen hidrojellere ait görsel ise Resim 4.7’de verilmiştir.



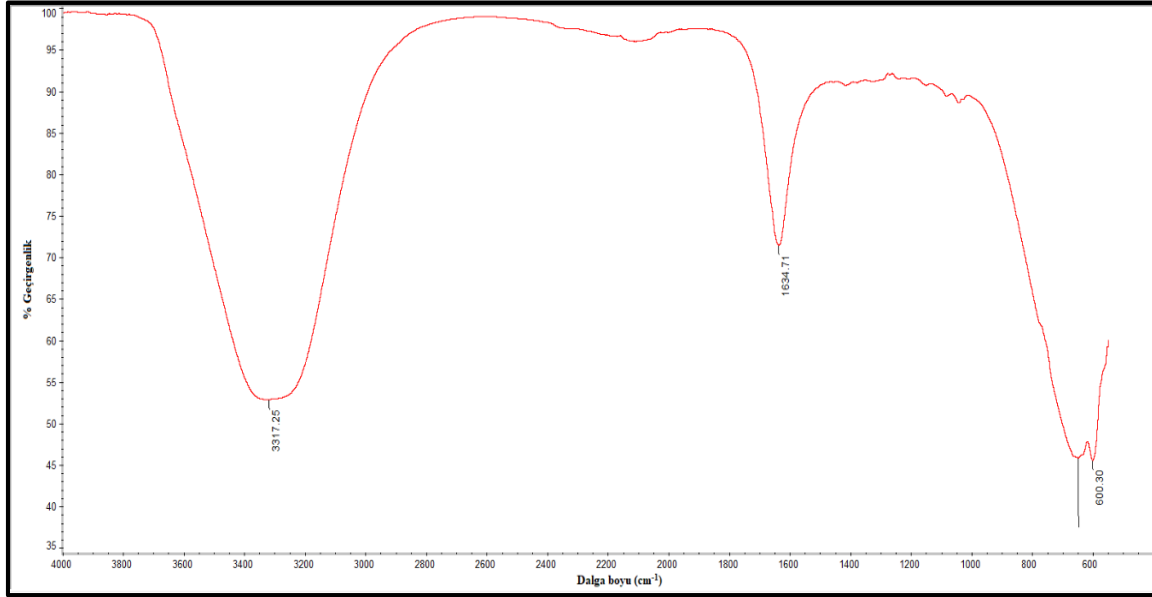
Resim 4.6. Farklı konsantrasyonlarda CMCS ve OHA ile elde edilen jeller; a) %1 CMCS: %2 OHA b) %2 CMCS: %2 OHA c) %3 CMCS: %2 OHA d) %4 CMCS: %2 OHA e) %5 CMCS: %2 OHA



Resim 4.7. OHA/CMCS'nin farklı birleştirme oranlarıyla hazırlanan hidrojeller a) 1/1 oran, b) 2/1 oran, c) 3/1 oran, d) 4/1 oran, e) 5/1 oran

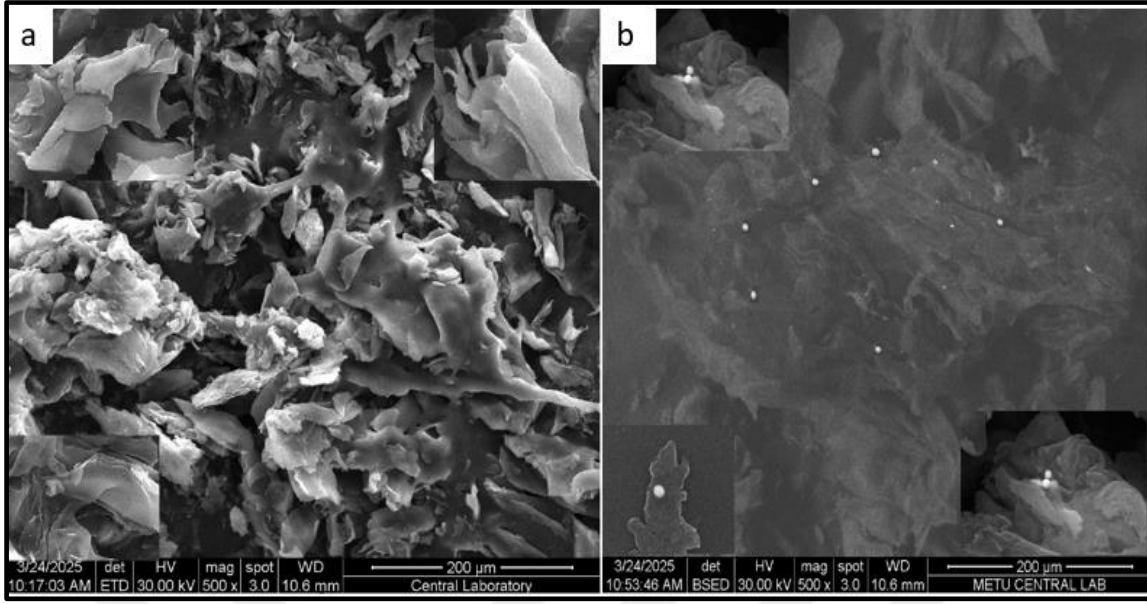
Elde edilen hidrojeldeki *imin bağının varlığı* FTIR analizi ile tespit edilmiştir. Hidrojin FTIR analizi sonucu Şekil 4.14’te ve FTIR spektrumuna ait karakteristik pikler verilmiştir.

Spektrumda, $3317,25\text{ cm}^{-1}$, $1637,71\text{ cm}^{-1}$ ve $600,30\text{ cm}^{-1}$ olmak üzere üç belirgin pik gözlenmiştir. Bu pikler sırasıyla N-H veya O-H gerilmesi, C=O veya C=N bükülmesi ve C-H bükülmesi fonksiyonel gruplarına karşılık gelmiştir.

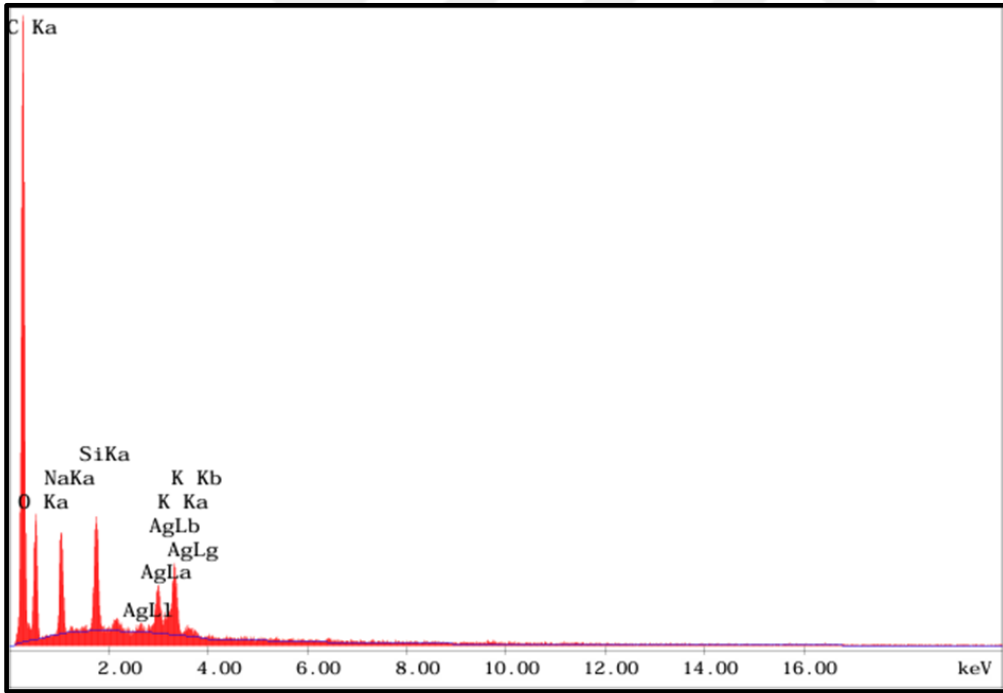


Şekil 4.14. Hidrojelin FTIR analizi sonucu

Sentezlenen hidrojin morfolojik özelliklerinin belirlenebilmesi için SEM-EDX analizi yapılmıştır. Şekil 4.16'da AgNP içermeyen hidrojel (a) ve 0,2 mg/mL AgNP ilave edilmiş hidrojel (b) örneklerinin SEM görüntüleri ve Şekil 4.15'de ise EDX analiz sonuçları verilmiştir. Şekil 4.16a'da görülen AgNP içermeyen hidrojin yapısında, düzensiz, tabakalı ve gözenekli bir morfoloji karakterize edilmiştir. Buna karşılık, Şekil 4.16b'de verilen 0,2 mg/mL KC66L-AgNP ilave edilen hidrojin yüzeyinde gözlenen parlak beyaz noktalar, AgNP'lerin hidrojel matrisine başarılı bir şekilde entegre edildiğini ve yapıya homojen şekilde dağıldığını göstermektedir. Sonuçta, nanoparçacıkların hidrojel yüzeyine tutunduğu ve genel dağılımının nispeten uniform olduğu ortaya koyulmuştur.



Şekil 4.15. Hidrojel örneklerinin SEM görüntüleri (200 µm): a) AgNP içermeyen hidrojel örneği ve b) 0,2 mg/mL KC66L-AgNP ilave edilmiş hidrojel örneği

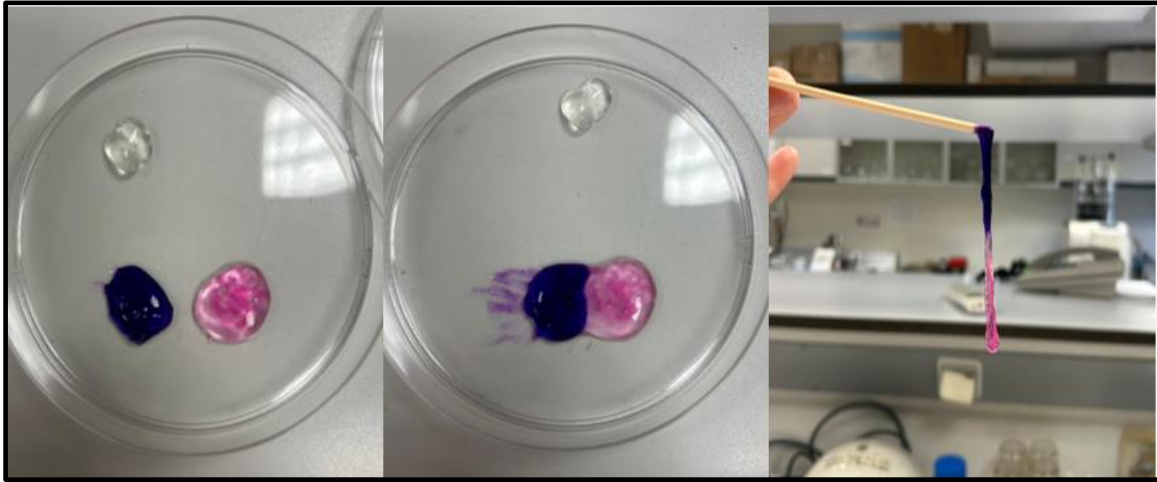


Şekil 4.16. KC66L-AgNP ilave edilmiş hidrojin EDX analizi

EDX spektrumunda (Şekil 4.16), hidrojel matrisinde yer alan temel elementlere ait karakteristik sinyaller gözlemlenmiştir. Spektrumda karbon (C), oksijen (O), sodyum (Na), silikon (Si), potasyum (K) gibi elementleri belirlenmiştir. C ve O pikleri, hidrojin organik yapısını temsil ettiği, Na, Si ve K piklerinin ise hidrojin sentezinde kullanılan cam malzemelerden veya kontaminasyonlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Şekil

4.16’da gümüşe (Ag) ait sinyaller net bir şekilde tespit edildiğinden AgNP’lerin hidrojel yapısı içerisine başarılı bir şekilde entegre edildiğini doğrulamıştır. Gümüş elementine ait piklerin belirginliği, SEM analizlerinde gözlemlenen parlak partiküllerle uyumlu bulunmuştur. Bu sonuçlar, hidrojin AgNP ile modifiye edildiğini ve gümüş elementinin matris içerisinde homojen olarak dağıldığını göstermiştir.

Sentezlenen hidrojin fiziksel olarak hasar gördüğünde (örneğin koptuğunda ya da kesildiğinde) yapının zamanla yeniden birleşerek tek parça haline gelmesi yani “kendi kendini iyileştirme” özelliği çıplak gözle gözlemlenmiştir (Resim 4.8). Bu amaçla iki farklı renkte hazırlanan hidrojin yüzeyleri birbirine temas edecek şekilde herhangi bir zorlama olmaksızın uygun şekilde yan yana yerleştirilmiş ve beklenmiştir. Hidrojin 5 dakika içerisinde “kendi kendini iyileştirme” özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.



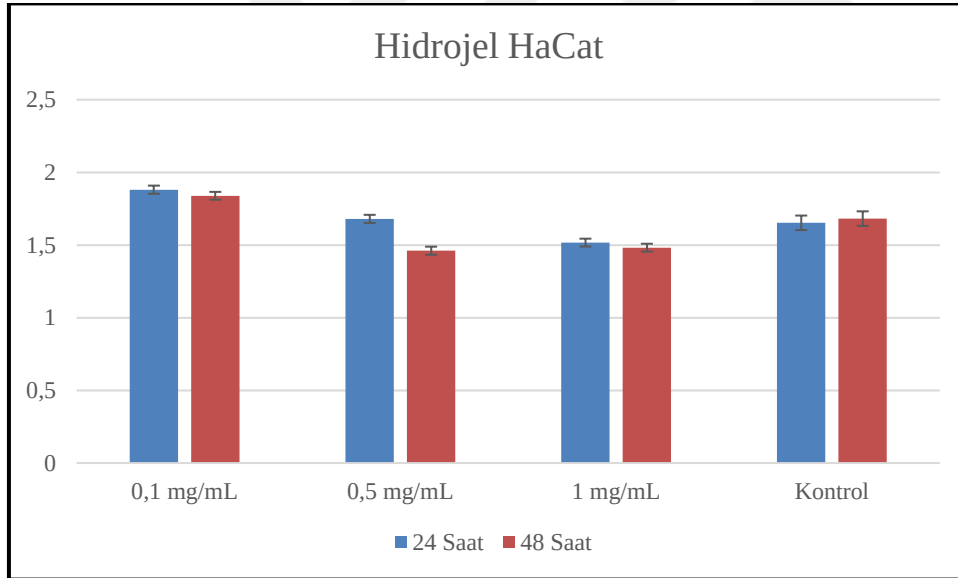
Resim 4.8. Farklı renklerde hazırlanan hidrojin kendi kendini iyileştirme özelliği

%2 OHA %5 CMCS ile 1:1 (v/v) oranlarda hazırlanan hidrojin şişme özelliğini belirlemek amacıyla liyofilize edilen hidrojel örneğinden 1 mg tartılarak üzerine 500 µL ultra saf su eklenmiş ve beklenmiştir. 15 dakika bekleme süresinin ardından, dondurularak kurutulmuş hidrojel örneğinin şişme özelliği göstererek tekrar hidrojel formuna ulaştığı belirlenmiştir (Resim 4.9).



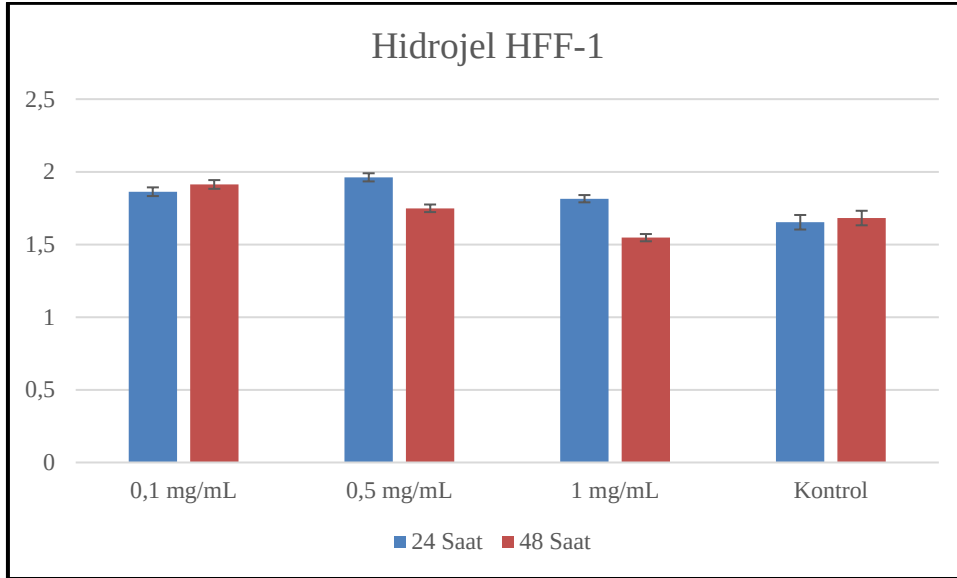
Resim 4.9. %2 OHA %5 CMCS ile 1:1 (v/v) oranlarda hazırlanan hidrojin şişme özelliği

AgNP içermeyen hidrojel örneklerinin HaCat ve HFF-1 hücre hatları üzerindeki potansiyel sitotoksik etkileri, 0,1, 0,5 ve 1 mg/mL konsantrasyon aralığında MTT analizi ile incelenmiştir (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).



Şekil 4.17. HaCat hücre hattı üzerinde hidrojellerin sitotoksik etkisi

HaCat hücreleri üzerinde yapılan MTT analizi sonucu (Şekil 4.18), 24 saatlik inkübasyon süresinde, hidrojellerin hiçbir konsantrasyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir. 48 saatlik inkübasyon süresinde, 0,5 ve 1 mg/mL konsantrasyonlarındaki hidrojellerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ancak, 0,1 mg/mL konsantrasyonda anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 4.18. HFF-1 hücre hattı üzerinde hidrojellerin sitotoksik etkisi

HFF-1 hücreleri üzerinde yapılan MTT analizi sonucu (Şekil 4.18), 24 saatlik inkübasyon süresinde, hidrojellerin hiçbir konsantrasyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir. 48 saatlik inkübasyon süresinde, 1 mg/mL konsantrasyonundaki hidrojellerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Ancak, 0,1 ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında anlamlı bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.

Karboksimetil kitosan (CMCS)- yükseltgenmiş hiyalüronik asit (OHA) hidrojele antibakteriyel etkinlik kazandırılması

Farklı konsantrasyonlarda (0,025-0,2 mg/mL) KC66L-AgNP içeren hidrojellerin *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 35984 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 patojen mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (mm cinsinden inhibisyon zonu çapı) Çizelge 4.7’da gösterilmiştir. Resim 4.10’da 0,025 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL ve 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında KC66L-AgNP’ler içeren hidrojellerin 24 saatlik inkübasyon süresi sonrası antibakteriyel aktivitesi gösterilmiştir. AgNP içermeyen hidrojellerde antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir. KC66L-AgNP içeren hidrojellerin antimikrobiyal aktivitesi, AgNP konsantrasyonuna ve patojen mikroorganizma türüne bağlı olarak değişiklik göstermiştir. 0,2 mg/mL KC66L-AgNP içeren hidrojel, *S. epidermidis* ATCC 35984 suşuna karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi ($10 \pm 0,1$ mm) göstermiştir.

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojelilerin antimikrobiyal aktivitesi (mm)

Patojen Mikroorganizmalar	AgNP Konsantrasyonu (mg/mL)			
	0,025	0,05	0,1	0,2
<i>E. coli</i> ATCC 11229	-	4,0±0,1	4,0±0,1	5,0±0,1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	4,0±0,1	6,0±0,1	6,0±0,1	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	5,0±0,1	7,0±0,1	8,0±0,1
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	-	5,0±0,1	7,0±0,1	10±0,1

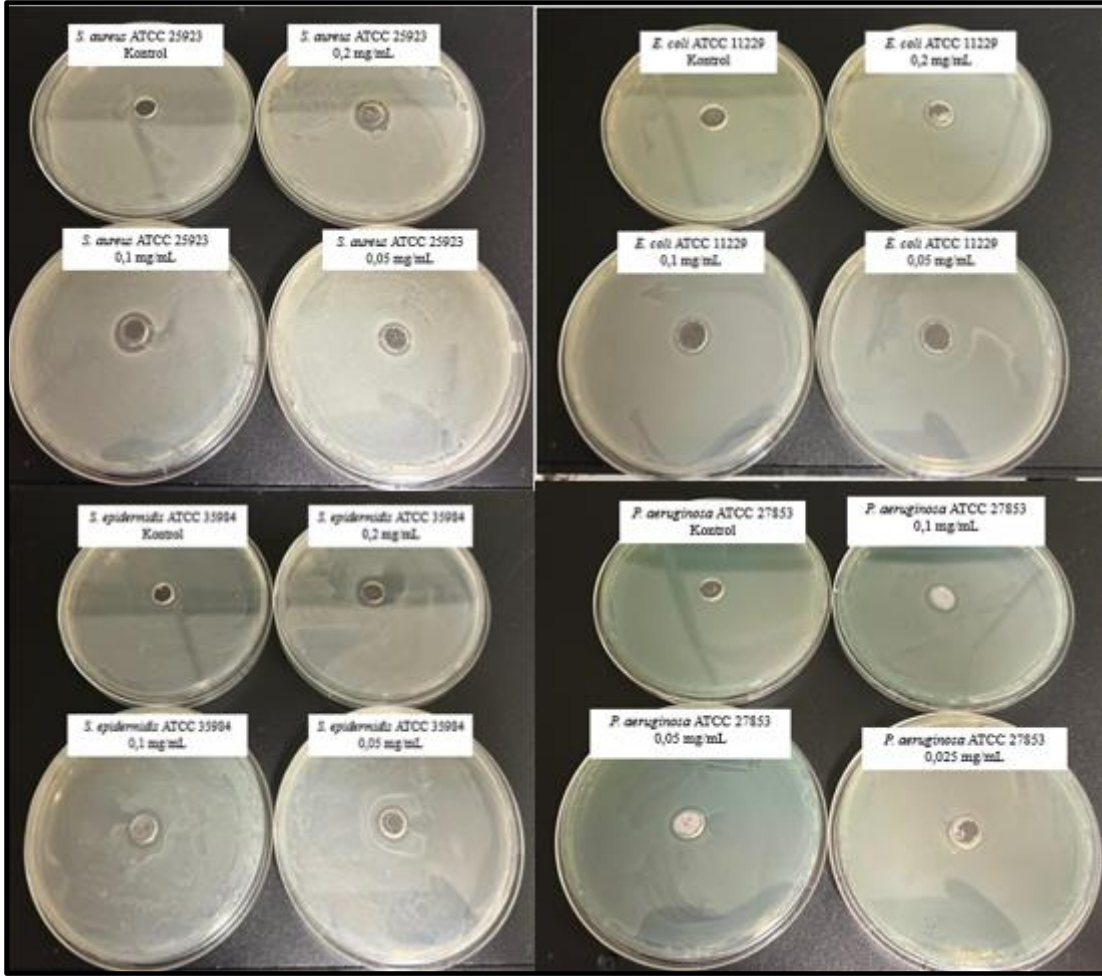
-: zon yok

0,025 mg/mL konsantrasyonunda KC66L-AgNP içeren hidrojel *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. 0,05; 0,1 ve 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında KC66L-AgNP içeren hidrojel *E. coli* ATCC 11229 üzerinde sırasıyla $4,0 \pm 0,1$ mm, $4,0 \pm 0,1$ mm ve $5,0 \pm 0,1$ mm'lik inhibisyon zonu göstermiştir.

KC66L-AgNP içeren hidrojellerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı 0,025 mg/mL, 0,05 mg/mL ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla $4,0 \pm 0,1$ mm, $6,0 \pm 0,1$ mm ve $6,0 \pm 0,1$ mm'lik antimikrobiyal aktivite belirlenirken, 0,2 mg/mL konsantrasyonunda herhangi bir antimikrobiyal aktivite tespit edilmemiştir.

KC66L-AgNP içeren hidrojellerin *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL ve 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında sırasıyla $5,0 \pm 0,1$ mm, $7,0 \pm 0,1$ mm ve $8,0 \pm 0,1$ mm'lik inhibisyon zonları gözlemlenmiştir.

0,05, 0,1 ve 0,2 mg/mL konsantrasyonlarında KC66L-AgNP içeren hidrojel *S. epidermidis* ATCC 35984 üzerinde sırasıyla $5,0 \pm 0,1$ mm, $7,0 \pm 0,1$ mm ve $10 \pm 0,1$ mm'lik inhibisyon zonu gösterdiği tespit edilmiştir.



Resim 4.10. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin antimikrobiyal aktivitesi

Çalışmada ayrıca, farklı konsantrasyonlarda (25-500 ppm) KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin PBS ortamında Ag^+ salınım profili ICP-MS ile incelenmiştir (Çizelge 4.8). Farklı KC66L-AgNP konsantrasyonlarında hazırlanan hidrojel örneklerinin zamanla gerçekleştirdiği gümüş salınımı hem konsantrasyon düzeyine hem de inkübasyon süresine bağlı olarak artış göstermiştir. Bu durum, gümüş iyonlarının hidrojel matrisinden difüzyon yoluyla düzenli bir şekilde serbest bırakıldığını göstermektedir. En yüksek gümüş salınımı, 500 ppm KC66L-AgNP içeren hidrojelde 21. günde (0,536 ppm) belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'leri içeren hidrojellerin gümüş salınım miktarları (ppm)

Gün	KC66L-AgNP konsantrasyonu (ppm)				
	25	50	100	200	500
0.	-	-	-	-	-
1.	0,007	0,023	0,017	0,048	0,083
2.	0,003	0,021	0,013	0,052	0,097
5.	0,003	0,044	0,027	0,079	0,143
10.	0,004	0,066	0,035	0,095	0,211
14.	0,003	0,099	0,051	0,105	0,288
21.	0,001	0,094	0,035	0,118	0,536



5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, karmaşık biyolojik süreçlerin koordineli bir şekilde gerçekleştiği ve doku bütünlüğünün yeniden sağlandığı hayati bir süreçtir. Bu süreçte, enfeksiyon kontrolü, nem dengesinin korunması, hücre göçü ve proliferasyonunun desteklenmesi gibi birçok faktör kritik rol oynamaktadır. Geleneksel yara bakım yöntemleri, bu faktörlerin birçoğunu yeterince karşılayamadığı için, yara iyileşmesini hızlandıracak ve komplikasyon riskini azaltacak yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (Guo, Dong, Liang ve Li, 2021; Liang, He ve Guo, 2021; Ramey-Ward, Walthall, Smith ve Barrows, 2024).

Yara iyileşmesi karmaşık ve çok aşamalı bir biyolojik süreç olduğundan enfeksiyon riski, inflamasyonun uzaması ve uygun nem dengesinin sağlanamaması bu süreci olumsuz etkileyebilmektedir. Son yıllarda yara iyileşmesi tedavisinde kullanılan yöntemler giderek çeşitlenmiş ve bu alanda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Özellikle AgNP'ler ve hidrojeller, yara iyileşme süreçlerini hızlandırdıkları ve enfeksiyon riskini azalttıkları için öne çıkmaktadır. Su tutma kapasiteleri, biyoyumlu yapıları ve ilaç taşıma özellikleri sayesinde yaranın nemli bir ortamda iyileşmesini destekleyen, hücre proliferasyonunu teşvik eden hidrojeller, modern yara bakımında dikkat çeken yenilikçi biyomalzemeler arasında yer almaktadır. AgNP'ler ise güçlü antimikrobiyal özellikleri sayesinde, enfeksiyonları önleyerek iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır. Hidrojeller ve AgNP'lerin yara iyileşmesinde birlikte kullanımları tedaviye yönelik daha etkili ve güvenli alternatifler sunmaktadır (Dsouza ve Jayabalan, 2021; Hao, Li, Zhang ve Zhang, 2024; Hong, Lee, Musa, Kamaruzaman ve Loo, 2025). Bu tez çalışmasında geliştirilen *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiklerinden sentezlenen AgNP'ler (KC66L-AgNP'ler) ile antibakteriyel özellik kazandırılmış kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin yara iyileşme sürecindeki potansiyel uygulamaları üzerine ön araştırmalar gerçekleştirilmiştir.

AgNP'lerin sentezi, nanoteknoloji ve biyoteknolojinin aktif bir çalışma alanı olarak öne çıkmaktadır. Nanoteknolojinin biyomedikal alandaki uygulamaları, yüksek yapısal bütünlükleri nedeniyle oldukça benzersizdir. AgNP'lerin sentezi için çeşitli fizikokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Ne yazık ki, bu sentez protokollerinde kullanılan kimyasallar toksik, yanıcı ve kolayca bertaraf edilememekte olup, canlılar ve çevre için tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle, toksik olmayan, çevre dostu, ekonomik ve temiz sentez yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması, AgNP'lerin biyolojik olarak elde edilmesine

yönelik artan ilgiyi beraberinde getirmiştir (Naseer ve diğerleri, 2021). Bu nedenle bu tez çalışmasında potansiyel probiyotik *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden sentezlenen AgNP'ler kullanılmıştır.

