

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİTANYUM DİOKSİT NANOPARTİKÜLÜNÜN *CHLORELLA VULGARIS*  
MİKROALGI ÜZERİNDEKİ LİPİD PEROKSİDASYONUNA VE  
ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Mesut SEZER

Enstitü Anabilim Dalı : ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İ. Ayhan ŞENGİL

Aralık 2019

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİTANYUM DİOKSİT NANOPARTİKÜLÜNÜN *CHLORELLA VULGARIS*  
MİKROALGI ÜZERİNDEKİ LİPİD PEROKSİDASYONUNA VE  
ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mesut SEZER

Enstitü Anabilim Dalı : ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 09.12.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / ~~oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.  
İ. Ayhan ŞENGİL  
Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi  
Fusun BOYSAN  
Üye

Doç. Dr.  
Mustafa CAN  
Üye

## **BEYAN**

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Mesut SEZER

09.12.2019

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesinde ilgi ve desteğini bir an bile esirgemeyen, hem bilimsel hem de sosyal anlamda kendisinden çok şey öğrendiğim, öğrencisi olmaktan her zaman gurur ve mutluluk duyduğum aynı zamanda akademik hayatımda benim için rol model olan çok değerli hocam Prof. Dr. İ. Ayhan ŞENGİL'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında bana destek veren ve her zaman yanımda olan, laboratuvar çalışmalarımı büyük bir titizlikle bana yardım eden çok kıymetli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Füsun BOYSAN ve Öğr. Gör. Dr. N. Pınar TANATTI'ya teşekkür ederim.

Hem tezimin yazımında hem de laboratuvar çalışmalarımı bana yardımcı olan hocalarım Arş. Gör. Gamze KATIRCIOĞLU SINMAZ, Arş. Gör. Meryem AKSU, Arş. Gör. Büşra ERDEN ve Arş. Gör. Muhammed HAS'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deneysel kısımlarında her daim yanımda olup tüm sorularımı en ince ayrıntısına kadar yanıtlayan değerli hocam Arş. Gör. Dr. Hatice TUNCA'ya ve pek kıymetli arkadaşım Yüksek Biyolog Sena Çağatay ÖZPINAR'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında bana yardım eden ve destek veren Umut DURSUN, Ekrem KARATAŞ ve Melisa SIRMA arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY .....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. Nanoteknoloji.....	3
2.2. Nanopartiküller.....	4
2.2.1. Nanopartiküllerin oluşumu.....	5
2.2.2. Nanopartiküllerin kullanım alanları .....	8
2.2.3. Titanyum dioksit .....	11
2.3. Toksikoloji .....	15
2.3.1. Toksikolojik testler.....	15
2.3.2. Ksenobiyotik-biyolojik sistemin etkileşimi .....	16
2.3.3. Nanopartiküllerin toksisitesi .....	17
2.3.3.1. Nanopartiküllerin genotoksitesini etkileyen faktörler. 19	
2.3.3.1.1. Boyut, şekil ve yüzey alanı .....	19
2.3.3.1.2. Aglomerasyon durumu.....	19
2.3.3.1.3. Yüzey yükü ve kimyası.....	20

2.4. Oksidatif Stres .....	21
2.5. Serbest Radikaller .....	22
2.5.1. Serbest radikallerin oluşumu .....	23
2.5.1.1. Kovalent bağlı bir molekülün homolitik bölünmesi .....	23
2.5.1.2. Normal bir molekülden elektron kaybı veya heterolitik bölünme .....	23
2.5.1.3. Normal bir moleküle elektron eklenmesi .....	23
2.5.2. Serbest radikallerin etkileri .....	24
2.5.2.1. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri .....	24
2.5.2.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri .....	24
2.5.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitlere etkileri .....	25
2.5.2.4. Serbest radikallerin lipidlere etkileri .....	26
2.6. Reaktif Oksijen Türleri .....	28
2.6.1. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) .....	28
2.6.2. Hidrojen peroksit radikali ( $H_2O_2$ ) .....	29
2.6.3. Hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) .....	30
2.7. Antioksidanlar .....	31
2.8. Enzimatik Savunma Sistemi .....	32
2.8.1. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	32
2.8.2. Askorbat peroksidaz enzimi (APOD) .....	33
2.9. Mikroalgler .....	34
2.9.1. <i>Chlorella vulgaris</i> .....	36

### BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM .....	38
3.1. Çalışma Materyali .....	38
3.2. Yöntem .....	38
3.2.1. Alg kültürünün geliştirilmesi .....	38
3.2.2. Nanopartikül çözeltisinin hazırlanması .....	39
3.2.3. Klorofil analizi .....	39
3.2.4. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) .....	39
3.2.5. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) .....	40

3.2.6. Malondialdehit (MDA) analizi.....	40
3.2.7. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) analizi.....	41
3.2.8. Lipid ekstraksiyon yöntemi.....	41
3.2.9. Çalışmada uygulanacak lipid analiz yöntemi.....	42
BÖLÜM 4.	
DENEYSEL BULGULAR .....	43
4.1. Nanotitanyum Dioksit Dozunun SOD, APOD Enzim Aktivitesi ve MDA, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Klorofil-a Oluşumu Üzerine Etkisi .....	43
4.2. Aydınlık / Karanlık Oranının SOD, APOD Enzim Aktivitesi Ve MDA, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Klorofil-a Oluşumu Üzerine Etkisi .....	47
4.3. Sürenin SOD, APOD Enzim Aktivitesi ve MDA, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Klorofil- a Oluşumu Üzerine Etkisi .....	51
4.4. Titanyum Dioksit Nanopartikülünün Toplam Lipid Miktarına Etkisi .	54
4.5. Titanyum Dioksit Nanopartikülünün Yağ Asidi Metil Esterlerine Etkisi .....	55
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	56
KAYNAKLAR .....	60
ÖZGEÇMİŞ .....	73

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzdellik İfadesi
AOPP	: İleri Oksijen Protein Ürünleri
APOD	: Askorbat peroksidaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
°C	: Santigrat derece
CaCO <sub>3</sub>	: Kalsiyum karbonat
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
cm	: Santimetre
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
Fe	: Demir
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
L	: Litre
LD	: Letal Doz
m	: Metre
MDA	: Malondialdehit
MDHA	: Monodehidro Askorbat
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
Mn	: Mangan
nm	: Nanometre
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksid radikali
OH <sup>-</sup>	: Hidroksil radikali



pH	: (H <sup>+</sup> ) iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması
ppb	: Toplam madde miktarının milyarda birlik kısmı
ppm	: Toplam madde miktarının milyonda birlik kısmı
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SOD	: Süperoksid dismutaz
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
TiO <sub>2</sub>	: Titanyum dioksit
UV	: Ultraviyole
Zn	: Çinko
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Doğal kaynaklı nanopartiküllerin oluşumu.....	5
Şekil 2.2. İnsan kaynaklı nanopartiküllerin oluşumu.....	7
Şekil 2.3. Mart 2011 envanterine göre nanomateryal içeren tüketici ürünleri.....	9
Şekil 2.4. Mart 2011 envanterine göre nanoteknoloji tüketici ürünlerinde en sık kullanılan maddelerin sayısı .....	9
Şekil 2.5. Nanoparçacıkların akuatik sisteme ulaştığında izleyeceği muhtemel yollar.....	17
Şekil 2.6. Oksidatif denge .....	22
Şekil 2.7. Lipid peroksidasyon oluşumu .....	28
Şekil 4.1. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak toplam SOD aktivitesinde görülen değişim .....	43
Şekil 4.2. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak toplam APOD aktivitesinde görülen değişim .....	44
Şekil 4.3. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> miktarında görülen değişim .....	45
Şekil 4.4. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak MDA miktarında görülen değişim .....	46
Şekil 4.5. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak klorofil-a miktarında görülen değişim .....	47
Şekil 4.6. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak Toplam SOD aktivitesinde görülen değişim.....	48
Şekil 4.7. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak Toplam APOD aktivitesinde görülen değişim...	48

Şekil 4.8. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> miktarında görülen değişim .....	49
Şekil 4.9. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak MDA miktarında görülen değişim .....	50
Şekil 4.10. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak klorofil-a miktarında görülen değişim .....	50
Şekil 4.11. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak Toplam SOD aktivitesinde meydana gelen değişim.....	51
Şekil 4.12. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak Toplam APOD aktivitesinde meydana gelen değişim .....	52
Şekil 4.13. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> miktarında meydana gelen değişim .....	52
Şekil 4.14. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak MDA miktarında meydana gelen değişim .....	53
Şekil 4.15. <i>C. vulgaris</i> algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak klorofil-a miktarında meydana gelen değişim.....	54
Şekil 4.16. Kontrol Grubunun GC-MS Sonuçları.....	55
Şekil 4.17. Nanotitanyum Dioksitli Grubun GC-MS Sonuçları .....	55

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. TiO <sub>2</sub> 'nin temel fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	12
Tablo 2.2. TiO <sub>2</sub> 'nin uygulama alanları .....	12
Tablo 2.3. Bazı biyoyakıt kaynaklarının karşılaştırılması .....	35
Tablo 2.4. Bazı mikroalg türlerinin yağ içeriği.....	36
Tablo 2.5. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in kimyasal kompozisyonu .....	37
Tablo 4.1. Toplam Lipid Miktarları .....	54

## ÖZET

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, SOD, APOD, MDA, lipit, klorofil.

