

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**POLİETİLENİMİN (PEİ) İLE MODİFİYE EDİLMİŞ CU-Nİ
NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİBAKTERİYEL ÖZELİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Zekeriya TEPELİ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2021**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

POLİETİLENİMİN (PEI) İLE MODİFİYE EDİLMİŞ CU-Nİ NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELİKLERİNİN İNCELENMESİ

Zekeriya TEPELİ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Bu tez çalışmasında, antibakteriyel uygulamalarda kullanılmak üzere bakır (Cu) / nikel (Ni) ve CuNi bimetallik nanotaneceklerin "*Cetraria Islandica* (L.) Ach." liken özütü ile biyosentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez parametrelerinden, tepkime sıcaklığı (25, 75, 85, 95 °C), pH (pH 2-12), süre (1.5-6 h) ve karıştırma hızının (450-700 rpm) nanoyapı sentezi üzerindeki etkisi incelenmiştir. 95 °C sıcaklıkta, pH 12'de, 700 rpm karıştırma hızında ve sentez süresi 1.5 saat olan çalışmalarda 100 nm altında tanecikler elde edilmiştir. En uygun koşullarda sentezlenen nanotaneceklerin yüzeyi düşük ve yüksek molekül ağırlıklı polietilenimin (PEI) polimeri ile modifiye edilmiştir. Sentezlenen nanoyapılar UV-Vis (ultraviyole görünür bölge) spektroskopisi, taramalı elektron mikroskopu - enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (SEM-EDX), geçirimli elektron mikroskopu (TEM), Fourier dönüşümlü infrared spektrometresi (FTIR) ve X ışınları kırınımı (XRD) ile karakterize edilmişlerdir. Nanotaneceklerin TEM görüntülerinden Cu/CuO, Ni/NiO ve bimetallik nanotaneceklerin ortalama boyutları sırasıyla 10, 20 ve 30 nm olduğu belirlenmiştir. Sentezlenen nanoyapıların antibakteriyel özellikleri *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri ile mikrobiyolojik miktar tayini yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Kontrol amaçlı siprofloksasin standardı kullanılmıştır. 0.1 ve 0.5 µg/mL değerlerinde Ni nanotanecekler ve bimetallik CuNi nanotaneceklerde yapılan testlerde çok düşük antibakteriyel aktivite gözlenmiştir. 0.5 µg/ml değerlerinde Cu nanotanecekler ve 0.1 µg/ml değerlerinde PEI ile modifiye nanotanecekler (Cu-PEI, Ni-PEI ve CuNi-PEI) hem *E. coli* hem de *S. aureus* üzerinde etkili olmuşlardır.

Ekim 2021, 63 sayfa

Anahtar Kelimeler: Cu-Ni nanotanecekler, polietilenimin (PEI), nanokompozitler, antibakteriyel aktivite

ABSTRACT

Master Thesis

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF POLYETHYLENIMINE (PEI) MODIFIED CU-NI NANOCOMPOSITES

Zekeriya TEPELİ

Ankara University
Graduate School of Natural ve Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nuray YILDIZ

In this study, biosynthesis of copper (Cu) / nickel (Ni) and CuNi bimetallic nanoparticles with “*Cetraria Islandica* (L.) Ach.” lichen extract was carried out to be used in antibacterial applications. The effect of reaction temperature (25, 75, 85, 95 °C), pH (pH 2-12), time (1.5-6 h) and stirring rate (450-700 rpm) on the nanostructures were investigated as synthesis parameters. The particle size of nanoparticles synthesized at 95 °C, pH 12, stirring rate of 700 rpm and time of 1.5 hours was obtained under 100 nm. The surface of the nanoparticles synthesized at the appropriate conditions was modified with low and high molecular weight polyethyleneimine (PEI) polymer. The synthesized nanostructures were characterized by UV-Vis (ultraviolet visible region) spectroscopy, scanning electron microscopy - energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX), transmission electron microscopy (TEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). In the TEM images of the nanoparticles, it is seen that on average 10 nm Cu/CuO nanoparticles, 20 nm Ni/NiO nanoparticles and 30 nm bimetallic nanoparticles are formed. The antibacterial properties of the synthesized nanostructures were tested with *E. coli* and *S. aureus* bacteria using the microbiological assay method. The ciprofloxacin standard was used as a control. Very low antibacterial activity was observed in the tests performed on 0.1 and 0.5 µg/ml values of Ni nanoparticles and bimetallic CuNi nanoparticles. 0.5 µg/mL Cu nanoparticles and 0.1 µg/ml PEI modified nanoparticles (Cu-PEI, Ni-PEI and CuNi-PEI) were effective on both *E. coli* and *S. aureus*.

October 2021, 63 pages

Key Words: Cu-Ni nanoparticles, polyethyleneimine (PEI), nanocomposites, antibacterial activity

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesi sırasında, desteğini ve tecrübelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuray YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı), tüm yoğun çalışma sürecimde yanımda olup bilgileriyle ışık tutan ve sabır gösteren hocam Sayın Araş. Gör. Dr. Ceren ATİLA DİNÇER'e (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı), tez çalışmamda kullanmış olduğum likenlerin tedarik edilmesi ve işlenmesi hususlarında yardımcı olan ve laboratuvarını bana açan Sayın Prof. Dr. Atilla YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), antibakteriyel uygulamalar konusunda engin bilgileri ile bana destek olan Araş. Gör. Dr. Rahime SONGÜR'e, laboratuvar sürecimde benden yardımını esirgemeyen Doktora Öğrencisi Bengü GETİREN'e, bu zor süreçte yanımda olup manevi desteklerini her zaman gösteren başta canım ailem olmak üzere her süreçte yanımda olan eşim ve laboratuvar arkadaşım Damla BAL TEPELİ'ye ayrıca kardeş laboratuvarımızdan yüksek biyolog Bengisu ŞENTÜRK'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Antibakteriyel ve karakterizasyon çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için bana laboratuvarlarını açan ve güzel bir çalışma ortamı sağlayan Deva Ar-Ge birimine, şeflerime, mikrobiyoloji laboratuvar ekibine, özellikle hem çalışmalarım da hem de yöntem konusunda desteklerinden dolayı mikrobiyoloji uzmanı Ferhat ERDOĞAN'a, XRD analizlerim için yardımlarından dolayı Deva Ar-Ge API biriminden Yıldırım BAŞLAR'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım. Son olarak benimle çalışmalarım doğrultusunda ilgilendiği yol gösterdiği ve SEM analizlerim konusunda yardımlarını esirgemediği için Hacettepe Üniversitesinden Dr. Recep ÜZEK'e teşekkür ederim. Tez yazım sürecimde ve diğer süreçlerde ufak da olsa katkısı olan yardımcı olan herkese teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) "Polietilenimin (PEI) ile Modifiye Edilmiş Cu-Ni Nanokompozitlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi, 19L0443008" konulu proje tarafından desteklenmiştir. Sağlanan maddi destekten dolayı Üniversitemiz BAP birimine teşekkür ederim.

Zekeriya TEPELİ
Ankara, Ekim 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Nanoyapıların Sentezi	3
2.2 Metal Nanotaneciklerin ve Nanokompozitlerinin Uygulama Alanları	5
2.3 Antibakteriyel uygulamalar	5
2.4 Kaynak Araştırması.....	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM	11
3.1 Materyal	11
3.2 Yöntem	11
3.2.1 Liken özütü hazırlanması.....	11
3.2.2 Nanotaneciklerin (Cu/CuO, Ni/NiO ve Cu-Ni bimetallik) biyosentezi.....	12
3.2.3 Nanotaneciklerin (Cu/CuO, Ni/NiO ve bimetallik CuNi) PEI ile modifikasyonu	13
3.2.4 Analizler	14
3.2.5 PEI ile modifiye edilmiş Cu-Ni nanoyapıların antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi	14
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	18
4.1 Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneciklerinin Sentezi.....	18
4.2 CuNi Bimetallik nanotanecikler	33
4.3 PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar	37
4.3.1 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar	38
4.3.2 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar	43
4.4 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları	48
4.4.1 Metal nanotanecikler	49

4.4.2 PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar	51
5.SONUÇLAR.....	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ.....	63



KISALTMALAR DİZİNİ

BNP	Bimetalik nanotanecikler
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FTIR	Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
KS	Kalsinasyon sonrası
M _w	Molekül ağırlığı
NP	Nanotanecikler
PEI	Polietilenimin
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEM-EDX	Taramalı elektron mikroskobu ve enerji dağılım spektroskopisi
SS	Saflaştırma sonrası
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür Spektroskopi
XRD	X-ışınları kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nanoyapıların sentez yöntemleri (Dehand vd. 2015)	3
Şekil 2.2 Bitki özütü ile metal nanotanecek biyosentezi (Baranwal vd. 2016)	4
Şekil 2.3 Metal nanotanecekler ve nanokompozitlerinin uygulama alanları (Anonymous. https://www.fukuda-kyoto.co.jp/en/technology/research/nanoparticles.html , 2019)	5
Şekil 2.4 Zamanla gelişen antibiyotik direnci (Anonymous. https://www.quora.com/What-are-the-leading-factors-to-antibiotic-resistance , 2019)	6
Şekil 2.5 Antibakteriyel nanotaneceklerin uygulama Alanları (Moritz ve Moritz 2013)	6
Şekil 2.6 Nanoyapıların bakteri hücresi üzerindeki etkileri (Roy 2019)	7
Şekil 3.1 Likenlerin öğütülmesinde kullanılan blender ve likenlerin ekstraksiyonu	12
Şekil 3.2 Liken özütü	12
Şekil 3.3 Nanotaneceklerin sentez deney düzeneği	13
Şekil 3.4 E. coli ve S. aureus tohumları	15
Şekil 3. 5 Bakterilerin TSA besiyeri üzerine ekilmesi	15
Şekil 3.6 Falkon tüplerinde çoğaltılmış S. Aureus ve E. Coli bakterilerinin görüntüsü	16
Şekil 3.7 Mikrobiyolojik miktar tayini testi	16
Şekil 3.8 Test için hazırlanan medium 11 petrilere	17
Şekil 3.9 Test için kullanılan silindirik diskler	17
Şekil 4.1 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 2-8)	18
Şekil 4.2 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 2-8)	19
Şekil 4.3 pH 12 95°C de sentez sonrası nanotanecekler a) bakır b) nikel	19
Şekil 4.4 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 10)	20
Şekil 4.5 Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 10)	21
Şekil 4.6 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 12)	21
Şekil 4.7 Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12)	22
Şekil 4.8 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 10)	23
Şekil 4.9 Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR analizi spektrumu (pH 10)	23
Şekil 4.10 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 12)	24
Şekil 4.11 Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12)	24
Şekil 4.12 Cu/CuO nanopartiküllerinin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) tanecik boyut histogramı (pH 12, 95oC)	25
Şekil 4.13 Ni/NiO nanopartiküllerinin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) tanecik boyut histogramı (pH 12, 95oC)	25
Şekil 4.14 Farklı koşullarda sentezlenmiş Cu nanopartikülleri UV-Vis spektrumları (pH 12, 95oC)	26

Şekil 4.15 Farklı koşullarda sentezlenmiş Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12, 95oC)	27
Şekil 4.16 Farklı koşullarda sentezlenmiş Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumları (pH 12, 95oC)	28
Şekil 4. 17 Hot plate yöntemi uygulanan Ni/NiO nanotaneceklerinin UV-Vis spektrumu (Kalsinasyon sonrası).....	28
Şekil 4.18 Farklı koşullarda sentezlenmiş Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR spekturumları	29
Şekil 4.19 Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneceklerinin saflaştırma ve kurutma sonrası görünüşleri	31
Şekil 4.20 Sentezlenen Cu nanotaneceklerinin XRD analiz sonuçları	32
Şekil 4.21 Sentezlenen NiO nanotaneceklerinin XRD analiz sonuçları	33
Şekil 4.22 Sentez sonrası CuNi bimetalik nanotanecek görünümü (1:1)	33
Şekil 4.23 Saflaştırma ve kurutma sonrası CuNi nanotanecekler.....	34
Şekil 4.24 Cu-Ni BNP sentezi Uv-Vis spektrumu (farklı oranlarda).....	34
Şekil 4.25 Cu-Ni BNP sentezi SEM görüntüsü (1:2).....	35
Şekil 4.26 Cu-Ni bimetalik nanotaneceklerin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) tanecik boyut histogramı (pH 12, 95oC) (1:1)	35
Şekil 4.27 Cu-Ni BNP sentezi SEM görüntüsü (2:1).....	36
Şekil 4.28 Cu-Ni BNP sentezi FTIR spektrumu (1:1, 1:2, 2:1)	37
Şekil 4.29 Sentezlenen CuNi nanotaneceklerinin XRD analiz sonuçları	37
Şekil 4.30 Sentez sonrası düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş tanecikler a) Cu-PEI b) Ni-PEI c) CuNi-PEI.....	38
Şekil 4.31 Cu ve Cu-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları	39
Şekil 4.32 Ni ve Ni-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları.....	39
Şekil 4.33 CuNi ve CuNi-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları	39
Şekil 4.34 Cu, PEI ve Cu-PEI UV-Vis spektrumları (Anonymous. https://www.aurora	40
Şekil 4.35 Cu ve Cu-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları	40
Şekil 4.36 Ni ve Ni-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları.....	41
Şekil 4.37 CuNi ve CuNi-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları	41
Şekil 4.38 CuNi-PEI nanoyapıların XRD spektrumu	42
Şekil 4.39 Cu-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi.....	42
Şekil 4.40 Ni-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi	43
Şekil 4.41 Cu-Ni-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi	43
Şekil 4.42 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanotanecekler a) Cu-PEI b) Ni-PEI c) Cu-Ni-PEI	44
Şekil 4.43 Cu-PEI UV-Vis spektrumu	44
Şekil 4.44 Ni-PEI UV-Vis spektrumu.....	44
Şekil 4.45 CuNi-PEI UV-Vis spektrumu	45
Şekil 4.46 Cu-PEI nanoyapıların XRD spektrumu	45

Şekil 4.47 Ni-PEI nanoyapıların XRD spektrumu.....	46
Şekil 4.48 CuNi-PEI nanoyapıların XRD spektrumu	46
Şekil 4.49 Cu-PEI FTIR spektrumu.....	47
Şekil 4.50 Ni-PEI FTIR spektrumu.....	47
Şekil 4.51 Cu-Ni-PEI FTIR spektrumu.....	48
Şekil 4.52 Siprofloksasin için doz çalışması.....	48
Şekil 4.53 Ni nanotanciklerin antibakteriyel aktivitesi (0.5 µg/ml).....	49
Şekil 4.54 CuNi nanotanciklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.5 µg/ml).....	50
Şekil 4.55 Cu, Ni ve CuNi nanotanciklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.1 µg/ml).....	50
Şekil 4.56 Cu nanotanciklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.5 µg/ml).....	51
Şekil 4.57 Yüksek molekül ağırlıklı PEI antibakteriyel aktivitesi	52
Şekil 4.58 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuPEI antibakteriyel aktivitesi.....	53
Şekil 4.59 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye NiPEI antibakteriyel aktivitesi	53
Şekil 4.60 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuNiPEI antibakteriyel aktivitesi.....	54
Şekil 4.61 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuPEI antibakteriyel aktivitesi	54
Şekil 4.62 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye NiPEI antibakteriyel aktivitesi.....	55
Şekil 4.63 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuNiPEI antibakteriyel aktivitesi	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Cu/CuO nanotaneciklerini için FTIR pikleri	30
Çizelge 4.2 Ni/NiO nanotanecikleri için FTIR pikleri.....	31
Çizelge 4.3 Cu nanotaneciklerin antibakteriyel aktivite sonrası zone çapları.....	51
Çizelge 4.4 Yüksek molekül ağırlıklı PEI antibakteriyel aktivite sonrası zone çapları	52
Çizelge 4.5 PEI ile modifiye edilmiş Cu nanoyapıların zone çapları	56
Çizelge 4.6 PEI ile modifiye edilmiş Ni nanoyapıların zone çapları	56
Çizelge 4.7 PEI ile modifiye edilmiş CuNi nanoyapıların zone çapları	56
Çizelge 4.8 Nanotaneciklerin ve PEI ile modifiye edilmiş nanoyapıların zone çapları.....	57



1. GİRİŞ

Metal nanotanecekler 1–100 nm boyutlarda (uzunluk, genişlik ya da kalınlık), yüksek derecede kristallik, katalitik aktivite, kimyasal stabilite, yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve antibakteriyel aktivite gibi özelliklere sahip olan yapılardır. Vakum altında termal buharlaştırma, kimyasal buhar biriktirme, gaz yoğunlaşması, iyonize küme ışın biriktirme, elektrokimyasal çökeltme, sol jel, sonoelektrokimya, sonikasyon, hidrotermal, süperkritik akışkan ortamı, biyosentez gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sentezlenmektedirler. Araştırmalarda en çok tercih edilenler kimyasal indirgeme yöntemleridir.

Bununla birlikte son zamanlarda, mantarlar, bakteriler, biyomoleküller ve bitki özleri gibi yeni, toksik olmayan, çevre dostu ve uygun biyolojik materyallerin yardımıyla biyosentez araştırmaları da yapılmaktadır. Metal nanotanecekler ve kompozitleri, enerji depolama sistemleri, biomedikal uygulamalar, transistörler, bazı organik sentezler, adsorpsiyon, katalitik ve antibakteriyel uygulamalarda kullanılabilirler. Geniş yüzey alanı/hacim oranına sahip metal nanotanecekler antibakteriyel uygulamalar için uygun özellik taşımaktadırlar.

Antibakteriyel uygulamalarda en çok tercih edilen metal ve metal oksit nanotanecekler gümüş (Ag), altın (Au), selenyum (Se), bakır (Cu), nikel (Ni), çinko oksit (ZnO), magnezyum oksit (MgO), seryum oksit (CeO₂), demir oksit (Fe₃O₄) ve titanyum dioksittir (TiO₂). Uygulamalarda yaygın olarak kullanılan Ni, Cu nanotanecekler ve bu yapıların oksitleri etkili ve ucuz antibakteriyel maddelerdir (Campelo vd. 2009, Cuenya 2010, Moritz ve Gieszke-Moritz 2013, Makawana vd. 2016, Hafshejani vd. 2018, Agarwal vd. 2019).

Metal nanotanecekler antibakteriyel aktivite, kararlılık gibi özelliklerinin gelişmesi amacıyla farklı inorganik yapılar ve polimerlerle (kitosan, polietilenimin (PEI) gibi) modifiye edilmekte ya da kaplanmaktadırlar. Yüzey modifikasyonunda kullanılan PEI sentetik, zayıf bazik, alifatik, toksik olmayan ve ayrıca birincil, ikincil ve üçüncül amino grupların varlığı nedeniyle polikasyonik bir polimerdir. Bu bileşik aziridinin katyonik

polimerizasyonu ile elde edilir. PEI, örneğin bir ilaç olarak ve özellikle asidik ve nötr koşullar altında aşırı anyonik koloidal yükün etkili nötralizasyonu nedeniyle katalizör desteklerinin geliştirilmesi gibi çeşitli amaçlar için kullanılabilir ayrıca yaygın bir antimikrobiyaldir. Polikasyonlar, yapısında yer alan fazla miktardaki amin grubu kompozit yapıyı sulu ortamda pozitif yüklü hale getirir, bu durum negatif yüklü bakteriler için uygun adsorpsiyon kapasitesi oluşturur ve bakterilerin hücre zarı ile etkileşime girip hücre zarını bozarak antibakteriyel özellikler gösterirler. PEI'nin güçlü bir geçirgenlik etkisi vardır ayrıca PEI, hidrofilik ve hidrofobik antibiyotiklerin ve nanotaneciklerin antibakteriyel etkinliğini artırır (Gao vd. 2007, Azevedo vd. 2014, Wang vd. 2015, Ji vd. 2016, Szunertis ve Boukherroub 2016, Sahiner ve Demirci 2017).

Tez çalışması kapsamında antibakteriyel uygulamalara alt yapı oluşturmak üzere monometalik ve bimetalik nanotaneciklerin sentezi ve yüzey modifikasyonu amaçlanmıştır. Cu, Ni monometalik ve Cu-Ni bimetalik nanotanecikler doğal ortamından toplanmış “*Cetraria Islandica* (L.) Ach.” liken özütü ile biyosentezlenmiş, sentezlenen mono- ve bimetalik nanotanecikler polietilenimin (PEI) ile modifiye edilerek antibakteriyel özellikleri incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Nanoyapıların Sentezi

Nanotanecek sentez yöntemleri yukarıdan aşağı ve aşağıdan yukarıya olmak üzere iki farklı yaklaşımla gerçekleştirilmektedir. Yukarıdan aşağı yaklaşımda büyük yapılar nano boyutlara fiziksel yöntemlerle küçültülürler. Aşağıdan yukarıya yöntemlerde ise atomlardan başlayarak istenilen nano boyutlarda yapılar tasarlanmaktadır. Bu yaklaşımlardan yukarıdan aşağı yaklaşımlar başlangıçta avantajlı olarak görülse de zamanla yapılan çalışmaların da artmasıyla araştırmacılar aşağıdan yukarı sentez yöntemlerini benimsemişlerdir. Bu yöntemlerde boyut ve morfolojinin kontrolü daha etkin bir şekilde gerçekleştirilmektedir.

Metal nanotanecekler çeşitli fiziksel ve kimyasal yaklaşımlarla sentezlenebilir (Şekil 2.1). Başlangıç maddesinin bir indirgeyici ile indirgenmesi ve üretilen nanotaneceklerin çeşitli stabilizasyon ajanları ile kararlı hale getirilmesi, bu işlemlerin sağlamlığı ve kolay uygulanabilirliği nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. Boyut, şekil ve kararlılık dâhil olmak üzere nanotaneceklerin özellikleri tepkime koşullarına, başlangıç maddelerinin indirgeyici maddelerle etkileşimlerine ve nanotaneceklerde stabilizörlerin adsorpsiyonuna bağlıdır.

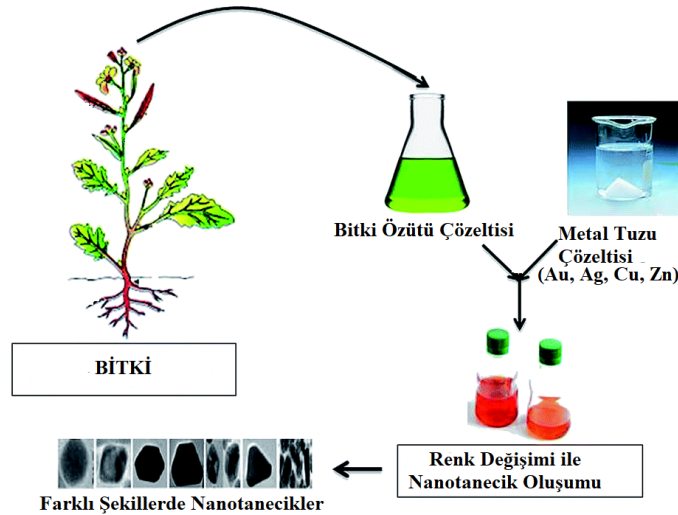


Şekil 2.1 Nanoyapıların sentez yöntemleri (Dehand vd. 2015)

Araştırmacılar nanotaneciklerin özelliklerini kontrol etmek amacıyla farklı başlangıç maddeleri, çözücüler, indirgeyici ajanlar, stabilizörler ve tepkime koşulları üzerinde çalışmaktadırlar (Naghdi vd., 2015).

Araştırmalarda en çok tercih edilen yöntemler kimyasal indirgeme yöntemleridir. Bu yöntemle, sıfır değerlik durumunda metal nanotanecikler sentezlenmektedir.

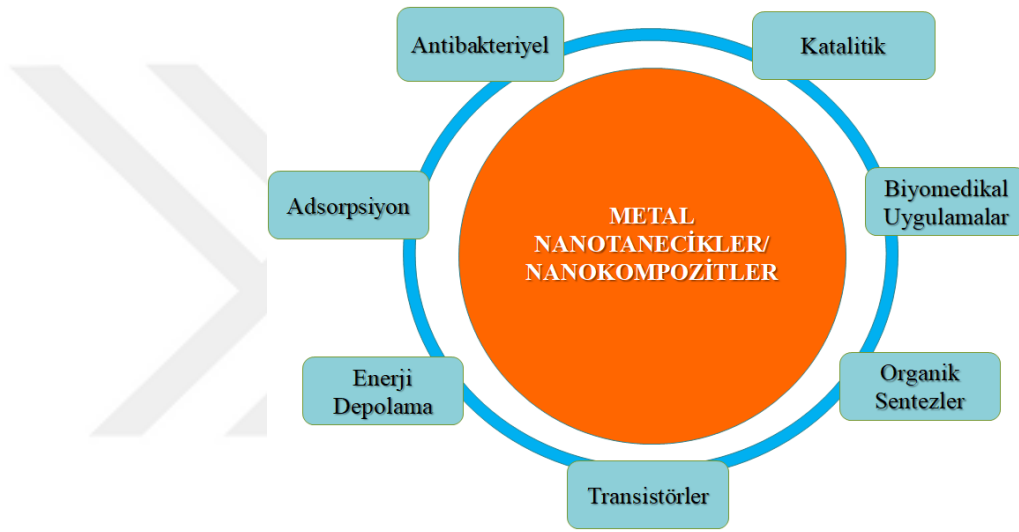
Sodyum bor hidrür, elementel hidrojen, tollen reaktifi, askorbat ve benzeri maddeler indirgeyici ajanlar olarak kullanılmaktadır. Art arda indirgeme, çekirdek kabuk yapılı bimetalik nanotaneciklerin sentezlenmesinin en umut verici yöntemidir (Sharma vd. 2019). Bununla birlikte son zamanlarda mantarlar, bakteriler, biyomoleküller ve bitki özütleri gibi yeni, toksik olmayan, çevre dostu biyosentez araştırmaları artmaktadır. Biyosentez, indirgeyici ve yüzey aktif maddeleri olarak toksik kimyasalların kullanılmasına gerek duyulmayan, çevre dostu ve düşük maliyetli bir sentez yöntemidir (Şekil 2.2). Bitki özütü ile biyosentez, genellikle nötr bir pH'da ve oda sıcaklıklarında gerçekleştiği için nanotanecik sentezi için en çok tercih edilen yöntemlerden biridir (Agarwal vd. 2019).