AgNP'lerin biyolojik yöntemlerle sentezi, çevre dostu oluşu ve biyolojik aktivite potansiyeli nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Ancak istenilen özelliklerde nanopartikül elde edilebilmesi için sentez sürecinde kullanılan parametrelerin dikkatle optimize edilmesi gerekmektedir. AgNO₃ konsantrasyonu, sıcaklık, inkübasyon süresi ve biyolojik ajan miktarı gibi çeşitli değişkenler, nanopartikül boyutu, morfolojisi ve stabilitesi üzerinde doğrudan etkili olmaktadır (Said ve diğerleri, 2024). Özellikle yeşil sentez yöntemlerinde kullanılan biyolojik ajanların çeşitliliği ve içerdiği aktif bileşenlerin değişkenliği nedeniyle, her sistem için özgün optimizasyonun yapılması gerekmektedir. Nitekim Rai ve diğerleri (2012) ve Noree ve diğerleri (2023) çalışmalarda, nanopartikül sentezinde konsantrasyon, sıcaklık, pH, inkübasyon süresi ve oran parametrelerinin optimize edilmesinin, partikül karakteristiği ve biyolojik etkinlik açısından en yüksek verimin elde edilmesini sağladığını vurgulamıştır. Bu nedenle, bu tez çalışmasında kapsamlı optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bacillus cereus postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin en uygun sentez koşullarının belirlenmesi amacıyla merkezi kompozit tasarım kullanılarak optimizasyon gerçekleştirilen bir çalışmada, AgNO₃ miktarı, sıcaklık, süre pH ve postbiyotik hacmi parametrelerinin etkileşimli etkileri 26 deneysel koşulda değerlendirilmiştir. UV-Vis spektrofotometrik analizinde 430 nm'de ölçülen absorbans değeri yanıt değişkeni olarak değerlendirilmiştir ve elde edilen sonuçlara göre AgNO₃ miktarı 1 mM, sıcaklık 48,5°C, süre 69 saat, pH 9 ve postbiyotik hacmi 8,7 mL olarak belirlenmiştir (İbrahim ve diğerleri, 2021). Şeker fabrikalarında şeker pancarı ve şeker kamışı üretiminde fabrikasyon kademesinde şekerin fabrikasyona geri alınamayan son şurubu olan melas kullanılarak AgNP sentezi gerçekleştirilen bir çalışmada, en uygun sentez koşullarının belirlenmesi amacıyla çok değişkenli optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Melas konsantrasyonu (%), pH, Melas:AgNO₃ oranı, reaksiyon sıcaklığı (°C) ve reaksiyon süresi (saat) olmak üzere çeşitli çevresel parametreler değerlendirilmiş ve partikül boyutu ölçümleri optimize edilmiştir. UV-Vis spektrofotometrik çalışmalar sonucunda en düşük partikül boyutuna %30 melas konsantrasyonu, pH 10, 4:1 Melas-AgNO₃ oranı 120°C reaksiyon sıcaklığı ve 3 saatlik inkübasyon süresi koşullarında ulaşıldığı kaydedilmiştir (Dorgham ve diğerleri, 2022).

Eucalyptus camaldulensis (Okalıptüs) ve *Terminalia arjuna* (Arjuna) bitki ekstraktları ile yeşil sentez yöntemiyle AgNP'lerin sentezinde optimum koşulların belirlenmesi amacıyla çeşitli fiziksel parametreler optimize edilmiştir. Sentez sürecinde AgO₃ çözeltisinin konsantrasyonu, bitki ekstraktı miktarı, inkübasyon süresi, pH ve sıcaklık gibi parametreler UV-Vis spektrofotometrik analizler eşliğinde değerlendirilmiştir. Reaksiyon karışımında renk değişimi ve UV-Vis spektrofotometrik analiz sonuçlarında 400-450 nm dalga boyları arasında görülen karakteristik AgNP pikleri ile nanopartikül oluşumu doğrulanmıştır ve 1 mM AgNO₃ miktarı, bitki ekstraktı: AgNO₃ oranı 3:7 (*E. camaldulensis*) ve 4:6 (*T. arjuna*), inkübasyon süresi 60 dakika, sıcaklık 75°C ve pH 7 olarak belirlenmiştir. Belirlenen optimum sentez koşullarında nanopartikül boyutlarının daha homojen ve küresel yapıda olduğu rapor edilmiştir (Liaqat ve diğerleri, 2022).

Bhatia ve diğerlerinin (2021) *Lysinibacillus boronitolerans* postbiyotiği kullanarak AgNP'lerin sentezinin gerçekleştirdiği çalışmada AgNP sentezinin optimizasyonu, çeşitli deneysel parametrelerin sistematik olarak değerlendirilmesiyle sağlanmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında, inkübasyon süresinin AgNP oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiş ve reaksiyonun ilerleyişi UV-Vis spektrumunda gözlenen karakteristik pik şiddetindeki artışla takip edilmiştir. 2, 5, 10, 15, 20 ve 30 dakikalık inkübasyon sürelerinde en şiddetli pik 30 dakika inkübasyon süresinde gözlemlenmiş ve bu süre sentez için optimum süre olarak belirlenmiştir. İkinci aşamada, AgNO₃ konsantrasyonunu sentez verimi üzerindeki etkisi araştırılmış ve çalışılan 0,8; 1; 1,2; 1,4; 1,6 ve 1,8 mM AgNO₃ çözeltisi konsantrasyonlarından en uygun değer 1 mM AgNO₃ çözeltisi olarak belirlenmiştir. Son olarak inkübasyon sıcaklığının nanopartikül oluşumu üzerindeki rolü değerlendirilmiş 20°C, oda sıcaklığı, 37°C, 40°C, 50°C ve 60°C ile yapılan sentezlerde oda sıcaklığında gerçekleştirilen sentezin AgNP sentezi açısından optimum koşulu sağladığı belirlenmiştir. *L. fermentum* postbiyotiği kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'lerin sentezinde en uygun koşulların belirlenmesi amacıyla çeşitli çevresel parametreler değerlendirilmiştir. Deneylerde pH, inkübasyon süresi, AgNO₃ çözeltisi miktarı ve süpernatant hacmi olarak dört farklı faktör test edilmiştir. UV-Vis spektrofotometrik analizler eşliğinde yapılan değerlendirmelerde ve istatistiksel analizler sonucunda, nanopartikül sentezinde kullanılan AgNO₃ çözeltisi hacminin artması üretim verimliliğini anlamlı düzeyde artırırken, süpernatant miktarındaki artış ise üretim verimliliğini düşürmüştür. pH değişiminin üretim üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamış, inkübasyon süresinin ise üretim verimliliğini belirli bir seviyeye kadar

artırdığı, sonrasında bu etkinin azaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, 2 mL AgNO_3 çözeltisi, 0,5 mL süpernatant, pH 9 ve yaklaşık 30 saatlik inkübasyon süresi, nanopartikül sentezi için en uygun koşullar olarak belirlenmiş ve çalışmada gerçekleştirilen ileri karakterizasyon teknikleri ve biyolojik aktivite çalışmaları için bu optimum koşullar temel alınmıştır (El-Hawary ve diğerleri, 2024). Yüksekdağ ve diğerlerinin (2025) çalışması, AgNP'lerin yeşil sentezi için optimizasyon sürecinin beş temel faktör ile gerçekleştirilmiştir. *L. salivarius* KC27L suşunun postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin optimizasyonu için, reaksiyon süresi, AgNO_3 çözeltisinin konsantrasyonu, postbiyotik: AgNO_3 çözelti hacim oranı, postbiyotiğin pH'ı ve sıcaklık parametreleriyle deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Optimizasyonun her aşamasında incelenen parametre dışındaki tüm değişkenlerin sabit tutulduğu çalışmada, nanopartikül oluşumu, renk değişimi ve UV-Vis spektrofotometre ile 300-700 nm aralığında yapılan absorbans ölçümleriyle izlenmiştir. Elde edilen UV-Vis sonuçlarına göre, en keskin absorbans pikini veren koşul, optimum koşul olarak kabul edilmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda, reaksiyon süresi 6 saat, AgNO_3 konsantrasyonu 5 mM, postbiyotik: AgNO_3 çözeltisi hacim oranı 1:1, postbiyotiğin pH değeri 3,5 ve sıcaklık 30°C olarak optimum koşullar rapor edilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiği ile AgNP sentezinin optimizasyonu, literatürdeki çalışmalardan farklı olarak daha geniş bir parametre aralığına sahip 18 deneysel koşul (1, 2, 3, 4 ve 5 mM AgNO_3 konsantrasyonu; 6, 12, 24 ve 48 saat inkübasyon süresi; 25, 30, 37 ve 40°C sıcaklık ve 1:1; 1:2; 2:1; 1:3 ve 3:1 postbiyotik/ AgNO_3 oranı, v/v) altında gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektrofotometrik analizler ve renk değişimi esas alınarak sentezin verimliliği değerlendirilmiş 4 mM AgNO_3 , 1:2 postbiyotik: AgNO_3 oranı, 24 saat inkübasyon süresi ve 37°C sıcaklık AgNP sentezi açısından en uygun koşullar olarak belirlenmiştir. Bu tez kapsamında sentezlenen KC66L-AgNP'lerin optimizasyon çalışması, yöntem ve parametre çeşitliliği açısından literatürdeki bazı çalışmalara oldukça benzerlik gösterirken, bazılarıyla önemli farklılıklar içermektedir. Deneysel tasarım, kullanılan biyolojik kaynak ve optimizasyon yaklaşımı bakımından en fazla benzerlik, *L. salivarius* KC27L postbiyotiği ile yürütülen ve benzer parametrelerin değerlendirildiği Yüksekdağ ve diğerlerinin (2025) çalışmasıyla gözlenmiştir. Her iki çalışmada da AgNO_3 konsantrasyonu, inkübasyon süresi, sıcaklık ve postbiyotik oranı temel değişkenler olarak ele alınmış; sentez süreci renk değişimi ve UV-Vis analizleri ile izlenmiştir. Ancak pH'nın sabit tutulduğu bu tez çalışmasında optimum koşullar daha nötr değerlere karşılık gelirken, Yüksekdağ ve diğerlerinin çalışmasında pH 3,5 gibi daha asidik bir ortam tercih edilmiştir.

Buna karşın, yöntemsel olarak bu çalışmadan en fazla ayrışan örnek, Dorgham ve diğeri (2022) tarafından Melas kullanılarak yürütölen sentez çalışmasıdır. Mikrobiyal kaynak yerine endüstriyel bir atık ürünün kullanılması, reaksiyonun çok daha yüksek sıcaklıklarda (120 °C) ve farklı bir optimizasyon kriteri olan partiköl boyutuna odaklanılarak yürütölmesi, bu tezi literatürdeki bu çalışmadan açık biçimde ayırmaktadır. Sonuç olarak, bu tez çalışması hem kullanılan biyolojik kaynak hem de optimizasyon parametrelerinin yapısı bakımından Yüksekdağ ve diğeri çalışması ile güçlü benzerlikler taşısa da kullanılan bakteriyel suş, pH yaklaşımı ve optimum parametre değeri açısından farklılık göstermektedir. Öte yandan, hedef değışkenin farklı olduğu, endüstriyel atık temelli veya bitki ekstraktı kullanılan çalışmalardan ise hem biyolojik sistemin doğası hem de deneysel koşullar bakımından belirgin şekilde ayrışmaktadır. Bu yönüyle tez çalışması, mikrobiyal postbiyotik temelli sentez yaklaşımları arasında yer almakta, ancak kullandığı özğün parametre seti ve optimum koşulları ile literatüre yeni bir katkı sunmaktadır.

AgNP'lerin, kendilerine özğü optik özellikleri sayesinde belirli ışık dalga boylarıyla güçlü bir şekilde etkileşime girdiğı, 380-450 nm arasındaki görönr bölgede elektromanyetik radyasyonu absorbe ettiğı gösterilmiştir (Lee ve Jun, 2019). AgNP'lerin absorpsiyonunun parçacık boyutuna bağılı olduğu ve 7-29 nm çapındaki AgNP'lerin genel olarak 410 ile 425 nm dalga boyları arasında tepe noktası sergileyebildiğı belirtilmiştir (Saeb, Alshammari, Al-Brahim ve Rubeaan, 2014; Park, Cha, Cho ve Park, 2016).

UV-Vis spektroskopisi sonucu dar bir aralıkta, keskin ve belirgin bir pik noktasının gözlemlenmesi genellikle NP boyut dağılımının "monodispers" yani, boyutların birbirine oldukça yakın olduğunu ve homojen bir yapı sergilediğini göstermektedir. Elde edilen pikin geniş ve asimetrik olması NP boyut dağılımının "polidispers" olduğunu yani, ortamda birbirinden çok farklı boyutlarda NP'lerin bir arada bulunduğunu göstermektedir. Özellikle AgNP'ler için 380-450 nm dalga boyları arasında dar bir pik gözlemlenmesi NP boyutlarının düzenli olduğu anlamına gelebildiğı bildirilmiştir (Mourdikoudis, Pallares ve Than, 2018).

Absorpsiyon pikinin tepe noktasının daha yüksek dalga boylarında tespit edilmesi, sentezlenen nanopartikölün büyüklüğünün arttığına dair bir fikir vermektedir. Ayrıca, absorpsiyon pikinin genişliğı, sentezlenen nanopartikölün parçacık boyut dağılımı ve homojenitesi hakkında bilgi vermektedir. Keskin bir absorpsiyon pikinin varlığı, nanopartikölün parçacık boyut dağılımının dar aralıklarda olduğunu gösterirken, pikin

genişlemesi ise parçacık boyut dağılımındaki artışa işaret etmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında gözlemlenen renk değişimi, 400-450 nm arasında gözlenen absorpsiyon pikinin varlığı, şiddeti ve genişliği ile değerlendirilmiştir. UV-Vis spektral analiz sonuçlarına göre, 400-450 nm arasında gözlenen pikin optik yoğunluğunun (OD), üretilen nanopartikülün yoğunluğuyla ilişkili olduğu birçok araştırmada belirtilmiştir (Sharma ve diğerleri, 2022; Çınar Acar ve diğerleri, 2023; Yuksekdağ ve diğerleri, 2025).

Bu tez çalışması kapsamında KC66L-AgNP'lerin sentezinde *L. salivarius* suşunun postbiyotığı 4 mM AgNO₃ ile 1:2 oranda (postbiyotik: AgNO₃) birleştirilmiş ve sentez 24 saat ve 37°C'de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda reaksiyon karışımının renginin açık kahverengiden koyu kahverengiye dönmesi şeklinde ilk gözlemsel analiz yapılmış ve postbiyotikte bulunan metabolitlerin AgNO₃'ü indirgeyerek KC66L-AgNP'ler sentezlenmiştir. Sonrasında UV-Vis spektrofotometrede 350-850 nm dalga boyları arasında optik yoğunları analiz edilmiş ve 453 nm dalga boyunda keskin bir pik verdiği görülmüştür. Pikin konumu, dar ve belirgin görünümü küçük ve monodispers NP'lerin sentezlendiği şeklinde yorumlanmıştır. Elde edilen bu sonuç laktik asit bakterilerinin postbiyotığı kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP çalışmaları ile uyumludur ve literatür bilgilerini destekler niteliktedir.

AgNP'lerin sentezinde elde edilen nanopartiküllerin yapısal ve kimyasal özelliklerinin kapsamlı bir şekilde belirlenmesi, nanoteknoloji alanında büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, AgNP'lerin doğası, boyutu, morfolojisi, yüzey kimyası, bileşimi, stabilitesi ve dağılımının analiz edilmesi için çeşitli analitik teknikler kullanılmaktadır (Magdy, Aboelkassim, Elhaleem ve Belal, 2024). Bu teknikler arasında, UV-Vis Spektroskopisi ile nanopartiküllerin optik özellikleri ve oluşumu, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile morfolojisi ve boyutu, Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX) ile elementel bileşimi, X-ışını Kırınımı (XRD) ile kristal yapısı, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile yüzey kimyası ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile partikül boyutu ve dağılımı analizleri yer almaktadır (Magdy ve diğerleri, 2024).

UV-Vis Spektroskopisi, ultraviyole (UV) ve görünür ışığın bir maddeyle etkileşimini inceleyen bir tekniktir. Bu yöntem, genellikle moleküllerin absorpsiyon özelliklerini analiz ederek, bileşik yapısı, konsantrasyonu ve kimyasal özellikleri hakkında bilgi sağlamaktadır (Paramelle ve diğerleri, 2014). UV-Vis spektroskopisi, AgNP'lerin ilk karakterizasyonu için

son derece faydalı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir. NP'lerin oluşumunu doğrulamanın en basit yolu olarak görülmektedir.

L. acidophilus postbiyotiği ve 1 mM AgNO₃ kullanılarak AgNP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirildiği çalışmada UV-Vis spektrofotometrede 430 nm dalga boyunda güçlü bir pik noktasının görüldüğü rapor edilmiştir (Mohammed, Hegazy ve Salah, 2023). Naseer ve diğerleri (2021), *L. bulgaricus* postbiyotiğinin 1 mM AgNO₃ ile birleştirilerek AgNP'lerin yeşil sentezini gerçekleştirmişler ve UV-Vis spektrofotometrede 410 ile 430 nm dalga boylarında tepe noktasının gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada, *L. plantarum* CAM4 suşunun postbiyotiğinden 1 mM AgNO₃ ile AgNP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektrofotometrede gerçekleştirilen analiz sonucunda AgNP'lerin 430 nm dalga boyunda bir tepe noktası sergilediği ve bu çalışmada elde edilen tepe noktasının laktik asit bakterilerinin postbiyotiği kullanılarak gerçekleştirilen sentezler için tipik bir zirve aralığı olduğu ifade edilmiştir (Loi ve diğerleri, 2023). Abdelgadir ve diğerlerinin 2024 yılında *L. salivarius* postbiyotiği ile 0,1 mM AgNO₃'ü birleştirerek yeşil sentezini gerçekleştirdikleri AgNP'lerin UV-Vis Spektrofotometrik analizine göre 438 nm dalga boyunda bir pik gösterdiği kaydedilmiştir. Yüksekdağ ve diğerleri (2025), *L. salivarius* KC27L suşunun postbiyotiğini 5 mM AgNO₃ ile birleştirerek yeşil sentezini gerçekleştirdikleri AgNP'lerin, UV-Vis Spektrofotometrik analiz sonucunda 435 nm dalga boyunda bir zirve kaydetmişlerdir.

SEM, nanopartiküllerin fiziksel özelliklerini (şekil, boyut, dağılım) incelerken, EDX ise bu partiküllerin kimyasal bileşimini belirlemek için kullanılmaktadır. Bu iki teknik, genellikle birlikte kullanılarak, nanopartiküller hakkında detaylı bilgi elde edilebilmekte ve malzemelerin yapısının daha iyi anlaşılması sağlanabilmektedir (Dawadi ve diğerleri, 2021).

Bu tez çalışması kapsamında *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiği kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen KC66L-AgNP'lerin SEM analizi sonucuna göre, ortalama 57,6±8,2 nm çaplarında, küresel morfolojilere sahip, homojen dağılım gösteren ve yüzeyde eşit dağılan fakat aglomerasyonun görüldüğü nanopartiküller elde edilmiştir. Abdulladhem Jabbar ve diğerleri tarafından (2021) yayınlanan bir çalışmada *Lactobacillus gasseri* postbiyotiği ve 5 mM AgNO₃ kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin SEM analizi sonucuna göre, küresel morfolojiye sahip, aglomerasyon gözlemlenen, boyutları 58,06 ile 72,91 nm arasında değişen partiküller olduğu tespit edilmiştir. Naseer ve arkadaşlarının (2021)

yaptığı bir çalışmada *L. bulgaricus* postbiyotiği ve 1 mM AgNO₃ kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin SEM analizinde 30-100 nm arasında değişen boyutlarda, birbirinden farklı morfolojilere sahip AgNP'lerin varlığı bildirilmiştir. Yayımlanan bir başka çalışmada *Lactocaseibacillus rhamnosus* BCRC16000 suşunun postbiyotiği ve 1 mM AgNO₃ kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin SEM analizi sonucuna göre, ortalama 199 nm boyutlarında ve küresel şekilli nanopartiküller rapor edilmiştir (Lavecchia ve diğerleri, 2024).

Çalışmamızdan elde edilen veriler ve literatür bulguları birlikte değerlendirildiğinde, LAB kullanılarak yeşil sentezle elde edilen AgNP'lerin genellikle küçük boyutlu ancak morfolojik olarak farklı yapılarda olabileceği ve bu varyasyonun kullanılan biyolojik ajan ile sentez koşullarına bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Boyutun kullanılan biyolojik ajanın özellikleri ve reaksiyon ortamına göre değişebileceği, ayrıca doğrudan sentez koşullarına (sıcaklık, süre, oran) bağlı olabileceği görülmüştür. Yeşil sentezde kullanılabilecek biyolojik materyalin çeşitliliği ve hazırlanabilecek olan reaksiyon koşullarının varyasyonları sebebiyle elde edilebilecek olan morfoloji hakkında net bir sonuca varmak oldukça zordur (Zhou ve diğerleri, 2025).

EDX, nanopartiküllerin kimyasal yapısını belirlemek için SEM analizi ile kullanılan bir tekniktir ve yayılan karakteristik X-ışınlarını analiz ederek elementlerin türünü ve miktarını tespit etmektedir. Özellikle metal nanopartikül çalışmalarında bileşim ve element dağılımını belirlemek için hızlı ve hassas bir yöntem olarak tercih edilmektedir (Gupta, Koirala, Gupta, Parajuli, 2019).

Bu tez çalışmasında yeşil sentezi gerçekleştirilen KC66L-AgNP'lerin EDX analizi sonucuna göre, ortamda üç ana yapı bulunmuştur. Bunlar %24 oranında C ve K, %23 oranında Ag tespit edilmiştir. Toplam ağırlığın %51'i ise Al olup, alüminyumun yüksek oranda tespit edilmesi, numunenin analiz için hazırlandığı kurutma ortamında kullanılan alüminyum folyo kaynaklı olduğu nanoparçacık senteziyle doğrudan ilişkili olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Ag pikleri Ag⁺'ların AgNP'lere indirgendiğini ve nanopartiküllerin mevcut olduğunu işaret eden piklerdir. Bu spektrumlar ortamda Ag varlığını net olarak doğrulamıştır. Şekil 4.4'te verilen spektrumda görülen karbon piklerinin, genellikle çalışmada kullanılan biyomoleküllerden (Selvan ve diğerleri, 2018), karbon bantlarından veya indirgeme ve stabilize edici ajan olarak görev yapan biyolojik bileşenlerden

(Mallikarjuna ve diğeri, 2014) kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Elde edilen bu veriler, KC66L suşunun postbiyotik içeriğinin Ag^+ iyonlarını indirgeme kapasitesine sahip olduğunu ve biyolojik yöntemle sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonunun başarılı şekilde gerçekleştirildiğini göstermiştir.

L. gasei postbiyotiği ile sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin EDX analizinde, toplam örnek bileşenlerinin %71,3'ünü Ag atomlarının oluşturduğu, Cl, O, C, S elementlerinin de sırasıyla %9,6; %8,4; %6,9 ve %2,1 oranında bulunduğu, örneklerin analiz için hazırlanması esnasında altın ile kaplanması sebebiyle Au pikinin de gözlemlendiği bildirilmiştir (Abduladheem Jabbar ve Neima Hussien, 2021). 2022 yılında Prema ve ekibinin yayınladığı bir çalışmada *L. plantarum* postbiyotiği kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'ler EDX analizinde 3 keV bölgesinde güçlü gümüş sinyali vererek AgNP'lerin varlığı ve aktivitesini işaret etmiştir. *L. acidophilus* postbiyotiği kullanılarak sentezi yapılan bir çalışmada AgNP'lerin 3 keV bölgesinde güçlü bir gümüş sinyali oluşturarak AgNP'lerin oluşumunu doğruladığı rapor edilmiştir (Siddiqui ve diğeri, 2023). Lavecchia ve ekibinin (2024) yayınladığı bir çalışmada *L. rhamnosus* BCRC16000 suşunun postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin 3 keV civarında belirgin pik verdiği ve AgNP'lerin sentezini doğruladığı rapor edilmiştir. Literatürlerde bildirildiği üzere, bu tez çalışmasında da yaklaşık 3 kV enerji seviyesinde karakteristik bir pik gözlemlenmiş, bu durum elde edilen nanoparçacıkların yapısal özellikleri açısından literatürle uyumlu olduğunu göstermiştir. 2025 yılında yayınlanan başka bir çalışmada ise *L. salivarius* KC27L suşu postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin EDX analizinde 3 keV bölgesinde görülen gümüş sinyali ile AgNP'lerin oluşumu doğrulanmıştır (Yüksekdağ ve diğeri, 2025).

DLS, çözelti içindeki nanopartiküllerin hidrodinamik çapını belirlemek için kullanılan bir karakterizasyon tekniğidir. Sıvı veya gaz ortamındaki mikroskobik partiküllerin, çevresindeki moleküllerin rastgele çarpışmaları sonucu sergilediği düzensiz ve rastlantısal hareketlere bağlı olarak ışık saçılımı analiz edilerek boyut dağılımı hesaplanabilmektedir. Nanopartiküllerin sentezinde, özellikle biyojenik yaklaşımlar için, homojenlik değerlendirmelerinde önemli bir rol oynamaktadır (Bhattacharjee, 2016; Altammar, 2023; Hassanzadeh-Tabrizi, 2023).

2021 yılında yayınlanan bir çalışmada, *Mentha pulegium* (Yarpuz) ekstraktı kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin DLS analizi sonucuna göre ortalama boyut

dağılımlarının 15,7 nm olduğu rapor edilmiştir (Wang ve Wei, 2021). *Catunaregam spinosa* (Dağ narı) kültür süpernatantı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin DLS analizi sonucunda kolloidal çözelti içindeki AgNP'lerin ortalama boyut dağılımının 134,4 nm olduğu bildirilmiştir (Thavamurugan, Pavithra, Kavipriya ve Prabha, 2022). *Bacillus marisflavi* postbiyotiği ile sentezlenen AgNP'lerin potansiyel antibakteriyel aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada DLS analizi sonucuna göre ortalama boyut dağılımının 40 nm olduğu belirlenmiştir (Anthony, Murugan ve Gurunathan, 2014). 2024 yılında yayınlanan bir çalışmada, *Shigella flexineri* kültür süpernatantı kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin ortalama partikül boyutunun dağılımı 137,1 nm olarak ölçülmüş ve PDI değeri 0,229 olarak belirlenmiş ve AgNP'lerin monodispers dağılım gösterdiği bildirilmiştir (Chatterjee, Pal ve Dhar, 2024). *L. plantarum* TA4 suşunun postbiyotiği ile sentezlenen AgNP'lerin DLS analizi sonucunda PDI değerinin 0,193 olduğu ve boyut dağılımının ortalama 74 nm olduğu bildirilmiştir. Bu değerler, sentezlenen AgNP'lerin monodispers bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir (Mohd Yusof ve diğerleri, 2020). *Ligilactobacillus salivarius* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin çeşitli biyomedikal uygulamalarının incelendiği bir çalışmada DLS analizine göre, AgNP'lerin ortalama çapı 79,47 nm olarak belirlenmiştir (Abdelgadir ve diğerleri, 2024). *Lactocaseibacillus rhamnosus* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel ve fotokatalitik uygulamalarının incelendiği bir başka çalışmada, DLS analizleri AgNP'lerin boyut dağılımının 10 ile 800 nm arasında değiştiğini ve 0,229'luk bir PDI değerine sahip olduğunu bunun da AgNP'lerin homojen dağılımına işaret ettiği rapor edilmiştir (Lavecchia ve diğerleri, 2024).

Bu tez çalışması kapsamında, *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden sentezlenen AgNP'lerin DLS analizi sonucunda elde edilen veriler, AgNP'lerin fizikokimyasal özelliklerine dair bilgiler sunmaktadır. Polidispersite indeksi (PDI), bir numunenin boyutuna bağlı olarak heterojenliğini tanımlayan bir parametredir (0 monodispers ve 1 polidispers olmak üzere) (Kara, 2024). Grafikte gözlemlenen dar ve tek modlu dağılım, nanopartiküllerin düşük polidispersiteye sahip olduğunu göstermektedir. Ortalama partikül boyutunun yaklaşık olarak 100 nm olması, özellikle biyomedikal uygulamalar açısından önemli olup, bu uygulamalar için optimum boyut aralığında olduğu bildirilmiştir (Jain, Pawar, Sarkar, Junnuthula ve Dyawanapelly, 2021; Kumar ve diğerleri, 2024). Bu tez çalışması kapsamında AgNP'lerin karakterizasyonuna dair yapılan SEM analizinde ortalama nanopartikül boyutu $57,6 \pm 8,2$ nm olarak belirlenmiştir. Ancak DLS analizi

sonucunda ortalama boyut dağılımı 80-100 nm olarak belirlenmiştir. DLS ile elde edilen hidrodinamik boyut ölçümü yalnızca metal çekirdeğe değil aynı zamanda nanopartikül yüzeyine bağlanan veya onu kaplayan tüm maddeleri de içermektedir. Bu durum ölçülen nanopartikül boyutlarının daha büyük olmasına neden olmaktadır (Tomaszewska ve diğerleri, 2013; Habeeb Rahuman ve diğerleri, 2022). Elde edilen DLS sonuçları, literatürdeki biyolojik AgNP sentezlerinde rapor edilen boyut dağılımlarıyla uyumlu bir profil sergilemektedir. Ancak, nanopartikül boyutu ve dağılımında gözlemlenebilecek olası farklılıklar, sentez sürecinde kullanılan biyolojik ajanın türüne, ürettiği metabolitlerin indirgeme kapasitesine ve sentez koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Özellikle, farklı bakteri suşlarının salgıladığı metabolitler nanopartiküllerin büyüklüğünü ve dağılım özelliklerini doğrudan etkileyebileceğinden, sentezde kullanılan biyolojik ajan nanopartiküllerin karakteristikleri üzerinde belirleyici bir faktör olabilir.

