YENİDÜNYA ÇEKİRDEĞİ ATIK ORTAMINDA *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 BAKTERİSİNDEN EKSTRASELÜLER OLARAK ÜRETİLEN BAZI ANTİOKSİDATİF ENZİMLER KULLANILARAK Ni_2O NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI AZO BOYALARIN GİDERİMİNDE KULLANILMASI

Melisa VİRDİL

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2026

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

YENİDÜNYA ÇEKİRDEĞİ ATIK ORTAMINDA *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 BAKTERİSİNDEN EKSTRASELÜLER OLARAK ÜRETİLEN BAZI ANTİOKSİDATİF ENZİMLER KULLANILARAK Ni_2O NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI AZO BOYALARIN GİDERİMİNDE KULLANILMASI

(Synthesis, Characterization, Investigation of Antibacterial Activities of Ni_2O Nanoparticles Using Some Antioxidative Enzymes Produced Extracellularly From the Bacterium *Pallidibacillus Pasinlerensis* P1 IN Loquattern Seed Waste Medium, and Their Use in the Removal of Some Azo Dyes)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melisa VİRDİL

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Erzurum
Ocak, 2026

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Melisa VİRDİL tarafından hazırlanan "Yenidünya Çekirdeği Atık Ortamında *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 Bakterisinden Ekstraselüler Olarak Üretilen Bazı Antioksidatif Enzimler Kullanılarak Ni_2O Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Antibakteriyel Aktivitelerinin Araştırılması ve Bazı Azo Boyaların Gideriminde Kullanılması" başlıklı çalışması 19 / 01 / 2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU *Atatürk Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL *Atatürk Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Berna GENÇ *Gümüşhane Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

…. / …. / 202..

Aslı ıslak imzalıdır

Prof. Dr. Alper NUHOĞLU

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında sunulan "Yenidünya Çekirdeği Atık Ortamında *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 Bakterisinden Ekstraselüler Olarak Üretilen Bazı Antioksidatif Enzimler Kullanılarak Ni_2o Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Antibakteriyel Aktivitelerinin Araştırılması Ve Bazı Azo Boyaların Gideriminde Kullanılması" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	**Tezin Benzerlik Oranı (%)**	**Maksimum Oran (%)**
Giriş	1	**30**
Kuramsal Temeller	*2*	**30**
Materyal ve Metot	11	**35**
Araştırma Bulguları ve Tartışma	1	**20**
Sonuçlar ve Öneriler	0	**20**
Tezin Geneli	4	**25**

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının* ***%5'den*** *büyük olmaması gerekir.*

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Melisa VİRDİL	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL
19.1.2026	19.1.2026
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

***** Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi, tecrübe ve değerli yönlendirmeleriyle desteğini esirgemeyen, akademik gelişimime önemli katkılar sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e,

Sentez ve karakterizasyon aşamalarında bilgi ve deneyimleriyle katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU'na,

Tez sürecim boyunca vakit ayırarak çalışmalarım ile ilgili her türlü soru ve sorunumda yanımda olan, desteğini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Berna GENÇ'e

Tez çalışmam sürecinde, hizmet alımı kapsamında vermiş olduğu desteklerinden ötürü Doç. Dr. Mustafa Özkan BALTACI'ya

Bu zorlu ve uzun süreç boyunca her koşulda yanımda olan, maddi ve manevi destekleriyle bu günlere gelmemi sağlayan sevgili annem Emine VİRDİL ve babam Muammer VİRDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda hissettiğim, desteğini ve sevgisini esirgemeyen sevgili erkek kardeşim Hamit VİRDİL ile kız kardeşlerim Şahika VİRDİL ve Feyza VİRDİL'e

Laboratuvar çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, sevinç ve üzüntülerimi birlikte paylaştığım değerli arkadaşlarım, Şeydanur ELMAS, Elvan EROĞLU ve Fatma Melike YEŞİLYURT'a teşekkürlerimi sunarım.

Melisa VİRDİL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİDÜNYA ÇEKİRDEĞİ ATIK ORTAMINDA *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 BAKTERİSİNDEN EKSTRASELÜLER OLARAK ÜRETİLEN BAZI ANTİOKSİDATİF ENZİMLER KULLANILARAK Ni_2O NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BAZI AZO BOYALARIN GİDERİMİNDE KULLANILMASI

Melisa VİRDİL

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Amaç: Bu çalışmada, Erzurum ili Pasinler ilçesindeki kaplıca sularından izole edilen ve yeni tür olarak tanımlanan *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 suşunun, atık meyve çekirdeğinin karbon kaynağı olarak kullanıldığı büyüme ortamında peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve polifenol oksidaz (PPO) enzimlerini üretebilme potansiyelinin araştırılması ve üretilen bu enzimler kullanılarak nikel oksit nanopartiküllerin sentezi, karakterizasyonu, antibakteriyel aktivitesinin araştırılması ve bazı azo boyaların gideriminde kullanımının araştırılması hedeflenmektedir.

Yöntem: Pasinler Kaplıcası'ndan izole edilen ve -80°C'de muhafaza edilen termofilik *P. pasinlerensis* P1 bakterisi tyriptic soy agar (TSA) besiyerinde üç pasaj olacak şekilde büyütülmüş ve enzim üretimi için hazırlanmıştır. Yenidünya meyvesinin (*Eriobotrya japonica)* çekirdeğinin öğütülerek karbon kaynağı olarak kullanıldığı büyüme ortamında bakterinin POD, CAT ve PPO enzimlerini üretmesi sağlanmış ve enzim üretimleri optimize edilmiştir. Elde edilen enzimce zengin her bir enzim süpernatantı, nikel oksit nanopartikülünün sentezinde indirgeyici ajan olarak kullanılmıştır. Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen nanopartiküllerin dokuz farklı patojene karşı agar disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal etkinliği ve Congo Red (CR), Tartrazin (TZ) ve Ponceau 4R (P4R) boyalarına karşı fotokatalitik etkinliği incelenmiştir.

Bulgular: Enzim üretimi için optimum koşulların belirlendiği denemelerde *P. pasinlerensis* P1'in büyüyebildiği ve enzim üretebildiği optimum sıcaklık ve karbon kaynağı miktarının 55°C ve 40 g/L olduğu gözlenmiştir. Optimum POD ve CAT üretiminin 24 saat, PPO üretiminin 48 saat olduğu koşullarda optimum çalkalama hızı 130 rpm ve pH değerleri sırasıyla POD ve CAT için pH 8, PPO için pH 9 olarak belirlenmiştir. Belirlenen optimum koşullarda üretilen enzimlerle sentezlenen Ni_2O-NP test suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Ayrıca CR, P4R ve TZ boya giderim etkinlikleri sırasıyla %84, %90 ve %88 düzeylerinde belirlenmiştir.

Sonuçlar: Yeni tür *P. pasinlerensis* P1 ile yürütülen bu çalışma, çevresel kirliliğin azaltılmasına yönelik biyoteknolojik uygulamalar açısından umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır. Atık biyokütle kullanımıyla gerçekleştirilen enzim üretimi ve Ni_2O-NP sentezi, bakterinin biyoremediasyon potansiyelini desteklemekte olup bu yönüyle çalışma özgün ve yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Azo boya, *Eriobotrya japonica*, fotokatalitik aktivite, nikel oksit nanopartikül, *Pallidibacillus pasinlerensis*, Yeşil sentez

Ocak 2026, 98 Sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF Ni_2O NANOPARTICLES USING SOME ANTIOXIDATIVE ENZYMES PRODUCED EXTRACELLULARLY FROM THE BACTERIUM *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 IN LOQUATTERN SEED WASTE MEDIUM, AND THEIR USE IN THE REMOVAL OF SOME AZO DYES.

Melisa VİRDİL

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Purpose: In this study, it is aimed to investigate the potential of the newly identified strain *Pallidibacillus pasinlerensis* P1, isolated from the thermal waters of the Pasinler district in Erzurum province, to produce peroxidase (POD), catalase (CAT), and polyphenol oxidase (PPO) enzymes in a growth medium where waste fruit seeds are used as the carbon source. Furthermore, the study aims to synthesize nickel oxide nanoparticles using the produced enzymes, to characterize these nanoparticles, to evaluate their antibacterial activity, and to investigate their application in the removal of certain azo dyes

Method: The thermophilic *P. pasinlerensis* P1 bacterium, isolated from Pasinler Thermal Springs and maintained at -80°C, was subcultured three times on tryptic soy agar (TSA) medium to prepare it for enzyme production. The bacterium was induced to produce POD, CAT, and PPO enzymes in a growth medium where crushed loquat (*Eriobotrya japonica)* seeds were utilized as the carbon source, and the production conditions were optimized. The resulting enzyme-rich supernatant was subsequently used as a reducing agent in the synthesis of nickel oxide nanoparticles (Ni_2O-NPs). The antimicrobial activity of the nanoparticles obtained via the green synthesis method was evaluated against nine different pathogens using the agar disk diffusion method, and their photocatalytic efficiency was investigated against Congo Red (CR), Ponceau 4R (P4R), and Tartrazine (TZ) dyes.

Findings: In the experiments conducted to determine the optimum conditions for enzyme production, it was observed that the optimal temperature and carbon source concentration for the growth and enzyme production of *P. pasinlerensis* P1 were 55°C and 40 g/L, respectively. Under conditions where the optimum production time was 24 hours for POD and CAT, and 48 hours for PPO, the optimal agitation speed and pH values were determined as pH 8 for POD and CAT, and pH 9 for PPO. The Ni_2O-NPs synthesized with the enzymes produced under these optimized conditions did not exhibit antimicrobial activity against the test strains. Furthermore, the dye removal efficiencies for CR, P4R, and TZ were determined to be 84%, 90%, and 88%, respectively.

Conclusions: Conducted with the novel species *P. pasinlerensis* P1, this study presents promising results for biotechnological applications aimed at reducing environmental pollution. The production of enzymes and the synthesis of Ni_2O-NPs through the utilization of waste biomass support the bioremediation potential of the bacterium; in this regard, the study offers a unique and innovative approach.

Keywords: Azo dye,, bioremediation, *Eriobotrya japonica*, Green synthesis, Nickel nanoparticle, *Pallidibacillus pasinlerensis*, Photocatalytic activity

January 2026, 98 Pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ xiii
GİRİŞ 1
Nanoteknoloji ve Nanopartiküller 1
Nanoteknoloji kavramı ve tarihsel gelişimi 1
Nanoteknolojinin kullanım alanları 1
Nanopartikül Tanımı ve Sınıflandırılması 2
Nanopartikül tanımı ve temel özellikleri 2
Metal Nanopartiküllerin Özellikleri ve Önemi 4
Metal nanopartiküllerin genel özellikleri 4
Nanopartikül Sentez Mekanizmaları 5
Yukarıdan aşağıya (top-down) yaklaşım 6
Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşım 6
Yeşil Sentez Yaklaşımı ile Nanopartikül Eldesi 7
Bakterilerde yeşil sentez yaklaşımı 9
Enzim temelli nanopartikül sentezi 10
Enzim Tanımı ve Sınıflandırılması 10
Oksidoredüktaz enzimler 12
Peroksidaz (POD): 13
Katalaz (CAT): 13
Polifenol Oksidaz (PPO), ... 13
Termofilik Bakteriler 13
Pallidibacillus pasinlerensis 14
Biyoremediasyon ve Nanoteknoloji 14

Mikroorganizmaların kirleticileri dönüştürmede rolü 15
Nanoteknoloji ve Biyoremediasyon Kesişimi 16
Boyaların Çevresel Kirleticiliği 16
Fotokatalitik Boya Giderimi 22
Fitoremediasyon 23
Fenton reaksyonu 23
Antimikrobiyal Aktivite 24
Nanopartikül destekli antimikrobiyal aktivite 25
Yenidünya (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Meyvesi ve Çekirdeği 25
Tezin Amacı 26
KURAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR 28
MATERYAL VE METOD 34
Malzemeler ve Kimyasal Özellikleri 34
Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanması 35
Metot 35
Yenidünya meyve çekirdeklerinin toplanması ve hazırlanması 35
Bakteri Kültürünün Hazırlanması 36
Enzim Üretimi için Büyüme Parametrelerinin Optimizasyonu 36
Peroksidaz enzim aktivite ölçümü 37
Katalaz enzim aktivite ölçümü 37
Polifenol oksidaz enzim aktivite ölçümü 38
Nikel Oksit Nanopartikül Sentezi 38
Nikel Oksit Nanopartikülün Karakterizasyonu 39
X-ışını kırınımı (XRD) 39
Taramalı elektron mikroskobu (SEM) 39
Fouirer Transform Infrared Spektrofotometre (FT-IR) 40
Fotokatalitik Boya Giderimi 40
Fotokatalitik Deney Koşullarının Belirlenmesi 41
Nanopartikül temas süresi 41
pH Etkisi 41
Sıcaklık etkisi 42
Boyar madde konsantrasyonunun belirlenmesi 42
Nanopartikül miktarının belirlenmesi 42
H_2O_2 (Fenton Reaksiyonu) etki değerinin belirlenmesi 42
Boyar maddeleri için optimum koşullarda boya giderim miktarının hesaplaması 43

Antimikrobiyal Aktivite 43
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 45
Yenidünya Meyve Çekirdeğinin Hazırlanması 45
Peroksidaz, Katalaz ve Polifenol Oksidaz Enzim Üretimi İçin Gerekli Büyüme Parametreleri 45
İnkübasyon süresi optimizasyonu 45
Atık miktar (Karbon kaynağı) optimizasyonu 46
Sıcaklık optimizasyonu 47
pH optimizasyonu 48
Çalkalama hızı (rpm) optimizasyonu 48
Enzim Homojenatından Nikel Oksit (Ni_2O) Nanopartiküllerin Sentezi 48
Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis) 49
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) 51
Saf Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi 51
Congo Red ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi 52
Tartrazin ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi 52
Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi 53
X-ışını Kırınımı (XRD) 53
Saf Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi 53
Congo red ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi 54
Tartrazin ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi 54
Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi 55
Genel XRD değerlendirmesi 55
Fotokatalitik Boya Giderimi Öncesi ve Sonrası Ni_2O-NP'ünün Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Görüntüleri 55
Sentezlenen Nikel Oksit Nanopartikülleri ile Optimum Fotokatalitik Boya Giderim Koşullarının Belirlenmesi 57
Temas süresinin fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi 58
pH'nın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi 59
Sıcaklığın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi 60
Boya Konsantrasyonunun Fotokatalitik Boya Giderimi Üzerindeki Etkisi 61
Nanopartikül miktarının fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi 62
Fenton prosesinin fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi için h2o2 miktarının belirlenmesi 62
Optimum Koşullarda Elde Edilen Fotokatalitik Boya Giderim Sonuçları 63

Sentezlenen Ni_2O-NP'lerin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması 64
SONUÇ ve ÖNERİLER 67
Sonuç 67
Öneriler 68
KAYNAKÇA 70
ÖZGEÇMİŞ 82

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Nanoteknolojinin Kullanıldığı Bazı Uygulama Alanları 1
Tablo 2. Boya Gruplarının Temel Özellikleri ve Çevresel Riskleri 17
Tablo 3. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar 34
Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Üretici Firmaları 35
Tablo 5. Lignin Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Reaksiyon Karışımı 37
Tablo 6. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Reaksiyon Karışımı 38
Tablo 7. Polifenol Oksidaz Enzim Aktivitesi Ölçüm Reaksiyon Karışımı 38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yukarıdan aşağıya (top-down) ve aşağıdan yukarıya (bottom-up) üretim süreci 6
Şekil 2. Nanopartikül sentez mekanizması 7
Şekil 3. Congo Red boyasının moleküler yapısı 20
Şekil 4. Tartrazin boyasının moleküler yapısı 21
Şekil 5. Ponceau 4R boyasının moleküler yapısı 22
Şekil 6. Yenidünya meyvesi 26
Şekil 7. Ana kültür ortamlarının hazırlanması 36
Şekil 8. Fotokatalitik boya giderimi deney düzeneği 41
Şekil 9. Çalışmada kullanılan meyve çekirdeklerinin aşamalı olarak hazırlanması 45
Şekil 10. Peroksidaz, katalaz ve polifenol oksidaz enzimleri için (A) inkübasyon süresi, (B) atık miktarı, (C) sıcaklık, (D) pH ve (E) çalkalama hızı optimizasyon grafikleri 47
Şekil 11. Congo Red boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Congo Red boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi 49
Şekil 12. Tartrazin boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Tartrazin boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi 50
Şekil 13. Ponceau 4R boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Ponceau boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi 50
Şekil 14. Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R boyalarının Ni_2O-NP'leri ile gerçekleştirilen fotokatalitik giderimi sonrası elde edilen FTIR spektrumları 52
Şekil 15. Saf Ni_2O-NP, Congo Red Tartrazin ve Ponceau 4R boyar maddeleriyle muamele edilmiş Ni_2O-NP örneklerinin XRD analizi 54
Şekil 16. Ni_2O-NP'ünün orijinal SEM görüntüsü 56
Şekil 17. Ni_2O-NP'ünün Congo Red boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü 56
Şekil 18. Ni_2O-NP'ünün Tartrazin boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü 57
Şekil 19. Ni_2O-NP'ünün Ponceau 4R boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü 57
Şekil 20. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi temas süresi grafiği 58
Şekil 21. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi pH grafiği 59
Şekil 22. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi sıcaklık grafiği 60
Şekil 23. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi boya konsantrasyonu grafiği 61
Şekil 24. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi NP miktarı grafiği 62

Şekil 25. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi H_2O_2 miktar grafiği 63
Şekil 26. Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R boyalarının giderim öncesi (A,C,E) ve sonrası (B,D,F) görselleri 64
Şekil 27. Çalışmada kullanılan dokuz patojen suşun Ni_2O-NP ile antimikrobiyal test görüntüleri 65

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
℃	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
AMR	Antimikrobiyal Direnç
BOD	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
CAT	Katalaz
CNT	Karbon Nanotüpler
COD	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
CR	Congo Red
DGGE	Denatüre Edici Jel Elektroforezi
dk	Dakika
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
E. coli	*Escherichia coli*
FISH	Florasan *In Situ* Hibridizasyon
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidroklorik Asit
IOP	İleri Oksidasyon Prosesi
M	Molarite
mL	Mililitre
mM	Milimolar
MWCNT	Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler
Ni	Nikel
Ni_2O-NP	Nikel Oksit Nanopartikül
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
P. pasinlerensis	*Pallidibacillus pasinlerensis*
P4R	Ponceau
PCR	Polimeraz Zincir Reaksyonu

POD	Peroksidaz
ppm	Milyonda Bir Parça
PPO	Polifenol Oksidaz
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
SWCNT	Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler
TCE	Trikloroetilen
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskopisi
TNT	Trinitrotoluen
T-RFLP	Terminal Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TZ	Tartrazin
UV-Vis	UV- Görünür Spektroskopisi
XRD	X- Işını Kırınımı

GİRİŞ

Nanoteknoloji ve Nanopartiküller

Nanoteknoloji kavramı ve tarihsel gelişimi

Nanoteknoloji kavramı ilk kez, fizikçi Richard Feynman'ın, Caltech'teki Amerikan Fizik Derneği toplantısında yaptığı "There's Plenty of Room at the Bottom" başlıklı konuşmasıyla ortaya çıkmıştır. "Nanoteknoloji" terimi daha sonra Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Profesör Norio Taniguchi tarafından bir makalede "Nanoteknoloji esas olarak materyallerin tek atom veya tek molekül düzeyinde işleme, ayrıştırma, birleştirme ve şekillendirilmesini içerisinde barındırır" şeklinde tanımlanmıştır (Whatmore 2006). Nanoteknoloji, maddenin nano boyutlardaki özelliklerinden faydalanarak yeni malzemelerin, cihazların geliştirilmesini amaçlayan multidisipliner bir bilim dalıdır (Tablo 1) (Kazan Kaya *et al.* 2025).

Nanoteknolojinin kullanım alanları

Tablo 1. Nanoteknolojinin Kullanıldığı Bazı Uygulama Alanları

Nanoteknoloji				
Sağlık	**Çevre ve Su Arıtımı**	**Tekstil**	**Malzeme Bilimi ve Mühendislik**	**Enerji**

Tıp ve Biyomedikal Uygulamalarda; hedeflenen bölgeye kontrollü bir şekilde ilaç salınım imkânı vermektedir, tanı amaçlı görüntüleme (MRI, CT, floresans vb.) ve biyosensörlerin geliştirilmesi gibi tıbbi uygulamalarda yüksek verim sağlamaktadır.

Enerji ve Enerji Depolama Sistemlerinde; nano materyaller güneş panellerinde ışık absorpsiyonu artırmak, yüksek kapasiteli lityum-iyon pilleri geliştirmek ve verimi en üst seviyeye taşımak amacıyla kullanılmaktadır (Mohammed *et al.* 2025).

Çevre ve Su Arıtımında; ağır metal giderimi, organik kirleticilerin parçalanması, antibakteriyel kaplamalar ve gelişmiş filtrasyon membranlarının üretimi gibi sık yaşanan problemlere yönelik alternatif çözümler sağlamaktadır (Atasoy 2024).

Gıda ve Tarım Teknolojilerinde; nanokapsülleme, pestisitler gibi insan sağlığı için risk oluşturabilecek yapıların kontrollü salınımı ve tarımsal verimliliği artıran nanobiyosensörlerin üretimi, gıdalarda raf ömrünü uzatmayı sağlayan nanoaktif ambalajlama teknolojisinin gelişimini amaçlamaktadır (Ashfaq *et al.* 2022).

Elektronik ve Bilgi Teknolojilerinde; nano devre elemanları, yüksek iletkenlik gösteren nanomalzemeler, yarı iletken nano yapılar ve esnek elektronik sistemleri sayesinde, elektronik cihazları küçük, hızlı ve enerjiyi verimli kullanan hale getirmektedir (Zhao *et al.* 2025).

Tekstil ve Malzeme Biliminde; antibakteriyel ve su itici kaplamalar, UV koruyucu kumaşlar, dayanıklı kompozit malzemeler gibi geniş bir uygulama alanı bulunmaktadır (Wong *et al.* 2006).

Kozmetik ve Kişisel Bakım Ürünlerinde; nanoemülsiyonlar ve nanoenkapsüle formülasyonlar sayesinde etkin maddelerin cilt tarafından daha iyi emilmesi sağlanarak güneş kremleri, yaşlanma karşıtı ürünler ve dermokozmetik ürünlerin verimliliği artırmaktadır (Ashaolu 2021; Dreno *et al.* 2019).

Nanopartikül Tanımı ve Sınıflandırılması

Nanopartikül tanımı ve temel özellikleri

Nanopartiküller (NP'ler), 1-100 nm aralığında boyuta sahip atom kümeleridir. Optik, manyetik, katalitik, elektriksel ve yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip olmalarının benzersizliği nedeniyle çeşitli alanlarda potansiyel taşımaktadır (Imran Din and Rani 2016; Iravani 2011) 100 nm'ye kadar küçük boyutları ve yüzey modifikasyonu potansiyelleri, çok çeşitli uygulamalarda kullanılmalarını sağlamaktadır. NP'lerin özelliklerini ve uygulamalarını etkileyen bazı faktörler vardır. Bunlar NP sentez yöntemi, boyut ve şekil gibi fiziksel özelliklerdir. Bununla birlikte, NP sentezinde kullanılan malzemeler, uygulamalarının ana belirleyicileridir. Seçilen malzeme doğrultusunda, NP'ler genellikle organik, inorganik ve karbon bazlı olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Bu kategoriler içerisinde proteinler, polimerler, metal iyonları, lipitler ve türevleri, manyetik mineraller vb. çeşitli malzemeler bulunmaktadır. Her malzeme, NP'lerin aktivitesini ve uygulamasını etkileyen kendine özgü özellikleri bulundurmaktadır (Najahi-Missaoui, Arnold, and Cummings 2020).Bu yüzden, belirli NP'ler, yüksek verimlilik ve tolere edilebilir toksisiteye sahip oldukları için belli başlı alanlarda kullanıma sunulmuştur. Bu sebeple, NP sentezindeki sınıflandırma ve ana malzeme, NP araştırma ve uygulamalarında önem arz etmektedir. NP'ün yüzey yükü, sadece hücresel etkileşimi değil, malzemenin özellikleriyle birlikte toksisite potansiyelini ve çevredeki

etkileşimini değiştirebilen önemli bir faktördür. Bu durum, beraberinde NP'nin uygulanmasını etkiler ve kullanımında farklılıklara sebebiyet vermektedir (Eker *et al.* 2024; Stark *et al.* 2015).

NP'ler, patojenleri öldürmek için bir umut ışığı olarak ortaya çıkmaktadır. Geleneksel tedavilere kıyasla patojen direncine karşı yeni mekanizmalar sunması etkili tedavilere yol açabilecek yenilikçi yöntemlerin de öncüsü olabileceğini ortaya koymaktadır. NP sentezinde yeşil kimya yaklaşımlarına önemli bir vurgu yapılarak, bilimsel araştırmalarda sürdürülebilirliğin önemi ve duyulan ihtiyaç göz önünde bulundurularak dikkatleri üzerine çekmektedir. Bu yöntemler çevresel etkileri azaltmakla birlikte NP'lerin antimikrobiyal özelliklerini artırarak sağlık ve çevre koruma için avantaj sağlamaktadır. Bu avantajların yanı sıra uzun süreli NP'lere maruz kalınması durumunda dezavantajları olacağı da öngörülmekledir (Varier *et al.* 2019).

NP'ler için sınıflandırılma yapılacak olduğunda organik, inorganik ve karbon bazlı olmak üzere üç kategoriye ayrıldığı gözlemlenmektedir (Ealia and Saravanakumar 2017).

Organik nanopartiküller

Organik nanopartiküller (ONP), lipitler, polimerler gibi organik maddelerden oluşmaktadır. Yaklaşık 10 nm'den birkaç yüz nanometreye kadar değişen boyutlara sahip katı yapıda partiküllerdir (Horn and Rieger 2001). Ferritin, miseller, dendrimerler ve lipozomlar bu grupta yer almaktadır. Lipozomlar ve miseller gibi bazı ONP'ler içi boş bir küresel yapıya sahiptir ve zararsız veya biyobozunur niteliktedir. Ayrıca ışığa ve ısıya duyarlı nanokapsüller terimi de kullanılmaktadır (Falke *et al.* 2024; Ijaz *et al.* 2020).

İnorganik nanopartiküller

Karbon içermeyen partiküller inorganik nanopartiküller (İNP) olarak bilinmektedir. Bunlar metal veya metal oksitlerden oluşmaktadır. Temel materyalin kendine özgü özellikleri nedeniyle İNP özel fiziksel, elektriksel, manyetik ve optik özelliklere sahiptir. Sahip oldukları bu özel fiziksel özellikler sayesinde İNP'ler, biyoteknoloji alanında yaygın uygulama alanı bulmaktadır (Savita Kumari and Sarkar 2021; Swati Kumari *et al.* 2023). İNP'ler; metal nanopartiküller (MNP), metal oksit tabanlı nanopartiküller, lipit tabanlı, seramik tabanlı, yarıiletken NP'ler olarak alt başlıklara ayrılmaktadır (Falke *et al.* 2024).

Karbon bazlı nanopartiküller

Karbon bazlı nanopartiküller (KNP) , ilaç dağıtımı, gen terapisi ve görüntüleme gibi çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanım alanlarına sahiptirler. Bu NP'lerin önemli bir sınıfı olan karbon nanotüpler (CNT'ler), tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT'ler) ve çok

duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT'ler) türlerini içermektedir. Ancak, bazı çalışmalar kronik maruziyet sonrası toksisite riskine işaret etmektedir. CNT'lerin güvenliği hala şüphelidir (Alshehri *et al.* 2016; Klumpp *et al.* 2006).

Metal Nanopartiküllerin Özellikleri ve Önemi

Metal nanopartiküllerin genel özellikleri

MNP'lerin, katalitik ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle biyomedikal, kimya ve çevre mühendisliği gibi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Gümüş, altın, bakır, çinko oksit ve nikel gibi metallerden sentezlenen NP'lerin; biyomedikal uygulamalarda antimikrobiyal ajan olarak, kimya endüstrisinde katalizör olarak ve çevresel kirleticilerin gideriminde etkin rol oynadığı ifade edilmektedir (Rana *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2022). MNP'lerin geleneksel fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleriyle üretilmesinin; yüksek enerji tüketimi, toksik kimyasal kullanımı ve çevreye zararlı atık oluşumu gibi önemli dezavantajlara sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerle, çevre dostu ve sürdürülebilir sentez yaklaşımlarına yönelik ilginin son yıllarda giderek arttığı belirtilmektedir (Ijaz *et al.* 2020).

Biyolojik sentez yöntemlerinde metal iyonlarının baz metale indirgenmesinin hızlı bir şekilde gerçekleştiği, bu sürecin oda sıcaklığı ve basıncında uygulanabildiği ve ölçeklenebilir olduğu bildirilmektedir. Bu doğrultuda, biyolojik olarak elde edilen MNP'lerin farklı uygulama alanlarında kullanım potansiyelinin yüksek olduğu ifade edilmekte ve bakteri aracılı biyolojik sentez ile geri kazanım yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Kulkarni and Muddapur 2014).

Son dönemlerde, NP'lerin yüksek manyetik ve kataliz yetenekleri sebebiyle demir (Fe), kobalt (Co) ve nikel (Ni) vb. manyetik NP'leri sentezlemeye olan ilgi artmaktadır. NP'lerin fizikokimyasal özellikleri, yüzey alanı hacim oranının artması ve boyut azaldıkça kuantum etkilerinin baskın hale gelmesi nedeniyle yüzey alanı hacim oranındaki artış, malzemenin mekanik, katalitik ve termal özelliklerinin değişmesine sebep olmaktadır (El-Seedi *et al.* 2019, 2024).

Günümüzde çevre dostu, biyobozunur yöntemlere olan ihtiyaç biyonanoteknolojinin geliştirilmesiyle sonuçlanmaktadır. Biyonanoteknolojinin, bakteri, mantar, maya, bitkiler ve vitaminler, proteinler gibi doğal olarak oluşan moleküller ve biyolojik sistemleri kullanarak NP sentezinin gerçekleştirildiği ifade edilmektedir (El-Seedi *et al.* 2024).

Nikel oksit nanopartiküllerinin fizikokimyasal özellikleri

Nikel oksit nanopartikülleri (Ni_2O-NP), yüksek yüzey alanı, kimyasal kararlılığı, manyetik özellikleri ve katalitik aktiviteleri sayesinde çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Ni_2O-NP'ler, özellikle antimikrobiyal aktivite, katalitik dönüşümler ve çevresel kirleticilerin giderimi konularında dikkat çekmektedir. Nikelin redoks özellikleri, mikroorganizmalar üzerinde hücre zarını bozarak veya enzim aktivitesini engelleyerek bakterisidal etki göstermesini sağlamaktadır. Bu nedenle Ni_2O-NP'leri , antibakteriyel kaplamalar, yara iyileştirme materyalleri ve gıda koruma uygulamalarında kullanımı değerlendirilmektedir (Alonso, Riente, and Yus 2011; Bahrulolum *et al.* 2021).

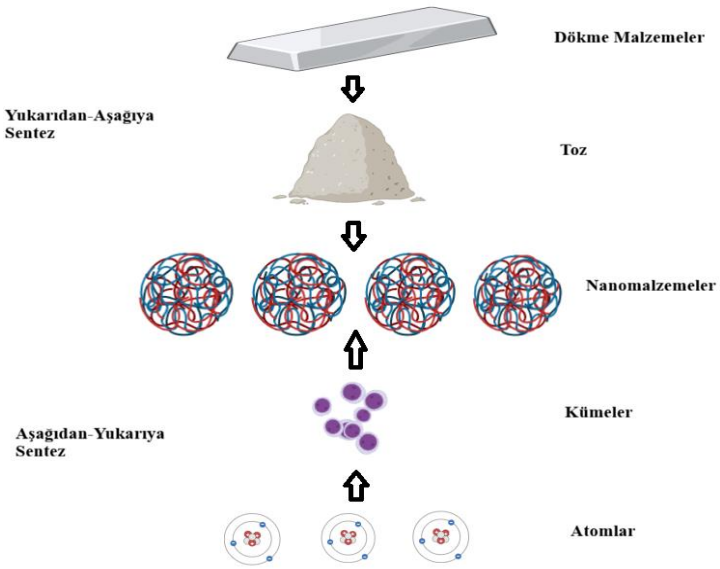
Nikel oksit nanopartiküllerinin çevresel önemi ve antimikrobiyal etkinliği

Ni_2O-NP'lerin, çevresel uygulamalarda özellikle boyar maddeler ve inorganik kirleticilerin gideriminde önemli bir rol oynadığı ifade edilmektedir. Özellikle azo grubu boyaların (Tartrazin, Congo Red, Ponceau 4R vb.) katalitik olarak parçalanmasında etkin oldukları ve bu sayede çevresel kirliliğin azaltılmasına katkı sağladıkları bildirilmektedir. Bu boyaların tekstil ve kimya endüstrilerinde yaygın olarak kullanıldığı ve biyolojik olarak zor parçalanmaları nedeniyle ciddi çevre kirliliğine yol açtıkları vurgulanmaktadır (Pavan, Mazzocato, and Gushikem 2008; Przystaś, Zabłocka-Godlewska, and Grabińska-Sota 2012). Ayrıca Ni_2O-NP'lerin iyi düzeyde antibakteriyel ve anti-inflamatuar aktivite göstermeleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda da kullanım potansiyeline sahip oldukları belirtilmektedir (Nain *et al.* 2025).

Ni_2O-NP'lerin ışık altında aktive olarak boya moleküllerini daha küçük ve zararsız bileşiklere dönüştürdüğü ve bu fotokatalitik etkinliğin su kirliliğinin azaltılmasında etkili bir yöntem sunduğu ifade edilmektedir (Alonso, Riente, and Yus 2011; Bahrulolum *et al.* 2021; Tailor *et al.* 2023).

Nanopartikül Sentez Mekanizmaları

Yukarıdan aşağı ve aşağıdan yukarı olmak üzere iki yaklaşım esas alınarak NP sentezi yapılmaktadır.



Şekil 1. Yukarıdan aşağıya (top-down) ve aşağıdan yukarıya (bottom-up) üretim süreci

Yukarıdan aşağıya (top-down) yaklaşım

Bu yol, yığın malzemeyi kullanarak mikron boyutta parçacıklar oluşturmayı amaçlamaktadır (Şekil 1). Ezme, öğütme, büyük parçaları küçültmek için kullanılan fiziksel işlemlerdir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar genellikle daha basittir ve istenen özelliklere sahip istenen yapıyı oluşturmak için yığın malzeme eleme veya yığın üretim tekniği minyatürleştirmesine dayanmaktadır. Toplu malzeme alt tabakasından belirli parçaları çıkararak NP'leri sentezleyen sentetik teknolojiden oluşmaktadır. Mevcut yöntem kimyasal, elektrokimyasal ve mekanik yöntemler içerebilir. Yöntemin seçimi ise istenen NP boyutlarına bağlıdır. Bununla birlikte parçacık boyutu üzerinde tam bir kontrol sağlamaz. Yüzey yapısındaki kusurlar, bu yaklaşımdaki en önemli sorundur. Bu yaklaşım güncel olarak endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır (Imran Din and Rani 2016; Swati Kumari *et al.* 2023; M. Singh, Manikandan, and Kumaraguru 2011).