Nanopartiküller boya, gıda, seramik, kağıt, cam, ilaç, plastik, kozmetik, tekstil ve kaplama gibi pek çok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır. Artan kullanım ile çevresel ortamlara yayılımı da artmaktadır. Mikroalgler nanopartiküllerin besin zincirine alımında önemli bir yere sahiptir. Bu zamana kadar nanopartiküllerin mikroalgler üzerindeki toksik etkisiyle ilgili çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada TiO<sub>2</sub> nanopartikülünün *C. vulgaris* mikroalgindeki antioksidan enzim aktivitesine, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, klorofil ve toplam lipid miktarına olan etkisi incelenmiştir. Yapılan doz çalışması sonucunda SOD ve APOD enzim aktivitesi azalış gösterirken, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, klorofil-a miktarında artış meydana gelmiştir. Farklı aydınlık/karanlık oranlarındaki sürelerle bağlı olarak SOD, APOD enzim aktivitesinde ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında hem artış hem de azalış meydana gelmiştir. Klorofil-a miktarında ise artış olmuştur. Süre çalışmasında ise SOD ve APOD enzim aktivitesi artış gösterirken, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında azalma meydana gelmiştir. Klorofil-a miktarı ise artmıştır. Toplam lipid çalışmasında nano TiO<sub>2</sub>'li olan gruptaki toplam lipid miktarı kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Aynı zamanda her iki grupta da yağ asidi metil esteri olarak C18:2 T (linoleik asit) bulunmuştur.

# INVESTIGATION OF THE EFFECT OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLE ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY ON *CHLORELLA VULGARIS* MICROALGAE

## SUMMARY

Keywords: Nanoparticle, SOD, APOD, lipid, chlorophyll.

Nanoparticles are widely used in many industries such as dye, food, ceramics, paper, glass, pharmaceuticals, plastics, cosmetics, textiles and coatings. With increasing usage, its spread to the environment increases. Microalgae have an important role in the introduction of nanoparticles into the food chain.. There are not many studies on the toxic effects of nanoparticles on microalgae. In this study, the effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticle on antioxidant enzyme activity, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chlorophyll and total lipid content in *C. vulgaris* microalgae was investigated. As a result of the dose study, SOD and APOD enzyme activity decreased while MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chlorophyll-a amount increased. Both increase and decrease in SOD, APOD enzyme activity and MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> amount occurred due to different light / dark ratios. The amount of chlorophyll-a increased. In the contact time study, while SOD and APOD enzyme activity increased, MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> amount decreased. The amount of chlorophyll-a increased. In total lipid study, total lipid amount in nano TiO<sub>2</sub> group increased compared to control group. C18: 2 T (linoleic acid) was also found as fatty acid methyl ester in both groups.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Nano kelimesi sözlük anlamı olarak bir ölçü birimi yerine kullanılmaktadır. Bu kelime uzunluk olarak herhangi bir büyüklüğün milyarda biri olarak kullanılmaktadır. Nanopartiküller; boyutları genellikle 1-100 nm arasında olan yapılardır.

Nanoteknoloji; nano boyuttaki nesnelere inceleyen bir bilim dalıdır. Biyoloji, kimya, fizik ve çeşitli mühendislik dallarıyla bir bütün halinde bulunur. Nanoteknoloji uygulamalarıyla birlikte geleneksel materyalin fiziksel ve kimyasal özellikleri değiştirilir. Bu değişiklik geleneksel materyalin nano boyutuna getirilmesiyle yapılır. Böylece mükemmel optik, mekanik ve elektrik özellikleri olan yeni malzemeler üretilmiş olur [1].

Günümüzde nanomalzeme bilimi, çevre sağlığı ve hijyen, eğlence ve elektronik sektörü, biyomedikal araştırmalar, enerji depolanması ve üretimi gibi çeşitli alanlarda nano boyuttaki malzemelerin yeni özelliklerinden faydalanılarak farklı teknolojilerin geliştirilmesine yönelik çok hızlı gelişme gösteren bir endüstri haline gelmiştir [2].

Değişik kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı tasarlanmış nanomateryaller günümüzde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır [3]. Boya sanayisinde kullanılan nanoteknolojik malzemeler ile kendi kendini temizleyebilen, koku giderebilen, koruma yapabilen, antimikrobiyal özelliklere sahip boyalar üretilmiştir. Otomotiv sanayisinde hafif motor üretimi, sürtünmeye karşı direnç gösterebilen boya üretimi, aşınmalara karşı koruyucu özelliklere sahip tabaka üretiminde kullanılmıştır. Ayrıca diş macunu, tıraş losyonu, ruj, güneş kremi, deodorant gibi kişisel bakım ürünlerinde de yaygın olarak nanoteknolojik malzemeler kullanılmaktadır [4].

Nanopartiküllerin tüm bu olumlu özelliklerinin yanında çevreye ve insan sağlığına zararlı olabilecek olumsuz yanları da bulunmaktadır. Nanopartiküllerin hem üretimi hem de kullanımındaki artıştan dolayı ekosistemde yer alan canlılar direk olarak etkilenmektedir. Çünkü büyük yüzey alanına, reaktiviteye ve yüksek katalitik aktiviteye sahip olduklarından dolayı hücreye çok hızlı bir şekilde penetre olup canlı için toksik özellik gösterirler [5]. Fakat bu denli ciddi zararlarına rağmen sucul ortamlarda yaşayan su piresi, alg, balık gibi canlılarla ilgili toksikolojik olarak çok az sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır.

Yapılan bu çalışmada pek çok endüstriyel alanda tercih edilen  $TiO_2$  nanopartiküllerinin süre, doz ve farklı oranlarda aydınlık ve karanlık ışık maruziyeti altında *C. vulgaris* mikroalgi üzerindeki toksik etkisi araştırılarak enzim aktivitesi, klorofil, lipid peroksidasyonu ve lipid oluşumuna etkisinin incelenmesi planlanmıştır.



## **BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Nanoteknoloji**

Nanoteknoloji birçok farklı kaynakta küçük değişikliklerle farklı tanımlara sahip olsa bile hemen hemen çoğu aynı anlama çıkmaktadır. Nanoteknoloji kelimesini ilk kez Norio Taniguchi kullanmıştır. Nanoteknoloji 1974 yılında yayınlanan bir makalede “genel olarak malzemelerin atom ya da molekül molekül işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulmasıdır” şeklinde tanımlamıştır [6].

Genel olarak nanoteknoloji; 100 nm’den daha küçük boyutlardaki nesnelere oluşturmakla ilgilene ve oluşturulan bu nesnelere inceleyen bir bilim dalıdır. 1981 yılında taramalı tünelleme mikroskopunun, 1985 yılında da atomik kuvvet mikroskopunun keşfiyle atomların daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak sağlanmıştır. Bu gelişmelerle beraber 20.yüzyılın sonlarına doğru nanoteknoloji kavramı daha popüler hale gelmiş ve daha önce doğada keşfedilmemiş yeni nano yapıların sentezlenmesi dönemi başlamıştır [7].

Nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte üretilen nanopartiküllerin sağlığa ve çevreye verdiği olası tehlikeler son yıllarda bilim dünyasında kaygı yaratmaktadır. Farklı ülkeler nanoteknolojinin olumsuz etkilerine değişik ölçülerde hassasiyet göstermişlerdir. Örneğin Rusya bu alanda kendini geliştirmiş olmasına rağmen çevre ve insan sağlığı üzerindeki nano malzemelerin etkisi ile ilgili konulara yeteri kadar dikkat etmemiştir [8]. Buna rağmen Avrupa topluluğu ve Amerika Birleşik Devletleri bu sorunları çözmek için sadece bu konuyla ilgili programlar geliştirmiştir [9].

Nanomalzemelerin ve nanoteknolojinin uluslararası düzeyde popülerliğinin artması ile birlikte Avrupa ve ABD’de pek çok sayıda kuruluş bu ürünlerin risk haritasını oluşturmaya başlamıştır [10].

## 2.2. Nanopartiküller

En genel tanım olarak nanopartiküller; boyutları 100 nm ve altında olan tozlardır. Nanoboyutlu malzemelerin ve nanoteknolojinin temelini oluşturan yapı taşıdır. Nanopartiküller yine kendisiyle aynı ismi taşıyan daha büyük boyutlu kimyasallara göre üstün ve farklı özelliklere sahiptir. Bu farklılığın sebebi yüksek yüzey/hacim oranı, yüzey kuantum boyut etkisi, atomlarının benzersiz karakterleridir. Nanopartiküllerin yüzeyindeki atomlar istenildiği şekilde düzenlenebilir. Bundan dolayı birbirinden farklı nanometrik birimlerde üretilebilir ve disk, tel, lif, halka şekline getirilebilir [11].