Bu tez çalışmasında *L. salivarius* KC66L postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin DLS analizinde elde edilen yaklaşık 80–100 nm'lik ortalama partikül boyutu ve düşük polidispersiteye işaret eden tek modlu dağılım profili, literatürde farklı bakteri türleriyle gerçekleştirilen yeşil sentez çalışmalarında bildirilen 15,7–137,1 nm aralığındaki boyut dağılımlarıyla uyumlu bulunmuş (Mohd Yusof ve diğerleri, 2020; Wang ve Wei, 2021; Chatterjee ve diğerleri, 2024), bu da kullanılan biyolojik ajanların sentezlenen nanopartiküllerin boyut ve homojenlik özellikleri üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.

IR spektrumu, numuneyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşim frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon zirveleriyle ifade edilmektedir (Büyüksınt ve Kuleaşan, 2014). FTIR spektroskopisi, numuneye uygulanan kızılötesi ışınlarla fonksiyonel grupların titreşimlerini analiz ederek malzemelerin tanımlanmasını sağlayan, hızlı ve verimli bir tekniktir. Bu sayede nanopartiküllere bağlı karmaşık moleküllerin de tespiti sağlanabilmektedir (Rani ve diğerleri, 2020; Dikbaş, 2024).

Mohd Yusof ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı bir çalışmada, *L. plantarum* TA4 kültür süpernatantı kullanılarak sentezledikleri AgNP'lerin mevcut fonksiyonel grupların belirlenebilmesi için 4 cm^{-1} çözünürlükte 4000 ile 400 cm^{-1} aralığında FTIR analizi gerçekleştirmişler ve elde edilen sonuçlarda AgNP'lerin 3197, 2924, 1634, 1518, 1450, 1209, 1030 ve 961 cm^{-1} dalga boylarında çeşitli yoğun bantlar gösterdiğini ve bu bantların,

3197 cm^{-1} 'deki bandın hidroksil grubu (-OH) ve amino asitler, peptitler ve proteinlerdeki amin grubu ile ilişkilendirilebileceği ve bu grupların da AgNP sentezinde rol oynadığını göstermişlerdir. 2924 cm^{-1} 'deki bant kültür süpernatantında gözlemlenmeyen C-H gerilme bandına karşılık gelirken, 1634 cm^{-1} 'deki bant C=O gerilme titreşimi ve peptit bağı ile ilişkilendirilmiş ve AgNP'lerin stabilizasyonunda yer alabilir şeklinde yorumlanmıştır. 1518 cm^{-1} 'deki yoğun bant sekonder amit N-H bükülme ve C-N gerilme titreşimiyle ilişkilendirilirken, 1450 cm^{-1} 'deki bant, proteinlerdeki metil ve metilen gruplarının C-H bükülmesiyle ilişkilendirilmiş ve 1209 cm^{-1} 'deki bant C-N gerilme titreşimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. AgNP'lerdeki 1030 cm^{-1} 'deki bant karboksil grubunun C-O gerilme titreşimine ve 961 cm^{-1} 'deki bant C=C grubunun bükülmesiyle ilişkilendirilmiştir. AgNP'ler üzerinde elde edilen bu fonksiyonel gruplar (hidroksil, protein ve karboksil) *L. plantarum* TA4 kültür süpernatantında bulunan metabolitlerin AgNP sentez sürecine doğrudan dahil oldukları şeklinde yorumlanmıştır. *Lactobacillus* spp. postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin yapısındaki fonksiyonel grupların FTIR spektrumunda sekiz belirgin zirve tespit edildiği bir çalışmada, 3381 cm^{-1} 'deki zirvenin aromatik aminlerin asimetrik ve simetrik N-H gerilme titreşimine, 2927 cm^{-1} 'deki dar zirvenin C-O'ya, 2366 cm^{-1} 'deki zirvenin N-H ve C-H gerilme titreşimine karşılık geldiği ifade edilmiştir. 1600 cm^{-1} 'deki zirve C=C bağlarına karşılık gelirken, 1382 cm^{-1} ve 1031 cm^{-1} 'deki zirveler sırasıyla aromatik bileşiğin NO_3 ve C-N gerilme titreşimlerine atfedilmiştir. 416 cm^{-1} ve 540 cm^{-1} 'deki zirvelerin nanopartiküllerin varlığını gösterdiği ve bu fonksiyonel gruplarında gümüş ve gümüş klorür iyonlarının indirgenmesinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Al-Hamdany ve diğerleri., 2021).

Yayınlanan başka bir çalışmada probiyotik bir bakteri olan *L. fermentum* postbiyotiğinden sentezlenen AgNP'lerin FTIR profillerine ait pik zirveleri belirlenmiştir. 3440 cm^{-1} 'deki zirvenin O-H gerilme titreşimi sebebiyle, 2363 cm^{-1} 'deki zirvenin $\text{C}\equiv\text{N}$ gruplarının gerilme titreşimi nedeniyle, 2082 cm^{-1} 'deki zirvenin $\text{C}\equiv\text{C}$ gruplarının titreşiminden, 1640 cm^{-1} 'deki zirvenin C=O gruplarının gerilme titreşiminden olduğu, 1400 cm^{-1} 'deki zirvenin C-H gruplarının bükülme titreşiminden, 1028 cm^{-1} 'deki zirvenin C-O gruplarının gerilme titreşiminden ve 568 cm^{-1} 'deki zirvenin ise Ag-O bağlarının bükülme titreşiminden olduğu bildirilmiştir (El-Hawary ve diğerleri, 2024). Ogünleye, Oyinklola, Aguokoli ve Oyewo (2022), *L. delbrueckii* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyon çalışmasında FTIR spektroskopisi kullanmış ve analiz sonucunda kaydedilen karakteristik piklerin 3387,1 cm^{-1} ile 445,57 cm^{-1} arasında değiştiğini belirtmişlerdir. 3387,1 cm^{-1} 'deki

pik, alkolün O-H gerilme varlığına, 2972,4 cm^{-1} ve 2837,38 cm^{-1} 'deki absorbsiyon pikleri, aldehit gruplarının C-H gerilmesine, 2592,4 cm^{-1} 'deki pik, primer amidin NH^{2+} gerilmesi ve OH gerilme titreşimine, 2360,95 cm^{-1} 'deki absorbsiyon piki, COOH grubunun titreşimine, 1633,76 cm^{-1} 'deki yoğun absorbsiyon piki terminal olefinlerin C=C gerilmesine ve ikincil amidin N-H bükülmesine, 1406,15 cm^{-1} , 1332,86 cm^{-1} ve 1255,7 cm^{-1} 'deki pikler sırasıyla düzlem içi C-H bükülmesi, ikincil aminlerin N=N bükülmesi ve asetik ester gruplarının C-O gerilmesine, 669,32 cm^{-1} ile 445,57 cm^{-1} arasındaki absorbsiyon pikleri alkinlerin asetilenik $\text{C}\equiv\text{C-H}$ bükülmesine atfedilmiştir. Gözlemlenen fonksiyonel gruplar incelendiğinde, aldehitler, esterler, alkol, amino asitler ve proteinlerin gümüş nitratin AgNP'lere biyolojik olarak indirgenmesi ve stabilizasyonunda etkili olabileceği ve bu fonksiyonel grupların, biyosentez sürecinde yer alan *L. delbrueckii*'nin hücre zarındaki biyomoleküllerden kaynaklanıyor olabileceği rapor edilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında probiyotik bir bakteri olan *L. salivarius* KC66L'nin postbiyotiğinden yeşil sentezi ile gerçekleştirilen AgNP'lerin yapısında bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılabilmesi için 500-4000 cm^{-1} aralığında FTIR spektroskopisi analizi gerçekleştirilmiştir. AgNP'lerin FTIR analizi sonucunda elde edilen pikler 2352, 2115, 1789 ve 1504 cm^{-1} değerlerinde gözlemlenmiştir. 2352 cm^{-1} 'deki pik, genellikle C=C bağlarının varlığını işaret etmektedir (Ogünleye ve diğerleri, 2022; El-Hawary ve diğerleri, 2024). 2115 cm^{-1} bandındaki pik, yine $\text{C}\equiv\text{C}$ veya çoklu bağların varlığını belirtmektedir. 1789 cm^{-1} 'deki pik C=O (karbonil) gruplarının varlığıyla ilişkilendirilmektedir. 1504 cm^{-1} 'deki pik C=C (aromatik bileşikler) bağlarının varlığını göstermektedir (Al-Hamdany ve diğerleri, 2021; Chegini ve diğerleri, 2024). Bu tez çalışmasında elde edilen FTIR sonuçları, literatürde *Lactobacillus* türleri kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin spektral profilleriyle benzerlik göstermektedir. Özellikle $\text{C}\equiv\text{N}$, C=O ve C=C gibi fonksiyonel gruplara ait piklerin farklı çalışmalarda da rapor edilmiş olması (El-Hawary ve diğerleri, 2024; Ogünleye ve diğerleri, 2022; Al-Hamdany ve diğerleri, 2021; Chegini ve diğerleri, 2024), *L. salivarius* KC66L postbiyotiğinde bulunan biyomoleküllerin indirgeme ve stabilizasyon sürecinde aktif rol oynadığını ve AgNP sentezinde benzer biyokimyasal mekanizmaların etkili olabileceğini göstermiştir.

XRD, nanomalzemelerdeki ligantların yapısını, konumlarını ve konformasyonlarını detaylı bir şekilde inceleyerek, kristal yapı, faz, tane boyutu ve ligant bileşimlerini yüksek hassasiyetle analiz eden güçlü bir analitik tekniktir (Sakthivel ve diğerleri, 2020).

Tharani, Bharathi ve Ranjithkumar tarafından 2020 yılında *Lactobacillus reuteri* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen kitosan-AgNP'lerin XRD kırınım deseninde 2θ 'de $27,76^\circ$ (210); $32,19^\circ$ (122); $38,09^\circ$ (111); $46,13^\circ$ (200); $64,48^\circ$ (220) ve $77,36^\circ$ (311) yansıma açıları elde edilmiş ve bu piklerin kitosan-AgNP'lerin kristal yapısıyla uyumlu olduğu, literatürdeki benzer çalışmaları desteklediği kaydedilmiştir. 2022 yılında Prema ve diğerleri tarafından *L. plantarum* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin 2θ 'de ($10-80^\circ$) XRD analizinde dört tane yansıma açısı elde edilmiştir. Bu piklerin sırasıyla $38,1^\circ$ (111); $44,3^\circ$ (200); $64,4^\circ$ (220) ve $77,4^\circ$ (311) olduğu ve merkez yüzeye kübiklenmiş kristal gümüş yapısına işaret ettiği, diğer piklerin ise $32,2^\circ$ (200); $46,2^\circ$ (220); $54,8^\circ$ (311); $57,5^\circ$ (222); $67,5^\circ$ (400); $74,5^\circ$ (331) ve $76,8^\circ$ (420) şeklinde ve kübik AgCl (gümüş klorür) yapısını işaret ettiğini bildirmişlerdir. Ortamda bulunan Cl^- iyonlarının *L. plantarum* suşunu geliştirilirken kullanılan besi ortamında (Luria Bertani) bulunan %1'lik NaCl'den kaynaklanıyor olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. *L. acidophilus* kültür süpernatantı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin XRD analizinin yapıldığı bir çalışma sonucunda $29,8^\circ$ (211); $32,3^\circ$ (111); $38,9^\circ$ (111) ve $44,7^\circ$ (200) pikleri elde edilmiş ve sentezlenen AgNP'lerin kristal yapısı bu pikleri doğruladığı ifade edilmiştir (Khalifa ve diğerleri, 2023). Mohammed, Hegazy ve Salah (2023), *L. acidophilus* postbiyotiği kullanılarak biyosentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin karakterizasyon çalışmasında XRD analizi kullanmışlar ve AgNP'lerin kırınım deseni $\text{CuK}\alpha$ ışıması kullanılarak 40 kV ve 30 mA tarama hızıyla, $38,30^\circ$ (111); $44,43^\circ$ (200); $64,59^\circ$ (220) ve $77,53^\circ$ (311) 2θ açılarıyla metal yüzeye kübiklenmiş gümüş fazına özgü, kristalin yapıda AgNP yüzeyinde meydana gelen biyolojik-organik fazların varlığını gösteren kırınım piklerinin varlığı rapor edilmiştir. *Enterococcus faecium* DU.FS ekzopolissakariti kullanılarak gerçekleştirilen AgNP'lerin biyosentezinde XRD analizi kullanılarak örneklerin kristalin veya amorf yapısının belirlenmesinin hedeflendiği bir araştırmada, örnekler $\text{CuK}\alpha$ ışıması kullanılarak nikel bir monokromatör aracılığıyla dalga filtrelemesi yapılmış 40 kV gerilim ve 30 mA akımda $2\theta^\circ$ 'de difraksiyon desenleri kaydedilmiştir. $2\theta^\circ$ Bragg pikleri içinde, yüzeye merkezlenmiş kübik AgNP'lere özgü sekiz ($27,81 \text{ \AA}$; $32,35 \text{ \AA}$; $38,08 \text{ \AA}$; $44,25 \text{ \AA}$; $46,41 \text{ \AA}$; $54,85 \text{ \AA}$; $57,56 \text{ \AA}$ ve $65,5 \text{ \AA}$) belirgin ve keskin piklerin varlığı ortaya koyulmuştur. Bu pikler, AgNP'lerin kristalleşme sürecine indirgeme ve stabilize edici ajanların dahil olduğu ve hem biyojenik hem de kimyasal AgNP'lerin kristalin doğası, merkeze kübiklenmiş yapısı ile uyumlu olduğu şeklinde rapor edilmiştir. Özellikle $32,35 \text{ \AA}$ ve $38,08 \text{ \AA}$ 'daki piklerin diğer piklere kıyasla daha yoğun olduğu ve bununla ilgili düzlemin daha yoğun olduğu ifade edilmiştir (Chengini ve diğerleri 2024). Yapılan bir başka çalışmada, *Limosilactobacillus fermentum* postbiyotiği

kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyon çalışmasında nikel bir monokromotör aracılığıyla CuK α ışınması kullanılarak 2 θ° merkezi yüzeye kübiklenmiş XRD desenleri kırınım deseni çıkarılmıştır. Sırasıyla 38,2 $^\circ$ (111), 44,3 $^\circ$ (200); 64,5 $^\circ$ (220) ve 77,4 $^\circ$ (311) pikleri elde edilmiş ve AgNP örneğindeki en yoğun pikin 38,2 derecede elde edilen pik olduğu oluşan XRD deseninde görülen piklerin kristal yapıda AgNP örneklerinin varlığına işaret ettiği bildirilmiştir (El-Hawary ve diğerleri, 2024).

Bu tez çalışması kapsamında KC66L-AgNP'lerin kristalografik yapısının incelenebilmesi için yapılan XRD analizinde 2 θ° değeri 32,05 $^\circ$ (200); 38,05 $^\circ$ (111); 44,23 $^\circ$ (220); 46,10 $^\circ$ (220); 54,71 $^\circ$ (311); 57,22 $^\circ$ (222); 64,43 $^\circ$ (220); 77,37 $^\circ$ (420) ve 81,42 $^\circ$ (311) olan dokuz yansıma açısı tespit edilmiştir. 27,68 $^\circ$ 'de görülen pik genellikle AgNP'lerin yansımalarına karşılık gelmektedir ve gümüşün yüzey merkezli kübik yapısının varlığını göstermektedir. Elde edilen XRD verilerine göre, 32,24 $^\circ$; 38,05 $^\circ$; 44,23 $^\circ$; 46,10 $^\circ$; 54,71 $^\circ$; 57,22 $^\circ$; 64,43 $^\circ$ ve 81,42 $^\circ$ 'deki pikler, AgNP'lerin farklı kristal düzlemlerinden kaynaklanan yansımalar olup, bu nanopartiküllerin düzenli bir kristal yapıya sahip olduğunu ve gümüşün hem düşük hem de yüksek indeksli düzlemlere sahip olduğunu göstermektedir (Tharani ve diğerleri, 2020; Prema ve diğerleri, 2022; Khalifa ve diğerleri, 2023; Chengini ve diğerleri, 2024; El-Hawary ve diğerleri, 2024). Bu tez çalışmasında yapılan analizde ise kristal yapıyı doğrulayan en sert pik 38,05 $^\circ$ 'de gözlenmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen XRD verileri, literatürde farklı *Lactobacillus* spp kullanılarak sentezlenen AgNP'lerle yapılan çalışmalarla büyük ölçüde örtüşmektedir. Özellikle 2 θ° = 38,05 $^\circ$ 'de gözlemlenen en yoğun ve belirgin pik, Prema ve diğerleri (2022) tarafından 38,1 $^\circ$, El-Hawary ve diğerleri (2024) tarafından 38,2 $^\circ$ ve Chengini ve diğerleri (2024) tarafından 38,08 $^\circ$ olarak rapor edilen ve gümüşün yüzey merkezli kübik kristal yapısına özgü karakteristik yansımayla yüksek derecede benzerlik göstermiştir. Bu benzerlik, sentezlenen KC66L-AgNP'lerin kristalin doğasını doğrulamakta ve literatürdeki biyojenik AgNP sentezine yönelik bulgularla güçlü bir paralellik göstermiştir.

Nanopartiküllerin, özellikle boyutları, yüzey özellikleri ve yüksek yüzey alanları sayesinde antimikrobiyal aktiviteleriyle dikkat çekmekte olup artan antibiyotik direnç sorunlarına alternatif bir çözüm sunabileceği düşünülmektedir. Gümüş, altın, bakır ve çinko oksit gibi metal bazlı nanopartiküllerin, mikroorganizmaların hücre yapılarını hedef alarak bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ve önlenmesinde etkili olduğu yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (Beach, Nayanathara, Gao, Zhang, Xiong, Wang ve Such, 2024; Savvidou

ve diğerleri, 2023; Hairil Anuar ve diğerleri, 2024; Aliero ve diğerleri, 2025). MİK ile elde edilen veriler, nanopartiküllerin biyomedikal, farmasötik, gıda ve çevresel uygulamalardaki potansiyel kullanım alanlarını ortaya koymakta ve nanopartiküllerin hücre duvarı bozulması, protein denatürasyonu veya DNA hasarı gibi etki mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Franco ve diğerleri, 2022; Savvidou ve diğerleri, 2023). Nanopartikül sentezine yönelik çalışmaların yalnızca fizikokimyasal karakterizasyonla sınırlı kalmayıp, biyolojik etkinliklerinin de çok yönlü olarak değerlendirilmesi, bu materyallerin klinik ve endüstriyel uygulamalara entegrasyonu için vazgeçilmez bir adım olarak görülmektedir (Radulescu ve diğerleri, 2023; Lavecchia ve diğerleri, 2024).

Allium ampeloprasum ekstraktı kullanılarak yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite deneylerinin mikrodilüsyon yöntemine göre yapıldığı bir çalışmada, 2,5 mg/mL olarak hazırlanan AgNP ana stoğu 96 kuyucuklu mikropalakalarda seri dilüsyon yapılarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre MİK değerleri çalışılan patojen test mikroorganizmalarında *E. coli* ATCC 25922'de 2,5 mg/mL, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. aureus* ATCC 29213'te 1,25 mg/mL, *B. subtilis* ATCC 11774'te 0,625 mg/mL ve *C. albicans*'ta 0,312 mg/mL olarak belirlenmiştir (Hatipoğlu, 2022). *L. acidophilus* postbiyotiği kullanılarak sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin *E. coli* ATCC 25922 patojen mikroorganizması kullanılarak mikrodilüsyon yöntemiyle gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite deneyinde AgNP'lerin MİK konsantrasyonu 7,80 mg/L, MLK konsantrasyonu ise 15,60 mg/L olarak tespit edilmiştir (Abishad ve diğerleri, 2022). *L. paracasei* postbiyotiği kullanılarak AgNP sentezi gerçekleştirilen bir başka çalışmada, seçilen patojen test mikroorganizmaları üzerinde MİK konsantrasyonları *E. coli* ATCC 25922 için 6,25 µg/mL, *P. aeruginosa* ATCC 27853 için 3,125 µg/mL, *Actinobacter baumannii* ATCC 17978 için 12,5 µg/mL ve *S. aureus* ATCC 25923 için 3,125 µg/mL olarak bildirilmiştir (Zeinivand, Aghaei, Zargar ve Ghasemzadeh, 2023). *L. casei* postbiyotiği kullanılarak AgNP'leri yeşil sentezinin gerçekleştirildiği bir çalışmada *Chromobacterium violaceum* için 26,54 µg/mL, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* için 53,5 µg/mL, *E. coli* ve *S. marcescens* için 106,68 µg/mL şeklinde MİK değerleri belirlenmiştir (Siddiqui ve diğerleri, 2023). 2024 yılında yayınlanan, *L. salivarius* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin *C. violaceum*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* ve *S. marcescens* patojen mikroorganizmaları üzerinde AgNP'lerin MİK değeri *C. violaceum*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* için 50 µg/mL ve *S. marcescens* için 100 µg/mL olarak belirlenmiştir (Abdelgadir ve diğerleri, 2024). Bu tez çalışması kapsamında

sentezlenen KC66L-AgNPlerin mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen MİK değerleri *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu için 0,025 mg/mL, *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 suşları için ise 0,05 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün KC66L-AgNP'lere karşı diğer suşlara kıyasla daha duyarlı olduğunu ortaya koyarken *E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 suşlarının inhibisyon için daha yüksek konsantrasyona ihtiyaç duyduğu, dolayısıyla bu nanopartiküllere karşı daha az duyarlı olduğu anlaşılmıştır. *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün düşük MİK değeri göstermesi, KC66L-AgNP'lerin özellikle Gram negatif bakterilere karşı etkin olabileceğini gösterebilmektedir (Morones ve diğerleri, 2005; More ve diğerleri, 2023). Ancak, hem Gram pozitif (*S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984) hem de Gram negatif (*E. coli* ATCC 11229) suşlarında benzer MİK değerlerinin elde edilmesi, KC66L-AgNP'lerin geniş spektrumlu antibakteriyel potansiyele sahip olabileceğini de göstermiştir (Js, 2007; Rahman, Chowdhury ve Hossain, 2022). Bu çalışmada sonucunda, her bir test bakterisi için belirlenen MİK değeri hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandıracak AgNP dozu olarak seçilmiştir.

Bu tez çalışmasında belirlenen MİK değerleri, KC66L-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarda dahi patojen bakteriler üzerinde etkili olabildiğini ortaya koymuş ve bu durum KC66L-AgNP'lerin çok yönlü antimikrobiyal etki mekanizmalarına sahip olduğunu düşündürmüştür. Literatürlerde, AgNP'lerin bakteriyel hücre zarına bağlanarak membran bütünlüğünü bozduğu, iyon dengesini etkileyerek hücre içeriğinin sızmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Morones ve diğerleri, 2005; Rai ve diğerleri, 2012). Ayrıca, AgNP'lerin reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi yoluyla oksidatif strese yol açtığı, DNA ve protein yapılarına zarar vererek hücresel işlevleri bozduğu belirtilmiştir (Kim ve diğerleri, 2007; Yadav ve Tare, 2024). Bununla birlikte, Ag⁺ iyonlarının hücre içi protein ve enzimlerle etkileşerek metabolik süreçleri inhibe ettiği, bu da bakterilerin hayatta kalma şansını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Feng ve diğerleri, 2000; Liao ve diğerleri, 2019). Özellikle bu çoklu hedefli etkiler sayesinde, AgNP'lerin antibiyotik dirençli bakterilere karşı da etkili olabildiği ve bu nedenle MİK testleri ile belirlenen konsantrasyonların, hem tedaviye uygun doz aralığının belirlenmesinde hem de biyolojik güvenlik sınırlarının çizilmesinde kritik rol oynadığı vurgulanmıştır (Marambio-Jones ve Hoek, 2010). Bu bulgular, tez kapsamında elde edilen düşük MİK değerlerinin, KC66L-AgNP'lerin güçlü antimikrobiyal etkisini desteklemiş ve çok yönlü biyolojik etki mekanizmalarına sahip olduğunu düşündürmüştür.

L. plantarum postbiyotiği ve 1 mM AgNO₃ çözeltisi kullanılarak hazırlanan AgNP'lerin antimikrobiyal aktivite testleri agar difüzyon yöntemi ile *E. coli*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *Proteus mirabilis* üzerinde çalışılmıştır. AgNP'ler *E. coli*'ye karşı 22,18 mm ile en yüksek inhibisyon zon çapına sahipken, *S. aureus*'a karşı 14,42 mm ile en düşük inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Deneyde kullanılan diğer patojen mikroorganizmalara karşı da sentezlenen AgNP'lerin güçlü antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca deneyde, pozitif kontrol olarak standart bir antibiyotik olan gentamisin kullanılmış ve test edilen tüm patojenler üzerinde AgNP'lere kıyasla önemli ölçüde daha düşük inhibisyon zon çapı (12,37 mm ile 20,67 mm arasında) belirlenmiştir. Araştırmacılar, sentezlenen AgNP'lerin, idrar yolu enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalara karşı standart antibiyotik olan gentamisinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (Prema ve diğerleri, 2022). Nasser ve diğerlerinin (2022) yaptığı bir çalışmada, *L. bulgaricus* postbiyotiği ile sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi *S. epidermidis*, *S. typhii* ve *S. aureus* patojen mikroorganizmalarına karşı test edilmiştir. Biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin bakteriyel suşlar arasında tek tip olmadığı ve ortalama inhibisyon zon çaplarının *S. epidermidis* için 17 mm ve *S. aureus* için 15 mm olduğu rapor edilmiştir. *L. salivarius* KC27 suşunun postbiyotiği ve 5 mM AgNO₃ çözeltisi kullanılarak sentezlene AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin kuyu difüzyon yöntemiyle belirlendiği çalışmada inhibisyon zon çapları *P. aeruginosa* ATCC 27853 için 14,9 mm, *E. coli* ATCC 11229 için 9,5 mm, *S. epidermidis* ATCC 35984 için 15,7 mm ve *S. aureus* ATCC 25923 için 12,9 mm olarak belirtilmiştir (Yüksekdağ ve diğerleri, 2025).

Bu tez çalışması kapsamında, *L. salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden biyosentez edilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemiyle sekiz farklı AgNP konsantrasyonu (0,00312; 0,00625; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,3 ve 0,5 mg/mL) ile dört farklı patojen mikroorganizma (*E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 35984 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853) üzerinde değerlendirilmiştir. Mevcut çalışma bulguları, literatürde yer alan veriler ile kıyaslandığında, AgNP sentezi için kullanılan biyolojik ajan, hazırlanan nanopartikül dozu ve test edilen mikroorganizmalar arasındaki farklılıkların sonuçlar üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Shaaban ve diğerlerinin (2024) yaptığı çalışmada *P. aeruginosa* ATCC 9027 suşu için en düşük inhibisyon zonu (10,74 mm) bildirilerken bu tez çalışmasında en yüksek inhibisyon zonu *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda (12,5 mm) için gözlemlenmiştir. Aynı türe ait farklı suşlarda gözlemlenen bu

farklılık, suşların genetik ve fenotipik özelliklerinden kaynaklanabileceği gibi, çalışmada kullanılan AgNP'lerin sentez yöntemi ve test koşullarıyla da ilişki olabilir.