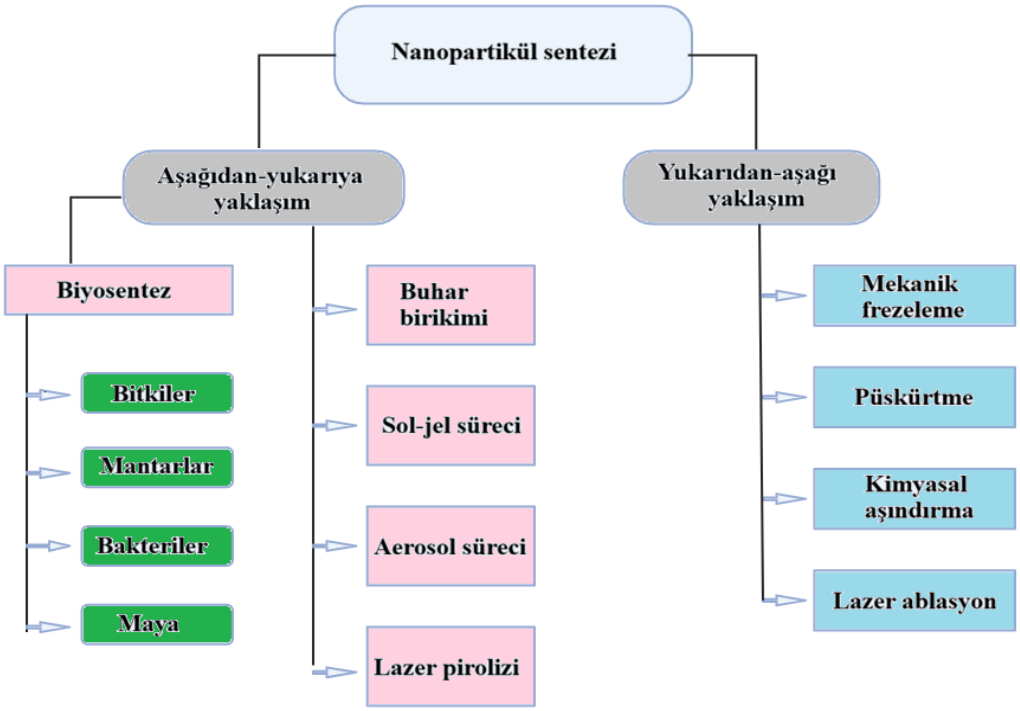
Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşım

Aşağıdan yukarıya yaklaşımlar, sıklıkla nanometre ölçekli malzemelerin üretiminde kullanılmaktadır. Birçok nanomalzeme ile sıradan şekiller, boyutlar oluşturulmasına olanak sağlar. Atom ve moleküllerin kontrollü bir şekilde bir araya getirilerek daha büyük yapılara dönüştürülmesi esasına dayanır. Yapı önce mini düzeyde organize edilir sonrasında öz-birleştirme mekanizmaları sayesinde düzenli nanoyapılar oluşturulur. Bunun sonucunda da nanomalzemelerin istenen özelliklerde tasarlanması yapının kontrol altında tutulabilmesi mümkün hale getirilmiştir. Nanoboyutlu malzemelerin sentezi, yığın malzemelerden belirgin farklı özellikleri sebebiyle dikkat çekmektedir. Yaklaşımının temel şartlarından biri yüzey tabakası ile taban malzemesi arasında güçlü yapışma kuvvetlerinin olması ve bu doğrultuda

yüzey tabakası ile taban malzemesi arasındaki yapışmayı artıran yüzey aktif maddelerin eklenmesidir. Bu durum bir malzemenin sıfırdan inşa edilmesi anlamına gelmektedir. Daha ekonomiktir ve az atık üretme potansiyeline sahiptir. Aşağıdan yukarıya yaklaşım, malzemenin atomlar, moleküller veya kümeler gibi en küçük birimlerden inşa edilmesi amaçlanmaktadır (Imran Din and Rani 2016; Swati Kumari *et al.* 2023).

Yeşil Sentez Yaklaşımı ile Nanopartikül Eldesi

Bu yöntem kapsamında bitki özleri, mikroorganizmalar, algler veya enzimler doğal indirgeme ajanı olarak görev yapmaktadır (Şekil 2). Böylece hem metal iyonlarının indirgenmesi hem de oluşan NP'lerin stabilizasyonu biyolojik moleküller tarafından sağlanmaktadır (Gour and Jain 2019). Yeşil nanoteknoloji kavramı ise, çevre dostu, sürdürülebilir ve düşük maliyetli nano ürünlerin geliştirilmesini ve bu ürünlerin güvenli şekilde kullanılmasını ifade etmektedir (Hussain *et al.* 2016).



Şekil 2. Nanopartikül sentez mekanizması

Mikroorganizmalar ve bitkisel özler; yapılarında bulunan fenolik bileşikler, proteinler, alkaloidler ve enzimler sayesinde metal iyonlarını indirgeme kapasitesine sahiptir. Bu biyolojik sistemler, geleneksel kimyasal indirgeme ajanlarının yerine geçerek sürdürülebilir üretim süreçlerinin oluşumuna katkı sağlamaktadır. Ayrıca biyolojik sentez yöntemleri, nanopartikül boyutunun ve morfolojisinin biyokimyasal koşullara bağlı olarak kontrol edilebilmesine imkân tanımakta ve sonuç olarak bakteriyel sistemlerin enzimatik potansiyelinden yararlanılarak gerçekleştirilen MNP sentezi, yeşil kimya prensipleriyle uyumlu yenilikçi bir yaklaşım

sunmaktadır (Raveendran, Fu, and Wallen 2006; M. Singh, Manikandan, and Kumaraguru 2011).

NP sentezi genellikle "Yukarıdan Aşağıya" veya "Aşağıdan Yukarıya" yaklaşımına dayanmaktadır. "Yukarıdan Aşağıya" yaklaşımda nanopartiküller, büyük yapıların fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle küçültülmesi sonucu elde edilir. Buna karşılık "Aşağıdan Yukarıya" sentezde, ana reaksiyonun indirgeme veya oksidasyon süreçlerine dayandığı, atom ve molekül gibi küçük birimlerden yapılar oluşturulur ve bu yöntemle elde edilen partiküller daha homojen bileşim ve daha az kusur içermektedir. Bu iki klasik yaklaşımın yanı sıra, son yıllarda biyolojik yöntemler yani yeşil sentez yöntemleri NP üretiminde yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Bu kapsamda mikroorganizmaların yanı sıra bitki özleri de etkin biyolojik kaynaklar arasında yer almaktadır (Jadoun *et al.* 2021).

Yeşil sentezle üretilen NP'ler, fiziksel ve kimyasal yöntemlerle elde edilenlere kıyasla farklı özellikler gösterebilir. Aşağıdan yukarıya temelli bu yaklaşımda, pahalı kimyasal indirgeme ajanları yerine meyve, yaprak veya diğer bitkisel materyallerden elde edilen özütler kullanılarak metal veya metal oksit NP'leri sentezlenir. Biyolojik yapılar, içerdiği çeşitli fonksiyonel gruplar sayesinde NP üretimi için önemli bir alternatif kaynaktır. Metal öncüllerinin biyojenik olarak NP'lere indirgenmesi; çevre dostu, sürdürülebilir, düşük maliyetli ve kimyasal kontaminasyondan uzak bir yöntem olması sebebiyle seri üretime uygun bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Hussain *et al.* 2016).

Yeşil sentez süreçleri, istenen yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahip NP'lerin üretimine imkân tanırken, süreçte görev alan proteinler, enzimler, şekerler ve hatta tüm hücreler gibi biyolojik moleküller NP'leri stabilize ederek biyomoleküllerle etkileşimlerini kolaylaştırır. Bu durum, özellikle antimikrobiyal aktivitenin artmasına katkı sağlar. Nitekim biyolojik olarak üretilen NP'lerin reaksiyon ortamından kolayca ayrılabildiği ve santrifüjleme ile konsantre edilebildiği belirtilmiştir. Ayrıca biyojenik gümüş NP'lerinin, kimyasal yöntemlerle elde edilenlere göre yaklaşık yirmi kat daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği rapor edilmektedir (Hussain *et al.* 2016).

Tek hücreli bakteriler ve çok hücreli ökaryotlara ait özütler, metal öncüllerini belirli boyut ve şekillerde NP'lere dönüştürmektedir. Ayrıca bu biyolojik varlıklar, büyümenin sonlandırılması ve agregasyon/aglomerasyonun engellenmesi için gerekli kapatıcı ve stabilize edici maddeleri doğal olarak içermektedir. Biyolojik bileşiklerin türü ve konsantrasyonu, organik indirgeme maddeleriyle birlikte NP'lerin boyut ve morfolojisi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bunun yanında pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu ve maruz kalma süresi gibi çevresel parametreler de partikül oluşum sürecini belirgin biçimde etkilemektedir. Metal öncüllerinin

biyolojik indirgenmesi hem *in vitro* hem *in vivo* koşullarda gerçekleşebilir; ancak enzimler, proteinler, şekerler ve flavonoidler, fenolikler, terpenoidler ve kofaktörler gibi fitokimyasallar genellikle indirgeyici ve stabilize edici temel ajanlardır (Hussain *et al.* 2016).

Geleneksel yöntemler uzun süredir kullanılmakla birlikte, çalışmalar yeşil sentez yöntemlerinin düşük toksisite, daha düşük maliyet ve karakterizasyon kolaylığı gibi avantajları nedeniyle NP üretiminde daha etkili olduğunu göstermektedir (Abdelghany *et al.* 2018). Fiziksel ve kimyasal sentez yaklaşımları ise toksik yan ürünler nedeniyle çevre üzerinde daha fazla toksisite oluşturabilmektedir. Yeşil tekniklerle NP üretimi kolay ölçeklenebilir ve ekonomik açıdan da avantajlıdır. Ayrıca toksik kimyasalların kullanımını azaltarak partikül reaktivitesinin ve toksisitesinin artmasını önler. Bu bağlamda vitaminler, amino asitler ve bitki özütleri gibi doğal bileşiklerin kullanımı giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Gour and Jain 2019).

NP sentezinde başarının; çevreyle uyumlu bir çözücünün seçilmesi, etkin bir indirgeyici maddenin kullanılması ve elde edilen partiküllerin stabilizasyonunu sağlayacak güvenli bir kaplayıcı materyalin varlığına bağlı olduğu ifade edilmektedir. Bu bağlamda bitkiler ve mikroorganizmalar kullanılarak gerçekleştirilen biyosentetik yaklaşımların, güvenli, biyouyumlu ve çevre dostu bir yeşil teknoloji olarak kabul edildiği bildirilmektedir (Jadoun *et al.* 2021).

Bakterilerde yeşil sentez yaklaşımı

Nanomalzemelerin yeşil sentezinde kullanılabilen bakterilerin, hücre duvarına sahip ancak organelleri ve organize bir çekirdeği bulunmayan geniş bir tek hücreli organizma grubuna ait olduğu bilinmektedir. Bazı bakteri suşlarının patojen özellik gösterebildiği belirtilmekle birlikte, birçok suşun insan vücudunda doğal olarak bulunduğu ve bu suşlarla çalışmanın genellikle düşük risk taşıdığı ifade edilmektedir. *Escherichia coli (E. coli)* ve *Bacillus subtilis (B. subtilis)* gibi yaygın olarak kullanılan suşların kültürlenmesinin kolay olduğu ve genetik materyallerinin rahatlıkla düzenlenebildiği bildirilmektedir. Bu özellikler doğrultusunda bakteriler aracılığıyla NP sentezinin uygulanabilir ve kontrollü bir yöntem olduğu değerlendirilmektedir. Bakteriyel NP sentezinde, hücrelerin aerobik koşullar altında istenen yoğunluğa ulaşana kadar geliştirilmesinin ardından, hücreleri içeren kültür ortamının uygun MNP öncüsü ile birleştirildiği belirtilmektedir. Belirli bir inkübasyon süresini takiben reaksiyon ortamının yüksek hızlarda (≥10.000 rpm) santrifüjlenmesi sağlanmaktadır. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen süpernatantın, sentezlenen nanomalzemeleri süspansiyon halinde içerdiği rapor edilmektedir (Gurunathan *et al.* 2009). Kullanılan bakteri suşunun türü ile metal

tuzunun yapısının, sentezlenen NP'lerin boyut, şekil ve morfolojik özellikleri üzerinde belirleyici etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Huston *et al.* 2021).

Enzim temelli nanopartikül sentezi

Enzimlerin iyi tanımlanmış yapısal özellikleri ve yüksek saflıkta elde edilebilmeleri nedeniyle yeşil sentez yaklaşımlarında tercih edildiği bildirilmektedir. Enzim aracılı nanopartikül sentezinin, biyokatalizörlerin özgün seçiciliği ve yüksek katalitik etkinliği sayesinde kontrollü, çevre dostu ve biyouyumlu NP üretimine olanak sağladığı ifade edilmektedir. Enzimlerin belirli metal iyonlarını hedefleyerek indirgeme ve stabilizasyon süreçlerini yüksek doğrulukla yönlendirebildiği belirtilmektedir.

Bu yöntemin, geleneksel kimyasal indirgeme stratejilerine kıyasla toksik reaktif kullanımını gerektirmemesi ve reaksiyon koşullarının genellikle daha ılımlı olması nedeniyle sürdürülebilir sentez uygulamaları açısından önemli avantajlar sunduğu vurgulanmaktadır. Oksidoredüktazlar, hidrolazlar ve transferazlar gibi farklı enzim sınıflarının; gümüş (Ag), altın (Au), demir (Fe) ve palladyum (Pd) gibi metal iyonlarının indirgenmesinde etkin rol oynadığı ve bu sayede dar boyut dağılımına, iyi tanımlanmış morfolojiye ve yüksek kararlılığa sahip NP'lerin elde edilmesine katkı sağladığı bildirilmektedir. Ayrıca enzimlerin polimerik yüzeylere, membran sistemlerine veya hücresiz ekstraktlara entegre edilmesinin, bimetalik veya fonksiyonel NP'lerin sentezini mümkün kıldığı ve bu yapıların sensör geliştirme, kataliz ve biyomedikal uygulamalar gibi farklı alanlarda geniş kullanım potansiyeli sunduğu ifade edilmektedir. Bu bağlamda enzim aracılı NP sentezinin, hem çevresel sürdürülebilirlik hem de fonksiyonel nanomalzeme üretimi açısından giderek önem kazanan biyoteknolojik bir alternatif olarak değerlendirildiği belirtilmektedir (Gour and Jain 2019; Ovais *et al.* 2018; Yıldız, Yavuz, and Tekdal 2024).

Enzim Tanımı ve Sınıflandırılması

Enzimlerin, karmaşık moleküllerin daha basit ürünlere dönüştürüldüğü biyokimyasal süreçlerin merkezinde yer alan, aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artıran protein yapısındaki biyokatalizörler olduğu bilinmektedir (Nelson 2021). Reaksiyon süresince yapısal bir değişikliğe uğramadan işlevlerini sürdürmeleri ve substratlarına karşı yüksek özgüllük göstermeleri, enzimleri metabolik yolların düzenlenmesinde temel bileşenler haline getirmektedir. Hayvan, bitki ve mikroorganizma gibi tüm canlı gruplarında doğal olarak bulunmalarına karşın, artan endüstriyel gereksinimler doğrultusunda bitkisel ve hayvansal kaynakların yetersiz kaldığı ve bu durumun araştırmacıları daha verimli, hızlı çoğalan ve ekonomik açıdan avantajlı olan mikrobiyal enzim kaynaklarına yönelttiği ifade edilmektedir.

Bu doğrultuda mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin, yüksek üretim potansiyelleri ve enerji verimliliğini artıran katalitik özellikleri sayesinde günümüzde geniş bir uygulama alanı bulduğu bildirilmektedir (El-Gendi *et al.* 2021; Nelson 2021).

Enzimlerin sıcaklık, pH ve iyonik ortam gibi çevresel faktörlere duyarlı olduğu ve uygun koşullar altında en yüksek katalitik aktiviteyi sergilediği belirtilmektedir (Johnson, Park, and Driscoll 2010; Liu *et al.* 2021; Yetim, Özkan, and Sarı 2019). Günümüzde enzimlerin yalnızca hücresel metabolik süreçlerde değil, aynı zamanda endüstriyel uygulamalarda, biyoteknoloji alanında ve tıbbi araştırmalarda da yaygın şekilde kullanıldığı rapor edilmektedir (Berg *et al.* 2023). Uluslararası Biyokimya Birliği (IUBMB), enzimleri katalizledikleri reaksiyon tipine göre sınıflandırmıştır. Bu gruplar sırası ile;

1. *Oksidoredüktazlar (Oxidoreductases, EC 1);* elektron /hidrojen aktarım reaksiyonlarını katalizler. Oksidoredüktazlar, bir elektronun vericiden bir elektron alıcısına aktarılması yoluyla oksidasyon/redüksiyon (redoks) reaksiyonunu katalize eden enzimlerdir (El-Gendi *et al.* 2021).
2. *Transferazlar (Transferases, EC 2);* fonksiyonel grup (örneğin fosfat, metil, amino grubu) bir molekülden diğerine aktarımını katalizler. Transferazlar, birçok bileşik arasında belirli grupların (amino grubu) transferini veya değişimini katalizler. Bu süreç, tüm hücrelerde protein sentezi için gerekli amino asitlerin oluşturulmasında hayati bir role sahiptir (El-Gendi *et al.* 2021).
3. *Hidrolazlar (Hydrolases, EC 3);* suyu kullanarak bağ kırılması (hidroliz) reaksiyonlarını katalizlerler. Enzimlerin en kapsamlı olarak incelenen gruplarıdır; su ilavesiyle substratlarının hidrolizini katalize ederler. Hidrolazlar farklı sektörlerdeki geniş uygulama alanları nedeniyle ticari olarak en çok pazarlanan enzimleri temsil eden gruptur (El-Gendi *et al.* 2021).
4. *Liyazlar (Lyases, EC 4);* hidroliz veya oksidasyon kullanmadan, bağları kırmakta veya eklemektedir (örneğin C–C, C–O, C–N bağları). Liyazlar, ekleme veya eliminasyon reaksiyonunu katalize eden bir enzim grubudur. Bu tür ekleme veya eliminasyonun sonucu ya siklik yapıya ya da yeni çift bağlara sahip yeni bir bileşiktir. Liyazlar genellikle tek bir yönde etki etmek için yalnızca bir substrata ihtiyaç duysa da bu reaksiyonu tersine çevirmek için iki substrat gereklidir. Normalde liyazlar çok sınırlı substrat özgüllüğüne sahiptir (El-Gendi *et al.* 2021).
5. *İzomerazlar (Isomerases, EC 5);* molekül içinde yeniden düzenlenme (geometrik veya yapısal izomerizasyon) sağlar. İzomerazlar, aynı bileşik içindeki belirli bir

grubun değişimi yoluyla substrat yapısının yeniden düzenlenmesini katalize eden bir enzim grubudur (El-Gendi *et al.* 2021).

6. *Ligazlar (Ligases, EC 6);* iki molekülü ATP gibi enerji kaynağı kullanarak birleştirmektedir (kondenzasyon reaksiyonu). Ligazlar, genel olarak, iki bileşiğin yeni bağların oluşumu yoluyla birleşmesini katalize eden enzim sınıflarıdır. Farklı tipteki ligazlar, yeni bileşiklerde kurulan bağların doğasına göre karbon-karbon bağları, karbon-azot bağları, karbon-kükürt bağları, karbon-oksijen bağları, azot-metal bağları ve fosforik-ester bağları gibi sınıflandırılabilir (El-Gendi *et al.* 2021).
7. *Translokazlar (Translocases, EC 7);* son sınıflandırmalara göre zarlar üzerinden iyon veya molekül taşınmasını katalizleyen enzimlerdir (Punekar 2025).

Oksidoredüktaz enzimler

Oksidoredüktazlar; elektron transferi, proton ya da hidrojen uzaklaştırılması, hidrit aktarımı ve oksijen eklenmesi gibi temel kimyasal adımların gerçekleştiği reaksiyonlarda elektron donörleri ile alıcıları arasındaki redoks dönüşümlerini katalizleyen enzimlerdir. Doğada oldukça geniş bir dağılıma sahip olan bu enzimler, yüksek özgüllük ve seçicilik göstermeleri ile biyokimyasal süreçlerin sürekli işleyebilmesi için kritik öneme sahiptir. Oksidoredüktazların büyük bir bölümü Nikotinamid adenin dinükleotit/nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NAD^+/$NADP^+$) gibi nikotinamid türevi kofaktörlerle çalışmakta olup, bu moleküllere karşı belirgin bir bağlanma eğilimi göstermektedir. Bu enzim sınıfı oksidazlar, dehidrojenazlar, hidroksilazlar, oksijenazlar, peroksidazlar ve redüktazlar olmak üzere altı ana grupta incelenir ve her bir grup, fonksiyonunu sürdürebilmek için özgün bir redoks-aktif merkeze ihtiyaç duymaktadır. Yüksek katalitik verimlilikleri ve biyolojik olarak parçalanabilir özellikleri nedeniyle oksidoredüktazlar; tekstil, gıda, tıp, kimyasal sentez gibi birçok endüstriyel alanda tercih edilen güvenilir biyokatalizörlerdir. Ayrıca lignoselülozik biyodönüşüm, karbonhidrat modifikasyonu, gıda içecek kalitesinin artırılması, süt ürünleri teknolojisi, çevresel iyileştirme süreçleri, organik sentez, polimer ve nanomalzeme üretimi gibi geniş bir uygulama yelpazesinde de önemli katkılar sağlamaktadır. Bu kullanım alanları, oksidoredüktazların hem toksik veya maliyeti yüksek kimyasalların yerine geçebilen sürdürülebilir bir alternatif sunduğunu hem de yeni fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesine olanak tanıdığını göstermektedir. Enzimlerin farklı üretim sistemlerine uyarlanması ve yeni endüstriyel süreçlere entegre edilmesi, oksidoredüktaz temelli biyokatalizin gelecekteki gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır (May and Padgette 1983). Bu kapsamda enzim temelli NP üretimi, yeşil sentez yöntemleri içinde öne çıkan bir biyoteknolojik yaklaşım hâline gelmiştir. Özellikle oksidoredüktazlara ait peroksidaz (POD), polifenol oksidaz (PPO) ve

katalaz (CAT) gibi enzimler, metal iyonlarının indirgenmesinde ve oluşan NP'lerin stabilizasyonunda etkin görev alarak biyojenik NP sentezine önemli katkılar sağlamaktadır (Lück 1965; Veitch 2004).

Peroksidaz (POD): Elektron alıcısı olarak bir peroksit kullanırlar; en çok kullanılanı hidrojen peroksittir (H_2O_2). H_2O_2 gibi oksidan bileşikleri daha kararlı ürünlere dönüştürerek elektron transferini kolaylaştırır ve metal iyonlarının indirgenmesine katkıda bulunmaktadır. Bu enzimlerin bir kısmı kofaktör olarak hem grubunu kullanır ve neredeyse hepsi hemoproteindir. Her türlü yaşam formunda yaygın ve bol miktarda bulunurlar, bu da farklı yapısal ve katalitik özelliklerine göre sınıflandırılmalarına yol açmıştır. Bu enzimlerin çoğu biyokataliz teknolojilerinde büyük öneme sahiptir (Lück 1965; Veitch 2004).

Katalaz (CAT): H_2O_2'yi su ve oksijene parçalayarak ortamın oksidatif dengesini sağlar ve kontrollü bir indirgeme ortamı oluşturur. Bu üç enzimin birlikte bulunması, indirgeme ve stabilizasyon süreçlerinde sinerjik etki yaratarak homojen, kararlı ve biyoaktif nanopartikül oluşumuna olanak tanımaktadır (Percy 1984).

Polifenol Oksidaz (PPO), Fenolik bileşikleri okside ederek NP yüzeyinde koruyucu bir organik tabaka oluşumunu destekler. Substrata dahil etmeden elektron alıcısı olarak moleküler oksijen (O_2) kullanan ancak onu su (H_2O) veya H_2O_2 'ye indirgeyen enzimlerdir (Cárdenas-Moreno *et al.* 2023).

Termofilik Bakteriler

Termofilik bakterilerin, optimum büyüme sıcaklığı genellikle 45°C'nin üzerinde olan mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Bu mikroorganizmaların sıcak su kaynakları, hidrotermal bacalar, kompost yığınları, jeotermal alanlar ve endüstriyel olarak ısıtılmış sistemler gibi yüksek sıcaklığa sahip ortamlarda bulunduğu bildirilmektedir. Sıcaklık toleranslarına göre termofilik bakterilerin orta derecede termofiller (45-65°C) ve zorunlu termofiller (65-80°C) olmak üzere sınıflandırıldığı; daha ekstrem koşullara uyum sağlamış türlerin ise hipertermofil olarak adlandırıldığı ve bu gruptaki mikroorganizmaların optimum büyüme sıcaklıklarının ≥80°C'ye ulaşabildiği ifade edilmektedir.

Termofilik bakterilerin, yüksek sıcaklıklarda protein denatürasyonu, membran kararsızlığı ve DNA hasarı gibi olumsuz etkileri önlemeye yönelik çeşitli adaptasyon mekanizmalarına sahip olduğu belirtilmektedir. Bu adaptasyonlar arasında ısıya dayanıklı protein yapılarının, daha yüksek oranda doymuş yağ asidi içeren hücre zarı bileşimlerinin, DNA'yı stabilize eden özel protein ve poliaminlerin yanı sıra gelişmiş şaperon protein sistemlerinin yer aldığı rapor edilmektedir. Söz konusu özelliklerin, termofilik bakterilerin

ekstrem çevre koşullarında yaşamlarını sürdürmelerine ve metabolik aktivitelerini devam ettirmelerine olanak sağladığı bilinmektedir.

Termofilik bakterilerin yalnızca ekolojik açıdan değil, aynı zamanda biyoteknolojik uygulamalar bakımından da önemli olduğu vurgulanmaktadır. Bu mikroorganizmalardan elde edilen termostabil enzimlerin (örneğin DNA polimerazlar, proteazlar, lipazlar ve selülazlar) deterjan üretimi, gıda endüstrisi, biyoyakıt üretimi, biyoremediasyon ve farmasötik süreçlerde yaygın şekilde kullanıldığı belirtilmektedir. Enzimlerin yüksek termal stabiliteye sahip olmasının, zorlu endüstriyel koşullar altında dahi etkinliklerini sürdürebilmelerine olanak tanıdığı ifade edilmektedir.

Son yıllarda gerçekleştirilen moleküler ve genomik analizlerin, termofilik bakterilerin genetik çeşitliliğini ve ekstrem koşullara uyum stratejilerini daha ayrıntılı biçimde ortaya koyduğu bildirilmektedir. Bu bulguların, termofillerin evrimsel biyoloji açısından model organizmalar olarak değerlendirilmesine katkı sağladığı; bazı araştırmacıların ise hipertermofillerin evrensel ortak ata ile yakından ilişkili olabileceğini ileri sürdüğü rapor edilmektedir (Brock and Freeze 1969; Stetter 2002, 2006; Vieille and Zeikus 2001).

Pallidibacillus pasinlerensis

Pasinler ilçesindeki jeotermal bir kaynaktan izole edilmiş termofilik bir bakteri türüdür. Bu mikroorganizma, 55-60°C arasındaki sıcaklıklarda ve pH 7,0-7,5 aralığında optimum büyüme göstererek yüksek sıcaklık koşullarına belirgin bir uyum sağlamaktadır. Termal ortamlarda kararlı yapısını sürdürebilmesi, onu ekstrem koşullara dayanıklı biyolojik sistemler içerisinde dikkate değer bir organizma haline getirmektedir (Baltaci *et al.* 2020).

Bu türün özellikle enzimojenik kapasitesi, ilaç taşıyıcı sistemler, biyomedikal uygulamalar ve biyoteknolojik süreçler açısından önemli potansiyele sahiptir. *P. pasinlerensis*, çeşitli metal NP'lerinin biyosentezinde etkin şekilde kullanılabilmekte olup, ürettiği enzimler sayesinde yeşil sentez yaklaşımlarının çevre dostu biçimde uygulanmasına olanak tanımaktadır. Ayrıca bu bakterinin, sentezlenen NP'lerin biyolojik özelliklerini modüle edebilme yeteneği, yeni fonksiyonel materyallerin geliştirilmesi açısından değerli bir avantaj sunmaktadır (Baltaci *et al.* 2020).

Biyoremediasyon ve Nanoteknoloji

Biyoremediasyon, kirleticilerin mikroorganizmalar aracılığıyla parçalanması veya daha az zararlı formlara dönüştürülmesini esas alan ve çevre biyoteknolojisi alanında giderek önem kazanan bir uygulama olduğu belirtilmektedir. Bu yaklaşımın, kirlenmiş ekosistemlerin

sürdürülebilir ve çevre dostu yöntemlerle iyileştirilmesine olanak tanıdığı ifade edilmektedir. Bununla birlikte biyoremediasyon süreçlerinde mikroorganizmaların gerçek işlevlerine, hedef kirleticilerin dönüşümündeki rollerine ve çevresel mikrobiyal topluluk yapısında meydana gelen değişimlere ilişkin bilgilerin hâlen sınırlı olduğu bildirilmektedir. Bu durumun, biyoremediasyon uygulamalarının güvenilir ve kontrollü biçimde yürütülmesini zorlaştırdığı vurgulanmaktadır. Pek çok çevresel bakterinin klasik laboratuvar koşullarında kültüre alınamaması, biyoremediasyon sırasında mikrobiyal dinamikleri takip etmeyi güçleştiren temel bir engeldir. Bu nedenle, kültür bağımsız moleküler yöntemlerin gelişmesi, çevresel mikroorganizmaların işlevlerini çözümlemede yeni olanaklar sunmaktadır. Özellikle floresan *in situ* hibridizasyon (FISH), *in situ* PCR (IS-PCR) ve kantitatif PCR (qPCR) gibi teknikler, belirli kirleticilerin ayrışmasından sorumlu mikroorganizmaların doğrudan tespit edilmesi ve miktarının belirlenmesi açısından önemli araçlar haline gelmiştir. Bunun yanında, mikrobiyal toplulukların çeşitliliğini ve zamana bağlı değişimlerini incelemeye imkân tanıyan denatüre edici gradyan jel elektroforezi (DGGE) ve terminal restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) gibi nükleik asit temelli yöntemler, biyoremediasyon süreçlerinin daha ayrıntılı şekilde anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Abatenh, Gizaw, and Wassie 2017).

Bu gelişmiş moleküler yaklaşımlar, biyoremediasyon uygulamalarının optimize edilmesi, doğrulanması ve çevresel etkilerinin değerlendirilmesi için temel veriler üretmekte olup, teknolojinin güvenli ve etkin kullanılabilmesi açısından vazgeçilmezdir (Abatenh, Gizaw, and Wassie 2017; Iwamoto and Nasu 2001).

Mikroorganizmaların kirleticileri dönüştürmede rolü

Mikroorganizmaların çevresel kirleticilerin dönüşümünde temel roller üstlendiği ifade edilmektedir. Bu rollerin; organik kirleticilerin enzimatik yollarla parçalanarak mineralize edilmesi veya daha az toksik ara ürünlere dönüştürülmesi, ağır metallerin ve iyonların hücre içerisine alınarak immobilize edilmesi ya da biriktirilmesi ve mikrobiyal topluluk etkileşimleri yoluyla kirleticilerin biyoyararlanırlığının değiştirilmesi şeklinde gerçekleştiği bildirilmektedir. Mikrobiyal topluluklar ile sentetik veya izole edilmiş konsorsiyumların, farklı metabolik yetenekleri bir araya getirerek poliaromatik hidrokarbonlar, pestisitler ve farmasötik atıklar gibi karmaşık kirleticilerin daha etkin biçimde giderilmesini sağladığı belirtilmektedir. Bu süreçlerin çoğunlukla lakkaz, peroksidaz ve diğer oksidazlar ile redüktaz enzimlerinin aracılığıyla ilerlediği ifade edilmektedir (T. Zhang and Zhang 2022).

Uygulamada biyostimülasyon ve bioaugmentasyon stratejileri kullanılarak doğal mikrobiyal dönüşüm kapasitesinin artırılabildiği bildirilmektedir. Bununla birlikte saha koşullarında biyoremediasyon başarısının; ekolojik faktörler, mikrobiyal genetik çeşitlilik ve

kirletici konsantrasyonu gibi değişkenlere bağlı olarak şekillendiği vurgulanmaktadır. Güncel çalışmaların, metagenomik ve sentetik biyoloji yaklaşımlarının yeni enzimlerin ve mikrobiyal konsorsiyumların tanımlanması ve tasarlanmasında önemli bir potansiyel sunduğunu ortaya koyduğu; ancak bu yaklaşımların ölçeklendirilmesi, düzenleyici gereklilikler ve ekosistem güvenliği açısından dikkatle değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmektedir (Ayilara and Babalola 2023; T. Zhang and Zhang 2022).

Nanoteknoloji ve Biyoremediasyon Kesişimi

Nanoteknoloji, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, artmış reaktivite ve yüzey fonksiyonelleştirilebilirlik özellikleri sayesinde çevresel kirleticilerin giderilmesine yönelik biyoremediasyon uygulamalarını önemli ölçüde desteklemektedir. Nano-biyoremediasyon yaklaşımları kapsamında metal NP'ler (Ag, Fe^0, Fe/Pd, ZnO), karbon temelli nanomalzemeler (grafen oksit, karbon nanotüpler), manyetik NP'ler ve enzim immobilizasyonuna yönelik nano-taşıyıcı sistemlerin kullanıldığı bildirilmektedir.

Bu nanoyapıların, mikrobiyal bozunma süreçlerini hızlandırdığı, kirleticilerin biyoyararlanırlığını artırdığı ve mikroorganizmaların enzimatik aktivitelerinin stabilitesini güçlendirdiği ifade edilmektedir. Ayrıca NP'lerin, kirleticilerin adsorpsiyon veya indirgenme yoluyla ortamdan uzaklaştırılmasına katkı sağladığı; böylece biyolojik bozunma mekanizmalarını tamamlayıcı bir rol üstlendiği belirtilmektedir. Enzimlerin veya mikroorganizmaların nano-taşıyıcı yüzeylere immobilize edilmesiyle katalitik etkinliğin arttığı ve sistemlerin pH, sıcaklık ve toksik stres gibi olumsuz çevresel koşullara karşı daha dayanıklı hale geldiği rapor edilmektedir. Bu bütüncül etkileşim sayesinde kirleticilerin fizikokimyasal ve biyolojik yollarla eş zamanlı olarak dönüştürülmesi mümkün hale gelmektedir (Guerra *et al.* 2018; Mukherjee, Sarkar, and Sasmal 2021).

Nanoteknolojik yaklaşımlar, biyoremediasyon süreçlerinin izlenmesi ve kontrol edilmesi açısından da önemli avantajlar sunmaktadır. Kuantum dotları, yüzey fonksiyonlu nanosensörler ve nanobiyosensörler aracılığıyla kirletici konsantrasyonlarının ve mikrobiyal metabolik aktivitelerin gerçek zamanlı olarak takip edilebildiği bildirilmektedir. Bu sistemler sayesinde saha uygulamalarında süreç verimliliğinin değerlendirilmesi ve biyoremediasyon parametrelerinin optimize edilmesi mümkün olmaktadır (Mukherjee, Sarkar, and Sasmal 2021).