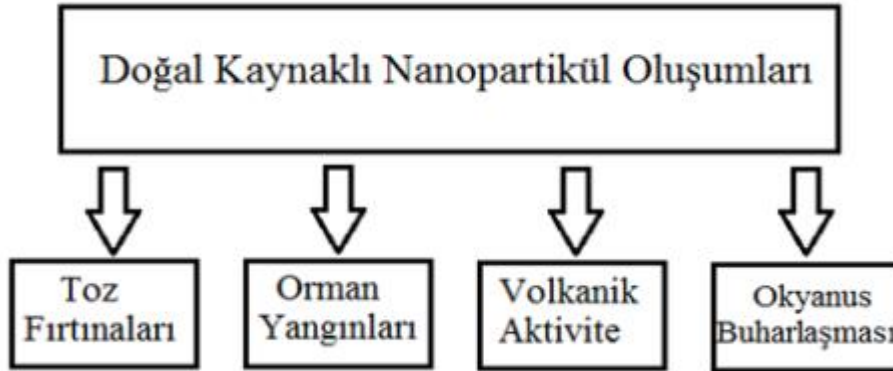
İnsan saç telinin çapı yaklaşık olarak 100.000 nanometredir. Atomlar bakterilerin 1/10000 büyüklüğündedir. Bir bakterinin içerisinde yer alan ribozom 25 nm boyutundayken, DNA ise 2 nm çapında bir boyuta sahiptir. Görüldüğü gibi çok küçük ölçeklerden bahsedilmektedir. Nanoteknoloji aslında atomlarla oynayan bir teknoloji dalıdır. Çünkü atom ve moleküller tek tek manipüle edilerek istenilen yapı meydana getirilir. Burada atomlar birbirinden ayrı olarak işlemlere tabii tutulur ve yaklaşık olarak 100-1000 atom bir araya toplanarak nano boyutta istenilen nesne oluşturulmuş olur [12, 13].

Nanopartiküllerin kendilerine özgü yapıları, yüksek reaktiviteye ve geniş yüzey alanı gibi özelliklerinin geliştirilebildiği için kullanımı artmaktadır. Fakat yüksek reaktiviteye sahip nanopartiküller su içerisinde dağılmaya başladığında yüksek Van der Waals kuvvetleriyle hızla agregasyona uğrayabilir. Böylelikle partiküller yığın(bulk) haline dönüşürler. Bu dönüşümle birlikte nanopartiküller kendilerine has olan fiziksel özelliklerini kaybederler. Bu kayıpların minimuma indirilebilmesi için nanopartiküllerin sürekli olarak stabil halde tutulması gerekmektedir [14, 15].

İlaç, kozmetik, elektronik ve biyomedikal cihazların üretiminde nanopartiküllerin kullanımı popüler hale gelmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda maddelerin nanoboyutta oldukları zaman farklı davranış sergiledikleri bulunmuştur. Örneğin; normal boyutta bir maddenin ışığı veya elektriği iletmediği halde nano boyuta getirildiğinde tam tersi etki gösterdiği, olağan boyutta sert olmayan bir maddenin nano boyuta indirildiğinde elmadan bile daha sert özellik kazanmasından dolayı nanoteknoloji büyük bir önem kazanarak günümüzde üst sıralara kendini taşımıştır [16].

### 2.2.1. Nanopartiküllerin oluşumu

Nanopartiküllerin oluşumları iki şekilde olabilmektedir. Bunlar; insan kaynaklı ve doğal kaynaklı nanopartikül oluşumlarıdır.



Şekil 2.1. Doğal kaynaklı nanopartiküllerin oluşumu [17]

Toz fırtınaları karasal ve Dünya dışı toz fırtınaları olmak üzere iki gruba ayrılır. Çevreye yayılan nanopartiküllerin ana kaynağını karasal toz fırtınaları oluşturmaktadır. Atmosfere verilen nano boyuttaki materyallerin yaklaşık olarak %50'lik bölümü çöl fırtınalarından kaynaklıdır [18]. Nanopartiküller dünyada oluşabileceği gibi dünya dışında da oluşabilmektedir. Ay ve Mars gibi gezegenlerde oluşan nanopartiküller astronotlara ve aynı zamanda birçok ekipmana zarar vermektedir. Özellikle Ay'da oluşan nanopartiküllerin büyük bir kısmı manyetik özellik taşımaktadırlar [19]. Toz fırtınalarından kaynaklı nanopartiküller astım,

anfizem, akciğer yüzeyinde ve dokusunda enflamasyonlara sebep olmaktadır [20]. Ayrıca nanopartiküllere tutunan bakteri, fungal organizma ve virüsler toz fırtınalarıyla birlikte kıtalar arasında taşınabilirler [20, 21].

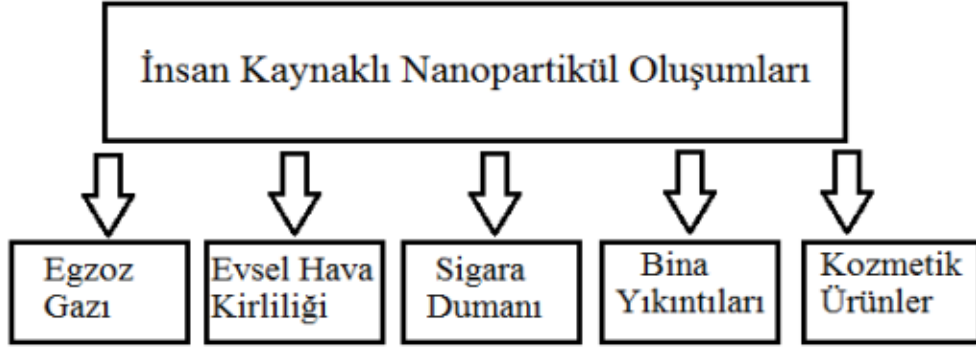
Patlamalar ve volkanik aktivite sonucunda da nano boyuttaki partiküller meydana gelebilir. Bir volkan patladığında yaklaşık olarak 30 milyon ton kül açığa çıkar [20]. Açığa çıkan kül dumanı yaklaşık 18,000 metre yükseğe çıkabilir. Volkanik patlamalar sonucunda toksik özelliğe sahip ağır metaller oluşur [21]. Volkanik patlamalar ile oluşan nanopartiküller solunum organlarında, deride, gözde, lenf sisteminde hastalıklara sebep olmaktadır [22, 23].

Gezeganimiz olduğu günden beri sürekli olarak orman yangınları meydana gelmektedir. Büyük orman yangınları sonucunda açığa çıkan duman ve küller kilometrekarelik alanlara yayılarak nano ölçekte partiküllerin oluşmasına sebep olabilirler [24]. Doğal çevreye zarar veren bu orman yangınları aynı zamanda o bölgede bulunan halkı da tehlikeye sokmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda birkaç hafta süren orman yangınları neticesinde hastanelere başvuran kişi sayısında %50'lik bir artış olduğu gözlemlenmiştir [25].

Denizlerin ve okyanusların buharlaşması sonucunda su ile birlikte deniz tuzu da atmosfere verilmektedir [26]. Deniz tuzunun yapısının belli bir kısmı kalsiyum karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) şeklindedir ve yaklaşık olarak 100 nm boyutundadır [21]. Nano boyuttaki  $\text{CaCO}_3$  ile yapılan araştırmalar neticesinde bu maddenin canlılar için toksik bir etki yaratmadığı tespit edilmiştir. Solunum yolu hastalığına sahip olan hastalarda bu nanopartiküllerin hastalığı tedavi edici etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir [27].

Boyutlarından dolayı virüsler ve bakteriler de doğal kaynaklı nanopartiküller arasında yer almaktadır [21]. İnorganik nanopartiküllerden farklı olarak bu organizmalar kendilerini eşleyebilir ve kendi enerjilerini üretebilirler. Fakat tek hücreli ve çok hücreli canlılar nano boyutta inorganik materyal üretebilmektedir. Örneğin; bazı bakteriler tarafından üretilen manyetik özellikli nanopartiküller bu canlının yön bulmasına kolaylık sağlar. Aynı şekilde tek hücreli bir yapıya sahip olan diyatomların

ürettikleri silisyum da nano boyuttadır [28]. Yapılan araştırmalar sonucunda diyatomların insanlar üzerinde ciddi sağlık sorunlarına yol açtığı bulunmuştur [29].



şekil 2.2. İnsan kaynaklı nanopartiküllerin oluşumu [17]

İnsan kaynaklı nanopartiküllerin büyük bir çoğunluğunu otomobillerden çıkan egzoz gazları oluşurmaktadır [21]. Yapılan çalışmalar sonucunda egzoz gazlarının içerisinde 20-130 nm aralığında partiküllerin olduğu saptanmıştır [30]. Egzoz gazlarının içerisindeki nanopartiküllerin büyük bir kısmı küresel bir yapıya sahiptir [21]. Karayolu trafiğinin yoğun olduğu bölgelerde otomobil gazına maruz kalan kişilerde kardiyopulmoner hastalıklarına yakalanma ihtimalinin fazla olduğu yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir [31].

EPA'nın yapmış olduğu araştırmalara göre evsel hava kirliliğinin çevresel hava kirliliğine kıyasla çok daha fazla olduğunu bildirmiştir. Örneğin; sigara içmek, temizlik ve yemek yapmak dahi evsel nanopartiküllerin oluşmasına neden olmaktadır. Isıtıcı, mum, sigara ve ütülenmiş pamuksu kıyafetler evsel nanopartiküllerin ana kaynağını oluşurmaktadır [32].