Çalışmada, KC66L-AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirilmesinde kontrol grupları olarak Gram (+) bakteriler için amoksisilin ve Gram (-) bakteriler için gentamisin antibiyotikleri ve *L. salivarius* KC66L suşunun süpernatantı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm konsantrasyonlardaki KC66L-AgNP'lerin, patojen bakterilere karşı gösterdiği antimikrobiyal aktiviteler (1,1–12,5 mm), kullanılan her iki referans antibiyotiğin oluşturduğu inhibisyon zonlarına (11,0–28,0 mm) kıyasla daha düşük düzeyde bulunmuştur. Amoksisilin, beta-laktam grubu bir antibiyotik olup peptidoglikan sentezini inhibe ederek Gram (+) bakterilere karşı yüksek etkinlik göstermektedir (Kaur, Rao ve Nanda, 2011). Gram (-) bakterilerin dış zar yapısı, amoksisilinin hücre içine girişini sınırladığından bu antibiyotiğin etkinliği Gram (-) bakteriler üzerinde oldukça düşüktür (Imran ve diğerleri, 2023). Buna karşın, gentamisin aminoglikozid grubu bir antibiyotik olup bakteri ribozomlarına bağlanarak protein sentezini inhibe eder (Yoshizawa ve Fourmy, 1998) ve Gram (-) bakterilere karşı yüksek etkinlik gösterir. Gram (+) bakterilerde ise hücre duvarı kalınlığı nedeniyle gentamisin alımı daha sınırlıdır ve etkinliği daha düşüktür (Jia, Zhu, Ma, Cao, Li ve Chen, 2009; Scott ve diğerleri, 2023). KC66L-AgNP'lerin antibiyotiklere kıyasla daha düşük antimikrobiyal etkinlik göstermesi hem etki mekanizmalarındaki farklılık hem de nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanmış olabilir. Antibiyotikler, hedef mikroorganizmaların özgül biyokimyasal yollarını etkileyerek yüksek seçicilik ve etkinlik gösterirken; AgNP'ler, hücre membranı bozulması, DNA replikasyonunun inhibisyonu, enzim inaktivasyonu ve ROS üretimi gibi daha genel mekanizmalarla etki eder (Rai ve diğerleri, 2012). Bu durum, antibiyotiklerin belirli bakterilere karşı daha güçlü ve spesifik etkiler oluşturmaya olanak tanırken, AgNP'lerin geniş spektrumlu ancak nispeten daha düşük seviyede inhibitör etkiler göstermesine neden olabilir. Ayrıca, AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliği partikül boyutu, şekli, yüzey yükü ve sentez koşulları gibi birçok fizikokimyasal faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Sharma, Kanchi ve Bisetty, 2019). KC66L-AgNP'lerin tüm patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen, referans antibiyotiklere kıyasla daha düşük inhibisyon oluşturmaları, muhtemelen spesifik hedeflere yönelik değil, genel etki mekanizmalarıyla hareket etmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Tez çalışmasında ayrıca, AgNP'lerin antimikrobiyal etkisini daha iyi anlayabilmek ve AgNP'lerin inhibisyon etkisinin yalnızca nanopartiküllerden mi yoksa kültür süpernatantının kendi antimikrobiyal aktivitesinden mi kaynaklandığını belirleyebilmek için sentez aşamasında kullanılan *L. salivarius* KC66L suşunun kültür süpernatantı da kontrol olarak kullanılmıştır. KC66L-AgNP'lerin 0,1 mg/mL, 0,3 mg/mL ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarındaki antimikrobiyal aktiviteleri (7,4-12,5 mm) postbiyotiklerin oluşturduğu antimikrobiyal aktiviteden (3,7-9,2 mm) yüksek görülmüştür. KC66L-AgNP'lerin 0,00312-0,00625-0,0125-0,025 ve 0,05 mg/mL konsantrasyonlarındaki antimikrobiyal aktiviteleri (1,1-5,4 mm) ise postbiyotiklerin antimikrobiyal aktivitelerinden (3,7-9,2 mm) düşük bulunmuştur. KC66L-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarda postbiyotiklere kıyasla daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermesi, postbiyotiklerin içerdiği doğal antimikrobiyal bileşiklerin (organik asitler, bakteriyosinler, peptitler, diğer küçük moleküller gibi antimikrobiyal bileşikler vb.) doğrudan etkili olabilmesi (Sharma ve diğerleri, 2022) ve AgNP'lerin etkinliğinin doz bağımlı olması (Bates ve diğerleri, 2024) nedeniyle yeterli biyolojik etkileşimin sağlanamamasından kaynaklanmış olabilir.

Kuyu difüzyon yöntemi sonuçlarına göre, en yüksek inhibisyon zon çapı *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda (0,5 mg/mL konsantrasyonda, 12,5 mm) gözlenmiştir. Buna karşılık, *S. epidermidis* ATCC 35984 suşunda 0,025 mg/mL ve altındaki konsantrasyonlarda herhangi bir inhibisyon zonu oluşmamıştır. Bu durum, AgNP dozu arttıkça inhibisyon etkisinin de arttığını göstermiştir. Sonuç olarak, Gram (-) ve Gram (+) bakterilerin hücre duvarı yapısındaki farklılıkların AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini etkilediği görülmüştür (Meikle ve diğerleri, 2020; Yin ve diğerleri, 2020). Gram (+) bakterilerin kalın peptidoglikan tabakası, hücre içine yabancı maddelerin girişini kısıtlarken, Gram (-) bakterilerin daha ince yapılı hücre duvarı, AgNP'lerin hücre içine geçmesine ve bakteriler üzerinde daha belirgin yapısal hasarlara neden olmasına olanak tanımaktadır (Liao, Li ve Tjong, 2019).

Metal nanopartiküller, bakterilerin yüzeyi ile elektrostatik etkileşimler aracılığıyla temasa geçerek hücre duvarını aşabilmektedir. Küçük boyutları sayesinde hücre içerisine nüfuz eden AgNP'lerin, bakteri hücrelerinde membran bütünlüğünü bozduğu ve DNA'ya zarar verdiği bildirilmiştir (Aurlina ve diğerleri, 2022). Gram pozitif bakterilerin kalın peptidoglikan tabakasına sahip olması, AgNP'lerin hücre içerisine girişini sınırlarken; Gram negatif bakterilerin daha ince ve geçirgen hücre duvarı yapısı, bu nanopartiküllerin bakteriyel hücrelerle daha kolay etkileşime girmesini ve dolayısıyla daha etkili olmasını

sağlayabilmektedir. Bu durum, çalışmamızda Gram negatif suşların daha yüksek inhibisyon zonları göstermesiyle uyumlu bulunmuştur. Ancak, nanopartiküllerin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etkilerine ilişkin kesin bir genelleme yapılabilmesi için daha kapsamlı ve karşılaştırmalı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

AgNP'lerin mikroorganizmalara karşı etki mekanizmaları tam olarak netlik kazanmamış olmakla birlikte, bu konuda çeşitli biyokimyasal süreçleri içeren birkaç olası mekanizmaları sürdürülmektedir. Nanopartiküller, patojen mikroorganizmaların hücre duvarı veya hücre zarına yapışarak bu yapıların bütünlüğünü bozup, hücrenin solunum gibi hayati işlevlerini engelleyebilmektedir (Ahmad ve diğerleri, 2020). Bu etkileşimde nanopartikülün boyutu çok önemli rol oynamaktadır. Küçük nanopartiküller, büyük nanopartiküllere göre hücre yüzeyine daha fazla noktadan temas edebildikleri için genellikle daha etkili olmaktadır (Qing ve diğerleri, 2018). Diğer bir olasılık ise, nanopartiküllerin bakteri hücrelerinin içine girerek doğrudan hasara neden olması veya nanopartiküllerden gümüş iyonlarının salınmasıdır (Liao ve diğerleri, 2019). Gümüş iyonlarının (Ag^+) güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu, hücresel yapılarla etkileşime girerek mikrobiyal büyümeyi inhibe ettiği çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Abada, Mashraqi, Modafer, Al Abboud ve El-Shabasy, 2024).

Sitotoksosite, bir maddenin hücreler üzerindeki toksik etkisini ifade etmektedir ve hücresel canlılık, proliferasyon ve fonksiyon kaybına neden olup olmadığını belirlemek için değerlendirilmektedir. Sitotoksosite analizleri, biyomedikal araştırmalarda ve ilaç geliştirme süreçlerinde, biyomateryal çalışmalarında veya nanopartiküllerin güvenliğini ve biyoyumluluğunu test etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Adan, Kiraz ve Baran, 2016; Kumari ve Jat, 2021; Khalef, Lydia, Filica ve Moussa, 2024).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan ve 1983 yılında Mossman tarafından geliştirilen MTT testi, sitotoksosite, hücre proliferasyonu, mitokondriyal aktivite ve hücresel canlılık gibi parametreleri belirlemede “altın standart” olarak kabul edilmekte ve önemli bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Mazloun-Ardakani, Barazesh, Moshtaghioun ve Sheikhha, 2019; Erkekoğlu ve Baydar, 2021; Bülbül, Mamur, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2024).

2020 yılında yapılan bir çalışmada maya hücrelerinden yeşil sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin biyoyumluluğu MTT analizi ile incelenmek amacıyla, Cos-7 hücre hattında

farklı konsantrasyonlarda (200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 0 µg/mL) çalışılmıştır. Cos-7 hücreleri, farklı konsantrasyonlardaki AgNP'lerle 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. 200 µg/mL gibi yüksek bir konsantrasyonda bile anlamlı bir sitotoksikite gözlemlenmediği, AgNP'lerin sitotoksikitesinin ihmal edilebilir düzeyde olduğu ve iyi biyouyumluluk gösterdiği rapor edilmiştir (Shu ve diğerleri, 2020). Sosa ve diğerlerinin 2024 yılında yayınladığı çalışmada AgNP'lerin deri hücre kültürlerindeki toksisitesini değerlendirmek için 3T3 ve HaCaT hücreleri ile AgNP'ler farklı konsantrasyonlarda (100; 60; 40; 30; 15; 8; 1,6 ppm) inkübe edilmiş ve metabolik aktivite MTT analiziyle değerlendirilmiştir. Her iki hücre hattında da 8 ppm ve üzeri AgNP konsantrasyonlarında hücre canlılığı ve metabolit aktivitede %75'in üzerinde azalma görülmüş, 8 ppm konsantrasyonundan itibaren 24 saatlik inkübasyon sonrası hücreler proliferasyon yeteneğini kaybetmiş ve adezyon göstermemeye başlamıştır. Bu durum, AgNP'lere maruz kalma sonucu hücre fonksiyonlarının bozulduğunu şeklinde yorumlanmıştır.

Lactobacillus gasseri postbiyotigi kullanılarak sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin sitotoksikite çalışmalarının MTT analiziyle değerlendirildiği bir çalışmada 6,25-100 µg/mL arasında konsantrasyonlarda hazırlanan AgNP'lerin SK-GT-4 insan özofagus kanser hücreleri ve sağlıklı hücre üzerinde denelemleri gerçekleştirilmiştir. AgNP'lerin antitümör aktivitesi, test edilen hücrelerin proliferasyonunu inhibe etme yetenekleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları, AgNP'lerin kanser hücre hattı üzerinde belirgin bir sitotoksik aktivite gösterirke normal hücre hattı üzerinde böyle bir etki oluşturmadığı ortaya koyulmuştur. Elde edilen bu sonuç, AgNP'lerin hücre hatlarının büyümesini baskılama yeteneğine sahip olduğu ve bu etkinin konsantrasyona bağlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmada AgNP'lerin kanser hücresi üzerindeki Yarı Maksimal İnhibisyon Konsantrasyonu (IC₅₀), 26,92 µg/mL olarak belirlenmiştir (Abduladheem Jabbar ve Neima Hussien, 2021). *L. acidophilus* postbiyotigi kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin sitotoksik etkileri, Caco-2 (kolon), A549 (akciğer) ve HepG2 (karaciğer) kanser hücre hatlarında MTT analizi ile değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki AgNP'ler (30, 25, 20, 15, 10 ve 5 mg/mL) kullanılarak yapılan bu analiz sonucunda, her bir hücre hattı için yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC₅₀) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Caco-2 hücrelerinde IC₅₀ değeri 5 mg/mL, A549 hücrelerinde 15 mg/mL ve HepG2 hücrelerinde 30 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular, AgNP'lerin kanser hücreleri üzerinde doza bağlı bir sitotoksik etki gösterdiğini ve farklı hücre hatlarına karşı değişen hassasiyetler sergilediğini ortaya koymuştur (Mohammed ve diğerleri, 2023). *Limosilactobacillus*

fermentum postbiyotiği kullanılarak sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin sitotoksikite deneylerinin MTT analizi kullanılarak belirlendiği bir çalışmada, insan kolorektal adenokarsinom hücresi (Caco-2), hepatosit karsinom hücresi (Huh-7) ve Afrika yeşil maymununa ait normal böbrek hücre hattı kullanılmıştır. Hücre hatları farklı konsantrasyonlarda AgNP'ler (20; 120; 220; 320; 420; 520; 620; 720; 820; 920 µg/mL) ile muamele edilmiştir. Sonuçlar, AgNP konsantrasyonu arttıkça tüm hücre hatlarında toksisitenin arttığını ortaya koymuştur. AgNP'ler, normal hücre hatlarına kıyasla kanser hücrelerinde daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir. AgNP'lerin 1 mg/mL gibi yüksek konsantrasyonunda Caco-2, Huh-7 ve Vero hücrelerindeki sitotoksik etkileri sırasıyla %99, %97 ve %86 olarak belirlenmiş ve bu bulgular her bir hücre hattı için hesaplanan IC50 değerleri ile doğrulanmıştır. IC50 değerleri Caco-2, Huh-7 ve Vero hücreleri için sırasıyla 350, 388 ve 622 µg/mL olarak bulunmuştur. AgNP ile muamele edilen hücrelerin morfolojik incelemeleri ile daha yüksek konsantrasyonlardaki AgNP'lerin hücre canlılığını azaltma eğiliminde olduğu, AgNP'lerin monolayer hücre tabakasında sitotoksik etkilere neden olabildiği ve hücrelerin canlılığının azalmasıyla birlikte tabakadan ayrılarak öldüğü rapor edilmiştir (El-Hawary ve diğerleri, 2024). *L. salivarius* postbiyotiği kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin sitotoksikite çalışmasının MTT metoduyla yapıldığı bir yayında, MCF-7 (meme kanseri hücresi) hücre hattı 5-100 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda AgNP ile muamele edilmiştir. AgNP muamelesiyle hücre canlılığının doza bağlı olarak önemli ölçüde azaldığı, yüksek AgNP konsantrasyonlarında MCF-7 hücrelerinin canlılığında önemli azalma görüldüğü, AgNP'lerin MCF-7 meme kanseri hücrelerine karşı 52,29 µg/mL IC50 değerine sahip olduğu kaydedilmiştir (Abdelgadir ve diğerleri, 2024). 2025 yılında yayınlanan çalışmada, *L. salivarius* KC27L suşunun postbiyotiğinden sentezlenen AgNP'ler L929 sağlıklı hücre hatlarında farklı konsantrasyonlarda (0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 ve 200 µg/mL) 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonlar sonrasında sitotoksik etkileri MTT analizi ile değerlendirilmiş ve düşük konsantrasyonlardaki AgNP'lerin (0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5 ve 25 µg/mL) toksik olmadığı görülmüştür. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında AgNP'lerin IC50 değeri sırasıyla 113, 117 ve 162 µg/mL olarak bildirilmiştir (Yüksekdağ ve diğerleri, 2025).

Bu tez çalışması kapsamında KC66L-AgNP'lerin HaCat ve HFF-1 sağlıklı hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri, MTT analizi ile konsantrasyon ve zamana bağlı olarak değerlendirilmiştir. HaCat hücre hattı, özellikle 0,025 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda, hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyon sürelerinde hücre canlılığında

belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. 0,01 mg/mL konsantrasyonda 24 saatlik inkübasyon süresince daha az toksik etki tespit edilmiştir. Ancak, 48 saatlik inkübasyon süresinde aynı konsantrasyonda dahi hücre canlılığında düşüş gözlenmesi, KC66L-AgNP'nin zamana bağlı toksik etkisinin arttığını düşündürmüştür. HFF-1 hücre hattında da 0,025 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda, hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyon sürelerinde hücre canlılığının azaldığı görülmüştür. Bu durum KC66L-AgNP'lerin her iki hücre hattında da yüksek konsantrasyonlarda benzer sitotoksik etkiler gösterdiğine işaret etmektedir. 0,01 mg/mL'lik uygulama dozunda HFF-1 hücre hattında 24 saatlik inkübasyon süresinde kontrol grubuna kıyasla bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum, KC66L-AgNP'nin HFF-1 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin de zamana bağlı olarak arttığını göstermiştir. KC66L-AgNP'lerin HaCaT ve HFF-1 hücrelerinde farklı sitotoksik etki göstermesi, bu hücrelerin biyolojik yapıları, metabolik aktiviteleri, nanoparçacık alım düzeyleri ve antioksidan savunma mekanizmaları gibi temel farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. HaCaT hücrelerinin daha yüksek hassasiyet göstermesi, epidermal hücrelerin nanoparçacıklara karşı daha duyarlı olduğunu ortaya koyarken, HFF-1 fibroblastlarının daha dirençli olması bu materyalin bağ doku temelli uygulamalarda daha güvenli olabileceğini düşündürmüştür.

Hem literatürdeki çalışmalar (Sosa ve diğerleri, 2024; El-Hawary ve diğerleri, 2024; Abdelgadir ve diğerleri, 2024; Yüksekdağ ve diğerleri, 2025) hem de bu tez çalışması AgNP konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığında azalma gözlemlendiğini göstermektedir. Özellikle 0,025 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda belirgin sitotoksik etkiler rapor edilmiştir. Bu tez çalışması ve Yüksekdağ ve diğerlerinin (2025) çalışması, AgNP'lerin zamana bağlı toksik etkisinin arttığını vurgulamaktadır. Literatürdeki çalışmalar, AgNP'lerin sitotoksik etkilerinin hücre tipine göre değişebildiğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda (Shu ve diğerleri, 2020) yüksek konsantrasyonlarda bile anlamlı bir sitotoksikite gözlemlenmezken, diğer bazı çalışmalarda (Sosa ve diğerleri, 2024; El-Hawary ve diğerleri, 2024) daha düşük konsantrasyonlarda bile sitotoksik etkiler rapor edilmiştir. Bu tez çalışmasının MTT analizi çıktıları, genel olarak literatürdeki bilgiler ile tutarlılık göstermektedir. AgNP'lerin farklı çalışmalarda gösterdiği sitotoksik etkilerdeki değişkenlik, büyük ölçüde kullanılan doz aralığı, uygulama süresi ve çalışılan hücre hattının biyolojik özelliklerine bağlı olarak açıklanmaktadır. Bu değişkenler, hücrelerin nanopartiküllere verdiği yanıtları etkileyerek elde edilen bulgular arasında farklılık oluşmasına neden olabilmektedir.

Kitosan, biyoyumrluluk, biyobozunurluk, çöztide yüksek yük yoğunluğu, yarı krsitalin yapı, toksik olmayan özellikler, yara iyileştirici etkiler, biyomimetik özellikler, antibakteriyel ve antifungal etkinlik gibi pek çok avantajlı özelliği ile biyomalzeme uygulamalarında öne çıkmaktadır. Kitosan, içerdđi fonksiyonel gruplar sayesinde kimyasal modifikasyonlara tâbi tutulabilmektedir ve bu modifikasyonlardan biri karboksimetilasyon sürecidir. Karboksimetilasyon işlemleri ile kitosanın yapısına karboksimetil grupları eklenerek karboksimetil türevlerinin oluşması sağlanmaktadır. Bu türevler ise, nört ya da bazik ortamlarda çözünebilen özellikleriyle maddeyi daha işlevsel hale getirmektedir. Kimyasal ve yapısal değişikliklerle elde edilen karboksimetil kitosan türevleri arasında N,O-karboksimetil kitosan, N-Karboksimetil kitosan ve O-Kaboksimetil kitosan yer almaktadır (Galdino ve diğerleri, 2022).

Nanohidrojel sentezinde kullanılmak üzere O-Karboksimetil kitosan (OCMC) eldesinde yapılan bir çalışmada, FTIR analizi sonuçlarında $1420,21\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen emilim pikinin OCMC'nin karakteristik emilim piki olduğu, $1617,60\text{ cm}^{-1}$ 'deki emilim pikinin ise $-\text{NH}_2$ ve $-\text{COOH}$ reaksiyonuyla amin bağının oluşumunun karakteristik piki olduğu rapor edilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2022). OCMC eldesi için yapılan bir başka çalışmanın FTIR analizi sonuçlarına göre, $3332, 2905$ ve 1050 cm^{-1} 'de sırasıyla $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}$ aksiyel deformasyonu, $-\text{CH}$ aksiyel deformasyonu ve $-\text{CO}$ açısıl deformasyonu görölmektedir, 1580 ve 1415 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar ise karboksimetil kitosan için karakteristik ve sırasıyla $-\text{COO}$ gruplarının simetrik ve asimetrik aksiyel deformasyonlarına karşılık geldiği bildirilmiştir (Galdino ve diğerleri, 2022).

Bu tez çalışması kapsamında karboksimetil kitosan eldesi sonucu FTIR analizi ile test edilmiştir. FTIR spektroskopisi ile kitosan ve karboksimetil kitosanın yapısal farklılıkları incelenmiş ve karboksimetilasyon işleminin başarı durumu değerlendirilmiştir. Elde edilen spektrumlar, karakteristik fonksiyonel gruplara ait piklerin dalga boyu (cm^{-1}) değerleri açısından karşılaştırılmıştır. FTIR analizinde kitosan için $3293,02$; $2879,88$; $2359,48$; $1650,11$; $1557,80$; $1374,68\text{ cm}^{-1}$ dalga boylarında pikler gözlemlenmiştir. Karboksimetil kitosan spektrumunda ise $3280,96$; $2877,39$; $1583,67$; $1404,36$; $1320,69\text{ cm}^{-1}$ bölgelerinde pikler tespit edilmiştir. Özellikle 1650 cm^{-1} bölgesinde görülen pik C=N gerilme titreşimine karşılık gelmekte olup amin gruplarının protonlanması ile ilişkilidir (Huang ve diğerleri, 2016; Puertas-Bartolome, Benito-Garzon, Fung, Kohn, Vazquez-Lasa ve San Roman, 2019). Karboksimetil kitosanda bu pik kaybolmuş veya yerini $1583,67\text{ cm}^{-1}$ pikine bırakmıştır. Bu

durum, amin gruplarının karboksimetilasyon işlemi sırasında karboksimetil grupları ile modifiye olduğunu göstermiştir. Ayrıca, 1404,36 ve 1320,69 cm^{-1} bölgelerinde yeni piklerin oluşumu $-\text{COO}^-$ gruplarının varlığını desteklemiştir (Zhuang, Chen, Xiao ve Jin, 2020; Wang ve diğerleri, 2021). Bu değişiklikler karboksimetilasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini doğrulamaktadır.

Genellikle, imin bağına dayalı kendi kendini iyileştirebilen hidrojel hazırlayabilmek için doğal polimerlerin (hiyalüronik asit gibi) yapısına aldehit grupları eklemek gerekmektedir. Bu amaçla polisakkaritler kimyasal modifikasyon yöntemiyle yükseltgenerek (periyodat yöntemiyle) yapılarına aldehit grupları ($-\text{CHO}$) eklenmektedir ve bu işlem hiyalüronik asidin çapraz bağlanma kapasitesini artırmaktadır. Yükseltgenmiş hiyalüronik asit (OHA) biyomedikal uygulamalarda, biyomalzemelerin yapısal özelliklerini geliştirmek ve biyouyumluluğunu artırmak, yara iyileşme süreçleri, ilaç taşıma sistemleri ve doku mühendisliği gibi alanlarda kullanılmaktadır (Weng, Jia, Li ve Chen, 2022; Song ve diğerleri, 2024).

Poli(etilen glikol) diakrilat (PEGDA) ile radikal reaksiyon ve N-karboksietil kitosan (CEC) ile OHA arasındaki Schiff bazı reaksiyonu kullanılarak hidrojellerin sentezlendiği bir çalışmada OHA karakterizasyonunda FTIR spektrumunda 1723 cm^{-1} 'de bir pik gözlenmiş olup, bu pik OHA'daki aldehit gruplarının simetrik titreşimine ($\text{C}=\text{O}$) karşılık geldiği ifade edilmiştir (You, Li, Dong, Huang, Cao ve Liao, 2018). OHA/Glikol kitosan bazlı hidrojel eldesi yapılan ve 2020 yılında yayınlanan bir çalışmada, sentezlenen OHA FTIR analizi ile karakterize edilerek yapıdaki aldehit gruplarının oluşumu doğrulanmıştır. Modifiye edilmemiş hiyalüronik asit ve OHA'nın FTIR spektrumlarının kıyaslandığı çalışmada OHA'da 1730 cm^{-1} 'de yeni bir absorpsiyon bandının ortaya çıktığı ve bu pikin sodyum periyodat oksidasyonu sonucu oluşan $\text{C}=\text{O}$ bağının gerilme titreşimini temsil ettiği bildirilmiştir. Çalışmanın çıktısına göre OHA karakterizasyonu ile ilgili bu sonuçların aldehit gruplarının hiyalüronik asit iskelesi üzerine başarılı şekilde yerleştirildiği doğrulanmıştır (Lee ve diğerleri, 2020). OHA/sodyum aljinat/karboksimetil kitosan ile hidrojellerin hazırlandığı bir çalışmada OHA'nın FTIR spekturumunda 1732 cm^{-1} 'de, OHA'nın yapısındaki aldehit gruplarının varlığına işaret etmektedir ve bu da hiyalüronik asidin başarıyla OHA'ya oksitlendiğini göstermiştir (Xiao, Liang, Sun, Liu ve He, 2024).

Bu tez çalışması kapsamında, HA sodyum periyodat ile yükseltgenerek OHA sentezi gerçekleştirilmiştir. Yapısal değişimler, FTIR analizi ile değerlendirilmiştir. HA spektrumunda, $3273,04\text{ cm}^{-1}$ 'de geniş bir bant gözlenmiş olup, bu bant hidroksil (-OH) ve amin (-NH) gruplarına işaret etmektedir. OHA spektrumunda ise bu bölgede belirgin bir genişleme gözlenmiş olup, hidroksil gruplarının yükseltgenme sonucu değişime uğradığını ve O-H gruplarının oluştuğunu düşündürmüştür. $1605,17\text{ cm}^{-1}$ ve $1402,20\text{ cm}^{-1}$ bölgelerinde amid ve karboksil gruplarına ait karakteristik bantlar gözlenmiştir. OHA spektrumunda, bu bantların şiddetinde artış ve dalga sayılarında kaymalar meydana gelmiştir. Bu değişim, yükseltgenme işlemi sonucunda aldehit veya karboksil gruplarının oluştuğunu ve karbonil içeriğinin arttığını göstermiştir (Park, Kim, Lee ve Lee, 2017; Lee ve diğerleri, 2020; Weng, Jia, Li ve Chen, 2022). FTIR sonuçları, hidroksil ve karbonil bölgelerindeki değişimlerin, HA'nın yükseltgenmesiyle polimer zinciri üzerinde oksidatif modifikasyonların gerçekleştiğini ve yapısal dönüşüm meydana geldiğini göstermiştir (Chen, Su, Yang, Gefen ve Lin, 2013; Zhang ve diğerleri, 2024).

Hidrojeller, suyu yüksek oranda tutabilen ve üç boyutlu ağ yapısına sahip biyopolimerlerdir. Bu özellikleri, onları biyomedikal uygulamalarda, özellikle yara iyileşmesi, doku mühendisliği ve ilaç taşıma sistemlerinde ideal materyaller haline getirmektedir. Hidrojeller, yumuşak doku ve hücre dışı matriks ile uyumlulukları sayesinde biyolojik ortamlarla etkileşimlerde bulunurken, su tutma kapasiteleri sayesinde dokuların sıvı dengesine destek olabilmektedir. Ayrıca, fiziksel ve kimyasal özelliklerin ayarlanabilir olması, çeşitli terapötik ve biyoteknolojik alanlarda geniş kullanım imkânı sunmaktadır (Li ve diğerleri, 2024; Chhillar ve Jaiswal, 2025; Hu, Xv, Xie ve Lu, 2025).

Kitosan ve dialdehit nişastadan oluşan Schiff bazı reaksiyonu yoluyla kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin sentezinin gerçekleştirildiği bir çalışmada, sentez ürünü hidrojellerin yapısal özellikleri FTIR spektroskopisi ile belirlenmiştir. Kitosan molekülünün FTIR spektrumunda $1634,6\text{ cm}^{-1}$ amid gruplarını temsil eden, dialdehit nişasta molekülünün ise 1660 cm^{-1} 'de gözlenen ve dialdehit grubunun karakteristik C=O gerilme titreşimini temsil eden pik görülmüştür. Schiff bazı reaksiyonu yoluyla sentezlenen hidrojellerin yapısında ise C=N gerilme titreşimine denk gelen $1629,6\text{ cm}^{-1}$ 'de yeni bir pik kaydedilmiştir. Bu pik değişimi Schiff bazı ile hidrojellerin başarılı bir şekilde hazırlandığını göstermektedir. Hidrojellerin morfolojisinin incelenebilmesi için yapılan SEM analizinde, kitosan ve dialdehit nişasta katmanlarının birbiri ile iç içe geçerek çapraz bağlı hidrojelleri

oluşturduğu bildirilmiştir. Kendi kendini iyileştirme performansını incelemek için hidrojel üzerinde skapel ile oluşturulan kesik bölgesine su eklenen çalışmada, su etkisiyle Schiff bazı yoluyla çapraz bağlı hidrojellerin genişleyerek birbirine doğru kesik bölgeden yaklaştığı ve temas ettiği, temas bölgesinde bağların yeniden oluşmasıyla yapının yeniden kendi kendini inşa ettiği, bu yeniden inşa sürecinin 10 dakika içinde gerçekleştiği bildirilmiştir (Ren, Li, Yuan, Pang, Lu ve Ge, 2020). Kemik doku mühendisliğinde osteojenik farklılaşmayı indüklemeye potansiyelini incelemek amacıyla glikol kitosan/OHA ve grafen oksit takviye edilmiş enjekte edilebilir hidrojellerin hazırlandığı bir çalışmada, glikol kitosan, OHA ve grafen oksit çözeltileri oda sıcaklığında karıştırılmış ve hazırlanan sulu çözeltilerin herhangi bir ek çapraz bağlayıcıya ihtiyaç duymadan hidrojel matrisine dönüştüğü gözlemlenmiştir. Yapıdaki OHA miktarı arttıkça jelleşme süresinin giderek azaldığı, jel oluşumunun hızlandığı ve bu durumun OHA'daki yüksek aldehit grubunun glikol kitosanın amin gruplarıyla reaksiyona girerek hızlı jel oluşumuna neden olmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir. Çalışmada hazırlanan glikol kitosan/OHA/grafen oksit hidrojeller SEM analizi ile morfolojik olarak incelenmiş, farklı konsantrasyonlardaki grafen oksitin (18, 36, 72 $\mu\text{g/mL}$) morfolojik yapı üzerinde neden olduğu değişiklikler değerlendirilmiştir. SEM görüntülerinde hidrojellerin birbirine bağlı gözenek yapıları ve üç boyutlu ağlarının mevcudiyeti ortaya koyulmuştur. Sadece glikol kitosan ve OHA ile hazırlanan hidrojin orantısız bir gözenek yapısına sahip olduğu, buna karşın glikol kitosan /OHA/grafen oksit hidrojin daha eşit bir gözenek yapısı ve homojen dağılım sergilediği gözlemlenmiştir. Grafen oksit içeriğinin artmasının, gözenek boyutunu azaltma yönünde etki sağladığı bildirilmiştir. Bu sonuç, polimer zincirleri ile grafen oksit arasındaki güçlü hidrojen bağlarının etkileşiminin, hidrojen matrisindeki sertleşme süreci sırasında bir nükleasyon ajanı olarak görev yapabileceği anlamına gelmektedir şeklinde ifade edilmiştir (Lee ve diğerleri, 2020).