Boyaların Çevresel Kirleticiliği

Endüstriyel üretim süreçlerinde yaygın olarak kullanılan boyar maddeler, günümüzde sucul ekosistemleri tehdit eden en önemli kirletici gruplarından biri olarak değerlendirilmektedir. Özellikle tekstil, deri, kâğıt ve kozmetik sektörlerinde yoğun biçimde

kullanılan sentetik boyaların; aromatik halkalar, azo bağları ve bazı durumlarda ağır metal içeren kompleks kimyasal yapılara sahip olmaları nedeniyle çevresel koşullarda kolayca parçalanamadıkları bildirilmektedir. (Pinheiro, Touraud, and Thomas 2004).

Boyama işlemleri sırasında kullanılan boyar maddelerin önemli bir bölümünün liflere tam olarak bağlanamadığı ve bu nedenle atık sulara karıştığı belirtilmektedir. Bu durumun, deşarj edilen atık suların kimyasal oksijen ihtiyacının (COD) ve biyolojik oksijen ihtiyacının (BOD) artmasına neden olduğu; buna bağlı olarak çözünmüş oksijen seviyesinin azaldığı rapor edilmektedir. Aynı zamanda suyun ışık geçirgenliğinin azalması, fotosentetik organizmaların enerji üretimini sınırlandırmakta ve ekosistemin biyolojik dengesinin bozulmasına yol açmaktadır. Bu süreçlerin, sucul ortamların trofik yapısında uzun vadeli değişimlere neden olduğu bildirilmektedir (Pinheiro, Touraud, and Thomas 2004).

Tablo 2. Boya Gruplarının Temel Özellikleri ve Çevresel Riskleri

Boya Grubu	Temel Özellik	Çevresel Risk/Sorun
Azo boyalar	Renklerini –N=N– bağından alırlar; en yaygın sentetik boya sınıfıdır.	Parçalandıklarında aromatik amin gibi toksik ve kanserojen bileşikler oluşturabilirler.
Antrakinon boyalar	Antrakinon iskeletine sahip, genelde mavi-mor tonlar veren dayanıklı boyalar.	Işığa ve kimyasal bozunmaya çok dirençli oldukları için çevrede uzun süre kalırlar.
Indigoid boyalar	En bilinen üye indigo; çoğunlukla denim/kot boyamada kullanılır.	Suda çözünmezlikleri nedeniyle atık sulardan uzaklaştırılması zordur, kalıcı renk kirliliğine yol açar.
Trifenilmetan boyalar	Üç fenil halkası içeren aromatik boyalar (ör. kristal violet).	Yüksek toksisite, mutajenik etki ve mikrobiyal bozunmaya direnç gösterirler.
Xanthene boyalar	Fluoresan özellikte boyalardır (ör. rhodamine).	Bazı formları hücre toksisitesine yol açabilir ve kalıcı kirlilik oluşturabilir.
Nitro boyalar	Renklerini nitro ($–NO_2$) grubundan alırlar.	Doğada zor parçalanır; nitroaromatik bileşikler toksik ve olası kanserojendir.
Katyonik (bazik) boyalar	Pozitif yüklü sentetik boyalar; akrilik liflerde yaygın.	Sucul canlılar için oldukça toksiktir; biyolojik ayrışmaya dirençlidir.
Anyonik boyalar (asit/reaktif)	Negatif yüklü yapıya sahip, suda yüksek çözünür boyalar.	Atık sularda hızla yayılır, arıtma süreçlerinden kolayca geçer.
Dispers boyalar	Suda çözünmeyen, hidrofobik boyalar; polyestere yaygın.	Atıksu arıtımına en dirençli gruplardan biri; mikroplastiklerle birlikte kalıcı kirlilik oluşturabilir.
Kükürt boyaları	Ucuz, koyu ton veren sentetik boyalar.	Kullanım sırasında sülfür içeren zararlı yan ürünler oluşabilir.

Azo boyaların, dünya genelinde kullanılan sentetik boyar maddelerin büyük bir kısmını oluşturması nedeniyle çevresel açıdan en fazla endişe uyandıran gruplardan biri olduğu belirtilmektedir. Bu bileşiklerin anaerobik koşullarda mikroorganizmalar tarafından parçalanması sonucunda oluşan aromatik aminlerin; genetik hasar, hücresel toksisite ve kanserojen etkilere sahip olduğu bilimsel çalışmalarla ortaya konulmuştur. Ayrıca bazı sentetik boya formülasyonlarında bulunan ağır metallerin, suda yaşayan organizmalarda birikerek biyomagnifikasyona yol açtığı ve toksik etkileri artırdığı ifade edilmektedir (Pinheiro, Touraud, and Thomas 2004).

Geleneksel atık su arıtma yöntemlerinin, özellikle kompleks kimyasal yapıya sahip boyar maddelerin uzaklaştırılmasında çoğu zaman yetersiz kaldığı bildirilmektedir. Adsorpsiyon, flokülasyon ve aktif çamur proseslerinin birçok boya molekülünü tamamen parçalayamadığı; bu nedenle arıtma çıkış sularında renkli ve toksik bileşenlerin varlığının devam edebildiği belirtilmektedir. Bu durumun, içme suyu kaynakları ve tarımsal sulama alanları açısından uzun süreli bir çevresel risk oluşturduğu vurgulanmaktadır (Ardila-Leal *et al.* 2021).

Son yıllarda boyar madde kaynaklı kirliliğin giderilmesine yönelik olarak ileri oksidasyon prosesleri (İOP), enzim temelli biyolojik yöntemler, mikroorganizma aracılı bozundurma stratejileri ve nanomalzeme içeren adsorban sistemlerin geliştirildiği bildirilmektedir. Bununla birlikte boyar maddelerin yüksek yapısal stabiliteye sahip olmaları nedeniyle, yalnızca arıtma teknolojilerinin değil; aynı zamanda sürdürülebilir üretim yaklaşımlarının benimsenmesi ve çevre dostu boya alternatiflerinin geliştirilmesinin de kalıcı çözüm açısından zorunlu olduğu ifade edilmektedir (Akhter, Arshad, and Hussain 2025; Ardila-Leal *et al.* 2021; Turner 2010).

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar maddelerin; reaktif, direkt, küp, kükürt, dispers, bazik ve asidik boyalar olmak üzere farklı sınıflara ayrıldığı ve bu grupların büyük bölümünün çevresel kirleticilik açısından risk taşıdığı bildirilmektedir (Benkhaya *et al.* 2021).

Azo boyalar

Boyaların tarihsel gelişimi incelendiğinde, doğal pigment kullanımının MÖ 3500 yıllarına kadar uzandığı bilinmektedir. Doğal boyalar mineraller, bitkiler ve böcek kökenli pigmentlere dayanmakla birlikte, sınırlı erişilebilirlikleri, zahmetli üretim süreçleri ve yüksek maliyetleri nedeniyle endüstriyel ölçekte sürdürülebilir olmamıştır. 1856 yılında William Henry Perkin'in ilk sentetik boya olan mauveine'i sentezlemesiyle birlikte sentetik boyalar kısa sürede endüstriyel üretimde baskın hâle gelmiştir. Geniş renk çeşitliliği, düşük maliyet ve

yüksek dayanıklılık bu geçişi hızlandırmış; buna karşın çevresel etkiler ve insan sağlığı üzerindeki olası riskler zamanla önemli bir sorun alanı olarak ortaya çıkmıştır (Abel 2012; Alzain *et al.* 2023; Islam 2023).

Azo boyaları, bir amin ya da fenole bağlı diazolanmış bileşiklerden türeyen ve yapılarında bir veya daha fazla –N=N– azo bağı içeren organik bileşiklerdir. Temel öncüllerini aromatik aminler oluşturan bu boyalar, yüksek renk verimleri, düşük maliyetleri ve geniş renk skalaları nedeniyle özellikle sentetik tekstil boyamacılığında yaygın olarak kullanılmaktadır (Chung 2016). Boyalar tarihsel olarak ilk kez doğal bitki ve hayvan kaynaklarından elde edilmiş olsa da kimya endüstrisinin gelişimiyle birlikte sentetik üretim yöntemleri baskın hâle gelmiştir. Sentetik boyalar arasında yer alan azo boyaları, toksik ve mutajenik etkileri nedeniyle bazı türleri için kısıtlamalar getirilmiş olmasına rağmen, endüstriyel avantajları nedeniyle günümüzde hâlen yaygın biçimde üretilmekte ve kullanılmaktadır (Chung 2016).

Tekstil endüstrisi, yüksek su tüketimi ve yoğun boya kullanımı nedeniyle çevre kirliliğine en fazla katkı sağlayan sektörlerden biri olarak değerlendirilmektedir. Boyama işlemleri sırasında kullanılan sentetik boyaların önemli bir bölümü liflere bağlanmadan işlemden çıkarak doğrudan atık sulara karışmaktadır. Bu durum, alıcı ortamlarda kalıcı renklenmeye, artan kimyasal oksijen ihtiyacına (COD), biyolojik oksijen ihtiyacına (BOD) ve çözünmüş oksijen dengesinin bozulmasına yol açarak su kalitesinde ciddi bozulmalara neden olmaktadır. Azo boyalarının yapısal kararlılıkları nedeniyle aerobik biyolojik arıtma süreçlerine karşı direnç göstermeleri, geleneksel fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerinin çoğu zaman yetersiz kalmasına ya da ekonomik açıdan sürdürülebilir olmamasına yol açmaktadır (Bafana, Devi, and Chakrabarti 2011) .

Azo boyalarının çevresel ve biyolojik riskleri yalnızca miktarlarıyla sınırlı değildir. Bu bileşikler, kimyasal olarak kararlı yapıları nedeniyle çevrede uzun süre kalabilmekte ve biyolojik süreçlerle zor parçalanmaktadır. Azo bağlarının mikroorganizmalar tarafından indirgenmesi sonucu oluşan aromatik aminler, güçlü toksik ve kanserojen özellikler göstermekte; sucul ortamlarda birikerek genotoksik etkilere ve DNA hasarına neden olabilmektedir. Arıtılmadan deşarj edilen renkli atık sular, ışık geçirgenliğini azaltarak fotosentetik organizmaların gelişimini engellemekte, çözünmüş oksijen seviyelerini düşürerek sucul canlılar üzerinde baskı oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra atık sularda bulunan ağır metaller, elektrolitler ve yardımcı boya kimyasalları da ek toksik yük oluşturarak çevresel riskleri artırmaktadır (Robinson *et al.* 2001).

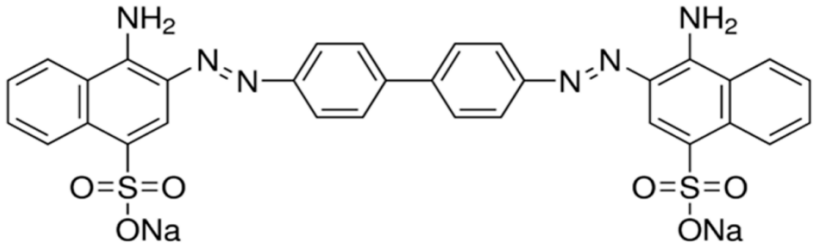
Renkli atık suların çevresel etkileri yalnızca görsel kirlilikle sınırlı değildir. Çok düşük konsantrasyonlarda dahi (1 ppm'in altında) görünür renk oluşturabilen azo boyaları, sucul

ekosistemlerde madde döngüsünü olumsuz yönde etkilemektedir. Uzun süreli maruziyetin; bağışıklık, sinir ve dolaşım sistemi üzerinde çeşitli bozukluklara yol açabileceği, ayrıca deri ve göz irritasyonu, alerjik reaksiyonlar ve solunum problemleri gibi sağlık sorunlarıyla ilişkilendirildiği bildirilmektedir (Abel 2012).

Sentetik boyalar arasında yer alan azo boyaları, ekosistem bütünlüğünü tehdit eden başlıca kirleticilerden biri olarak değerlendirilmektedir. Doğal ekosistemlerde mikroorganizmalar, organik maddelerin ayrıştırılmasında ve madde döngüsünün sürdürülmesinde kritik rol oynamaktadır. Ancak azo boyalarının biyolojik olarak zor parçalanan yapıları, bu doğal süreçlerin işleyişini sekteye uğratmakta ve organik–inorganik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Doğal boyalar çevresel açıdan daha güvenli alternatifler sunmasına rağmen, endüstriyel uygulamalarda ekonomik ve teknik sınırlamalar nedeniyle yaygın olarak tercih edilememektedir (Abel 2012).

Bu nedenlerle son yıllarda, azo boya içeren atık suların çevreye zarar vermeden arıtılmasına yönelik biyolojik, kimyasal ve ileri oksidasyon temelli yöntemlere olan ilgi giderek artmaktadır. Azo boyalarının çevresel etkileri, sucul ekosistemlerde yol açtıkları biyokimyasal değişimler ve bu bileşiklere yönelik uluslararası düzenlemeler, sürdürülebilir çevre yönetimi açısından güncel ve önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır (Abel 2012; Islam 2023).

Congo Red: Yapısında iki adet azo (–N=N–) bağı bulunan, anyonik karakterde sentetik bir diazo boyası olup özellikle tekstil endüstrisinde ve laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 3). Ayrıca histopatolojik çalışmalarda, amiloid fibrillerinin tanımlanmasında kullanılan klasik bir boyama ajanı olarak da bilinmektedir. Bununla birlikte, endüstriyel kullanımı sonucunda atık sulara karışan Congo Red (CR), çevresel ve toksikolojik açıdan önemli riskler barındırmaktadır (Z. Zhang *et al.* 2018).



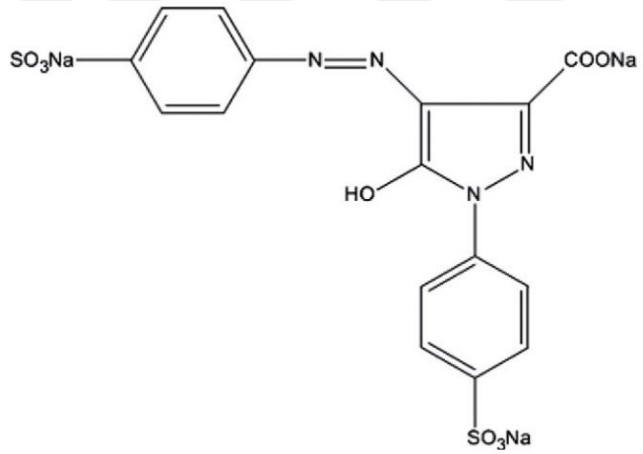
Şekil 3. Congo Red boyasının moleküler yapısı (Clavijo and Osma 2019)

CR içeren atık sulara uzun süreli maruziyetin, karaciğer fonksiyonları ve hematopoetik sistem üzerinde olumsuz etkilere yol açabildiği; mide bulantısı, kusma, ishal ve solunum güçlüğü gibi çeşitli klinik semptomlarla ilişkilendirildiği rapor edilmektedir. Ayrıca bu boyanın su ortamlarında kalıcı renklenmeye neden olduğu, ışık geçirgenliğini azaltarak fotosentetik

aktiviteyi baskıladığı ve sucul ekosistemlerin yapısal dengesini bozduğu bildirilmektedir (Manzoor *et al.* 2024; Sarim *et al.* 2019).

Yüksek moleküler kararlılığı ve biyolojik bozunmaya karşı dirençli yapısı nedeniyle CR içeren endüstriyel atık suların arıtımı, çevre mühendisliği açısından önemli ve çözümü zor problemler arasında yer almaktadır. Bu nedenle, CR ve benzeri azo boyalarının giderimine yönelik biyolojik, enzim temelli ve nanoteknolojik arıtma yaklaşımlarının geliştirilmesi son yıllarda yoğun biçimde araştırılmaktadır (Z. Zhang *et al.* 2018).

Tartrazin: Gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan sentetik bir sarı azo boya olup, moleküler yapısında bulunan azo bağı sayesinde yüksek renk yoğunluğu ve suda çözünürlük özelliği göstermektedir (Şekil 4). Endüstriyel kullanımı sırasında atık sulara karışabilen Tartrazinin (TZ), biyolojik bozunmaya karşı dirençli olduğu ve sucul ortamlarda çözünmüş oksijen seviyelerini düşürerek fotosentetik organizmaların gelişimini olumsuz etkileyebildiği bildirilmektedir (Micheletti *et al.* 2023).

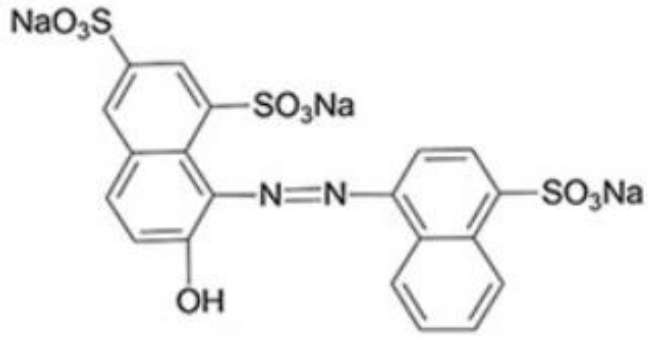


Şekil 4. Tartrazin boyasının moleküler yapısı (Rovina, Siddiquee, and Shaarani 2017)

TZ bazı hassas bireylerde alerjik reaksiyonlar, astım semptomları ve deri irritasyonlarına yol açabildiği; ayrıca mikrobiyal indirgenme sonucu açığa çıkan aromatik aminlerin potansiyel toksik ve mutajenik özellikler taşıdığı ifade edilmektedir. Bu nedenle TZ'nin kullanımı yasal sınırlar çerçevesinde düzenlenmekte ve çevresel etkilerinin azaltılmasına yönelik biyolojik ve ileri oksidasyon temelli arıtma yöntemleri önerilmektedir (Leulescu *et al.* 2018).

Ponceau 4R: gıda endüstrisinde çeşitli ürünlere kırmızı renk kazandırmak amacıyla kullanılan sentetik bir azo boyasıdır (Şekil 5). Alkollü ve alkolsüz içecekler, şekerlemeler, tatlılar, süt ürünleri ve fırıncılık ürünleri gibi birçok gıdada kullanım alanı bulunmaktadır. Ancak bu boyanın aşırı ve kontrolsüz kullanımının potansiyel sağlık riskleri nedeniyle, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından kabul edilebilir günlük alım dozu yeniden

değerlendirilmiş ve vücut ağırlığına göre 4 mg/kg'dan 0,7 mg/kg'a düşürülmüştür (Chanlon *et al.* 2005).



Şekil 5. Ponceau 4R boyasının moleküler yapısı (Kara *et al.* 2025)

Bazı ülkelerde Ponceau 4R'nin (P4R) kullanımının sınırlandırıldığı veya yasaklandığı bildirilmektedir. Bu durum, azo boyalarının insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkilerinin daha sıkı şekilde denetlenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Sayar and Özdemir 1998).

Fotokatalitik Boya Giderimi

Fotokatalitik boya giderimi, özellikle sentetik boyaların atık sulardan uzaklaştırılmasında kullanılan ileri bir oksidasyon yöntemidir. Endüstriyel atık sulardan su kütlelerine deşarj edilen boyaların giderilmesi, su canlıları üzerindeki zararlı etkileri ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel kanserojen etkileri nedeniyle hayati önem taşımaktadır. Boya giderimi için çeşitli yöntemler kullanılmakta, ancak bunlar genellikle boyaları tamamen parçalamada ve büyük miktarlarda askıda katı madde üretmede yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, minimum atık emisyonuyla tam boya bozunumu sağlayabilen verimli bir işleme kritik önem taşımaktadır. Geleneksel su arıtma yaklaşımları arasında fotokataliz, atık suda bulunan çeşitli toksik ve organik kirleticilerin parçalanması için umut vadeden bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Khan *et al.* 2024; Rochkind, Pasternak, and Paz 2014).

Boyaların kimyasal yapısını tamamen parçalayabilir, sadece renk gidermeye değil aynı zamanda toksisiteyi azaltmaya da yöneliktir. Metal veya organik kirleticilerle birlikte çalışabilir; kompleks atık sular için uygundur. Yüksek verim ve nispeten düşük enerji gereksinimi ile çevre dostu bir yöntemdir. Ancak yöntemin etkinliği, fotokatalizörün yüzey alanı, ışık kaynağının dalga boyu, pH, boya konsantrasyonu ve suyun içerdiği diğer maddelere bağlıdır. Ayrıca, geniş ölçekli uygulamalarda fotokatalizörlerin geri kazanımı ve maliyeti, yöntemin uygulanabilirliğini etkileyen önemli faktörlerdir. Bu sayede sentetik azo, antrakinon ve disper boyalar gibi dayanıklı boya grupları, yüksek mineralizasyon verimi ile atık sulardan uzaklaştırılabilmektedir (H. Kumari *et al.* 2023; Nazri and Sapawe 2020; Saeed *et al.* 2022).

Fitoremediasyon

Fitoremediasyon, bitkilerin ve ilgili mikroplarının çevre temizliği için kullanılmasıdır. Kirlenmiş topraklar ve sular, gelişmekte olan Fitoremediasyon teknolojisiyle kısmen çözülebilecek önemli bir çevre ve insan sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Bu uygun maliyetli bitki bazlı iyileştirme yaklaşımı, bitkilerin çevreden gelen elementleri ve bileşikleri yoğunlaştırma ve dokularında çeşitli molekülleri metabolize etme konusundaki olağanüstü yeteneğinden yararlanılmaktadır. Toksik ağır metaller ve organik kirleticiler, fitoremediasyonun başlıca hedefleridir (Salt, Smith, and Raskin 1998). Bu teknoloji, bitkilerin ve mikrobiyal rizosfer florasının organik ve inorganik kirleticileri parçaladığı ve hapsettiği doğal olarak oluşan süreçlerden yararlanır. Fitoremediasyon, çeşitli organik ve inorganik kirleticiler için etkili bir temizleme teknolojisidir. Çevredeki organik kirleticiler çoğunlukla insan yapımıdır ve organizmalar için ksenobiyotiktir. Birçoğu toksiktir, bazıları kanserojendir. Organik kirleticiler çevreye dökülmeler (yakıt, çözücüler), askeri faaliyetler (patlayıcılar, kimyasal silahlar), tarım (pestisitler, herbisitler), endüstri (kimyasal, petrokimyasal), ahşap işleme vb. yoluyla salınmaktadır. Özelliklerine bağlı olarak, organikler bitkilerin kök bölgesinde parçalanabilir veya alınabilir, ardından parçalanma, hapsedilme veya buharlaşma izlenebilmektedir. Fitoremediasyon uygulanmış organik kirleticiler arasında trikloroetilen (TCE) (yeraltı suyunun en yaygın kirleticisi), gibi herbisitler, trinitrotoluen (TNT) gibi patlayıcılar, yağ, benzin, benzen, toluen ve Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH'lar) gibi petrol hidrokarbonları polisiklik aromatik hidrokarbon, yakıt katkı maddesi MTBE metil tersiyer butil eter, ve poliklorlu bifeniller (PCB'ler) bulunmaktadır (Rochkind, Pasternak, and Paz 2014; Salt *et al.* 1995; Salt, Smith, and Raskin 1998).

Fenton reaksyonu

Belediye ve endüstriyel atık sular, çevresel etki ve su kaynaklarının sürdürülebilir kullanımıyla ilişkili olarak giderek daha önemli sorunlar oluşturmaktadır. Özellikle birçok endüstriyel faaliyet, arıtımı ileri ve uyarlanmış teknolojiler gerektiren tehlikeli, toksik ve biyolojik olarak parçalanmaya dirençli kirleticiler içeren atık suların oluşumuna yol açmaktadır. Giderek daha sıkı hâle gelen su kalitesi yönetmelikleri, mevcut su arıtma teknolojilerinin geliştirilmesini ve atık sularda bulunan dirençli organik bileşiklerle başa çıkabilen yeni, etkin ve ekonomik proseslerin uygulanmasını zorunlu kılmaktadır (Pliego *et al.* 2015). Bu kapsamda Fenton reaksiyonu, çevresel ortamlardan tehlikeli maddelerin uzaklaştırılmasını hedefleyen ve İOP olarak tanımlanan kimyasal yöntemler arasında en yaygın kullanılan ve temsil gücü yüksek yaklaşımlardan biri olarak değerlendirilmektedir (Xu, Wu, and Zhou 2020). Klasik Fenton prosesinin etkinliği, Fe^{3+} iyonlarının katalitik döngü içerisinde Fe^{2+} formuna indirgenme hızına

önemli ölçüde bağlı olmaktadır. Bu sınırlayıcı basamağın iyileştirilmesine yönelik olarak geliştirilen yeni yaklaşımlar, $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ dönüşümünün reaksiyon ortamında daha verimli biçimde gerçekleşmesini sağlamaktadır.

H_2O_2 ile UV ışığının birlikte kullanıldığı ve Fe^{2+} veya Fe^{3+} oksalat komplekslerinin sisteme dâhil edildiği foto-Fenton (PF) prosesi, klasik Fenton yöntemine kıyasla daha yüksek miktarda hidroksil radikali (•OH) üretimi sağlamaktadır. Fenton reaksiyonu sonucunda oluşan Fe^{3+} iyonları, asidik pH aralığında (yaklaşık 2,8-3,5) hidroksillenmiş demir kompleksleri hâlinde bulunmakta; foto-Fenton sürecinde ise bu Fe^{3+} türleri fotoredüksiyon mekanizmasıyla yeniden Fe^{2+} formuna dönüştürülerek katalitik döngünün sürekliliği sağlanmaktadır. Bu özellik, foto-Fenton prosesinin yüksek bozundurma verimine sahip olmasının temel nedenleri arasında gösterilmektedir.

Son yıllarda hidroksil radikali üretimine dayanan ileri oksidasyon proseslerinin, sudaki çok çeşitli organik kirleticilerin giderimi ve mineralizasyonu için başarıyla uygulandığı bildirilmektedir. Hidrojen peroksit ve demir tuzlarının kullanıldığı Fenton prosesi, farklı özelliklere sahip çok sayıda kirleticinin etkin şekilde yok edilmesinde kanıtlanmış performansı nedeniyle, çeşitli endüstriyel ve kentsel atık su türlerine uygulanabilirliği en yüksek İOP'lerden biri olarak kabul edilmektedir (Pliego *et al.* 2015; Zepp, Faust, and Hoigne 1992).

Antimikrobiyal Aktivite

Günümüzde çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu tedavi başarısızlıklarının artması, antimikrobiyal aktivite çalışmalarını halk sağlığı açısından küresel ölçekte önemli bir araştırma alanı hâline getirmektedir (Guschin *et al.* 2015). Antimikrobiyal direnç (AMR), bulaşıcı hastalıkların tedavisini giderek zorlaştırmakta ve mevcut antibiyotiklerin etkinliğini sınırlamaktadır. Bu durum, yeni ve etkili antimikrobiyal ajanların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Doğal ürünler, günümüzde hâlâ yeni ilaç moleküllerinin keşfinde temel kaynaklardan biri olarak değerlendirilmektedir. Prokaryotik bakteriler, ökaryotik mikroorganizmalar, bitkiler ve çeşitli hayvansal organizmalardan elde edilen biyolojik bileşiklerin, bugüne kadar tanımlanan antimikrobiyal ajanların büyük bir bölümünü oluşturduğu bildirilmektedir (Newman and Cragg 2020). Bunun yanı sıra, laboratuvar ortamında tasarlanan sentetik antimikrobiyal bileşiklerin de mikrobiyal enfeksiyonların kontrolünde önemli bir potansiyel sunduğu ifade edilmektedir.

Yeni antimikrobiyal adayların etkinliğinin ortaya konulabilmesi için uygun tarama ve değerlendirme yöntemlerinin kullanılması büyük önem taşımaktadır. *In vitro* antimikrobiyal

analizler, aday bileşiklerin etkililiklerinin ve etki mekanizmalarının belirlenmesinde temel araçlar olarak kullanılmaktadır. Bu analizlerin doğru ve sistematik şekilde uygulanması, potansiyel antimikrobiyal ajanların daha verimli biçimde seçilmesine olanak tanımaktadır.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon ve broth seyreltme yöntemleri gibi geleneksel teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin zaman alıcı olması ve tekrarlanabilirlik açısından sınırlamalar içermesi, yeni teknolojilerin geliştirilmesini gündeme getirmiştir. Akış sitometrisi, biyolüminesans temelli analizler ve empedans ölçüm teknikleri gibi modern yaklaşımlar, daha yüksek hassasiyet ve hızlı sonuç elde edilmesini mümkün kılmaktadır. Buna karşın, bu ileri yöntemlerin maliyetlerinin yüksek olması ve teknik altyapı gereksinimleri nedeniyle her laboratuvarda uygulanabilir olmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle, hem doğal hem de sentetik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesinde kullanılan *in vitro* yöntemlerin kapsamlı biçimde ele alınması, AMR ile mücadele stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Hossain 2024).

Nanopartikül destekli antimikrobiyal aktivite

NP'nin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel özellikler gösterdiği görülmektedir (Wang, Hu, and Shao 2017).

NP'lerin antibiyotiklere alternatif olarak değerlendirilmesinin temel nedeni, belirli durumlarda mikrobiyal ilaç direncini etkili bir şekilde önleyebilmeleridir. Antibiyotiklerin yaygın kullanımı, mevcut hiçbir ilaca yanıt vermeyen süper bakteriler ve tıbbın karşı koyamadığı salgınlar gibi halk sağlığı açısından çok sayıda tehlikenin ortaya çıkmasına yol açmaktadır. İlaç direnciyle mücadelede yeni ve etkili bakterisidal materyallerin araştırılması önemlidir ve NP'ler bu sorunu çözmek için umut verici bir yaklaşım olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak NP'ler bazı durumlarda bakteriyel direncin ortaya çıkmasını da teşvik edebilmektedir. NP'ler ile ilaca dirençli bakteriler arasındaki etkileşimlerin olumlu ve olumsuz yönlerini kontrol edilmelidir (Beyth *et al.* 2015; Mühling *et al.* 2009).

Yenidünya (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Meyvesi ve Çekirdeği

Yenidünya (*Eriobotrya japonica* Lindl.), Güney Çin'e özgü, subtropikal iklim koşullarında yetişen, herdem yeşil bir meyve ağacıdır (Şekil 6). Halk arasında Japon Eriği veya sarı erik olarak bilinen bu bitki, *Pomoideae* alt familyasına bağlı *Rosaceae* familyasının önemli bir üyesidir ve sahip olduğu yüksek tıbbi potansiyel nedeniyle dikkat çekmektedir (Costa *et al.* 2022). İnce sarı kabuklu, yumuşak çekirdekli ve nispeten yüksek nişasta içeriğine sahip olan yenidünya meyvesi, uzun yıllardır geleneksel kullanıma konu olmuştur. Çin'de 2000 yılı aşkın

süredir yetiştirilen bu tür, günümüzde dünya genelinde 30'dan fazla ülkede yaygın olarak tarımı yapılan bir meyve haline gelmiştir (Cai *et al.* 2019; Nancy, Shiratake, and Yamaki 1999).



Şekil 6. Yenidünya meyvesi

Yenidünya meyvesinin gelişimi iki temel safhada incelenmektedir. İlk safha, tohum ağırlığının hızla arttığı vejetatif dönemdir. İkinci safha ise tohum ağırlığındaki artışın durduğu, tohum kabuğu renginin belirginleştiği ve meyvenin olgunlaştığı dönemdir. Olgunlaşma sürecinde meyvenin etli kısmında önemli biyokimyasal değişimler meydana gelmekte; malik asit içeriği azalırken karotenoid miktarı artmakta ve meyve dokusunda yumuşama gözlemlenmektedir. Bu süreçte taze meyve ağırlığında artış ve hızlı bir şeker birikimi gerçekleşmektedir.

Olgunlaşmanın erken dönemlerinde etilen üretiminin artması, bu hormonun yenidünya meyvesinde erken olgunlaşmayı tetikleyici bir rol oynadığını düşündürmektedir. Genç meyvelerde baskın çözünür şeker sorbitol olup, meyve gelişiminin erken vejetatif dönemlerinde ve olgunlaşma sürecinde miktarı artmakta; ancak toplam şekerler içerisindeki oranı azalmaktadır. Meyvenin etli kısmındaki nişasta içeriği vejetatif dönemde azalmakta, olgunlaşma sırasında ise yeniden artış göstermektedir. Özellikle olgunlaşmanın erken evrelerinde şeker birikim hızı yükselmekte ve sakkaroz birikimi belirgin şekilde artmaktadır. Olgun meyvede en baskın şeker sakaroz olup, toplam şekerlerin yaklaşık %90'ının iki haftalık kısa bir süre içerisinde biriktiği bildirilmektedir. Bu şekerlerin büyük ölçüde meyve dışındaki dokulardan taşındığı ve ağaçtaki şeker metabolizmasının meyve kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Hırai 1980).

Tezin Amacı

Endüstriyel faaliyetler sonucu ortaya çıkan sentetik boyalar, yüksek kimyasal stabiliteleri nedeniyle çevrede uzun süre kalıcılık gösterebilmekte ve bu durum çevre ve insan sağlığı üzerinde ciddi toksik etkilere yol açmaktadır. Bu boyalar, özellikle sucul ortamlarda ışık geçirgenliğini azaltarak fotosentetik canlıların faaliyetlerini olumsuz etkilemektedir. Besin zinciri yoluyla dolaylı olarak karasal ekosistemdeki organizmalar üzerinde toksik etkiler

oluşturmaktadır. Ayrıca birçok sentetik boya ve bozunma ürünü toksik, mutajenik veya potansiyel olarak kanserojen özellikler sergileyerek tüm canlı grupları için önemli sağlık riskleri oluşturmaktadır. Son zamanlarda mevcut fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerinin yüksek maliyetli olmaları ve ikincil kirlilik riski taşımaları nedeniyle çevre dostu, sürdürülebilir ve etkin alternatif arıtım yaklaşımlarına duyulan ihtiyaç artırmaktadır. Bu nedenle bu çalışma kapsamında, yenidünya (*Eriobotrya japonica*) meyve çekirdeği atığı büyüme ortamında kullanılarak *P. pasinlerensis* P1 suşunun ekstraselüler katalaz, peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerini üretmesi ve bu enzimler kullanılarak sentezlenen Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal ve fotokatalitik boya giderimi etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu bağlamda tarımsal atık niteliğinde olan ve fenolik bileşikler, flavonoidler ve antioksidan maddeler açısından zengin bir atık olan yenidünya (*Eriobotrya japonica*) meyvesi çekirdeği karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu zengin içeriklere sahip olan kültür ortamı kullanılarak POD, CAT ve PPO enzimlerinin üretimi tek seferde bir faktör yaklaşımı (OFAT) ile inkübasyon süresi (24-120sa), atık miktarı (20-50g/L), sıcaklık (30-70 ^oC), pH (5-12) ve çalkalama hızı (110-140 rpm) değişkenleri yönünden optimize edilmiştir. Üretilen enzimlerin homojenatları indirgeyici ajan olarak kullanılmış ve yeşil sentez yöntemi ile Ni_2O-NP'leri sentezlenmiştir. Üretilen enzim bağlı Ni_2O-NP'leri kullanılarak dokuz patojen tür üzerinde antimikrobiyal etkisinin gözlemlenmesi ve çevresel kirlilik için risk teşkil eden üç azo grubu boyanın fotokatalitik yöntem ile giderimi denenmiştir. Bu çalışma, biyoteknolojik olarak üretilen antioksidatif enzimlerin Ni_2O-NP sentezinde kullanılabilirliğini ortaya koyma, tarımsal atıkların yeniden değerlendirilmesini sağlama ve çevre dostu nanoteknolojik yaklaşımlar geliştirebilme noktasında elde edilen sonuçlarla, bu alanda daha fazla araştırmaya duyulan ihtiyacın önemi vurgulamaktadır.

KURAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR

Nanoteknoloji, savunma sanayi, endüstri, tıp, malzeme bilimi ve çevre mühendisliği gibi pek çok alanda hızla gelişen, disiplinlerarası bir araştırma ve uygulama alanı olarak öne çıkmaktadır. Ergül ve Çakır (2023), nanoteknolojinin farklı sektörlerdeki uygulamalarını kapsamlı biçimde ele almış; bu teknolojinin üretim, araştırma ve sanayi entegrasyonu ile birleştiğinde geleceğin en stratejik alanlarından biri olduğunu vurgulamıştır.

Nanomalzemelerin çevresel uygulamalardaki potansiyeli, özellikle su, toprak ve hava arıtımı bağlamında yoğun şekilde araştırılmaktadır. Guerra ve arkadaşları (2018), inorganik, karbon bazlı ve polimerik nanomalzemelerin çevresel arıtımdaki rollerini incelemiş; nano-ölçekli malzemelerin yüksek yüzey/hacim oranı ve artmış reaktiviteleri sayesinde ağır metaller, boya maddeleri, organik ve toksik kirleticilerin geleneksel yöntemlere kıyasla daha etkin şekilde giderilebildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Qu ve arkadaşları (2013), nanoadsorbentler, nanomembranlar ve nano-fotokatalizörlerin su ve atıksu arıtımındaki kullanımını değerlendirerek, nano tabanlı tekniklerin laboratuvar ve pilot ölçek çalışmalarında yüksek verim, çok işlevsellik ve görece düşük maliyet avantajı sunduğunu ortaya koymuştur. Nanoteknolojinin gıda ve sağlık alanındaki uygulamaları da önemli bir araştırma konusu oluşturmaktadır. Selvakumar ve arkadaşları (2024), nanomalzemelerin gıda güvenliği, ambalaj, raf ömrü uzatma, nanosensör tabanlı kalite kontrol sistemleri ile sağlık alanında hedefe yönelik ilaç taşıma, tanı, görüntüleme ve kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarına sağladığı katkıları raporlamıştır. Benzer biçimde Saka ve Gülel (2015), nanoteknolojinin gıda, tekstil, kozmetik, ilaç ve tarım sektörlerine entegrasyonunu incelemiş; özellikle gıda işleme, ambalaj, nano katkı maddeleri ve nanosensörlerin kalite ve güvenlik açısından önemli yenilikler sunduğunu vurgulamıştır. Nanoteknolojinin çevresel arıtım uygulamalarındaki rolü, son yıllarda yapılan derleme ve deneysel çalışmalarla daha da netleşmiştir. Tomar ve arkadaşları (2025), karbon temelli nanopartiküller, antibakteriyel nanopartiküller ve metal oksit nanomalzemelerin hava, su ve toprak kirliliğinin giderilmesindeki etkinliğini değerlendirerek, nanoteknolojinin geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşük maliyet, yüksek enerji verimliliği ve artmış arıtma etkinliği sunabileceğini belirtmiştir. Vázquez-Núñez ve arkadaşları (2020) ise nanomalzemelerin biyolojik ve kimyasal kirleticilerin parçalanması, toksinlerin giderilmesi ve atıksu arıtımında yüksek verim ve sürdürülebilirlik sağladığını raporlamaktadır. Aghalari ve arkadaşları (2021), çevre sağlığı alanında yayımlanan çalışmaların meta-analizini yaparak, nanoteknoloji uygulamalarının %82,5 oranında su kirliliği ve arıtımı, %11,3 oranında atıksu ve

%6,2 oranında hava kirliliği üzerine yoğunlaştığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, nanoteknolojinin özellikle su ve su kaynaklı çevresel problemlerin çözümünde merkezi bir rol üstlendiğini göstermektedir. Nanoteknolojinin gıda alanındaki uygulamalarının da çevresel ve biyolojik güvenlik açısından önem taşıdığı bildirilmektedir. Saka ve Gülel (2015) tarafından, nanogıda üretimi, nanoemülsiyonlar, fonksiyonel gıdalar ve kalite kontrol sistemleri ele alınmış; nanoteknolojinin raf ömrünün uzatılması, antimikrobiyal korumanın sağlanması, kontrollü besin salımı ve daha güvenli üretim süreçlerinin geliştirilmesi açısından önemli bir araç olduğu ifade edilmiştir. Nanomalzemelerin çevresel arıtımdaki kullanımlarının yalnızca su sistemleriyle sınırlı olmadığı ifade edilmektedir. Ibrahim ve arkadaşları (2016) tarafından, nanoteknolojinin hava, su ve toprak kirliliğinin gideriminde adsorpsiyon, fotokataliz ve filtrasyon gibi yöntemler aracılığıyla etkin biçimde uygulanabildiği ortaya konulmuştur. Bu yaklaşımların, geleneksel arıtma yöntemlerine kıyasla daha yenilikçi, etkili ve sürdürülebilir çözümler sunduğu; özellikle su arıtımı ve atmosferik kirleticilerin uzaklaştırılması açısından umut vadettiği belirtilmektedir.

Biyolojik temelli nanopartikül sentezi, sürdürülebilir ve çevre dostu bir yaklaşım olarak dikkat çekmektedir. (Gurunathan *et al.* 2009), mikroorganizmaların hücre yüzeyinde bulunan biyomoleküllerin metal iyonlarıyla etkileşimi sonucunda farklı geometrilere sahip NP'lerin sentezlenebildiğini göstermiştir. Özellikle *Escherichia coli* hücre duvarında bulunan proteinlerin, gümüş nitrat ve altın tuzları ile etkileşerek düzensiz ve üçgen benzeri morfolojilerde gümüş ve altın NP'lerinin oluşumunu desteklediği bildirilmiştir. NP'lerin çevresel sistemlerdeki davranışı ve potansiyel riskleri de araştırılmaktadır. Y. Yang ve arkadaşları (2013), AgNP, nano-ZnO, nano-TiO_2 ve nano sıfır değerlikli demirin (nZVI) atıksu arıtımı ve anaerobik sindirim sistemlerindeki etkilerini incelemiş; oksijen varlığının reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu açısından kritik olduğunu ve bazı NP'lerin metal iyonu salımı nedeniyle toksisite riski oluşturabileceğini bildirmektedir. Hasham (2018) ve Yaqoob ve arkadaşları (2020) ise metal ve metal oksit NP'lerin, nano-adsorbentler, nanomembranlar ve fotokatalitik materyaller olarak endüstriyel atıksu arıtımında etkili, ekonomik ve çevre dostu alternatifler sunduğunu vurgulamaktadır. Metal ve metal oksit NP'lerin, yüksek yüzey alanı, artmış reaktivite ve fonksiyonel çeşitlilikleri sayesinde çevresel uygulamalarda önemli avantajlar sunduğu bildirilmektedir. Z. Yang ve Shen (2025) tarafından yapılan çalışmada, bu NP'lerin su arıtımı, kirletici giderimi, adsorpsiyon ve kataliz gibi alanlardaki potansiyelleri ayrıntılı biçimde analiz edilmiştir. Bazı sınırlamalar arasında agregasyon eğilimi, toksisite endişeleri ve maliyet unsurları yer alsa da kirleticilerin gideriminde yüksek verim sağlandığı vurgulanmaktadır.

Miri ve arkadaşları (2022), biyosentez yöntemleri kullanılarak hazırlanan nikel oksit nanopartikülleri, XRD, FTIR ve FESEM gibi karakterizasyon teknikleriyle yapısal ve morfolojik özellikleri açısından ayrıntılı olarak değerlendirildikten sonra metilen mavisi model kirletici üzerinde fotokatalitik performans açısından test etmektedir. Fotodegradasyon deneylerinde zaman-bağımlı konsantrasyon değişimleri izlenmiş ve parçacıkların morfolojisi ile fotokatalitik etkinlik arasındaki ilişki incelenmektedir. Bulgular, biyolojik kaynaklı sentezin Ni_2O-NP NP'lerinin metilen mavisi gideriminde yüksek verim sağladığını ve özellikle parçacık boyutu ile yüzey yapısının performans üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir. Çalışmanın sonunda uygun sentez ve kalçinasyon protokollerinin fotokatalitik etkinliği önemli ölçüde artırdığı vurgulanmaktadır.

Yeşil sentez yaklaşımlarıyla elde edilen nikel oksit nanopartiküllerinin (NiO-NP NP'ler), hem çevresel hem de biyolojik uygulamalarda dikkat çekici sonuçlar sunduğu rapor edilmektedir. Sukumaran ve arkadaşları (2025) tarafından, yaprak ekstraktı kullanılarak çevre dostu bir yöntemle sentezlenen NiO-NP nanopartikülleri UV–Vis, FTIR, XRD ve SEM/TEM analizleriyle karakterize edilmiştir. Elde edilen NP'lerin antibakteriyel aktivite gösterdiği ve metilen mavisi gibi model boyaların fotokatalitik bozunmasında yüksek performans sergilediği belirtilmektedir. Bu bulgular doğrultusunda, bitki ekstraktlarının indirgeme ve stabilizasyon ajanı olarak etkili biçimde görev yaptığı ifade edilmektedir. Sagadevan ve arkadaşları (2023), bitkilerden mikroorganizmalara uzanan çeşitli biyolojik kaynaklarla gerçekleştirilen yeşil sentez yöntemlerini bir araya getirerek nikel oksit nanopartiküllerinin üretim süreçlerini, kullanılan karakterizasyon tekniklerini ve uygulama alanlarını bütüncül bir çerçevede özetlemektedir. İncelenen çalışmalarda fotokatalitik bozunma deneylerinin metilen mavisi, congo red veya AO7 gibi boyalarla yürütüldüğü; adsorpsiyon kinetiklerinin ise Langmuir ve Freundlich modelleri üzerinden değerlendirildiği görülmektedir. Ayrıca disk difüzyon ve MIC gibi antimikrobiyal testlerin biyolojik sentezli NiO-NP nanopartiküllerinin biyolojik etkinliklerini belirlemede yaygın biçimde kullanıldığı belirtilmektedir. Sonuç olarak yeşil sentezle elde edilen NiO-NP yapıların boya giderimi ve su arıtımı gibi çevresel uygulamalarda yüksek verim sunduğunu ve karakterizasyon bulgularıyla uygulama performansları arasında güçlü bir ilişki bulunduğunu ortaya koymaktadır. Balto ve arkadaşları (2023), *Salvadora persica* bitkisinin köklerinden elde edilen ekstrakt kullanılarak nikel oksit nanopartikülleri biyosentez yoluyla hazırlanmış ve oluşan yapılar UV–Vis analizinde belirgin bir absorpsiyon tepe değeriyle doğrulanmaktadır. XRD sonuçları kristal yapının oluştuğunu ortaya koyarken, SEM ve EDX incelemeleri parçacıkların morfolojisini ve elementel bileşimini net bir şekilde göstermektedir. Elde edilen nanopartiküller çeşitli ağız içi patojenlere karşı antimikrobiyal testlere tabi tutulmuş ve ölçülen optik özelliklerle birlikte partikül boyut analizleri

değerlendirilmiştir. Çalışmada biyosentezle hazırlanan NiO-NP nanopartiküllerinin yaklaşık 334 nm karakteristik bir optik sinyal verdiği ve test edilen oral bakteriler üzerinde anlamlı düzeyde inhibitör etki gösterdiği sonucuna ulaşıldığı belirtilmektedir. Jayakumar ve arkadaşları (2017), nikel oksit nanopartikülleri çalışmada kimyasal ya da bitki ekstraktına dayalı yeşil sentez yöntemleriyle hazırlanmış ve elde edilen yapılar FE-SEM görüntüleriyle morfolojisi, XRD ile kristal fazı, FTIR ile fonksiyonel grupları ve EDAX analiziyle elementel bileşimi doğrulanarak kapsamlı biçimde karakterize edilmektedir. Fotokatalitik performansı değerlendirmek için metilen mavisi model boya olarak kullanılmış, ışık altında zamanla boya konsantrasyonundaki azalma izlenerek parçacıkların bozundurma kapasitesi belirlenmiştir. Bulgular, NiO-NP nanopartiküllerinin metilen mavisinin fotodegradasyonunda yüksek etkinlik gösterdiğini ve özellikle yüzey özellikleri ile morfolojik yapının fotokatalitik verimi doğrudan etkilediğini ortaya koymaktadır. Çalışmanın sonunda, NiO-NP'nin bu tür organik boyaların gideriminde etkili bir fotokatalizör olarak değerlendirilebileceği belirtilmektedir. Sus ve arkadaşları (2024), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, lignoselülozik atıklardan izole edilen lignin peroksidaz enziminin metal iyonlarını indirgeme kapasitesi sistematik olarak değerlendirilmiştir. Enzim, Cu^{2+} içeren reaksiyon ortamına doğrudan ilave edilerek tamamen kimyasal indirgeyici içermeyen bir sentez yaklaşımı uygulanmıştır. Reaksiyon pH'ı ve enzim miktarı optimize edildiğinde, peroksidazın Cu^{2+} iyonlarını hızlı bir şekilde Cu^{0} formuna indirgediği, nükleasyon sürecini düzenlediği ve küresel morfolojiye sahip, dar boyut dağılımlı bakır nanopartiküllerinin oluşumunu sağladığı rapor edilmiştir. UV–Vis, FTIR ve XRD analizleri sentezin başarılı ve stabil olduğunu ortaya koymuş; enzim kökenli organik yapının metal çekirdeği çevreleyerek kolloidal kararlılığı artırdığı belirtilmiştir.

Zarenezhad ve arkadaşları (2022), farklı araştırmalarda kullanılan kimyasal ve yeşil sentez yaklaşımları karşılaştırılmış; XRD, TEM, FTIR ve ZETA potansiyeli gibi karakterizasyon teknikleri ile elde edilen veriler bütüncül biçimde değerlendirmektedirler. İncelenen yayınlarda antimikrobiyal etkiyi belirlemek amacıyla disk difüzyon, minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) testlerinin yaygın olarak kullanıldığı, fotokatalitik uygulamalarda ise metilen mavisi ve methyl orange gibi model boyaların tercih edildiği belirtilmektedir. Derlemede, biyolojik yöntemlerle hazırlanan Ni ve NiO-NP nanopartiküllerinin belirgin antimikrobiyal potansiyel taşıdığı, özellikle yaklaşık 50 nm boyutundaki Ni nanopartiküllerinin MRSA gibi dirençli patojenler üzerinde anlamlı inhibisyon sağladığı ifade edilmektedir. Ayrıca, yüzey modifikasyonlarının nanopartikül etkinliğini artırdığı, buna karşılık biyolojik sentez ürünlerinin toksisite etkinlik dengesinin daha kapsamlı biçimde araştırılması gerektiği vurgulanmaktadır. Ngcongco ve arkadaşları (2023), tarafından yürütülen çalışmada, doğal moleküllerin peroksidaz benzeri katalitik davranışının

metal iyonu indirgeme sürecine katkısı araştırılmıştır. Biyokatalizörlerin Ag^+ iyonlarıyla etkileşime sokulmasıyla tek aşamalı bir dönüşüm sistemi oluşturulmuş; biyolojik yapıların oksidoredüksiyon döngüsünde elektron taşıyıcı gibi davrandığı ve nükleasyon aşamasında metal çekirdeğinin hızlı oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Kinetik analizler, reaksiyon hızının biyokatalizöre bağlı olarak arttığını ortaya koymuş; elde edilen nanopartiküllerin nanozyme-benzeri katalitik aktivite sergilediği rapor edilmiştir. Bu bulgular, enzimatik ve enzim benzeri süreçlerin enerji verimli ve seçici sentez yaklaşımları sunduğunu göstermektedir.

Lazim ve arkadaşları (2025), çalışmada nikel oksit nanopartikülleri farklı ısıl işlem ve kalçinasyon sıcaklıklarında hazırlanarak, kristal büyüklüğü, optik bant aralığı ve yüzey özelliklerinde meydana gelen değişimler XRD, UV–Vis ve TEM gibi yöntemlerle ayrıntılı biçimde karşılaştırılmıştır. Elde edilen örneklerin fotokatalitik ve genel katalitik performansları değerlendirilmiş; özellikle sıcaklık değişimlerinin parçacık boyutu, kristal düzeni ve optik özellikler üzerindeki etkisinin uygulama verimine nasıl yansıdığı incelenmektedir. Sonuçlar, ısıl işlem parametrelerinin NiO-NP nanopartiküllerinin yapısal ve elektronik özelliklerini doğrudan belirlediğini ve bu değişimlerin fotokatalitik aktivite üzerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çalışma, uygun ısıl işlem koşullarının seçilmesiyle nanopartikül performansının belirgin biçimde artırılabileceğini ve sentez parametrelerinin uygulama başarısında kritik bir etken olduğunu vurgulamaktadır.

Rao ve Tang (2017), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Eriobotrya japonica* tohum ekstraktının çevre dostu bir indirgeme ajanı olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Kimyasal redüktan ve stabilizatörler kullanılmadan gerçekleştirilen sentez sürecinde, sulu tohum ekstraktının Ag^+ iyonlarını kısa sürede indirgediği ve reaksiyonun karakteristik renk değişimi ile doğrulandığı belirtilmiştir. TEM, SEM, XRD ve DLS analizleri sonucunda, elde edilen gümüş nanopartiküllerinin geniş boyut dağılımı gösteren, ortalama yaklaşık 25 nm çapında, küresel yapıda olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca biyojenik AgNP'lerin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı belirgin antibakteriyel aktivite sergilediği; bu etkinliğin, tohum ekstraktındaki organik bileşenlerin nanopartikül yüzeyini kaplamasıyla ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Chabuck ve arkadaşları (2025), tarafından yapılan çalışmada, *E. japonica* tohum ekstraktı biyolojik indirgeme ve kaplama ajanı olarak kullanılarak gümüş nanopartiküllerinin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. UV–Vis spektroskopisi, XRD ve SEM analizleri, ekstrakt aracılı sentezin AgNP oluşumunu başarıyla sağladığını doğrulamıştır. Farklı konsantrasyonlarda elde edilen nanopartiküllerin antibakteriyel etkileri değerlendirilmiş; yüksek konsantrasyonlarda elde edilen AgNP'lerin *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarına karşı belirgin inhibisyon zonları oluşturduğu rapor edilmiştir. Ayrıca tohum ekstraktının tek başına sınırlı

antibakteriyel etki gösterdiği, nanopartikül sentezinin bu biyolojik etkinliği anlamlı biçimde artırdığı belirtilmiştir.

Hafshejani ve arkadaşları (2018), tarafından yürütülen çalışmada, Ni ve $Ni(OH)_2$ nanopartiküllerinin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel potansiyeli incelenmiştir. DLS, SEM, AFM ve ATR analizleriyle karakterize edilen nanopartiküllerin, *E. coli* ve *S. aureus* suşları üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği; NiO-NP'lerinin $Ni(OH)_2$ nanopartiküllerine kıyasla daha güçlü antibakteriyel aktivite sergilediği rapor edilmiştir. Klinik dirençli suşlar üzerindeki etkinlikleri göz önüne alındığında, bu yapıların potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak değerlendirilebileceği ifade edilmiştir. Nagoth ve arkadaşları (2024), tarafından Antarktika kökenli bakteri konsorsiyumlarından elde edilen biyomoleküller kullanılarak biyojenik nikel nanopartikülleri (NiO-NP) sentezlenmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin çoklu direnç gösteren Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ile bazı fungal suşlara karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği bildirilmiştir. Antimikrobiyal etkinliğin reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve Ni^{2+} iyon salınımı ile ilişkili olduğu; özellikle Gram-negatif bakterilerin daha yüksek duyarlılık gösterdiği rapor edilmiştir. Bulgular, biyojenik NiO-NP'lerin çevre dostu yöntemlerle üretilebileceğini ve antimikrobiyal uygulamalarda potansiyel sunduğunu ortaya koymaktadır. Said ve arkadaşları (2025), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, bitkisel ekstrakt kullanılarak nikel oksit nanopartiküllerinin (NiO-NP) yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. UV–Vis, XRD ve FTIR analizleriyle karakterize edilen nanopartiküllerin, test edilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ile fungal suşlar üzerinde konsantrasyona bağlı inhibisyon etkisi gösterdiği rapor edilmiştir. Yeşil sentez yaklaşımının çevre dostu ve ekonomik bir alternatif sunduğu vurgulanmıştır. Vahedi ve arkadaşları (2017), tarafından yapılan çalışmada, NiO-NP'lerinin *Staphylococcus epidermidis* klinik izolatları üzerindeki antibiyofilm potansiyeli değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan NiO-NP'lerin bazı koşullarda biofilm oluşumunu kısmen azalttığı, ancak planktonik hücreler için minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyonların saptanamadığı rapor edilmiştir. Bu durum, NiO-NP'lerin antibiyofilm etkisinin sınırlı olabileceğini göstermektedir. Garza-Cervantes ve arkadaşları (2019), tarafından gerçekleştirilen karşılaştırmalı çalışmada, Ni iyonları, Ni ve NiO-NP NP'lerinin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiş; Ni bazlı NP'lerin diğer metal nanopartiküllerine kıyasla daha düşük etkinlik sergilediği bildirilmiştir. Asghari ve arkadaşları (2022), tarafından yapılan çalışmada, Ni ve NiO-NP NP'lerinin *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antibakteriyel etkilerinin NP boyutu, morfolojisi ve suş özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir. Bazı Ni/NiO-NP NP örneklerinin antibakteriyel etki göstermediği; bu durumun nanopartikül özellikleri ve deneysel koşullarla ilişkili olduğu belirtilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Malzemeler ve Kimyasal Özellikleri

Tablo 3. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Cihaz	**Marka**
Buzdolabı (+4/-20°C)	Vestel
Çalkalamalı İnkübatör	Zhicheng
Çeker Ocak	Fume Hood Mikrotest
Dondurucu (-86°C)	Glacier Ultralow Freezer
Etüv	Redline by-Bınder
Hassas Terazi	Ohaus Pioneer
İnkübatör	Thermo Scientific Heratherm
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph
Mikropipet Takımı	Thermo Scientific ve Eppendorf
Otoklav	Hmc Hiramaya
pH Metre	Mettler Toledo FiveEasy Plus
Saf Su Cihazı	Mp Minipure
Santrifüj	Hettich Zentrifugen Mikro 220R
Spektrofotometre	Beckman Coulter DU 730
Steril Kabin	Telstar Bio-II-A
Su Banyosu	Memmert
Vortex	Fisons WhirliMixer
Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) spektrofotometre	BECKMAN COULTER
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Zeiss
X-Işını kırınımı (XRD) cihazı	PANalytical Empyrean
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR)spektrofotometre	Bruker VERTEX 70v
Jel Görüntüleme Sistemi	Vılber Lourmat-Quantum
Mikro Dalga Fırın	Beko
Kurutma dolabı	DIGITHEAT

Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Üretici Firmaları

Kimyasal	Firma
TSA (Tryptone Soya Agar)	Oxoid
TSB (Tryptone Soya Broth)	Oxoid
BHB (Brain Hearth Broth)	Thermo Scientific Heratherm
HCl	Sigma
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma
Etanol	Iso-Lab Chemicals
Congo Red	Sigma
Tartrazin	Sigma
Ponceau 4R	Sigma
Gallik Asit	Sigma
Guaiachol	Sigma
H_2O_2	Sigma

Çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanması

Tryptone Soya Agar (TSA): 40 g besiyeri 1000 mL distile suda çözdürüldükten sonra otoklavlandı (121°C'de 15 dk) ardından streil petrilere döküldü.

Tryptone Soya Broth (TSB): 0,9 g besiyeri 30 mL distile suda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürülerek 121°C'de 15 dk süre ile otoklavlandı.

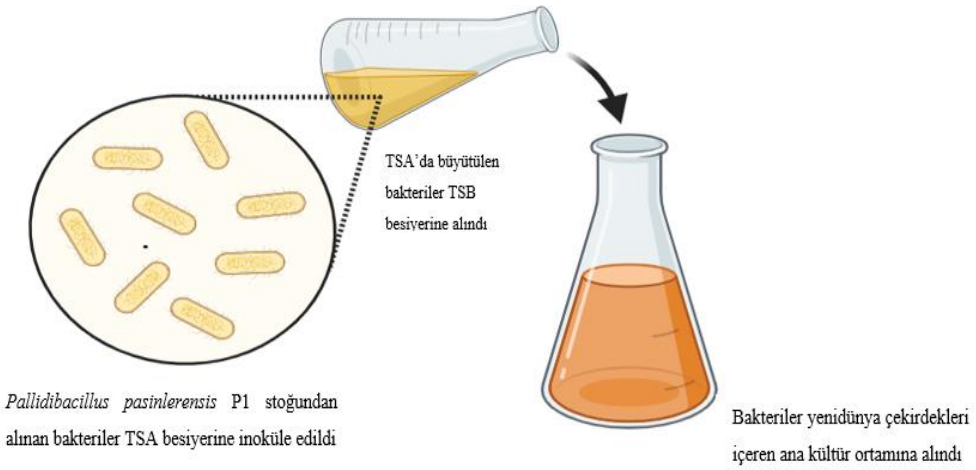
Kültür Ortamı Besiyeri Brain Hearth Broth (BHB): 0,327 g BHB besiyeri tartılarak 100 mL distile suda çözüldü ardından çalışmada kullanılacak olan yenidünya meyvesi (*E. japonica*) çekirdekleri de ortama eklendi ve ortam steril edilmek için (121°C'de 15dk) otoklavlandı.

Metot

Yenidünya meyve çekirdeklerinin toplanması ve hazırlanması

Çalışmada kullanılan yenidünya (*Eriobotrya japonica*) meyve çekirdekleri, örnekler arası farklılıkların en aza indirilmesi amacıyla Erzurum ilinde yerel bir manavdan temin edilmiştir. Herhangi bir ön muamele uygulanmadan çekirdekler en az üç defa saf su ile yıkanmış ve 105°C'de etüvde kurutulmuştur. Kurutma işleminin ardından çekirdekler laboratuvar tipi bir blender kullanılarak öğütülmüş ve elenerek istenilen partikül boyutundaki fraksiyonlar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Bakteri Kültürünün Hazırlanması



Şekil 7. Ana kültür ortamlarının hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 suşu, ilk olarak Türkiye'nin Erzurum ili Pasinler ilçesindeki kaplıcalardan izole edilmiş ve Baltaci ve arkadaşları (2020) tarafından 2020 yılında bilim dünyasına yeni bir tür olarak bildirilmiştir. Suşa ait 16S rRNA gen dizisi (MG768952) ve genom dizisi (GCA_009996845.1) NCBI GenBank veri tabanında kayıtlıdır. İlk tanımlamada *Bacillus pasinlerensis* olarak adlandırılan bakteri, daha sonra gerçekleştirilen detaylı filogenetik ve taksonomik değerlendirmeler sonucunda *Pallidibacillus pasinlerensis (P. pasinlerensis)* P1 suşu olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Çalışmada kullanılacak kültür, %20 (v/v) gliserol içeren stok çözeltilerine alınarak -80°C'de uzun süreli muhafazaya alınmıştır. Deney öncesi, soğukta muhafaza edilen bu bakteriden bir öze dolusu alınarak TSA besiyerinde üç defa pasajlanarak 55°C'de 24-48 saat büyütülmüştür. İnkübasyonun ardından TSB besiyerine inoküle edilmiş ve büyütülmüştür. Hücre çoğalması 600 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldükten sonra log fazına ulaşıldığında elde edilen hücre süspansiyonu inokulum olarak kullanılmıştır. Parçalanan yenidünya meyve çekirdekleri BHB besiyerinin içerisine eklenerek enzim üreticisi bakterinin bu atığı karbon kaynağı olarak kullanması amaçlanmıştır (Şekil 7).

Enzim Üretimi için Büyüme Parametrelerinin Optimizasyonu

Bu çalışmada, *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 suşunun, atık yenidünya çekirdeğinin substrat olarak kullanıldığı derin kültür koşullarında peroksidaz, katalaz ve polifenol oksidaz enzimlerini üretme potansiyeli araştırılmıştır. Optimum enzim üretimini sağlayan kültür koşullarının belirlenmesi amacıyla tek seferde bir faktör yaklaşımı (OFAT) uygulanarak inkübasyon süresi (24–120 sa), substrat miktarı (20–50 g/L), sıcaklık (30–70°C), pH (5–12) ve çalkalama hızı (110-140 rpm) parametreleri optimize edilmiştir (Elmetwalli *et al.* 2023).

Her bir optimizasyon aşaması sonunda enzim aktiviteleri doğrudan kültür ortamında ölçülmemiş, öncelikle hücreler santrifüjleme ile uzaklaştırılmış ve elde edilen hücresiz süpernatant, ekstraselüler enzim kaynağı olarak kullanılarak POD, CAT ve PPO enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

Peroksidaz enzim aktivite ölçümü

Peroksidaz enzim aktivitesi, guaiacol substratına karşı gösterilen katalitik etki referans alınarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. 100 mL NaH_2PO_4 (0,1 M ve pH 5.5) tampon içerisine guaiacol ve H_2O_2 (10 mM) eklenerek substrat çözeltisi hazırlanmıştır (Tablo 5).

İnkübasyon sonrası hücre uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen süpernatanttan 0,3 mL alınarak substrat çözeltisine eklenmiştir (0. dakika/ilk ölçüm). Üçer dakika aralıklarla üç ölçüm alınarak absorbans değişimi 470 nm dalga boyunda kontrol edilerek değerlendirilmiştir.

Tablo 5. Lignin Peroksidaz Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Reaksiyon Karışımı

Bileşen	Hacim	Açıklama
Enzim çözeltisi	0,3 mL	Supernatant
0,1 M NaH_2PO_4 tamponu (pH 5,5)	100 mL	Reaksiyon ortamının tamponlanması
Guaiacol	498 µL	Substrat
10 mM H_2O_2	100 µL	Oksidan / reaksiyon başlatıcı

Katalaz enzim aktivite ölçümü

Katalaz enzim aktivitesi, guaiacol substratına karşı gösterilen katalitik etki esas alınarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla, 100 mL KH_2PO_4 tamponu (0,05 M, pH 7,0) hazırlanmış ve guaiacol uygun hacimde bu tampon içerisinde çözündürülerek substrat çözeltisi elde edilmiştir (Tablo 6). 0,5 mL KH_2PO_4 tamponu, 0,5 mL H_2O_2 ve guaiacol tampon karışımından homojen şekilde 0,1 mL alınarak kör hazırlanmıştır. Ardından hazırlanan çözeltiden 1 mL alınarak kuvars küvete aktarılmıştır. Enzim aktivitesi ölçümleri için ise, inkübasyon sonrası hücrelerin uzaklaştırılmasıyla elde edilen bakteri kültür süpernatantından 0,5 mL alınmış, üzerine 0,5 mL H_2O_2ve 0,1 mL guaiacol-tampon çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışımdan 1 mL alınarak kuvars küvete aktarılmış ve örneklerin absorbans değişimleri 470 nm dalga boyunda ölçülerek katalaz aktivitesi değerlendirilmiştir.

Tablo 6. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü İçin Reaksiyon Karışımı

Bileşen	Hacim	Açıklama
Enzim çözeltisi	0,5 mL	Ekstraselüler enzim süspansiyonu
0,05 M KH_2PO_4 tamponu (pH 7,0)	0,5 mL	Reaksiyon ortamının tamponlanması
Guaiacol + tampon çözeltisi	0,1 mL	Substrat karışımı
10 mM H_2O_2	0,5 mL	Oksidan / reaksiyon başlatıcı

Polifenol oksidaz enzim aktivite ölçümü

Polifenol oksidaz enzim aktivitesi, gallik asit substratına karşı gösterilen katalitik etki referans alınarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Tablo 7). 100 mL NaH_2PO_4 (0,1 M ve pH 7,0) tamponu hazırlanmış ve bu tamponun 50 mL'lik kısmı gallik asit çözeltisinin hazırlanması için ayrılmıştır. Ayrılan tampon içerisine uygun miktarda gallik asit eklenerek substrat çözeltisi hazırlanmıştır. İnkübasyon sonrası hücreler santrifüjleme ile uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen süpernatanttan 0,25 mL alınarak, 0,5 mL gallik asit çözeltisi ve 0,25 mL fosfat tamponu ile karıştırılmıştır. Hazırlanan reaksiyon karışımı 37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır (0. dakika/ilk ölçüm). Üçer dakika aralıklarla üç ölçüm alınarak absorbans değişimi 420 nm dalga boyunda kontrol edilmiş ve enzim aktivitesi değerlendirilmiştir.

Tablo 7. Polifenol Oksidaz Enzim Aktivitesi Ölçüm Reaksiyon Karışımı

Bileşen	Hacim	Açıklama
Enzim çözeltisi	0,25 mL	Ekstraselüler enzim süspansiyonu
0.1 M NaH_2PO_4 tamponu (pH 7,0)	100 mL	Reaksiyon ortamının tamponlanması
Gallik asit	170 mg/L	Substrat / reaksiyon bileşeni
Saf su	250 µL	Toplam hacim ayarlaması için

Nikel Oksit Nanopartikül Sentezi

Bu çalışmada Ni_2O-NP'leri, biyolojik kökenli bileşenler kullanılarak çevre dostu bir yöntemle sentezlenmiştir. İndirgeme sürecinde peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve polifenol oksidaz (PPO) enzimlerini içeren biyolojik ortamdan yararlanılmış; nikel iyon kaynağı olarak nikel klorür ($NiCl_2$) tercih edilmiştir.

Sentez sürecinin ilk aşaması, kapalı bir damıtma sistemi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada $NiCl_2$ çözeltisi, enzim içeren biyolojik ortama kontrollü şekilde ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı, 50-60°C sıcaklık aralığında sabit tutulmuş ve yaklaşık 1 saat boyunca karıştırılarak nikel iyonlarının indirgenmesi sağlanmıştır. Damıtma sistemi kullanılması, reaksiyon ortamının kontrollü koşullarda ilerlemesine ve uçucu bileşen kayıplarının önlenmesine katkı sağlamıştır.

İlk aşamanın tamamlanmasının ardından reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutulmuş ve hidrotermal işlem için uygun hale getirilmiştir. Soğutulan sistem hidrotermal otoklav reaktörüne aktarılmış; bu aşamada reaksiyon ortamına indirgeme ve yapı düzenleyici ajanlar olarak askorbik asit ve üre eklenmiştir. Hidrotermal reaksiyon, 180-200°C sıcaklıkta en az 4 saat gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte Ni_2O-NP'lerinin oluşumu sağlanmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaktörün doğal koşullarda soğuması beklenmiştir.

Hidrotermal işlem sonrasında oluşan çökelti ayrılmış ve elde edilen NP'lerin pH değeri sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. Ardından Ni_2O-NP'leri, reaksiyon artıklarının uzaklaştırılması amacıyla birkaç kez saf su ile yıkanmış, sonrasında etanol ile durulama işlemi uygulanmıştır.

Son aşamada yıkanmış NP'ler, 50-60°C sıcaklıkta kurutularak karakterizasyon ve uygulama çalışmalarında kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.

Morfolojik özellikler taramalı elektron mikroskobu (SEM), kristal faz yapısı X-ışını Kırınımı (XRD), yüzeyde bulunan organik fonksiyonel gruplar Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FT-IR) analizleri ile incelenmiştir (Mutaf *et al.* 2023).