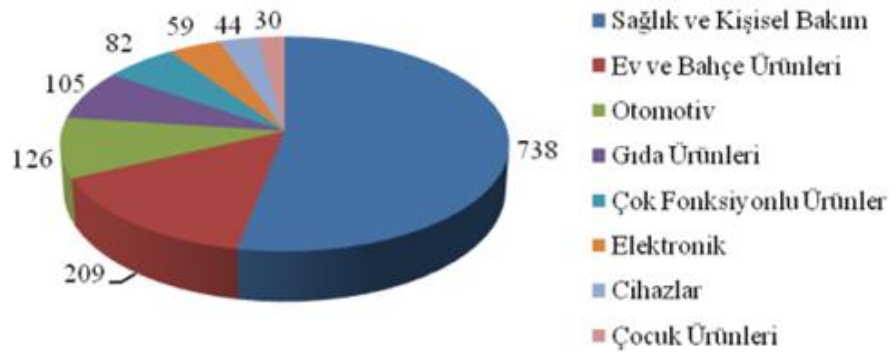
Yapılan araştırmalar sonucunda tütün ve tütün ürünlerinde 10-700 nm aralığında partiküller ve çok fazla çeşitte kimyasal kompozisyonun olduğu bulunmuştur. Sigara dumanındaki gazın içerisinde bulunan nanopartiküller akciğer kanserine, tümör oluşumuna, pankreas kanserine ve genetik mutasyona neden olmaktadır [33, 34].

Ortalama büyüklükte bir bina tamamen yıkıldığı zaman 10  $\mu\text{m}$ 'den daha küçük parçacıklar etrafa saçılır. Yapısında kurşun, cam, asbestos ve daha farklı toksik maddeleri bulunduran yıkıntılar diğer bölgelere ulaşabilir [19]. Örneğin Dünya Ticaret Merkezi saldırı sonucu çevresel bir felaket yaşanmış ve saldırı yerine hem yakın hem de uzak bölgedeki insanlarda öksürme ve bronşiyal hiperaktiviten gibi semptomlar olmuştur [35].

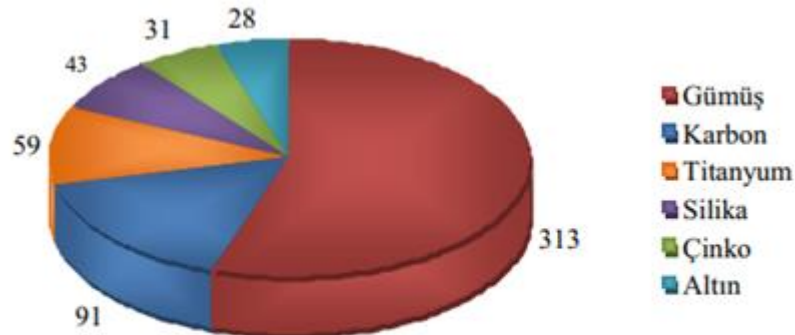
Nanopartiküllerin kozmetik ürünlerde kullanılması eskiye dayanmaktadır. Örneğin; antik Mısır medeniyetinde mineral tozlar kozmetik amaçlı kullanılmıştır [21]. Günümüzde bu kullanım yüzdesi daha da artmıştır. Çünkü kozmetik sektörü bu materyallerden birçok avantaj sağlamaktadır. Boyutlarının çok küçük olmasından dolayı cilt katmanlarının derinlerine inerek bazı besin bileşenlerini cildin istenilen noktalarına taşır. Ayrıca bazı nanopartiküller antioksidan özellik göstererek cildin genç görünmesini sağlar [36]. Bu kadar yaygın kullanımına rağmen bu sektörde kullanılan nanopartiküllerin toksisiteleri ile ilgili yeteri kadar çalışma yapılmamıştır.

### **2.2.2. Nanopartiküllerin kullanım alanları**

Nanoteknoloji günümüzde neredeyse tüm bilimlerle iç içe bir bağlantı halindedir. Özellikle biyoloji, elektronik, malzeme, kimya, fizik ve tıp alanlarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Nanoboyuttaki malzemelerin gelecek yıllarda insan ve sanayii için çok önemli katkıları olacağı öngörülmektedir. Örneğin günümüzde bile en büyük sıkıntılarımızdan biri olan su kaynaklarının yetersizliği nanoteknoloji sayesinde azaltılacaktır [37].



Şekil 2.3. Mart 2011 envanterine göre nanomateryal içeren tüketici ürünleri [5]



Şekil 2.4. Mart 2011 envanterine göre nanoteknoloji tüketici ürünlerinde en sık kullanılan maddelerin sayısı [5]

Binaların dış ve iç cephelerinde koku giderme, kendi kendini temizleyebilme ve yüksek koruma sağlayan boyalarda, yüzey kaplama uygulamalarında, otomotiv sanayisinde hafif motor ve sürtünmeye direçli boya üretiminde, gıda sektöründe gıdaların korunmasında, raf ömrünün uzatılmasında ve ambalajlamasında kullanılmak üzere nanokompozit gıda malzemeleri üretiminde nanoteknolojiden faydalanılmaktadır [38]. Nanoölçekteki malzemeler sağlam, sıcağa karşı dirençli ve hafif olmasından dolayı uzay istasyonlarının ve roket yapımında da kullanılmaktadır.

Çinko oksit ve titanyum oksit nanotozları; kozmetik, kaplama ve boyalar, güneş losyonu gibi ürünlerde ve içme suyunda kontamine edici maddeleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadırlar [4].

Titanyum dioksit nanotozları ayrıca gözlük camlarında çizilmeyi önlemek ve camlara kendi kendini temizleme özelliği kazandırabilmesi için de kullanılmaktadır. Yanma özelliğini daha da kuvvetlendirmek amacıyla havai fişeklerde alüminyum nanotozlar kullanılmaktadır [4].

Elmas nanotozlar optik aletlerde özellikle mercek ve aynalarda yüksek parlaklık kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır [4].

Nanobakır elektriksel materyallerde, askeri malzemelerde ve bilgisayar donanımlarında kullanılmaktadır.

Nanogümüş tekstil endüstrisinde koku önleyici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca antimikrobiyal özelliği de vardır [4].

Nanopartiküller atıksu arıtımı için de kullanılmaktadır. Metal oksit nanomateryalleri nanosorbent ve fotokatalist olarak önerilmektedir [39]. Atıksu arıtımında en çok kullanılan nanomateryaller  $Al_2O_3$ ,  $ZnO$ ,  $TiO_2$ ,  $Fe_3O_4$ ,  $SiO_2$  ve  $CuO$ 'dur. Örnek olarak nano- $TiO_2$  kullanılarak anerobik koşullarda  $Zn$  ve  $Cd$  arıtımı sağlanmıştır [40]. Nano- $ZnO$  kullanılarak  $Pb$  adsorpsiyon ile giderilmiştir [41]. Nano- $Fe_3O_2$  kullanılarak endüstri atıksuyunda fenol giderimini yapılmıştır [42]. Nano- $ZnO$  ve  $SnO_2$  adsorbent olarak kullanılarak sulu çözeltideki krom (VI) ve malahit yeşili oksalatı giderilmiştir [43].

Gıda sektöründe nanoteknolojinin kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Gıda ürünlerinin korunmasında, fizikokimyasal özellikleri üzerinde ve raf ömrünün arttırılmasında önemli bir etkiye sahiptir [44].

Nanoteknolojinin tekstil endüstrisinde kullanılmasıyla üretilen malzemelere antibakteriyel, boyanabilirlik, kırışıklık direnci ve alev giderici gibi pek çok özellik kazandırılır.



Nanoteknoloji ile atık sular arıtılabildiği gibi aynı zamanda suyu kirleten maddeleri ticari nano bazlı sensör kitleri kullanarak algılamak ve onları izlemek için imkan sağlar [45].

Nanopartiküller çürük kontrolünde, dentin hassasiyetinin azaltılmasında, biyofilm oluşumunun önlenmesinde ve kök kanal dezenfeksiyonu gibi pek çok alanlarda diş hekimliğinde kullanılmaktadır. Tüm bu avantajlarının yanında oral ve diğer dokularda toksik etki gibi dezavantajı da vardır [46].

### 2.2.3. Titanyum dioksit

Titanyum doğada en fazla bulunan dokuzuncu elementtir. Dünya kabuğunda bulunan titanyum dioksitin ortalama konsantrasyonu 4400 mg/kg'dır. Çoğu elementlere ve özellikle oksijene yüksek afinitesi vardır. Bu yüzden doğada serbest halde bulunmaz. Oksidasyon durumu ise +4, +3 ve +2 değerlikli durumları vardır [47]. Metalik titanyumun okside olmuş hali  $TiO_2$ 'dir.

Endüstride kullanılan  $TiO_2$ 'in başlıca iki mineral formu anataz ve rutildir. Yapılan çalışmalarda kimyasal olarak anataz formunu rutil formuna göre daha reaktif olduğu bulunmuştur. Hem anataz hem de rutil 6 tane titanyum atomundan meydana gelir [48, 49].

Titanyum metali canlılarda zorunlu olarak bulunması gereken elementler arasında değildir. Yapılan çalışmalarda hayvan hücresinde eser miktarda titanyum olabileceği bulunmuştur [50]. Titanyum çok az miktarda olsa da içme sularında bulunmaktadır [47]. Günlük ortalama olarak bir birey vücuduna 300-400  $\mu g$  titanyum almaktadır. Bu alım hem solunum hem de dermal etkileşim yoluyla olmaktadır. Aynı zamanda ağız yolu ve medikal uygulamalar ile de bu alım gerçekleştirilmektedir [47].