Şekil 2.2 Bitki özütü ile metal nanotanecik biyosentezi (Baranwal vd. 2016)

2.2 Metal Nanotaneciklerin ve Nanokompozitlerinin Uygulama Alanları

Metal nanotanecikler 1–100 nm boyutlarda (uzunluk, genişlik ya da kalınlık), yüksek derecede kristallik, katalitik aktivite, kimyasal stabilite, yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve antibakteriyel aktivite gibi sahip oldukları üstün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı adsorpsiyon, enerji depolama sistemleri, bazı organik sentezler, katalitik ve antibakteriyel gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Metal nanotanecikler ve nanokompozitlerinin uygulama alanları (Anonymous. <https://www.fukuda-kyoto.co.jp/en/technology/research/nanoparticles.html>, 2019)

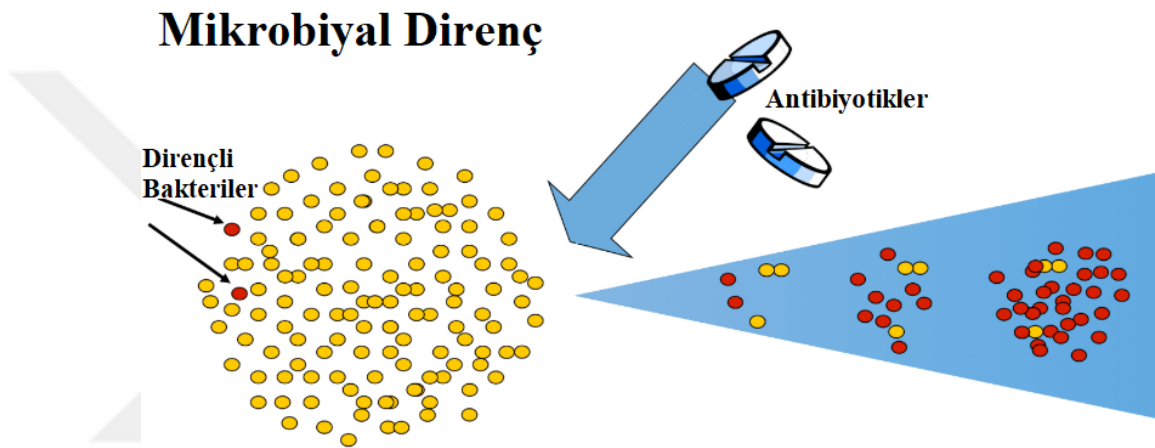
2.3 Antibakteriyel uygulamalar

Bakteriyel enfeksiyon dünyanın en büyük halk sağlığı problemlerinden biridir ve son yıllarda antibiyotiklere karşı artan mikrobiyal direnç küresel tehdit oluşturan ciddi bir sorun haline gelmiştir (Şekil 2.4). Yeni antibiyotiklerin geliştirilmemesi (son kırk yılda sadece iki yeni sınıf antibiyotik) ve dirençli suşların (bir bakteri ya da virüsün farklı alt türlerinin aralarında genetik farklılıklar bulunan grupları) artması durumu daha da kötüleştirmiştir (Rodrigues vd. 2019).

Bu sorunu çözmek amacıyla antimikrobiyal peptitlerin kullanımı, virüslerle tedavi,

terapötik antikorlar, minimal algılama inhibitörleri ve antimikrobiyal metal nanotaneçiklerin kullanılması önerilen yöntemler arasındadır. Spesifik hedefleme etkilerinden dolayı tedavi etkinliğini artırmaları ve yan etkileri azaltabilmeleri metal nanotaneçikleri diğer yöntemlere göre daha avantajlı hale getirmektedir.

Sentezlenen antibakteriyel nanotaneçikler, gıda koruması, yüzey dezenfeksiyonu, güvenli kozmetik ürünleri, tıbbi cihazlar, su arıtımı ve Şekil 2.5'te şematik olarak sunulan diğer alanlarda uygulanmaktadırlar (Moritz ve Moritz 2013).

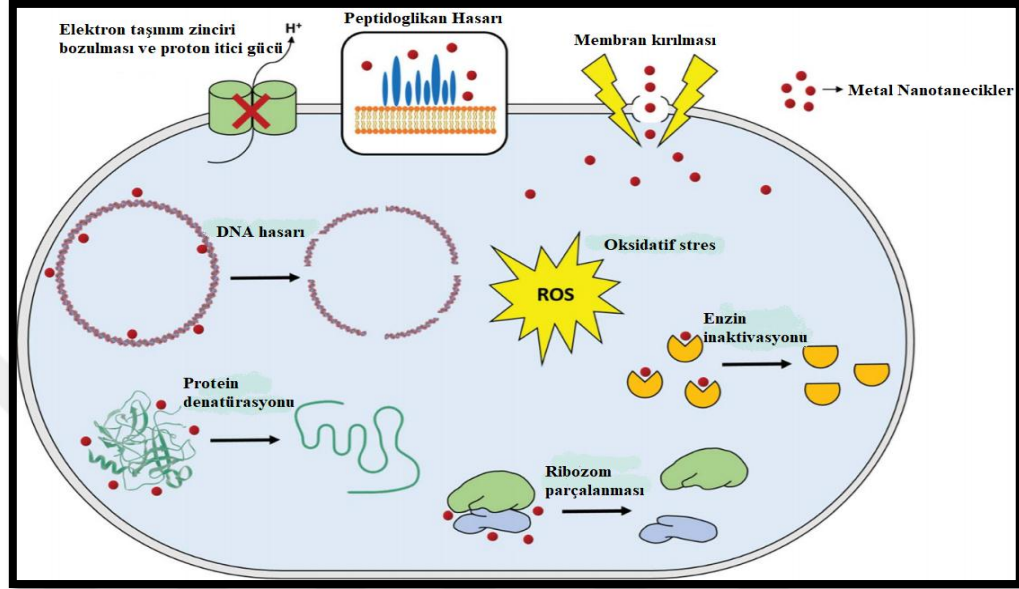


Şekil 2.4 Zamanla gelişen antibiyotik direnci (Anonymous. <https://www.quora.com/What-are-the-leading-factors-to-antibiotic-resistance>, 2019)



Şekil 2.5 Antibakteriyel nanotaneçiklerin uygulama Alanları (Moritz ve Moritz 2013)

Antibakteriyel nanoyapılar (Ag, Au, ZnO, Cu, TiO₂, kitosan vb.) hücre zarı ile etkileşim (membran, peptidoglikan), hücre içi moleküllerle etkileşim (protein, enzim...) ve hücre içi ROS (reaktif oksijen türleri) oluşumu olmak üzere 3 farklı şekilde bakteri hücrelerine etki etmektedirler (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Nanoyapıların bakteri hücresi üzerindeki etkileri (Roy 2019)

Hücre zarı ile etkileşim, metal nanoyapılar ile zardan iyon kaybı ve zarın kararsız hale gelmesi ile elektron transferi bozulması ve ATP seviyesi düşmesine ya da membranın hücre duvarından ayrılmasına sebep olmakta ve membranın işlevi bozulmaktadır.

Hücre içi moleküllerle etkileşim, özellikle Ag nanotanecikler tiyol (R-S-H) gruplarına sahip yapısal ve fonksiyonel gruplarla etkileşime girip enzimlere zarar vermektedir. Metal nanoyapıların ana hedeflerinden biri de ribozomun küçük alt birimlerinde bulunan S2 proteinleridir. Nanoyapıların ribozomal proteinlere bağlanması ribozomun doğal yapısını bozar ve protein biyosentezini engellemektedir. Ayrıca metal nanoyapılar nükleik asitlerle etkileşime girer DNA yoğunlaşır ve replikasyonu durdurmaktadır.

Hücre içi ROS oluşumu, metal nanoyapılar ana solunum zincir proteinleriyle etkileşime girerek (örneğin sitokrom B) hücre içinde yüksek derişimlerde H₂O₂, O₂⁻ ve OH⁻ radikali yüklenmesini sağlar ve oksidatif stres oluşmaktadır bu durum protein hasarına,

DNA zinciri kopmasına ve sonuç olarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Vimbela vd. 2018).

2.4 Kaynak Araştırması

Sürelî yayınlarda farklı indirgeme ajanı kullanılarak elde edilmiş Cu/Ni temelli nanoyapıların ve PEI polimerinin antibakteriyel uygulamaları ile ilgili çalışmalar yer almaktadır ve bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir;

Varghese vd. 2020, *Z. Officinale* ve *C. longa* bitki özütleriyle indirgenerek sentezlenmiş Cu nanotaneceklerin *S. aureus* bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Nanokompozitin karakterizasyonu Fourier dönüşümlü infrared spektrometre (FT-IR), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve ultraviyole görünür bölge (UV-Vis) spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon sonucunda saf, 20-100 nm arasında küresel Cu nanotaneceklerin sentezlendiği belirlenmiştir. Sentezlenen nanokompozit test edilen bakterilere karşı standart antibiyotiklere göre çok etkili antibakteriyel etki göstermiştir. *S. aureus* için inhibisyon zonu değerleri 5 mm *C. longa* ve *Z. officinale* için sırasıyla 14 ve 12 mm bulunmuştur.

Amaliyah vd. 2020, Cava uzun biberi özütü ile farklı sıcaklık ve pH değerlerinde Cu nanotanecek sentezi ve karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Nanotanecekler UV-Vis, TEM, SEM, FT-IR ve XRD ile analiz edilmiş, 2-10 nm boyutlarında küresel Cu nanotaneceklerin sentezlendiği belirlenmiştir. *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivite incelenmiş ve kullanılan standarda göre nanotaneceklerin daha etkili olduğu bulunmuştur.

Yang vd. 2019, indirgeyici olarak askorbik asit kullanılarak sentezlenmiş indirgenmiş grafen oksit (rGO)-Cu₂O nanokompozitinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Nanokompozitin karakterizasyonu lazer tanecik boyutu analiz cihazı (zetasizer), XRD, X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), termogravimetrik analiz (TGA), plazma emisyon spektrofotometresi ve TEM ile gerçekleştirilmiş ve 30 nm'den küçük kübik yapıda Cu₂O nanotaneceklerin rGO üzerine düzgün bir şekilde dağılmış olduğu belirlenmiştir. Nanokompozitin 30. günde *E. coli*

miktarını %70.09, *S. aureus* miktarını da %65.06 düşürdüğü saptanmıştır.

Mokhtar vd. 2018, NaBH₄ ile indirgemeyeyle sentezlenmiş Cu-magadiite (sulu sodyum silikat minerali) /kitosan nanokompozitinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Nanokompozitin karakterizasyonu FTIR, SEM, EDX, UV-Vis DR (ultraviyole görünür yayılma yansıması) spektrometresi, TGA ve XRD ile gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon sonucunda saf, kristal yapıda kitosan ile kapsüllenmiş Cu-magadiit sentezlendiği belirlenmiştir. Sentezlenen nanokompozit test edilen bakterilere karşı çok etkili antibakteriyel etki göstermiştir. *S. aureus* ve *E. coli* için minimum inhibitör derişimi (MIC) değerleri sırasıyla 0.25 µg/L ve 0.50 µg/L bulunmuştur.

Athinarayanan vd. 2018, palm şurup ile indirgedikleri Cu₂O-Grafen nanokompozitinin *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. flexneri*, *P. vulgaris*, *V. cholerae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. typhimurium* bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Kompozitin karakterizasyonu XRD, SEM ve TGA ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarından 50-70 nm boyutlarda saf kristal faz Cu₂O nanotaneciklerinin sentezlendiği ve nanotaneciklerin grafen tabakalarına yüksek oranda dağıldığı saptanmıştır. Sentezlenen örneğin yüksek antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur.

Behin vd. 2016, etilen glikol ortamında sonokimyasal yöntem ile NaP zeolit destekli Cu/Ni nanokompoziti sentezlemişler ve *B. subtilis*, *E. coli* bakterileriyle nanokompozitin antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. Nanokompozitin karakterizasyonu enerji dağılımlı spektroskopi (EDX), tanecik boyut dağılımı analizi cihazı (PSD), XRD, TEM, FT-IR, SEM ve TGA ile gerçekleştirilmiş ve 8.7 nm boyutlarda homojen dağılmış küresel nanotaneciklerin sentezlendiği belirlenmiştir. Antibakteriyel özellikler için zamana ve derişime bağlı testler gerçekleştirilmiş 188 dakikada neredeyse tüm kolonilerin yok olduğu gözlenmiştir. Minimum bakteri öldürücü derişim (MBC) değeri 41.5 mg/L olarak bulunmuştur.

Figuerroa vd. 2014, NaBH₄ ile Cu, Ni nanotaneciklerini ve Cu-Ni bimetalik nanotaneciklerini (BNPs) sentezlemişler ve Gram (+) *S. aureus*, Gram (-) *E. coli* ve

dental patojen *S. mutans* bakterileriyle antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. Nanoyapılar EDX, XRD, TEM ve UV-vis spektrometresi kullanılarak karakterize edilmiştir. Antibakteriyel aktivite üzerinde derişimin etkisi incelenmiş, Cu nanopartikülleri diğerlerine göre daha iyi etkinlik göstermiştir. *S. aureus* ve *S. Mutans* bakteriyel büyümesi 1000 µg/ml (1000 MIC), *E. coli* büyümesi ise 100 µg /ml (100 MIC) Cu nanopartikülleri ile durdurulduğu belirlenmiştir.

Liu vd. 2014, hidrotermal yöntem kullanılarak PEI ile fonksiyonel hale getirilmiş Ag nanotaneçiklerini (PEI-Ag NP) 100, 140, 160 ve 180°C sıcaklıklarda sentezleyerek farklı morfolojilerde Ag içeren nanoyapılar elde etmişler ve *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* bakterileriyle antibakteriyel aktivite incelemişlerdir. PEI-Ag nanotaneçiklerinin karakterizasyonu zetasizer, UV-Vis spektrometre ve TEM ile gerçekleştirilmiştir. 40°C’de ortalama 23.5 nm çapta küresel nanotaneçikler sentezlendiğı ve en iyi antibakteriyel etkiyi bu sıcaklıkta sentezlenen nanotaneçiklerin gösterdiği saptanmıştır. *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* bakterileri için MIC değerleri sırasıyla 0.62, 0.62, 2.48 ve 1.24 µg/ml bulunmuştur.

Cai vd. 2012, indirgeyici olarak glukoz kullanılarak PEI-rGO, PEI-AgNP ve PEI-rGO-AgNP örneklerini sentezlemişler ve Gram (+) *S. aureus* ve Gram (-) *E. coli* ve bakterileriyle antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Karakterizasyonu atomik kuvvet mikroskobu (AFM), zetasizer, XPS, TEM, UV-Vis spektrofotometre, FTIR ve XRD ile gerçekleştirilmiştir. 5-15 nm boyutlarında AgNP’lerin rGO üzerine homojen dağıldığı bir nanokompozit sentezlendiğı görülmüştür. En yüksek antibakteriyel performans PEI-rGO-AgNP nanokompozitinde gözlemlenmiş, *E. coli*’nin %93’ ünü *S. aureus*’un da %96’ sını öldürdüğü saptanmıştır. PEI-rGO-AgNP diğerlerine göre düşük sitoksisite, biyolojik uyumluluk, mükemmel su çözünürlüğü ve 3 aydan fazla stabilite gösterdiği bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında literatür çalışmalarından farklı olarak Cu, Ni monometalik ve Cu-Ni bimetalik nanotaneçikler doğal ortamından toplanmış “*Cetraria Islandica* (L.) Ach.” liken özütü ile biyosentezlenmiş, sentezlenen mono- ve bimetalik nanotaneçikler polietilenimin (PEI) ile modifiye edilerek antibakteriyel özellikleri incelenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez çalışması kapsamında ilk olarak Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneciklerin liken özütü ile biyosentezi gerçekleştirilmiştir. Metal tuzları ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ve indirgeyici olarak liken özütü kullanılarak farklı sıcaklıklarda (25-75-85-95°C) ve pH değerlerinde (2-10) sentez gerçekleştirilmiş, sentezde yıkama ve saflaştırma işlemleri denenmiş ve uygun yöntem belirlenmiştir. Örnekler XRD, FTIR, SEM-EDX ve UV-Vis analizleri ile karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en uygun pH ve sıcaklık değerleri ile bimetalik CuNi nanotaneciklerin liken özütü ile biyosentezi gerçekleştirilmiştir. Son olarak en uygun koşullarda elde edilen nanotaneciklerin PEI ile modifikasyonu gerçekleştirilmiş ve antibakteriyel performansı incelenmiştir.

3.1 Materyal

Çalışma kapsamında nanotaneciklerin sentezinde doğal ortamından toplanan “*Cetraria islandica* (L.) Ach.” liken örnekleri, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (nikel (II) nitrat heptahidrat) (Merck), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (bakır (II) sülfat pentahidrat) (Sigma), etanol (Sigma), NaOH (Sigma %98), HCl (Sigma %98) ve deiyonize su (DI) kullanılmıştır. Yüzey modifikasyonunda ise düşük ve yüksek molekül ağırlıklı polietilenimin PEI (M_w : 800 ve M_w : 25000) kullanılmıştır.

Antibakteriyel özellikler incelenirken kullanılan maddeler, 550 CFU bioball (*E. Coli* ve *S. Aureus* tohumları) 1 mL sulandırma sıvısı, BD Trypticase soy agar (TSA, 90mm LL), salin çözeltisi, siprofloksasin (“ciprofloxacin hydrochloride monohydrate”, Sigma), medium 11 besi yeri (6 g pepton, 4 g kazein, 3 g maya özütü, 1.5 g et özütü, 1 g dekstroz, 15 g agar ve 1000 mL DI pH 8.3, Sigma), buffer 16 (pH 7 13.6g dibasic potasyum fosfat + 4 g monobasic potasyum fosfat + 1000 mL DI, Sigma) şeklindedir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Liken özütü hazırlanması

Doğal ortamından toplanan “*Cetraria Islandica* (L.) Ach.” liken örnekleri, yüzeydeki

safsızlıkları gidermek için bir optik mikroskop altında temizlenmiş ve daha sonra blender ile toz haline getirilmiştir (Şekil 3.1). 80 ml etanol ile 6 g toz haline getirilmiş liken ekstrakte edilip özüt hazırlanmıştır (Şekil 3.2) (Çıplak vd. 2017).



Şekil 3.1 Likenlerin öğütülmesinde kullanılan blender ve likenlerin ekstraksiyonu



Şekil 3.2 Liken özütü

3.2.2 Nanotaneciklerin (Cu/CuO, Ni/NiO ve Cu-Ni bimetallik) biyosentezi

Cu/CuO ve Ni/NiO nanotanecikleri 1.5 mM 60 ml metal tuzları ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ve 6 ml liken özütü kullanılarak azot ortamında sentezlenmiştir. Sentez parametrelerinden tepkime sıcaklığı (25, 75, 85, 95 °C), pH (pH 2-12), süre (1.5-6 h) ve karıştırma hızının (450-700 rpm) nanoyapı üzerindeki etkisi incelenmiştir. CuNi bimetalik nanotanecikleri de Cu ve Ni nanotaneciklerde belirlenen koşullarda pH 12, 95 °C sıcaklıkta, 1.5 saatte ve 700 rpm hızda azot ortamında sentezlenmiştir. Cu ve Ni tuzları 1:2, 1:1 ve 2:1 oranlarında karıştırılarak sentezlenmiştir. Sentezlenen tanecikler ilk olarak vakum etüvünde 70 °C’de kurutulmuş, sonrasında sırası ile DI, etanol, DI ile yıkama yapılarak 11500 rpm’de 20 şer dakika santrifüjlenmiştir. Vakum etüvünde 70 °C’de 24 saat kurutma yapılarak nanoyapılar elde edilmiştir (Hassanien vd. 2018, Nagar ve Devra 2018, Çıplak vd. 2017).



Şekil 3.3 Nanotaneciklerin sentez deney düzeneği

3.2.3 Nanotaneciklerin (Cu/CuO, Ni/NiO ve bimetalik CuNi) PEI ile modifikasyonu

Sentezlenen nanotanecikler ve bimetalik nanotanecikler düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI çözeltileri (1ml PEI, 4 ml DI) içerisinde ultrasonik banyoda dağıtılarak modifiye edilmiştir. Sentezlenen modifiye yapılar vakum etüvünde 70°C’de kurutulmuş, 11500 rpm’de santrifüjlenerak (20 dk) 3 kere yıkama (DI-etanol-DI) yapılmıştır. Vakum etüvünde tekrar 70 °C’de 24 saat kurutulmuştur (Bagheri vd. 2020, Bezerra vd. 2020).

3.2.4 Analizler

3.2.4.1 Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR)

Analizler FTIR Shimadzu 8400 S cihazında gerçekleştirilmiştir. Potasyum bromür (KBr) kullanılarak tablet haline getirilen örneklerin analizi $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM-EDX)

Analizler QUANTA 400F Field Emission SEM ve Tescan GAIA 3 SEM cihazlarında gerçekleştirilmiştir. Örnekler, sentezlenip kurutulduktan sonra ultrasonik etki ile dağıtma sonucu “stub” üzerine damlatma yapılarak hazırlanmıştır.

3.2.4.3 X-ışınları kırınımı (XRD)

Analizler Shimadzu XRD-6100 X-Işını Kırınım cihazında gerçekleştirilmiştir. Toz numuneler 2 derece/dakika tarama hızında analiz edilmiştir.

3.2.4.4 Ultraviyole ve görünür bölge spektroskopisi (UV-vis)

Analizler Shimadzu UV 1601 ve Perkin Elmer UV cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar 200-1100 nm aralığında elde edilmiştir.

3.2.4.5 Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

Analizler FEI Tecnai G² Spirit BioTWIN cihazında gerçekleştirilmiştir. Örnekler, ultrasonik etki ile DI suda dağıtılmış, karbon kaplı bakır grid üzerine damlatma yapılarak hazırlanmıştır.

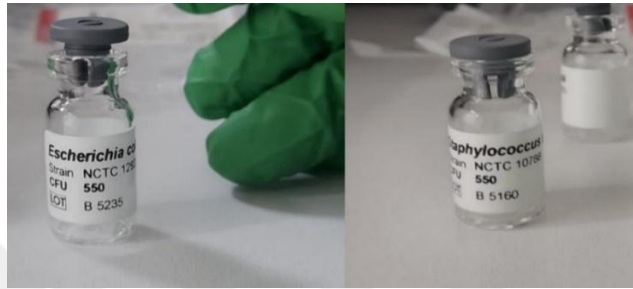
3.2.5 PEI ile modifiye edilmiş Cu-Ni nanoyapıların antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi

Sentezlenen nanoyapıların antibakteriyel özelliklerini değerlendirmek için

mikrobiyolojik miktar tayini yöntemi kullanılmıştır. Kontrol amaçlı siprofloksasin standardı seçilmiştir (Pharmacopeia, USP 29).

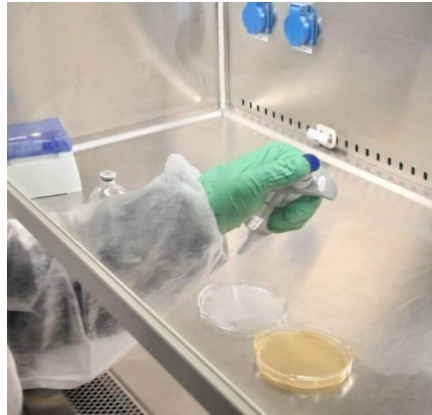
3.2.5.1 Bakteri çözeltilerinin hazırlanması

Stok bakteri çözeltileri için ilk olarak 550 CFU *E. Coli* ve *S. Aureus* tohumları (Şekil 3.4) 1 mL sulandırma sıvısı ile karıştırılmıştır.



Şekil 3.4 *E. coli* ve *S. aureus* tohumları

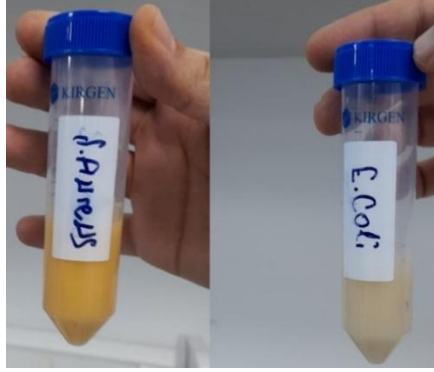
Oluşan çözeltilerden 100'er µl alınıp TSA besi yerlerine ekilerek elle dairesel hareketlerle TSA petrisine dağıtılmıştır (Şekil 3.5). Hazırlanan petriler 1 gün 30-35 °C'de bekletilmiştir. 1 gün sonra oluşan bakteriler petrilere 3'er mL salin çözeltisi eklenerek öze yardımı ile toplanmış ve pipetle santrifüj tüplerine alınmıştır.



Şekil 3. 5 Bakterilerin TSA besi yerine ekilmesi

Hazırlanan stok bakteri çözeltilerinin ömrü + 2-8 °C 'de 15 gündür. 15 günün sonunda bu çözeltilerinden sırasıyla 1 mL alınır ve tekrar TSA ile çoğaltılır. Yapılacak olan

Çalışma için 580 nm dalga boyunda %25 geçirgenlikte mikroorganizmalar ayarlanmıştır (şekil 3.6). Bu işlem için tanık çözelti olarak salin çözeltisi kullanılmıştır.



şekil 3.6 Falcon tüplerinde oğaltılmış *S. Aureus* ve *E. Coli* bakterilerinin görüntüsü

Test için, siprofloksasin standardının zone çapı 14-16 mm arasında olmalıdır. Zone apı için *E. Coli* ve *S. Aureus* mikroorganizmaları ile standardın farklı seyreltme oranları kullanılarak bulunmuştur. Siprofloksasin için 10 mL acetonitrile ve fosforik asit ile çözelti hazırlanmış ve 1 mg siprofloksasin bu çözelti ile karıştırılmıştır. Oluşturulan stok derişimi 1000 mcg/mL dir. Bu seyreltme tampon 16 (pH 7 13.6 g dibasic potasyum fosfat + 4 g monobasic potasyum fosfat + 1000 mL DI) özeltisi ile seyreltilerek *S. Aureus* için bu oran 500 µL siprofloksasin, *E. Coli* için 100 µl olacak şekilde hazırlanmıştır (şeklil 3.7). Siprofloksasin MIC (µg/ml) değerleri *S. aureus* için 0.5 *E. coli* için 0.1'dir.