Yara iyileşmesi ve kanamayı durdurma uygulamaları için yeni enjekte edilebilir hidrojellerin hazırlanmasının hedeflendiği bir başka çalışmada, kitosan ve hiyalüronik asit doğal polisakkaritleri kullanılmış, kitosan karboksimetilasyon işlemi ile nötr pH'de çözünebilir forma getirilirken, hiyalüronik asit sodyum periyodat ile oksitlenerek OHA sentezi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yapılan FTIR analizi sonucuna göre, 1733 cm^{-1} 'de noktasındaki pik, OHA'daki aldehit grubunun -C=O gerilme titreşimiyle ilişkilendirilmiştir. Karboksimetil kitosan spektrumuna, 1405 ve 1554 cm^{-1} 'deki pikin, karboksimetil kitosan yapısındaki -COO grubu ve -NH- grubuna ait olduğu belirtilmiştir. Karboksimetil

kitosan/OHA tabanlı hidrojinin ise FTIR analizinde 1622 cm^{-1} 'de bir pik gösterdiği ve bu pik konumunun imin bağının karakteristik piki olduğu bildirilmiştir. Hidrojinin morfolojisinin SEM ile analiz edildiği çalışmada, sünger benzeri morfolojiye sahip ve biribine bağlı gözeneklerden oluşan hidrojel tespit edilmiştir. Ortalama gözenek çapı $148,1 \pm 32,5\text{ }\mu\text{m}$ olarak belirtilmiştir. Hidrojellerde gözenek çapının küçülmesinin kan ve yara alanındaki hücrelerle daha büyük temas alanı oluşturabileceği ve dolayısıyla yara iyileştirme kapasitesini güçlendirebileceği ifade edilmiştir (Ahmed, 2015; Kasai ve diğerleri, 2023; Thang, Chien ve Cuong, 2023). Hidrojinin kendi kendini iyileştirebilme özelliğinin incelendiği çalışmada iki farklı renkte hidrojel hazırlanmıştır. Hazırlanan hidrojeller oda sıcaklığında yüzeyleri temas edecek şekilde 20 dakika bekletilmiştir. Bu aşamada başka hiçbir müdahale yapılmamıştır. Hidrojellerin 20 dakika içerisinde birleşerek kendi kendini iyileştirme özelliği gösterdiği rapor edilmiş ve bu mekanizmanın dinamik imin bağlarının oda sıcaklığında Schiff bazı reaksiyonu ile kendiliğinden oluşabilmesinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, hidrojinin sitotoksitesi CCK-8 tekniği ile L929 hücre hattı üzerinde belirlenmiştir. Hidrojinin L929 hücreleri üzerinde düşük sitotoksite gösterdiği, 24 saatte %69,3 ve 48 saatte %61,3 hücre canlılık oranına sahip olduğu belirtilmiştir (Weng, Jia, Li ve Chen, 2022). Toksisitenin, OHA üzerindeki reaksiyona girmemiş serbest aldehit gruplarına bağlanabileceği ifade edilmiştir (Aziz ve diğerleri, 2015; Nguyen ve diğerleri, 2019). 2021 yılında yayınlanan başka bir çalışmada araştırmacılar, gözün iç kısmındaki vitreus sıvısının yerine kullanılmak üzere CMCS ve OHA kullanarak biyouyumlu ve kendi kendini iyileştirebilen hidrojel geliştirmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda OHA (%1, %2, %3, %4) ile hazırlanan hidrojellerin jelleşme süreleri tüp ters çevirme yöntemiyle belirlenen çalışmada, en yüksek OHA konsantrasyonuna (%4) sahip hidrojinin 60 saniyede jelleşerek en kısa jelleşme süresini sergilediği bildirilmiştir (Wang ve diğerleri, 2021). Jelleşme süresinin OHA konsantrasyonundaki aldehit gruplarının amino gruplarıyla yeterli temasında daha kısa olacağı kaydedilmiştir (Huang, Zhang, Wu ve Zu, 2016; Islam ve diğerleri, 2020).

2021 yılında Wang ve diğerleri tarafından yapılan hidrojinin kendi kendini iyileştirme yeteneği, herhangi bir ek işlem uygulamadan kesilmiş iki hidrojel parçasının yeniden birleşmesiyle doğrulanan çalışmada, birleşen parça 1 saatlik iyileşme sürecinin ardından pens yardımı ile kaldırıldığında hidrojinin kendi ağırlığını taşıyabildiği, hidrojellerin ilk birleştiğinde iki farklı renkteki ara yüzün (birleşme noktası) belirgin şekilde görülebildiği, 1 saatlik süre sonunda bu noktanın tamamen homojen hale gelerek görülemeyişi rapor edilmiştir. Hidrojinin üç boyutlu yapısı ve morfolojisinin incelenebilmesi için yapılan SEM

analizinde 250-500 μm arasında değişebilen por genişliğine sahip hidrojelcer bildirilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki OHA'lar ile hazırlanan hidrojelcerin incelendiği SEM analizinde çapraz bağlanma derecesinin artmasıyla hidrojel iç yapısında daha fazla çapraz bağlanma noktasının oluştuğu, çapraz bağlanma noktaları arasındaki mesafenin kısalmasıyla gözenek boyutunun azaldığı, bu çalışmada gözün iç kısmındaki sıvı yerine kullanımı araştırılan hidrojelcerde, malzeme dolaşımı ve değişimi açısından büyük gözenekli yapıların daha fazla avantaj sağlayacak olması sebebiyle %3 OHA konsantrasyonuyla hazırlanan hidrojinin çok daha iyi performans gösterebileceği kaydedilmiştir. Aynı çalışmada biyoyumluluk MTT analiziyle değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı %70'in üzerinde olan hidrojel, kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir (Nandhini, Karthikeyan ve Rajeshkumar, 2024). Fare fibroblastları L929 hücreleri üzerinde yapılan testlerde, hidrojinin hücrelerle uyumlu ve toksik etki göstermediği belirlenmiştir (Hücre canlılığı %85) (Wang ve diğerleri, 2021).

Bu tez çalışması kapsamında hazırlanan CMCS/OHA hidrojelcerin FTIR analizi sonucunda görülen C=N gerilme titreşiminden kaynaklanan $1637,71\text{ cm}^{-1}$ konumundaki pik (Cui ve diğerleri, 2022; Yuan ve diğerleri, 2023), literatürde aynı polimerler ile hazırlanan hidrojelcerin FTIR analizi sonucu ile uyum göstermektedir. Hidrojel hazırlama sürecinde farklı konsantrasyonlarda OHA zelteleri ile hidrojel oluşumunun gözlemlenmesinin hedeflendiği bu tez çalışmasında, sadece %1 ve %2'lik konsantrasyonlar başarı ile hazırlanırken, %3 ve %4 OHA zelteleri çözünürlük açısından oluşturduğu zorluklar ve yoğun yapısı sebebiyle suda tam çözünme gsterememesiyle hazırlanamamıştır. Bu durumda, %1 OHA konsantrasyonuyla hazırlanan hidrojinin jelleşme süresi 3 dakika 45 saniye, %2 OHA konsantrasyonuyla hazırlanan hidrojinin jelleşme süresi 1 dakika 15 saniye olarak belirlenmiştir. OHA konsantrasyonu arttıķa, aldehit gruplarının yoğunlaşmasıyla birlikte, çapraz bağlanma reaksiyonları hızlanmakta ve bu durum jelleşme süresinin kısalmasını sağlamaktadır (Zhao ve diğerleri, 2023; Satchanska, Davidova ve Petrov, 2024). Elde edilen bulgular, literatürde benzer koşullarda yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, önceki araştırmalarla uyumlu sonuçlar ortaya koymakta ve mevcut verilerimizi destekler niteliktedir. %2 OHA ve %5 CMCS zelteleri farklı oranlarda (1/1; 1/2; 1/3; 1/4; 1/5) (v/v) birleştirilerek jelleşmeler gözlemsel olarak incelenmiş ve enjekte edilebilir forma en yakın olması sebebiyle 1/1 birleştirme oranı tez çalışmasında kullanılmak için seçilmiştir. Hazırlanan hidrojinin, kendi kendini iyileştirme özelliği gösterdiği belirlenmiş ve bu özellik hasar gördükten sonra yalnızca 5 dakika içerisinde gerçekleşmiştir. Bu zellik ve süreç,

materyalin iç yapısını hızlı bir şekilde yeniden düzenleyerek fonksiyonel bütünlüğünü kazanabildiğini göstermiştir. SEM analizi, AgNP ile fonksiyonelleştirilmiş hidrojellerin morfolojik özelliklerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Ancak, hidrojellere özgü karakteristik gözenekli yapının SEM görüntülerinde belirgin şekilde gözlemlenememesi, yüksek su tutma içeriğine sahip hidrojellerin uygun şekilde kurutulamaması ve bu süreçte meydana gelen çökmeler sonucu gözeneklerin kapanması ya da polimer konsantrasyonu ve çapraz bağ yoğunluğunun artışı ile ilişkilendirilebilir (Liu ve diğerleri, 2018; Shitrit, Davidovich-Pinhas ve Bianco-Peled, 2019; Palomino ve diğerleri, 2019). Bu duruma bağlı olarak, gözenek boyutlarının küçülmesi beklenebilir. SEM görüntüleri, AgNP ile fonksiyonelleştirilmiş hidrojellerin katmanlı, düzensiz gözenekli ve kıvrımlı bir morfolojiye sahip olduğunu göstermiştir. Şekil 4.16'da tespit edilen parlak alanlar ise gümüş elementinin varlığına işaret etmektedir. Bulgular, EDX analizi ile desteklendiğinde, AgNP yüklü hidrojellerin başarılı şekilde sentezlendiği doğrulanmıştır. EDX analizi hidrojin kimyasal bileşiminin doğrulanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Analiz sonucunda, karbon ve oksijen elementlerinin varlığı, hidrojellerin polimer yapısından kaynaklanabilmektedir. Karakteristik gümüş piklerinin gözlemlenmesi, AgNP'lerin hidrojellerin yapısına başarılı şekilde entegre edildiğini göstermektedir. Ayrıca, silisyum ve sodyum elementlerinin varlığı sentez esnasında kullanılan reaktanlar veya sentez ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan cam malzemelerin yüzeyinden kaynaklanıyor olabilir. EDX analizinde gümüş piklerinin varlığının gözlemlenmesiyle, AgNP içeren hidrojellerin kimyasal bileşimi doğrulanmış ve nanopartiküllerin hidrojin yapısına entegrasyonunun başarılı olduğu ortaya koyulmuştur.

Hidrojin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi çalışmasında, HaCat hücreleri üzerinde gerçekleştirilen MTT analizi sonuçları, hidrojin 24 saatlik inkübasyon süresince test edilen konsantrasyonlarda hücre canlılığı üzerinde bir etki göstermediğini ortaya koymuştur. Ancak, 48 saatlik inkübasyon süresinde, 0,1 mg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığında bir azalma gözlemlenmiştir. 0,5 ve 1 mg/mL konsantrasyonlarında ise, 48 saatlik inkübasyon süresine rağmen kontrol grubuna kıyasla bir farklılık görülmemiştir. Elde edilen bulgular, hidrojin HaCaT hücreleri üzerindeki etkisinin inkübasyon süresi ve uygulanan konsantrasyon düzeyine bağlı olarak değişiklik gösterebildiğini ortaya koymuştur. HFF-1 hücreleri üzerinde yapılan çalışmanın bulgularına göre, 24 saatlik inkübasyonda, kontrol grubu ile farklı konsantrasyonlardaki hidrojel grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiş bu da kısa süreli maruziyetin HFF-1 hücreleri üzerinde belirgin bir toksik etki oluşturmadığını göstermiştir. Ancak, 48 saatlik inkübasyonda 1 mg/mL hidrojel grubunda

hücre canlılığı azalmış bu da toksisitenin hem zamana hem de konsantrasyona bağlı olarak değişebileceğini ortaya koymuştur. Buna karşın, 0,1 ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında 48 saatlik maruziyet sonrasında kontrol grubuyla bir fark saptanmamıştır. Sonuçlar, uzun süreli maruziyetin yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığını olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir.

Yerel bakteriyel enfeksiyonlar, küresel ölçekte halk sağlığını tehdit eden önemli sorunlardan biri haline gelmiş olup, enfeksiyonların klinik ortamlarda kontrol altına alınması hala ciddi bir zorluk oluşturmaktadır. Geleneksel sistemik antibiyotik tedavileri ise sıklıkla istenmeyen yan etkilere ve bakteriyel direnç gelişimine neden olmaktadır. Bu bağlamda, ilaç direnci oluşturmayan ve çok yönlü biyofonksiyonel özellikler taşıyan hidrojellerin kullanımı, enfeksiyon yönetiminde etkili ve yenilikçi bir yaklaşım olarak ön plana çıkmaktadır. Hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandırılmasına yönelik çalışmalar ise halen devam etmektedir (Jia ve diğerleri, 2023; Khattak ve diğerleri, 2024).

Bakteriyel enfeksiyonlar, yara iyileşme sürecini geciktirebilmektedir. İdeal bir yara örtüsünün ise enfeksiyonlara karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olması gerekmektedir. AgNP'ler hidrojellere antibakteriyel aktivite kazandırmak amacıyla kullanılabilir (Chen ve diğerleri, 2018; Lei ve diğerleri, 2019; Bertsch, Diba, Mooney ve Leeuwenburgh, 2022). Elektroaktif ve kendi kendini iyileştirebilen polipirrol (PPy) ile jelatin bazlı hidrojel, polidopamin (PDA) ile kaplanmış AgNP'ler içeren nanokompozit hidrojellerin antibakteriyel aktiviteleri *E. coli* ve *S. aureus* test mikroorganizmaları üzerinde koloni oluşturan birim tekniği ile çalışmış ve nanokompozit hidrojellerin patojen mikroorganizmalarının %90'ını öldürdüğü ve iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Wang ve diğerleri, 2021). Pektin/polimetilhekziloaktilat ve akrilik asit (p(HEMA-ko-AAc)/AgNP nanokompozit hidrojellerin hazırlandığı bir çalışmada, sentezlenen hidrojellerin antibakteriyel aktiviteleri *B. cereus* ATCC 10876 ve *E. coli* ATCC 25922 patojen test mikroorganizmaları üzerinde disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. AgNP içermeyen hidrojellerin kontrol grubu olarak kullanıldığı çalışmada, kontrol grubunun patojen mikroorganizmaları üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada, AgNP yüklü hidrojellerin ise mikroorganizmalar üzerinde iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği ifade edilmiştir (Kıvanç, Önder, Cömert Önder ve Ilgın, 2023). Antibiyotiklerin aşırı kullanımı, bakteriyel direnç oluşumuna yol açarak yara iyileşmesini önemli ölçüde engelleyen bir faktör haline gelmiştir. Yara iyileşmesini teşvik etmek amacıyla,

antibakteriyel ve anti-inflamatuvar çift fonksiyonlu karbon noktalar (AAB-CD) ve ϵ -poly(L-lizin)(EPL) aktif ana bileşen olarak kullanılarak geliştirilen hidrojel yara örtülerinin antibakteriyel aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan EPL@ AAB-CD'ler (%1, %2 ve %3) *E. coli* ve *S. aureus* ile disk difüzyon yöntemiyle analiz edilmiş, EPL@AAB-CD eklenmemiş konsantrasyon (%0) kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sonuçlarda, EPL@AAB-CD içermeyen hidrojelin test edilen patojen mikroorganizmalar üzerinde minimal inhibe edici etkiler gösterdiği, ancak %2 ve %3 EPL@AAB-CD konsantrasyonuna sahip hidrojellerin her iki bakterinin de gelişimini etkili şekilde baskıladığı bildirilmiştir. Çalışmada *S. aureus* için; %0, %1, %2 ve %3 EPL@AAB-CD'ler için sırasıyla, 10 mm, 12,3 mm, 28,54 mm ve 22,4 mm; *E. coli* için ise, 11,25 mm, 15,2 mm, 23,75 mm ve 26,22 mm'lik inhibisyon zonları rapor edilmiştir. EPL@ABB-CD içermeyen kontrol grubu ile kıyas edildiğinde EPL@AAB-CD içeren hidrojellerin doz arttıkça antibakteriyel aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir (Yu ve diğerleri, 2024).

Akut ve kronik diyabetik cilt yaralarının iyileşmesini destekleyen biyoaktif bir kompozit hidrojel geliştirilmesi hedeflenen başka bir çalışmada hidrojel CMCS, kitosan nanopartikülleri, biyoaktif cam ve titanyum dioksit (TiO_2) nanopartikülleri kullanılarak (CMCS-CEBT hidrojel) sentezlenmiştir. TiO_2 nanopartiküllerin biyolojik uygulamalar için hidrojellerin antibakteriyel aktivitesini önemli ölçüde artırdığı ancak yara tedavisi stratejilerinde kullanılan TiO_2 nanopartiküllerin konsantrasyonunun dikkatlice optimize edilmesi gerektiği aksi taktirde aşırı konsantrasyonların nöral veya epitel hücreler için toksisiteye neden olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada hidrojelin antibakteriyel aktivitesi *S. aureus* ve *E. coli* patojen mikroorganizmaları üzerinde koloni oluşturan birim tekniği kullanılarak incelenmiştir. CMCS-CEBT hidrojelin *E. coli*'nin bakteriyel büyümesini $94,5 \pm 1,9$, *S. aureus*'un büyümesini ise $92,1 \pm 1,7$ oranında baskıladığı bildirilmiştir (Shang, Zhuang, Chen, Zhang, Jiang ve Li, 2024)). TiO_2 'in yaygın olarak kullanılan bir nanopartikül olduğu, titanyum kaplı yara pansumanlarının yara iyileşme verimliliğini önemli ölçüde artırabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Archana, Singh, Dutta ve Dutta, 2013; Motasadizadeh, Azizi, Shaabani, Sarvestani, Sedghi ve Dinarvand, 2022). Yapılan benzer çalışmalar TiO_2 'nin çeşitli kombinasyonlarının antibakteriyel etkinliğini artırdığını, TiO_2 'nin bakteri hücre duvarının yapısına kolayca nüfuz ederek sitoplazmaya girebileceği ve normal metabolizmayı bozabileceğini ve ayrıca DNA'daki fosfat gruplarıyla doğrudan etkileşime girerek bakterilerin çoğalmasını baskılayabileceğini göstermiştir (Ismail, Amin, Majid ve Razali, 2019; Gowda ve diğerleri, 2023; Mohanto ve diğerleri,

2023). Bu çalışma ile, TiO₂ bazlı hidrojin *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel etkinliği doğrulanmıştır. Karbon kuantum noktaları (CQD) ile fonksiyonelleştirilmiş kendi kendini iyileştirebilen hidrojinlerin sentezlendiği bir çalışmada, hidrojinin antibakteriyel aktivitesi MRSA ATCC 43300 ve *S. aureus* ATCC 25923 test mikroorganizmaları ile koloni oluşturan birim yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda, kontrol grubunda canlılığın %100 olduğu ve CQD ile fonksiyonelleştirilmiş hidrojinlerde canlılığın %0 olduğu ve hidrojinlerin antibakteriyel aktivitesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Lu ve diğerleri, 2024).

Bu tez çalışması kapsamında, OHA ve CMCS bazlı hidrojinler sentezlenmiş ve bu hidrojinlere antibakteriyel etkinlik kazandırmak amacıyla daha önce karakterizasyon çalışmaları tamamlanmış olan KC66L-AgNP'ler ile fonksiyonelleştirilmiştir. KC66L-AgNP'lerin hidrojinlere entegrasyonu, belirlenen MİK konsantrasyon değerleri (*E. coli* ATCC 11229, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 için 0,05 mg/mL; *P. aeruginosa* ATCC 27853 için 0,025 mg/mL) ve yüksek konsantrasyonların (0,1-0,2 mg/mL) antimikrobiyal etkisileri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. KC66L-AgNP içeren hidrojinlerin antimikrobiyal etkinliği bakteri türüne ve konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermiş olmakla birlikte patojen mikroorganizmaların MİK değerinin altında antimikrobiyal göstermedikleri ve AgNP konsantrasyonu arttıķķa (*P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı 0,2 mg/mL AgNP konsantrasyonu hariç) antimikrobiyal aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç, KC66L-AgNP içeren hidrojinlerin antibakteriyel aktivitesinin doza bağlı olduğunu ve aktivitenin ortaya çıkabilmesi için MİK değerinin aşılması gerektiğini gstermişir. MİK değerinin altındaki dozlarda antimikrobiyal aktivitenin gözlemlenmemesi, hem AgNP'lerin hücre zarına zarar verebilecek düzeye ulaşmadığını hem de ROS üretiminin veya iyon salımının yetersiz kaldığını düşündürmüştür. Elde edilen bulgular, literatürde belirtilen nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitenin hem konsantrasyon hem de etkileşim süresi gibi parametrelerden etkilendiğini desteklemiştir (Rai ve diğerleri, 2012). Ayrıca bu eşik değerin altındaki konsantrasyonlarda nanopartiküllerin, bakterilerin savunma mekanizmalarını aşabilecek yeterli düzeyde membran hasarı, DNA bozulması ya da enzim inhibisyonu oluşturamadığını da düşündürmüştür. Bu durum, hidrojin içinde serbest kalabilen AgNP miktarının, belirli bir sınırın altındaa etkisiz olacağını, dolayısıyla formülasyonda kullanılacak nanopartikül dozunun mikrobiyal hedefe göre optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Aynı zamanda, hidrojinlerin kontrollü salım

sistemleri olarak etkinliklerinin ancak yeterli AgNP yüklemesiyle başarı gösterebileceğini göstermiştir.

KC66L-AgNP'lerin ve KC66L-AgNP içeren hidrojellerin antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırıldığında; hidrojellerin (*S. epidermidis* ATCC 35984'e karşı tüm konsantrasyonlardaki hidrojellerin ve *P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı 0,025 ve 0,5 mg/mL AgNP içeren hidrojelleri hariç) serbest KC66L-AgNP'lere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. *P. aeruginosa*'ya karşı 0,025 ve 0,5 mg/mL AgNP içeren hidrojellerin serbest KC66L-AgNP'lerden daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermesinin AgNP salımının yetersiz olması veya AgNP yoğunluğunun hidrojelde agregasyona veya geçirgenlik sorunundan olduğu düşünülmüştür. *S. epidermidis* ATCC 35984'e karşı KC66L-AgNP içeren hidrojellerin tüm dozlarda (0,025; 0,05; 0,1; 0,3 mg/mL) serbest KC66L-AgNP'lere kıyasla daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermesi ise hidrojel matrisinin AgNP aktivitesini bu patojen bakteri türü üzerinde sınırlamış olabileceğini düşündürmüştür. Elde edilen bulgular, KC66L-AgNP'lerin antibakteriyel etkisinin hidrojel formülasyonlarında etkin şekilde kullanılabilmesi için belirli bir konsantrasyon aralığında uygulanmasının gerekli olduğunu, hidrojel matrisinin bazı koşullarda bu etkinliği artırabildiğini ancak bu durumun bakteri türüne ve formülasyon parametrelerine bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, antimikrobiyal hidrojel tasarımlarında mikroorganizmaya özgü optimizasyon ve uygun doz ayarlaması büyük önem taşımaktadır. Elde edilen bulgular, AgNP-yüklü biyomalzemelerin yara iyileşmesi gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmasına yönelik ileri düzeyde çalışmalar için değerli bir temel sunmaktadır.

OHA ve CMCS bazlı hidrojellere AgNP'ler ile antibakteriyel etkinlik kazandırmaya yönelik çalışmaların sınırlı olması, bu sistemlerin sentezi, stabilitesi ve biyouyumluluğuna dair çalışmaların detaylandırılması gerekliliğini göstermektedir. Bu tez çalışmasında, OHA ve CMCS'nin KC66L-AgNP'ler ile fonksiyonelleştirilmesi sağlanarak hidrojellere antibakteriyel etkinlik kazandırılmış ve farklı konsantrasyonlardaki AgNP yüklemesinin antibakteriyel performans üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu yönüyle çalışma, OHA/CMCS/AgNP bazlı hidrojellerin antibakteriyel performansına ilişkin literatürdeki eksikliği gidermeye yönelik önemli veriler sunmakta olup, benzer içerikli araştırmalar için referans niteliğinde bir kaynak oluşturma potansiyeline sahiptir.

ICP-MS, iyonize edilmiş elementlerin kütle spektrumlarını analiz etmek için kullanılan yüksek hassasiyetli bir tekniktir. Bu yöntem, özellikle metal iyonlarının ve elementlerin ölçülmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Vidmar, Hassmann ve Loeschner, 2021). Nanopartiküllerin salınımı, biyomateriyallerin ve ilaç taşıyıcı sistemlerin analizi gibi alanlarda, salınan metal iyonlarının konsantrasyonlarını yüksek doğrulukla tespit etmek, nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki salınım hareketlerini incelemek ve bu malzemelerin toksikolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılabilir (Frickenstein ve diğerleri, 2023). Bu teknik, özellikle AgNP gibi metalik özellik gösteren malzemelerin salınımının izlenmesinde etkili bir tekniktir (Mansor ve diğerleri, 2021; Laycock ve diğerleri, 2022).

Streptomyces sp. AU2 postbiyotiğinden sentezi gerçekleştirilen AgNP'ler ile kaplanmış cerrahi sütürlerin antimikrobiyal özellikleri ve biyouyumluluğunun incelendiği bir çalışmada (Baygar ve diğerleri, 2019), sütürlerin bakteriyel enfeksiyonlara karşı dirençli hale getirilmesi ve yaraların iyileşme sürecinin hızlandırılması hedeflenmiştir. AgNP ile kaplı sütürlerden gümüş salınımını belirlemek amacıyla PBS çözeltisinde örnekler 21 gün boyunca inkübe edilmiş ve gerekli miktarda çözünür madde 1, 7, 14 ve 21. günlerde alınarak gümüş konsantrasyonu ICP-MS kullanılarak analiz edilmiştir. AgNP kaplı sütürlerden inkübasyon süresi boyunca gümüş miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Birinci günde gümüş tespit edilememiş ancak sırasıyla 4., 7. ve 21. günlerde ölçülen gümüş miktarları 0,50 µg/L, 1,31 µg/L, 2,93 µg/L olarak tespit edilmiştir. Scihierholz ve diğerlerine (1998) göre, gümüş konsantrasyonu >10 mg/L olan seviyeler, belirli insan hücreleri için toksik kabul edilmemektedir. Benzer sonuçlar Gallo ve diğerleri (2018) tarafından da bildirilmiştir; multifilament poliglaktin sütürler AgNP ile kaplanmış ve zamanla gümüş salınımının arttığı belirlenmiştir. Gümüş kaplı sütürlerde bu miktar 0,28 ppm'den 1. günde 0,54 ppm'e çıkmıştır. AgNP'lerin, mikroorganizmaların çoklu ilaç direncine karşı potansiyel bir antimikrobiyal ajan olarak, bu soruna çözüm sunabilecek umut verici bir çözüm olabileceği bildirilmiştir (Zhang, Liu, Wang, Peng ve Wong, 2014). 2020 yılında yapılan ve AgNP'lerin kontrollü salınımını sağlayan hidrojelatin geliştirildiği bir çalışmada, hidrojel konjak glukomannan (KGM) ve kitosan polimerlerinden sentezlenmiş ve enfekte olmuş yaraların tedavisinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Çalışmanın amacı, AgNP'lerin antibakteriyel özelliklerinden yararlanarak yaraların enfeksiyon riskini azaltmak ve iyileşme sürecini hızlandırmaktır. Konjak glukomannan ve kitosan, hidrojelatin yapısal bileşenleri olarak kullanılarak, gümüş iyonlarının kontrollü bir şekilde salınımını sağlamak için uygun bir

ortam oluşturulmuştur. Gümüş iyon salınımının ölçülmesi için ICP-MS kullanılan çalışmada, hidrojellere entegre edilen AgNP konsantrasyonları 200 ve 400 µg/mL olarak belirlenmiştir ve aynı zamanda AgNP'lerden de gümüş iyon salınımı değerlendirilmiştir. Her iki grupta zayıf asidik çözelti (pH=5) içeren test tüplerine daldırılmış ve bu test tüplerinde bulunan çözeltilerden 12, 24, 48 ve 72 saat sonra alınan örneklerdeki gümüş iyonlarının absorbanı ölçülmüştür. Gümüş iyon konsantrasyonunun salınımının kademeli olarak gerçekleştiği ifade edilen yayında, saf AgNP'ler ile karşılaştırıldığında AgNP entegre edilmiş hidrojellerden gümüş iyonlarının salınım hızı daha düşük bulunmuştur (400 µg/mL AgNP 72 saatte yaklaşık 0,15 µg/mL, 200 µg/mL AgNP 72 saatte yaklaşık 0,05 µg/mL, 400 µg/mL AgNP entegre edilmiş hidrojel 72 saatte yaklaşık 0,10 µg/mL'den daha az ve 200 µg/mL AgNP entegre edilmiş hidrojel 72 saatte 0,05 µg/mL'den daha az salınım göstermiştir). Bu bulgu, AgNP ilave edilmiş hidrojellerin enfekte yaralar için daha kontrollü salınım sağladığını ve daha güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir (Jiang, Huang, Wu, Ren, Li ve Ren, 2020).