Nanoölçekteki titanyum dioksit molekülleri mor ötesi ışınlarla maruz bırakıldığında reaktif bir hale gelmektedir.  $TiO_2$ 'e mor ötesi ışınlar çarptığında katalitik reaksiyon başlar. Nano- $TiO_2$  molekülleri foto bozunumu hızlandırıp bu sayede nitrojen oksit gibi

kirlilik yapan organik molekülleri ortamdaki uzaklaştırmaktadır. Ayrıca binaların dış yüzeylerinde kullanılan nano-TiO<sub>2</sub>'li boyalar yüzeylere tutunabilecek kir ve bakterileri önlemektedir. Tüm bunların yanında yeraltı ve atıksuların işletilmesinde, sülfür oksit (SO<sub>2</sub>) gibi hava kirlleticilerinin gideriminde de kullanılmaktadır [51].

Nanoölçekteki titanyum dioksit şekerleme sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir çikolata üreticisi tasarlamış olduğu ürünün üzerine titanyum ekleyerek çikolatanın 40 dereceye varan sıcaklıkta bile erimemesini sağlamıştır. Isının artmasıyla birlikte harekete geçen bu koruyucu kısım çikolatanın erimesini önlemektedir [52].

Tablo 2.1. TiO<sub>2</sub>'nin temel fiziksel ve kimyasal özellikleri [53]

Molekül ağırlığı	79.866 g/mol
Yoğunluk	3.78 g/cm <sup>3</sup> (anataz) 4.23 g/cm <sup>3</sup> (rutil)
Erime noktası	1843 °C
Kaynama noktası	2972 °C
Kristal yapısı	Tetragonal (anataz ve rutil) Ortorombik (brokit)
Kırılma indeksi	2.488 (anataz) 2.609 (rutil) 2.583 (brokit)
pH	3-7.5 (%5'lik dispersiyonunun)
Enerji boşluğu	3.05 eV (rutil)
Renk indeksi numarası	CI 77891
Gıda katkı maddesi kodu	E 171
CAS numarası	13463-67-7
EC numarası	236-675-5

Tablo 2.2. TiO<sub>2</sub>'nin uygulama alanları [53]

Uygulama Alanı	Spesifik Kullanımları
Boya	Anataz kristali beyaz boya, vernik, mürekkep imalatında kullanılır.
Gıda	Sakız, kabartma tozu, beyaz leblebi, soslar, süt ürünleri, unlu mamuller ve toz içeceklerin imalatında kullanılır.
Seramik	Mineli seramik üretiminde rutil kristali kullanılır.
Kağıt	Kağıt imalatında opaklaştırıcı olarak kullanılır.
Cam	Cam imalatında opaklaştırıcı olarak kullanılır.
İlaç	Renk verici katkı maddesi ve kaplama maddesi olarak kullanılır.
Plastik	Saydamlaştırıcı olarak kullanılır.
Kozmetik	Güneş kremi ve losyonlarda, diş macunlarında UVA ve UVB ışınlarını önlemede, beyazlaştırıcı, yağlayıcı ve kalınlaştırıcı olarak kullanılır.
Tekstil	Kendi kendini temizleyen kumaş üretiminde kullanılır.
Diş Hekimliği	Bazı kök kanalı dolgusu ve pulpa kaplama maddeleri içinde katkı maddesi olarak kullanılır.
Kaplama	Sırlar ve emayelerde kullanılır.

TiO<sub>2</sub> ile yapılan ilk arıtım çalışması su içerisindeki siyanürün giderimi ile ilgilidir [54]. Yapılan bu ilk çalışmadan itibaren günümüze kadar su içerisinde bulunan organik ve inorganik kirleticilerin giderimiyle alakalı çok sayıda çalışma yapılmıştır.

TiO<sub>2</sub> fotokatalistinin UV ışık altında organik maddeleri parçalayabildiği gibi aynı zamanda antibakteriyel özelliğe de sahiptir. Matsunaga ve ark. (1985), TiO<sub>2</sub>-Pt katalistlerini UV ışık altında aktive edip mikrobiyal özellikteki hücreleri 1 ve 2 saat arasındaki sürelerde etkisiz hale getirerek bu alandaki ilk çalışmayı yapmıştır [55]. Daha sonraki çalışmalarda bakteriler üzerine TiO<sub>2</sub> fotokatalistinin etkisi araştırılmıştır. Maness ve ark. (1999), TiO<sub>2</sub> yüzeyinde oluşan reaktif oksijen türlerinin hücre membranını bozarak lipid peroksidasyon mekanizmasını gerçekleştirdiğini ve bundan dolayı E.coli K-12 hücrelerinin ölümüne neden olduğunu saptamışlardır [56].

Nano-TiO<sub>2</sub> partiküllerinin hücreye kolay bir şekilde giriş yaptığını göstermek amacıyla 2005 yılında yapılan çalışmada sıçanlar bir saat boyunca 22 nm çaplı TiO<sub>2</sub> partiküllerini solumuştur. Deneyden 24 saat sonra sıçanların akciğerleri incelenmiş ve akciğer hücrelerinde TiO<sub>2</sub> partiküllerine rastlanmıştır [57]. 2008 yılında yapılan çalışmada ise alveolar makrofajların nano TiO<sub>2</sub> partiküllerini akciğerlerden temizlemede yetersiz kaldığını gözlemlemişlerdir [58].

Oluşan toksisitenin sadece partiküllerin boyutlarıyla değil aynı zamanda şekilleriyle de ilgilidir. Yamamoto ve ark. (2004) iğnemsiz ve dendritik yapıya sahip partiküllerin sferik yapıdaki partiküllerden daha fazla toksisiteye neden olduğunu göstermiştir [59].

Nurkiewicz ve ark. (2008) ratlar üzerinde yaptıkları deneyde 24 saat boyunca 21 nm'lik ve 1 µm'lik TiO<sub>2</sub> partiküllerinin toksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda ise inhalasyon yolu ile verilen partiküllerin rat üzerinde omuz kası arterlerinde bozukluklara neden olduğunu saptamışlardır. Ayrıca kullanılan TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin TiO<sub>2</sub> mikropartiküllere kıyasla yaklaşık altı kat daha toksik özellik gösterdiği de saptanmıştır [17].

Hsin-Hou Chang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karbon içeren nano TiO<sub>2</sub> görünür ışık altında bile fotokatalitik etkiye sahip olup antimikrobiyal özellik gösterdiğini bulmuşlardır [60].

Kanser hücreleri üzerinde TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin fotokatalitik etkisinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır [61]. TiO<sub>2</sub> nanopartikülün hem tek başına hem de UV ışına ile Ls-174-t insan kolon kanseri hücresine olan etkisi incelenmiştir. Tek başına TiO<sub>2</sub> nanopartikülü ve tek başına UV'nin 30 dakikalık muamele sonucunda hücreler üzerinde aynı etkiyi yaptığı ve kanser hücrelerinin %20'sinin ölümüne neden olduğu gözlenmiştir. Fakat yine 30 dakika boyunca UV ışına ile aktifleştirilmiş olan TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin kanser hücreleri üzerinde daha fazla etki ettiği ve hücrelerin yaklaşık olarak %80'inin ölmesine neden olduğu keşfedilmiştir [62].

TiO<sub>2</sub>'nin toksisite değerlendirilmesinin yapıldığı araştırmada *Daphnia magna* kullanılarak akut ve kronik testleri Zhu ve ark. (2010) tarafından yapılmıştır [63]. Yapılan çalışmada 48 saat TiO<sub>2</sub> ile muamele edilen *Daphnia*'da çok az toksisite meydana gelirken, 72 saat sonunda yüksek toksiste gözlemlenmiştir. 21 günlük kronik maruziyet sonucunda ise yüksek büyüme geriliği ve ölüm gözlemlenmiştir. Böylelikle maruziyet süresinin nanopartikül toksisitesinde önemli bir parametre olduğu ortaya göstermiştir.

Hartmann ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada 10, 30, ve 300 nm boyutlarındaki TiO<sub>2</sub> parçacıklarını kullanarak tatlı su yeşil algı olan *Pseudokirchneriella subcapitata* üzerindeki ekotoksitesini incelemiştir ve bunun sonucunda her üç boyuttaki nanopartiküllerin alg üzerinde büyümesini engelleyici bir etki yaptığı gözlenmiştir [64].

Navarro ve ark. (2008) tarafından TiO<sub>2</sub> nanopartikülünün yeşil alg *Desmodesmus subspicatus* üzerine toksisite etkisinde nanopartikülün spesifik yüzey alanının önemli bir parametre olduğu ifade edilmiştir [65]. Küçük parçacıkların büyük parçacıklara kıyasla çok daha fazla toksisiteye neden olmaktadır [66].

TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerine maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında oksidatif stresten dolayı solungaçlarında hasarlar meydana gelirken beyinlerinde herhangi bir hasar oluşmamıştır. Buradan da anlaşılacağı üzere beyindeki hasar oluşumunda nanopartikülün türü önemli bir faktördür [3].

TiO<sub>2</sub> nanopartikülleri oral yolla alındığında insan sindirim sisteminde biriktiği ve yangılı kolon hastalığına neden olduğu tespit edilmiştir [67].

TiO<sub>2</sub> nanopartikülleri reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olup akciğer kanseri, KOAH ve fibrozis gibi hastalıkların oluşmasını tetiklediği gözlenmiştir [68].