şekil 3.7 Mikrobiyolojik miktar tayini testi

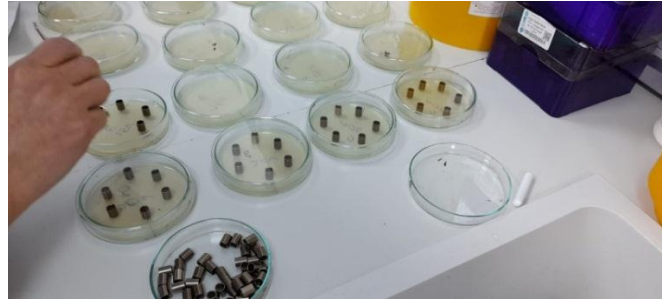
Nano yapılar 0,5 ve 1 mg tartılır 1mL DI ve tampon 16 içinde vorteks veya sonikasyon ile dağıtılmıştır. Bu oranlar standarda eşdeğer olarak 0.5 ve 0.1 µG/ML olacak şekilde ayarlanmıştır. Antibakteriyel test için otoklavlanmış boş petrilere 22

mL Medium 11 besi yeri (6 g pepton, 4 g kazein, 3 g maya özütü, 1.5 g et özütü, 1 g dekstroz, 15 g agar ve 1000 mL DI pH 8.3) eritilerek eklenmiş sonra kısa bir süre bu ilk tabakanın donması beklenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Test için hazırlanan medium 11 petrilere

İlk katman donunca 50 mL medium 11 beherlere alınır sıcaklıkları 40-42 °C olunca (mayalama sıcaklığı) Salin çözeltisi ile seyreltilen bakteri çözeltileri eklenmiş daha sonra bu bakterili medium 11 ler 2 tabaka olarak hazırlanan petrilere 4'er mL eklenip dairesel hareketlerle dağıtılmıştır. 2 katman da donunca 8 mm çaplı çelik silindirik diskler aralıklı olarak petrilere yerleştirilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Test için kullanılan silindirik diskler

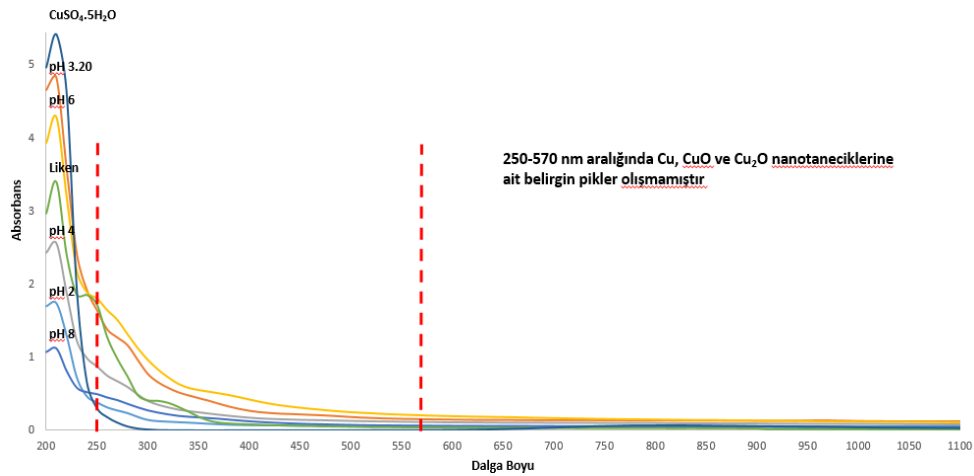
Hazırlanan siprofloksasin ve nano yapılar diskler 100'er µl eklenerek 1 gün 30-35 °C'de bekletilmiştir. Ertesi gün dijital kumpas ve koloni sayım cihazı yardımıyla disklerin etrafında oluşan zone çapları ölçülmüştür. Standardın zone çaplarının ortalaması alınarak nano yapıların zone çaplarının da ortalamaları alınıp oluşan değerler kıyaslanmıştır. Standardın test sonucu %100 kabul edilerek elde edilen veriler ile nano yapıların etki yüzdeleri hesaplanmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

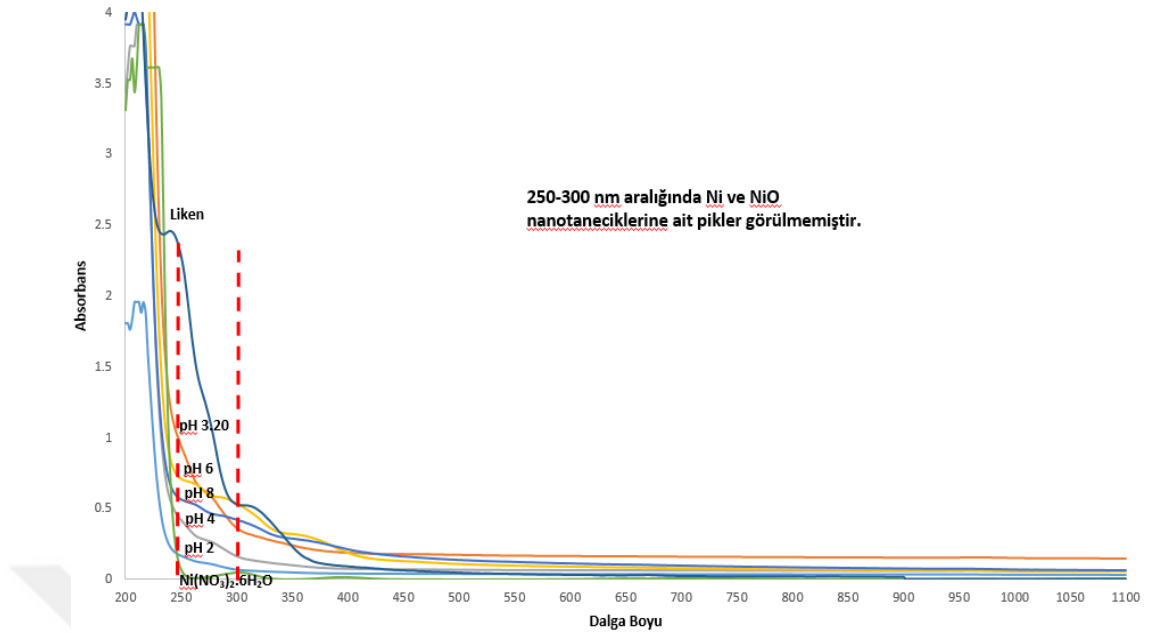
Tez çalışması kapsamında Cu, Ni ve CuNi nanotaneceklerin sentezi, nanotaneceklerin PEI ile yüzey modifikasyonu, nanotaneceklerin ve CuPEI, NiPEI, CuNiPEI nanokompozitlerinin *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri ile antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi ve karakterizasyonları sonucunda elde edilen bulgular bu bölümde verilmiştir.

4.1 Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneceklerinin Sentezi

Cu/CuO ve Ni/NiO nanotanecekleri ilk olarak uygun pH değerini belirlemek için 95 °C de, pH 2-8 aralığında ve 6 saatte sentezlenerek UV-Vis ile analiz edilmiştir. Süreli yayınlarda, Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneceklerine ait UV-Vis spektrumlarında 570 nm 'de Cu, 250-365 nm'de CuO, 250-300 nm'de Ni ve 319 nm'de NiO'in karakteristik piklerinin olduğu bilinmektedir. 95 °C de sentezlenen nanotaneceklerde pH 2, 3, 4, 6 ve 8 değerlerinde UV-Vis spektrumlarında Cu/CuO ve Ni/NiO için piklerin oluşmadığı görülmektedir. Yüksek pH değerlerinde metal tuzları NaOH ile tepkimeye girerek indirgenme işlemi için bir ara ürün olan metal hidroksitleri oluşturmaktadır. UV-VIS sonuçlarına bakıldığında düşük pH değerlerinde bakır ve nikel tuzlarının indirgenmediği görülmektedir. (Şekil 4.1 ve 4.2) (Hassanien vd. 2018, Sabouri vd. 2018, Ghidan vd. 2016, Elango vd. 2016)

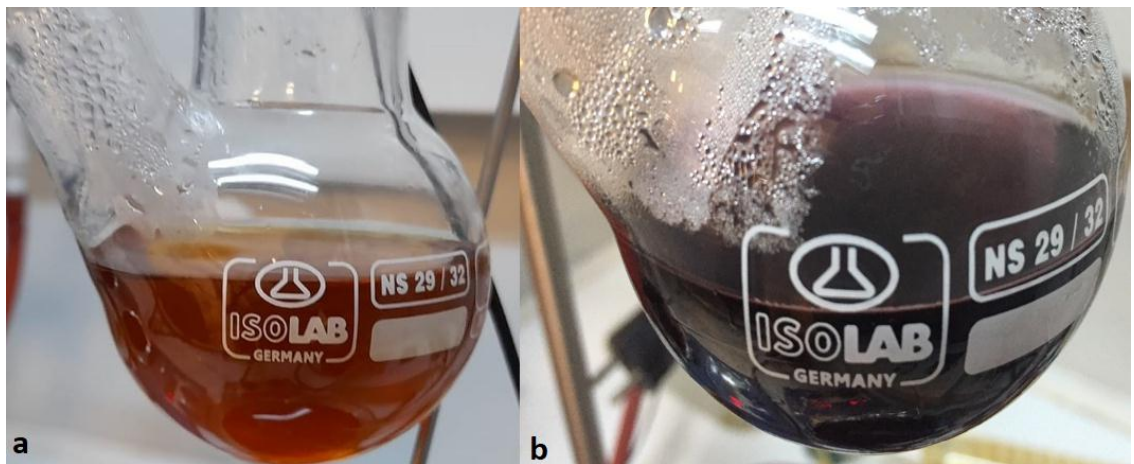


Şekil 4.1 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 2-8)



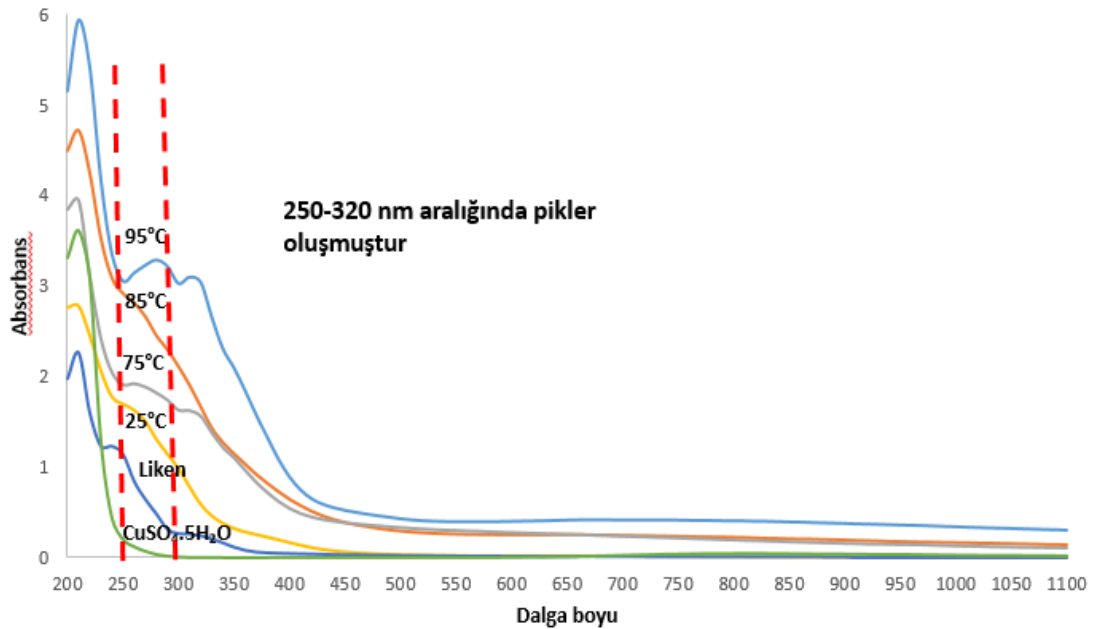
şekil 4.2 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 2-8)

pH 10 ve 12’de ise UV-Vis ve FTIR spektrumları Cu/CuO ve Ni/NiO için süreli yayınlara benzer olarak bulunmuş ve bu pH değerlerinde 25, 75, 85 ve 95 C de sentez yapılarak uygun sıcaklık belirlenmeye çalışılmıştır (şekil 4.3-4.11). UV-Vis spektrumunda, pH 10’da 250-300 nm arasında Cu, pH 12 de ise 290 nm de CuO pikleri oluşmuştur (Ghidan vd. 2016). Metal tuzlarında UV-Vis de ayırt edilebilir belirgin bir pik yoktur. Likem ise 220 nm de pik vermektedir. Ayrıca UV-Vis spektrumlarında sıcaklık ve pH ın artmasıyla daha belirgin piklerin oluştuğu gözlenmiştir (şekil 4.4, şekil 4.6).

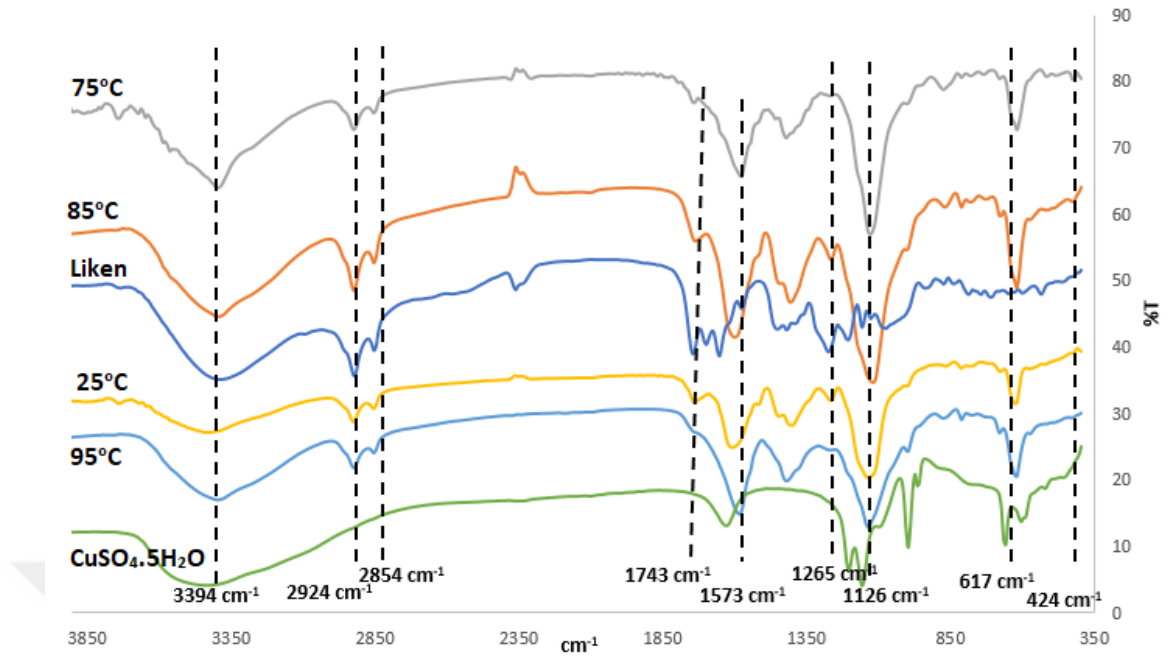


şekil 4.3 pH 12 95 C de sentez sonrası nanotanicikler a) bakır b) nikel

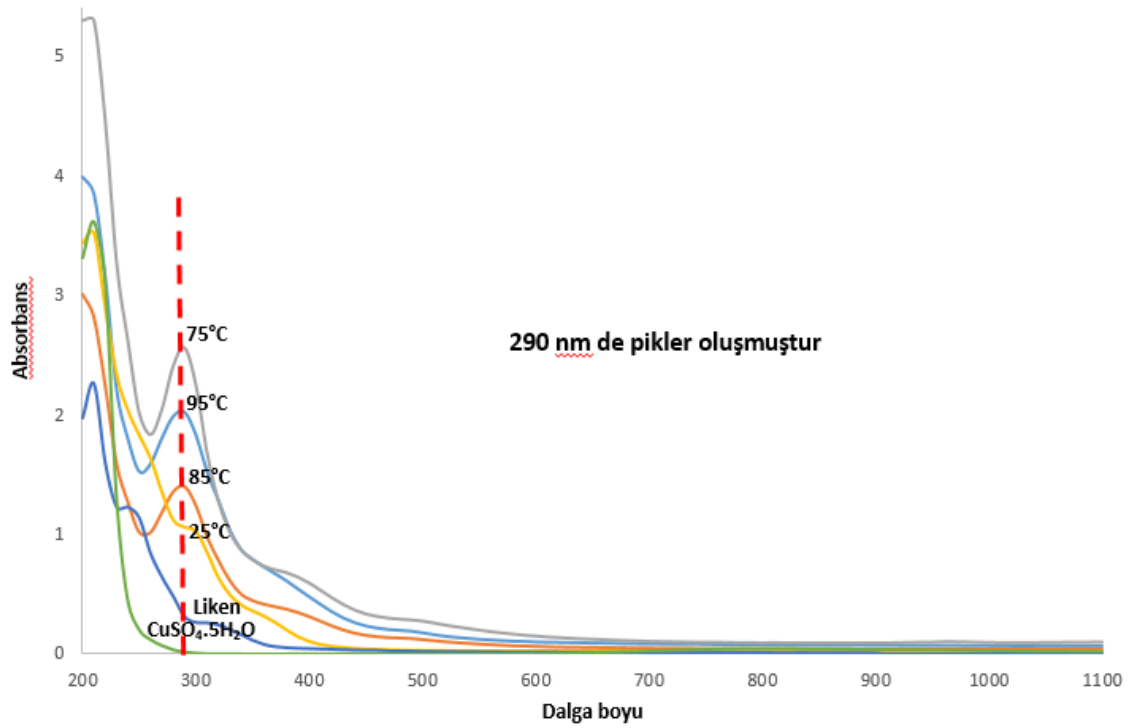
Sürelî yayınlarda FTIR sonuçlarında 547 cm^{-1} 'de Cu, 529 cm^{-1} 'de CuO, 624 cm^{-1} 'de Cu_2O , $522\text{-}850\text{ cm}^{-1}$ 'de NiO nanotaneçiklerinin karakteristîk pikleri ve 3433 cm^{-1} 'de -OH karakteristîk piklerinin bulunduğu bilinmektedir. *C. islandica* liken örneği, polisakkaritler ve protoketrik asit, fumarprotoketrik asit, likesterinik asit, protolichesterinik asit vb. gibi sekonder metabolitler bakımından zengindir. *C. islandica* nın FTIR spektrumunda, OH gerilme titreşimi (3400 cm^{-1}), C-H alifatik asitlerin gerilme titreşimleri (2924 cm^{-1} ve 2854 cm^{-1}), C = O zincir ester titreşimi (1743 cm^{-1}), C = O fenil ester titreşimi (1690 cm^{-1}), C = O aldehit titreşimi (1651 cm^{-1}), C = C titreşimi (1573 cm^{-1}), CH_2 , CH_3 bandı (1443 cm^{-1}) ve CO metil ester titreşimleri (1273 cm^{-1} , 1072 cm^{-1}) gözlenmektedir (Şekil 4.5, Şekil 4.7) (Çıplak vd. 2018). Farklı sıcaklıklarda pH 10 ve 12 değeriinde sentezlenmiş örneklerin FTIR spektrumlarında, OH gruplarından dolayı 3394 cm^{-1} 'de bir pik, ayrıca 2924-2854, 1743, 1573 ve 1265-1126 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pikler C-H asimetrik gerilme, C = O aromatik halka, C = C esneme, C-O ve 879 cm^{-1} $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ bağlarıyla ilgilidir. Ayrıca, 424-624 cm^{-1} arasında oluşan pikler ise Cu-O (metal oksijen) etkileşimine bağlı olarak ortaya çıkan piklerdir. Elde edilen bulgularda pH ve sıcaklığın artmasıyla indirgenmenin daha etkin olduğunu göstermektedir (Şekil 4.5, Şekil 4.7) (Hassanien vd. 2018, Sharmila vd. 2016).



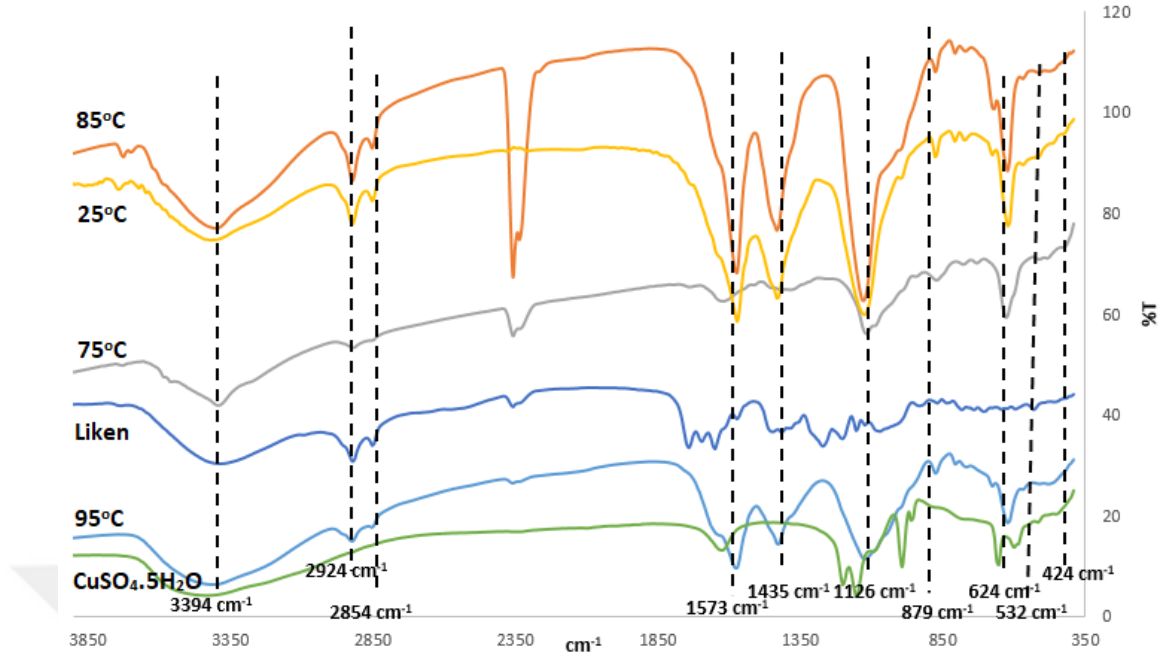
Şekil 4.4 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 10)



Şekil 4.5 Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 10)

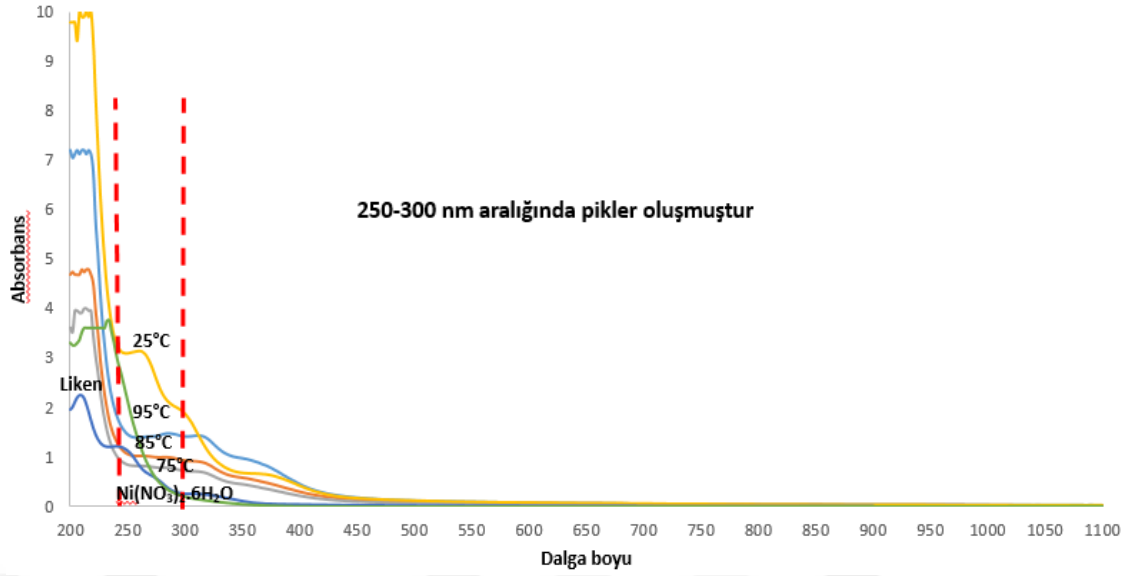


Şekil 4.6 Cu/CuO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 12)

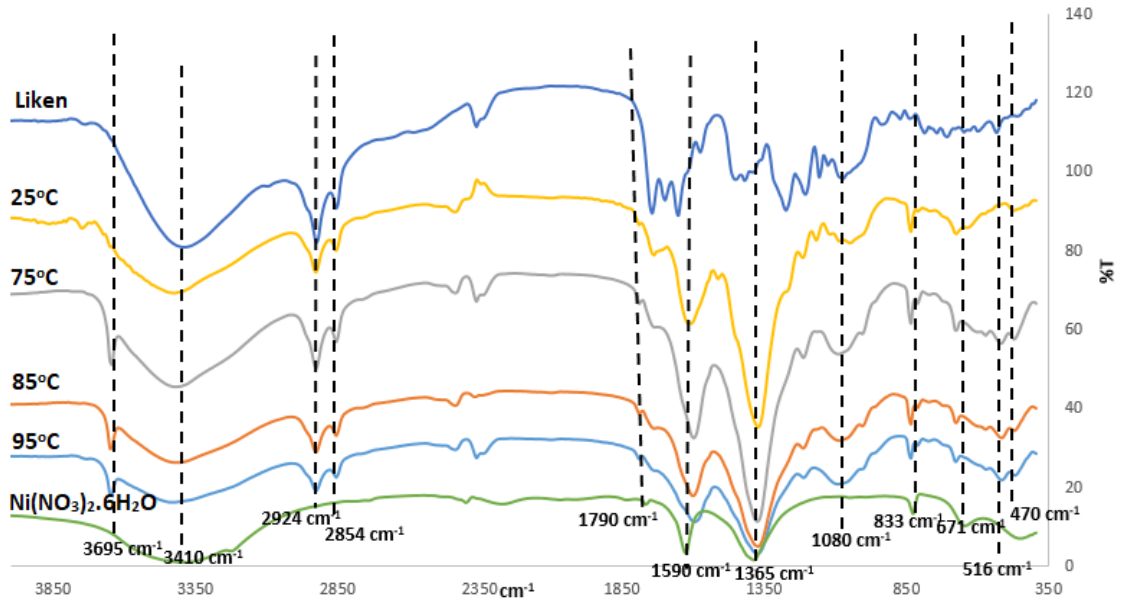


Şekil 4.7 Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12)

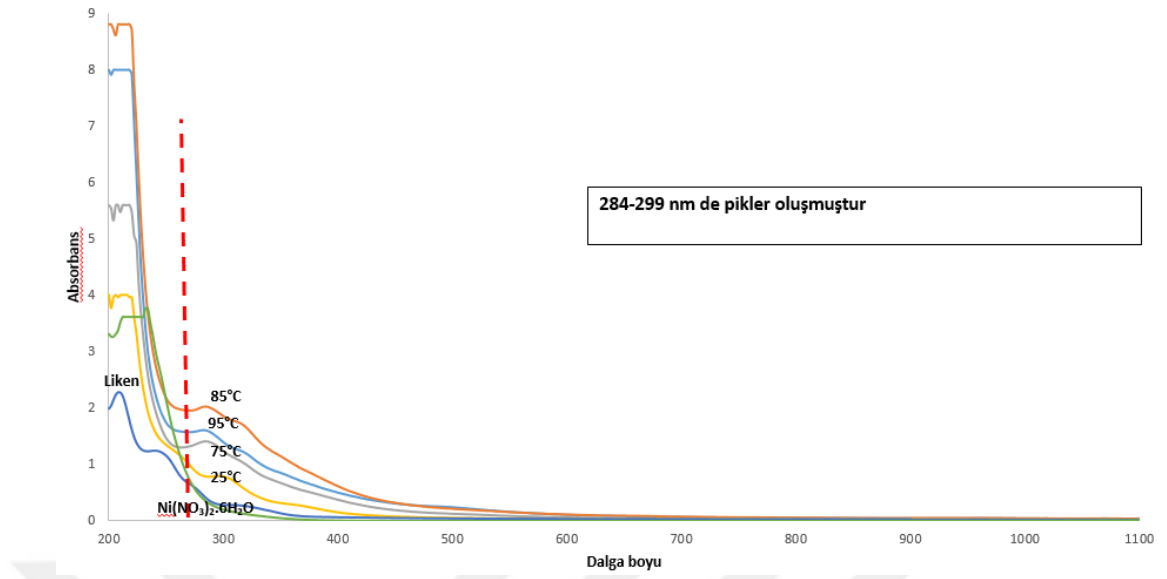
Sentezlenen Ni/NiO nanopartiküllerinin UV spektrumları incelendiğinde, pH 10 da 250-300 nm de pH 12 de ise 284-290 nm de Ni pikleri gözlenmiştir (Elango vd. 2016). UV-Vis spektrumlarında sıcaklık ve pH ın artmasıyla daha belirgin pik oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.8, Şekil 4.10). Ni/NiO nanopartiküllerine ait FTIR spektrumlarında OH gruplarından dolayı 3394 cm^{-1} de bir pik, ayrıca 2924-2854, 1790, 1581 ve 1365 ve 1026 cm^{-1} de ortaya çıkan bazı pikler C-H asimetrik gerilme, N-H, C = C esneme, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ve C-O bağlarıyla ilgilidir. 450-530 ve 671 cm^{-1} de oluşan pikler ise Ni-O (metal oksijen) bağları nedeni ile ortaya çıkan piklerdir. Elde edilen bulgularda pH ve sıcaklığın artması liken özütü ve Ni iyonları arasındaki etkileşimin daha iyi olduğunu göstermektedir (Şekil 4.9, Şekil 4.11) (Olajire vd. 2019, Ezhilerasi vd. 2016). Elde edilen bulgulara dayanarak sonraki çalışmalara pH 12 de devam edilmiştir.