Nikel Oksit Nanopartikülün Karakterizasyonu

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Ni_2O-NP'lerin, kristal yapısı XRD, parçacık boyutu ve yüzey morfolojilerinin incelenmesi SEM ve yüzey kimyası FT-IR karakterizasyon analizleri Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DAYTAM) hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

X-ışını kırınımı (XRD)

XRD analizi sentezlenen NP'lerin faz tanımını, kristal yapı ve boyutunu, yapısal özelliklerini anlamak amacıyla yapılmaktadır (Sapsford *et al.* 2011). Toz haldeki Ni_2O-NP örneğinin difraksiyon verileri X-ışını difraksiyon cihazı ile (PANalytical/Empyrean) 2θ açısında toplanmıştır

Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM analizi, NP'lerin yüzey yapısı, şekli ve boyut morfolojisinin yüksek büyütmeli görüntüler aracılığıyla incelenmesini sağlamaktadır (Goldstein *et al.* 2017). Sentezlenen toz haldeki Ni_2O-NP örneği iletkenliği artırmak ve görüntü kalitesini iyileştirmek amacıyla yaklaşık 1-3 Å/s kaplama hızıyla toplam 5-10 nm kalınlığında ince bir altın (Au) tabakası ile kaplanmıştır. Bu ultra ince iletken tabaka, elektron birikimini önleyerek NP'lerin nanometre ölçeğinde daha net ve yüksek çözünürlüklü görüntülenmesine olanak sağlamıştır. Altın

kaplama işleminin ardından örneklerin SEM görüntüleri Zeiss Sigma 30 cihazı kullanılarak elde edilmiştir.

Fouirer Transform Infrared Spektrofotometre (FT-IR)

FTIR spektroskopisinin temel prensibi atomların titreşimi ve dönüşüne dayanır ve fonksiyonel grupların varlığını ve etkileşimlerini göstermektedir (Pasieczna-Patkowska, Cichy, and Flieger 2025). Analiz Bruker VERTEX 80/80v model FT-IR cihazı kullanılarak yapılmıştır.

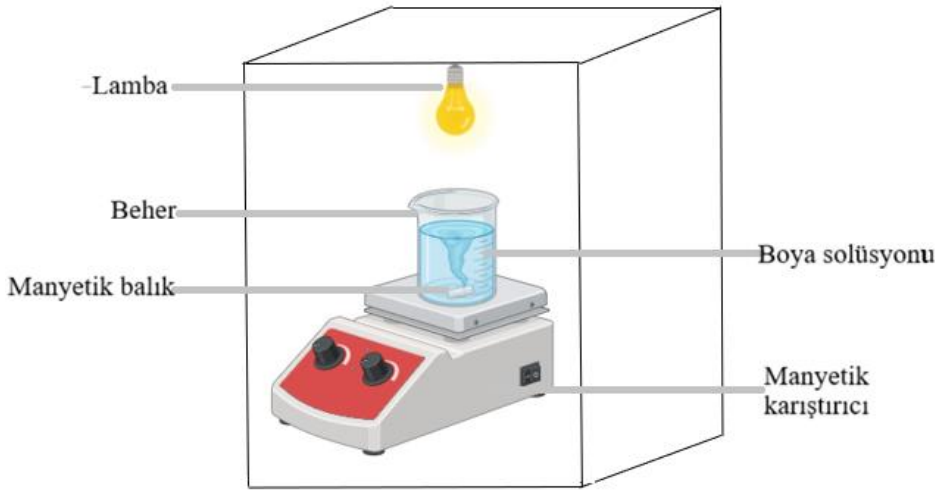
Fotokatalitik Boya Giderimi

Yeşil sentez ile elde edilen Ni_2O-NP ile ışık enerjisi kullanılarak boyaların kimyasal olarak parçalanması ve çevresel sulardan ya da atık sulardan uzaklaştırılması için reaksiyon ortamının üzerine ışık kaynağı yerleştirilerek boya giderim denemeleri yapılmıştır (Şekil 8). Yapılan denemelerde en uygun süre, pH, sıcaklık, boya konsantrasyonu ve NP miktarı belirlenmeye çalışılmış ve boya giderim yüzdeleri aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır (Şentürk 2024; Yıldız and Canbaz 2024).

Boya gideriminde kullanılacak olan Congo Red (CR), Tartrazin (TZ), Ponceau 4R (P4R) boyaları, 50 mg tartılıp 1000 ml saf suda çözdürülmüş ve her boya için ayrı ayrı stok çözeltiler hazırlanmıştır. İhtiyaç duyulduğunda çözeltilerin pH değeri, 1 M NaOH ve 1 M HCl ile ayarlanmıştır. Fenton reaksiyonunun gerçekleştirmek için analitik saflıktaki hidrojen peroksitin (H_2O_2) saf su ile % 30 (v/v) oranında çözeltisi hazırlanmıştır (Alayli, Nadaroglu, and Turgut 2021; Yıldız, Yavuz, and Tekdal 2024).

$$\%Boya\ Giderimi = \left[\frac{A_0 - A_t}{A_0}\right] \times 100$$

- A_0 = İlk absorbans
- A_t = Zaman içindeki absorbans



Şekil 8. Fotokatalitik boya giderimi deney düzeneği

Fotokatalitik Deney Koşullarının Belirlenmesi

Üç farklı enzimin bağlandığı Ni_2O-NP örnekleri ile CR, TZ ve P4R boyalarının fotokatalitik boya gideriminde optimum koşulların belirlenmesi amacı ile temas süresi, pH, sıcaklık, boya konsantrasyonu, NP miktarı ve H_2O_2 miktarı için ayrı ayrı denemeler yapılmış ve tüm deney ölçümleri Thermo Scientific Multiskan GO mikroplaka okuyucusu ile CR (495nm), TZ (427nm) ve P4R (510 nm) ölçülmüştür.

Nanopartikül temas süresi

Boyar maddeler için optimum temas süresinin belirlenmesi amacıyla, 0-240 dakika aralığında (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 210 ve 240 dakika) belirli zaman aralıklarında reaksiyondan örnekler alınarak analizler gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalarda, 50 mg/L konsantrasyonundaki CR, TZ ve P4R boyarmadde çözeltilerinden her birinden 25 mL alınarak, her birine 0,025 g Ni_2O-NP'leri ve 600 µL H_2O_2 eklenmiştir. Belirtilen sürelerde karışımdan 1 mL örnek alınarak santrifüjlenmiş (6000 rpm 10 dakika) ve süpernatant fazın absorbans değeri ölçülmüştür (Dhull *et al.* 2023).

pH Etkisi

Boyar maddeler için optimum pH değerinin belirlenmesi amacıyla, pH aralığı 2-9 (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9) arasında olacak şekilde deneysel çalışmalar yürütülmüştür. Her bir deney için, 50 mg/L derişimindeki CR, TZ ve P4R boyarmadde çözeltilerinden 25'er mL alınarak, her birine 0,025 g Ni_2O-NP'leri ve 600 µL H_2O_2 eklenmiştir. Deney süresince, belirtilen pH seviyelerindeki karışımlardan belirli zaman aralıklarında 1 mL örnek alınarak santrifüjlenmiş (6000 rpm 10 dakika) ve süpernatantın absorbans değeri ölçülmüştür (G. Singh *et al.* 2023).

Sıcaklık etkisi

Boyar maddeler için optimum sıcaklık değerinin belirlenmesi amacıyla, (30°C-70°C) aralığında belirli sıcaklıklarda (30, 40, 50, 60 ve 70°C) reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. 50 mg/L konsantrasyona sahip CR, TZ ve P4R boyarmadde çözeltilerinden her biri için 25'er mL örnek alınarak, her birine 0,025 g Ni_2O-NP'leri ve 600 µL H_2O_2 eklenmiş ve belirtilen sıcaklık değerleri uygulanmıştır. Deney süresince, belirlenen sıcaklıklarda karışımlardan 1 mL örnekler alınarak santrifüjlenmiş (6000 rpm 10 dakika) ve süpernatantın absorbans değeri ölçülmüştür (G. Singh *et al.* 2023).

Boyar madde konsantrasyonunun belirlenmesi

Boyar maddenin optimum konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla, farklı konsantrasyonlardaki boyarmadde çözeltileri sabit miktarda Ni_2O-NP'leri ile test edilmiştir. Bu kapsamda, 10, 50, 100 ve 150 mg/L derişimlerinde hazırlanan 25 mL hacmindeki boyarmadde çözeltilerine her biri için 0,025 g Ni_2O-NP'leri ve 600 µL H_2O_2 ilave edilerek deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Her bir boyar madde konsantrasyonundaki deneyler sonucunda, 1 mL örnek alınarak santrifüjlenmiş (6000 rpm 10 dakika) ve süpernatantın absorbans değeri ölçülmüştür(G. Singh *et al.* 2023).

Nanopartikül miktarının belirlenmesi

Ni_2O-NP miktarının boyar madde giderimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda Ni_2O-NP içeren deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, her biri 25 mL hacminde hazırlanan ve sabit boyar madde konsantrasyonu içeren çözeltilere sırasıyla 0,025, 0,050, 0,075 ve 0,100 g/L olacak şekilde Ni_2O-NP'leri ve 600 µL H_2O_2 eklenmiştir. Hazırlanan karışımlar, daha önce belirlenen optimum temas süresi, pH, sıcaklık ve boya konsantrasyonu koşullarında işleme tabi tutulmuştur. Deney sonunda, 6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenen karışımlardan alınan süpernatant örneklerinin absorbans değerleri ölçülmüş ve elde edilen veriler doğrultusunda optimum Ni_2O-NP miktarı belirlenmiştir (G. Singh *et al.* 2023).

H_2O_2 (Fenton Reaksiyonu) etki değerinin belirlenmesi

Deneysel çalışmalarda, boyar madde içeren çözeltilere ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) eklenerek reaksiyon düzeneği oluşturulmuştur. Optimum H_2O_2 konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla, her biri 25 mL hacminde hazırlanan boyar madde çözeltilerine 0,025 g Ni_2O-NP'leri ilave edilmiştir. Ardından, çözeltilere sırasıyla 75, 150, 300, 600 ve 1200 µL H_2O_2 eklenerek deneyler yürütülmüştür. Belirlenen optimum koşullar uygulanarak karışımlar

6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş; elde edilen süpernatanttan örnek alınarak boyar madde miktarı tayin edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, her bir boyar madde için optimum H_2O_2 konsantrasyonu belirlenmiştir (Alayli, Nadaroglu, and Turgut 2021)

Boyar maddeleri için optimum koşullarda boya giderim miktarının hesaplaması

Boyar maddeler için optimum koşullar belirlendikten sonra, bu koşullarda deneysel sistem kurularak boyar madde giderim miktarı hesaplanmıştır. Giderim verimi, başlangıç ve reaksiyon sonrası konsantrasyon dikkate alınarak hesaplanmıştır (Santhy and Selvapathy 2006).

$$\%Verim = \frac{C_0 - C_C}{C_0} \times 100$$

C_o = Başlangıç boya konsantrasyonu (mg/L)

C_c = Reaksiyon sonunda çözeltide kalan boya konsantrasyonu (mg/L)

Antimikrobiyal Aktivite

Bu çalışmada, nikel oksit nanopartiküllerinin (Ni_2O-NP) antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek amacıyla agar disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle, deneylerde kullanılacak nanopartikül konsantrasyonlarının hazırlanması aşamasına geçilmiştir. Sentezlenen Ni_2O-NP'lerinden 0,2 g alınarak 2 mL saf suda çözülmüş ve stok çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan stok çözeltiden %100, %75, %50 ve %25 olmak üzere dört farklı konsantrasyon oluşturulmuştur.

Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılacak bakteri suşları; *Enterococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* ve *Yersinia enterocolitica* olarak belirlenmiştir. Bu bakteriler TSA besiyerinde 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiş, ardından TSB ortamında 24 saatlik ön kültüre alınmıştır. Gelişen kültürler steril fizyolojik serum içerisinde süspanse edilerek inokulum yoğunluğu 0,5 McFarland standardına ayarlanmış ve böylece deneyler arasında kaynaklanabilecek yoğunluk farklılıkları minimize edilmiştir (Bauer *et al.* 1966).

Standartlaştırılan bakteri süspansiyonlarından 100 µL alınarak TSA plaklarının yüzeyine aktarılmış ve steril yayma çubuğu yardımıyla agar yüzeyine homojen şekilde dağıtılmıştır. Plaka yüzeyinin kurumasını takiben, steril kâğıt diskler hazırlanmış olan Ni_2O-NP konsantrasyonlarından 15 µL ile emdirilerek agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Her plaka üzerine, test disklerine ek olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için uygun

antibiyotikleri içeren pozitif kontrol diskleri ile saf su içeren çözücü kontrol diski de eklenmiştir.

Disk yerleştirme işleminin ardından plaklar, NP'lerin agar ortamına difüzyonunu sağlamak amacıyla 15-20 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş, daha sonra ters çevrilerek 37℃'de 16-18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları milimetre cinsinden ölçülmüş ve her bir konsantrasyon için üç tekrarın ortalama değerleri hesaplanmıştır. Pozitif kontrol disklerinde gözlenen inhibisyon zonları yöntemin geçerliliğini doğrularken, çözücü kontrolde inhibisyon zonu oluşmaması elde edilen sonuçların güvenilirliğini desteklemiştir (Schuetz *et al.* 2025).

Antibiyotik kontrol disklerinin çevresinde tüm bakteriler için beklenen inhibisyon zonları gözlenirken, Ni_2O-NP'lerinin test edilen hiçbir konsantrasyonunda inhibisyon bölgesi oluşmamıştır. Elde edilen bulgular, sentezlenen Ni_2O-NP'lerinin test edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki göstermediğini ortaya koymuştur.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Yenidünya Meyve Çekirdeğinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan yenidünya meyveleri Erzurum'da yerel bir manavdan temin edilmiştir. Yenidünya çekirdeklerinin yüksek nişasta içeriğine sahip olduğu bilinmekle birlikte, bu çalışmada kullanılan bakterinin söz konusu nişasta fraksiyonun büyüme ve enzim üretimi için bir karbon kaynağı olarak değerlendirebileceği öngörüldüğünden, çekirdeklerin nişasta içeriği sınırlayıcı bir faktör olarak ele alınmamıştır. Bu doğrultuda, yenidünya çekirdeklerine herhangi bir ön işlem uygulanmamış ve yalnızca fiziksel olarak minimum boyuta indirgenerek deneysel çalışmalarda kullanılmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Çalışmada kullanılan meyve çekirdeklerinin aşamalı olarak hazırlanması

Peroksidaz, Katalaz ve Polifenol Oksidaz Enzim Üretimi İçin Gerekli Büyüme Parametreleri

İnkübasyon süresi optimizasyonu

Yeni dünya meyve çekirdeğinin karbon kaynağı olarak kullanıldığı büyüme ortamında *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 bakterisinin peroksidaz üretimi zamana bağlı olarak değerlendirildiğinde, enzim üretiminin 24-96 saat aralığında gerçekleşmiş ve en yüksek aktivitenin 24. saatte ölçüldüğü kaydedilmiştir (Şekil 10). Bu durum, peroksidaz sentezinin bakterinin logaritmik büyüme fazına paralel olarak gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmektedir. İnkübasyon süresinin uzamasıyla birlikte besin elementlerinin azalması, metabolik yan ürünlerin birikmesi ve hücrelerin durağan faza geçmesi nedeniyle enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Literatürde birçok bakteriyel peroksidazın kısa inkübasyon sürelerinde maksimum verim verdiği bildirilmekte olup, elde edilen sonuçlar bu verilerle uyumludur (A. Falade *et al.* 2019).

Katalaz üretiminin zamana bağlı değişimi incelendiğinde, en yüksek aktivitenin yine 24. saatte elde edildiği görülmüştür (Şekil 10). Erken inkübasyon süresinde yüksek katalaz

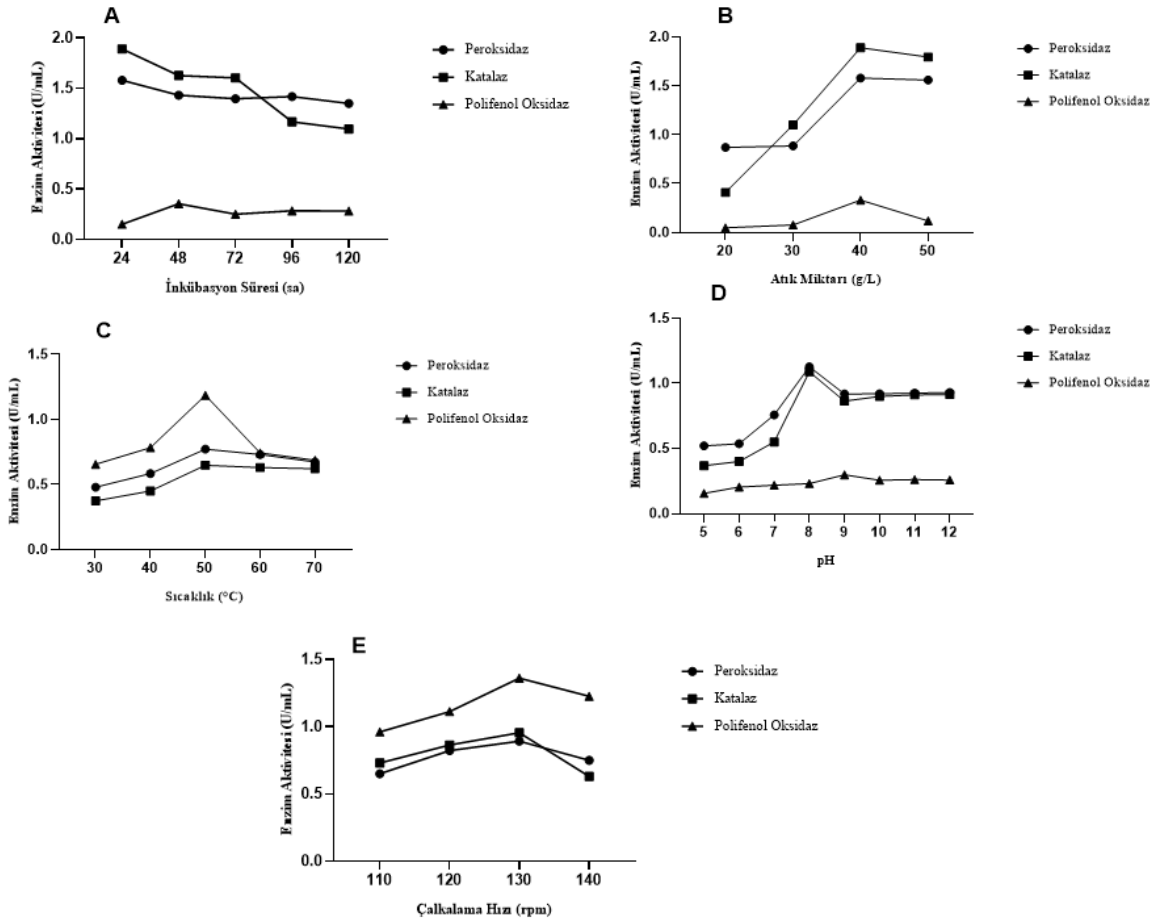
aktivitesinin gözlenmesi, hücrelerin hızlı büyüme evresinde oksidatif metabolizma sonucu oluşan reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmak amacıyla katalaz sentezini artırdığını göstermektedir. İnkübasyon süresinin ilerlemesiyle aktivitedeki düşüş, besin kısıtlılığı ve hücresel metabolizmanın yavaşlaması ile ilişkilendirilmektedir (Godini *et al.* 2017).

Polifenol oksidaz (PPO) üretimi açısından inkübasyon süresi 24-120 saat aralığında gerçekleşmiş ve en yüksek enzim aktivitesi 48. saatte elde edilmiştir (Şekil 10). Bu bulgu, bakterinin geç log-erken durağan faz geçişinde daha yüksek düzeyde PPO sentezlendiğini göstermektedir. 48 saatten sonraki düşüş; besin elementlerinin azalması, metabolik yan ürün birikimi ve enzim stabilitesinin azalmasıyla açıklanabilmektedir. Sonuçlar, 36-60 saat aralığında optimum düzeyde PPO üretildiğini bildiren çalışmalar uyumludur (Sabarre Jr and Yagonia-Lobarbio 2021).

Atık miktar (Karbon kaynağı) optimizasyonu

Karbon kaynağı olarak kullanılan atık yenidünya meyvesi çekirdeğinin farklı konsantrasyonlarının (20-50 g/L) peroksidaz üretimi üzerindeki etkisi incelendiğinde karbon miktarının artırılmasıyla peroksidaz aktivitesinde belirgin bir artış gözlenmiş ve optimum üretimin 40 g/L düzeyinde gerçekleştiği belirlenmiştir (Şekil 10). Daha düşük konsantrasyonlarda karbon yetersizliği nedeniyle biyokütle ve enzim üretimi sınırlı kalmıştır. 50 g/L ve üzerindeki konsantrasyonlarda ise çekirdek içeriğindeki yüksek nişasta oranına bağlı olarak besiyerinde jelleşme meydana gelmiş ve enzim aktivitesinin ölçümü zorlaşmıştır. Bu durum, dengeli bir karbon akışının peroksidaz üretimi için kritik olduğunu göstermektedir (Demirel 2020; A. O. Falade *et al.* 2019).

Katalaz üretimi açısından karbon kaynağı miktarının etkisi incelendiğinde, en yüksek aktivitenin 40 g/L atık yenidünya meyvesi çekirdeği konsantrasyonunda elde edildiği belirlenmiştir (Şekil 10). Düşük karbon seviyelerinde hücresel enerji üretiminin sınırlı olması katalaz sentezini baskılarken, karbon miktarının artmasıyla oksidatif stres yanıtına bağlı enzim üretimi artmıştır. Ancak optimum seviyenin aşılması durumunda katabolik baskılama mekanizmalarının devreye girdiği ve enzim üretiminin azaldığı literatürde bildirilmektedir (Çömlekcioğlu *et al.* 2012; Sun *et al.* 2018).



Şekil 10. Peroksidaz, katalaz ve polifenol oksidaz enzimleri için (A) inkübasyon süresi, (B) atık miktarı, (C) sıcaklık, (D) pH ve (E) çalkalama hızı optimizasyon grafikleri

Polifenol oksidaz üretimi için karbon kaynağı olarak kullanılan atık yenidünya meyvesi çekirdeği miktarı 20-50 g/L aralığında değerlendirilmiş ve optimum değerin 40 g/L olduğu tespit edilmiştir (Şekil 10). Düşük konsantrasyonlarda PPO aktivitesi sınırlı kalırken, 40 g/L seviyesinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Aşırı karbon miktarlarının PPO üretimini artırmadığı, aksine metabolik dengesizliklere yol açtığı bildirilmektedir (Bayrak *et al.* 2020; Panadare and Rathod 2018).

Sıcaklık optimizasyonu

Sıcaklık optimizasyonu 30-70°C aralığında gerçekleştirilmiş ve en yüksek peroksidaz aktivitesi 50°C'de elde edilmiştir (Şekil 10). Düşük sıcaklıklarda metabolik hızın azalması enzim üretimini sınırlandırırken, yüksek sıcaklıklarda termal denatürasyon ve hücresel stres faktörleri aktivitenin düşmesine neden olmuştur. Literatürde birçok bakteriyel peroksidazın 45-60°C aralığında optimum verdiği bildirilmektedir (Apitz and van Pée 2001).

Katalaz üretimi açısından da en uygun sıcaklık 50°C olarak belirlenmiştir (Şekil 10). Bu sonuç, katalaz enziminin orta derecede termotolerans gösterdiğini ortaya koymaktadır. 60°C ve

üzerindeki sıcaklıklarda protein yapısında bozulmalar meydana gelmiş ve aktivite azalmıştır. Bulgular literatürle uyumludur (Hamid 2009; Kauldhar and Sooch 2016).

Polifenol oksidaz üretimi için optimum sıcaklık 50°C olarak tespit edilmiştir. Bu sıcaklığın üzerindeki değerlerde PPO aktivitesinin düşmesi, enzimin aktif bölgesindeki bakır iyonlarının koordinasyonunun bozulması ve termal denatürasyon ile ilişkilendirilmektedir (C. Yang *et al.* 2021).

pH optimizasyonu

pH 5-12 aralığında yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda en yüksek peroksidaz aktivitesi pH 8'de elde edilmiştir (Şekil 10). Asidik ve aşırı alkali koşullarda aktivitenin azalması, enzim yapısının ve hücre fizyolojisinin olumsuz etkilenmesiyle açıklanabilmektedir (Chattopadhyay and Mazumdar 2000; A. O. Falade *et al.* 2019).

Katalaz için de en uygun pH değeri 8 olarak belirlenmiştir (Şekil 10). Bu değer hem mikroorganizmanın büyüme koşulları hem de katalazın yapısal stabilitesi açısından optimum dengeyi sağlamıştır (Espinoza-Vergara *et al.* 2021).

Polifenol oksidaz üretimi açısından en yüksek aktivite pH 9'da ölçülmüştür (Şekil 10). PPO'nun hafif alkali koşulları tercih ettiği, pH 10'un üzerinde ise aktivitenin belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir (S. Zhang 2023).

Çalkalama hızı (rpm) optimizasyonu

Sallama hızının 110-140 rpm aralığında optimize edilmesi sonucunda peroksidaz, katalaz ve PPO için maksimum enzim aktiviteleri 130 rpm'de elde edilmiştir (Şekil 10). Orta düzey çalkalama hızının oksijen transferini artırarak aerobik metabolizmayı desteklediği ve enzim üretimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Düşük rpm değerlerinde oksijen yetersizliği, yüksek rpm değerlerinde ise artan kesme kuvvetlerine bağlı hücresel stres enzim üretimini olumsuz etkilemiştir. Bu bulgular, literatürde bildirilen orta hızların optimum olduğu yönündeki verilerle uyumludur (Cai *et al.* 2019; Garcia-Ochoa and Gomez 2009).

Enzim Homojenatından Nikel Oksit (Ni_2O) Nanopartiküllerin Sentezi

Pallidibacillus pasinlerensis P1 bakterisi, yenidünya (*Eriobotrya japonica*) meyve çekirdeği atığını içeren kültür ortamında POD, CAT ve PPO enzimlerini ekstraselüler olarak başarılı şekilde üretmektedir. Üç enzimin kombine edildiği hücresiz homojenat ortamı, nikel iyonlarının biyoredüksiyonunda yeşil sentez aracı olarak kullanılmıştır.

Nanopartikül (NP) sentezinde Ni kaynağı olarak $NiCl_2$ tercih edilmiş; reaksiyon ortamında bulunan oksidoredüktaz enzimlerinin, Ni^{2+} iyonlarının Ni formuna indirgenmesini katalize ettiği kabul edilmiştir. POD ve PPO enzimlerinin elektron transfer süreçlerinde aktif rol oynadığı, CAT enziminin ise reaksiyon ortamındaki oksidatif stresi düzenleyerek nükleasyon ve büyüme süreçlerini stabilize ettiği düşünülmektedir.

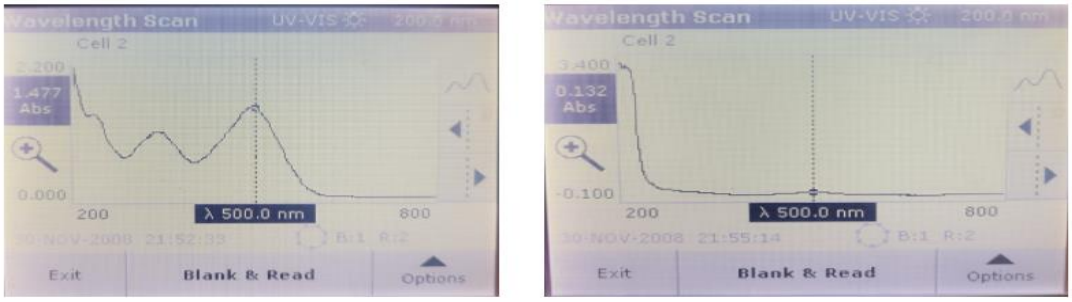
Reaksiyon süreci boyunca meydana gelen renk değişimi ve kolloidal oluşum, nikel oksit nanopartikül (Ni_2O-NP) sentezinin gerçekleştiğini göstermektedir. Enzimatik indirgeme sonrası oluşan Ni_2O-NP'lerinin, homojen boyut dağılımına sahip, aglomerasyonu sınırlı ve yüzeyi biyomoleküllerle kaplı yapılar oluşturduğu belirlenmektedir. Bu biyomoleküler kaplama, NP'lerin kolloidal kararlılığını artırmakta ve ek stabilizatör ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır.

Sentezlenen Ni_2O-NP'lerinin karakterizasyon sonuçlarının, enzim-temelli biyosentez yoluyla kimyasal indirgeme ajanları kullanılmaksızın Ni_2O-NP'lerinin çevre dostu bir şekilde üretilebildiğini ortaya koyduğu değerlendirilmiştir.

Ultraviyole ve Görünür Işık (UV-Vis)

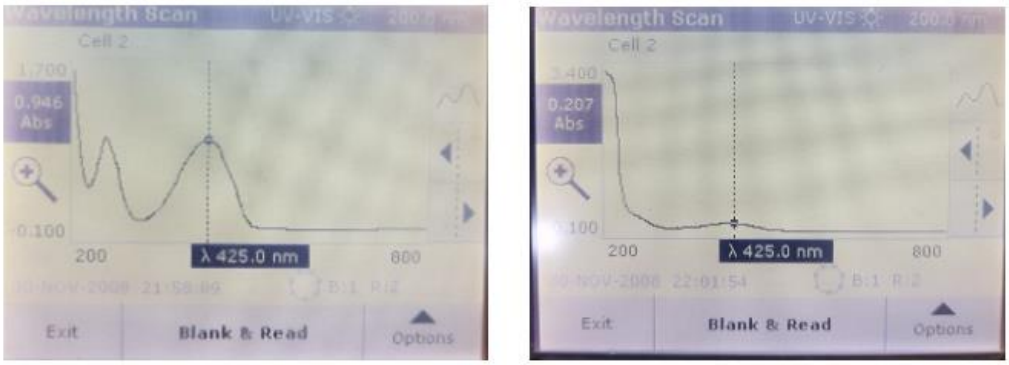
Atık yenidünya meyve çekirdeklerinden elde edilen katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve polifenol oksidaz (PPO) enzimleri kullanılarak biyolojik yöntemle sentezlenen Ni_2O-NP oluşumu ve fotokatalitik performansı UV-Vis spektrofotometrik analizler ile değerlendirilmiştir. Sentezlenen Ni_2O-NP'lerin ve boya giderim süreçlerinin izlenmesi amacıyla 200–800 nm dalga boyu aralığında spektral ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Ni_2O-NP'lerin boya giderim deneylerinde, Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R boyalarına ait UV-Vis spektrumları incelendiğinde, tüm boya sistemlerinde reaksiyon sonrası belirgin absorbans azalması ve maksimum absorbans dalga boylarında (λmax) anlamlı kaymalar gözlenmiştir. Bu durum, Ni_2O-NP'lerin fotokatalitik etki altında boya moleküllerinin yapısal bütünlüğünü bozarak etkin bir degradasyon süreci gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır.



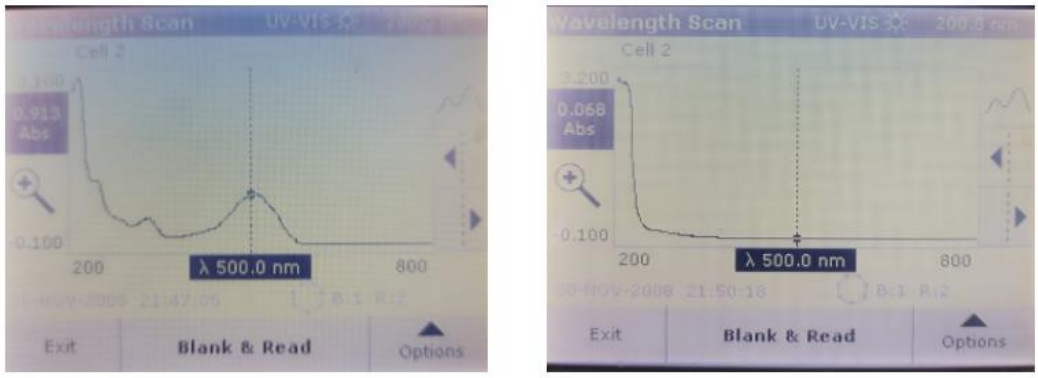
Şekil 11. Congo Red boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Congo Red boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi

Congo Red boyasının başlangıç UV-Vis spektrumunda, azo gruplarına ve geniş konjuge sisteme bağlı olarak görünür bölgede yüksek absorbans değerine sahip karakteristik bir maksimum pik tespit edilmiştir. Ni_2O-NP'ler ile gerçekleştirilen fotokatalitik reaksiyon sonrasında, bu pikin büyük ölçüde kaybolduğu ve maksimum absorbans değerinin UV bölgesine kaydığı belirlenmiştir. Görünür bölgedeki absorbansın ciddi oranda azalması, Congo Red molekülünün parçalanarak renk veren yapıların ortadan kalktığını göstermektedir (Şekil 11).



Şekil 12. Tartrazin boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Tartrazin boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi

Tartrazin boyasına ait UV-Vis spektrumunda başlangıçta görünür bölgede belirgin bir maksimum absorbans piki gözlenmiştir. Ni_2O-NP'ler ile temas sonrası elde edilen spektrumlarda, bu karakteristik pikin şiddetinde önemli ölçüde azalma meydana gelmiş ve maksimum absorbans değeri UV bölgesine doğru kaymıştır (Şekil 12). Bu spektral değişim, Tartrazin molekülünün aromatik ve kromoforik yapısının bozularak daha küçük ve düşük absorbsiyon kapasitesine sahip ara ürünlere dönüştüğünü göstermektedir. Elde edilen bulgular, Ni_2O-NP'lerin Tartrazin boyasının fotokatalitik degradasyonunda etkili olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 13. Ponceau 4R boyası ve Ni_2O-NP reaksiyonu sonrası Ponceau boyasına ait Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) analizi

Ponceau 4R boyasının başlangıç UV-Vis spektrumunda, boyaya özgü karakteristik maksimum absorbans piki görünür bölgede tespit edilmiştir. Ni_2O-NP'ler ile gerçekleştirilen fotokatalitik reaksiyon sonrasında, görünür bölgedeki bu pik belirgin şekilde zayıflamış ve spektrumun maksimum absorbans değeri daha düşük dalga boylarına kaymıştır (Şekil 13). Gözlenen bu hipsochromik kayma ve absorbans düşüşü, Ponceau 4R molekülündeki azo bağlarının kırılması ve konjuge yapının parçalanması ile ilişkilendirilmektedir. Sonuçlar, Ni_2O-NP'lerin Ponceau 4R boyasının renk gideriminde etkin bir katalitik rol üstlendiğini göstermektedir.