Bu tez çalışması kapsamında, yapılan ICP-MS analizi sonucunda, gümüş salınımının zamana bağlı olarak arttığı ve başlangıçtaki AgNP konsantrasyonuna bağlı olarak farklılıklar gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak ölçümlerin doğruluğunu değerlendirebilmek için cihazın Metot Tespit Limiti (MDL) dikkate alınarak yorum yapılması önemlidir. ICP-MS cihazının MDL değeri 0,5 ppm (0,0005 mg/L) olarak belirlenmiştir. Bu değerin altında kalan ölçümler, cihazın algılama sınırında gerçekleştiği için kesin miktar belirlemede düşük güvenilirliğe sahip olabilir. Özellikle daha düşük başlangıç konsantrasyonlarına sahip hidrojellerde (25 ppm ve 50 ppm) ölçülen salınım miktarının MDL'ye çok yakın olduğu veya altında kaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, düşük konsantrasyon gruplarında elde edilen değerlerin analitik belirsizlik içerebileceğini göstermektedir. Buna karşın, 200 ppm ve 500 ppm başlangıç konsantrasyonuna sahip gruplarda ölçülen gümüş seviyelerinin MDL'nin üzerinde olduğu ve bu nedenle daha güvenilir sonuçlar sağladığı değerlendirilmiştir.

ICP-MS analizleri ile elde edilen veriler KC66L-AgNP entegre edilmiş hidrojellerin zamana bağlı olarak belirli bir salınım profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Sonuçlar ayrıca, hidrojellerin kontrollü ve sürekli bir salınım mekanizması olduğunu göstermektedir. Ancak, düşük başlangıç konsantrasyonlarında MDL'nin altına inildiği durumlarda, elde edilen sonuçların doğruluğunun sınırlı olabileceği ve dikkatlice değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (He, Huang, Zhao, Chen ve Hu, 2017). Bu nedenle, gelecekteki

Çalışmalarda, daha düşük MDL'ye sahip cihazların kullanılması veya alternatif hassas analitik tekniklerle değerlendirilmesi önerilmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte, biyomedikal uygulamalarda metal nanopartiküllerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Özellikle AgNP'ler, antimikrobiyal ve biyouyumluluk özellikleri sayesinde önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Ancak, AgNP'lerin stabilitesini artırmak ve kontrollü salınımını sağlamak amacıyla uygun taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, yüksek su tutma kapasitesi, biyouyumluluk ve kontrollü salınım özellikleriyle öne çıkan hidrojeller, nanopartikül bazlı uygulamalar için ideal bir platform sunmaktadır. Bu tez çalışmasında, AgNP'ler ile antibakteriyel etkinlik kazandırılmış bir hidrojel sentezlenerek karakterize edilmiş ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu tez çalışması, AgNP'lerin biyolojik sentezi, optimizasyonu, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerine ilişkin temel ve kapsamlı bilgiler sunmaktadır. Ayrıca, hidrojel sentezi ve karakterizasyonunun yanı sıra, bu hidrojellere antibakteriyel özellik kazandırılmasıyla ilgili olarak literatüre önemli katkılar sağlamaktadır.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı stok kültür koleksiyonunda bulunan, 16sRNA yöntemleriyle tanımlanmış potansiyel probiyotik bir laktik asit bakterisi olan *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşunun postbiyotiğinden AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Mevcut literatür incelendiğinde, laktik asit bakterileriyle (LAB) gümüş nanoparçacık (AgNP) sentezi üzerine çeşitli çalışmalar bulunmasına rağmen, *Lactobacillus salivarius* türü kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu bağlamda, tez çalışmamızda kullanılan *L. salivarius* suşu ile AgNP sentezi gerçekleştirilmiş ve bu alanda literatürde yalnızca iki çalışma (Abdelgadir ve diğerleri, 2024; Yüksekdağ ve diğerler, 2025) tespit edilmiştir. Bu durum, tezimizin özgünlüğünü ve literatüre katkısını vurgulamaktadır. Abdelgadir ve diğerleri (2024) çalışmalarında, probiyotik bir suş olan *Lactobacillus salivarius* kullanılarak AgNP'ler sentezlenmiş ve bu nanoparçacıkların antibakteriyel, antibiyofilm, anti-quorum sensing, antifungal, antioksidan, antikanser, antikoagülan ve trombolitik gibi çok yönlü biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis spektroskopisi, FTIR, TEM, DLS ve zeta potansiyel analizleri

ile gerçekleştirilmiştir. Yuksekdağ et al. (2025) ise *Ligilactobacillus salivarius* KC27L suşunun postbiyotiklerini kullanarak AgNP'ler biyojenik olarak sentezlenmiş ve bu nanoparçacıkların antimikrobiyal, antibiyofilm, antioksidan aktiviteleri ile sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu FTIR, UV-Vis, SEM, TEM, EDS ve zeta potansiyel analizleri ile yapılmıştır.

2. Bu çalışmada, KC66L-AgNP'lerin sentezi için farklı parametreler değerlendirilmiş ve UV-Vis spektrofotometrik analizler sonucunda en iyi sentez koşulunun 4 mM AgNO₃, 1:2 postbiyotik/ AgNO₃ oranı, 24 saat inkübasyon süresi ve 37°C sıcaklık olduğu belirlenmiştir. Bu optimum koşul, sonraki karakterizasyon ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmıştır. Optimizasyon çalışması, KC66L-AgNP'lerin sentezi için en uygun koşulların belirlenmesini sağlamış ve elde edilen nanopartiküllerin kontrollü ve tekrarlanabilir şekilde sentezlenebileceğini göstermiştir. Bu bulgular, AgNP'lerin biyomedikal uygulamalardaki potansiyelini artırabilecek uygun sentez protokollerinin geliştirilmesine katkı sunmuştur.
3. SEM-EDX analizi sonucunda, sentezlenen KC66L-AgNP'lerin ortalama 57,6±8,2 nm çapında, düzensiz konturlara sahip ve aglomere şekilde bulunduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, optimizasyon çalışmalarıyla beraber değerlendirildiğinde, sentez parametrelerinin nanopartikül boyutunu ve morfolojisini doğrudan etkileyen ana faktörlerden biri olduğunu ortaya koymuştur.
4. Optimum sentez koşullarında elde edilen KC66L-AgNP'ler UV-Vis spektroskopisi, DLS, FTIR ve XRD analizleriyle karakterize edilmiştir. UV-Vis spektroskopisi analizinde 453 nm'de karakteristik bir pik gözlemlenirken, DLS analizine göre, nanopartiküller dar bir boyut dağılımına sahip olup düşük PDI (0,3) ile homojen bir dağılım sergilemiştir. FTIR analizi Ag⁺ iyonlarının indirgenmesinde rol oynayan fonksiyonel grupların varlığını doğrularken XRD analizi KC66L-AgNP'lerin kristalin yapısını ortaya koymuştur. Karakterizasyon sonuçları, sentezlenen KC66L-AgNP'lerin stabil, homojen ve monodispers bir yapı gösterdiğini ancak aglomere olduklarını, ayrıca postbiyotik bileşenlerinin nanopartikül oluşum sürecinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur.
5. Mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan MİK ve MLK testleri, KC66L-AgNP'lerin 0,05-0,025 mg/mL aralığında antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve 0,1 mg/mL'de tamamen bakterisidal etki sağladığını ortaya koymuştur. Kuyu difüzyon yöntemi ise test edilen patojen mikroorganizmalar üzerinde konsantrasyona ve patojen mikroorganizma türüne

göre farklı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, en yüksek etkinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. aureus* ATCC 25923'e karşı olduğu tespit edilmiştir.

6. MTT analizi sonuçları, KC66L-AgNP'lerin hem HaCat hem de HFF-1 hücre hatlarında, konsantrasyon ve inkübasyon süresine bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Düşük konsantrasyonlarda (0,01 mg/mL) hücre canlılığı büyük ölçüde korunurken, 0,025 mg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda sitotoksikite belirgin şekilde artmış ve inkübasyon süresi uzadıkça hücre canlılığında daha fazla azalma gözlemlenmiştir.
7. Hidrojel sentezinde kullanmak için laboratuvarımızda mevcut olan metil kitosan karboksimetil işlemi ile suda çözünür hale getirilmiştir. FTIR analizi, karboksimetilasyon işlemi sonrası kitosanın yapısal değişimini doğrulamış, amin gruplarının karboksimetil grupları ile modifiye olduğunu göstermiştir. Yapıda yeni COO⁻ piklerinin oluşumu, modifikasyonun başarılı şekilde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Bu işlem, kitosanın su bazlı sistemlerde çözünürlüğünü artırarak biyomedikal ve nanoteknolojik uygulamalar için uygun hale getirmiştir.
8. Sentezlenen CMCS/OHA hidrojellerin karakterizasyonu kapsamında yapılan FTIR analizinde, 1637,71 cm⁻¹ pikinin gözlemlenmesi imin bağının varlığını doğrulamış ve bu durum başarılı hidrojel sentezinin bir göstergesi olmuştur. SEM ve EDX analizleri ise, hidrojin gözenekli ve kıvrımlı morfolojik yapısını ortaya koyarken, aynı zamanda yapıda AgNP'lerin varlığını da doğrulamıştır. MTT analizi, HaCat ve HFF-1 hücrelerinde 0,1-0,5 mg/mL aralığında 48 saatlik inkübasyonda hücre canlılığını büyük ölçüde koruduğunu, ancak 1 mg/mL'de HFF-1 hücrelerinde azalma gözlemlendiğini ortaya koyarak, toksisitenin zamana ve konsantrasyona bağlı değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.
9. CMCS ve OHA bazlı hidrojellere, antibakteriyel etkinlik kazandırmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda KC66L-AgNP'ler ilave edilmiş ve kuyu difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, KC66L-AgNP içeren hidrojellerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığını göstermiştir.
10. ICP-MS analizleri, hidrojellerden gümüş salınımının zamana bağlı arttığını ancak düşük başlangıç konsantrasyonlarında (25 ppm ve 50 ppm) ölçümlerin cihazın algılama sınırına yakın olduğu için güvenilirliğinin düşük olabileceğini göstermiştir.

Bu tez çalışması, CMCS/OHA/KC66L-AgNP entegrasyonu ile elde edilen hidrojellerin biyomedikal ve nanoteknolojik uygulamalardaki potansiyelini ortaya koyarken, antibakteriyel etkinlik ve kontrollü salınım özellikleri açısından önemli bulgular sunmuştur.

Elde edilen bulgular doğrultusunda, KC66L-AgNP'lerin yara iyileştirici uygulamalarda potansiyel kullanımına yönelik çeşitli öneriler sunulabilir. Öncelikle, *Ligilactobacillus salivarius* KC66L suşunun postbiyotiklerinden biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan etkilerinin yanı sıra, belirli konsantrasyonlarda düşük sitotoksikite göstermesi, bu nanopartiküllerin yara enfeksiyonlarının önlenmesinde ve iyileşme sürecinin desteklenmesinde kullanılabilecek güvenli ajanlar olduğunu göstermektedir. Ancak, nanopartiküllerin aglomere olma eğilimi göz önünde bulundurulduğunda, bu durumu azaltacak yeni formülasyon stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, doğal stabilizatörler veya yüzey kaplama ajanları ile nanopartiküllerin homojenliği ve biyoyararlanımı artırılabilir.

Ayrıca, AgNP yüklü CMCS/OHA hidrojellerin kontrollü salım özelliği ile antimikrobiyal aktivite göstermesi, yara bölgesinde hem enfeksiyon kontrolü hem de nemli ortamın sürdürülmesi açısından önemli avantajlar sunmaktadır. FTIR analizinde imin bağının varlığı ile doğrulanan başarılı hidrojel sentezi ve SEM-EDX analizleri ile doğrulanan AgNP varlığı, bu sistemlerin etkinliğini desteklemektedir. Yine de ICP-MS analizlerinde düşük konsantrasyonlarda gümüş salımının ölçüm hassasiyeti sınırına yakın olması, bu sistemlerin uzun süreli salım profillerinin ileri düzeyde araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

Yara iyileşmesi süreci yalnızca mikrobiyal kontrolle sınırlı olmayıp, aynı zamanda biyoyoumlu ve toksik olmayan materyallerin kullanımını gerektirdiğinden, bu çalışmada kullanılan AgNP konsantrasyonlarının sitotoksik limitlerin altında tutulması büyük önem taşımaktadır. Sitotoksikite analizlerinde özellikle 0,01 mg/mL seviyesindeki KC66L-AgNP'lerin HaCaT ve HFF-1 hücre hatlarında yüksek hücre canlılığı sağlaması, bu sistemin güvenli sınırlar içinde kaldığını göstermiştir. Bu kapsamda, KC66L-AgNP yüklü hidrojellerin yara örtüsü, sprey formülasyonu veya jel bazlı lokal uygulama sistemlerine dönüştürülerek enfekte ya da kronik yara tedavisinde kullanılması önerilebilir.

Son olarak, bu sistemlerin yalnızca *in vitro* testlerle sınırlı kalmayıp, *ex vivo* ya da *in vivo* yara modelleri üzerinde de test edilmesi hem biyolojik etkinliğin hem de uzun vadeli

güvenlik profiline değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu tür ileri düzey çalışmalar, AgNP yüklü biyomateryallerin klinik uygulamalara geçişinde temel oluşturabilir.





KAYNAKLAR

- Abada, E., Mashraqi, A., Modafar, Y., Al Abboud, M. A. ve El-Shabasy, A. (2024). Review green synthesis of silver nanoparticles by using plant extracts and their antimicrobial activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(1), 103877.
- Abdelgadir, A., Adnan, M., Patel, M., Saxena, J., Alam, M. J., Alshahrani, M. M., Singh, R., Sachidanandan, M., Badraoui, R. ve Siddiqui, A. J. (2024). Probiotic *Lactobacillus salivarius* mediated synthesis of silver nanoparticles (AgNPs-LS): A sustainable approach and multifaceted biomedical application. *Heliyon*, 10(18), 4-19.
- Abduladheem Jabbar, R. ve Neima Hussien, N. (2021). Investigation of antioxidant and cytotoxicity effects of silver nanoparticles produced by biosynthesis using *Lactobacillus gasseri*. *Archives of Razi Institute*, 76(4), 781-793.
- Abishad, P., Vergis, J., Unni, V., Ram, V. P., Niveditha, P., Yasur, J., Juliet, S., Byrappa, K., Nambiar, P., Kurkure, N. V., Barbuddhe, S. B. ve Rawool, D. B. (2022). Green synthesized silver nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus* as an antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm agent against multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 904-914.
- Abobatta, W. (2018). Impact of hydrogel polymer in agricultural sector. *Advances in Agriculture and Environmental Science: Open Access*, 1(2), 59-64.
- Acar, B. Ç., Yuksekdog, Z., Şahin, T., Açar, E. ve Kara, F. (2023). Yeşil sentez yoluyla selenyum nanopartikül (SeNP) sentezi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 4(1), 32-50.
- Adan, A., Kiraz, Y. ve Baran, Y. (2016). Cell proliferation and cytotoxicity assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213-1221.
- Ahmad, F., Ashraf, N., Ashraf, T., Zhou, R. B. ve Yin, D. C. (2019). Biological synthesis of metallic nanoparticles (MNPs) by plants and microbes: Their cellular uptake, biocompatibility, and biomedical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 2913-2935.
- Ahmad, S. A., Das, S. S., Khatoon, A., Ansari, M. T., Afzal, M., Hasnain, M. S. ve Nayak, A. K. (2020). Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 756-769.
- Ahmadian, Z., Kazeminava, F., Afrouz, M., Abbaszadeh, M., Mehr, N. T., Shiran, J. A., Gouda, C., Adeli, M. ve Kafil, H. S. (2023). A review on the impacts of metal/metal nanoparticles on characteristics of hydrogels: Special focus on carbohydrate polymers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126535.
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105-121.
- Akçay, F. A. ve Avcı, A. (2018). Bakteriyel yollarla metal nanopartiküllerin sentezi. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(4), 408-414.

- Alagumuthu, T. S., Samidurai, S., Khambhaty, Y. ve James, K. (2023). Evaluation of antimicrobial property of bacteriocin capped silver nanoparticles prepared from cell free supernatant of *Lactobacillus brevis* isolated from marine fishes. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 29(6), 95.
- Al-Bakri, A. G. ve Mahmoud, N. N. (2019). Photothermal-induced antibacterial activity of gold nanorods loaded into polymeric hydrogel against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Molecules*, 24(14), 2661.
- Aldakheel, F. M., Sayed, M. M. E., Mohsen, D., Fagir, M. H. ve El Dein, D. K. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles loaded hydrogel for wound healing; systematic review. *Gels*, 9(7), 530.
- Al-Hamdany, A.S., Nsaif, Z.M. ve Hassan, A.Y. (2021). Production and Characterization of silver nanoparticles by *Lactobacillus spp* and determine inhibitory effect against growth of pathogenic bacteria. *Plant Archives*, 21(1), 579-585.
- Aliero, A. S., Hasmoni, S. H., Haruna, A., Isah, M., Malek, N. A. N. N., Zawawi, N. A. (2025). Bibliometric exploration of green synthesized silver nanoparticles for antibacterial activity. *Emerging Contaminants*, 11(1), 100411.
- Altabas, V. (2015). Diabetes, endothelial dysfunction, and vascular repair: what should a diabetologist keep his eye on? *International Journal of Endocrinology*, 15(1), 848272.
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622.
- Anthony, K. J. P., Murugan, M. ve Gurunathan, S. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles from the culture supernatant of *Bacillus marisflavi* and their potential antibacterial activity. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(4), 1505-1510.
- Archana, D., Singh, B. K., Dutta, J. ve Dutta, P. K. (2013). In vivo evaluation of chitosan–PVP–titanium dioxide nanocomposite as wound dressing material. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 530-539.
- Asefian, S. ve Ghavam, M. (2024). Green and environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles with antibacterial properties from some medicinal plants. *BMC Biotechnology*, 24(1), 5.
- Aslan, N. E. ve Erol, H. (2022). Medikal ozonun deri lezyonlarının iyileşmesi üzerine etkileri. *Bozok Veterinary Sciences*, 3(2), 57-61.
- Aurlina, R., Gopi, R. R., Ebenezer, T., Prabu, H. J. ve Johnson, I. (2022). Antibacterial study of silver nanoparticles synthesized using *Strychnos potatorum* (linn)–Green synthesis method. *Materials Today: Proceedings*, 68, 448-453.
- Bai, L. H., Fan, M. Z., Xiu, J. R., Zhang, K. X., Zhou, Z. Y., Piao, X. C. ve Lian, M. L. (2024). Antibacterial and antibiofilm efficacy of silver nanoparticles mediated by *Oplopanax elatus* adventitious root extract against mixed bacteria with different species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 159(1), 17.

- Baran, T. ve Nasrollahzadeh, M. (2021). Pd/CoFe₂O₄/chitosan: a highly effective and easily recoverable hybrid nanocatalyst for synthesis of benzonitriles and reduction of 2-nitroaniline. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 149, 109772.
- Bates, M. G., Risselada, M., Peña-Hernandez, D. C., Hendrix, K. ve Moore, G. E. (2024). Antibacterial activity of silver nanoparticles against *Escherichia coli* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* is affected by incorporation into carriers for sustained release. *American Journal of Veterinary Research*, 85(3), 3-67.
- Baygar, T., Sarac, N., Ugur, A. ve Karaca, I. R. (2019). Antimicrobial characteristics and biocompatibility of the surgical sutures coated with biosynthesized silver nanoparticles. *Bioorganic Chemistry*, 86, 254-258.
- Beach, M. A., Nayanathara, U., Gao, Y., Zhang, C., Xiong, Y., Wang, Y. ve Such, G. K. (2024). Polymeric nanoparticles for drug delivery. *Chemical Reviews*, 124(9), 5505-5616.
- Bello, A. B., Kim, D., Kim, D., Park, H. ve Lee, S. H. (2020). Engineering and functionalization of gelatin biomaterials: From cell culture to medical applications. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 26(2), 164-180.
- Bertsch, P., Diba, M., Mooney, D. J. ve Leeuwenburgh, S. C. (2022). Self-healing injectable hydrogels for tissue regeneration. *Chemical Reviews*, 123(2), 834-873.
- Beykaya, M. ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Bhatia, D., Mittal, A. ve Malik, D. K. (2021). Antimicrobial potential and *in vitro* cytotoxicity study of polyvinyl pyrrolidone-stabilised silver nanoparticles synthesised from *Lysinibacillus boronitolerans*. *IET Nanobiotechnology*, 15(4), 427-440.
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, 235, 337-351.
- Bishop, A. (2008). Role of oxygen in wound healing. *Journal of Wound Care*, 17(9), 399-402.
- Bulbul, S. N., Mamur, S., Yuzbasioglu, D. ve Ünal, F. (2024). Safety assessment of high fructose corn syrup and fructose used as sweeteners in foods. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 34(5), 584-595.
- Büyüksınt, T. ve Kuleaşan, H., (2014). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *The Journal of Food*, 39, 4-5.
- Cai, M.H., Chen, X.Y, Fu, L.Q, Du, W.L., Yang, X., Mou, X.Z. ve Hu, P.Y. (2021). Design and development of hybrid hydrogels for biomedical applications: Recent trends in anticancer drug delivery and tissue engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 17(9), 630943.

- Cao, H., Duan, L., Zhang, Y., Cao, J. ve Zhang, K. (2021). Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 426.
- Chatterjee, N., Pal, S. ve Dhar, P. (2024). Green silver nanoparticles from bacteria-antioxidant, cytotoxic and antifungal activities. *Next Nanotechnology*, 6, 100089.
- Chegini, P., Salimi, F., Zare, E. N. ve Farrokh, P. (2024). Biogenic synthesis of antibacterial and antioxidant silver nanoparticles using *Enterococcus faecium* DU. FS-Derived exopolysaccharides: A sustainable approach for green nanotechnology. *Journal of Polymers and the Environment*, 32(11), 6080-6095.
- Chen, H., Cheng, J., Ran, L., Yu, K., Lu, B., Lan, G., Dai, F. ve Lu, F. (2018). An injectable self-healing hydrogel with adhesive and antibacterial properties effectively promotes wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 201, 522-531.
- Chen, X., Feng, Y., Zhang, P., Ni, Z., Xue, Y. ve Liu, J. (2025). Hydrogel fibers-based biointerfacing. *Advanced Materials*, 4(2), 2413476.
- Chen, Y. C., Su, W. Y., Yang, S. H., Gefen, A. ve Lin, F. H. (2013). In situ forming hydrogels composed of oxidized high molecular weight hyaluronic acid and gelatin for nucleus pulposus regeneration. *Acta Biomaterialia*, 9(2), 5181-5193.
- Cheng, H., Yue, K., Kazemzadeh-Narbat, M., Liu, Y., Khalilpour, A., Li, B., Zhang, Y.S., Annabi, N. ve Khademhosseini, A. (2017). Mussel-inspired multifunctional hydrogel coating for prevention of infections and enhanced osteogenesis. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(13), 11428-11439.
- Chhillar, A. ve Jaiswal, A. (2025). Hyaluronic acid-based self-healing hydrogels for diabetic wound healing. *Advanced Healthcare Materials*, 14(4), 2404255.
- Coelho, M. C., Malcata, F. X. ve Silva, C. C. (2022). Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. *Foods*, 11(15), 2276.
- Collins, C. H., Lyne, P. M. ve Grange, J. M. (1995). *Microbiological method*. (7.baskı). London: Butterworths, 3-115.
- Cui, J., Shao, Y., Zhang, H., Zhang, H. ve Zhu, J. (2021). Development of a novel silver ions-nanosilver complementary composite as antimicrobial additive for powder coating. *Chemical Engineering Journal*, 420, 127633.
- Cui, L., Li, J., Guan, S., Zhang, K., Zhang, K. ve Li, J. (2022). Injectable multifunctional CMC/HA-DA hydrogel for repairing skin injury. *Materials Today Bio*, 14, 100257.
- Çelik, K., Yuksekdağ, Z., Çınar Acar, B. ve Kara, F. (2024). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of cell-free supernatant (CFSKC27L) and exopolysaccharide (EPSKC27L) obtained from *Ligilactobacillus salivarius* KC27L. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(4), 928-941.

- Davidenko, N., Schuster, C. F., Bax, D. V., Farndale, R. W., Hamaia, S., Best, S. M. ve Cameron, R. E. (2016). Evaluation of cell binding to collagen and gelatin: a study of the effect of 2D and 3D architecture and surface chemistry. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27, 1-14.
- Dawadi, S., Katuwal, S., Gupta, A., Lamichhane, U., Thapa, R., Jaisi, S., Lamichhane, G., Bhattarai, D.P. ve Parajuli, N. (2021). Current research on silver nanoparticles: synthesis, characterization, and applications. *Journal of Nanomaterials*, 21(1), 6687290.
- Dhir, R., Chauhan, S., Subham, P., Kumar, S., Sharma, P., Shidiki, A. ve Kumar, G. (2024). Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: unlocking their pharmacological potential—a comprehensive review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1324805.
- Dikbaş, Ç. (2024). *Greeb.synthesized silver nanoparticles using papaver rhoeas as a novel local anesthetic carrier for lidocaine*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Samsun, 72.
- Dorgham, R. A., Abd Al Moaty, M. N., Chong, K. P ve Elwakil, B. H. (2022). Molasses-silver nanoparticles: Synthesis, optimization, characterization, and antibiofilm activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10243.
- Dsouza, M. ve Jayabalan, S. S. (2021). Analysis of the size reduction of AgNPs loaded hydrogel and its effect on the anti-bacterial activity. *IET Nanobiotechnology*, 15(6), 545-557.
- Du, J. ve Yi, T. H. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Variovorax guangxiensis* THG-SQL3 and their antimicrobial potential. *Materials Letters*, 178, 75-78.
- Ejaz, U., Afzal, M., Mazhar, M., Riaz, M., Ahmed, N., Rizg, W. Y., Alahmadi, A.A., Badr, M.Y., Mushtaq, R.Y. ve Yean, C. Y. (2024). Characterization, synthesis, and biological activities of silver nanoparticles produced via green synthesis method using *Thymus vulgaris* aqueous extract. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 453-469.
- El Sayed, M. M. (2023). Production of polymer hydrogel composites and their applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 31(7), 2855-2879.
- El-Hawary, A. S., Ibrahim, O. M., Kalaba, M. H., El-Sehrawy, M. H. ve Ismail, M. K. (2024). *Limosilactobacillus fermentum*-derived silver nanoparticles: Biosynthesis, optimization, and biological activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 4(1), 1-15.
- Erkekoğlu, P. ve Baydar, T. (2021). Güncel in vitro sitotoksikite testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 41(1), 45-63.
- Fang, J., Zheng, L., Liu, Y., Peng, Y., Yang, Q., Huang, Y., Zhang, J., Luo, L., Shen, D., Tan, Y., Lu, X. ve Feng, G. (2023). Smart G-quadruplex hydrogels: From preparations to comprehensive applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125614.

- Farooq, U., Liu, X., Zhou, W., Hassan, M., Niu, L. ve Meng, L. (2021). Cell lysis induced by nanowire collision based on acoustic streaming using surface acoustic waves. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 345, 130335.
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N. ve Kim, J. O. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4), 662–668.
- Feynman, R. P. (1960). An invitation to enter a new field of physics. *International Journal of Engineering Science*, 23(8), 7-63.
- Franco, D., Calabrese, G., Guglielmino, S. P. P. ve Conoci, S. (2022). Metal-based nanoparticles: Antibacterial mechanisms and biomedical application. *Microorganisms*, 10(9), 1778.
- Fraser, D., Nguyen, T., Kotelsky, A., Lee, W., Buckley, M. ve Benoit, D. S. (2022). Hydrogel swelling-mediated strain induces cell alignment at dentin interfaces. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 8(8), 3568-3575.
- Freedman, B. R., Hwang, C., Talbot, S., Hibler, B., Matoori, S., Mooney, D. J. (2023). Breakthrough treatments for accelerated wound healing. *Science Advances*, 9(20), 7007.
- Frickenstein, A. N., Mukherjee, S., Harcourt, T., He, Y., Sheth, V., Wang, L., Malik, Z. ve Wilhelm, S. (2023). Quantification of monodisperse and biocompatible gold nanoparticles by single-particle ICP-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(18), 4353-4366.
- Fu, L. M., Hsu, J. H., Shih, M. K., Hsieh, C. W., Ju, W. J., Chen, Y. W., Lee, B.H. ve Hou, C. Y. (2021). Process optimization of silver nanoparticle synthesis and its application in mercury detection. *Micromachines*, 12(9), 1123.
- Fu, W., Sun, S., Cheng, Y., Ma, J., Hu, Y., Yang, Z., Yao, H. ve Zhang, Z. (2024). Opportunities and challenges of nanomaterials in wound healing: Advances, mechanisms, and perspectives. *Chemical Engineering Journal*, 4(7), 153640.
- Galdino, T. P., de Oliveira, L. C., Lima, E. P. N., Farias, R. Í. R., de Jesus, R. A., de Queiroz, S. F. A. M. ve Fook, M. V. L. (2022). Síntese e caracterização da O-Carboximetilquitosana como alternativa ao uso do Ácido Hialurônico. *Research, Society and Development*, 11(5), e5011527634-e5011527634.
- Gallo, A. L., Pollini, M. ve Paladini, F. (2018). A combined approach for the development of novel sutures with antibacterial and regenerative properties: The role of silver and silk sericin functionalization. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 29, 1-13.
- Gangal, A., Sethiya, N. K., Duseja, M., Shukla, R. K., Bisht, D., Rana, V. S., Lahlhenmawia, H., Azizov, S. ve Kumar, D. (2025). Green nanotechnology: nanoparticle synthesis using *Curcuma amada*, *Curcuma caesia*, *Curcuma longa*, and *Curcuma zedoaria*. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 18(1), 2449122.