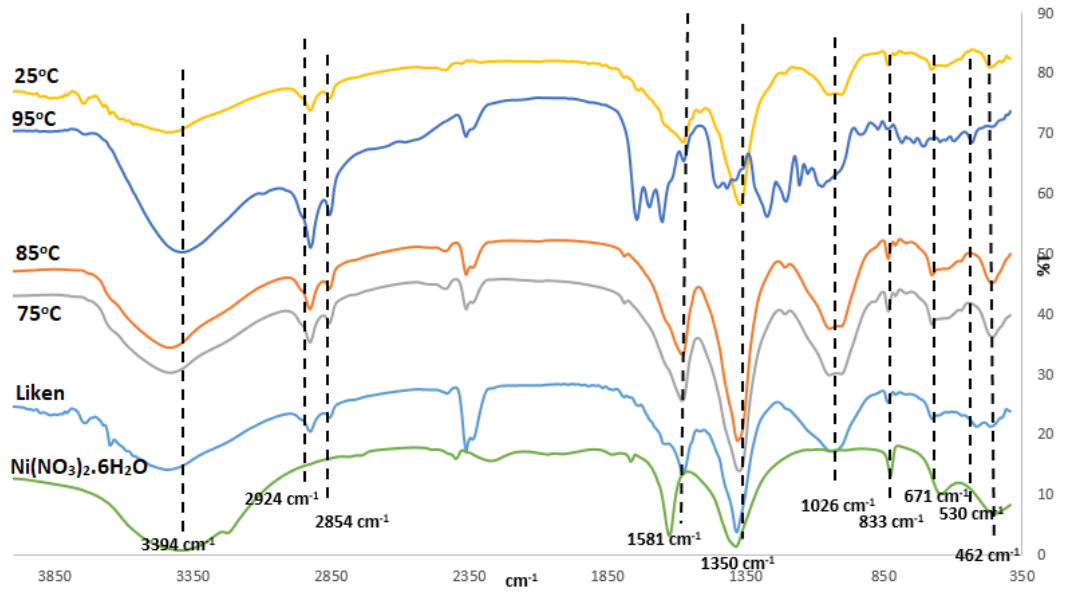
Şekil 4.8 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 10)



Şekil 4.9 Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR analizi spektrumu (pH 10)



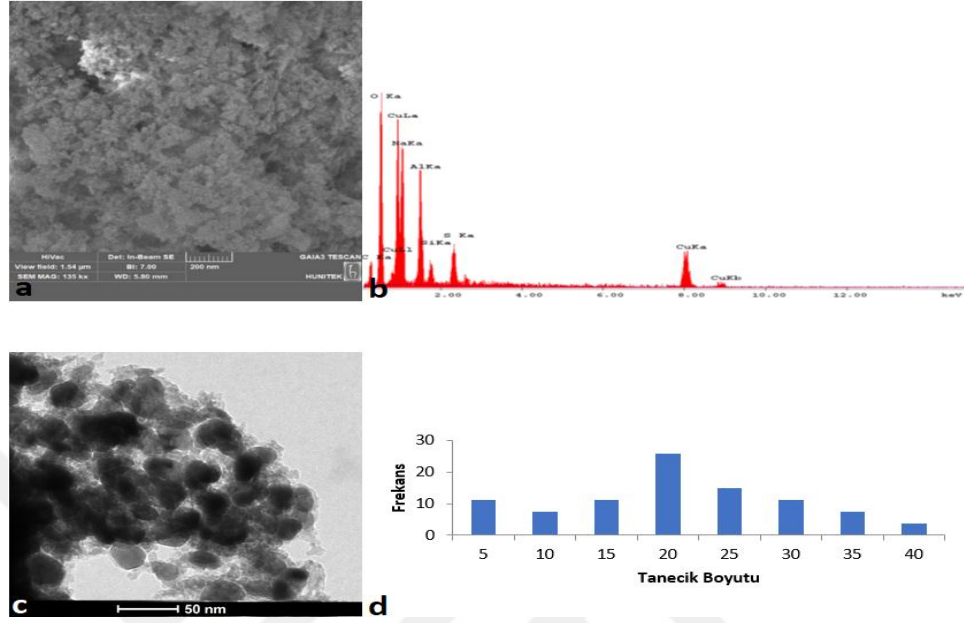
şekil 4.10 Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumu (pH 12)



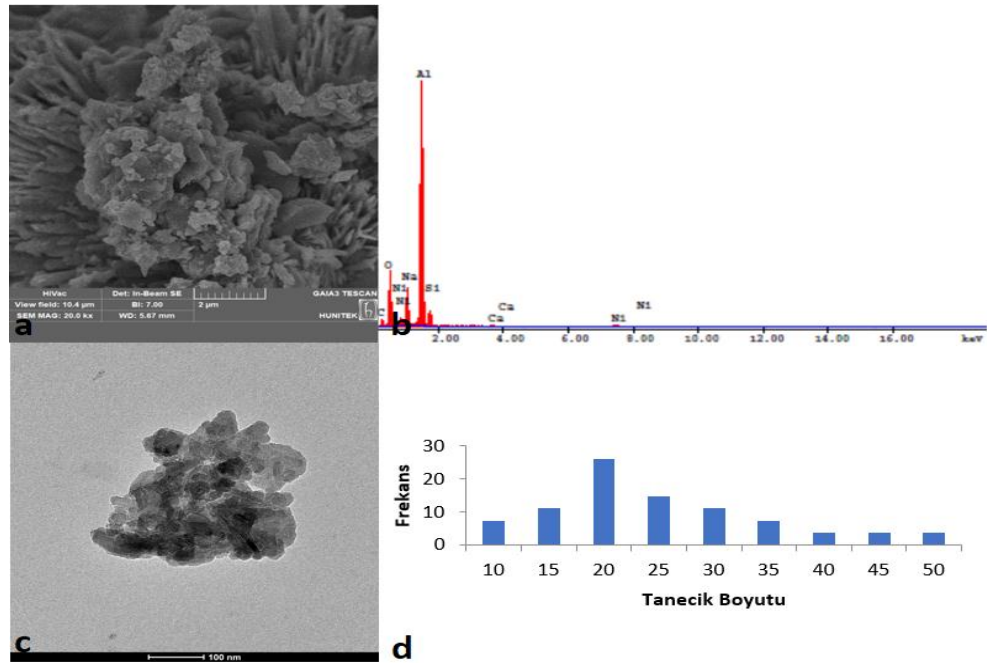
şekil 4.11 Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12)

pH 12 de 75, 85 ve 95 °C de sentezlenen Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneciklerin SEM-EDX ile tanecik boyutları incelenmiş sonuçlar 100 nm den büyük ve aglomere olduğu için sentez süresi 6 saatten 3 saate ve sonra 1.5 saate düşürölmüş, ayrıca farklı saflaştırma yöntemleri denenmiştir. Sentez süresi 1.5 saate düşüröldükten sonra TEM ve SEM görüntülerinden 100 nm ve altında tanecikler elde edildiği saptanmıştır (şekil 4.12 ve 4.13). TEM görüntülerinde Cu/CuO nanotaneciklerin 10 nm boyutlarda (5-40nm)

olduğu görünmektedir (Şekil 4.12). Ni/NiO nanotaneçikler de ortalama 20 nm boyutlarda (10-40 nm) olduğu görülmektedir (Şekil 4.13).

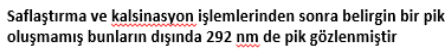


Şekil 4.12 Cu/CuO nanopartiküllerinin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) taneçik boyut histogramı (pH 12, 95°C)



Şekil 4.13 Ni/NiO nanopartiküllerinin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) taneçik boyut histogramı (pH 12, 95°C)

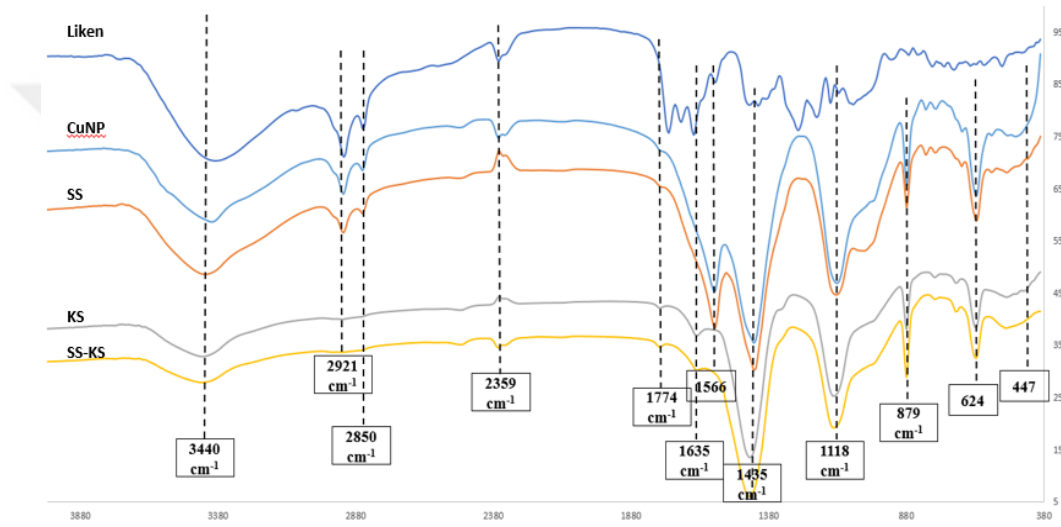
bir pik görülmemiştir bu sınıştırma yöntemiyle liken nanopartiküllerle birlikte malzeme kaybına yol açmış olması da yüksek sıcaklığın yapıyı bozmuş olabileceği düşünülmektedir (vd. 2016).



12, 95°C)

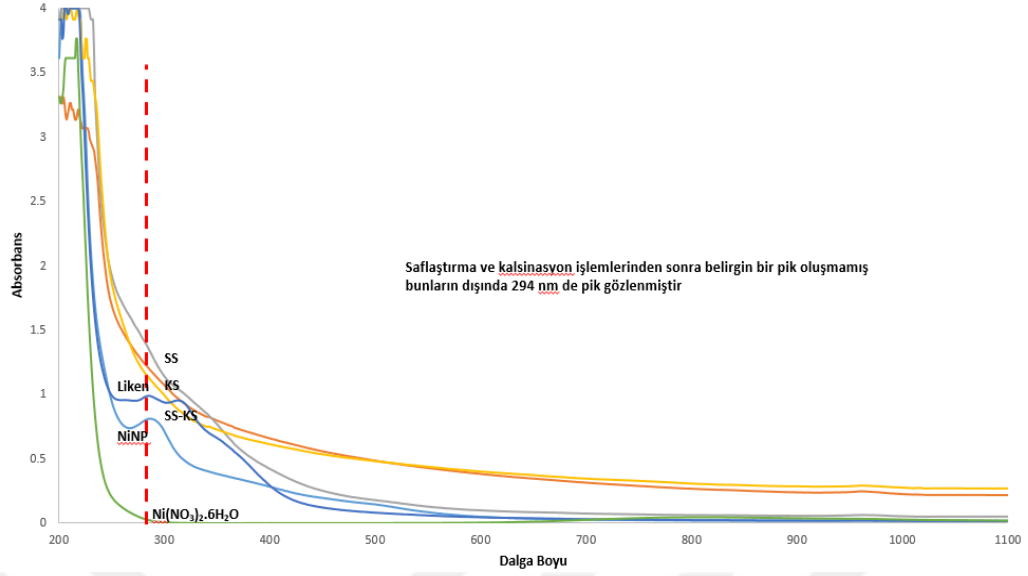
C=O bağlarından kaynaklanmaktadır. 2758 ve 3495 cm^{-1} 'de elde edilen bantlar, birincil

alkanların ve –OH bağlarına karşılık gelmektedir (Sivaraj vd. 2014). Yapılan bu çalışmada da literatüre benzer bantlar görülmüştür ve OH gruplarından dolayı 3410 cm^{-1} 'de bir pik, ayrıca 2921, 1783-1774, 1635-1643 ve $1020-1120\text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan bazı sinyaller CH asimetrik gerilme, C = O aromatik halka, C = C esneme ve C-OH bağlarıyla ilgilidir. Cu/CuO nanopartiküllerin FTIR spektrumu ayrıca indirgeme aşamasında Cu iyonları ve liken özütü arasındaki olası etkileşimi de ortaya koymaktadır (Şekil 4.15).

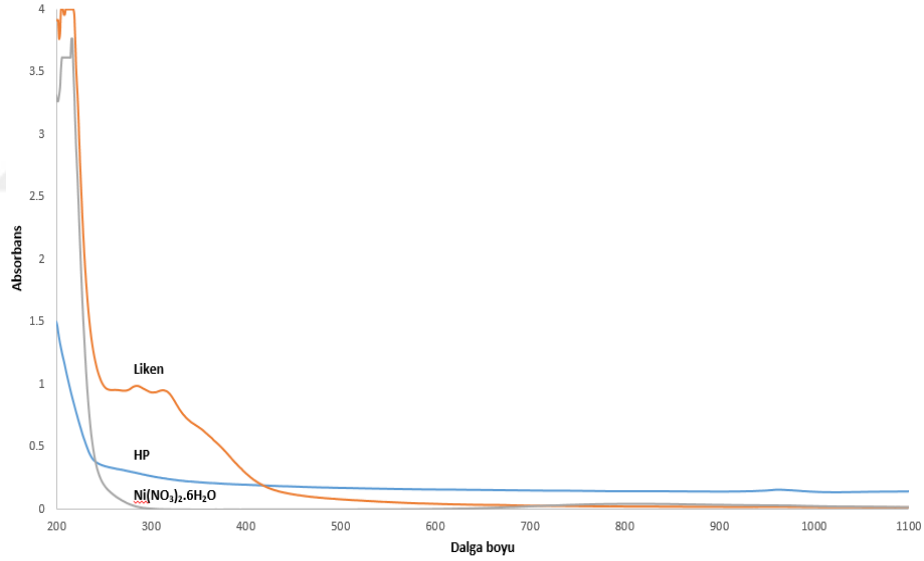


Şekil 4.15 Farklı koşullarda sentezlenmiş Cu/CuO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu (pH 12, 95°C)

Ni/NiO nanopartikülleri, 1.5 mM 60 ml $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 6ml liken özütü ve 1.5 ml NaOH ile (pH 12 için) 95 °C’de sentezlenmiş, bir kısmı saflaştırma ve kalsinasyon olmadan (NiNP), bir kısmı sadece kalsine edilerek (KS), kalan kısmı saflaştırılıp (SS) saflaştırma sonrasında da kalsine edilerek (SS KS) hazırlanmıştır. Bu Şekilde hazırlanan 4 farklı örneğin UV-Vis (Şekil 4.16) ve FTIR analizleri (Şekil 4.18) gerçekleştirilmiştir. Ayrıca aynı Şekilde sentezlenmiş olan Ni/NiO, sentez sonunda hot plate yöntemiyle yüksek sıcaklıkta ısıtıcıda bir beher içerisinde suyu buharlaştırılarak saflaştırılıp kalsine edildikten sonra UV-Vis (Şekil 4.17) ve FTIR analizleri yapılmıştır (Şekil 4.18). UV-Vis spekturumlarında 286 nm’de NiO nanopartikül piki gözlenmiştir (Şekil 4.16). Kalsinasyon işleminden sonra ise belirli bir pik görülmemiştir (Şekil 4.17) (Ramesh vd. 2020).



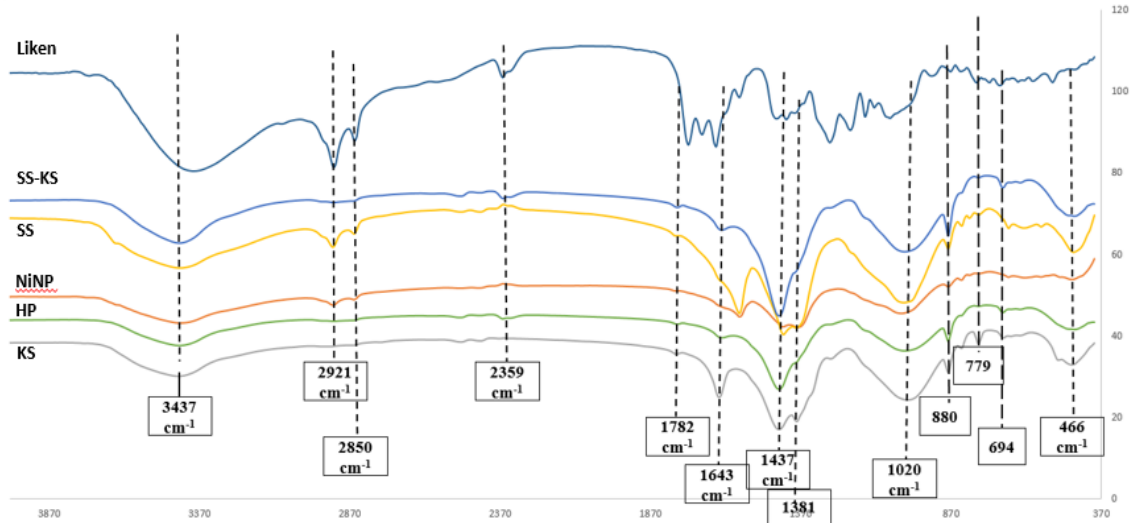
Şekil 4.16 Farklı koşullarda sentezlenmiş Ni/NiO nanopartiküllerinin UV-Vis spektrumları (pH 12, 95°C)



Şekil 4. 17 Hot plate yöntemi uygulanan Ni/NiO nanotanciklerinin UV-Vis spektrumu (Kalsinasyon sonrası)

Literatürde, $3192\text{--}3652\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki karakteristik pik, -OH fenolik gerilme grubunu temsil ederken, $2200 - 2500\text{ cm}^{-1}$ ve $1300\text{ ila }1570\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler, alifatik hidrokarbonların absorpsiyonunun C – H gerilme titreşimini, $1600\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$ 'de aldehitlerin C – C aromatik halka gerilme titreşimini gösterdiği, ayrıca, Ni-O bağ titreşimine ait piklerin, farklı bitki özütleriyle sentezlenen NiO nanopartiküller için 455 cm^{-1} 'de ve 500 cm^{-1} 'de ortaya çıktığı bilinmektedir (Razanamahandry vd. 2020).

Sentez sonrası işlem görmüş örneklerin FTIR analizlerinde, literatüre benzer pikler görülmüş ve OH gruplarından dolayı 3410 cm^{-1} 'de geniş bir pik, ayrıca 2921, 1783-1774, 1635-1643 ve $1020\text{--}1120\text{ cm}^{-1}$ 'de oluşan bazı sinyallerin CH asimetrik gerilme, C = O aromatik halka, C = C esneme ve C-OH bağlarıyla ilgili olarak ortaya çıktığı saptanmıştır. Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR spektrumu ayrıca indirgeme aşamasında Ni iyonları ve liken özütü arasındaki olası etkileşimi de ortaya koymaktadır (Şekil 4.18). Saflaştırma işlemi ile liken kalıntılarının yeterince giderilemediği liken örneğine ait spektrum ile karşılaştırıldığında, sentez sonrası işlem görmüş nanopartiküllerin spektrumlarındaki düşük şiddetteki piklerden anlaşılmaktadır.