Bu sonuç, Ni_2O-NP'lerin özellikle azo boyaların degradasyonunda yüksek fotokatalitik aktivite sergilediğini ortaya koymaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, atık yenidünya meyve çekirdeği kaynaklı enzimler (CAT, POD ve PPO) aracılığıyla sentezlenen Ni_2O-NP'lerin, incelenen tüm boya türlerinde UV-Vis spektral değişimleri üzerinden doğrulanan etkili bir fotokatalitik boya giderimi sağladığı görülmektedir. Absorbans değerlerindeki azalma ve λ max kaymaları, boya moleküllerinin yapısal olarak parçalandığını ve Ni_2O-NP'lerin çevresel kirleticilerin gideriminde sürdürülebilir ve biyolojik kökenli bir alternatif olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

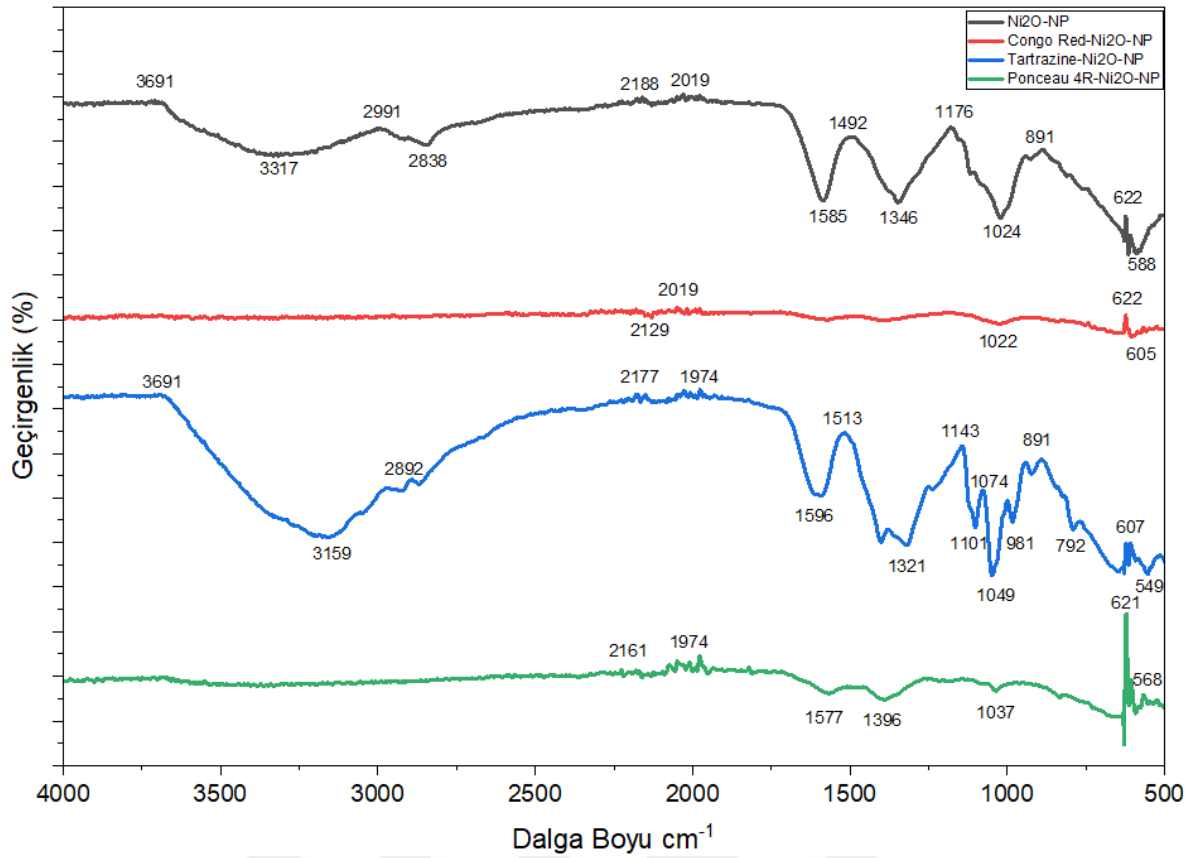
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Saf Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi

Saf Ni_2O-NP spektrumunda 3691 ve 3317 cm^{-1} civarında görülen geniş bantlar, yüzeye adsorbe olmuş –OH gruplarını ve ortam nemine bağlı hidroksil titreşimlerini işaret etmektedir (Şekil 14). 2991 ve 2838 cm^{-1} bantları, sentez sırasında kullanılan biyolojik ajanlardan ya da organik kalıntılardan kaynaklanan C–H gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilebilir.

1585 ve 1492 cm^{-1} civarındaki bantlar, yüzeyde zayıf şekilde tutunan organik bileşiklere ait C=C veya N–H bükülme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 1346, 1176 ve 1024 cm^{-1} bölgeleri, C–O ve C–N titreşimlerini düşündürmekte olup yeşil sentezde kullanılan biyomoleküllerin NP yüzeyinde kaplayıcı (capping) rol üstlendiğini göstermektedir.

Düşük dalga sayısı bölgesinde, özellikle 622-588 cm^{-1} aralığında gözlenen karakteristik bantlar ise Ni–O bağ titreşimlerine karşılık gelmekte ve Ni_2O-NP oluşumunu doğrulamaktadır.



Şekil 14. Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R boyalarının Ni_2O-NP'leri ile gerçekleştirilen fotokatalitik giderimi sonrası elde edilen FTIR spektrumları

Congo Red ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi

Congo Red ile etkileşim sonrası elde edilen spektrumda, saf Ni_2O-NP'lere kıyasla bant yoğunluklarının belirgin şekilde azaldığı ve bazı bölgelerde hafif kaymaların oluştuğu görülmektedir. 1022 cm^{-1} civarındaki bant, boyaya ait $–SO_3^-$ ve aromatik C–N/C–O titreşimlerinin NP yüzeyine bağlandığını düşündürmektedir (Şekil 14).

622-605 cm^{-1} civarında Ni–O bantlarının korunması, boya adsorpsiyonunun nanopartikülün kristal yapısını bozmadığını; etkileşimin ağırlıklı olarak yüzey üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir. Yeni keskin bantların ortaya çıkmaması, kimyasal dönüşümden ziyade fiziksel adsorpsiyonun baskın olduğunu düşündürmektedir.

Tartrazin ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi

Tartrazin ile temas eden Ni_2O-NP'lerde 3691-3159 cm^{-1} aralığında genişleyen –OH bantları, boya molekülleriyle hidrojen bağlarının oluştuğunu göstermektedir (Şekil 14). 2892 cm^{-1} civarındaki bant, boyaya ait alifatik C–H titreşimleri ile ilişkilendirilebilir.

1596 ve 1513 cm^{-1} bantları, Tartrazin'in aromatik yapısına ait titreşimlerin NP yüzeyine tutunduğunu düşündürmektedir. 1321-1101 cm^{-1} aralığında görülen çoklu bantlar,

$–SO_3^-$ grupları ve C–N bağları ile ilişkilidir ve bu bölgede bant yoğunluğunun artması, boya-nanopartikül etkileşiminin güçlü olduğunu göstermektedir.

Düşük dalga sayılarında 621-549 cm^{-1} civarında Ni–O bantlarının devam etmesi, adsorpsiyon sonrası da Ni_2O yapısının korunduğunu ortaya koymaktadır.

Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin FTIR analizi

Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki spektrumda, genel olarak daha zayıf ve yayvan bantlar gözlenmektedir. 2161-1974 cm^{-1} civarında görülen küçük titreşimler, boya molekülüne ait fonksiyonel grupların yüzeyle etkileşimini işaret etmektedir (Şekil 14).

1577 ve 1396 cm^{-1} bantları aromatik yapı ve azo gruplarına bağlanırken, 1037 cm^{-1} civarındaki bant sülfonat gruplarının Ni_2O-NP yüzeyine tutunduğunu düşündürmektedir. 568 cm^{-1} civarındaki bant, Ni–O titreşimlerinin korunarak devam ettiğini göstermekte olup, bu boya için de etkileşimin yüzey adsorpsiyonu şeklinde gerçekleştiğini desteklemektedir.

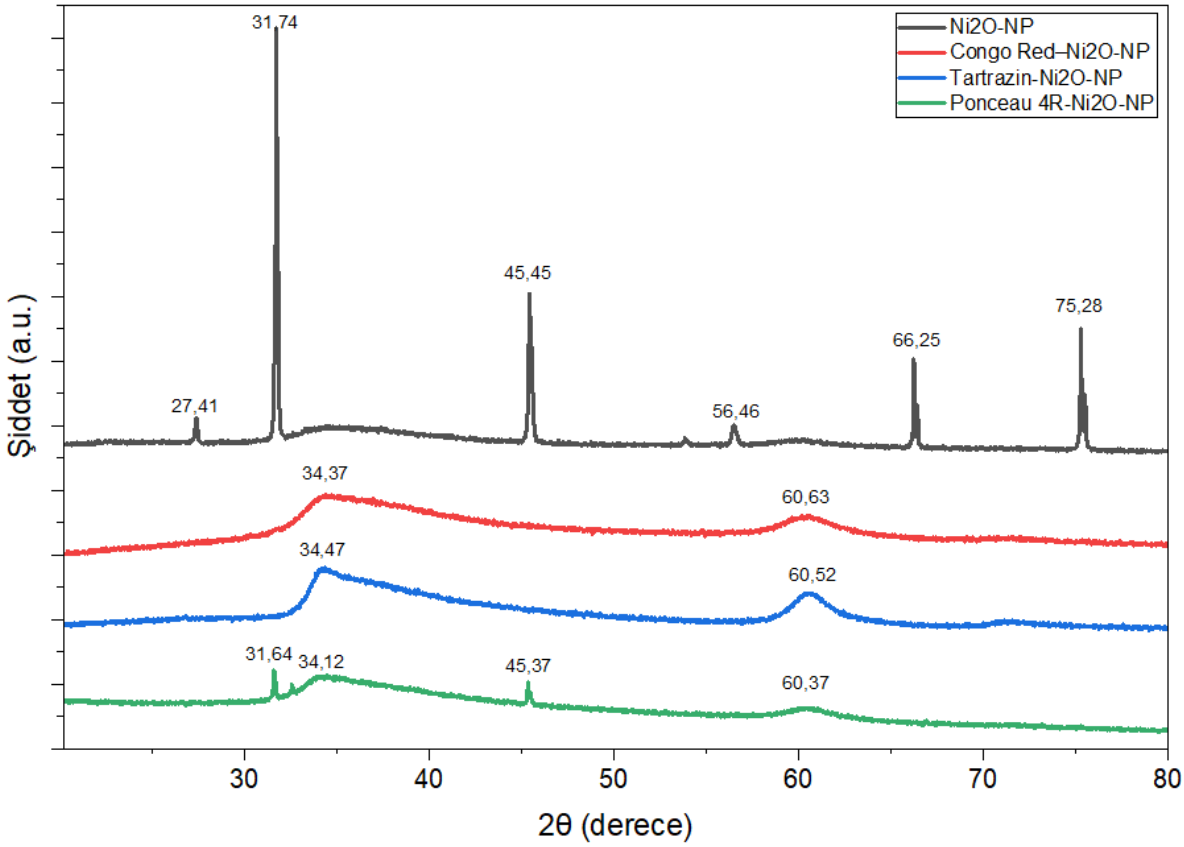
Tüm FTIR spektrumları birlikte değerlendirildiğinde, farklı boyalarla etkileşim sonrası Ni_2O-NP'lerin temel Ni–O yapısını koruduğu, ancak yüzey fonksiyonel gruplarında bant şiddeti değişimleri ve küçük kaymalar meydana geldiği görülmektedir. Bu durum, boya gideriminin NP yüzeyinde gerçekleşen fiziksel ve zayıf kimyasal etkileşimler yoluyla sağlandığını ve Ni_2O-NP'lerin adsorban olarak yapısal kararlılığını koruduğunu ortaya koymaktadır.

X-ışını Kırınımı (XRD)

Saf Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi

Saf Ni_2O-NP'lere ait XRD deseninde 2θ = 27,41°, 31,74°, 45,45°, 56,46°, 66,25° ve 75,28° civarında gözlenen keskin ve yüksek şiddetli pikler, NP'lerin iyi kristallenmiş bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 15). Özellikle 31,74° civarındaki baskın pik, Ni_2O yapısının karakteristik yansıması olarak değerlendirilebilir.

Piklerin dar ve simetrik olması, kristalit boyutlarının nano ölçekte ve yapısal düzenin yüksek olduğunu göstermektedir. Herhangi bir yabancı faza ait ek piklerin bulunmaması, sentezlenen Ni_2O-NP'lerin faz saflığının yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 15. Saf Ni_2O-NP, Congo Red Tartrazin ve Ponceau 4R boyar maddeleriyle muamele edilmiş Ni_2O-NP örneklerinin XRD analizi

Congo red ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi

Congo Red ile etkileşim hâlindeki Ni_2O-NP'lerde, saf numuneye kıyasla piklerin belirgin şekilde genişlediği ve şiddetlerinin azaldığı görülmektedir. 34,37° ve 60,63° civarında gözlenen yayvan yansımalar, boya moleküllerinin nanopartikül yüzeyine adsorbe olması sonucu kristal yüzeylerin kısmen maskelendiğini düşündürmektedir (Şekil 15).

Pik konumlarında belirgin bir kayma olmaması, Congo Red moleküllerinin Ni_2O kristal örgüsüne dâhil olmadığını; etkileşimin ağırlıklı olarak yüzey adsorpsiyonu yoluyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Tartrazin ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi

Tartrazin ile temas eden numunede 34,47° ve 60,52° civarında nispeten daha belirgin fakat geniş pikler gözlenmektedir (Şekil 15). Bu durum, boya adsorpsiyonu sonrasında NP'lerin kristal yapısını koruduğunu, ancak yüzeyde oluşan kaplama etkisi nedeniyle kristal kusurlarının arttığını düşündürmektedir.

Saf Ni_2O-NP'lerle karşılaştırıldığında pik şiddetlerindeki düşüş, Tartrazin moleküllerinin yüzeye güçlü şekilde bağlandığını ve X-ışınlarının kristal düzlemlere erişimini kısmen sınırladığını göstermektedir.

Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki Ni_2O nanopartiküllerinin XRD analizi

Ponceau 4R ile etkileşim hâlindeki numunede 31,64° ve 34,12° civarında zayıf pikler ile 45,37° ve 60,37° civarında geniş yansımalar gözlenmektedir (Şekil 15). Piklerin hem düşük şiddetli hem de geniş karakterde olması, bu boya için NP yüzeyinin daha homojen şekilde kaplandığını düşündürmektedir.

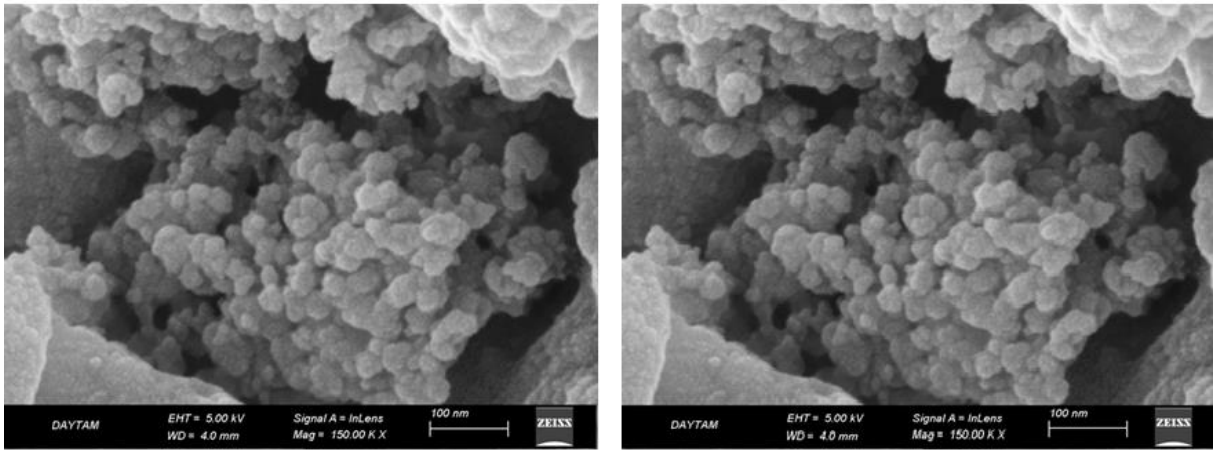
Buna rağmen karakteristik Ni_2O piklerinin korunması, boya adsorpsiyonunun kristal yapıyı bozmadığını ve yalnızca yüzeyde sınırlı etkileşimle gerçekleştiğini göstermektedir.

Genel XRD değerlendirmesi

XRD desenleri birlikte değerlendirildiğinde, farklı boyalarla etkileşim sonrasında Ni_2O-NP'lerin kristal yapısının korunduğu, ancak pik şiddetlerinde azalma ve pik genişlemeleri meydana geldiği görülmektedir (Şekil 15). Bu değişimler, boya moleküllerinin NP yüzeyine adsorbe olduğunu ve kristal örgüye dâhil olmadan yüzey temelli bir etkileşim mekanizması ile giderimin gerçekleştiğini göstermektedir. Dolayısıyla Ni_2O-NP'ler, boya varlığında da yapısal kararlılığını sürdüren etkili bir adsorban olarak değerlendirilebilir.

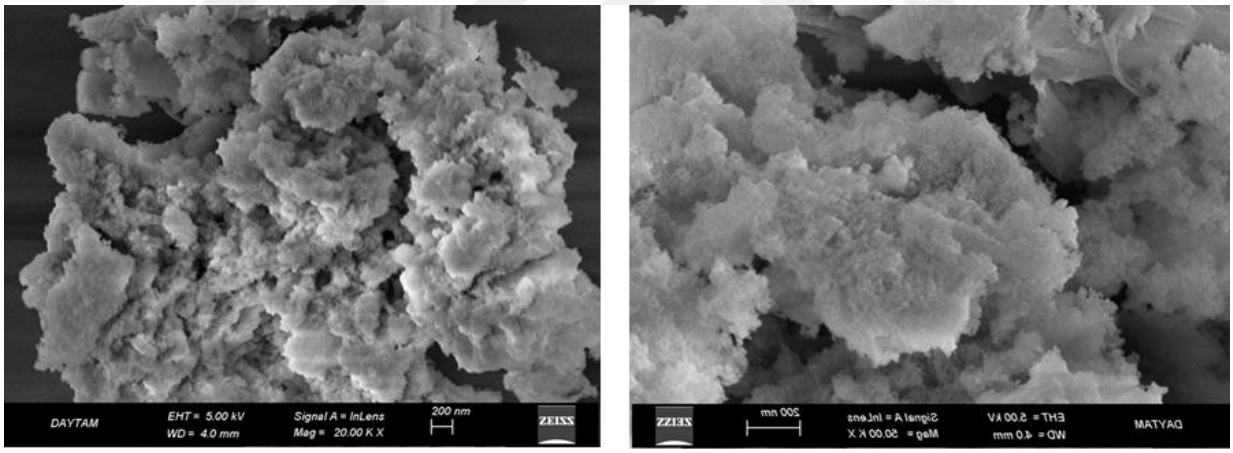
Fotokatalitik Boya Giderimi Öncesi ve Sonrası Ni_2O-NP'ünün Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Görüntüleri

SEM görüntülerinde sentezlenen Ni_2O-NP'lerinin nano boyutlu, düzensiz ve küresel/küresel olmayan morfolojiye sahip olduğu görülmektedir. NP'lerin birbirine yakın konumlanarak aglomerasyon eğilimi gösterdiği dikkat çekmektedir (Şekil 16). Bu durum, yeşil sentez yöntemlerinde sıklıkla gözlenen, biyolojik moleküllerle kaplanmış NP'lerin yüzey etkileşimleriyle ilişkilendirilmektedir. Yüzeylerin pürüzlü ve granüler yapıda olması, Ni_2O-NP'lerin yüksek yüzey alanına sahip olduğunu ve bu özelliğin çevresel uygulamalar, özellikle adsorpsiyon ve boya giderimi açısından avantaj sağladığını göstermektedir.



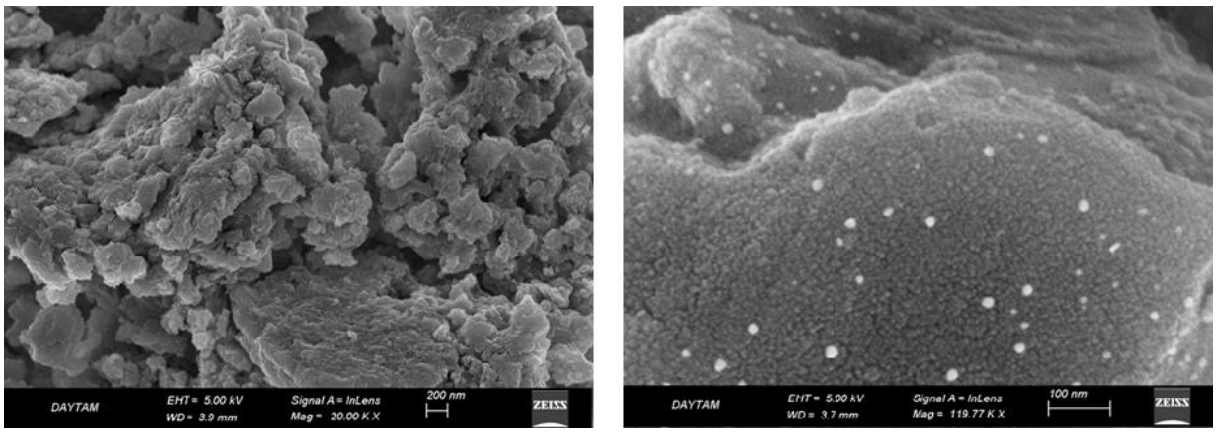
Şekil 16. Ni_2O-NP'ünün orijinal SEM görüntüsü

Congo Red ile muamele edilmiş Ni_2O-NP'lere ait SEM görüntülerinde, nanopartikül yüzeyinde belirgin topaklanmalar ve kaplanma yapıları gözlenmektedir. Saf Ni_2O-NP'lere kıyasla yüzey morfolojisinin daha kompakt ve düzensiz hale geldiği görülmüştür (Şekil 17). Bu değişim, Congo Red boya moleküllerinin nanopartikül yüzeyine adsorbe olduğunu ve nanopartiküller arası boşlukları doldurarak daha yoğun bir yapı oluşturduğunu göstermektedir. Elde edilen bu morfolojik değişim, Congo Red gideriminin ağırlıklı olarak yüzey adsorpsiyonu mekanizması ile gerçekleştiğini desteklemektedir.



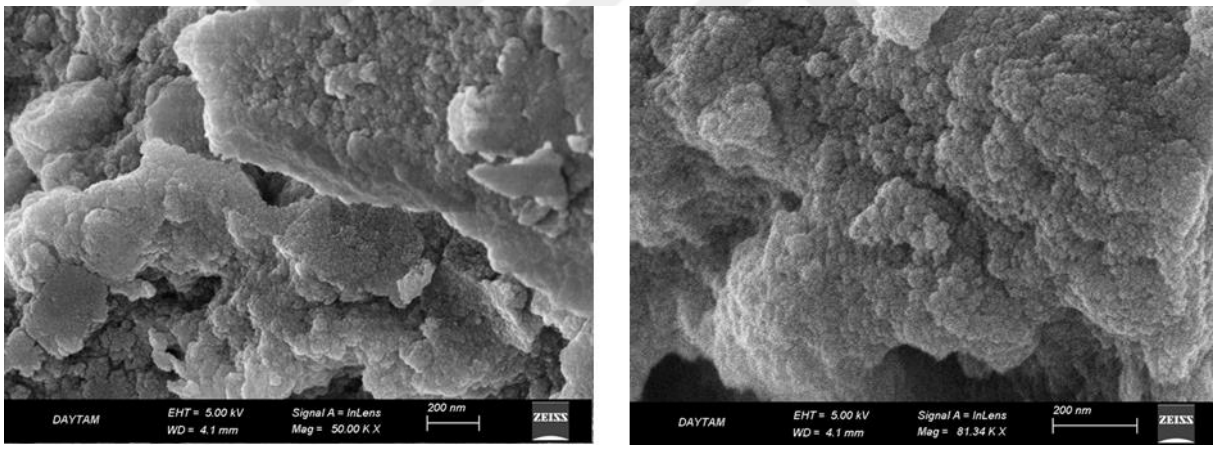
Şekil 17. Ni_2O-NP'ünün Congo Red boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü

Tartrazin ile etkileşim sonrası elde edilen SEM görüntülerinde, nanopartikül yüzeyinde daha homojen bir kaplanma ve yer yer küçük parlak partiküler yapılar dikkat çekmektedir (Şekil 18). Bu yapıların, Tartrazin boya moleküllerinin Ni_2O-NP yüzeyine tutunması sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Yüzeydeki görece daha düzgün dağılım, Tartrazin' in Ni_2O-NP'lerle güçlü yüzey etkileşimi kurduğunu ve boya gideriminin etkin bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu durum, UV-Vis analizlerinde gözlenen absorbans azalması ile uyumludur.



Şekil 18. Ni_2O-NP'ünün Tartrazin boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü

Ponceau 4R ile muamele edilen Ni_2O-NP'lere ait SEM görüntülerinde, nanopartikül yüzeyinde kalın ve tabakamsı bir kaplanma oluştuğu gözlenmektedir (Şekil 19). Nanopartiküllerin özgün morfolojisinin büyük ölçüde maskelendiği ve yüzeyin daha yoğun, blok benzeri bir yapı kazandığı görülmektedir. Bu belirgin morfolojik değişim, Ponceau 4R boya moleküllerinin Ni_2O-NP yüzeyine güçlü bir şekilde bağlandığını ve yüksek miktarda boya adsorpsiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 19. Ni_2O-NP'ünün Ponceau 4R boyası ile muamele sonrasında SEM görüntüsü

SEM görüntülerinde boya giderimi sonrası nanopartikül yüzeyinde gözlenen morfolojik değişimler, UV-Vis analizlerinde belirlenen absorbans azalması ile uyumlu olup, boya gideriminin büyük ölçüde yüzey adsorpsiyonu yoluyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Sentezlenen Nikel Oksit Nanopartikülleri ile Optimum Fotokatalitik Boya Giderim Koşullarının Belirlenmesi

Bu çalışmada, tarımsal atık niteliğinde olan yenidünya (*Eriobotrya japonica*) meyve çekirdeklerini içeren kültür ortamında üretilen bakteriyel enzimler yardımıyla yeşil sentez yöntemi uygulanarak elde edilen Ni_2O-NP'leri ile yapısal özellikleri birbirinden farklı olan

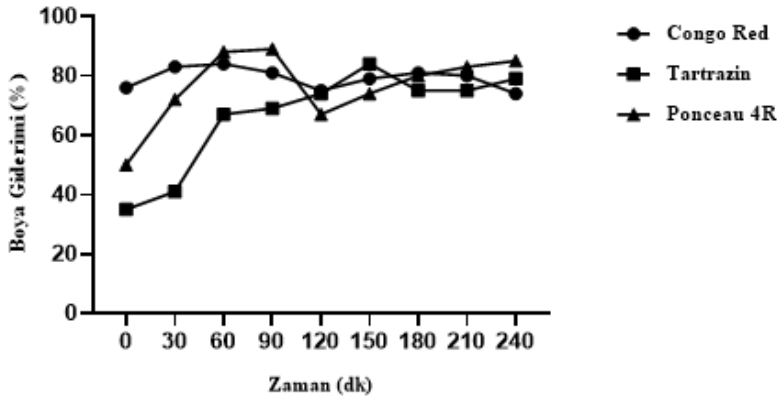
toksik ve sentetik üç boyar madde (Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R) üzerindeki fotokatalitik giderim potansiyeli araştırılmıştır.

Uygulanan sistemde, enzimatik biyosentez yoluyla üretilen Ni_2O-NP'lerinin fotokatalitik etkinliğinin, boyar maddelerin kimyasal yapısına, moleküler karmaşıklığına ve deneysel ortam koşullarına bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Her bir boyar madde için ayrı ayrı yürütülen fotokatalitik deneyler sonucunda, Ni_2O-NP'ünün uygulanmasının fotokatalitik aktivitesini etkileyen temel parametreler belirlenmiştir.

Bu kapsamda, boya giderimi üzerine etkili olduğu belirlenen temas süresi, pH, sıcaklık, başlangıç boya konsantrasyonu, nanopartikül miktarı ve hidrojen peroksit konsantrasyonu gibi faktörlerin etkileri sistematik olarak değerlendirilmekte; böylece POD, CAT ve PPO enzimleri aracılığıyla sentezlenen Ni_2O-NP'lerine dayalı fotokatalitik sistemin çalışma koşullarına ilişkin optimum parametrelerin ortaya konulması sağlanmıştır.

Temas süresinin fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi

Temas süresinin fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, Ni_2O-NP'lerinin varlığında tüm boyalar için giderim veriminin zamana bağlı olarak değiştiği açıkça görülmektedir (Şekil 20). Reaksiyonun başlangıç aşamasında fotokatalitik aktivitenin sınırlı olduğu, temas süresinin artmasıyla birlikte boya gideriminin belirgin şekilde yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu durum, Ni_2O-NP'lerinin aktif yüzeylerinde zamanla daha fazla boya molekülünün adsorbe olması ve fotokatalitik reaksiyonların etkinleşmesiyle ilişkilendirilmiştir.



Şekil 20. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi temas süresi grafiği

CR boyası için temas süresinin artışıyla birlikte orta zaman aralıklarında yaklaşık %80 civarında bir giderim sağlandığı, daha uzun sürelerde ise giderim oranının büyük ölçüde sabitlendiği anlaşılmıştır. Bu eğilim, aktif bölgelerin doyuma ulaşması ve fotokatalitik bozunma hızının zamanla azalmasıyla açıklanmıştır.

TZ boyasına ait grafik değerlendirildiğinde, temas süresine bağlı olarak giderim veriminin kademeli bir artış gösterdiği görülmüştür. Başlangıçta sınırlı olan giderimin, 90. dakikada yaklaşık %70-80 düzeylerine ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç, Tartrazin moleküllerinin Ni_2O-NP'leriyle etkileşiminin zamana bağlı olarak güçlendiğini ve fotokatalitik bozunmanın kontrollü bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir.

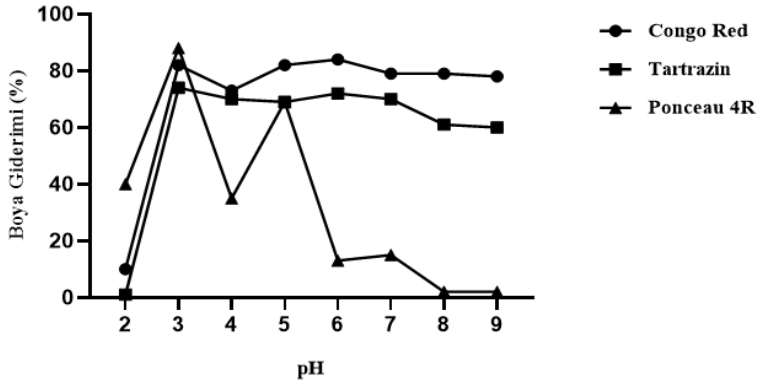
P4R boyası için ise temas süresinin fotokatalitik giderim üzerinde oldukça belirgin bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Reaksiyon süresinin artmasıyla birlikte giderim oranının hızlı bir şekilde yükseldiği ve orta-ileri zamanlarda yaklaşık %85-90 seviyelerine ulaştığı görülmektedir. Bu durum, P4R boyasının Ni_2O-NP'lerinin aktif yüzeylerine yüksek afinite göstermesi ve fotokatalitik reaksiyonlara daha elverişli bir yapı sergilemesiyle ilişkilendirilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, temas süresinin artması Ni_2O-NP'lerinin fotokatalitik etkinliğini artırmış, ancak belirli bir süreden sonra sistemin dengeye ulaşması nedeniyle giderim veriminde sınırlı değişimler gözlenmiştir.

pH'nın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi

pH'nın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, Ni_2O-NP'lerinin katalitik performansının ortam pH'sına önemli ölçüde bağlı olduğu görülmektedir. Ortam pH'sı hem boya moleküllerinin iyonizasyon durumunu hem de Ni_2O-NP'lerinin yüzey yükünü etkileyerek fotokatalitik reaksiyonların etkinliğini belirleyen temel parametrelerden biri olarak değerlendirilmektedir.

Asidik pH koşullarında boya gideriminin görece düşük olduğu, pH'nın nötr ve hafif bazik değerlere yaklaştığı koşullarda ise giderim veriminin belirgin şekilde arttığı gözlemlenmektedir (Şekil 21). Bu durum, uygun pH aralığında Ni_2O-NP'lerinin yüzeyinde elektrostatik etkileşimlerin güçlenmesi ve reaktif türlerin daha etkin şekilde oluşmasıyla açıklanmaktadır.



Şekil 21. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi pH grafiği

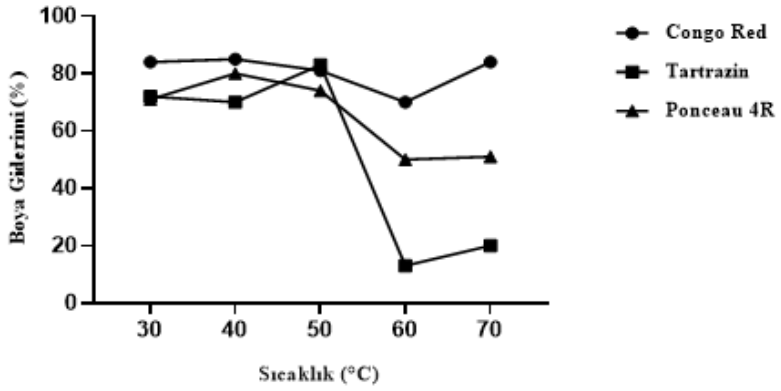
CR ve TZ boyaları optimum pH 3 için yaklaşık %70-85 düzeylerinde giderim sağlandığı, pH'nın aşırı asidik veya bazik değerlere kaymasıyla birlikte fotokatalitik etkinliğin azaldığı anlaşılmıştır. Bu azalma, boya moleküllerinin yapısal kararlılığının değişmesi ve katalizör yüzeyinde aktif bölgelerin kısmen pasifleşmesiyle ilişkilendirilebilir.

P4R boyası için ise pH 6 koşullarında daha yüksek giderim oranlarının elde edildiği, yaklaşık %85-90 seviyelerinde kararlı bir fotokatalitik performans sergilendiği görülmüştür. Bu sonuç, P4R boyasının Ni_2O-NP'lerinin pH'ya duyarlı ancak güçlü etkileşimler kurabildiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, pH'nın Ni_2O-NP'lerinin fotokatalitik boya giderim performansı üzerinde belirleyici bir parametre olduğu ve uygun pH aralığının seçilmesinin yüksek giderim verimi açısından kritik öneme sahip olduğu söylenmektedir.

Sıcaklığın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi

Sıcaklığın fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, Ni_2O-NP'lerinin katalitik aktivitesinin sıcaklık artışıyla birlikte belirgin şekilde değiştiği görülmektedir (Şekil 22**Şekil 22Şekil 22**). Genel olarak sıcaklığın yükselmesi, reaksiyon kinetiğini hızlandırarak boya moleküllerinin fotokatalitik bozunmasını kolaylaştırmıştır. Bununla birlikte, belirli bir sıcaklık aralığının üzerinde giderim veriminde sınırlı artışlar gözlenmesi, sistemin kinetik dengeye ulaştığını düşündürmektedir.



Şekil 22. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi sıcaklık grafiği

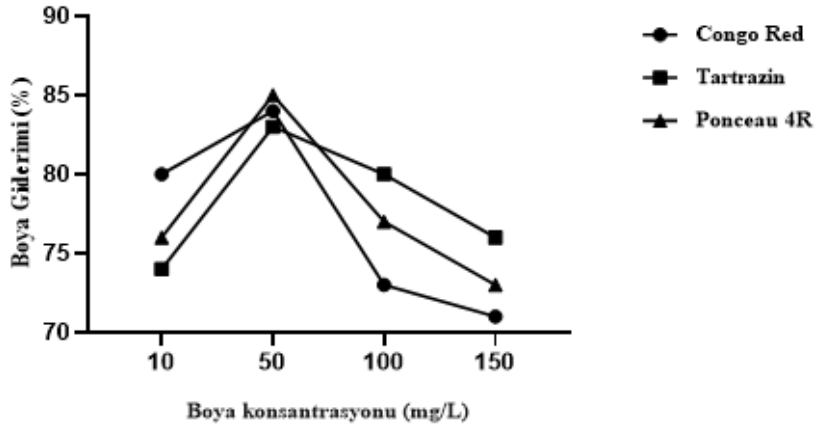
CR boyası için sıcaklığın artmasıyla birlikte fotokatalitik giderimin 40°C de yaklaşık %83 civarına ulaştığı, daha yüksek sıcaklıklarda ise giderim oranının büyük ölçüde sabit kaldığı anlaşılmaktadır. Bu durum, boya moleküllerinin Ni_2O-NP'lerinin aktif yüzeylerine bağlanmasının sıcaklıkla desteklendiğini, ancak aşırı sıcaklıklarda ek bir katkı sağlanmadığını göstermektedir.