### **2.3. Toksikoloji**

Toksikoloji fiziksel ve kimyasal etmenlerin ekosistem ve canlı organizmalar üzerindeki zararlarını belirleyip, yıkıcı etkilerini inceleyen ve bu etkilerden dolayı meydana gelen riskleri inceleyen bir bilim dalıdır. Zehir bilimi anlamına da gelmektedir. Özellikle son yıllarda çeşitli sektörlerde pek çok kimyasal madde üretilmektedir. Üretilen bu kimyasal maddeleri çok sayıda avantajı olmasına rağmen aynı zamanda çevre ve insan sağlığı için son derece olumsuz etkileri de bulunmaktadır. Nanoteknolojinin de hayatımıza girmesiyle birlikte bu olumsuz etkiye neden olabilecek kimyasallar da artmış bulunmaktadır. Toksikoloji biliminin ana görevleri arasında üretilen bu kimyasal maddelerin toksik özelliklerini belirlemek ve ekosistem açısından meydana getireceği riskleri azaltmaktır [4].

#### **2.3.1. Toksikolojik testler**

Toksik maddelerin meydana getireceği zararlı etkileri belirlemek amacıyla toksisite deneyleri yapılmaktadır. Aynı zamanda su kalitesini ölçmek, atıkların verildiği alıcı ortamları izlemek, toksik maddelerin organizma üzerindeki uyarıcı etkilerini belirlemek için uygulanmaktadır [69]. Bu testler yalnızca canlı organizmalar üzerinde kimyasal maddelerin etkisini belirlemek için yapılmaz. Genellikle bu maddelerin toksik etki göstermeyeceği dozları saptayabilmek amacıyla da uygulanmaktadır [70].

Toksisite testleri test süresine göre kronik ve akut olmak üzere ikiye ayrılır. Akut toksikolojik testlerde deney süresi 24, 48, 72 ve 96 saatlik zaman dilimlerinde yapılır. Örneğin daphnia ve balıklar için deney süresi 24-48 saat iken algler için genellikle 24 saatten daha azdır. Deney süresi deneyde seçilen canlının türüne göre değişebilmektedir. Kronik toksikolojik testlerde ise deney süresi bir hafta ile bir ay arasında seçilmektedir. Seçilen bazı canlılarda daha uzun süreler de tercih edilebilir [71].

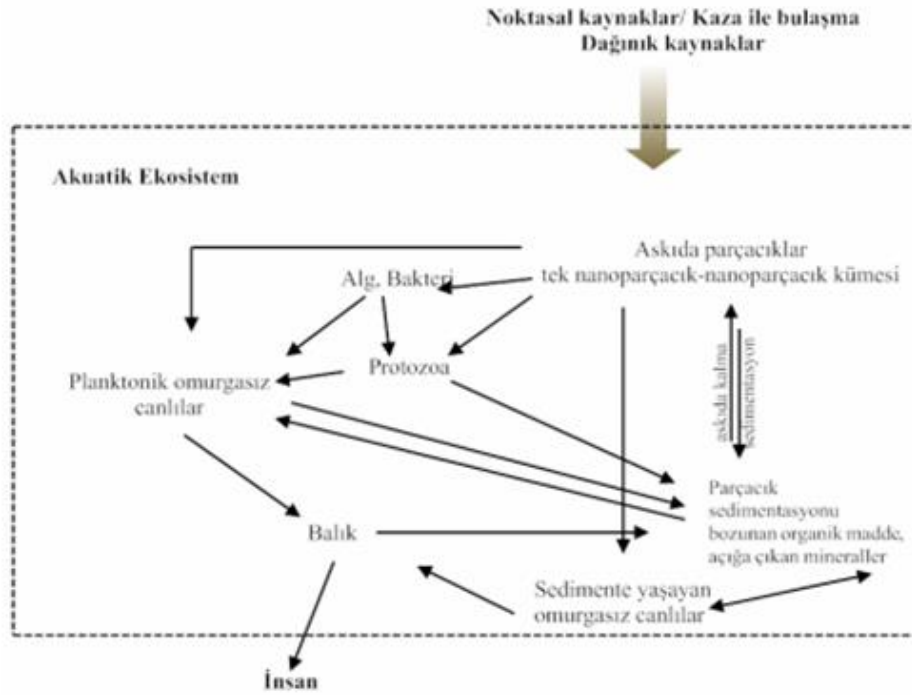
Akut toksisite testlerinde seçilen organizmalar farklı konsantrasyondaki kirletici ortamına bırakılır ve popülasyondaki türlerin %50'sini öldüren doz olarak tanımlanan letal doz (LD50) bulunur. Kronik toksisite testlerinde ise canlının büyümesinin yavaşladığı, üreme yeteneğinin azaldığı ve davranış bozukluklarının meydana gelmesine neden olan doz belirlenir [72].

Seçilecek organizmanın ekosistemi temsil edecek şekilde yerli tür olması gerekir. Türün temininin kolay ve test süresince yeteri sayıda birey temin edilebilmelidir. Tür içi ve türler arasında geniş bir duyarlılığa sahip organizma olmalıdır. Seçilen türün laboratuvar çalışmalına adaptasyon kabiliyeti yüksek ve kültürlerinin de yapılabilir olması gerekmektedir. Aynı zamanda ekonomik ve ekolojik açıdan da öneme sahip olmalıdır [73].

### **2.3.2. Ksenobiyotik-biyolojik sistemin etkileşimi**

Toksik maddeler ekosistem içinde enerji transferi ve madde döngüsü gibi işlevleri bozmaktadır. Birincil üreticilere güneş enerjisinin geçişiyle enerji transferi başlar ve besin zinciri ile son tüketiciye kadar ulaşır. Bu basamaklar arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Herhangi bir basamaktaki organizmanın olumsuz etkilenmesi diğer basamaktaki organizmaların da olumsuz etkilenmesine sebep olacaktır. Aynı şekilde üreticilerin sayısında oluşabilecek azalma diğer üst basamaklardaki organizmaların da sayısının azalmasıyla sonuçlanacaktır. Ekosistemlere ulaşan toksik maddelerin organizmalarla etkileşimi sonucunda DNA ve enzimlerde geri dönüşümü mümkün olmayan bozulmalar, lizozomda parçalanma, hücrede trigliserid birikimi, lipid

peroksidasyonu ve enerji metabolizmasında bozukluklar meydana gelir. Toksik etkenlerin daha da artması meydana gelen bu bozuklukların şiddetini daha da artırarak hücrenin ölümüne neden olur. Toksik maddelerin çevresel ortama girişiyle canlılar üzerinde bazı genetik özelliklerin lehine ya da aleyhinde bazı değişikliklere neden olur. Gen havuzunda oluşan bu değişiklikler popülasyonun yapısını büyük ölçüde etkilemektedir [73].



Şekil 2.5. Nanoparçacıkların akuatik sisteme ulaştığında izleyeceği muhtemel yollar [74]

### 2.3.3. Nanopartiküllerin toksisitesi

Nanopartiküllerin yüzey yükü, şekli ve büyüklüğü, yüzey alanı gibi temel bileşenlerinden dolayı çok çeşitli amaçlarla kullanılarak insan hayatını kolaylaştırmaktadır. Tüm bu faydalarının yanında aynı zamanda tüm canlı sistemlere yayılarak toksik özellik de göstermektedir. Nanopartiküllerin boyutları diğer partiküllere oranla çok daha küçük olduğu için kolay bir şekilde reaksiyona ve hücreye girme eğilimindedirler. Doğal veya endüstriyel yollarla üretilmiş nanopartiküller biyolojik aktivitelerinden dolayı mide, deri ve akciğer gibi sistemlerden giriş yaparak

insan vücuduna ulaşabilir. Hedef organları çoğunlukla böbrek, akciğer, karaciğer ve dalaktır. Bu organlara giriş yaparak toksik etki meydana getirirler [75, 76, 77].

Çevreye bazen bilinçli bir şekilde bazen de kaza ile nanopartiküller atılmaktadır. Uçucu ve aerosol özellikte olan nanopartiküller direkt olarak atmosfere yayılırken polar ve iyonize özellikteki nanoparçacıklar ise suda çözünür. Hidrofobik parçacıklar çökerek toprağa tutunur. Nanoparçacıkların suda yaşayan canlılara ulaşma yolları başlıca solungaçlarına takılma, koku alma organlarına veya epitelyal sınırlarına girme şeklindedir. Nanoparçacıklar sucul biyotada biyolojik olarak birikeceğinden dolayı endişe yaratmaktadır [78].

Nanopartiküller sahip oldukları fiziksel özellikleri itibariyle hücrede reaktif oksijen türlerinin oluşmasını tetikleyebilir ve böylelikle hücrede ciddi hasarlar ile birlikte hücre ölümü meydana gelebilir [79].

Nanopartiküller hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere endositoz ile bağlanarak hücre içine girebilir [80]. Aynı zamanda ara yüzey gerilimi, Van der waals kuvvetleri ve elektrostatik yükler ile (endostatik olmayan yollar) ile de hücre içine giriş yapabilir [57].

Nanomalzemelere maruziyet sonucunda ortaya çıkabilecek tehlikelerin belirlenmesi ve önlem alınması son derece önemlidir. Fakat nanomalzemelerin canlı sistem üzerinde meydana getireceği etkiler hala açık değildir. Yapılan birçok çalışmalara göre toksik etkinin nanomalzemenin boyutuna ve şekline bağlı olduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır [53].