Şekil 4.18 Farklı koşullarda sentezlenmiş Ni/NiO nanopartiküllerinin FTIR spektrumları

Yapılan kalsinasyon ve saflaştırma çalışmalarında UV-Vis analizinde piklerin kaybolduğu görülmüştür. FTIR sonuçları ise literatür sonuçlarına yakın çıkmış ve sonuçlar çizelge 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Cu/CuO nanotaneceklerini için FTIR pikleri

	-OH	-CH	-C-C	-C=O	-NH	-C=C	-N-O	-CH ₂ -CH ₃	-C-O	Cu/CuO
Usman vd. 2019 CuNP	3453 cm ⁻¹	2974 2876 cm ⁻¹		1755 cm ⁻¹		1659 cm ⁻¹		900-700 cm ⁻¹ 1	1273 cm ⁻¹	
Hassanien vd. 2018 CuNP	3410 1028 cm ⁻¹	2949 cm ⁻¹		1783 cm ⁻¹		1615 cm ⁻¹				655 cm ⁻¹ 1(CuNP)
Sharmila vd. 2018 CuONP	3284 cm ⁻¹	2921 2850 cm ⁻¹		1725 1656 cm ⁻¹			1521 cm ⁻¹		1232 1073 cm ⁻¹	507 cm ⁻¹ (CuONP)
Sharmila vd. 2016 CuONP	3315 cm ⁻¹	2922 2851 cm ⁻¹		1726 cm ⁻¹	1641 1606 cm ⁻¹				1046 cm ⁻¹	477 cm ⁻¹ (CuONP)
Kerour vd. 2018 Cu₂ONP		2915 2852 cm ⁻¹	1051 cm ⁻¹	1596 cm ⁻¹					1413 cm ⁻¹	616 cm ⁻¹ (Cu ₂ ONP)
Bu Çalışma (pH12 75°C Cu)	3386 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2364 cm ⁻¹	1744 1627 cm ⁻¹				874 cm ⁻¹	1120 cm ⁻¹	632 cm ⁻¹ 512 cm ⁻¹ 482 cm ⁻¹ 418 cm ⁻¹
Bu Çalışma (pH12 85°C Cu)	3400 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2364 cm ⁻¹			1574 cm ⁻¹		877 cm ⁻¹ 1434 cm ⁻¹	1130 cm ⁻¹	669 cm ⁻¹ 624 cm ⁻¹ 578 cm ⁻¹ 464 cm ⁻¹
Bu Çalışma (pH12 95°C Cu)	3407 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2364 cm ⁻¹			1576 cm ⁻¹		882 cm ⁻¹ 1429 cm ⁻¹	1125 cm ⁻¹	674 cm ⁻¹ 624 cm ⁻¹ 573 cm ⁻¹ 510 cm ⁻¹ 482 cm ⁻¹
Bu çalışma (Liken özütü)	3400 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹		1743 1690 1651 cm ⁻¹		1573 cm ⁻¹		1443 cm ⁻¹	1273 1072 cm ⁻¹	

Çizelge 4.2 Ni/NiO nanotanecikleri için FTIR pikleri

	-OH	-CH	-C- C	- C=O	-NH	- C=C	-C-N	CH ₂ - CH ₃	-C-O	- CO ₃	Ni/NiO
Banik vd. 2019 NiNP		2972 cm ⁻¹		1763 cm ⁻¹				1642 1468 cm ⁻¹		872 697 cm ⁻¹	
Vasudo vd. 2016 NiNP	3495 cm ⁻¹			1674 cm ⁻¹	1565 cm ⁻¹		1413 cm ⁻¹		1219 cm ⁻¹		500 cm ⁻¹ (NiNP)
Olajire vd. 2019 NiONP	3308 cm ⁻¹	2922 2852 cm ⁻¹	2364 2135 cm ⁻¹	1734 cm ⁻¹		1608 cm ⁻¹			1265- 1064 cm ⁻¹		400- 1000 cm ⁻¹ (NiONP)
Ezhilarasi vd. 2018 NiONP	3400- 3700 cm ⁻¹	2590 cm ⁻¹			1750 cm ⁻¹	1518 1356 1186 cm ⁻¹			1018 cm ⁻¹		482-900 cm ⁻¹ (NiONP)
Ezhilarasi vd. 2016 NiONP	3879 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2313 2027 cm ⁻¹	1835 cm ⁻¹		1605 cm ⁻¹			1184 cm ⁻¹		400- 1000 cm ⁻¹ (NiONP)
Bu Çalışma (pH12 75°C Ni)	3422 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2440 2364 cm ⁻¹	1787 cm ⁻¹		1579 cm ⁻¹		1371 cm ⁻¹	1211 1050 cm ⁻¹		834-459 cm ⁻¹
Bu Çalışma (pH12 85°C Ni)	3427 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2440 2360 cm ⁻¹	1787 cm ⁻¹		1579 cm ⁻¹		1379 cm ⁻¹	1211 1052 cm ⁻¹		831-456 cm ⁻¹
Bu Çalışma (pH12 95°C Ni)	3442 cm ⁻¹	2924 2855 cm ⁻¹	2430 2364 cm ⁻¹	1792 1733 1645 cm ⁻¹		1579 1516 cm ⁻¹		1381 cm ⁻¹	1034 cm ⁻¹		836-423 cm ⁻¹

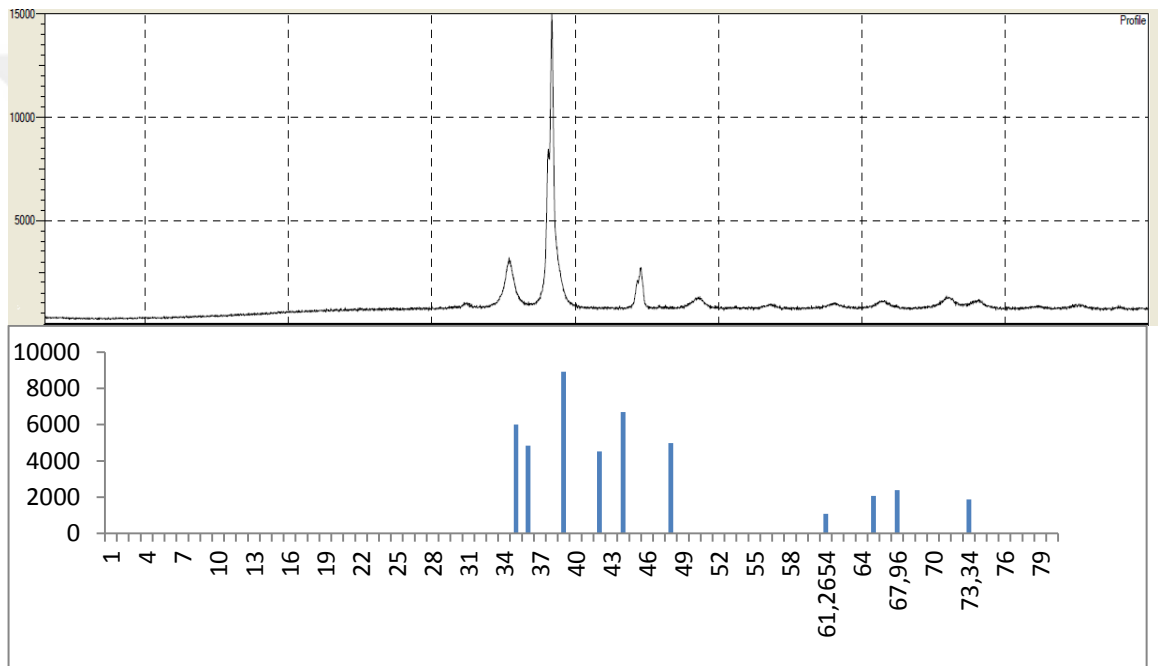
Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneciklerinin saflaştırma ve kurutma sonrası görünümleri Şekil 4.19 'da verilmiştir.



Şekil 4.19 Cu/CuO ve Ni/NiO nanotaneciklerinin saflaştırma ve kurutma sonrası görünümleri

Sentezlenen Cu ve Ni nanotaneceklerinin XRD analiz sonucu Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de verilmiştir.

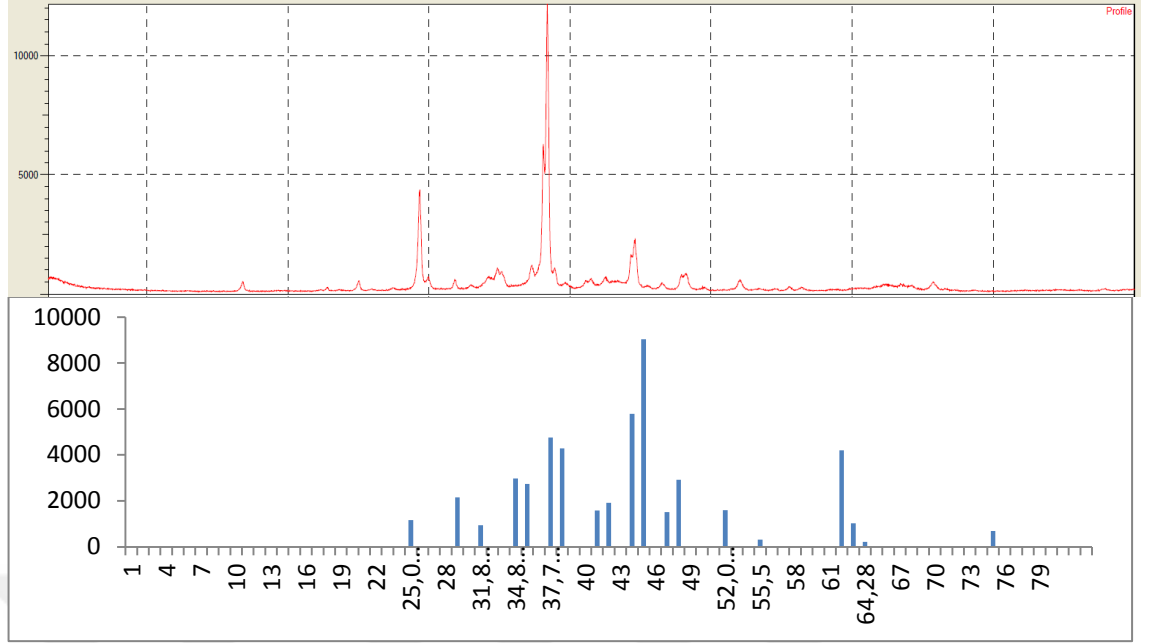
Cu nanotanecekler için XRD de 2θ 43.27°, 50.40° ve 74.17° elementel bakır, 36.39° ve 61.48° Cu₂O nanotaneceklerin olduğunu göstermektedir. Sentezlenen Cu/Cu₂O nanotaneceklerinin XRD kırınım pikleri incelendiğinde karakteristik piklerin standart Cu/Cu₂O kristal yapısını gösterdiği ve sürekli yayınlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20) (Mohamed E. 2020).



Şekil 4.20 Sentezlenen Cu nanotaneceklerinin XRD analiz sonuçları

NiO nanotanecekler XRD de $2\theta=37.14$, 43.35, 62.89 ve 75.49 da pik vermektedir (Şekil 4.21).

Ni nanotanecekler ise 44.58, 51.9 ve 76.54’te pik vermektedir. Sentezlenen NiO nanotaneceklerinin XRD kırınım pikleri incelendiğinde karakteristik piklerin standart NiO kristal yapısını gösterdiği ve sürekli yayınlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21, Karpagavinayagam vd. 2020).



Şekil 4.21 Sentezlenen NiO nanotaneçiklerinin XRD analiz sonuçları

4.2 CuNi Bimetalik nanotaneçikler

CuNi bimetalik nanotaneçikleri Cu ve Ni nanotaneçiklerde belirlenen koşullarda pH 12, 95 °C sıcaklıkta, 1.5 saatte ve 700 rpm hızda azot ortamında sentezlenmiştir. Cu ve Ni tuzları 1:2, 1:1 ve 2:1 oranlarında karıştırılarak sentezlenmiş (Şekil 4.22, Şekil 4.23) ve UV-Vis spektrumları karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Şekil 4.24).

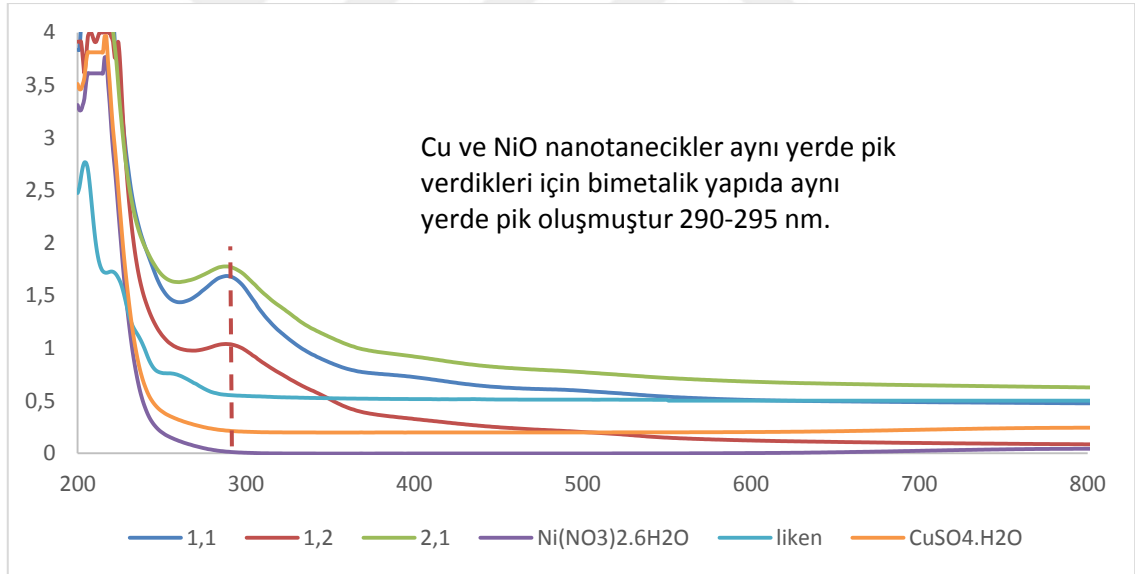


Şekil 4.22 Sentez sonrası CuNi bimetalik nanotaneçik görünümü (1:1)

UV-vis, FTIR, SEM, TEM ve XRD sonuçları değerlendirilerek literatüre göre en iyi sonucu 1:1 oranda 1.5 mM 60 ml (4.5 ml $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ stoktan, 4.5 ml $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ stoktan) 6ml liken özütü ve 1.5 ml NaOH ile (pH 12 için) 95 °C’de ve 700 rpm karıştırma hızında sentezlenen CuNi nanotaneceklerin verdiği gözlenmiştir.

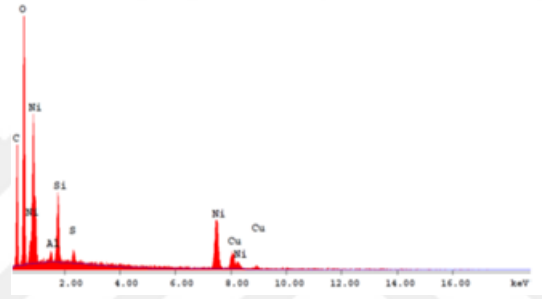
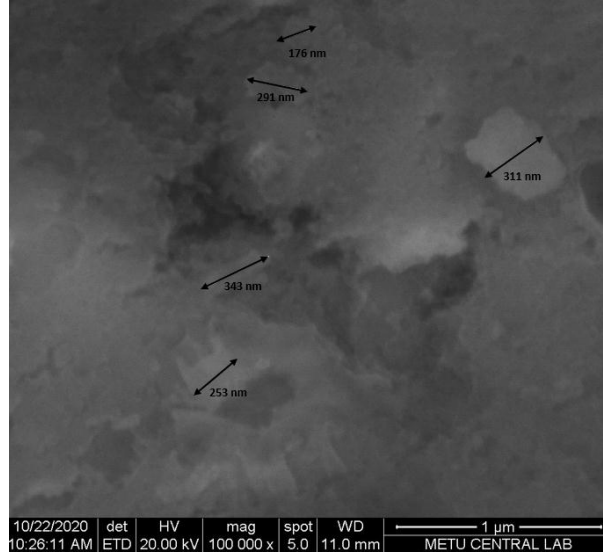


Şekil 4.23 Saflaştırma ve kurutma sonrası CuNi nanotanecekler

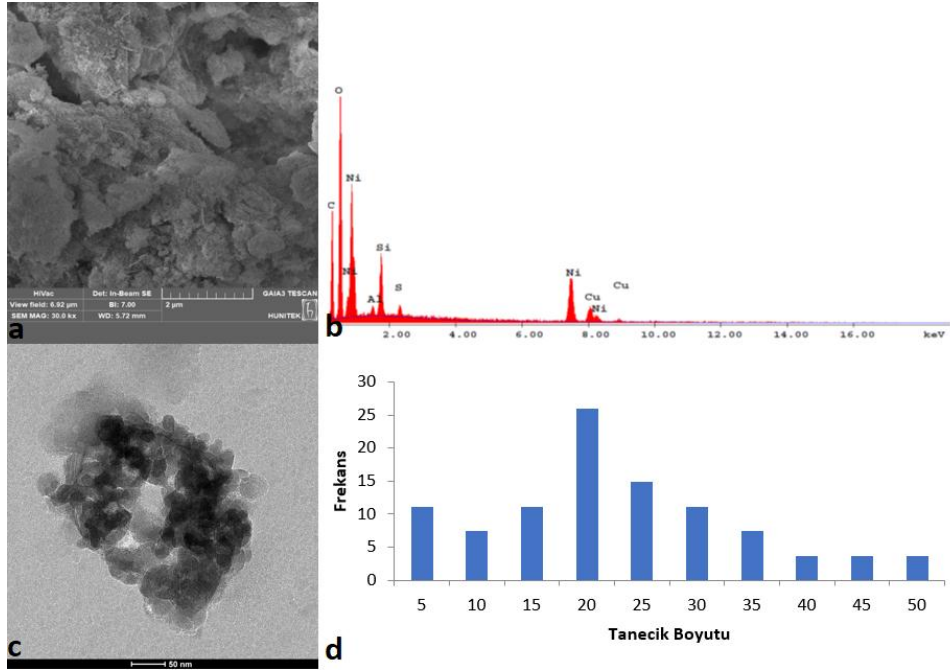


Şekil 4.24 Cu-Ni BNP sentezi Uv-Vis spektrumu (farklı oranlarda)

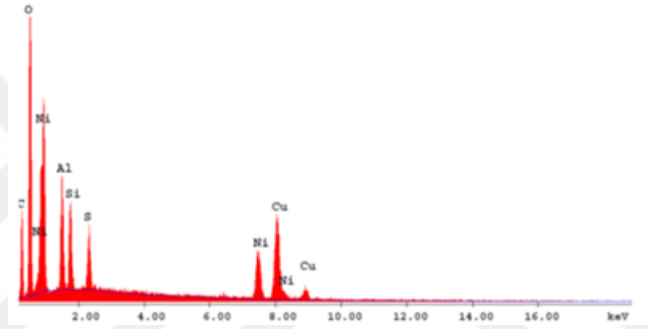
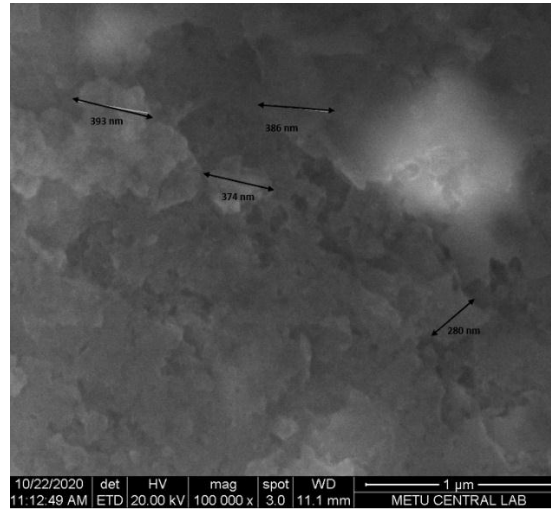
SEM-EDX görüntüleri incelendiğinde farklı boyutlarda (10-250 nm) nanotanecekler görülmüştür. EDX analizinde ise Cu ve Ni nanotaneceklerin varlığı görülmektedir (Şekil 4.25-4.27). Boyut dağılımlarında 30 nm boyutlarda (5-50 nm) daha çok 1:1 oranda CuNi bimetalik taneciklerde görüldüğü TEM analizi ile de kanıtlanmıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.25 Cu-Ni BNP sentezi SEM görüntüsü (1:2)

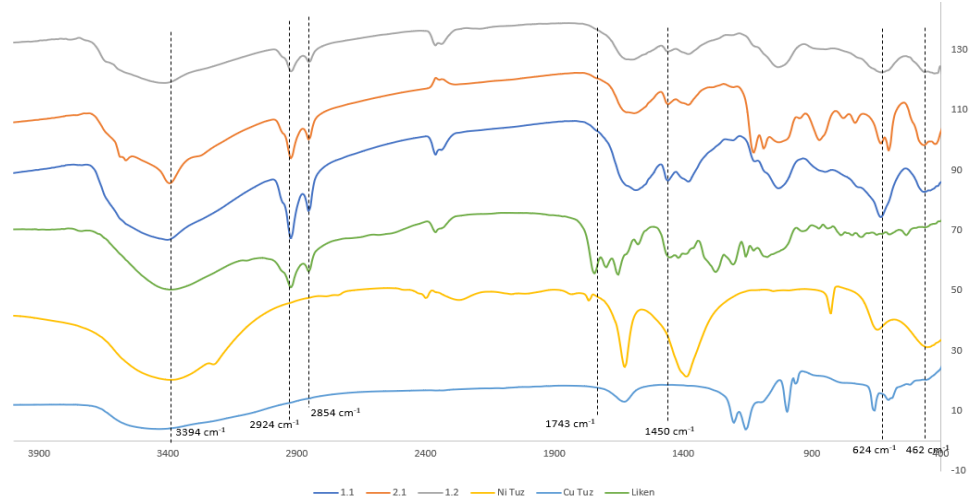


Şekil 4.26 Cu-Ni bimetalik nanotaneciklerin a) SEM görüntüleri, b) EDX görüntüleri, c) TEM görüntüleri d) tanecik boyut histogramı (pH 12, 95°C) (1:1)



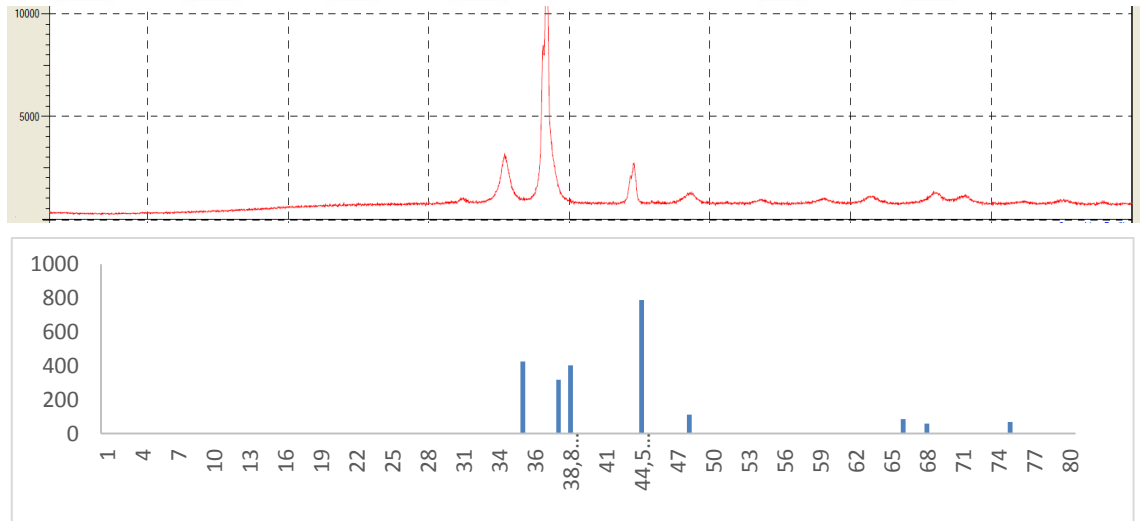
Şekil 4.27 Cu-Ni BNP sentezi SEM görüntüsü (2:1)

Cu-Ni nanopartiküllerine ait FTIR spektrumlarında OH gruplarından dolayı 3394 cm^{-1} 'de bir pik, ayrıca 2924-2854, 1790, 1581 ve 1365 ve 1026 cm^{-1} 'de ortaya çıkan bazı pikler C-H asimetrik gerilme, N-H, C = C esneme, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ve C-O bağlarıyla ilgilidir. $400\text{-}450\text{ cm}^{-1}$ de oluşan pikler ise M-M (metal metal) bağları nedeni ile ortaya çıkan piklerdir (Şekil 4.28). (Ahmed vd. 2008, Saeed vd. 2010)



Şekil 4.28 Cu-Ni BNP sentezi FTIR spektrumu (1:1, 1:2, 2:1)

CuNi nanotanecekler için XRD de 2θ 44.11, 51.36 ve 75.47 nanotaneceklerin olduğunu göstermektedir (Şekil 4.29). Sentezlenen CuNi nanotaneceklerinin XRD kırınım pikleri incelendiğinde karakteristik piklerin standart CuNi kristal yapısını gösterdiği ve sürekli yayınlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir (Ahmed vd. 2008).



Şekil 4.29 Sentezlenen CuNi nanotaneceklerinin XRD analiz sonuçları

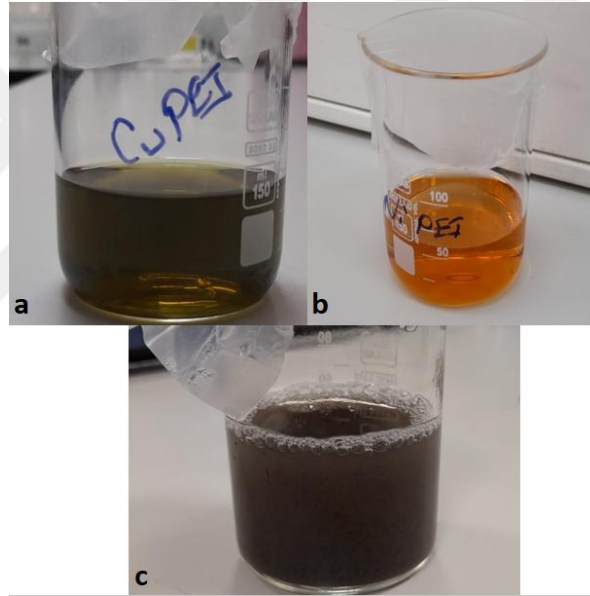
4.3 PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar

Cu/CuO, Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaneceklerinin yüzey modifikasyonunda düşük molekül ağırlıklı ve yüksek molekül ağırlıklı PEI kullanılmıştır. Bu çalışmada Cu/CuO,

Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaniciklerinin PEI ile modifikasyonu ilk defa gerçekleştirilmiştir. PEI ile modifiye yapıların UV-Vis, FTIR, SEM, TEM ve XRD sonuçları aşağıda değerlendirilmiştir.

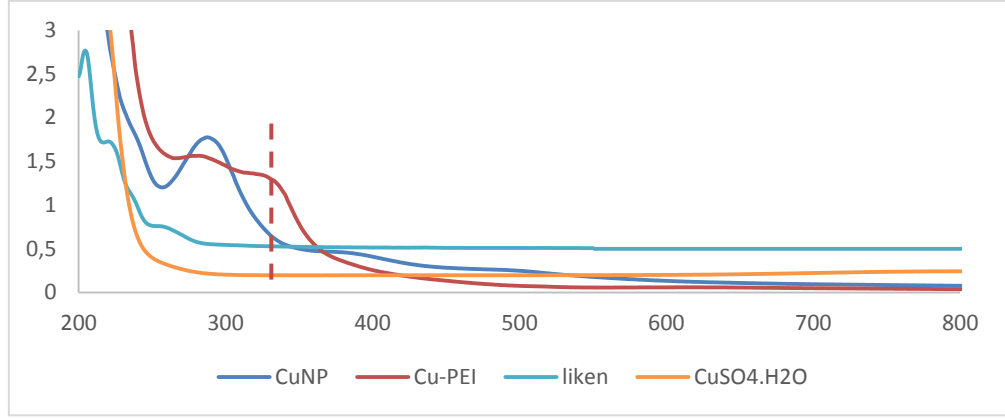
4.3.1 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar

Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye yapıların (şekil 4.30) UV-Vis, FTIR ve XRD analizleri yapılmış sonuçları aşağıda değerlendirilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye yapıların UV-Vis sonuçlarında piklerde PEI etkisiyle 300-350 nm arasında pikler oluşmuştur. (şekil 4.31-4.33).