TZ boyasında sıcaklık artışıyla birlikte giderimin kademeli olarak yükseldiği ancak en uygun sıcaklığın 50 °C koşullarında yaklaşık %75-85 düzeylerinde seyrettiği gözlemlenmiştir. Bu eğilim, TZ moleküllerinin fotokatalitik bozunmasının sıcaklığa duyarlı bir süreç olduğunu ortaya koymaktadır.

P4R boyası için ise sıcaklığın fotokatalitik performans üzerindeki etkisinin daha belirgin olduğu görülmektedir. 40 °C de giderim oranlarının yaklaşık %80-85 seviyelerine ulaştığı ve sistemin yüksek fotokatalitik aktivite sergilediği anlaşılmaktadır. Bu sonuç, P4R boyasının Ni_2O-NP'lerinin ile termal olarak desteklenen güçlü etkileşimler kurduğunu göstermektedir.

Boya Konsantrasyonunun Fotokatalitik Boya Giderimi Üzerindeki Etkisi

Başlangıç boya konsantrasyonunun fotokatalitik giderim üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, Ni_2O-NP'lerinin belirli bir konsantrasyon aralığında yüksek verimle çalıştığı görülmektedir. Düşük boya konsantrasyonlarında fotokatalitik giderimin daha yüksek olduğu, konsantrasyonun artmasıyla birlikte giderim veriminde azalma eğilimi gözlendiği anlaşılmaktadır (Şekil 23).



Şekil 23. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi boya konsantrasyonu grafiği

CR boyası için 50 mg/L' de %80'in üzerinde giderim sağlanırken, başlangıç konsantrasyonunun artmasıyla birlikte aktif yüzeylerin doygunluğa ulaşması nedeniyle giderim oranının azaldığı görülmektedir. Bu durum, katalizör yüzeyindeki aktif bölgelerin sınırlı olmasıyla ilişkilendirilmektedir.

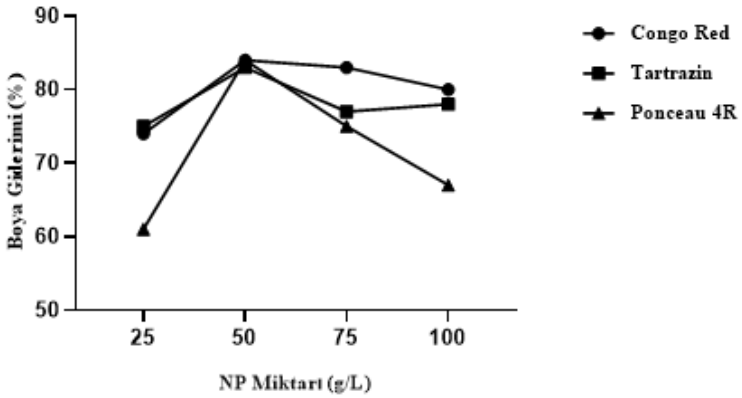
TZ boyasında da benzer bir eğilim gözlenmiş olup, 50 mg/L konsantrasyonlarda yaklaşık %70-80 düzeylerinde giderim elde edilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda ise boya moleküllerinin ışığı absorbe etmesi ve aktif yüzeyleri kaplaması nedeniyle fotokatalitik etkinliğin azaldığı söylenebilir.

P4R boyası için başlangıç konsantrasyonunun artmasına rağmen nispeten yüksek giderim oranlarının korunduğu, ancak yine de yüksek konsantrasyonlarda giderimin sınırlı kaldığı ve 50 mg/L'de daha yüksek giderim yaptığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç, P4R boyasının fotokatalitik bozunmaya daha yatkın bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Nanopartikül miktarının fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi

NP miktarının fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, Ni_2O-NP dozunun artmasıyla birlikte giderim veriminin belirli bir noktaya kadar yükseldiği görülmektedir (Şekil 24). Bu artış, katalizör miktarının çoğalmasıyla aktif yüzey alanının artmasına ve daha fazla fotokatalitik reaksiyonun gerçekleşmesine bağlanmaktadır.

CR ve TZ boyaları için NP miktarının artırılmasıyla birlikte giderimin yaklaşık %75-85 aralığına ulaştığı, ancak optimum dozun üzerinde giderim veriminde belirgin bir artış sağlanmadığı anlaşılmaktadır. Bu sebeple 50 g/L tercih edilmiştir. Aşırı katalizör miktarının, ışık geçirgenliğini azaltarak fotokatalitik etkinliği sınırladığı düşünülmektedir.

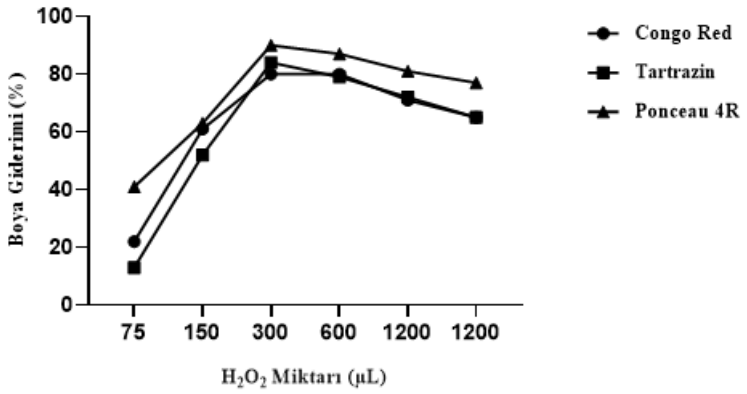


Şekil 24. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi NP miktarı grafiği

P4R boyasında ise NP miktarındaki artışın fotokatalitik giderim üzerinde daha olumlu bir etki oluşturduğu ve 50 g/L dozda yaklaşık %85-90 seviyelerinde yüksek bir giderim sağlandığı görülmektedir. Bu durum, P4R boyasının Ni_2O-NP'lerinin yüzey özelliklerinden daha etkin şekilde yararlanabildiğini göstermektedir.

Fenton prosesinin fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi için h2o2 miktarının belirlenmesi

H_2O_2 miktarının fotokatalitik boya giderimi üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, H_2O_2'nin sistemde güçlü bir oksidant olarak fotokatalitik süreci desteklediği görülmektedir (Şekil 25). Uygun miktarda H_2O_2 ilavesi, hidroksil radikallerinin oluşumunu artırarak boya moleküllerinin parçalanmasını hızlandırmıştır.



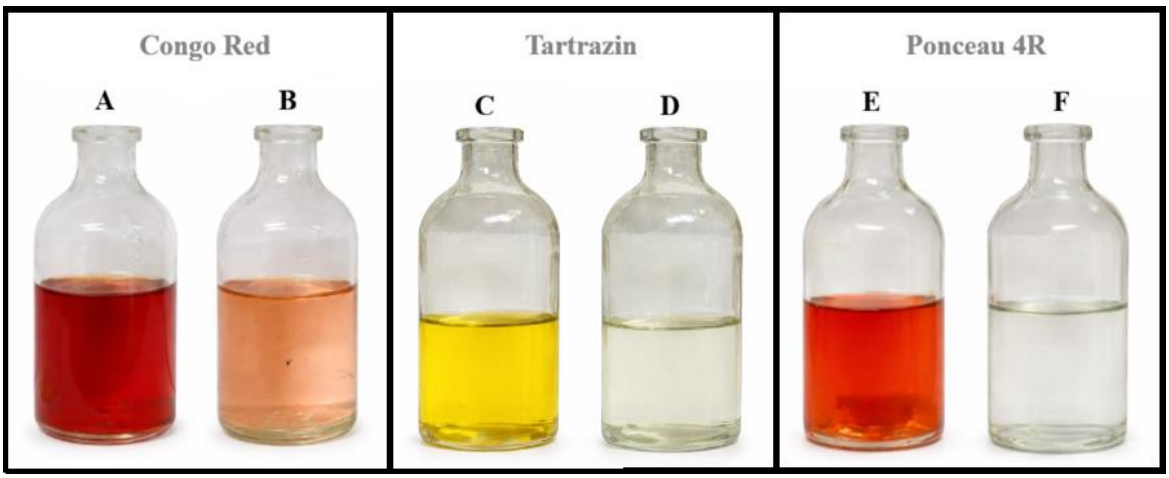
Şekil 25. Ni_2O-NP ile fotokatalitik boya giderimi H_2O_2 miktar grafiği

CR ve TZ boyaları için H_2O_2 miktarının artırılmasıyla birlikte giderim oranlarının yaklaşık %80-85 seviyelerine ulaşmıştır bu sebeple 600 µL H_2O_2 yeterli görülmüştür ancak aşırı H_2O_2 varlığında giderimde sınırlı azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu durum, fazla H_2O_2'nin hidroksil radikallerini tüketerek radikal-radikal etkileşimlerine yol açmasıyla açıklanabilir.

P4R boyası için optimum H_2O_2 miktarında oldukça yüksek giderim oranlarının elde edildiği ve yaklaşık %90 seviyelerine ulaşıldığı anlaşılmaktadır. Bu sonuç, H_2O_2'nin Ni_2O-NP'leriyle birlikte sinerjik bir etki oluşturarak fotokatalitik bozunmayı güçlendirdiğini göstermektedir.

Optimum Koşullarda Elde Edilen Fotokatalitik Boya Giderim Sonuçları

Optimum deneysel koşullar altında gerçekleştirilen fotokatalitik çalışmalar sonucunda, enzimatik biyosentez yoluyla sentezlenen nikel oksit NP'lerinin (Ni_2O-NP) Congo Red (CR), Tartrazin (TZ) ve Ponceau 4R (P4R) boyalarının gideriminde etkili olduğu belirlenmiştir. Fotokatalitik işlem öncesinde karakteristik renklere sahip olan boya çözeltilerinin, Ni_2O-NP ve H_2O_2 varlığında yürütülen fotokatalitik süreç sonrasında belirgin ölçüde renk kaybına uğradığı gözlemlenmiştir (Şekil 26**Şekil 26**).



Şekil 26. Congo Red, Tartrazin ve Ponceau 4R boyalarının giderim öncesi (A,C,E) ve sonrası (B,D,F) görselleri

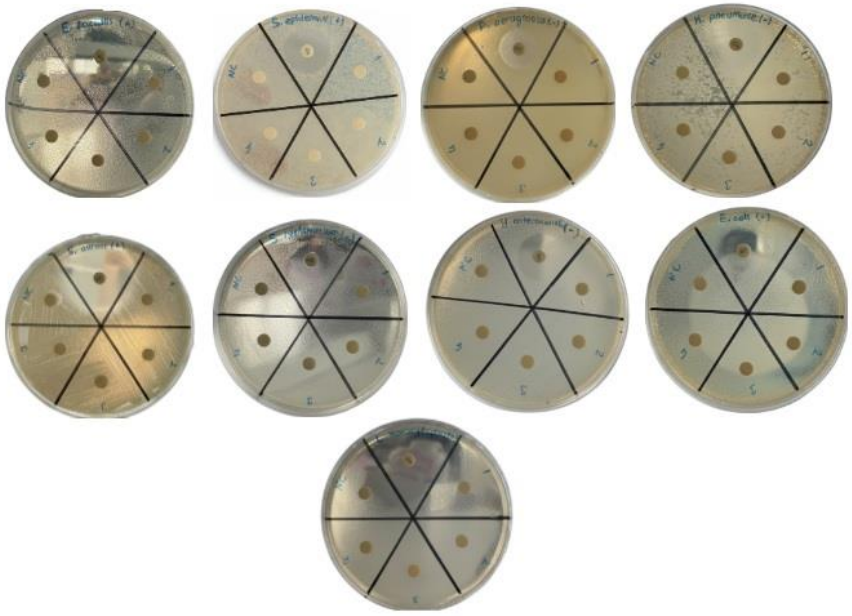
Congo Red boyasında fotokatalitik uygulama sonrasında çözeltinin renginde belirgin bir açılma meydana gelmiş ve giderim veriminin %80'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Tartrazin boyasına ait sonuçlar incelendiğinde, sarı rengin büyük ölçüde azaldığı ve çözeltinin daha berrak bir görünüm kazandığı görülmüş; bu durum, yaklaşık %80-84 aralığında elde edilen giderim verimleriyle uyumlu bulunmuştur. Ponceau 4R boyasında ise fotokatalitik işlem sonrası çözeltinin neredeyse tamamen renksiz hâle geldiği ve yaklaşık %90 düzeylerinde yüksek giderim sağlandığı belirlenmiştir.

Elde edilen görsel bulgular, spektrofotometrik ölçümlerle desteklenen nicel sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde, Ni_2O-NP'lerinin fotokatalitik boya gideriminde etkin bir katalizör olarak görev yaptığı açıkça ortaya konulmuştur. Boyalar arasındaki giderim farklarının, moleküler yapı, fonksiyonel gruplar ve Ni_2O-NP yüzeyi ile etkileşim düzeylerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, POD, CAT ve PPO enzimleri aracılığıyla yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Ni_2O-NP'lerine dayalı fotokatalitik sistemin, sentetik ve toksik boyar maddelerin gideriminde uygulanabilir ve çevre dostu bir yaklaşım sunduğu sonucuna varılmıştır. SEM görüntülerinde boya giderimi sonrası nanopartikül yüzeyinde gözlenen morfolojik değişimler, UV-Vis spektrumlarında azo boyalara ait karakteristik absorbans piklerinin azalması ve kaybolması ile birlikte değerlendirildiğinde, boya gideriminin yüzey adsorpsiyonundan ziyade enzim destekli fotokatalitik parçalanma (degradasyon) mekanizmasıyla gerçekleştiğini düşündürmektedir.

Sentezlenen Ni_2O-NP'lerin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmada sentezlenen nikel oksit NP'lerinin (Ni_2O-NP) test edilen dokuz farklı patojen *(Enterococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae,*

Pseudomonas aeruginosa ve *Yersinia enterocolitica*) mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir (Şekil 27).



Şekil 27. Çalışmada kullanılan dokuz patojen suşun Ni_2O-NP ile antimikrobiyal test görüntüleri

Bu bulgu, literatürde Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal etki sergilediğini bildiren bazı çalışmalarla farklılık göstermektedir. Bununla birlikte, Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal etkinliğinin genelleştirilebilir bir özellik olmadığı ve nanopartikülün fizikokimyasal özelliklerine ve deneysel koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği rapor edilmiştir (Siddiqi, Husen, and Rao 2018; Slavin *et al.* 2017).

Antimikrobiyal etki bildirilen çalışmalarda, Ni_2O-NP'lerinin genellikle küçük partikül boyutuna, yüksek yüzey alanına ve mikroorganizma hücre duvarı ile etkileşimi kolaylaştıran yüzey özelliklerine sahip olduğu belirtilmektedir. Bu özelliklerin, hücre zarı bütünlüğünün bozulması veya hücresel stres mekanizmalarının tetiklenmesi yoluyla antimikrobiyal etkiye katkı sağladığı ifade edilmiştir (Azam *et al.* 2012). Bu çalışmada elde edilen Ni_2O-NP'lerinin ise söz konusu mekanizmaları başlatacak düzeyde biyosidal etki göstermediği düşünülmektedir.

Öte yandan, bazı çalışmalarda Ni_2O-NP'lerinin belirli bakteri türleri üzerinde herhangi bir inhibisyon oluşturmadığı veya etkinin sınırlı kaldığı da rapor edilmiştir (Hajipour *et al.* 2012). Bu durum, mikroorganizmaların metal tolerans mekanizmaları ve nikel iyonlarına karşı geliştirdikleri adaptif yanıtlarla ilişkilendirilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada gözlenen antimikrobiyal aktivite eksikliği, literatürle çelişmekten ziyade Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal potansiyelinin koşula ve hedef mikroorganizmaya bağlı olduğunu ortaya koymaktadır.

Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal etki göstermemesi, kullanılan NP'lerin bakteriyel hücre yüzeyine tutunma kapasitesi ile ilişkili olabilir. Nanopartikül hücre etkileşiminin gerçekleşebilmesi için partikül boyutunun yanı sıra yüzey yükü ve dispersiyon stabilitesinin de belirleyici olduğu bildirilmektedir. Aglomerasyon eğilimi gösteren nanopartiküllerde aktif yüzey alanının azalması, mikroorganizma hücreleriyle etkili temasın sınırlanmasına neden olabilmektedir (Hajipour *et al.* 2012; Slavin *et al.* 2017). Bu durum, bu çalışmada Ni_2O-NP'lerine bağlı antimikrobiyal etkinin gözlenmemesini açıklayan olası faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir.

Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal etkisinin genellikle dolaylı mekanizmalar üzerinden gerçekleştiği rapor edilmiştir. Bu mekanizmalar arasında hücre zarı bütünlüğünün bozulması, hücresel metabolizmanın baskılanması ve metal iyonlarının salınımına bağlı stres yanıtları yer almaktadır. Ancak bu biyosidal süreçlerin etkin hale gelebilmesi, NP'lerin biyolojik ortamda yeterli reaktivite göstermesine bağlıdır (Azam *et al.* 2012; Siddiqi, Husen, and Rao 2018). Çalışmada elde edilen Ni_2O-NP'lerinin söz konusu mekanizmaları tetikleyecek düzeyde etki göstermemesi, antimikrobiyal aktivite eksikliğini destekler niteliktedir.

Bunun yanı sıra, mikroorganizmaların Ni gibi ağır metallere karşı geliştirdikleri tolerans ve direnç mekanizmaları da dikkate alınmalıdır. Literatürde bazı bakterilerin metal iyonlarını hücre dışına atan taşıyıcı sistemlere veya metal bağlayıcı proteinlere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu adaptif mekanizmalar, Ni_2O-NP'lerinin hücre içi etki oluşturmasını sınırlandırarak inhibisyon gelişmesini engelleyebilmektedir (Hajipour *et al.* 2012; Slavin *et al.* 2017). Bu bağlamda, çalışmada kullanılan patojen mikroorganizmaların nikel toleransına sahip olmaları, gözlenen sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal aktivitesinin tek başına var sayılabilecek bir özellik olmadığını göstermektedir. Antimikrobiyal etkinin ortaya çıkışı; NP'nin sentez koşulları, fizikokimyasal özellikleri ve hedef mikroorganizmanın biyolojik yapısı ile doğrudan ilişkilidir. Bu çalışma, Ni_2O-NP'lerinin antimikrobiyal potansiyeline ilişkin literatürdeki farklı bulguları tamamlayıcı nitelikte olup, genelleme yapılmaması gerektiğini vurgulamaktadır (Siddiqi, Husen, and Rao 2018).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç

Bu tez çalışmasında, tarımsal atık niteliğinde olan yenidünya meyvesi (*Eriobotrya japonica*) çekirdeği, *Pallidibacillus pasinlerensis* P1 suşunun besiyeri ortamında alternatif karbon kaynağı olarak kullanılmış ve bu ortamda peroksidaz (POD), polifenol oksidaz (PPO) ve katalaz (CAT) enzimlerinin ekstraselüler üretimi sağlanmıştır. Üretilen bu enzimler kullanılarak hidrotermal yeşil sentez yöntemiyle nikel oksit nanopartikülleri (Ni_2O-NP) sentezlenmiş ve elde edilen NP'lerin çevresel uygulamalardaki potansiyeli değerlendirilmiştir.

Sentezlenen Ni_2O-NP'ler UV-Vis, FT-IR, XRD ve SEM analizleri ile karakterize edilmiş; bu analizler NP'lerin morfolojik, kristal yapısal ve yüzey kimyasal özelliklerini ortaya koymuştur. Karakterizasyon sonuçları, biyolojik kökenli enzimlerin NP oluşumunda indirgeme ve stabilize edici ajan olarak etkin rol oynadığını göstermiştir. Fotokatalitik performans çalışmaları ise farklı deneysel parametreler (pH, sıcaklık, temas süresi, nanopartikül konsantrasyonu ve H_2O_2 miktarı) altında sistematik olarak gerçekleştirilmiştir.

Yenidünya meyvesi çekirdeğinin besiyeri bileşeni olarak kullanılması hem düşük maliyetli hem de sürdürülebilir bir biyoteknolojik üretim yaklaşımı sunmuştur. Literatürde çoğunlukla bitki özütleri veya saflaştırılmış biyomoleküller kullanılarak gerçekleştirilen yeşil sentez çalışmalarından farklı olarak, bu tez çalışmasında bakteriyel kaynaklı POD, PPO ve CAT enzimlerinin doğrudan kültür ortamından elde edilmesi, sürecin uygulanabilirliğini artırmış ve çevre dostu bir üretim modeli ortaya koymuştur.

Elde edilen bulgular, sentezlenen Ni_2O-NP'lerin fotokatalitik süreçlerde etkin performans sergilediğini göstermiştir. Özellikle yenidünya çekirdeği temelli biyolojik ortamda sentezlenen NP'lerin yüksek yüzey reaktivitesi ve uygun morfolojik özellikleri, fotokatalitik verim üzerinde belirleyici olmuştur. Bu durum, kullanılan biyolojik kaynağın NP yüzey kimyası ve katalitik davranış üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Deneysel parametrelerin fotokatalitik performans üzerindeki etkilerinin ayrıntılı olarak değerlendirilmesi, uygulamaya yönelik önemli bilgiler sunmuştur. pH, sıcaklık ve temas süresi gibi faktörlerin fotokatalitik etkinlik üzerinde belirgin rol oynadığı; uygun koşullar altında Ni_2O-NP'lerin yüksek giderim verimleri sergilediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, yeşil sentezle

elde edilen Ni_2O-NP'lerin çevresel arıtım uygulamalarında kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Bununla birlikte, sentezlenen Ni_2O-NP'lerin test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Bu durum, NP'lerin biyolojik aktivitesinin sentez yöntemi, yüzey özellikleri, partikül boyutu ve kullanılan biyolojik indirgeme sistemine bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Literatürde Ni_2O-NP'lerin antimikrobiyal etki gösterebildiğini rapor eden çalışmalar bulunmakla birlikte, bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, sentezlenen Ni_2O-NP'lerin esas olarak fotokatalitik uygulamalara daha uygun olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, NP'lerin kullanım alanlarının doğru şekilde belirlenmesi açısından önemli ve yönlendirici bir sonuç niteliği taşımaktadır.

Çalışmanın en önemli çıktılarından biri, sentetik kimyasal indirgeme ajanları kullanılmadan, tamamen biyolojik ve çevre dostu bir yaklaşımla Ni_2O-NP'lerinin başarıyla sentezlenmiş olmasıdır. Ayrıca, *P. pasinlerensis* P1 suşunun POD, PPO ve CAT enzimleri aracılığıyla Ni_2O-NP sentezinde ilk kez kullanılması hem mikrobiyoloji hem de nanoteknoloji literatürüne özgün bir katkı sunmaktadır. Elde edilen sonuçlar, bu biyolojik sistemin ilerleyen aşamalarda farklı metal NP'lerinin sentezinde ve daha geniş ölçekli çevresel uygulamalarda değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışması, tarımsal atıkların katma değeri yüksek biyoteknolojik ürünlere dönüştürülebileceğini ortaya koymakta; sürdürülebilir çevre teknolojileri, yeşil kimya ve biyolojik nanopartikül üretimi alanlarında gelecekte yapılacak çalışmalar için güçlü bir altyapı sunmaktadır.

Öneriler

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular doğrultusunda, biyolojik yöntemlerle sentezlenen nikel oksit NP'lerinin (Ni_2O-NP) özelliklerinin ve uygulama potansiyelinin daha kapsamlı şekilde ortaya konabilmesi amacıyla, ilerleyen çalışmalara yönelik aşağıdaki öneriler sunulabilir.

Yenidünya meyvesi çekirdeği kullanılarak *P. pasinlerensis* P1 suşundan ekstraselüler olarak üretilen peroksidaz (POD), polifenol oksidaz (PPO) ve katalaz (CAT) enzimlerinin, yalnızca nikel (Ni) iyonlarıyla değil; bakır, kobalt veya çinko gibi farklı metal iyonlarıyla nanopartikül sentezinde değerlendirilmesi, bu biyolojik sistemin çok yönlü biyokatalitik potansiyelinin ortaya konmasına katkı sağlayabilir. Bu tür karşılaştırmalı çalışmalar, enzim–metal etkileşimlerinin nanopartikül boyutu, morfolojisi ve yüzey özellikleri üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını mümkün kılacaktır.

Bu çalışmada sentezlenen Ni_2O-NP'lerin test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermemesi dikkate alındığında, ilerleyen araştırmalarda nanopartikül boyutunun küçültülmesi, yüzey modifikasyonlarının uygulanması veya farklı biyolojik indirgeme sistemlerinin kullanılmasıyla antimikrobiyal aktivitenin değişip değişmediği detaylı olarak incelenebilir. Bu yaklaşım, Ni_2O-NP'lerin hangi uygulama alanları için daha uygun olduğunun belirlenmesi açısından yönlendirici olacaktır.

Fotokatalitik performansın artırılmasına yönelik olarak, Ni_2O-NP'lerin farklı yarı iletken materyallerle kompozit yapılar halinde sentezlenmesi, yüzey depolama stratejilerinin uygulanması veya destek malzemeler üzerinde immobilize edilmesi önerilmektedir. Ayrıca fotokatalitik sistemlerin yalnızca yapay ışık altında değil, görünür ışık ve güneş ışığı gibi enerji açısından daha sürdürülebilir kaynaklar altında test edilmesi, enerji verimliliği açısından önemli bilgiler sunacaktır.

Laboratuvar ölçeğinde elde edilen fotokatalitik giderim sonuçlarının, doğal ve endüstriyel atıksu örnekleri gibi daha karmaşık ve gerçekçi çevresel sistemlerde değerlendirilmesi, Ni_2O-NP'lerin pratik uygulanabilirliğini ortaya koymak açısından kritik öneme sahiptir. Bu doğrultuda, pilot ölçekli reaktör sistemlerinde gerçekleştirilecek çalışmalar, sentezlenen NP'lerin endüstriyel ölçekteki kullanım potansiyelinin değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

Sentezlenen Ni_2O-NP'lerin çevresel güvenliği açısından, uzun süreli kararlılık, yeniden kullanılabilirlik, olası metal iyonu salınımı ve ekotoksikolojik etkilerinin detaylı olarak incelenmesi önerilmektedir. Bu tür çalışmalar, NP'lerin sürdürülebilir çevre teknolojilerinde güvenli kullanımına yönelik bilimsel altyapının güçlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

NP'lerin yapısal ve yüzey özelliklerinin daha ayrıntılı biçimde ortaya konabilmesi için TEM, SEM ve XRD gibi ileri karakterizasyon tekniklerinin daha yoğun şekilde kullanılması, fotokatalitik mekanizmaların anlaşılmasını derinleştirecek ve elde edilen sonuçların yorumlanmasını güçlendirecektir.

Son olarak, literatürde hâlen sınırlı sayıda bulunan enzim destekli yeşil nanopartikül sentez çalışmalarının artırılması, çevre dostu nanoteknolojik uygulamaların gelişimine önemli katkılar sunacaktır. Mikrobiyoloji, nanoteknoloji ve çevre mühendisliği disiplinlerini bir araya getiren bütüncül ve disiplinler arası yaklaşımlar, bu alandaki bilimsel ilerlemeler açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

Abatenh, Endeshaw, Birhanu Gizaw, and Zerihun Tsegaye and Misganaw Wassie. 2017. "The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review." *Open Journal of Environmental Biology* 1(1): 38–46. http://dx.doi.org/10.17352/ojeb.000007.

Abdelghany, T. M., Aisha M.H. Al-Rajhi, Mohamed A. Al Abboud, M. M. Alawlaqi, A. Ganash Magdah, Eman A.M. Helmy, and Ahmed S. Mabrouk. 2018. "Recent Advances in Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications: About Future Directions. A Review." *BioNanoScience* 8(1): 5–16. doi:10.1007/s12668-017-0413-3.

Abel, A. 2012. "The History of Dyes and Pigments: From Natural Dyes to High Performance Pigments." In *Colour Design*, Elsevier, 557–87.

Aghalari, Zahra, Hans-Uwe Dahms, and Mika Sillanpää. 2021. "Investigating the Effectiveness of Nanotechnologies in Environmental Health with an Emphasis on Environmental Health Journals." *Life Sciences, Society and Policy* 17(1): 8.

Akhter, P, A Arshad, and M Hussain. 2025. "A Review on Environmental Impacts of Paints and Strategies for Producing Eco-Friendly-Paints." *International Journal of Environmental Science and Technology* 22(1): 555–78.

Alayli, Azize, Hayrunnisa Nadaroglu, and Esra Turgut. 2021. "Nanobiocatalyst Beds with Fenton Process for Removal of Methylene Blue." *Applied Water Science* 11(2): 1–8.

Alonso, Francisco, Paola Riente, and Miguel Yus. 2011. "Nickel Nanoparticles in Hydrogen Transfer Reactions." *Accounts of Chemical Research* 44(5): 379–91.

Alshehri, Reem, Asad Muhammad Ilyas, Anwarul Hasan, Adnan Arnaout, Farid Ahmed, and Adnan Memic. 2016. "Carbon Nanotubes in Biomedical Applications: Factors, Mechanisms, and Remedies of Toxicity: Miniperspective." *Journal of medicinal chemistry* 59(18): 8149–67.

Alzain, Hassan, Victor Kalimugogo, Karim Hussein, and Mona Karkadan. 2023. "A Review of Environmental Impact of Azo Dyes." *Int J Res Rev* 10(6): 673–89.

Apitz, Anke, and Karl-Heinz van Pée. 2001. "Isolation and Characterization of a Thermostable Intracellular Enzyme with Peroxidase Activity from Bacillus Sphaericus." *Archives of microbiology* 175(6): 405–12.

Ardila-Leal, Leidy D, Raúl A Poutou-Piñales, Aura M Pedroza-Rodríguez, and Balkys E Quevedo-Hidalgo. 2021. "A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases." *Molecules* 26(13): 3813.

Asghari, Ehsan, Bernhard Peter Kaltschmidt, Luis van Merwyk, Thomas Huser, Christian Kaltschmidt, Andreas Hütten, and Barbara Kaltschmidt. 2022. "Pseudomonas Aeruginosa Clusters Toxic Nickel Nanoparticles to Enhance Survival." *Microorganisms* 10(11): 2220.

Ashaolu, Tolulope Joshua. 2021. "Nanoemulsions for Health, Food, and Cosmetics: A Review." *Environmental Chemistry Letters* 19(4): 3381–95.

Ashfaq, Alweera, Nazia Khursheed, Samra Fatima, Zayeema Anjum, and Kaiser Younis. 2022. "Application of Nanotechnology in Food Packaging: Pros and Cons." *Journal of Agriculture and Food Research* 7: 100270.

Atasoy, Nurhayat. 2024. “Atık Sulardan Ağır Metal Giderimi.” *Journal of the Institute of Science and Technology* 14(4): 1684–1704.

Ayilara, Modupe S, and Olubukola O Babalola. 2023. “Bioremediation of Environmental Wastes: The Role of Microorganisms.” *Frontiers in Agronomy* 5: 1183691.

Azam, Ameer, Arham S Ahmed, Mohammad Oves, Mohammad S Khan, Sami S Habib, and Adnan Memic. 2012. “Antimicrobial Activity of Metal Oxide Nanoparticles against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Comparative Study.” *International journal of nanomedicine*: 6003–9.

Bafana, Amit, Sivanesan Saravana Devi, and Tapan Chakrabarti. 2011. “Azo Dyes: Past, Present and the Future.” *Environmental Reviews* 19(NA): 350–71.

Bahrulolum, Howra, Saghi Nooraei, Nahid Javanshir, Hossein Tarrahimofrad, Vasighe Sadat Mirbagheri, Andrew J Easton, and Gholamreza Ahmadian. 2021. “Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Microorganisms and Their Application in the Agrifood Sector.” *Journal of Nanobiotechnology* 19(1): 86.

Baltaci, Mustafa Ozkan, Hilal Ay, Sumeyya Akbulut, Gulsah Adiguzel, Seyda Albayrak, Mehmet Akif Omeroglu, Hakan Ozkan, Mesut Taskin, and Ahmet Adiguzel. 2020. “Bacillus Pasinlerensis Sp. Nov., a Thermophilic Bacterium Isolated from a Hot Spring in Turkey.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70(6): 3865–71.

Balto, Hanan, Musarat Amina, Ramesa Shafi Bhat, Hanan M Al-Yousef, Sayed H Auda, and Afaf Elansary. 2023. “Green Synthesis of Nickel Nanoparticles Using Salvadora Persica and Their Application in Antimicrobial Activity against Oral Microbes.” *Microbiology Research* 14(4): 1879–93.

Bauer, A Wg, William M M Kirby, John C Sherris, and Marvin Turck. 1966. “Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method.” *American journal of clinical pathology* 45(4_ts): 493–96.

Bayrak, Songül, Cansu Öztürk, Yeliz Demir, Zuhal Alım, and Ömer İrfan Küfrevioglu. 2020. “Purification of Polyphenol Oxidase from Potato and Investigation of the Inhibitory Effects of Phenolic Acids on Enzyme Activity.” *Protein and peptide letters* 27(3): 187–92.

Benkhaya, Said, Souad M’rabet, Hassane Lgaz, Abderrahim El Bachiri, and Ahmed El Harfi. 2021. “Dyes: Classification, Pollution, and Environmental Effects.” In *Dye Biodegradation, Mechanisms and Techniques: Recent Advances*, Springer, 1–50.

Berg, Jeremy M, Gregory J Gatto Jr, Justin Hines, John L Tymoczko, and Lubert Stryer. 2023. *Biochemistry*. Macmillan Higher Education.

Beyth, Nurit, Yael Houri-Haddad, Avi Domb, Wahid Khan, and Ronen Hazan. 2015. “Alternative Antimicrobial Approach: Nano-antimicrobial Materials.” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015(1): 246012.

Brock, Thomas D, and Hudson Freeze. 1969. “Thermus Aquaticus Gen. n. and Sp. n., a Nonsporulating Extreme Thermophile.” *Journal of bacteriology* 98(1): 289–97.

Cai, Jianghua, Tong Chen, Zhanquan Zhang, Boqiang Li, Guozheng Qin, and Shiping Tian. 2019. “Metabolic Dynamics during Loquat Fruit Ripening and Postharvest Technologies.” *Frontiers in Plant Science* 10: 619.

Cárdenas-Moreno, Yosberto, Jorge González-Bacerio, Humberto García Arellano, and Alberto del Monte-Martínez. 2023. "Oxidoreductase Enzymes: Characteristics, Applications, and Challenges as a Biocatalyst." *Biotechnology and applied biochemistry* 70(6): 2108–35.

Chabuck, Zainab Adil Ghani, Zainab Hussein Mahdi, Saade Abdalkareem Jasim, and Maysaa S M Alshukri. 2025. "Green Synthesis of Silver Nanoparticles Utilizing Eriobotrya Japonica L. Seed Extract and Evaluation of Their Antibacterial Activity." *Medical Journal of Babylon* 22(1): 117–22.