- Gence, H. (2008). Fötal yara iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 61(3), 171-179.
- George, F., Daniel, C., Thomas, M., Singer, E., Guilbaud, A., Tessier, F. J., Revol-Junelles, A.M., Borges, F. ve Foligné, B. (2018). Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2899.
- Gevrek, C., Yiğit, U. ve Türkkan, M. (2023). *Corylus colurna* L. (Türk Fındığı)'nin yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin optimizasyonu ve antifungal aktivitesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 12(Özel Sayı), 159-172.
- Ghobashy, M. M., Elkodous, M. A., Shabaka, S. H., Younis, S. A., Alshangiti, D. M., Madani, M., Al-Gahtany, S.A., Noreddin, A.M, Nady, N. ve El-Sayyad, G. S. (2021). An overview of methods for production and detection of silver nanoparticles, with emphasis on their fate and toxicological effects on human, soil, and aquatic environment. *Nanotechnology Reviews*, 10(1), 954-977.
- Gilliver, S. C., Ashworth, J. J. ve Ashcroft, G. S. (2007). The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25, 56-62.
- Golhin, A. P., Tonello, R., Frisvad, J. R., Grammatikos, S. ve Strandlie, A. (2023). Surface roughness of as-printed polymers: A comprehensive review. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 127(3), 987-1043.
- Gowda, B. H. J., Mohanto, S., Singh, A., Bhunia, A., Abdelgawad, M. A., Ghosh, S., Ansari, M.J. ve Pramanik, S. (2023). Nanoparticle-based therapeutic approaches for wound healing: A review of the state-of-the-art. *Materials Today Chemistry*, 27, 101319.
- Gökdemir, F. Ş., Gündoğdu, M., Muftareviç, S., Sunar, A. ve Eyidoğan, F. (2023). Nanopartiküllerin tarımsal bilimlerdeki önemi ve kullanım alanları. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 49(1), 11-17.
- Guo, B., Dong, R., Liang, Y. ve Li, M. (2021). Haemostatic materials for wound healing applications. *Nature Reviews Chemistry*, 5(11), 773-791.
- Guo, S. ve Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
- Gupta, A., Koirala, A. R., Gupta, B. ve Parajuli, N. (2019). Improved method for separation of silver nanoparticles synthesized using the *Nyctanthes arbor-tristis* shrub. *Acta Chemical Malaysia*, 3(1), 35-42.
- Gupta, A., Kowalczyk, M., Heaselgrave, W., Britland, S. T., Martin, C. ve Radecka, I. (2019). The production and application of hydrogels for wound management: A review. *European Polymer Journal*, 111, 134-151.
- Habeeb Rahuman, H. B., Dhandapani, R., Narayanan, S., Palanivel, V., Paramasivam, R., Subbarayalu, R., Thangavelu, S. ve Muthupandian, S. (2022). Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. *IET Nanobiotechnology*, 16(4), 115-144.

- Hairil Anuar, A. H., Abd Ghafar, S. A., Hanafiah, R. M., Lim, V. ve Mohd Pazli, N. F. A. (2024). Critical evaluation of green synthesized silver nanoparticles-kaempferol for antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Nanomedicine*, 4(3), 1339-1350.
- Hamad, A., Khashan, K. S. ve Hadi, A. (2020). Silver nanoparticles and silver ions as potential antibacterial agents. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(12), 4811-4828.
- Hamed, H., Moradi, S., Hudson, S. M. ve Tonelli, A. E. (2018). Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*, 199, 445-460.
- Hammami, I. ve Alabdallah, N. M. (2021). Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University-Science*, 33(7), 101560.
- Hao, Z., Li, X., Zhang, R. ve Zhang, L. (2024). Stimuli-responsive hydrogels for antibacterial applications. *Advanced Healthcare Materials*, 13(22), 2400513.
- Hardman, M.J. ve Ashcroft, G.S. (2008). Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biology*, 9(5), 80.
- Harris, D. K. ve Bawendi, M. G. (2012). Improved precursor chemistry for the synthesis of III–V quantum dots. *Journal of the American Chemical Society*, 134(50), 20211-20213.
- Hasanah, U., Sani, N. D. M., Heng, L. Y., Idroes, R. ve Safitri, E. (2019). Construction of a hydrogel pectin-based triglyceride optical biosensor with immobilized lipase enzymes. *Biosensors*, 9(4), 135.
- Hassanzadeh-Tabrizi, S. A. (2023). Precise calculation of crystallite size of nanomaterials: A review. *Journal of Alloys and Compounds*, 968, 171914.
- He, M., Huang, L., Zhao, B., Chen, B. ve Hu, B. (2017). Advanced functional materials in solid phase extraction for ICP-MS determination of trace elements and their species- A review. *Analytica Chimica Acta*, 973, 1-24.
- Heiligtag, F. J. ve Niederberger, M. (2013). The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today*, 16(7-8), 262-271.
- Herrmann, A., Haag, R. ve Schedler, U. (2021). Hydrogels and their role in biosensing applications. *Advanced Healthcare Materials*, 10(11), 2100062.
- Hofstraat, S. R., Anbergen, T., Zwolsman, R., Deckers, J., van Elsas, Y., Trines, M. M., Versteeg, I., Hoorn, D., Ros, G.W.B., Bartelet, B.M., Hendriks, M.M.A., Darwish, Y.B., Kleuskens, T., Borges, F., Maas, R.J.F., Verhale, L. M., Tielemans, W., Vader, P., de Jong, O.G., Tabaglio, T., Wee, D.K.B., Teunissen, A.J.P., Brechbühl, E., Janssen, H.M., Fransen, P.M., de Dreu, A., Schrijver, D.P., Priem, B., Toner, Y. C., Beldman, T.J., Netea, M.G., Mulder, W.J.M., Kluza, E. ve van der Meel, R. (2025). Nature-inspired platform nanotechnology for RNA delivery to myeloid cells and their bone marrow progenitors. *Nature Nanotechnology*, 4(2), 1-11.

- Hong, W. Q., Lee, W. H., Musa, S. H., Kamaruzaman, N. A. ve Loo, C. Y. (2025). Evaluation of hydrogel loading with curcumin and silver nanoparticles: Biocompatibilities and anti-biofilm activities. *BioMetals*, 11(3), 1-20.
- Hu, X., Zhang, C., Xiong, Y., Ma, S., Sun, C. ve Xu, W. (2024). A review of recent advances in drug loading, mathematical modeling and applications of hydrogel drug delivery systems. *Journal of Materials Science*, 59(32), 15077-15116.
- Hu, Y., Xv, D., Xie, C. ve Lu, X. (2025). Smart self-healing hydrogel wound dressings for diabetic wound treatment. *Nanomedicine*, 6(2), 1-18.
- Huang, H., Dong, Z., Ren, X., Jia, B., Li, G., Zhou, S., Zhao, X. ve Wang, W. (2023). High-strength hydrogels: Fabrication, reinforcement mechanisms, and applications. *Nano Research*, 16(2), 3475-3515.
- Huang, Y., Zhang, X., Wu, A. ve Xu, H. (2016). An injectable nano-hydroxyapatite (n-HA)/glycol chitosan (G-CS)/hyaluronic acid (HyA) composite hydrogel for bone tissue engineering. *Rsc Advances*, 6(40), 33529-33536.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C. ve Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & Experimental Toxicology*, 34(12), 1318-1321.
- Ibrahim, M. ve Richardson, M. K. (2017). Beyond organoids: In vitro vasculogenesis and angiogenesis using cells from mammals and zebrafish. *Reproductive Toxicology*, 73, 292-311.
- Ibrahim, S., Ahmad, Z., Manzoor, M. Z., Mujahid, M., Faheem, Z. ve Adnan, A. (2021). Optimization for biogenic microbial synthesis of silver nanoparticles through response surface methodology, characterization, their antimicrobial, antioxidant, and catalytic potential. *Scientific Reports*, 11(1), 770-771.
- Ijaz, F., Tahir, H. M., Ali, S., Ali, A., Khan, H. A., Muzamil, A., Manzoor, H. H. ve Qayyum, K. A. (2023). Biomolecules based hydrogels and their potential biomedical applications: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127362.
- Imran, M., Ahmed, S., Abdullah, A. Z., Hakami, J., Chaudhary, A. A., Rudayni, H. A., Khan, S. U. D., Khan, A. ve Basher, N. S. (2023). Nanostructured material-based optical and electrochemical detection of amoxicillin antibiotic. *Luminescence*, 38(7), 1064-1086.
- Islam, M. J., Kamaruzzaman, K., Hossain, M. F., Awal, M. A., Rahman, M. R. ve Alam, M. M. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) incorporated with *Adenia trilobata* leaf extracts and its anti-bacterial application. *AIP Advances*, 12(11), 6-39.
- Islam, M. M., Shahruzzaman, M., Biswas, S., Sakib, M. N. ve Rashid, T. U. (2020). Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review. *Bioactive Materials*, 5(1), 164-183.
- Ismail, N. A., Amin, K. A. M., Majid, F. A. A. ve Razali, M. H. (2019). Gellan gum incorporating titanium dioxide nanoparticles biofilm as wound dressing: Physicochemical, mechanical, antibacterial properties and wound healing studies. *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109770.

- Jaganathan, A., Murugan, K., Panneerselvam, C., Madhiyazhagan, P., Dinesh, D., Vadivalagan, C., Aziz, A.T., Chandramohan, B., Suresh, U., Rajaganesh, R., Subramaniam, J., Nicoletti, M., Higuchi, A., Alafarj, A.A., Munusamy, M.A., Kumar, S. ve Benelli, G. (2016). Earthworm-mediated synthesis of silver nanoparticles: A potent tool against hepatocellular carcinoma, *Plasmodium falciparum* parasites and malaria mosquitoes. *Parasitology International*, 65(3), 276-284.
- Jain, A. S., Pawar, P. S., Sarkar, A., Junnuthula, V. ve Dyawanapelly, S. (2021). Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11993.
- Jia, B., Li, G., Cao, E., Luo, J., Zhao, X. ve Huang, H. (2023). Recent progress of antibacterial hydrogels in wound dressings. *Materials Today Bio*, 19, 100582.
- Jia, J., Zhu, F., Ma, X., Cao, Z. W., Li, Y. X. ve Chen, Y. Z. (2009). Mechanisms of drug combinations: Interaction and network perspectives. *Nature Reviews Drug discovery*, 8(2), 111-128.
- Jiang, Y., Huang, J., Wu, X., Ren, Y., Li, Z. ve Ren, J. (2020). Controlled release of silver ions from AgNPs using a hydrogel based on konjac glucomannan and chitosan for infected wounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 148-157.
- Jozaghkar, M. R., Sepehrian Azar, A. ve Ziaee, F. (2022). Preparation, Characterization, and swelling study of N, N'-dimethylacrylamide/acrylic acid amphiphilic hydrogels in different conditions. *Polymer Bulletin*, 79(7), 5183-5195.
- Js, K. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine*, 3, 95-101.
- Kantarıcı, A. G. (2022). Nanobiyoteknoloji: İlaç ve gen tedavisinde taşıyıcı nanosistemler. *Türkiye Klinikleri Biomedical-Special Topics*, 3(1), 37-44.
- Kara, F. (2024). Çevre dostu bir yaklaşım: One-Pot (Tek-Kap) yeşil sentez ile AgNP sentezi, Kitosan konsantrasyonunun tanecik boyutu üzerine etkisi ve antibakteriyel aktiviteleri. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 5(2), 169-180.
- Karabulut, M. (2024). Veteriner hekimlikte trombosit zengin bibrin kullanımı. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 11(33), 72–80.
- Kasai, R. D., Radhika, D., Archana, S., Shanavaz, H., Koutavarapu, R., Lee, D. Y. ve Shim, J. (2023). A review on hydrogels classification and recent developments in biomedical applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 72(13), 1059-1069.
- Kattan, G. A. ve Kareem, S. H. (2024). Antimicrobial activity of silver nanoparticles on pathogenic bacteria. *Baghdad Science Journal*, 21(3), 0937-0937.
- Kaur, S. P., Rao, R. ve Nanda, S. U. (2011). Amoxicillin: a broad spectrum antibiotic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 3(3), 30-7.

- Keylock, K. T., Vieira, V. J., Wallig, M. A., DiPietro, L. A., Schrementi, M. ve Woods, J. A. (2008). Exercise accelerates cutaneous wound healing and decreases wound inflammation in aged mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(1), 179-184.
- Khalef, L., Lydia, R., Filicia, K. ve Moussa, B. (2024). Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments. *Cell Biochemistry and Function*, 42(3), e4007.
- Khalifa, E., Abdel Rafea, M., Mustapha, N., Sultan, R. ve Hafez, E. (2023). Silver nanoparticles synthesized by probiotic bacteria and antibacterial role in resistant bacteria. *AMB Express*, 13(1), 140.
- Khan, M. U. A., Stojanović, G. M., Abdullah, M. F. B., Dolatshahi-Pirouz, A., Marei, H. E., Ashammakhi, N. ve Hasan, A. (2024). Fundamental properties of smart hydrogels for tissue engineering applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127882.
- Khan, S., Singh, S., Gaikwad, S., Nawani, N., Junnarkar, M. ve Pawar, S. V. (2020). Optimization of process parameters for the synthesis of silver nanoparticles from *Piper betle* leaf aqueous extract, and evaluation of their antiphytofungual activity. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 27221-27233.
- Khattak, S., Ullah, I., Xie, H., Tao, X. D., Xu, H. T. ve Shen, J. (2024). Self-healing hydrogels as injectable implants: Advances in translational wound healing. *Coordination Chemistry Reviews*, 509, 215790.
- Khorasani, M. T., Joorabloo, A., Adeli, H., Mansoori-Moghadam, Z. ve Moghaddam, A. (2019). Design and optimization of process parameters of polyvinyl (alcohol)/chitosan/nano zinc oxide hydrogels as wound healing materials. *Carbohydrate Polymers*, 207, 542-554.
- Kıvanç, M. R., Önder, A., Cömert Önder, F. ve Ilgın, P. (2023). Pektin/p(HEMA-ko-AAc) hidrojellerine gömülü gümüş nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemi olarak *Parthenocissus quinquefolia* L. bitki özütü ile üretilmesi. *Lâpseki Meslek Yüksekokulu Uygulamalı Araştırmalar Dergisi*, 4(7), 12-19.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C. Y., Kim, Y. K., Lee, Y. S., Jeong, D. H. ve Cho, M. H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1), 95-101.
- Kimura, S., Tsuji, T. (2021). Mechanical and immunological regulation in wound healing and skin reconstruction. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5474.
- Korkmaz, N. ve Karadağ, A. (2021). Microwave assisted green synthesis of Ag, Ag₂O, and Ag₂O₃ nanoparticles. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 8(2), 585-592.
- Kremer, M. ve Burkemper, N. (2024). Aging skin and wound healing. *Clinics in Geriatric Medicine*, 40(1), 1-10.

- Kumar, D., Kumar, S., Gholap, A. D., Kumari, R., Tanwar, R., Kumar, V., Khalid, M. ve Faiyazuddin, M. (2024). A comprehensive review on the biomass-mediated synthesis of silver nanoparticles: opportunities and challenges. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 115133.
- Kumar, M., Mahmood, S., Chopra, S. ve Bhatia, A. (2024). Biopolymer based nanoparticles and their therapeutic potential in wound healing–A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 4(6), 131-335.
- Kumari, R. ve Jat, P. (2021). Mechanisms of cellular senescence: cell cycle arrest and senescence associated secretory phenotype. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 645593.
- Kumkoon, T., Srisaisap, M. ve Boonserm, P. (2023). Biosynthesized silver nanoparticles using *Morus alba* (white mulberry) leaf extract as potential antibacterial and anticancer agents. *Molecules*, 28(3), 1213.
- Laftah, W. A., Hashim, S. ve İbrahim, A. N. (2011). Polymer hydrogels: A review. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 50(14), 1475-1486.
- Lalou, H., Yıldırım, M., Akkapulu, M., Yalın, S. ve Yalın, A. (2023). Kurkumin ve naringenin'in bakır nanopartikülleri ile oluşturulmuş karaciğer hasarı üzerine etkilerinin incelenmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 13(1), 107-117.
- Lanzalaco, S., Mingot, J., Torras, J., Alemán, C. ve Armelin, E. (2023). Recent advances in poly (N-Isopropylacrylamide) hydrogels and derivatives as promising materials for biomedical and engineering emerging applications. *Advanced Engineering Materials*, 25(4), 201303.
- Lavecchia, R., García-Martínez, J. B., Contreras-Ropero, J. E., Barajas-Solano, A. F. ve Zuurro, A. (2024). Antibacterial and photocatalytic applications of silver nanoparticles Synthesized from *Lactocaseibacillus rhamnosus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 11809.
- Laycock, A., Clark, N. J., Clough, R., Smith, R. ve Handy, R. D. (2022). Determination of metallic nanoparticles in biological samples by single particle ICP-MS: A systematic review from sample collection to analysis. *Environmental Science: Nano*, 9(2), 420-453.
- Lee, S. H. ve Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 865.
- Lee, S. H., Kim, S. H., Kim, K. B., Kim, H. S. ve Lee, Y. K. (2024). Factors influencing wound healing in diabetic foot patients. *Medicina*, 60(5), 723.
- Lee, S. J., Nah, H., Heo, D. N., Kim, K. H., Seok, J. M., Heo, M., Moon, H. J., Lee, J. S., An, S. Y., Hwang, Y. S., Ko, W. K., Kim, S. J., Sohn, S., Park, S. A., Park, S. Y. ve Kwon, I. K. (2020). Induction of osteogenic differentiation in a rat calvarial bone defect model using an In situ forming graphene oxide incorporated glycol chitosan/oxidized hyaluronic acid injectable hydrogel. *Carbon*, 168, 264-277.

- Lei, J., Li, X., Wang, S., Yuan, L., Ge, L., Li, D. ve Mu, C. (2019). Facile fabrication of biocompatible gelatin-based self-healing hydrogels. *ACS Applied Polymer Materials*, 1(6), 1350-1358.
- Lei, L., Lv, Q., Jin, Y., An, H., Shi, Z., Hu, G., Yang, Y. ve Yang, L. (2021). Angiogenic microspheres for the treatment of a thin endometrium. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 7(10), 4914-4920.
- Li, J. ve Mooney, D. J. (2016). Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nature Reviews Materials*, 1(12), 1-17.
- Li, S., Dong, S., Shicheng, W. X., Yan, L., Zhao, C., Ding, J. ve Chen, X. (2018). Antibacterial hydrogels. *Advanced Science*, 3(2), 1-17.
- Li, T., Wei, H., Zhang, Y., Wan, T., Cui, D., Zhao, S., Zhang, T., Ji, Y., Guo, Z., Chu, L. ve Cheng, B. (2023). Sodium alginate reinforced polyacrylamide/xanthan gum double network ionic hydrogels for stress sensing and self-powered wearable device applications. *Carbohydrate Polymers*, 309, 120678.
- Li, Z., Lu, J., Ji, T., Xue, Y., Zhao, L., Zhao, K., Jia, B., Wang, B., Wang, J., Zhang, S. ve Jiang, Z. (2024). Self-healing hydrogel bioelectronics. *Advanced Materials*, 36(21), 2306350.
- Liang, C., Dudko, V., Khoruzhenko, O., Hong, X., Lv, Z. P., Tunn, I., Umer, M., Timonen, J.V., Linder, M.B., Breu, J., Ikkala, O. ve Zhang, H. (2025). Stiff and self-healing hydrogels by polymer entanglements in co-planar nanoconfinement. *Nature Materials*, (4)1, 1-8.
- Liang, Y., He, J. ve Guo, B. (2021). Functional hydrogels as wound dressing to enhance wound healing. *ACS Nano*, 15(8), 12687-12722.
- Liao, C., Li, Y. ve Tjong, S. C. (2019). Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 449.
- Liaqat, N., Jahan, N., Anwar, T. ve Qureshi, H. (2022). Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Frontiers in Chemistry*, 10, 952006.
- Liu, J., Qu, S., Suo, Z. ve Yang, W. (2021). Functional hydrogel coatings. *National Science Review*, 8(2), 254.
- Liu, S., Jiang, N., Chi, Y., Peng, Q., Dai, G., Qian, L., Xu, Keming, Zhong, W. ve Yue, W. (2022). Injectable and self-healing hydrogel based on chitosan-tannic acid and oxidized hyaluronic acid for wound healing. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 8(9), 3754-3764.
- Liu, S., Kang, M., Li, K., Yao, F., Oderinde, O., Fu, G. ve Xu, L. (2018). Polysaccharide-templated preparation of mechanically-tough, conductive and self-healing hydrogels. *Chemical Engineering Journal*, 334, 2222-2230.

- Liu, Z., Bian, X., Luo, L., Björklund, Å. K., Li, L., Zhang, L., Chen, Y., Guo, L., Gao, J., Cao, C., Wang, J., He, W., Xiao, Y., Zhu, L., Annusver, K., Gopee, N.H., Basurto-Lozada, D., Horsfall, D., Bennett, C.L., Kasper, M., Haniffa, M., Sommar, P., Li, D. ve Landén, N. X. (2025). Spatiotemporal single-cell roadmap of human skin wound healing. *Cell Stem Cell*, 32(3), 479-498.
- Loi, H. R., Abbasiliasi, S., Raja, P. B., Mohamed, M. S., Tan, W. N., Ng, H. S., Lan, J. C. W. ve Tan, J. S. (2023). Biosynthesis of silver nanoparticles using nitrate reductase produced by *Lactobacillus plantarum* CAM 4: characterization and in vitro evaluation of its antimicrobial efficiency. *Journal of Molecular Liquids*, 376, 121476.
- Lokare, P., Keshamma, E., Kumar, A., Alsowadi, Y. A. A., Hossain, M. M. ve Pallathadka, L. K. (2023). Applications of plant-based nanomedicines for wound healing—An emerging paradigm for effective therapy. *Materials Today: Proceedings*, 73, 494-501.
- Luo, L., Huang, W., Zhang, J., Yu, Y. ve Sun, T. (2024). Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: a review. *ACS Applied Nano Materials*, 7(3), 2529-2545.
- Luo, R., Dai, J., Zhang, J., Li, Z. (2021). Accelerated skin wound healing by electrical stimulation. *Advanced Healthcare Materials*, 10(16), 2100557.
- Magdy, G., Aboelkassim, E., Abd Elhaleem, S. M. ve Belal, F. (2024). A comprehensive review on silver nanoparticles: Synthesis approaches, characterization techniques, and recent pharmaceutical, environmental, and antimicrobial applications. *Microchemical Journal*, 196, 109615.
- Mahmoud, N. N., Hamad, K., Al Shibitini, A., Juma, S., Sharifi, S., Gould, L. ve Mahmoudi, M. (2024). Investigating inflammatory markers in wound healing: understanding implications and identifying artifacts. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 7(1), 18-27.
- Makhathini, S. S., Mdanda, S., Kondiah, P. J., Kharodia, M. E., Rumbold, K., Alagidede, I., Pathak, Y., Bulbulia, Z., Rants'o, T. A. ve Kondiah, P. P. D. (2022). Biomedicine innovations and its nanohydrogel classifications. *Pharmaceutics*, 14(12), 2839.
- Mallikarjuna, K., Sushma, N. J., Narasimha, G., Manoj, L. ve Raju, B. D. P. (2014). Phytochemical fabrication and characterization of silver nanoparticles by using *Pepper leaf broth*. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1099-1103.
- Mansor, M., Drabesch, S., Bayer, T., Van Le, A., Chauhan, A., Schmidtman, J., Peiffer, S. ve Kappler, A. (2021). Application of single-particle ICP-MS to determine the mass distribution and number concentrations of environmental nanoparticles and colloids. *Environmental Science & Technology Letters*, 8(7), 589-595.
- Marambio-Jones, C. ve Hoek, E. M. V. (2010). A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*, 12, 1531–1551.
- Marciniak, L., Nowak, M., Trojanowska, A., Tylkowski, B. ve Jastrzab, R. (2020). The effect of pH on the size of silver nanoparticles obtained in the reduction reaction with citric and malic acids. *Materials*, 13(23), 5444.

- Matei, A., Matei, S., Matei, G.M., Cogalniceanu, G. ve Cornea, C. P. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles mediated by culture filtrate of lactic acid bacteria, characterization and antifungal activity. *The EuroBitotech Journal*, 4(2), 3-32.
- Mazloun-Ardakani, M., Barazesh, B., Moshtaghioun, S. M. ve Sheikhha, M. H. (2019). Designing and optimization of an electrochemical substitute for the MTT (3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) cell viability assay. *Scientific Reports*, 9(1), 1-8.
- Meikle, T. G., Dyett, B. P., Strachan, J. B., White, J., Drummond, C. J. ve Conn, C. E. (2020). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of cubosome encapsulated metal nanocrystals. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(6), 6944-6954.
- Melamed, E., Kiambi, P., Okoth, D., Honigber, I., Tamir, E. ve Borkow, G. (2021). Healing of chronic wounds by copper oxide-impregnated wound dressings—Case series. *Medicina*, 57(3), 296.
- Michalicha, A., Belcarz, A., Giannakoudakis, D. A., Stanisiewska, M. ve Barczak, M. (2024). Designing composite stimuli-responsive hydrogels for wound healing applications: The state-of-the-art and recent discoveries. *Materials*, 17(2), 278.
- Mittal, H., Al Alili, A., Morajkar, P. P. ve Alhassan, S. M. (2021). GO crosslinked hydrogel nanocomposites of chitosan/carboxymethyl cellulose—A versatile adsorbent for the treatment of dyes contaminated wastewater. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1248-1261.
- Mohammed, A. A., Hegazy, A. E. ve Salah, A. (2023). Novelty of synergistic and cytotoxicity activities of silver nanoparticles produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied Nanoscience*, 13(1), 633-640.
- Mohanto, S., Narayana, S., Merai, K. P., Kumar, J. A., Bhunia, A., Hani, U., Fatease, A.A., Gowda, B.H.J., Nag, S., Ahmed, M.G., Paul, K. ve Vora, L. K. (2023). Advancements in gelatin-based hydrogel systems for biomedical applications: A state-of-the-art review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127143.
- Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R. ve Zaidan, U. H. (2020). Microbial mediated synthesis of silver nanoparticles by *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and antioxidant activity. *Applied Sciences*, 10(19), 6973.
- Mohd Yusof, H., Mohamad, R., Zaidan, U. H. ve Rahman, N. A. A. (2020). Sustainable microbial cell nanofactory for zinc oxide nanoparticles production by zinc-tolerant probiotic *Lactobacillus plantarum* strain TA4. *Microbial Cell Factories*, 19, 1-17.
- Mondal, A., Maity, S., Mondal, A. ve Mondal, N. K. (2024). Antibacterial, antibiofilm and larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized from spider silk protein. *International Journal of Biological Macromolecules*, 258, 128775.
- Moraes-de-Souza, I., de Moraes, B. P., Silva, A. R., Ferrarini, S. R. ve Gonçalves-de-Albuquerque, C. F. (2024). Tiny green army: fighting malaria with plants and nanotechnology. *Pharmaceutics*, 16(6), 699.

- More, P. R., Pandit, S., Filippis, A. D., Franci, G., Mijakovic, I. ve Galdiero, M. (2023). Silver nanoparticles: bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. *Microorganisms*, 11(2), 369.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. ve Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T. ve Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346–2353.
- Mossman, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55–63.
- Motasadzadeh, H., Azizi, S., Shaabani, A., Sarvestani, M. G., Sedghi, R. ve Dinarvand, R. (2022). Development of PVA/Chitosan-g-Poly (N-vinyl imidazole)/TiO₂/curcumin nanofibers as high-performance wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 296, 119956.
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M. ve Thanh, N. T. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871–12934.
- Murugan, D., Sruthi, A., Gopan, G., Mani, M. ve Kannan, S. (2023). Design and fabrication of dysprosium impregnated polyvinyl alcohol hydrogels. Physiochemical, mechanical, bioimaging and in vitro evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 229, 113470.
- Mutaf, T., Çalışkan Bilgin, G., Öncel, S. ve Elibol, M. (2023). Metal nanopartiküllerin mikroalgler aracılığı ile yeşil sentezi. *Su Ürünleri Dergisi*, 6(1), 4–19.
- Nandhini, J., Karthikeyan, E. ve Rajeshkumar, S. (2024). Nanomaterials for wound healing: Current status and futuristic frontier. *Biomedical Technology*, 6, 26–45.
- Naseer, Q. A., Xue, X., Wang, X., Dang, S., Din, S. U. ve Kalsoom, J. J. (2021). Synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus bulgaricus* and assessment of their antibacterial potential. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e232434.
- Nathanael, K., Cheng, S., Kovalchuk, N. M., Arcucci, R. ve Simmons, M. J. (2023). Optimization of microfluidic synthesis of silver nanoparticles: A generic approach using machine learning. *Chemical Engineering Research and Design*, 193, 65–74.
- Naysmith, A., Mian, N. S. ve Rana, S. (2023). Development of conductive textile fabric using Plackett–Burman optimized green synthesized silver nanoparticles and in situ polymerized polypyrrole. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 16(1), 2158690.
- Nethi, S. K., Das, S., Patra, C. R. ve Mukherjee, S. (2019). Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. *Biomaterials Science*, 7(7), 2652–2674.