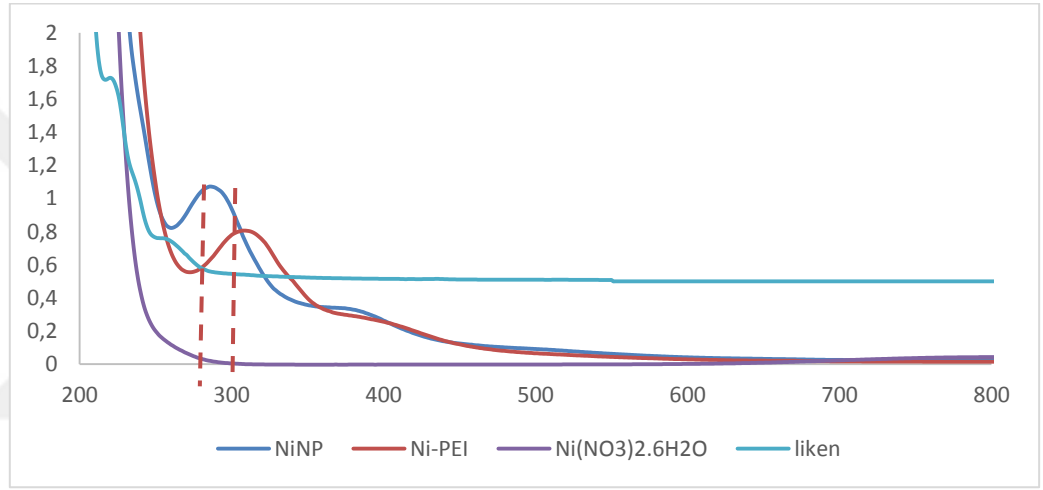


şekil 4. 30 Sentez sonrası düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş tanecikler a) Cu-PEI b) Ni-PEI c) CuNi-PEI

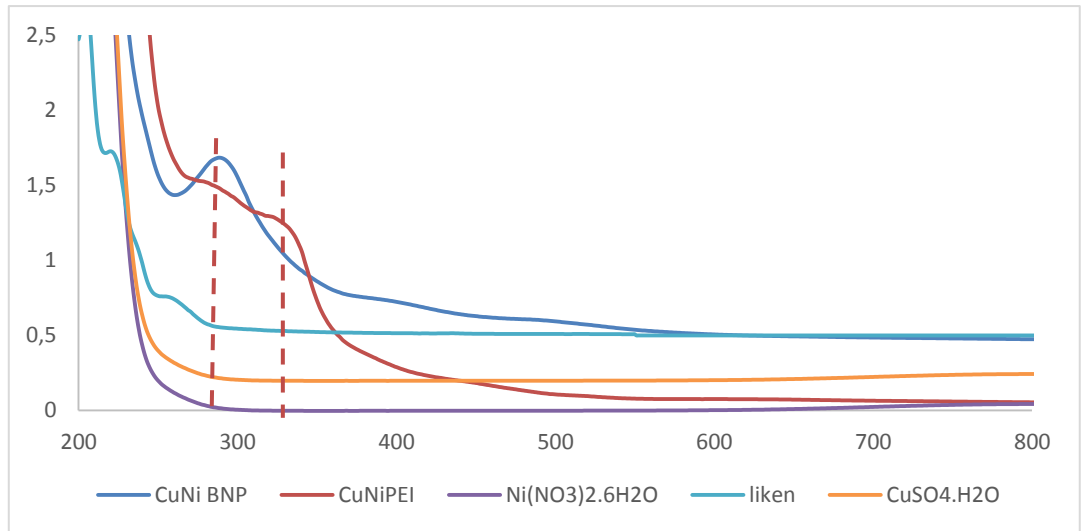
Yüzeyi PEI ile modifiye taneciklerin UV-Vis analiz sonuçları Cu/CuO, Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaniciklerinin UV-Vis spektrumu ile karşılaştırmalı olarak şekil 4.31-4.33'de verilmiştir. PEI ile modifiye edildikten sonra metal nanotanicik pikleri PEI etkisi ile kayma gösterdiği belirlenmiştir, bulgular literatür ile uyumaktadır (şekil 4.34).



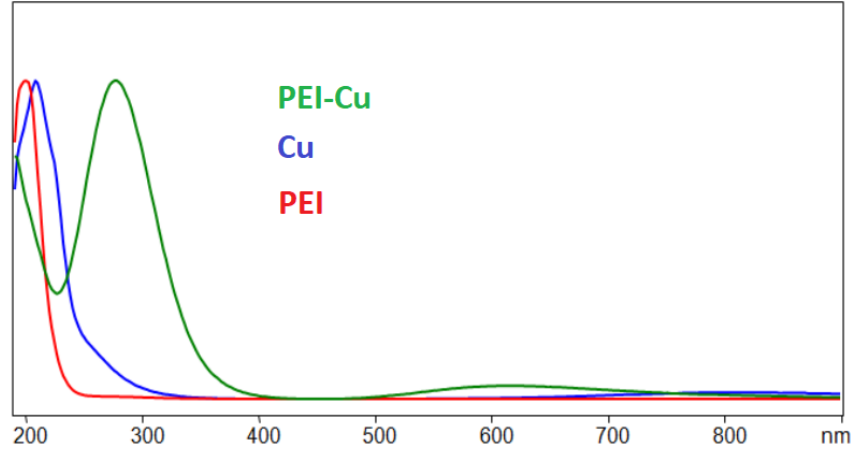
Şekil 4.31 Cu ve Cu-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları



Şekil 4.32 Ni ve Ni-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları

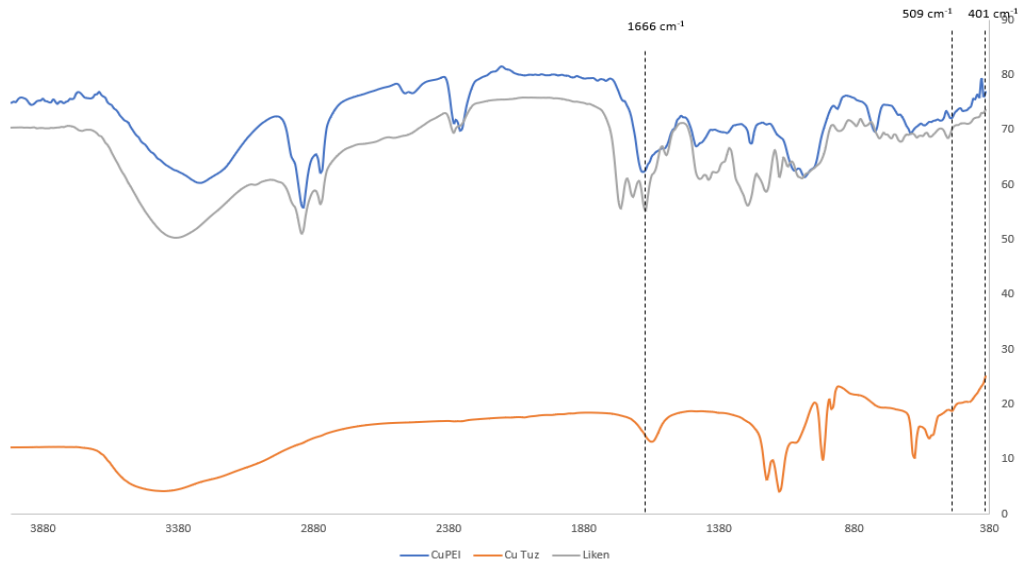


Şekil 4.33 CuNi ve CuNi-PEI nanoyapıların UV-Vis spektrumları

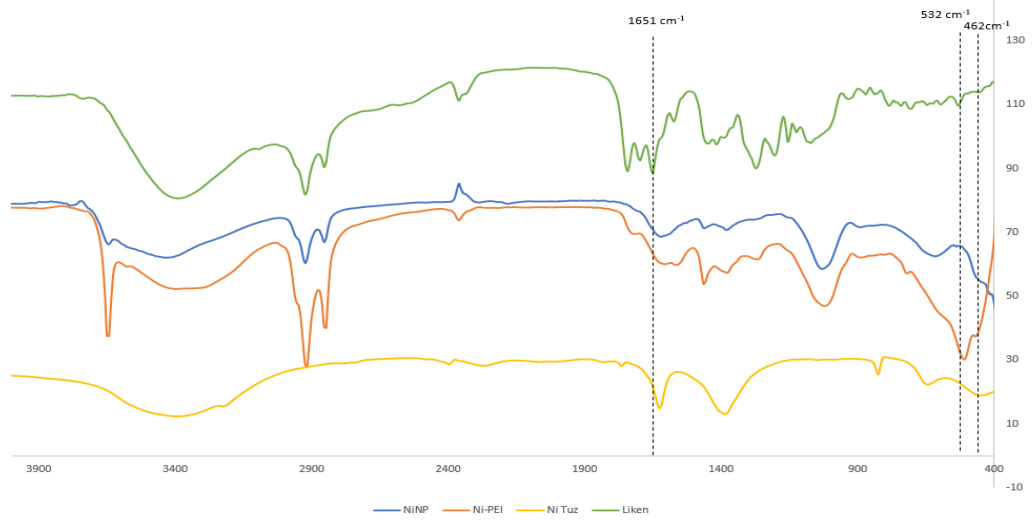


Şekil 4. 34 Cu, PEI ve Cu-PEI UV-Vis spektrumları (Anonymous. https://www.aurora-borealis.nl/pei_polyethylenimine_columns.html , 2021)

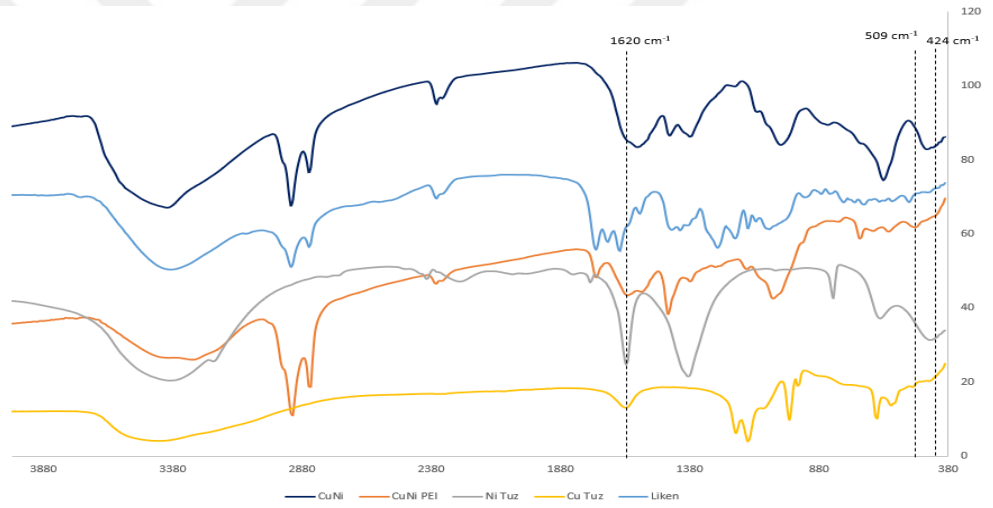
Yüzeyi PEI ile modifiye taneciklerin FTIR analiz sonuçları Cu/CuO, Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaneceklerinin FTIR spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.35-4.37’da verilmiştir. Cu-Ni nanopartiküllerine ait FTIR spektrumlarında OH gruplarından dolayı 3394cm^{-1} ’de bir pik, ayrıca 2924-2854, 1790, 1581 ve 1365 ve 1026cm^{-1} ’de ortaya çıkan bazı pikler C-H asimetrik gerilme, C = C esneme, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ve C-O bağlarıyla ilgilidir. 400-450 cm^{-1} de oluşan pikler ise M-M (metal metal) bağları nedeni ile ortaya çıkan piklerdir. 1606-1670 cm^{-1} ’de ortaya çıkan bazı pikler PEI kaynaklı N-H bağlarıyla ilgili ortaya çıkan piklerdir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35 Cu ve Cu-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları

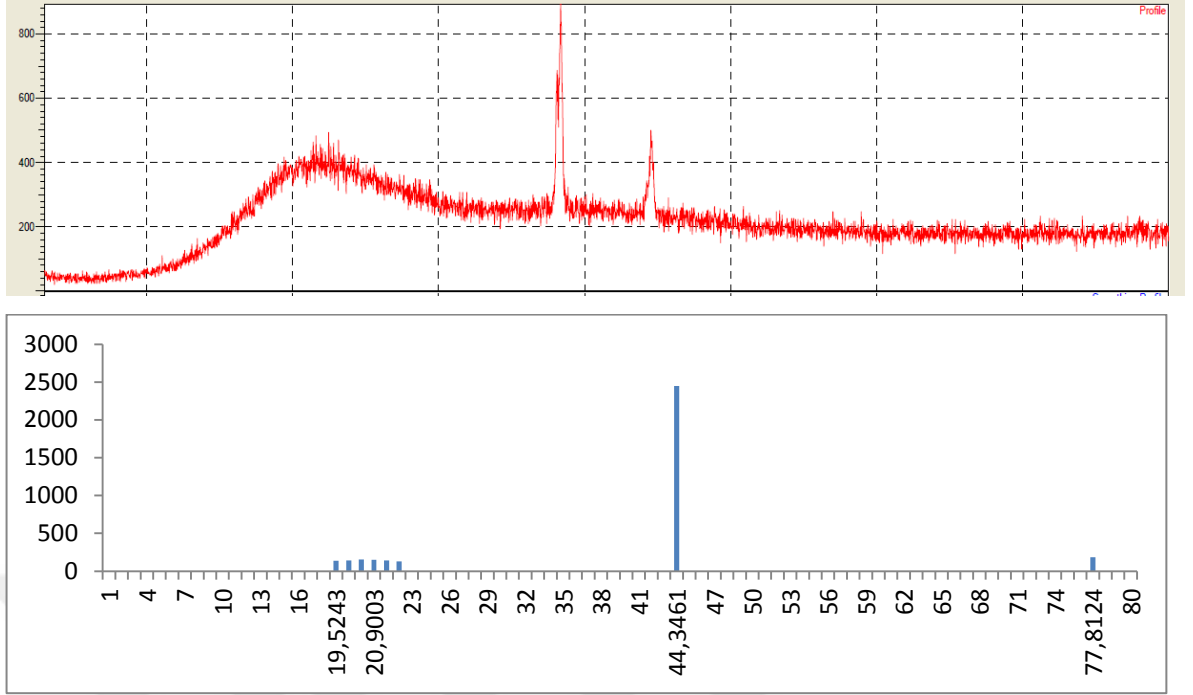


Şekil 4.36 Ni ve Ni-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları



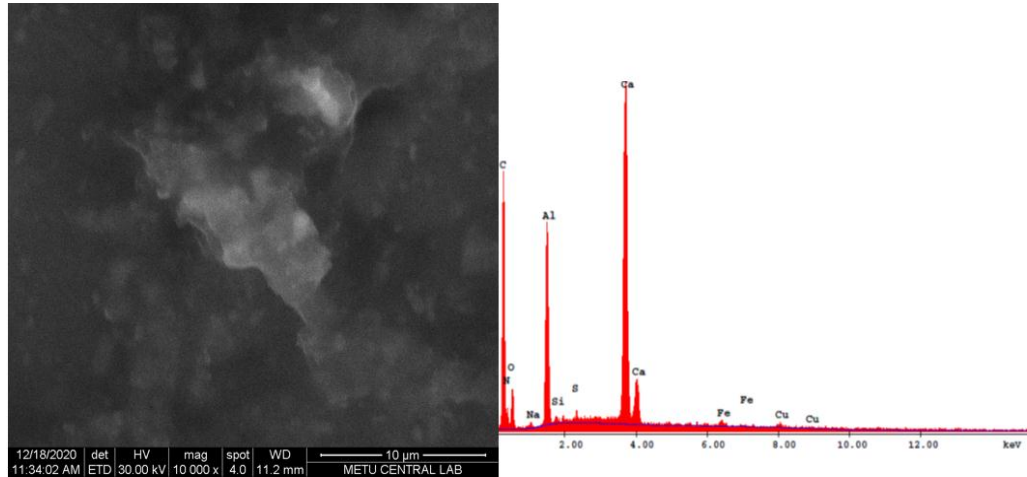
Şekil 4.37 CuNi ve CuNi-PEI nanoyapıların FTIR spektrumları

Yüzeyi PEI ile modifiye taneciklerin XRD analiz sonuçları Şekil 4.38’de verilmiştir. PEI’ in amorf yapısı ve metal taneciklerden kaynaklı pikler görünmektedir. Cu-PEI ve Ni-PEI akışkan oldukları için cihaz içinde akmış XRD görüntüleri alınamamıştır.

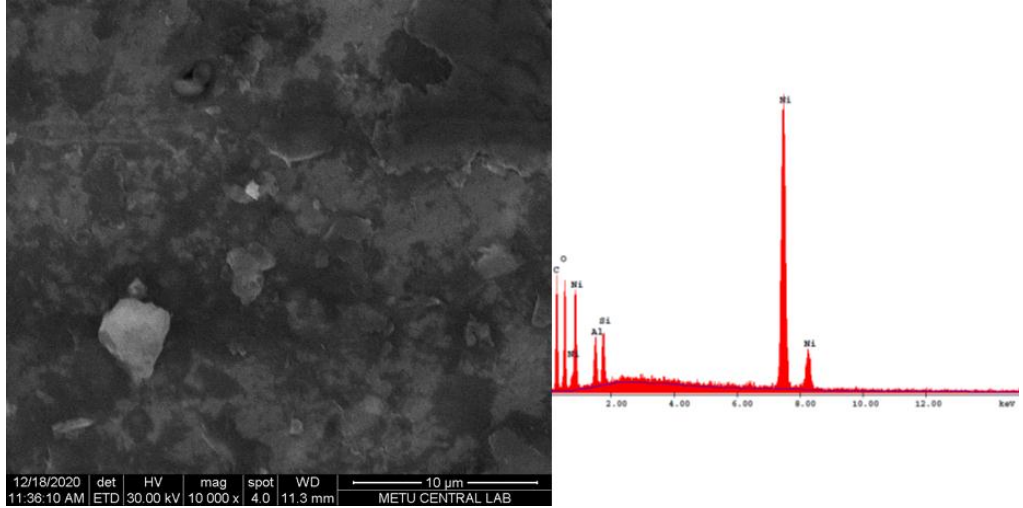


Şekil 4.38 CuNi-PEI nanoyapıların XRD spektrumu

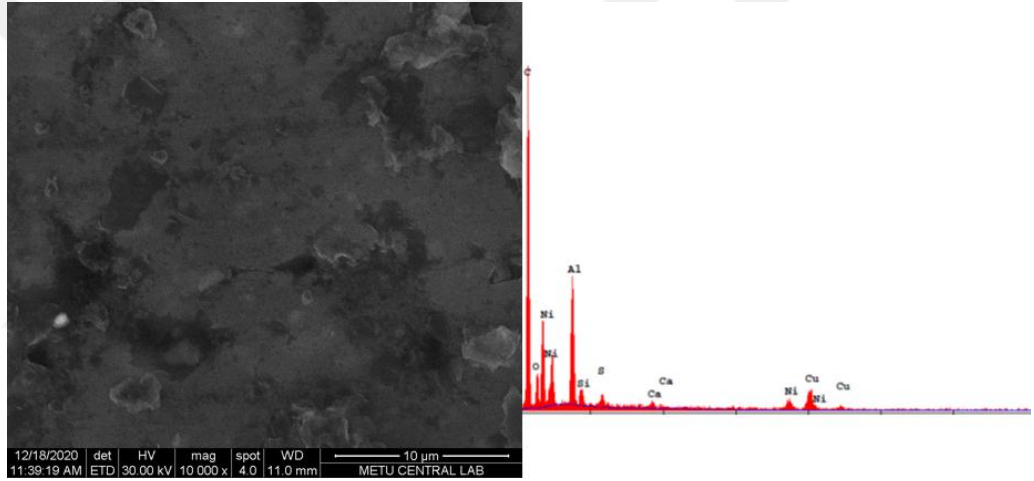
Yüzeyi PEI ile modifiye nanotaneceklerin SEM-EDX görüntüleri incelenmiş SEM görüntülerinde PEI içine dağılmış farklı boyutlarda (10-250 nm) nanotanecekler görülmüştür. EDX analizinde ise Cu ve Ni nanotaneceklerin varlığı ayrıca PEI' nın karbon ve azot içeriği de görülmektedir (Şekil 4.39-4.41).



Şekil 4.39 Cu-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi



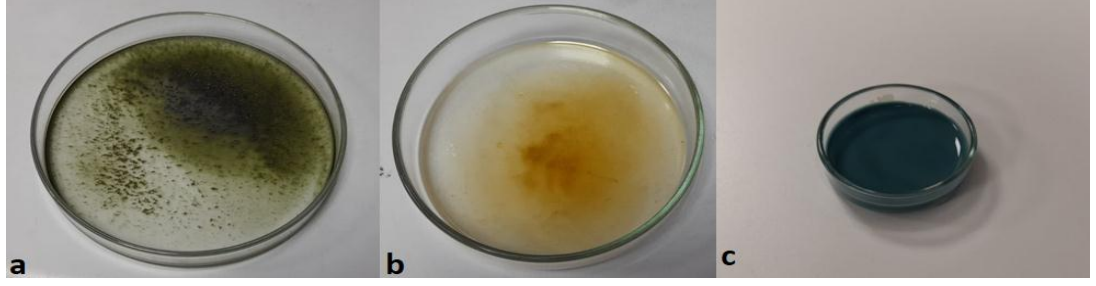
Şekil 4.40 Ni-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi



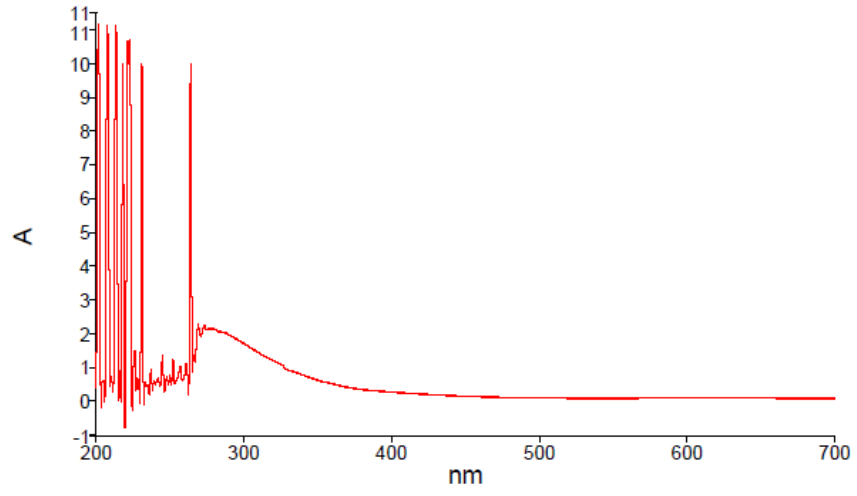
Şekil 4.41 Cu-Ni-PEI nanoyapıların SEM görüntüsü ve EDX analizi

4.3.2 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar

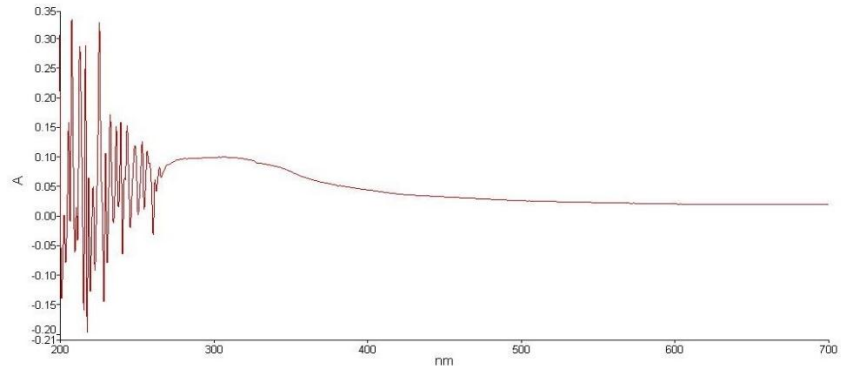
Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye yapıların (Şekil 4.42) UV-Vis, FTIR ve XRD analizleri yapılmış sonuçları aşağıda değerlendirilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye yapıların UV-Vis spektrumları incelendiğinde metal nanotaneçiklerden 290 nm’de ve PEI’den gelen pikler görülmektedir (Şekil 4.43-4.45).