ABD’de Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü (NIOSH) tarafından yapılan çalışmada deney hayvanlarına çözünme özelliği olmayan ve 100 nm’den daha küçük partiküller ile yine aynı konsantrasyonda daha büyük boyutlu partikül verilmiştir. 100 nm’den daha küçük partiküllerin daha büyük olanlara kıyasla akciğer iltihaplanması ve akciğer tümöründe daha fazla artışa neden olduğu bulunmuştur [53].



Nanomateriyaller 100 nm'den daha küçük olduklarından membrandaki porları geçerek nükleusa kadar ulaşabilirler. Burada nanomateriyaller nükleusun içerisine yerleşirse hem DNA hem de DNA ile ilgili proteinlerle etkileşime girer ve bu şekilde genetik materyale zarar verebilir. Sonuç olarak DNA'ya direkt veya direkt olmayan yollarla nanomateriyaller genotoksisiteye neden olmaktadır [81].

### **2.3.3.1. Nanopartiküllerin genotoksisitesini etkileyen faktörler**

#### **2.3.3.1.1. Boyut, şekil ve yüzey alanı**

Nanoboyuttaki materyaller mikron boyuttaki materyallere kıyasla daha fazla biyolojik etki oluşturma eğilimine sahiptirler. Partikül boyutu küçüldükçe birim kütle başına düşen yüzey alanı ve partikül sayısı artmaktadır. Örneğin; 60 µm çapa sahip bir karbon partikülü 0.01 mm<sup>2</sup> yüzey alanına ve 0,3 µg'lık kütleyle sahipken, yine aynı kütleyle sahip 1 milyar tane 60 nm çapındaki karbon partikülünün yüzey alanı 11,3 mm<sup>2</sup> 'dir [5].

Partükülün çapı küçüldükçe yüzey alanının hacmine veya kütlesine oranı artmaktadır. Yüzey alanının artması materyalin katalitik aktivitesinin artmasına neden olmaktadır. Yüzey atomları çoğunlukla doymamış yüksek enerji bağlarına sahiptir. Kararlı duruma geçmek için yüzeydeki bu bağlar diğer moleküllerle reaksiyona girecektir. Nanomateriyallerin yüzey alanları çok büyük olduğu için daha fazla reaksiyona girme eğilimi göstereceklerdir. Bu sebeple mikro boyuttaki materyallere kıyasla daha çok biyomolekülle interaksiyona girerler. Bunun sonucunda hücrede oksidatif stres ve hücrel hasar meydana gelir [82].

#### **2.3.3.1.2. Aglomerasyon durumu**

Nanomateriyaller büyük bir çoğunluğu hidrofobik yani suyu sevmeyen özellik gösterir. Fizyolojik koşullar altında topak (aglomerat) oluştururlar. Agregasyon olması halinde nanomateriyalin gerçek yüzey alanı ve boyutu değişir. Nanomateriyaller in vivo ve in vitro şartlarda agregat formu oluşturur. Genotoksisite testlerindeki hücrel yanıtların büyük bir kısmı aglomeratlı nanomateriyal formunun bir sonucudur.

Hidrofob özelliğe sahip nanomateryallere sürfaktan kullanarak veya yüzeyde kimyasal modifikasyon (fonksiyonelleştirme) işlemi yapılarak hidrofil hale getirilebilir. Fakat bu durum nanomateryallerin genotoksik etkilerini değiştirebilir. Örneğin; yüzey modifikasyonu ile fonksiyonelleştirilen CNT'lerin toksik etkisinin azaldığı tespit edilmiştir [83].

#### **2.3.3.1.3. Yüzey yükü ve kimyası**

Nanomateryallerin deneysel şartlar altındaki davranışlarını anlayabilmek için yüzey karakteristiklerinin bilinmesi gereklidir. Çünkü yüzey yükü iyonik şiddet ve pH gibi faktörlere göre aglomerasyonu da değiştirmektedir [84].

Nanomateryallerin hücre içine alımında yüzey yükünün önemli bir rolü vardır. Plazma membranı fosfolipitlerden dolayı anyoniktir. Bu nedenle katyonik nanomateryaller anyonik nanomateryallere kıyasla daha fazla oranda endositozla hücre içine alındığı düşünülmektedir. Yapılan çoğu çalışmalar bu durumu desteklemektedir. Fakat bu duruma aykırı olan çalışmalar da mevcuttur [85, 86, 87].

DNA yük bakımından negatif yüke sahip olduğu için katyonik nanomateryaller anyonik nanomateryallere kıyasla daha fazla genotoksik özellikte olabileceği düşünülmektedir [82].

Görüldüğü gibi nanomateryallerin hücre içine alımı çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu yüzden nanomateryallerin genotoksik etkileri araştırılırken bu faktörler de göz önünde bulundurularak karakterize edilmelidir. Örneğin, partikülün boyutu, şekli ve agregat boyutu, taramalı ve/veya geçirimli elektron mikroskobu (SEM veya TEM) kullanılarak bilgi alınabilirken, dinamik ışık saçılımı (DLS) tekniği kullanılarak nanopartiküllerin yüzey yükü ve hidrodinamik çapı karakterize edilebilir [88].

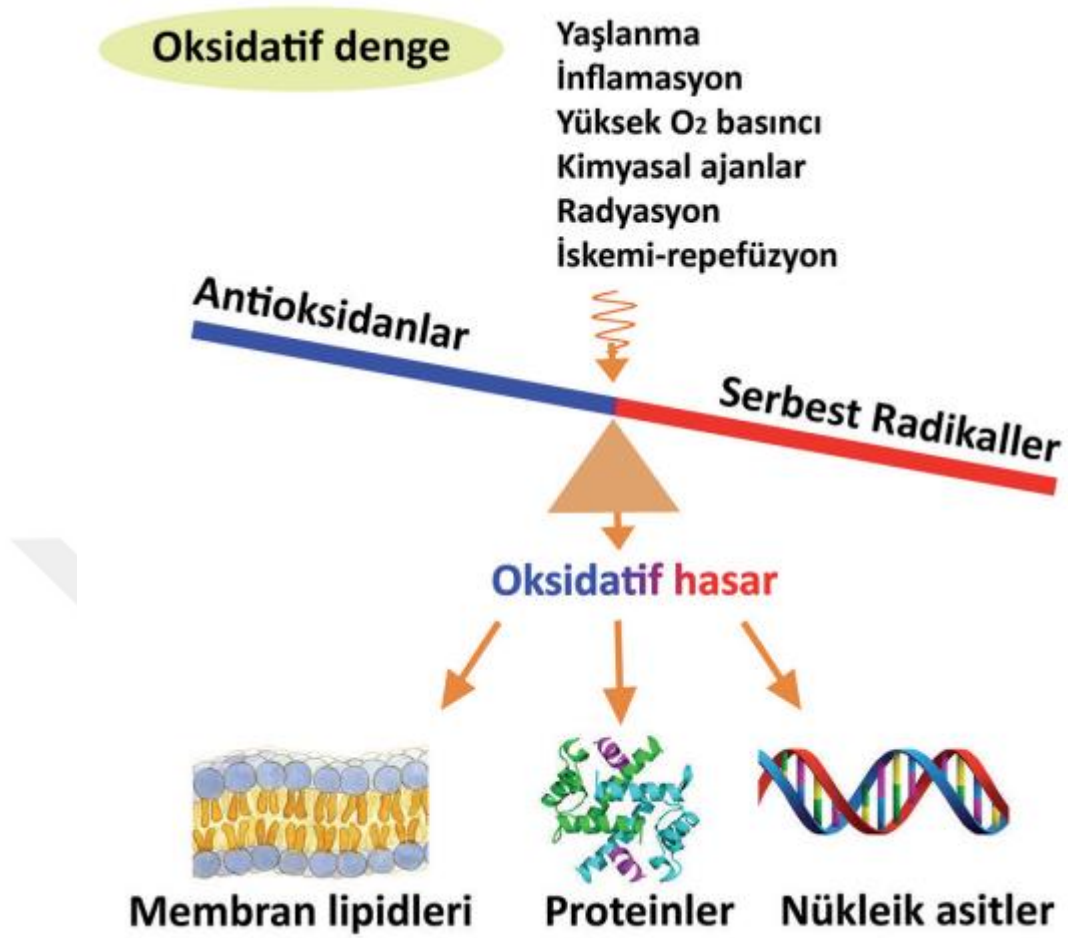
## 2.4. Oksidatif Stres

Organik moleküllerin yapısına katılan oksijen bütün canlılar için önemli bir elementtir. Fotosentetik canlıların faaliyetleri sonucu oluşan bu element atmosferde en fazla miktarda bulunur. Bütün canlı türleri organik molekülün içerisinde yer alan oksijenin türüne ihtiyaç duyarken, serbest formdaki moleküler oksijen her canlı için olumlu bir etki yapmaz. Örneğin aerobik canlılar oksijene bağımlıyken anaerobik canlılar oksijene bağımlı değildirler. Anaerobik canlılar için oksijen toksik etki yapmaktadır. Çünkü oksijenden kaynaklı reaktif oksijen türlerine karşı savunma sistemleri yoktur [89].