- Nguyen, N. T. P., Nguyen, L. V. H., Tran, N. M. P., Nguyen, D. T., Nguyen, T. N. T., Tran, H. A., Dang, N.N.T., Vo, T.V. ve Nguyen, T. H. (2019). The effect of oxidation degree and volume ratio of components on properties and applications of in situ cross-linking hydrogels based on chitosan and hyaluronic acid. *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109670.
- Nicolescu, C. M., Bumbac, M., Buruleanu, C. L., Popescu, E. C., Stanescu, S. G., Georgescu, A. A. ve Toma, S. M. (2023). Biopolymers produced by lactic acid bacteria: Characterization and food application. *Polymers*, 15(6), 1539.
- Nie, P., Zhao, Y. ve Xu, H. (2023). Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253, 114636.
- Niu, Y., Wu, J., Kang, Y., Sun, P., Xiao, Z. ve Zhao, D. (2023). Recent advances of magnetic chitosan hydrogel: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125722.
- Noureen, A., Younas, F., Ullah, I. ve Yasinzai, M. (2023). Comparative antimicrobial analysis of green synthesized silver nanoparticles using *Berberis lycium* root extracts and berberine. *Pakistan Journal of Botany*, 55(6), 7-15.
- Ogünleye, G., Oyinlola, K., Aguokohi, A. ve Oyewo, T. (2022). Silver nanoparticles from *Lactobacillus delbrueckii*: Microbial synthesis, characterization and antibacterial activity. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 11, 1-13.
- Okonkwo, U. A. ve DiPietro, L. A. (2017). Diabetes and wound angiogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1419.
- Olteanu, G., Neacșu, S. M., Joița, F. A., Musuc, A. M., Lupu, E. C., Ioniță-Mîndrican, C. B., Lupuliasa, D. ve Mititelu, M. (2024). Advancements in regenerative hydrogels in skin wound treatment: A comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7), 3849.
- Ooi, H. W., Kocken, J. M., Morgan, F. L., Malheiro, A., Zoetebier, B., Karperien, M., Wieringa, P.A., Dijkstra, P., Moroni, L. ve Baker, M. B. (2020). Multivalency enables dynamic supramolecular host–guest hydrogel formation. *Biomacromolecules*, 21(6), 2208-2217.
- Öztaş, P. (2021). Yara iyileşmesi, bakımı ve tedavisi. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 54(2), 341-351.
- Pakdemirli, A. (2019). Endotel hasarın iyileşmesinde folik asitin etkisi. *İzmir Tepecik Eğitim Hastanesi Dergisi*, 29(1), 86-90.
- Palomino-Durand, C., Lopez, M., Cazaux, F., Martel, B., Blanchemain, N. ve Chai, F. (2019). Influence of the soluble–insoluble ratios of cyclodextrins polymers on the viscoelastic properties of injectable chitosan–based hydrogels for biomedical application. *Polymers*, 11(2), 214.

- Paramelle, D., Sadovoy, A., Gorelik, S., Free, P., Hobley, J. ve Fernig, D. G. (2014). A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra. *Analyst*, 139(19), 4855-4861.
- Park, H., Kim, S. W., Lee, J. W. ve Lee, K. Y. (2017). Injectable hydrogels prepared from partially oxidized hyaluronate and glycol chitosan for chondrocyte encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1281-1287.
- Park, J., Cha, S. H., Cho, S. ve Park, Y. (2016). Green synthesis of gold and silver nanoparticles using gallic acid: catalytic activity and conversion yield toward the 4-nitrophenol reduction reaction. *Journal of Nanoparticle Research*, 18, 1-13.
- Peña, O. A. ve Martin, P. (2024). Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(8), 599-616.
- Pò, C. L., Iacono, V., Boscarino, S., Grimaldi, M. G. ve Ruffino, F. (2023). Monte Carlo approach to the evaluation of nanoparticles size distribution from the analysis of UV-Vis-NIR spectra. *Micromachines*, 14(12), 2208.
- Popescu, I., Hristache, M., Ciobanu, S. S., Barseghyan, M. G., Vinasco, J. A., Morales, A. L., Radu, A. ve Duque, C. A. (2019). Size or shape—What matters most at the nanoscale? *Computational Materials Science*, 165, 13-22.
- Prema, P., Ranjani, S. S., Kumar, K. R., Veeramanikandan, V., Mathiyazhagan, N., Nguyen, V. H. ve Balaji, P. J. I. C. C. (2022). Microbial synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* for antioxidant, antibacterial activities. *Inorganic Chemistry Communications*, 136, 109139.
- Priya, K., Vijayakumar, M. ve Janani, B. (2020). Chitosan-mediated synthesis of biogenic silver nanoparticles (AgNPs), nanoparticle characterisation and in vitro assessment of anticancer activity in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 844-852.
- Puertas-Bartolomé, M., Benito-Garzón, L., Fung, S., Kohn, J., Vázquez-Lasa, B. ve San Román, J. (2019). Bioadhesive functional hydrogels: Controlled release of catechol species with antioxidant and antiinflammatory behavior. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110040.
- Qiao, Y. J., Kang, J., Song, C. Q., Zhou, N., Zhang, P. ve Song, G. F. (2024). Further study on particle size, stability, and complexation of silver nanoparticles under the composite effect of bovine serum protein and humic acid. *RSC Advances*, 14(4), 2621-2632.
- Qing, Y. A., Cheng, L., Li, R., Liu, G., Zhang, Y., Tang, X., Wang, J., Liu, H. ve Qin, Y. (2018). Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3311-3327.
- Radoor, S., Karayil, J., Jayakumar, A., Kandel, D. R., Kim, J. T., Siengchin, S. ve Lee, J. (2024). Recent advances in cellulose-and alginate-based hydrogels for water and wastewater treatment: A review. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121339.

- Radulescu, D. M., Surdu, V. A., Fikai, A., Fikai, D., Grumezescu, A. M. ve Andronescu, E. (2023). Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: a review of the principles and biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(20), 15397.
- Rahman, A., Chowdhury, M. A. ve Hossain, N. (2022). Green synthesis of hybrid nanoparticles for biomedical applications: A review. *Applied Surface Science Advances*, 11, 100296.
- Rai, M., Yadav, A. ve Gade, A. (2012). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76–83.
- Rajput, H., Kedia, A., Shah, D., Gamit, H. A. ve Amaresan, N. (2022). Sustainable synthesis of silver nanoparticles using fruit waste and its antibacterial activity. *Materials Today: Proceedings*, 68, 299-305.
- Ramey-Ward, A. N., Walthall, H. P., Smith, S. ve Barrows, T. H. (2024). Human keratin matrices promote wound healing by modulating skin cell expression of cytokines and growth factors. *Wound Repair and Regeneration*, 32(3), 257-267.
- Rani, P., Kumar, V., Singh, P. P., Matharu, A. S., Zhang, W., Kim, K. H., Singh, J. ve Rawat, M. (2020). Highly stable AgNPs prepared via a novel green approach for catalytic and photocatalytic removal of biological and non-biological pollutants. *Environment International*, 143, 105924.
- Reinke, J. M. ve Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35-43.
- Ren, J., Li, M., Yuan, R., Pang, A., Lu, Z. ve Ge, L. (2020). Adherent self-healing chitosan/dialdehyde starch coating. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 586, 124203.
- Rezaei, A., Ehtesabi, H. ve Ebrahimi, S. (2023). Incorporation of sagez essential oil into polyvinyl-alcohol/chitosan bilayer hydrogel as a potent wound dressings material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 383-396.
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A. ve Gurtner, G. C. (2019). Wound healing: A cellular perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665-706.
- Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T. ve Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159-1169.
- Rule, G. S. ve Hitchens, T. K. (2006). NMR spectroscopy 1-27. Netherlands: Springer, 3-25.
- Saeb, A. T., Alshammari, A. S., Al-Brahim, H. ve Al-Rubeaan, K. A. (2014). Production of silver nanoparticles with strong and stable antimicrobial activity against highly pathogenic and multidrug resistant bacteria. *The Scientific World Journal*, 14(1), 704708.

- Said, A., Abu-Elghait, M., Atta, H. M. ve Salem, S. S. (2024). Antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles using *Lawsonia inermis* against common pathogens from urinary tract infection. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(1), 85-98.
- Sakthivel, N. A., Shabaninezhad, M., Sementa, L., Yoon, B., Stener, M., Whetten, R. L., Ramakrishna, G., Fortunelli, A. ve Dass, A. (2020). The missing link: Au₁₉₁ (SPh-t Bu) 66 Janus nanoparticle with molecular and bulk-metal-like properties. *Journal of the American Chemical Society*, 142(37), 15799-15814.
- Sarrigiannidis, S. O., Rey, J. M., Dobre, O., González-García, C., Dalby, M. J. ve Salmeron-Sanchez, M. (2021). A tough act to follow: collagen hydrogel modifications to improve mechanical and growth factor loading capabilities. *Materials Today Bio*, 10, 100098.
- Satchanska, G., Davidova, S. ve Petrov, P. D. (2024). Natural and synthetic polymers for biomedical and environmental applications. *Polymers*, 16(8), 1159.
- Sati, A., Ranade, T. N., Mali, S. N., Ahmad Yasin, H. K. ve Pratap, A. (2025). Silver nanoparticles (AgNPs): Comprehensive insights into bio/synthesis, key influencing factors, multifaceted applications, and toxicity— A 2024 Update. *ACS Omega*, 10(8), 7549-7582.
- Savvidou, M. G., Kontari, E., Kalantzi, S. ve Mamma, D. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using the cell-free supernatant of *Haematococcus pluvialis* culture. *Materials*, 17(1), 187.
- Scott, E. C., Baines, A. C., Gong, Y., Moore Jr, R., Pamuk, G. E., Saber, H., Subedee, A., Thompson, M.D., Pazdur, R., Rao, V.A., Schneider, J. ve Beaver, J. A. (2023). Trends in the approval of cancer therapies by the FDA in the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery*, 22(8), 625-640.
- Seifert, A. W., Kiama, S. G., Seifert, M. G., Goheen, J. R., Palmer, T. M. ve Maden, M. (2012). Skin shedding and tissue regeneration in African spiny mice (*Acomys*). *Nature*, 489(7417), 561-565.
- Selvan, D. A., Mahendiran, D., Kumar, R. S. ve Rahiman, A. K. (2018). Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology b: Biology*, 180, 243-252.
- Shaaban, M. T., Mohamed, B. S., Zayed, M. ve El-Sabbagh, S. M. (2024). Antibacterial, antibiofilm, and anticancer activity of silver-nanoparticles synthesized from the cell-filtrate of *Streptomyces enissocaesilis*. *BMC Biotechnology*, 24(1), 8.
- Shafique, M., Sohail, M., Minhas, M. U., Khaliq, T., Kousar, M., Khan, S., Hussain, Z., Mahmood, A., Abbasi, M., Aziz, H. C. ve Shah, S. A. (2021). Bio-functional hydrogel membranes loaded with chitosan nanoparticles for accelerated wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170, 207-221.
- Shang, S., Zhuang, K., Chen, J., Zhang, M., Jiang, S. ve Li, W. (2024). A bioactive composite hydrogel dressing that promotes healing of both acute and chronic diabetic skin wounds. *Bioactive Materials*, 34, 298-310.

- Sharma, D., Kanchi, S. ve Bisetty, K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: a review. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 3576-3600.
- Sharma, S., Sharma, N. ve Kaushal, N. (2022). Comparative account of biogenic synthesis of silver nanoparticles using probiotics and their antimicrobial activity against challenging pathogens. *BioNanoScience*, 12(3), 833-840.
- Shen, Y., Wang, Z., Wang, Y., Meng, Z. ve Zhao, Z. (2021). A self-healing carboxymethyl chitosan/oxidized carboxymethyl cellulose hydrogel with fluorescent bioprobes for glucose detection. *Carbohydrate Polymers*, 274, 118642.
- Shitrit, Y., Davidovich-Pinhas, M. ve Bianco-Peled, H. (2019). Shear thinning pectin hydrogels physically cross-linked with chitosan nanogels. *Carbohydrate Polymers*, 225, 115249.
- Shu, M., He, F., Li, Z., Zhu, X., Ma, Y., Zhou, Z., Yang, Z., Gao, F. ve Zeng, M. (2020). Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using yeast extract as reducing and capping agents. *Nanoscale Research Letters*, 15, 1-9.
- Siafaka, P. I., Okur, N. Ü., Karantas, I. D., Okur, M. E. ve Gündoğdu E. A. (2021). Current Update on nanoplatforms as therapeutic and diagnostic tools: A review for the materials used as nanotheranostics and imaging modalities. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*, 16(1), 24-46.
- Siddiqui, A. J., Patel, M., Adnan, M., Jahan, S., Saxena, J., Alshahrani, M. M., Abdelgadir, A., Bardakci, F., Sachidanandan, M., Badraoui, R., Snoussi, M. ve Ouhtit, A. (2023). Bacteriocin-nanoconjugates (Bac10307-AgNPs) biosynthesized from *Lactobacillus acidophilus*-derived bacteriocins exhibit enhanced and promising biological activities. *Pharmaceutics*, 15(2), 403.
- Siddiqui, A. J., Patel, M., Jahan, S., Abdelgadir, A., Alam, M. J., Alshahrani, M. M., Alturaiki, W., Sachidanandan, M., Khan, A., Badraoui, R. ve Adnan, M. (2023). Silver nanoparticles derived from probiotic *Lactobacillus casei*—a novel approach for combating bacterial infections and cancer. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12, 1-18.
- Sievers, J., Sperlich, K., Stahnke, T., Kreiner, C., Eickner, T., Martin, H., Guthoff, R.F., Schüneman, M., Bohn, S. ve Stachs, O. (2021). Determination of hydrogel swelling factors by two established and a novel non-contact continuous method. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(18), 50326.
- Singh, A., Gaud, B. ve Jaybhaye, S. (2020). Optimization of synthesis parameters of silver nanoparticles and its antimicrobial activity. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 232-236.
- Singhal, A., Baweja, P., Gupta, S., Chopra, H. ve Gandhi, P. B. (2023). Biogenesis of nanoparticles using microorganisms: A Review. *Plant Science Today*, 10(4), 97-104.
- Song, J., Hui, B., Niu, Y., Yang, T., Wang, Y. ve Wu, H. (2024). Preparation of pH-responsive SA/OHA hydrogels and its curcumin drug release properties. *Polymer Bulletin*, 3, 1-19.

- Soriente, A., Fasolino, I., Gomez-Sánchez, A., Prokhorov, E., Buonocore, G. G., Luna-Barcenas, G., Ambrosio, L. ve Raucci, M. G. (2022). Chitosan/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds to modulate osteogenic and inflammatory response. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 110(2), 266-272.
- Sosa, A. M., Igartúa, D. E., Alonso, S. D. V., Prieto, M. J. ve Martinez, C. S. (2024). A crossover study of antimicrobial capacity and biotoxicity of silver nanoparticles. *Applied Organometallic Chemistry*, 38(4), e7377.
- Sztandera, K., Gorzkiewicz, M. ve Klajnert-Maculewicz, B. (2018). Gold nanoparticles in cancer treatment. *Molecular Pharmaceutics*, 16(1), 1-23.
- Takahashi, R., Shimano, K., Okazaki, H., Kurokawa, T., Nakajima, T., Nonoyama, T., King, D. R. ve Gong, J. P. (2018). Tough particle-based double network hydrogels for functional solid surface coatings. *Advanced Materials Interfaces*, 5(23), 1801018.
- Tan, C., Cao, X., Wu, X. J., He, Q., Yang, J., Zhang, X., Chen, J., Han, S., Nam, G. H., Sindoro, M. ve Zhang, H. (2017). Recent advances in ultrathin two-dimensional nanomaterials. *Chemical Reviews*, 117(9), 6225-6331.
- Thang, N. H., Chien, T. B., Cuong, D. X. (2023). Polymer-based hydrogels applied in drug delivery: An overview. *Gels*, 9(7), 523.
- Tharani, S., Bharathi, D. ve Ranjithkumar, R. (2020). Extracellular green synthesis of chitosan-silver nanoparticles using *Lactobacillus reuteri* for antibacterial applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101838.
- Thavamurugan, S., Pavithra, S. K., Kavipriya, M. R. ve Prabha, A. L. (2022). Synthesis of silver nanoparticles using *Catunaregam spinosa* fruit extract for their biological activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 4, 1-14.
- Tian, B. ve Liu, J. (2023). Smart stimuli-responsive chitosan hydrogel for drug delivery: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123902.
- Tiwari, A. K., Pandey, P. C., Gupta, M. K. ve Narayan, R. J. (2025). Nano–bio interaction and antibacterial mechanism of engineered metal nanoparticles: Fundamentals and current understanding. *Journal of Cluster Science*, 36(1), 1-33.
- Tomaszewska, E., Soliwoda, K., Kadziola, K., Tkacz-Szczesna, B., Celichowski, G., Cichomski, M., Szmaja, W. ve Grobelny, J. (2013). Detection limits of Dls and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids. *Journal of Nanomaterials*, 13(1), 313081.
- Umeyor, C., Uronnachi, E. ve Kakae, P. (2023). Hydrogels and nanogels: Application in medicine. *IntechOpen*, 4, 17-18.
- Valizadeh, A., Mikaeili, H., Samiei, M., Farkhani, S. M., Zarghami, N., Kouhi, M., Akbarzadeh, A. ve Davaran, S. (2012). Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. *Nanoscale Research Letters*, 7, 1-14.
- Van Meerloo, J., Kaspers, G. J. ve Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: The MTT assay. *Methods in Molecular Biology*, 731, 237-425.

- Veln, J. J., Gabbiani, G., Hinz, B., Chaponnier, C. ve Brown, R. A. (2002). Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(5), 349-363.
- Velnar, T., Bailey, T. ve Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528-1542.
- Velsankar, K., Preethi, R., Ram, P. J., Ramesh, M. ve Sudhahar, S. (2020). Evaluations of biosynthesized Ag nanoparticles via *Allium sativum* flower extract in biological applications. *Applied Nanoscience*, 10, 3675-3691.
- Vidmar, J., Hässmann, L. ve Loeschner, K. (2021). Single-particle ICP–MS as a screening technique for the presence of potential inorganic nanoparticles in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(34), 9979-9990.
- Vinayagam, R., Nagendran, V., Goveas, L. C., Narasimhan, M. K., Varadavenkatesan, T., Chandrasekar, N. ve Selvaraj, R. (2024). Structural characterization of marine macroalgae derived silver nanoparticles and their colorimetric sensing of hydrogen peroxide. *Materials Chemistry and Physics*, 313, 128787.
- Wahid, F., Zhao, X.J., Jia, S.R, Bai, H. ve Zhong, C. (2020). Nanocomposite hydrogels as multifunctional systems for biomedical applications: Current state and perspectives. *Composites Part B: Engineering*, 1(200),108208.
- Wang, A. N., Yi, X. W., Yu, H. F., Dong, B. ve Qiao, S. Y. (2009). Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing–finishing pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1140-1148.
- Wang, L., Zhang, X., Yang, K., Fu, Y. V., Xu, T., Li, S., Zhang, D., Wang, L.N. ve Lee, C. S. (2020). A novel double-crosslinking-double-network design for injectable hydrogels with enhanced tissue adhesion and antibacterial capability for wound treatment. *Advanced Functional Materials*, 30(1), 1904156.
- Wang, S., Chi, J., Jiang, Z., Hu, H., Yang, C., Liu, W. ve Han, B. (2021). A self-healing and injectable hydrogel based on water-soluble chitosan and hyaluronic acid for vitreous substitute. *Carbohydrate Polymers*, 256, 117519.
- Wang, S., Yuan, L., Xu, Z., Lin, X., Ge, L., Li, D. ve Mu, C. (2021). Functionalization of an electroactive self-healing polypyrrole-grafted gelatin-based hydrogel by incorporating a polydopamine@ AgNP nanocomposite. *ACS Applied Bio Materials*, 4(7), 5797-5808.
- Wang, Y. ve Wei, S. (2021). Green fabrication of bioactive silver nanoparticles using *Mentha pulegium* extract under alkaline: An enhanced anticancer activity. *ACS Omega*, 7(1), 1494-1504.
- Wang, Y., Wang, Z., Lu, W. ve Hu, Y. (2024). Review on chitosan-based antibacterial hydrogels: preparation, mechanisms, and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 255, 128080.

- Waresindo, W. X., Luthfianti, H. R., Priyanto, A., Hapidin, D. A., Edikresnha, D., Aimon, A. H. ve Khairurrijal, K. (2023). Freeze–thaw hydrogel fabrication method: Basic principles, synthesis parameters, properties, and biomedical applications. *Materials Research Express*, 10(2), 024003.
- Wei, G., Wei, J., Zhou, J., Chen, Y., Wu, D. ve Wang, Q. (2020). MoS2 nanosheet initiated smart polymeric hydrogel for NIR-driven Ag (I) enrichment. *Chemical Engineering Journal*, 382, 123018.
- Weller, C. D., Team, V. ve Sussman, G. (2020). First-line interactive wound dressing update: a comprehensive review of the evidence. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 155.
- Wen, N., Li, S., Jiang, H., Yang, J., Yang, W., Song, Y., Long, J., Zhao, J., Lin, Z., Yu, X., Wei, Y., Lu, S., Huang, X. ve Zhou, T. (2025). Bio-inspired self-healing hydrogel for fast hemostasis and accelerated wound healing of gastric ulcers. *Advanced Functional Materials*, 35(1), 2411959.
- Weng, H., Jia, W., Li, M. ve Chen, Z. (2022). New injectable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for hemostasis and wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 294, 119767.
- Werner, S. ve Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870.
- Werner, S., Krieg, T. ve Smola, H. (2007). Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(5), 998-1008.
- Wikler, M. (2006). *Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standart*, (11.Baskı). Pensilvanya: Clinical & Laboratory Standards Intstitutive. 61-64.
- Wilkinson, H. N. ve Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biology*, 10(9), 200223.
- Wu, Z., Han, Y., Zan, F., Ye, Y., Ren, Y., Han, K., Liu, D. ve Jiang, W. (2023). Highly efficient removal of phosphate by La–diatomite and sodium alginate composite hydrogel beads. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 9(4), 1205-1215.
- Wu, J., Xue, W., Yun, Z., Liu, Q. ve Sun, X. (2024). Biomedical applications of stimuli-responsive “Smart” interpenetrating polymer network hydrogels. *Materials Today Bio*, 25(4706), 100998.
- Xiao, F., Shen, X., Tang, W. ve Yang, D. (2025). Emerging trends in DNA nanotechnology-enabled cell surface engineering. *JACS Au*, 5(2), 550-570.
- Xiao, J., Liang, Y., Sun, T., Liu, M. ve He, X. (2024). A functional dual responsive CMC/OHA/SA/TOB hydrogel as wound dressing to enhance wound healing. *Scientific Reports*, 14(1), 26854.
- Xu, J., Liu, Y. ve Hsu, S. H. (2019). Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications. *Molecules*, 24(16), 3005.

- Xu, L., Wang, Y. Y., Huang, J., Chen, C. Y., Wang, Z. X. ve Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996.
- Xu, M. L., Guan, L. Y., Li, S. K., Chen, L. ve Chen, Z. (2019). Stable gold graphitic nanocapsule doped hydrogels for efficient photothermal antibacterial applications. *Chemical Communications*, 55(37), 5359-5362.
- Xue, Y., Chen, H., Xu, C., Yu, D., Xu, H. ve Hu, Y. (2020). Synthesis of hyaluronic acid hydrogels by crosslinking the mixture of high-molecular-weight hyaluronic acid and low-molecular-weight hyaluronic acid with 1, 4-butanediol diglycidyl ether. *RSC Advances*, 10(12), 7206-7213.
- Yang, F., Zhong, W., Pan, S., Wang, Y., Xiao, Q. ve Gao, X. (2024). Recent advances in the mechanism of hydrogen sulfide in wound healing in diabetes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 692, 149343.
- Yang, P., Li, Z., Fang, B. ve Liu, L. (2023). Self-healing hydrogels based on biological macromolecules in wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127612.
- Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q. ve Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, 21, 2555-2562.
- You, B., Li, Q., Dong, H., Huang, T., Cao, X. ve Liao, H. (2018). Bilayered HA/CS/PEGDA hydrogel with good biocompatibility and self-healing property for potential application in osteochondral defect repair. *Journal of Materials Science & Technology*, 34(6), 1016-1025.
- Yu, J., Huang, X., Chen, X., Hu, P., Liu, T., Zhang, T., Cheng, R., Cui, T. ve Li, J. (2024). Antibacterial and anti-inflammatory Bi-functional carbon dots hydrogel dressing for robust promotion of wound healing. *Carbon*, 226, 119202.
- Yuan, N., Shao, K., Huang, S. ve Chen, C. (2023). Chitosan, alginate, hyaluronic acid and other novel multifunctional hydrogel dressings for wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240, 124321.
- Yuan, Z. Z., Fan, Y. Z., Cheng, S. J., Wei, F. J., Gao, J., Wang, C. X., Song, B.S., Gao, S.L., Kang, J.J., Liu, Y. ve Li, S. H. (2025). A bibliometric analysis of hydrogel research in various fields: the trends and evolution of hydrogel application. *Journal of Nanobiotechnology*, 23(1), 70.
- Yuksekdag, Z., Kilickaya, R., Kara, F. ve Acar, B. C. (2025). Biogenic-synthesized silver nanoparticles using the *Ligilactobacillus salivarius* KC27L postbiotic: Antimicrobial, anti-biofilm, and antioxidant activity and cytotoxic effects. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4, 1-15.
- Zaheer Z (2018) Biogenic synthesis, optical, catalytic, and in vitro antimicrobial potential of Ag-nanoparticles prepared using Palm date fruit extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 178, 584–592.

- Zahoor, M., Nazir, N., Iftikhar, M., Naz, S., Zekker, I., Burlakovs, J., Uddin, F., Kamran, A.W., Kallistova, A., Pimenov, N. ve Ali Khan, F. (2021). A review on silver nanoparticles: Classification, various methods of synthesis, and their potential roles in biomedical applications and water treatment. *Water*, 13(16), 2216.
- Zeinivand, M., Aghaei, S. S., Zargar, M. ve Ghasemzadeh, M. A. (2023). Exopolysaccharide-mediated silver nanoparticles synthesized from *Lactobacillus paracasei* with antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities. *Archives of Microbiology*, 205(5), 210.
- Zhang, F., Zhang, S., Cui, S., Jing, X., Feng, Y. ve Coseri, S. (2024). Rapid self-healing carboxymethyl chitosan/hyaluronic acid hydrogels with injectable ability for drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 328, 121707.
- Zhang, H., Gu, Z., Li, W., Guo, L., Wang, L., Guo, L., Ma, S., Han, B. ve Chang, J. (2022). pH-sensitive O-carboxymethyl chitosan/sodium alginate nanohydrogel for enhanced oral delivery of insulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 223, 433-445.
- Zhang, H., Lin, X., Cao, X., Wang, Y., Wang, J. ve Zhao, Y. (2024). Developing natural polymers for skin wound healing. *Bioactive Materials*, 33, 355-376.
- Zhang, M. ve Zhao, X. (2020). Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1414-1428.
- Zhang, S., Liu, X., Wang, H., Peng, J. ve Wong, K. K. (2014). Silver nanoparticle-coated suture effectively reduces inflammation and improves mechanical strength at intestinal anastomosis in mice. *Journal of Pediatric Surgery*, 49(4), 606-613.
- Zhao, J., Qiu, P., Wang, Y., Wang, Y., Zhou, J., Zhang, B., Zhang, L. ve Gou, D. (2023). Chitosan-based hydrogel wound dressing: From mechanism to applications, a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 244, 125250.
- Zhao, L., Zhou, Y., Zhang, J., Liang, H., Chen, X. ve Tan, H. (2023). Natural polymer-based hydrogels: From polymer to biomedical applications. *Pharmaceutics*, 15(10), 2514.
- Zheng, B. D., Gan, L., Tian, L. Y. ve Chen, G. H. (2023). Protein/polysaccharide-based hydrogels loaded probiotic-mediated therapeutic systems: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126841.
- Zheng, B. D., Yu, Y. Z., Yuan, X. L., Chen, X. S., Yang, Y. C., Zhang, N., Huang, Y. Y. ve Xiao, M. T. (2023). Sodium alginate/carboxymethyl starch/ κ -carrageenan enteric soft capsule: Processing, characterization, and rupture time evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 244, 125427.
- Zhou, S., Qin, Y., Lei, A., Liu, H., Sun, Y., Zhang, J., Deng, C. ve Chen, Y. (2025). The role of green synthesis metal and metal oxide nanoparticles in oral cancer therapy: a review. *Journal of Drug Targeting*, 4, 1-39.
- Zhuang, B., Chen, T., Xiao, Z. ve Jin, Y. (2020). Drug-loaded implantable surgical cavity-adaptive hydrogels for prevention of local tumor recurrence. *International Journal of Pharmaceutics*, 577, 119048.



Gazili olmak ayrıcalıktır