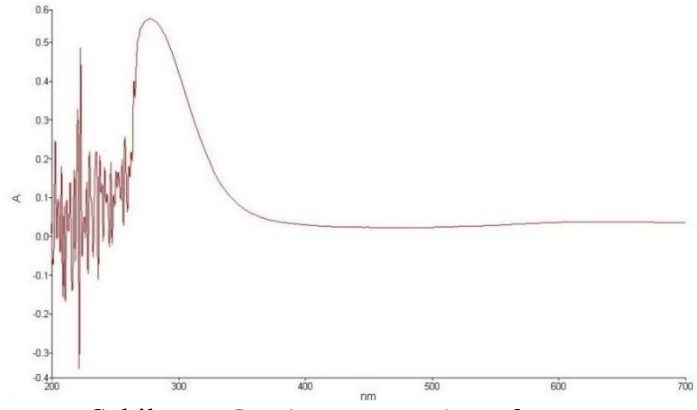
Şekil 4. 42 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş nanotanecikler a) Cu-PEI
b) Ni-PEI c) Cu-Ni-PEI



Şekil 4.43 Cu-PEI UV-Vis spektrumu

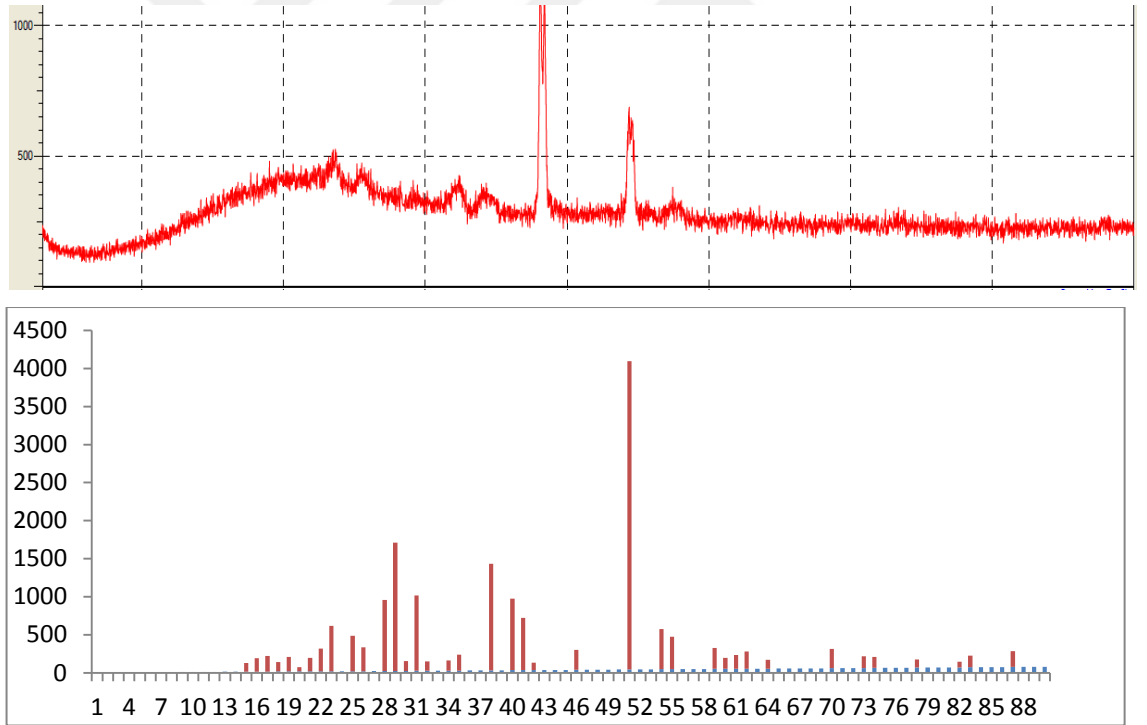


Şekil 4.44 Ni-PEI UV-Vis spektrumu

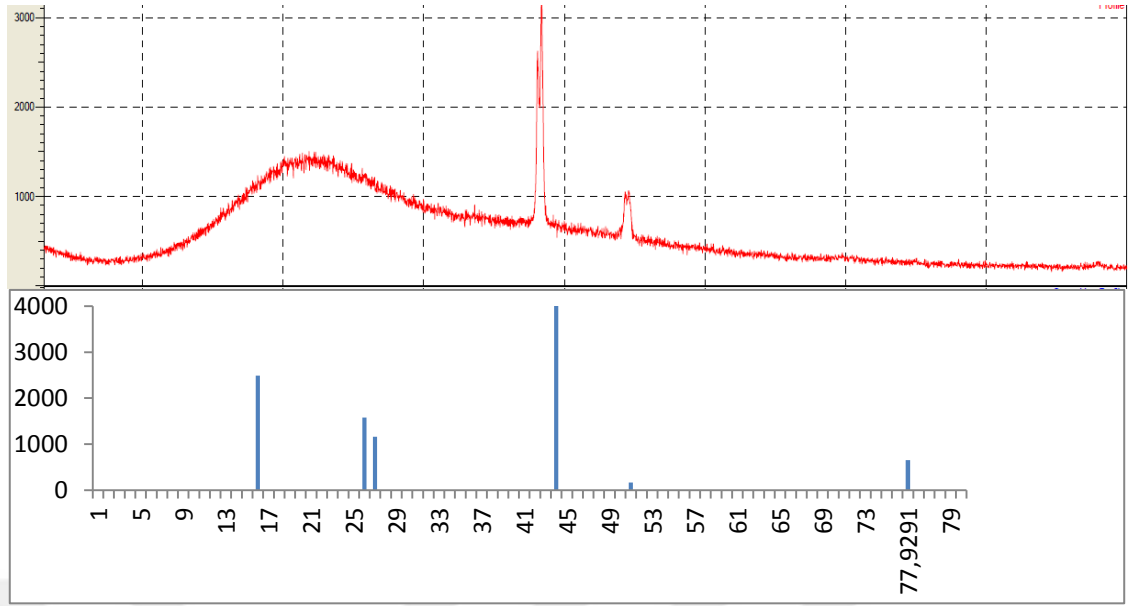


Şekil 4.45 CuNi-PEI UV-Vis spektrumu

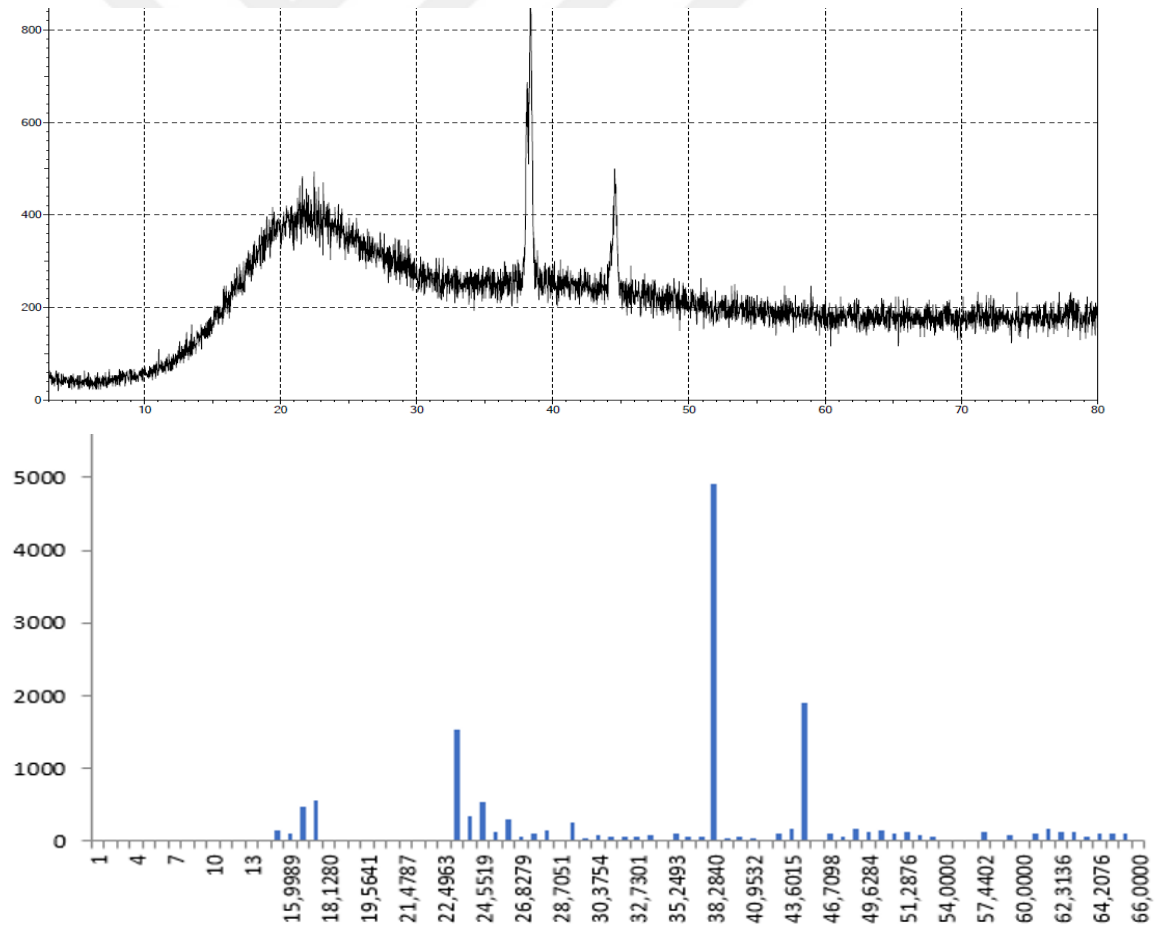
Yüzeyi PEI ile modifiye taneciklerin XRD analiz sonuçları Şekil 4.46-4.48’de verilmiştir. PEI’ in amorf yapısı ve metal taneciklerden kaynaklı pikler görünmektedir. XRD de 2θ 44.11, 51.36 ve 75.47 nanotaneciklerin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.46 Cu-PEI nanoyapıların XRD spektrumu

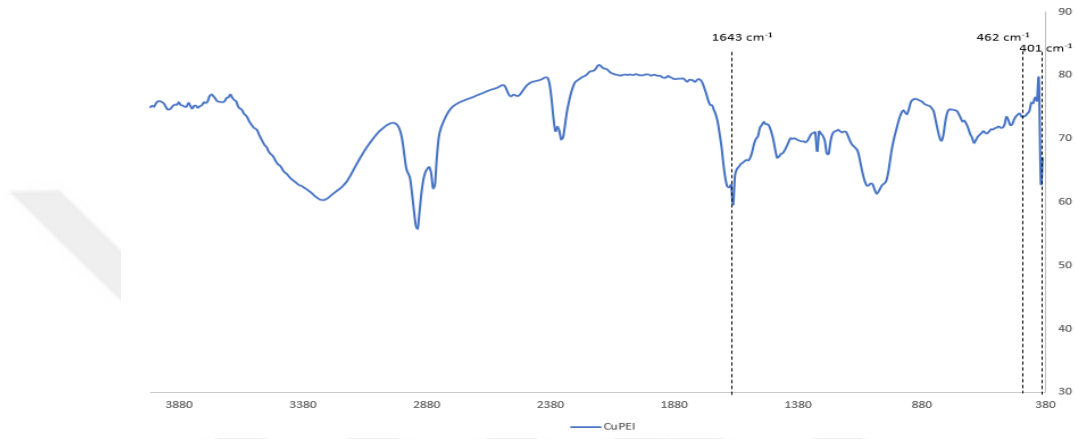


Şekil 4.47 Ni-PEI nanoyapıların XRD spektrumu

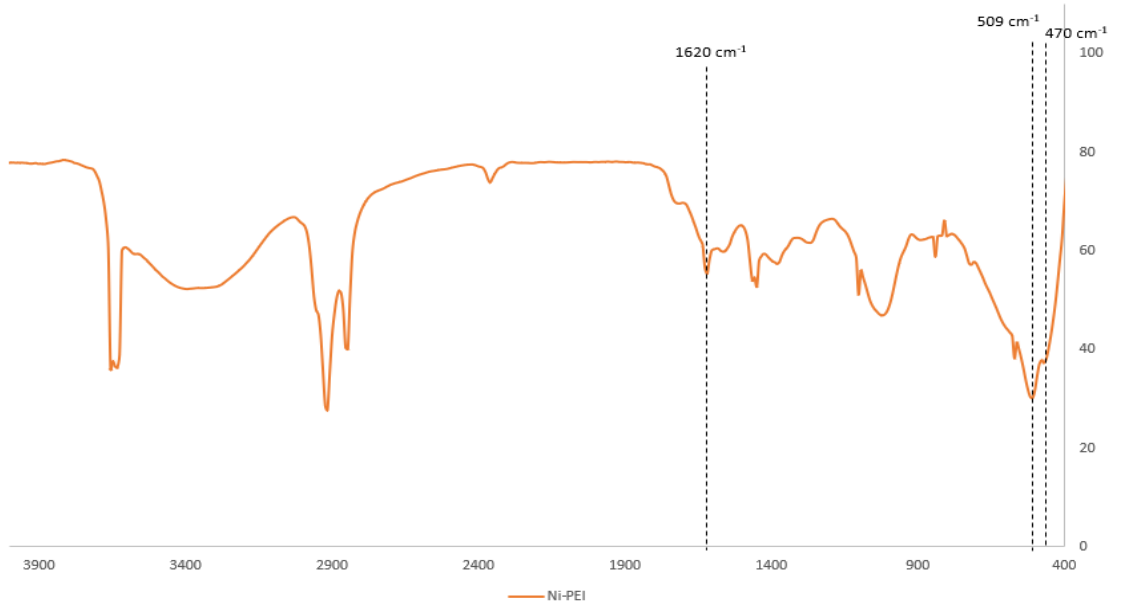


Şekil 4.48 CuNi-PEI nanoyapıların XRD spektrumu

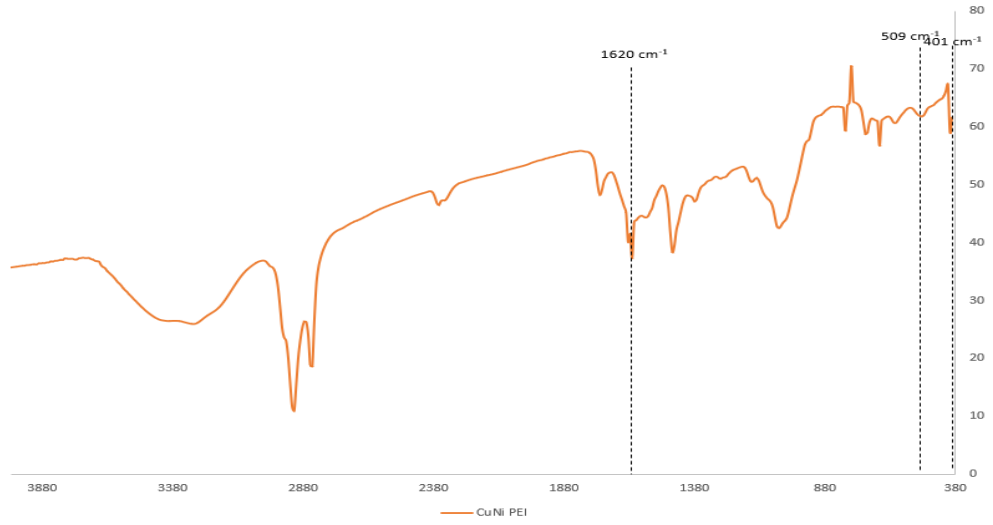
Yüzeyi PEI ile modifiye taneciklerin FTIR spektrumlarında OH gruplarından dolayı 3394cm^{-1} 'de bir pik, ayrıca 2924-2854, 1790, 1581 ve 1365cm^{-1} 'de ortaya çıkan bazı pikler C-H asimetrik gerilme, N-H, C = C esneme, CH₂-CH₃ ve C-O bağlarıyla ilgilidir. 400-450 cm^{-1} de oluşan pikler ise M-M (metal metal) bağları nedeni ile ortaya çıkan piklerdir. 1600-1670 cm^{-1} de oluşan pikler ise N-H bağlarından kaynaklanmakta olup PEI'in varlığını göstermektedir (Şekil 4.49-4.51).



Şekil 4.49 Cu-PEI FTIR spektrumu



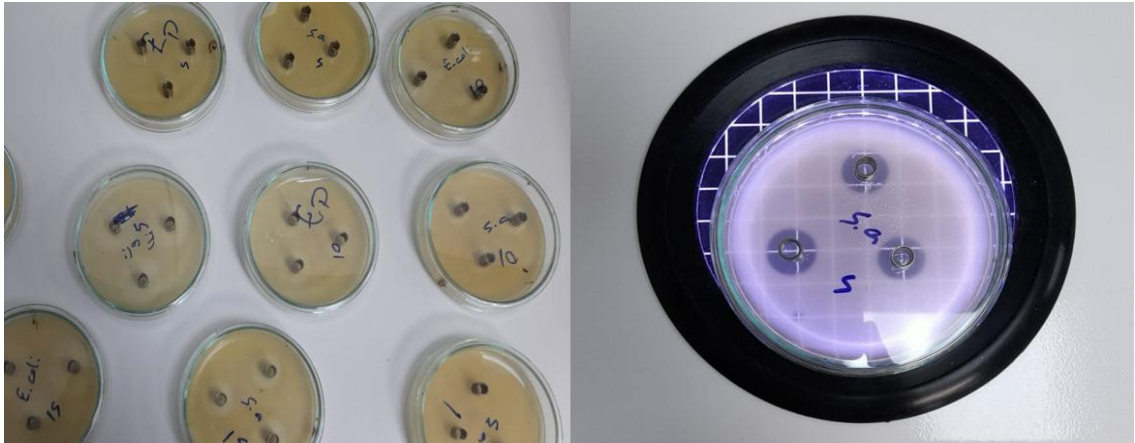
Şekil 4.50 Ni-PEI FTIR spektrumu



Şekil 4.51 Cu-Ni-PEI FTIR spektrumu

4.4 Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Antibakteriyel çalışmalarda ilk olarak pharmacopy'ye (Pharmacopeia, USP 29) göre standardın etkili olduğu dozu bulmak için zone çapı belirlenmiştir. Siprofloksasin standardının zone çapı 14-16 mm arasında belirlenmiştir. Zone çapları *E. Coli* ve *S. Aureus* mikroorganizmaları ile standardın farklı seyreltme oranları kullanılarak bulunmuştur (Şekil 4.52).



Şekil 4.52 Siprofloksasin için doz çalışması

Uygun doz için siproflaksasin stok çözeltisi buffer 16 çözeltisi ile seyreltilmesinde *S. Aureus* için bu oran 5 µL siproflaksasin, *E. Coli* için 100 µl siproflaksasin ve ayrıca test

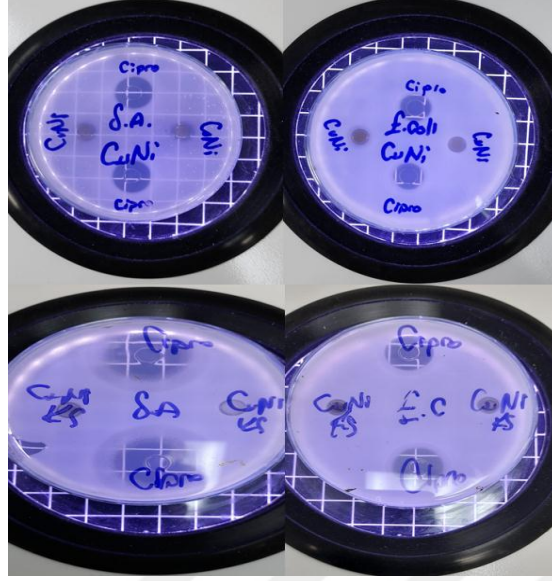
için hazırlanan petrilere ekilecek bakteri miktarları ise 15 µl *E. coli* 50 µl *S. Aureus* olarak bulunmuştur (Şekil 4.52).

4.4.1 Metal nanotanecikler

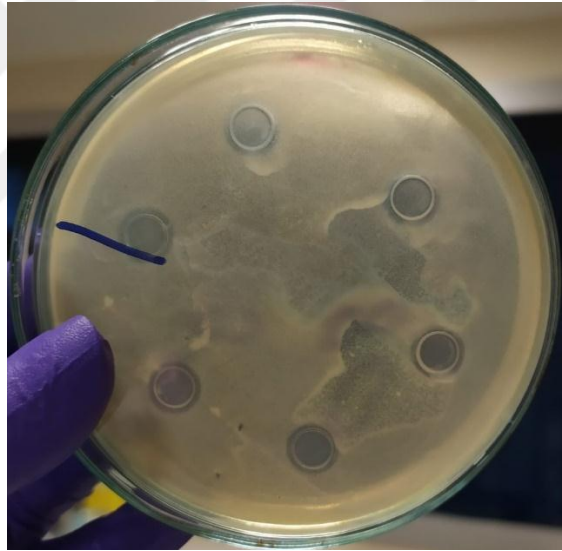
Sentez çalışmaları sonucunda literatüre en yakın sonuçları veren Cu/CuO, Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaneciklerinin antibakteriyel aktiviteleri *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri ile siproflaksasin standardına karşı incelenmiş ve sonuçları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 4.53, Şekil 4.54 ve Şekil 4.55'te görüldüğü gibi 0.1 µg/ml değerinde nanotanecikler ve 0.5 µg/ml değerinde Ni nanotanecikler ve CuNi bimetalik nanotanecikler *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermemişlerdir.



Şekil 4.53 Ni nanotaneciklerin antibakteriyel aktivitesi (0.5 µg/ml)

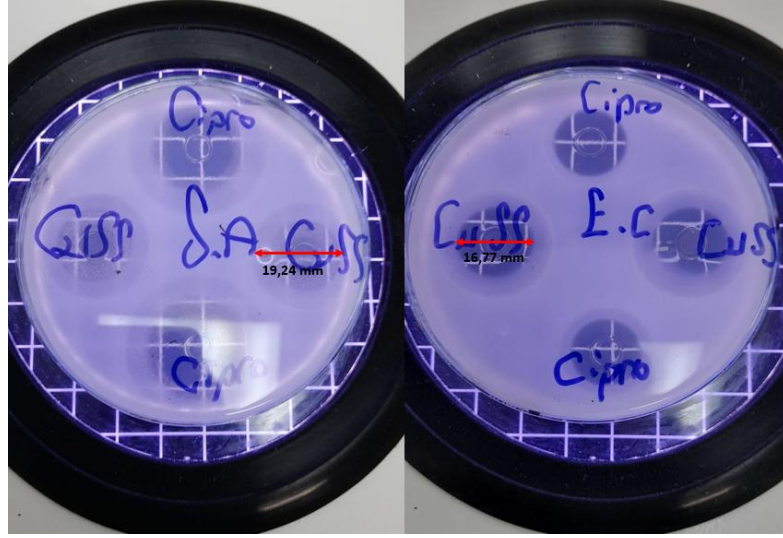


Şekil 4.54 CuNi nanotaniciklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.5 µg/ml)



Şekil 4.55 Cu, Ni ve CuNi nanotaniciklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.1 µg/ml)

0.5 µg/ml Cu nanotanicikler ise hem *E. coli* hem de *S. aureus* üzerinde etkili olmuş ve *S. aureus* üzerinde standarda göre aynı miktarda daha iyi sonuç vermiştir (Şekil 4.56, Çizelge 4.3).



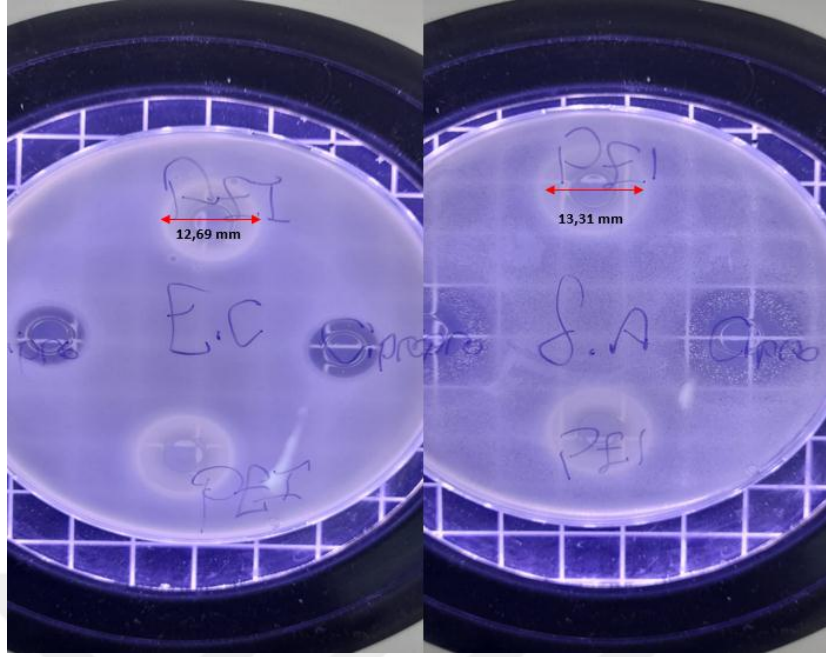
Şekil 4.56 Cu nanotaneceklerin antibakteriyel aktiviteleri (0.5 µg/ml)

Çizelge 4.3 Cu nanotaneceklerin antibakteriyel aktivite sonrası zone çapları

	CuNP zone çapı (mm)		Siprofloksasin zone çapı	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	19,24	16,77	15,9	16,43
	16,45	16,30	16,6	15,50
Ortalama çap	17,84	16,53	16,25	15,96

4.4.2 PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar

Nanotaneceklerle modifiye edilmeden önce 0.1 µg/ml değerinde düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI'lerin antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Çizelge 4.4). Yüksek molekül ağırlıklı ve dallanmış PEI yapısında yer alan fazla miktardaki amin gruplarından dolayı daha iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir (Şekil 4.57).