Chanlon, S, Lucile Joly-Pottuz, M Chatelut, O Vittori, and J L Cretier. 2005. "Determination of Carmoisine, Allura Red and Ponceau 4R in Sweets and Soft Drinks by Differential Pulse Polarography." *Journal of Food Composition and Analysis* 18(6): 503–15.

Chattopadhyay, Krishnananda, and Shyamalava Mazumdar. 2000. "Structural and Conformational Stability of Horseradish Peroxidase: Effect of Temperature and PH." *Biochemistry* 39(1): 263–70.

Chung, King-Thom. 2016. "Azo Dyes and Human Health: A Review." *Journal of Environmental Science and Health, Part C* 34(4): 233–61.

Clavijo, Camila, and Johann F Osma. 2019. "Functionalized Leather: A Novel and Effective Hazardous Solid Waste Adsorbent for the Removal of the Diazo Dye Congo Red from Aqueous Solution." *Water* 11(9): 1906.

Çömlekcİoğlu, Uğur, F C Yazdıç, Sevtap Keser, B M Kellecıdot over˜, G Battaloğlu, and E Özköse. 2012. "Effects of Carbon Sources on Enzyme Production of Neocallimastix Sp. and Orpinomyces Sp."

Costa, Bruno Patricio, Mônica Ikeda, Anely Maciel de Melo, Fillemon Edyllin Silva Bambirra Alves, Danielle Carpiné, and Rosemary Hoffmann Ribani. 2022. "Eriobotrya Japonica Fruits and Its By-Products: A Promising Fruit with Bioactive Profile and Trends in the Food Application–A Bibliometric Review." *Food Bioscience* 50: 102099.

Demirel, Fatih. 2020. "Bitki ve Hayvan Biyoteknolojisi; Hücresel Tarım ve Nano-Teknoloji." *Journal of Agriculture* 3(2): 1–9.

Dhull, Priya, Anita Sudhaik, Pankaj Raizada, Sourbh Thakur, Van-Huy Nguyen, Quyet Van Le, Naveen Kumar, *et al.* 2023. "An Overview on ZnO-Based Sonophotocatalytic Mitigation of Aqueous Phase Pollutants." *Chemosphere* 333: 138873.

Dreno, Brigitte, Andrew Alexis, B Chuberre, and M Marinovich. 2019. "Safety of Titanium Dioxide Nanoparticles in Cosmetics." *Journal of the European academy of dermatology and venereology* 33: 34–46.

Ealia, S Anu Mary, and Manickam Puratchiveeran Saravanakumar. 2017. "A Review on the Classification, Characterisation, Synthesis of Nanoparticles and Their Application." In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing, 32019.

Eker, Furkan, Hatice Duman, Emir Akdaşçi, Ecem Bolat, Sümeyye Sarıtaş, Sercan Karav, and Anna Maria Witkowska. 2024. "A Comprehensive Review of Nanoparticles: From Classification to Application and Toxicity." *Molecules* 29(15): 3482.

El-Gendi, Hamada, Ahmed K Saleh, Raied Badierah, Elrashdy M Redwan, Yousra A El-Maradny, and Esmail M El-Fakharany. 2021. "A Comprehensive Insight into Fungal Enzymes: Structure, Classification, and Their Role in Mankind's Challenges." *Journal of Fungi* 8(1): 23.

El-Seedi, Hesham R, Rehan M El-Shabasy, Shaden A M Khalifa, Aamer Saeed, Afzal Shah, Raza Shah, Faiza Jan Iftikhar, *et al.* 2019. "Metal Nanoparticles Fabricated by Green Chemistry Using Natural Extracts: Biosynthesis, Mechanisms, and Applications." *RSC advances* 9(42): 24539–59.

El-Seedi, Hesham R, Mohamed S Omara, Abdulrahman H Omar, Mahmoud M Elakshar, Yousef M Shoukhba, Hatice Duman, Sercan Karav, *et al.* 2024. "Updated Review of Metal Nanoparticles Fabricated by Green Chemistry Using Natural Extracts: Biosynthesis, Mechanisms, and Applications." *Bioengineering* 11(11): 1095.

Elmetwalli, Alaa, Nanis G Allam, Mervat G Hassan, Aisha Nawaf Albalawi, Azza Shalaby, Karim Samy El-Said, and Afrah Fatthi Salama. 2023. "Evaluation of Bacillus Aryabhattai B8W22 Peroxidase for Phenol Removal in Waste Water Effluents." *BMC microbiology* 23(1): 119.

Ergül, Volkan, and Serhat Çakır. 2023. "Nanoteknolojinin Sektörel Uygulamaları Üzerine Bir Değerlendirme." *Savunma Bilimleri Dergisi* 1(43): 1–22.

Espinoza-Vergara, Javier, Paulo Molina, Mariana Walter, Miguel Gulppi, Nelson Vejar, Francisco Melo, Marcela Urzua, *et al.* 2021. "Effect of PH on the Electrochemical Behavior of Hydrogen Peroxide in the Presence of Pseudomonas Aeruginosa." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9: 749057.

Falade, Ayodeji, Atef Jaouani, Leonard Mabinya, Anthony Okoh, and Uchechukwu Nwodo. 2019. "Exoproduction and Molecular Characterization of Peroxidase from Ensifer Adhaerens." *Applied Sciences* 9(15): 3121.

Falade, Ayodeji O, Leonard V Mabinya, Anthony I Okoh, and Uchechukwu U Nwodo. 2019. "Studies on Peroxidase Production and Detection of Sporotrichum Thermophile-like Catalase-Peroxidase Gene in a Bacillus Species Isolated from Hogsback Forest Reserve, South Africa." *Heliyon* 5(12).

Falke, Priya B, Prashant G Shelke, Pooja R Hatwar, Ravindrakumar L Bakal, and Nitin B Kohale. 2024. "A Comprehensive Review on Nanoparticle: Characterization, Classification, Synthesis Method, Silver Nanoparticles and Its Applications." *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* 28(01): 171–84.

Garcia-Ochoa, Felix, and Emilio Gomez. 2009. "Bioreactor Scale-up and Oxygen Transfer Rate in Microbial Processes: An Overview." *Biotechnology advances* 27(2): 153–76.

Garza-Cervantes, Javier Alberto, C Enrique Escárcega-González, E Díaz Barriga Castro, G Mendiola-Garza, Bruno Antonio Marichal-Cancino, Mario Alberto López-Vázquez, and Jose Ruben Morones-Ramirez. 2019. "Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Biopolymer-Ni, Zn Nanoparticle Biocomposites Synthesized Using R. Mucilaginosa UANL-001L Exopolysaccharide as a Capping Agent." *International journal of nanomedicine*: 2557–71.

Godini, Elham, Ezat Asgarani, Jamshid Fooladi, and Tahereh Ghashghaei. 2017. "Optimization of Catalase Production by Kocuria Sp. ASB107 Using Response Surface Methodology and Molasses as the Carbon Source." *Journal of Applied Biotechnology Reports* 4(1): 519–25.

Goldstein, Joseph I, Dale E Newbury, Joseph R Michael, Nicholas W M Ritchie, John Henry J Scott, and David C Joy. 2017. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. springer.

Gour, Aman, and Narendra Kumar Jain. 2019. "Advances in Green Synthesis of Nanoparticles." *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology* 47(1): 844–51.

Guerra, Fernanda D, Mohamed F Attia, Daniel C Whitehead, and Frank Alexis. 2018. "Nanotechnology for Environmental Remediation: Materials and Applications." *Molecules* 23(7): 1760.

Gurunathan, Sangiliyandi, Kalimuthu Kalishwaralal, Ramanathan Vaidyanathan, Deepak Venkataraman, Sureshbabu Ram Kumar Pandian, Jeyaraj Muniyandi, Nellaiah Hariharan, and Soo Hyun Eom. 2009. "Biosynthesis, Purification and Characterization of Silver Nanoparticles Using Escherichia Coli." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74(1): 328–35.

Guschin, Alexander, Pavel Ryzhikh, Tatiana Rumyantseva, Mikhail Gomberg, and Magnus Unemo. 2015. "Treatment Efficacy, Treatment Failures and Selection of Macrolide Resistance in Patients with High Load of Mycoplasma Genitalium during Treatment of Male Urethritis with Josamycin." *BMC infectious diseases* 15(1): 40.

Hafshejani, Bahareh Kheiri, Mahboubeh Mirhosseini, Fariba Dashtestani, Fatemeh Hakimian, and Bibi Fatemeh Haghirosadat. 2018. "Antibacterial Activity of Nickel and Nickel Hydroxide Nanoparticles against Multidrug Resistance K. Pneumonia and E. Coli Isolated Urinary Tract." *Nanomedicine journal* 5(1).

Hajipour, Mohammad J, Katharina M Fromm, Ali Akbar Ashkarran, Dorleta Jimenez de Aberasturi, Idoia Ruiz de Larramendi, Teofilo Rojo, Vahid Serpooshan, Wolfgang J Parak, and Morteza Mahmoudi. 2012. "Antibacterial Properties of Nanoparticles." *Trends in biotechnology* 30(10): 499–511.

Hamid, Mohsina. 2009. "Potential Applications of Peroxidases." *Food chemistry* 115(4): 1177–86.

Hasham, Ahmed. 2018. "Selected Nanotechnology Applications in Industrial Waste Water Treatment: A Review." *International Journal of Environmental Pollution and Environmental Modelling* 1(3): 71–76.

HIRAI, Masashi. 1980. "Sugar Accumulation and Development of Loquat Fruit." *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 49(3): 347–53.

Horn, Dieter, and Jens Rieger. 2001. "Organic Nanoparticles in the Aqueous Phase—Theory, Experiment, and Use." *Angewandte Chemie International Edition* 40(23): 4330–61.

Hossain, Tanim Jabid. 2024. "Methods for Screening and Evaluation of Antimicrobial Activity: A Review of Protocols, Advantages, and Limitations." *European Journal of Microbiology and Immunology* 14(2): 97–115.

Hussain, Imtiyaz, N B Singh, Ajey Singh, Himani Singh, and S C Singh. 2016. "Green Synthesis of Nanoparticles and Its Potential Application." *Biotechnology letters* 38(4): 545–60.

Huston, Matthew, Melissa DeBella, Maria DiBella, and Anisha Gupta. 2021. "Green Synthesis of Nanomaterials." *Nanomaterials* 11(8): 2130.

Ibrahim, Rusul Khaleel, Maan Hayyan, Mohammed Abdulhakim AlSaadi, Adeeb Hayyan, and Shaliza Ibrahim. 2016. "Environmental Application of Nanotechnology: Air, Soil, and Water." *Environmental Science and Pollution Research* 23(14): 13754–88.

Ijaz, Irfan, Ezaz Gilani, Ammara Nazir, and Aysha Bukhari. 2020. "Detail Review on Chemical, Physical and Green Synthesis, Classification, Characterizations and Applications of Nanoparticles." *Green chemistry letters and reviews* 13(3): 223–45.

Imran Din, Muhammad, and Aneela Rani. 2016. "Recent Advances in the Synthesis and Stabilization of Nickel and Nickel Oxide Nanoparticles: A Green Adeptness." *International journal of analytical chemistry* 2016(1): 3512145.

Iravani, Siavash. 2011. “Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants.” *Green Chemistry* 13(10): 2638–50. doi:10.1039/c1gc15386b.

Islam, Shahid Ul. 2023. *Renewable Dyes and Pigments*. Elsevier.

Iwamoto, Tomotada, and Masao Nasu. 2001. “Current Bioremediation Practice and Perspective.” *Journal of bioscience and bioengineering* 92(1): 1–8.

Jadoun, Sapana, Rizwan Arif, Nirmala Kumari Jangid, and Rajesh Kumar Meena. 2021. “Green Synthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts: A Review.” *Environmental Chemistry Letters* 19(1): 355–74.

Jayakumar, G, A Albert Irudayaraj, and A Dhayal Raj. 2017. “Photocatalytic Degradation of Methylene Blue by Nickel Oxide Nanoparticles.” *Materials Today: Proceedings* 4(11): 11690–95.

Johnson, Patrick A, Hee Joon Park, and Ashley J Driscoll. 2010. “Enzyme Nanoparticle Fabrication: Magnetic Nanoparticle Synthesis and Enzyme Immobilization.” In *Enzyme Stabilization and Immobilization: Methods and Protocols*, Springer, 183–91.

Kara, Sadriye Gokce, Deniz Yuzbasioglu, Ece Avuloglu-Yilmaz, and Fatma Unal. 2025. “Do the Azo Food Colorings Carmoisine and Ponceau 4R Have a Genotoxic Potential?” *Toxicology Research* 14(2): tfaf033.

Kauldhar, Baljinder Singh, and Balwinder Singh Sooch. 2016. “Tailoring Nutritional and Process Variables for Hyperproduction of Catalase from a Novel Isolated Bacterium Geobacillus Sp. BSS-7.” *Microbial Cell Factories* 15(1): 7.

Kazan Kaya, Emine Sena, Zeynep Ciğeroğlu, Tansel Kemerli Kalbaran, Başak Temur Ergan, Zeynep Mine Şenol, and Meral Yildirim Yalçin. 2025. “Application of Biological and Green Nanomaterials in Wastewater Treatment: Techniques for the Effective Removal of Dyes, Heavy Metals, and Organic Pollutants.” *Turkish Journal of Biology* 49(SI-5): 441–58. doi:10.55730/1300-0152.2760.

Khan, Sadia, Tayyaba Noor, Naseem Iqbal, and Lubna Yaqoob. 2024. “Photocatalytic Dye Degradation from Textile Wastewater: A Review.” *ACS omega* 9(20): 21751–67.

Klumpp, Cédric, Kostas Kostarelos, Maurizio Prato, and Alberto Bianco. 2006. “Functionalized Carbon Nanotubes as Emerging Nanovectors for the Delivery of Therapeutics.” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1758(3): 404–12.

Kulkarni, Narendra, and Uday Muddapur. 2014. “Biosynthesis of Metal Nanoparticles: A Review.” *Journal of Nanotechnology* 2014(1): 510246.

Kumari, Harita, Sonia, Suman, Rohit Ranga, Surjeet Chahal, Seema Devi, Sourabh Sharma, *et al.* 2023. “A Review on Photocatalysis Used for Wastewater Treatment: Dye Degradation.” *Water, Air, & Soil Pollution* 234(6): 349.

Kumari, Savita, and Leena Sarkar. 2021. “A Review on Nanoparticles: Structure, Classification, Synthesis & Applications.” *Journal of Scientific Research* 65(8): 42–46.

Kumari, Swati, Sakshi Raturi, Saurabh Kulshrestha, Kartik Chauhan, Sunil Dhingra, Kovács András, Kyaw Thu, Rohit Khargotra, and Tej Singh. 2023. “A Comprehensive Review on Various Techniques Used for Synthesizing Nanoparticles.” *Journal of Materials Research and Technology* 27: 1739–63.

Lazim, Kamal A, and Hossain M Moghaddam. 2025. “Green Synthesis of Nickel Nanoparticles Using Lawsonia Inermis Extract and Evaluation of Their Effectiveness against Staphylococcus Aureus.” *Al-Mustansiriyah Journal of Science* 36(1): 84–91.

Leulescu, Marian, Andrei Rotaru, Ion Pălărie, Anca Moanţă, Nicoleta Cioateră, Mariana Popescu, Emilian Morîntale, *et al.* 2018. "Tartrazine: Physical, Thermal and Biophysical Properties of the Most Widely Employed Synthetic Yellow Food-Colouring Azo Dye." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 134(1): 209–31. doi:10.1007/s10973-018-7663-3.

Liu, Qian, Heping Cui, Bertrand Muhoza, Emmanuel Duhoranimana, Khizar Hayat, Xiaoming Zhang, and Chi-Tang Ho. 2021. "Mild Enzyme-Induced Gelation Method for Nanoparticle Stabilization: Effect of Transglutaminase and Laccase Cross-Linking." *Journal of agricultural and food chemistry* 69(4): 1348–58.

Lück, Hans. 1965. "Peroxidase." *Methods of enzymatic analysis*: 895–97.

Manzoor, Kashif, Maria Batool, Farha Naz, Muhammad Faizan Nazar, Bassim H Hameed, and Muhammad Nadeem Zafar. 2024. "A Comprehensive Review on Application of Plant-Based Bioadsorbents for Congo Red Removal." *Biomass Conversion and Biorefinery* 14(4): 4511–37.

May, Sheldon W, and Stephen R Padgette. 1983. "Oxidoreductase Enzymes in Biotechnology: Current Status and Future Potential." *Bio/technology* 1(8): 677–86.

Micheletti, Débora Hungaro, João Gabriel da Silva Andrade, Carlos Eduardo Porto, Bruna Hungaro Micheletti Alves, Fernando Rodrigues de Carvalho, Otávio Akira Sakai, and Vagner Roberto Batistela. 2023. "A Review of Adsorbents for Removal of Yellow Tartrazine Dye from Water and Wastewater." *Bioresource Technology Reports* 24: 101598.

Miri, Abdolhossein, Fatemah Mahabbati, Ahmad Najafidoust, Mohammad Javad Miri, and Mina Sarani. 2022. "Nickel Oxide Nanoparticles: Biosynthesized, Characterization and Photocatalytic Application in Degradation of Methylene Blue Dye." *Inorganic and Nano-Metal Chemistry* 52(1): 122–31.

Mohammed, Habeeb, Md Farouq Mia, Jasmine Wiggins, and Salil Desai. 2025. "Nanomaterials for Energy Storage Systems—A Review." *Molecules* 30(4): 883.

Mühling, Martin, Adam Bradford, James W Readman, Paul J Somerfield, and Richard D Handy. 2009. "An Investigation into the Effects of Silver Nanoparticles on Antibiotic Resistance of Naturally Occurring Bacteria in an Estuarine Sediment." *Marine environmental research* 68(5): 278–83.

Mukherjee, Abhishek, Dhruba Sarkar, and Soumya Sasmal. 2021. "A Review of Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Algae." *Frontiers in Microbiology* 12: 693899.

Mutaf, Tuğçe, Gülizar Çalışkan, Suphi Şurişvan Öncel, and Murat Elibol. 2023. "Metal Nanopartiküllerin Mikroalgler Aracılığı Ile Yeşil Sentezi Green Synthesis of Metal Nanoparticles by Microalgae." *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40(1): 81–89.

Nagoth, Joseph Amruthraj, Maria Sindhura John, Kesava Priyan Ramasamy, Alessio Mancini, Marco Zannotti, Sara Piras, Rita Giovannetti, *et al.* 2024. "Synthesis of Bioactive Nickel Nanoparticles Using Bacterial Strains from an Antarctic Consortium." *Marine Drugs* 22(2): 89.

Nain, Ritu, Hardik Patel, Monika Chahar, Sushil Kumar, Deepak Rohilla, and Manas Pal. 2025. "Biosynthesized Metallic Nanoparticles for Sustainable Environmental Remediation: Mechanisms, Applications, and Future Perspectives." *Discover Chemistry* 2(1): 124.

Najahi-Missaoui, Wided, Robert D Arnold, and Brian S Cummings. 2020. "Safe Nanoparticles: Are We There Yet?" *International journal of molecular sciences* 22(1): 385.

Nancy, Abnasan Bantog, Katsuhiro Shiratake, and Shohei Yamaki. 1999. “Changes in Sugar Content and Sorbitol-and Sucrose-Related Enzyme Activities during Development of Loquat (Eriobotrya Japonica Lindl. Cv. Mogi) Fruit.” *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 68(5): 942–48.

Nazri, Mohd Khairul Hanif Mohd, and Norzahir Sapawe. 2020. “A Short Review on Photocatalytic toward Dye Degradation.” *Materials Today: Proceedings* 31: A42–47.

Nelson, David L. 2021. “Principles of Biochemistry (International Edition).”

Newman, David J, and Gordon M Cragg. 2020. “Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019.” *Journal of natural products* 83(3): 770–803.

Ngcongco, Khanyisile, Suresh Babu Naidu Krishna, and Karen Pillay. 2023. “Biogenic Metallic Nanoparticles as Enzyme Mimicking Agents.” *Frontiers in Chemistry* 11: 1107619.

Ovais, Muhammad, Ali Talha Khalil, Muhammad Ayaz, Irshad Ahmad, Susheel Kumar Nethi, and Sudip Mukherjee. 2018. “Biosynthesis of Metal Nanoparticles via Microbial Enzymes: A Mechanistic Approach.” *International journal of molecular sciences* 19(12): 4100.

Panadare, Dhanashree, and Virendra K Rathod. 2018. “Extraction and Purification of Polyphenol Oxidase: A Review.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14: 431–37.

Pasieczna-Patkowska, Sylwia, Marcin Cichy, and Jolanta Flieger. 2025. “Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles.” *Molecules* 30(3): 684.

Pavan, Flávio André, Ana Cristina Mazzocato, and Yoshitaka Gushikem. 2008. “Removal of Methylene Blue Dye from Aqueous Solutions by Adsorption Using Yellow Passion Fruit Peel as Adsorbent.” *Bioresource technology* 99(8): 3162–65.

Percy, Maire E. 1984. “Catalase: An Old Enzyme with a New Role?” *Canadian journal of biochemistry and cell biology* 62(10): 1006–14.

Pinheiro, Helena M, Evelyne Touraud, and Olivier Thomas. 2004. “Aromatic Amines from Azo Dye Reduction: Status Review with Emphasis on Direct UV Spectrophotometric Detection in Textile Industry Wastewaters.” *Dyes and pigments* 61(2): 121–39.

Pliego, Gema, Juan A Zazo, Patricia Garcia-Muñoz, Macarena Munoz, Jose A Casas, and Juan J Rodriguez. 2015. “Trends in the Intensification of the Fenton Process for Wastewater Treatment: An Overview.” *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 45(24): 2611–92.

Przystaś, Wioletta, Ewa Zabłocka-Godlewska, and Elżbieta Grabińska-Sota. 2012. “Biological Removal of Azo and Triphenylmethane Dyes and Toxicity of Process By-Products.” *Water, Air, & Soil Pollution* 223(4): 1581–92.

Punekar, Narayan S. 2025. “On Enzyme Nomenclature and Classification.” In *ENZYMES: Catalysis, Kinetics and Mechanisms*, Springer, 59–70.

Qu, Xiaolei, Pedro J J Alvarez, and Qilin Li. 2013. “Applications of Nanotechnology in Water and Wastewater Treatment.” *Water research* 47(12): 3931–46.

Rao, Bo, and Ren-Cheng Tang. 2017. “Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antibacterial Activities Using Aqueous Eriobotrya Japonica Leaf Extract.” *Advances in natural sciences: Nanoscience and nanotechnology* 8(1): 15014.

Raveendran, Poovathinthodiyil, Jie Fu, and Scott L Wallen. 2006. “A Simple and ‘Green’ Method for the Synthesis of Au, Ag, and Au–Ag Alloy Nanoparticles.” *Green Chemistry* 8(1): 34–38.

Robinson, Tim, Geoff McMullan, Roger Marchant, and Poonam Nigam. 2001. “Remediation of Dyes in Textile Effluent: A Critical Review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative.” *Bioresource technology* 77(3): 247–55.

Rochkind, Malka, Sagi Pasternak, and Yaron Paz. 2014. “Using Dyes for Evaluating Photocatalytic Properties: A Critical Review.” *Molecules* 20(1): 88–110.

Rovina, Kobun, Shafiquzzaman Siddiquee, and Sharifudin Md Shaarani. 2017. “A Review of Extraction and Analytical Methods for the Determination of Tartrazine (E 102) in Foodstuffs.” *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 47(4): 309–24.

Sabarre Jr, Danilo C, and Camila Flor Yagonia-Lobarbio. 2021. “Extraction and Characterization of Polyphenol Oxidase from Plant Materials: A Review.” *Journal of Applied Biotechnology Reports* 8(2): 83–95.

Saeed, Muhammad, Majid Muneer, Atta ul Haq, and Nadia Akram. 2022. “Photocatalysis: An Effective Tool for Photodegradation of Dyes—a Review.” *Environmental Science and Pollution Research* 29(1): 293–311.

Sagadevan, Suresh, Is Fatimah, Jayasingh Anita Lett, Md Zillur Rahman, Estelle Leonard, and Won-Chun Oh. 2023. “Eco-Friendly Green Approach of Nickel Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications.” *Open Chemistry* 21(1): 20230141.

Said, Alaa Hassan, Fatma Shaibah, M Moustafa, and Rokaia B Elamary. 2025. “Plant-Mediated Nickel Oxide Nanoparticles Show Species-Dependent Antibacterial, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Antidiabetic Activities.” *Scientific Reports* 15(1): 31096.

Saka, Erdem, and Göknur Terzi Gülel. 2015. “Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları.” *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 26(2): 52–57.

Salt, David E, Michael Blaylock, Nanda P B A Kumar, Viatcheslav Dushenkov, Burt D Ensley, Ilan Chet, and Ilya Raskin. 1995. “Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants.” *Bio/technology* 13(5): 468–74.

Salt, David E, R D Smith, and Ilya Raskin. 1998. “Phytoremediation.” *Annual review of plant biology* 49(1): 643–68.

Santhy, K, and P Selvapathy. 2006. “Removal of Reactive Dyes from Wastewater by Adsorption on Coir Pith Activated Carbon.” *Bioresource technology* 97(11): 1329–36.

Sapsford, Kim E, Katherine M Tyner, Benita J Dair, Jeffrey R Deschamps, and Igor L Medintz. 2011. “Analyzing Nanomaterial Bioconjugates: A Review of Current and Emerging Purification and Characterization Techniques.” *Analytical chemistry* 83(12): 4453–88.

Sarim, Khan Mohd, Kamlesh Kukreja, Ikbal Shah, and Chetan K Choudhary. 2019. “Biosorption of Direct Textile Dye Congo Red by Bacillus Subtilis HAU-KK01.” *Bioremediation Journal* 23(3): 185–95.

Sayar, Sedat, and Yüksel Özdemir. 1998. “First-Derivative Spectrophotometric Determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in Confectionery Products.” *Food Chemistry* 61(3): 367–72.

Schuetz, Audrey N, Andrea Ferrell, Janet A Hindler, Romney Humphries, and April M Bobenchik. 2025. “Overview of Changes in the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: M100 32nd and 33rd Editions.” *Journal of clinical microbiology* 63(9): e01623-23.

Selvakumar, P, M Kumaresan, P Manikandan, R Mayildurai, and T Maruthavanan. 2024. "Advances in Nanotechnology Applications for Food and Healthcare Engineering." *J. Environ. Nanotechnol* 13(4): 1–10.

Şentürk, İlknur. 2024. "Sentezlenen Metal Oksit Nanokompozit Yardimiyla Sucul Çözeltilerden Reaktif Azo Boya Giderimi." *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 27(2): 523–38.

Siddiqi, Khwaja Salahuddin, Azamal Husen, and Rifaqat A K Rao. 2018. "A Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Their Biocidal Properties." *Journal of nanobiotechnology* 16(1): 14.

Singh, Gurpinder, Manpreet Kaur Ubhi, Kiran Jeet, Chetan Singla, and Manpreet Kaur. 2023. "A Review on Impacting Parameters for Photocatalytic Degradation of Organic Effluents by Ferrites and Their Nanocomposites." *Processes* 11(6): 1727.

Singh, Manoj, S Manikandan, and A K Kumaraguru. 2011. "Nanoparticles: A New Technology with Wide Applications." *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 1(1): 1–11.

Slavin, Yael N, Jason Asnis, Urs O Häfeli, and Horacio Bach. 2017. "Metal Nanoparticles: Understanding the Mechanisms behind Antibacterial Activity." *Journal of nanobiotechnology* 15(1): 65.

Stark, Wendelin J, Philipp R Stoessel, Wendel Wohlleben, and AJCSR Hafner. 2015. "Industrial Applications of Nanoparticles." *Chemical Society Reviews* 44(16): 5793–5805.

Stetter, Karl O. 2002. "Hyperthermophilic Microorganisms." In *Astrobiology: The Quest for the Conditions of Life*, Springer, 169–84.

Stetter, Karl O. 2006. "Hyperthermophiles in the History of Life." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361(1474): 1837–43.

Sukumaran, Jawahar, Manogar Priya, Raja Venkatesan, Kiruthika Sathiasivan, Mohammad Rashid Khan, and Seong-Cheol Kim. 2025. "Green Synthesis of Nickel Oxide Nanoparticles Using Leaf Extract of Aegle Marmelos and Their Antibacterial, Anti-Oxidant, and In Vitro Cytotoxicity Activity." *Microscopy Research and Technique* 88(10): 2830–42.

Sun, Jinfeng, Kangming Tian, Jie Wang, Zixing Dong, Xiaoguang Liu, Kugenthiren Permaul, Suren Singh, Bernard A Prior, and Zhengxiang Wang. 2018. "Improved Ethanol Productivity from Lignocellulosic Hydrolysates by Escherichia Coli with Regulated Glucose Utilization." *Microbial cell factories* 17(1): 66.

Sus, Bircan, Mustafa Ozkan Baltaci, Hayrunnisa Nadaroglu, and Ahmet Adiguzel. 2024. "From Agro-Food Waste to Nanoparticles: Green Synthesis of Copper Nanoparticles with Lignin Peroxidase Enzyme Produced by Anoxybacillus Rupiensis Using Peanut Shells." *Environmental Science and Pollution Research* 31(39): 52049–59.

Tailor, Giriraj, Jyoti Chaudhary, Suresh Jandu, Chesta Mehta, Megha Yadav, and Deepshikha Verma. 2023. "A Review on Green Route Synthesized Nickel Nanoparticles: Biological and Photo-Catalytic Applications." *Results in Chemistry* 6: 101195.

Tomar, Bhavana, Sneh Singh Parihar, and Tirunima Patle. 2025. "Applications of Nanotechnology in the Environment: Soil, Water, and Air." *Journal of Innovative Solutions for Eco-Environmental Sustainability*: 1.

Turner, Andrew. 2010. "Marine Pollution from Antifouling Paint Particles." *Marine pollution bulletin* 60(2): 159–71.

Vahedi, Morteza, Nima Hosseini-Jazani, Saber Yousefi, and Maryam Ghahremani. 2017. "Evaluation of Anti-Bacterial Effects of Nickel Nanoparticles on Biofilm Production by Staphylococcus Epidermidis." *Iranian journal of microbiology* 9(3): 160.

Varier, Krishnapriya Madhu, Mounika Gudeppu, Arulvasu Chinnasamy, Sumathi Thangarajan, Jesudas Balasubramanian, Yanmei Li, and Babu Gajendran. 2019. "Nanoparticles: Antimicrobial Applications and Its Prospects." In *Advanced Nanostructured Materials for Environmental Remediation*, Springer, 321–55.

Vázquez-Núñez, Edgar, Carlos Eduardo Molina-Guerrero, Julián Mario Peña-Castro, Fabián Fernández-Luqueño, and Ma Guadalupe de la Rosa-Álvarez. 2020. "Use of Nanotechnology for the Bioremediation of Contaminants: A Review." *Processes* 8(7): 826.

Veitch, Nigel C. 2004. "Horseradish Peroxidase: A Modern View of a Classic Enzyme." *Phytochemistry* 65(3): 249–59.

Vieille, Claire, and Gregory J Zeikus. 2001. "Hyperthermophilic Enzymes: Sources, Uses, and Molecular Mechanisms for Thermostability." *Microbiology and molecular biology reviews* 65(1): 1–43.

Wang, Linlin, Chen Hu, and Longquan Shao. 2017. "The Antimicrobial Activity of Nanoparticles: Present Situation and Prospects for the Future." *International journal of nanomedicine*: 1227–49.

Whatmore, Roger W. 2006. "Nanotechnology—What Is It? Should We Be Worried?" *Occupational Medicine* 56(5): 295–99.

Wong, Y W H, C W M Yuen, M Y S Leung, S K A Ku, and H L I Lam. 2006. "Selected Applications of Nanotechnology in Textiles." *AUTEX research Journal* 6(1): 1–8.

Xu, Min, Changyong Wu, and Yuexi Zhou. 2020. "Advancements in the Fenton Process for Wastewater Treatment." *Adv. Oxid. Process* 61(61.10): 5772.

Yang, Chenxian, Lingling Ma, Xin Wang, Yuqi Xing, and Xin Lü. 2021. "A Novel Polyphenol Oxidoreductase OHLAC from Ochrobactrum Sp. J10 for Lignin Degradation." *Frontiers in Microbiology* 12: 694166.

Yang, Yu, Chiqian Zhang, and Zhiqiang Hu. 2013. "Impact of Metallic and Metal Oxide Nanoparticles on Wastewater Treatment and Anaerobic Digestion." *Environmental Science: Processes & Impacts* 15(1): 39–48.

Yang, Zhihua, and Jiawei Shen. 2025. "A Review: Metal and Metal Oxide Nanoparticles for Environmental Applications." *Nanoscale*.

Yaqoob, Asim Ali, Tabassum Parveen, Khalid Umar, and Mohamad Nasir Mohamad Ibrahim. 2020. "Role of Nanomaterials in the Treatment of Wastewater: A Review." *Water* 12(2): 495.

Yetim, Nurdan Kurnaz, Elvan Hasanoğlu Özkan, and Nurşen Sarı. 2019. "Polimerik Nanoküreler Üzerine Enzim Immobilizasyonu ve Optimizasyonu." *Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science* 14(1): 97–104.

YILDIZ, Sükran, Ayşegül YAVUZ, and Dilek TEKDAL. 2024. "Doğa Ile Teknoloji Arasındaki Mükemmel Uyum: Biyosentez Yolu Ile Nanopartikül Üretimi." *Kadirli Uygulamalı Bilimler Fakültesi Dergisi* 4(2): 521–40.

Yıldız, Sayiter, and Gamze Topal Canbaz. 2024. "MR GRL Boyasının Fenton ve Foto-Fenton Yöntemleri Kullanarak Giderimi." *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 13(3): 1002–8.

Zarenezhad, Elham, Hussein T Abdulabbas, Mahrokh Marzi, Esraa Ghazy, Mohammad Ekrahi, Babak Pezeshki, Abdolmajid Ghasemian, and Amira A Moawad. 2022. “Nickel Nanoparticles: Applications and Antimicrobial Role against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infections.” *Antibiotics* 11(9): 1208.

Zepp, Richard G, Bruce C Faust, and Juerg Hoigne. 1992. “Hydroxyl Radical Formation in Aqueous Reactions (PH 3-8) of Iron (II) with Hydrogen Peroxide: The Photo-Fenton Reaction.” *Environmental science & technology* 26(2): 313–19.

Zhang, Song. 2023. “Recent Advances of Polyphenol Oxidases in Plants.” *Molecules* 28(5). doi:10.3390/molecules28052158.

Zhang, Ting, and Houjin Zhang. 2022. “Microbial Consortia Are Needed to Degrade Soil Pollutants.” *Microorganisms* 10(2): 261.

Zhang, Zhao, Yanhui Li, Qiuju Du, and Qi Li. 2018. “Adsorption of Congo Red from Aqueous Solutions by Porous Soybean Curd Xerogels.” *Polish Journal of Chemical Technology* 20(3): 95–102.

Zhao, Liang, Jichao Fan, Chenchi Gong, Alexis Dyke, Weilu Gao, and Bo Li. 2025. “A Critical Review on Recent Progress of Solution-processed Monolayer Assembly of Nanomaterials and Applications.” *Small* 21(28): 2312268.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Ad-Soyad:	Melisa VİRDİL
Doğum Tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Eğitim	
Lisans:	Necmettin Erbakan Üniversitesi
Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	İyi
Tezden Üretilmiş Yayınlar	