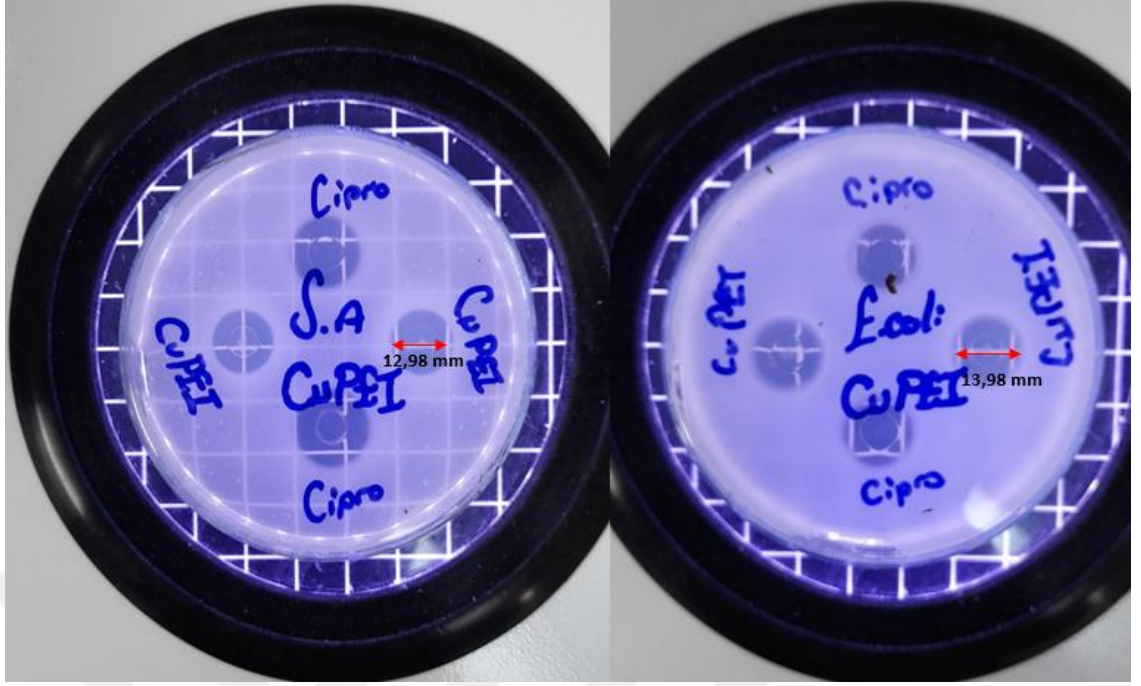


Şekil 4.57 Yüksek molekül ağırlıklı PEI antibakteriyel aktivitesi

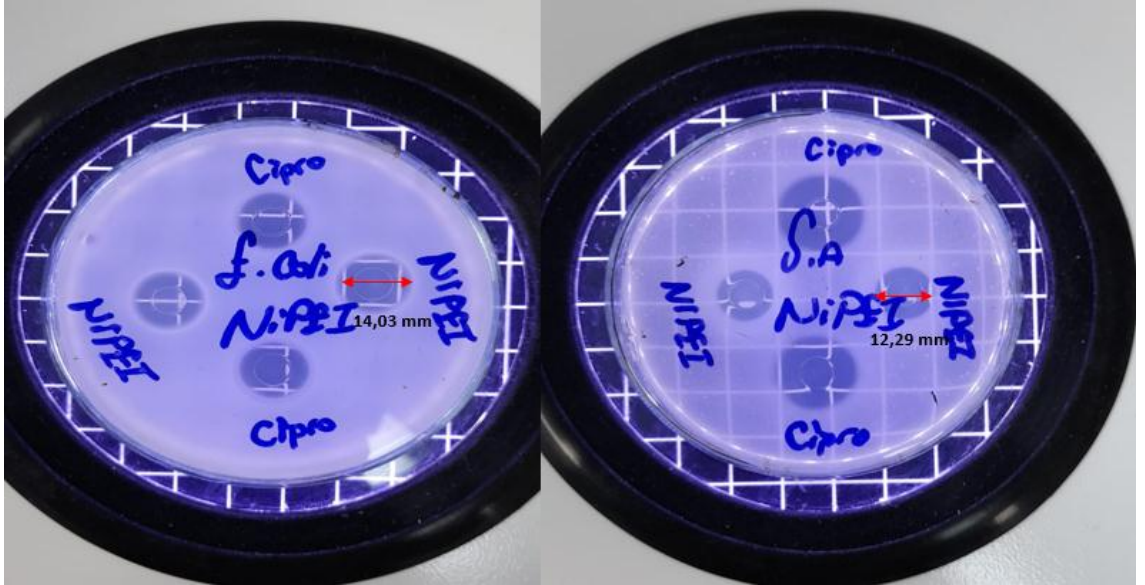
Çizelge 4.4 Yüksek molekül ağırlıklı PEI antibakteriyel aktivite sonrası zone çapları

	D.M. PEI zone çapı (mm)		Y.M. PEI zone çapı		Siprofloksasin zone çapı	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	8,68	9,51	12,54	12,69	16,43	14,26
	9,06	9,98	13,31	12,50	15,75	15,47
Ortalama çap	8,87	9,74	13,425	12,595	16,09	14,86

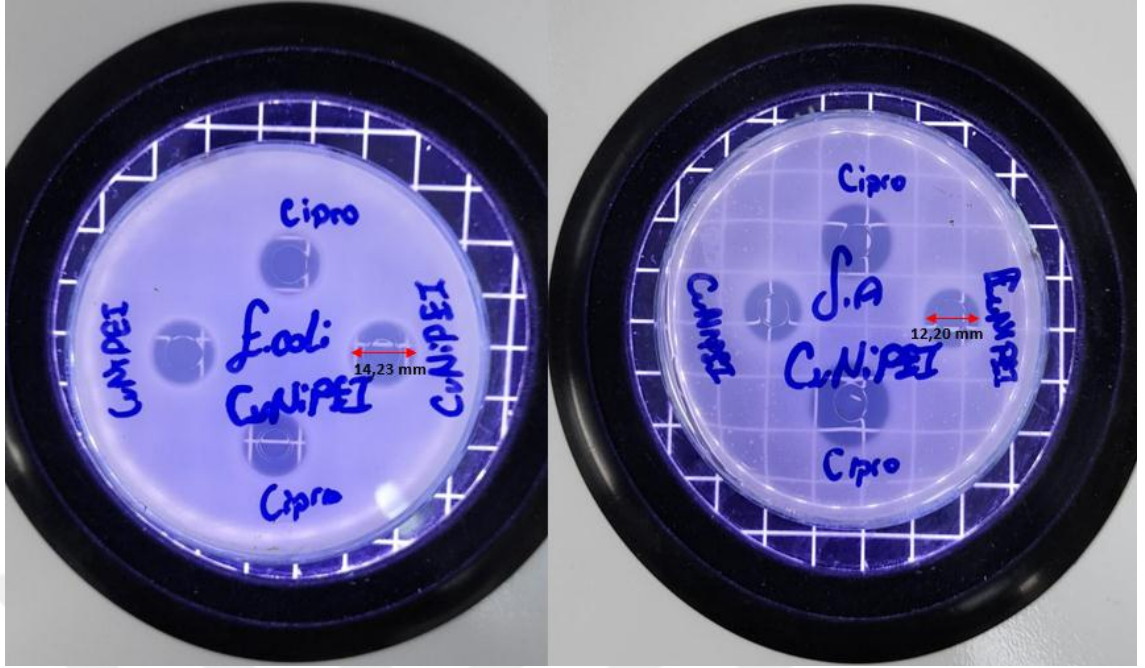
Sentezlenen Cu/CuO, Ni/NiO ve CuNi bimetalik nanotaneciklerin düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş yapıların antibakteriyel aktiviteleri *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri ile siproflaksasin standardına karşı incelenmiş ve sonuçları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 4.58- 4.63'te PEI ile modifiye edilmiş yapılar *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde siproflaksasin kadar ve daha iyi antibakteriyel aktivite göstermişlerdir (Çizelge 4.5- Çizelge 4.8).



Şekil 4.58 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuPEI antibakteriyel aktivitesi

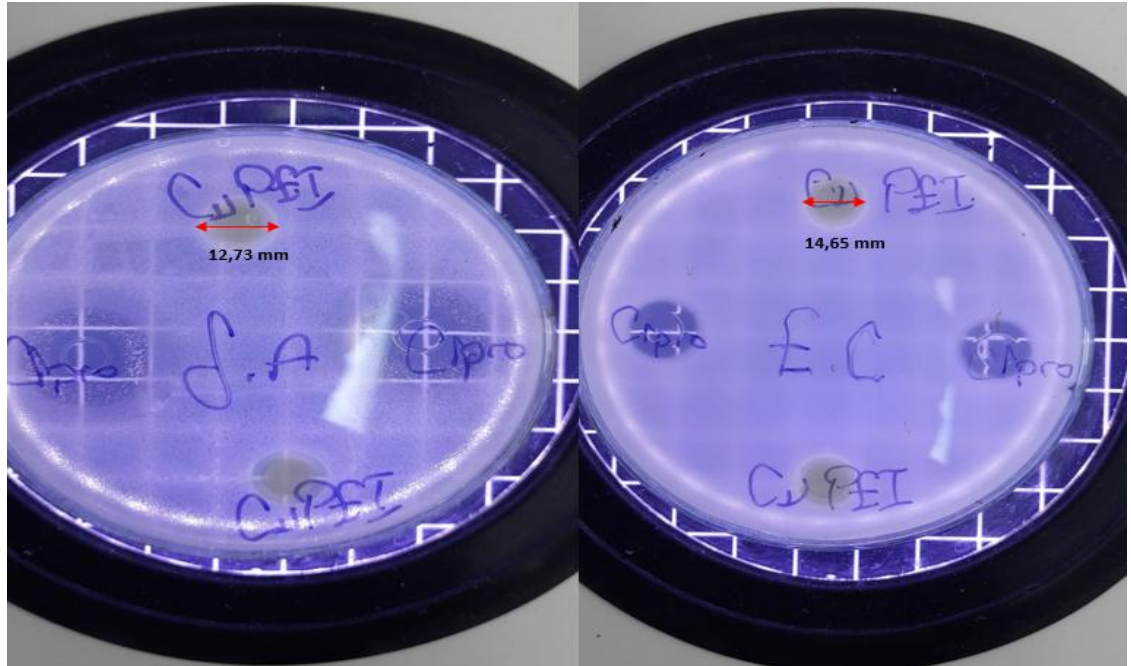


Şekil 4.59 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye NiPEI antibakteriyel aktivitesi

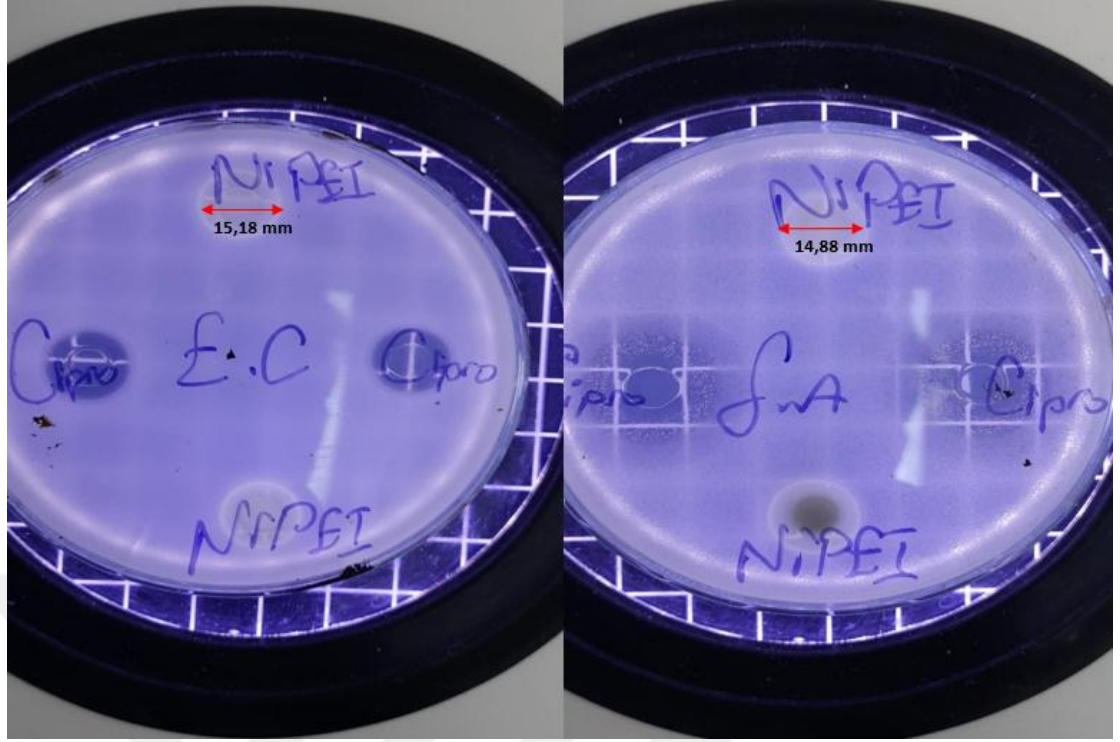


Şekil 4.60 Düşük molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuNiPEI antibakteriyel aktivitesi

Molekül ağırlığı yüksek PEI ile modifiye edilmiş nanoyapılar PEI'in dallanmış yapısından dolayı özellikle *E. coli* üzerinde daha iyi etkinlik göstermişlerdir. (Şekil 4.61-4.63).

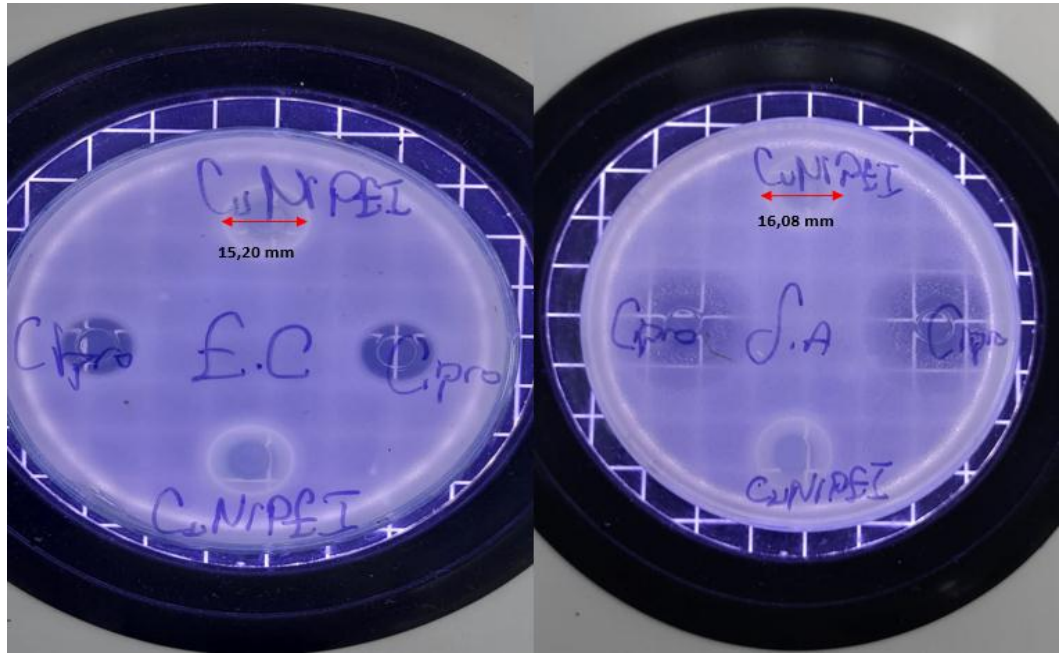


Şekil 4.61 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuPEI antibakteriyel aktivitesi



Şekil 4.62 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye NiPEI antibakteriyel aktivitesi

Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş CuNi nanotanecekler diğer nanoyapılara göre daha iyi antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Şekil 4.63).



Şekil 4.63 Yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye CuNiPEI antibakteriyel aktivitesi

Çizelge 4.5 PEI ile modifiye edilmiş Cu nanoyapıların zone çapları

	<i>D.M. CuPEI</i> zone çapı (mm)		<i>Y.M. CuPEI</i> zone çapı		<i>Siprofloksasin</i> zone çapı	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	12,58	14,31	12,73	13,86	14,30	14,50
	12,98	14,90	12,76	14,65	15,50	15,60
Ortalama çap	12,78	14,60	12,74	14,25	14,9	15,05

Çizelge 4.6 PEI ile modifiye edilmiş Ni nanoyapıların zone çapları

	<i>D.M. NiPEI</i> zone çapı (mm)		<i>Y.M. NiPEI</i> zone çapı		<i>Siprofloksasin</i> zone çapı	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	12,95	13,79	14,75	14,94	14,88	16,42
	13,29	14,03	16,30	15,18	15,30	14,65
Ortalama çap	13,12	13,91	15,52	15,06	14,9	15,05

Çizelge 4.7 PEI ile modifiye edilmiş CuNi nanoyapıların zone çapları

	<i>D.M. CuNiPEI</i> zone çapı (mm)		<i>Y.M. CuNiPEI</i> zone çapı		<i>Siprofloksasin</i> zone çapı	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	12,67	13,88	15,36	14,64	13,35	15,50
	12,20	14,23	16,08	15,20	15,68	15,75
Ortalama çap	12,43	14,05	15,72	14,92	14,51	15,62

Nanoyapıların antibakteriyel aktiviteleri 2 temel faktöre bağlıdır ilki nanoyapıların fiziksel özellikleri ikincisi ise bakteri tipidir. Metal nanotaneciklerde antibakteriyel aktivite geniş yüzey alanı/hacim oranı, küçük boyut ve yüzey reaktivitesinin artması ile artar. PEI ile modifiye yapılarda ise PEI içerdiği amin gruplarından dolayı antibakteriyel aktiviteyi artırmaktadır. Antibakteriyel çalışmalar süreli yayınlar ile karşılaştırıldığında (Azevedo vd. 2014, Naika vd. 2015, Chaudhary vd. 2019, Varghese vd. 2020) Cu nanotanecikler ve PEI içeren nanoyapılarda *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde benzer ve daha iyi antibakteriyel etkiler görülmüştür (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Nanotaneciklerin ve PEI ile modifiye edilmiş nanoyapıların zone çapları

Nanoyapı (MIC)	<i>S. aureus</i> zone çapı	<i>E. coli</i> zone çapı	Kaynak
PEI (0.1 µg/ml)	13,425	12,595	Bu çalışma
CuNP (0.5 µg/ml)	17.84	16.53	Bu çalışma
<i>Y.M. CuPEI</i> (0.1 µg/ml)	12.74	14.25	Bu çalışma
<i>Y.M. NiPEI</i> (0.1 µg/ml)	15.52	15.06	Bu çalışma
<i>Y.M. CuNiPEI</i> (0.1 µg/ml)	15.72	14.92	Bu çalışma
PEI (2 µg/ml)	6.9	-	Azevedo vd. 2014
Cu NP (100 µg/ml)	-	5	Chaudhary vd. 2019
Ni NP (100 µg/ml)	-	4	Chaudhary vd. 2019
CuO (10 µg/ml)	6	14	Nakia vd. 2015
CuNP (1 µg/ml)	14	-	Varghese vd. 2020

5. SONUÇLAR

- *Cetraria Islandica* (L.) Ach. liken özütü ile Cu ve Ni tuzlarının alkali ortamda (pH 12) ve yüksek sıcaklıkta (95 °C) daha iyi indirgendiği UV-Vis ve FTIR analizleriyle belirlenmiştir.
- Sentezlenen Cu/Cu₂O nanotaniciklerinin XRD kırınım pikleri incelendiğinde karakteristik piklerin standart Cu/Cu₂O kristal yapısını gösterdiği ve süreli yayınlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir.
- Sentezlenen NiO nanotaniciklerinin XRD kırınım pikleri incelendiğinde karakteristik piklerin standart NiO kristal yapısını gösterdiği ve süreli yayınlarla uyumlu olduğu belirlenmiştir.
- SEM ve TEM analizleri sonrasında nanotaniciklerin 100 nm ve altında olduğu görülmüştür. TEM görüntülerinde ortalama 10 nm Cu/CuO nanotanicikler, 20 nm Ni/NiO nanotanicikler ve 30 nm boyutlarda bimetalik nanotaniciklerin olduğu görülmüştür.
- Sentezlenen nanotaniciklerin modifikasyonunda düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI kullanılmış antibakteriyel etkileri incelenmiş ve yüksek molekül ağırlıklı PEI dallanmış yapısından dolayı daha etkili olduğu saptanmıştır.
- Yapılan mikrobiyolojik miktar tayini testinde Cu/Cu₂O nanotaniciklerin, PEI ile modifiye edilmiş Cu/Cu₂O, NiO ve bimetalik nanoyapıların siprofloksasin ve süreli yayınlardaki çalışmalar kadar iyi antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.
- En iyi antibakteriyel aktiviteyi 0.1 µg/ml değerinde yüksek molekül ağırlıklı PEI ile modifiye edilmiş Cu-Ni-PEI nanoyapıları göstermiştir.
- Sentezlenen nanoyapıların *E. coli* üzerinde *S. aureus*' tan daha çok etkisi olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Agarwal H. vd. 2019. Anti-inflammatory mechanism of various metal and metal oxide nanoparticles synthesized using plant extracts: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 109, 2561-2572.
- Ahmed J. vd., 2008, Bimetallic Cu–Ni nanoparticles of varying composition (CuNi₃, CuNi, Cu Ni) *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 331, 206–212.
- Amaliyah S. vd., 2020, Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Piper retrofractum* Vahl extract as bioreductor and capping agent, *Heliyon* 6, e04636.
- Anonymous. 2021. Web sitesi: https://www.aurora-borealis.nl/pei_polyethylenimine_columns.htm Erişim tarihi: 07.10.2021
- Anonymous. 2019. Web sitesi: <https://www.fukuda-kyoto.co.jp/en/technology/research/nanoparticles.html> Erişim tarihi: 20.02.2020.
- Anonymous <https://www.quora.com/What-are-the-leading-factors-to-antibiotic-resistance>, 2019. Erişim tarihi: 03.04.2020
- Athinarayanan J. vd. 2018. Evaluation of antibacterial and cytotoxic properties of green synthesized Cu₂O/Graphene nanosheets. *Materials Science & Engineering C*, 93, 242–253.
- Azevedo M. M. vd. 2014. Polyethyleneimine and polyethyleneimine-based nanoparticles: novel bacterial and yeast biofilm inhibitors. *Journal of Medical µg/mlrobiology*, 63, 1167–1173.
- Bagheri S. vd., 2020, Performance evaluation of a novel rGO-Fe₀ /Fe₃O₄-PEI nanocomposite for lead and cadmium removal from aqueous solutions, *Journal of Molecular Liquids* 320, 114422.
- Banik S. vd. 2019. Size control synthesis of pure Ni nanoparticles and anodic-oxidation of Butan-1-ol in alkali. *Materials Chemistry and Physics*, 235, 121747.
- Baranwal A. vd. 2016. Phytofabricated metallic nanoparticles and their clinical applications. *The Royal Society of Chemistry*. 6, 105996–106010.
- Behin J. vd. 2016. Ultrasound-assisted synthesis of Cu and Cu/Ni nanoparticles on NaP zeolite support as antibacterial agents. *Chemical Engineering Technology*, 39, 12, 2389-2403.
- Bezerra R. M. vd, 2020, A new heterofunctional support for enzyme immobilization: PEI functionalized Fe₃O₄ MNPs activated with divinyl sulfone: Application in the immobilization of lipase from *Thermomyces lanuginosus*, *Enzyme and µg/mlrobal Technology* 138 (2020) 109560.
- Cai X. vd. 2012. The use of polyethyleneimine-modified reduced graphene oxide as a substrate for silver nanoparticles to produce a material with lower cytotoxicity and long-term antibacterial activity. *Carbon*, 50, 3407–3415.

- Campelo J. M. vd. 2009. Sustainable preparation of supported metal nanoparticles and their applications in catalysis. *ChemSusChem*, 2, 18–45.
- Chaudhary J. vd 2019. Synthesis and biological function of Nickel and Copper nanoparticles. *Heliyon* 5 (2019) e01878.
- Chaudhary R. G. vd 2015. Synthesis of nickel nanoparticles: $\mu\text{g/ml}$ roscopic investigation, an efficient catalyst and effective antibacterial activity. *Advanced Materials Letters*, 6, 11.
- Cuenya B.R., 2010. Synthesis and catalytic porperties of metal nanoparticles: Size, shape, support, composition and oxidation state effects. *Thin Solid Films*, 518, 3127-3150.
- Çıplak Z. vd. 2018. Catalytic performance of Ag, Au and Ag-Au nanoparticles synthesized by lichen extract. *Green Processing and Synthesis*, 7, 433-440.
- Dehand C. vd. 2015. Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *The Royal Society of Chemistry*. 5, 105003–105037.
- Elango G. vd. 2016. Spectroscopic investigation of biosynthesized nickel nanoparticles and its larvicidal, pesticidal activities. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 162, 162-167.
- Ezhilarasi A. A. vd. 2016. Green synthesis of NiO nanoparticles using *Moringa oleifera* extract and their biomedical applications: Cytotoxicity effect of nanoparticles against HT-29 cancer cells. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 164, 352-360.
- Figueroa L. A. vd. 2014. Synthesis, characterization and antibacterial activity of copper, nickel and bimetallic Cu–Ni nanoparticles for potential use in dental materials. *Progress in Natural Science: Materials International*, 24, 321–328.
- Gao B. vd. 2007. Studies on the preparation and antibacterial properties of quaternized polyethyleneimine. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 5(18), 531–544.
- Ghidan Y. vd. 2016. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 6, 95-98.
- Hafshejani B. K. vd. 2018. Antibacterial activity of nickel and nickel hydroxide nanoparticles against multidrug resistance *K. pneumonia* and *E. coli* isolated urinary tract. *Nanomedicine Journal*, 5, 19-26.
- Hassanien R. vd. 2018. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous *Tilia* extract: anti $\mu\text{g/ml}$ robal and anticancer activities. *Heliyon*, 4, e01077.
- Ji H. vd. 2016. Antibacterial applications of graphene-based nanomaterials: Recent achievements and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 105, 176–189.
- Karpagavinayagam P., Princess Prasanna A. E, Vedhi C., 2021, Eco-friendly synthesis of nickel oxide nanoparticles using *Avicennia Marina* leaf extract: Morphological characterization and electroche $\mu\text{g/ml}$ al application. *Materials Today: Proceedings xxx (xxxx) xxx*.

- Liu Z. vd. 2014. Synthesis of polyethylenimine (PEI) functionalized silver nanoparticles by a hydrothermal method and their antibacterial activity study. *Materials Science and Engineering C*, 42, 31-37.
- Makawana J.A. vd. 2016. Recent developments of metal and metal Oxide nanocatalysts in organic synthesis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 16, 16.
- Mokhtar A. vd. 2018. CuNPs-magadiite/chitosan nanocomposite beads as advanced antibacterial agent: Synthetic path and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 2149-2155.
- Moritz M., Geszke-Moritz M. 2013. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. *Cheug/mlal Engineering Journal*, 228, 596-613.
- Nagar N., Devra V. 2018. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Azadirachta indica* leaves. *Materials Chemistry and Physics*, 213, 44-51.
- Naghdi M. vd. 2015. Green and energy-efficient methods for the production of metallic nanoparticles. *Beilstein J. Nanotechnology*, 6, 2354–2376.
- Naika R. H. vd 2015. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and their antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science* 9, (2015) 7–12.
- Olajire A. A. vd. 2019. Green synthesis of nickel oxide nanoparticles and studies of their photocatalytic activity in degradation of polyethylene films *Advanced Powder Technology*, 31, (2020) 211-218.
- Ramesh R. vd. 2020. Investigation of structural and optical properties of NiO nanoparticles mediated by *Plectranthus amboinicus* leaf extract. *Materials Today: Proceedings*, in press.
- Razanamahandry L.C. vd. 2020. Thermal valorisation extracts of selected agro-waste for human pathogen antibacterial NiO nanoparticles synthesis. *Materials Today: Proceedings*, in press.
- Rodrigues G. S. vd. 2019. Antiµg/mlrobal magnetic nanoparticles based-therapies for controlling infectious diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, 555, 356-367.
- Roy A., 2019. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antiµg/mlrobal activity *The Royal Society of Chemistry*. 9, 2673–2702.
- Sabouri Z. vd. 2018. Facile green synthesis of NiO nanoparticles and investigation of dye degradation and cytotoxicity effects. *Journal of Molecular Structre*, 1173, 931-936.
- Sahiner N., Demirci S. 2017. Can PEI µg/mlrogels become biocompatible upon betainization? *Materials Science and Engineering C*, 77, 642–648.
- Sharma G. vd. 2019. Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: A review. *Journal of King Saud University – Science*. 31, 257–269.
- Sharmila G. vd. 2016. Optical, catalytic and antibacterial properties ofphytofabricated

- CuO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract. *Optik*, 127, 7822-7828.
- Sivaraj R. vd. 2014. Biogenic copper oxide nanoparticles synthesis using *Tabernaemontana divaricate* leaf extract and its antibacterial activity against urinary tract pathogen. *Spectrochim. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 133, 178-181.
- Szunerits S., Boukherroub R. 2016. Antibacterial activity of graphene-based materials. *J. Mater. Chem. B*, 4, 6892.
- USP29-NF 24, Pharmacopeial Forum 30, 1002.
- Varghese B. vd. 2020. Biochemical synthesis of copper nanoparticles using *Zingiber officinalis* and *Curcuma longa*: Characterization and antibacterial activity study. *Materials Today: Proceedings*, 25, 302-306.
- Vimbela G. V. vd. 2018. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3941–3965.
- Wang N. vd. 2015. Polyethylenimine mediated silver nanoparticle-decorated magnetic graphene as a promising photothermal antibacterial agent. *Nanotechnology*, 26, 195703.
- Yang Z. vd. 2019. Long-term antibacterial stable reduced graphene oxide nanocomposites loaded with cuprous oxide nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 533, 13–23.