Aerobik yaşamda solunum ve enerji metabolizması için oksijen molekülü gereklidir. Oksijen molekül şeklindeyken az aktif bir yapıya sahipken kuraklık, ağır metal, hava kirliliği, nanopartikül, sıcaklık stresi ve herbisitlerin bulunduğu ortamda yüksek derecede toksik ara moleküller oluşturabilir. Toksik ara moleküller normal metabolizma sırasında ve çeşitli çevre şartlarında da oluşabilmektedir [89].

Hücrede normal metabolik yollarla meydana gelen enzimatik reaksiyonlar sonucunda serbest radikaller oluşur. Oluşan bu serbest radikaller bazen enzimlerin aktif bölgelerinden sızabilmektedirler. Sızan serbest radikaller daha sonra moleküler oksijenle tepkimeye girip serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadırlar [90].

Hücrelerde oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), 'antioksidanlar' olarak adlandırılan mekanizmalarla etkisiz hale getirilmektedir. Fakat bazen çok fazla reaktif oksijen türleri (ROS) oluşup hücrenin savunma mekanizması bunları ortadan kaldırmakta yetersiz kalabilmektedir. İşte hücrenin yetersiz kaldığı yani ortamda hala reaktif oksijen türlerinin olması duruma oksidatif stres denilmektedir [91].



Şekil 2.6. Oksidatif denge [92]

## 2.5. Serbest Radikaller

Bir veya birden fazla ortaklanmamış elektrona sahip molekül veya atomlara serbest radikal denir. Bu atom veya moleküller ortaklanmamış elektronunu başka bir moleküle vererek veya başka bir molekülden elektron alarak kararlı bir hale geçme eğiliminde oldukları için son derece reaktiftirler. Elektronlar atomlarda orbital denilen kısımlarda bulunur. Bu orbitallerde birbiriyle zıt yönde dönen en fazla iki elektron bulunmaktadır. Bir orbitalde tek başına bulunan elektrona ortaklanmamış elektron denilmektedir. Biyolojik moleküllerin çoğu ortaklanmamış elektrona sahiptir [93].

## 2.5.1. Serbest radikallerin oluşumu

### 2.5.1.1. Kovalent bağlı bir molekülün homolitik bölünmesi

Hem yüksek sıcaklık (500-600 °C) hem de yüksek enerjiye sahip elektromanyetik dalgalar kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Bu kırılma ile bağ yapısında bulunan iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalabilir. Bu şekilde meydana gelen kırılmaya homolitik kırılma denir. Denklem 2.1’de görüldüğü gibi bu kırılma sonucunda her iki atomun üzerinde paylaşılmamış elektron kalır [89].



### 2.5.1.2. Normal bir molekülden elektron kaybı veya heterolitik bölünme

Radikal özelliğe sahip olmayan bir molekülden tek bir elektronun kaybıyla veya molekülün heterolitik olarak bölünmeyle meydana gelir. Denklem 2.2’de görüldüğü gibi heterolitik bölünmede kovalent bağı meydana getiren her iki elektron da atomlardan birinde kalır. Böylelikle serbest radikal oluşmayıp iyonlar meydana gelir [89].



### 2.5.1.3. Normal bir moleküle elektron eklenmesi

Radikal özelliğe sahip olmayan bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle meydana gelirler (Denklem 2.3). Örneğin, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur [89].



Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller çoğunlukla elektron transferi ile meydana gelir. Serbest radikaller pozitif veya negatif yüklü olabileceği gibi nötral de olabilmektedirler [89].

### **2.5.2. Serbest radikallerin etkileri**

Oksidatif fosforilizasyon ile meydana gelen serbest radikaller hücrede hasara neden olurlar. Serbest radikaller enerji üretimi ve elektron transferi gibi önemli görevlere sahip olduğu için yaşam için gereklidirler. Fakat bu reaksiyonlar kontrolsüz bir şekilde gerçekleştiği zaman hücreye fayda verme yerine zarara sebebiyet olmaktadır [94].

Serbest radikallerin karbonhidratlara, proteinlere, nükleik asitlere ve lipitlere etkisi bulunmaktadır.

#### **2.5.2.1. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri**

Serbest oksijen radikallerinin karbonhidratlar üzerindeki etkisi önemli ölçüdedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda okzoaldehitler, peroksitler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşur. Oluşan bu maddeler sigara içimi ve diabet ile ilgili kronik hastalıkların patolojik oluşumlarında rol almaktadırlar. DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağlar özelliğine sahip olan okzoaldehitler karbonhidratlar üzerinde antimitotik etki gösterirler. Buna bağlı olarak yaşlanma ve kanser gibi mekanizmalarda görev almaktadırlar. Ayrıca karbonhidrat oksidasyonu sonucu oluşan glioksal hücre bölünmesini inhibe etmektedir [95].

#### **2.5.2.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri**

Reaktif oksijen türevleri proteinlerin peptid bağlarıyla ya da aminoasit yan zincirleri ile reaksiyona girerek okside etmektedir. Protein oksidasyonunun belirteci ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP)'dir. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme oranları farklıdır. Örneğin, sülfür ve doymamış bağ içeren proteinler serbest radikallerden çok kolay bir şekilde etkilenmektedirler. Bu tür proteinler serbest

radikallerle etkileştiklerinde sülfür radikaller ve karbon merkezli radikaller oluşur. Oluşan bu radikaller proteinlerin üç boyutlu yapısını bozarak fonksiyon kaybına neden olmaktadır.  $H_2O_2$  ve  $O_2^-$  radikalinin etkisi sonucunda oksihemoglobin methemoglobine dönüşür [95, 96].

Serbest radikallerin proteinlere verdiği hasar sonucunda çapraz bağlanma, fragmentasyon ve protein agregasyonu meydana gelir. Aminoasitlerin kompozisyonu serbest radikallerin proteinlere vereceği hasarın ölçütünü belirlemektedir. Ayrıca radikalın cinsi, toksisite gücü ve proteinin hücresel lokalizasyonu da hasarın boyutunu etkilemektedir [97, 98].

### **2.5.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitlere etkileri**

Hücrede nükleik asitler serbest radikallerin etkilerine karşı kendilerini korumada en zayıf bölgelerden biridir. Serbest radikaller nükleik asitlerin temel yapıdaki çifte sarmalın kırılmasına, moleküller arası çapraz bağlanmalara neden olduğu gibi aynı zamanda yeni şeker ve baz gruplarının eklenmesine neden olmaktadır [99]. DNA'nın yapısında bulunan baz ve şekerler oksidasyona karşı çok hassastırlar. Oksidasyon neticesinde bazların degradasyonu, tek zincirde kırılma ve proteinlere bağlanma gibi olaylar meydana gelir [68, 100].

İyonize edici radyasyon ile meydana gelen serbest radikaller DNA'yı etkileyip hücrede mutasyona ve ölüme sebebiyet vermektedir. Hidroksil radikali ( $OH\bullet$ ) bazlarla ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girebilmektedir. Bu reaksiyon neticesinde hücrede değişiklikler meydana gelmektedir. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ise membranlardan kolayca geçebilme özelliğine sahiptir. Membrandan geçen hidrojen peroksit hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına veya hücrede fonksiyon bozuklukları meydana getirebilir [101].

Eğer hidroksil radikali DNA'ya yakın kısımlarda oluşursa pirimidin ve pürin bazlarına saldırıp mutasyona neden olabilir.

Nükleustaki DNA molekülleri sıkı heliks yapıda olduklarından dolayı serbest radikallerle etkileşimleri sınırlıdır. Eğer etkileşme meydana gelirse oluşan hasar enzimler tarafından onarılır [102].

#### 2.5.2.4. Serbest radikallerin lipidlere etkileri

Lipidler serbest radikallere karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranı çoklu doymamış yağ asitlerince zengindir ve serbest radikallerin etkisine çok kolay bir şekilde maruz kalırlar. Bu tepkime oldukça zararlıdır. Sebebi ise zincirleme olarak ilerlemesinden dolayıdır. Membrandaki doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle çok kolay bir şekilde reaksiyona girdiği tepkimenin sonucunda peroksidasyon ürünleri oluşmaktadır [103].

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımına lipid peroksidasyonu denilmektedir. Membranda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan hasar geri dönüşümsüzdür [103].

Serbest radikallerin hücre membranına saldırması sonucunda membranın stabilizasyonunun ortadan kalkmasıyla hızlı bir biçimde hücre ve dokularda bozulmalar başlar [104].

Hücre membranında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu çoğunlukla yağ asitlerinde bulunan konjuge çift bağlardan bir hidrojen atomunun çıkarılması ile başlar. Böylelikle yağ asidi zinciri artık lipid radikali özelliği kazanmış olur. Oluşan lipid radikali ( $L\bullet$ ) dayanıksız yapıda bir bileşiktir ve bazı değişikliklere uğrar. Lipid radikallerinin ( $L\bullet$ ) moleküler oksijenle ( $O_2$ ) tepkimesi ile lipid peroksit radikalleri ( $LOO\bullet$ ) oluşur. Oluşan lipid peroksit radikalleri ( $LOO\bullet$ ), membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin meydana gelir. Aynı zamanda açığa çıkan hidrojen atomlarını yapılarına alarak lipid peroksitlerine ( $LOOH$ ) dönüştürür. Bu şekilde tepkimeler sürekli olarak tekrarlanır. Lipid peroksidasyonu ile oluşan lipid peroksitlerinin ( $LOOH$ ) yıkımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid

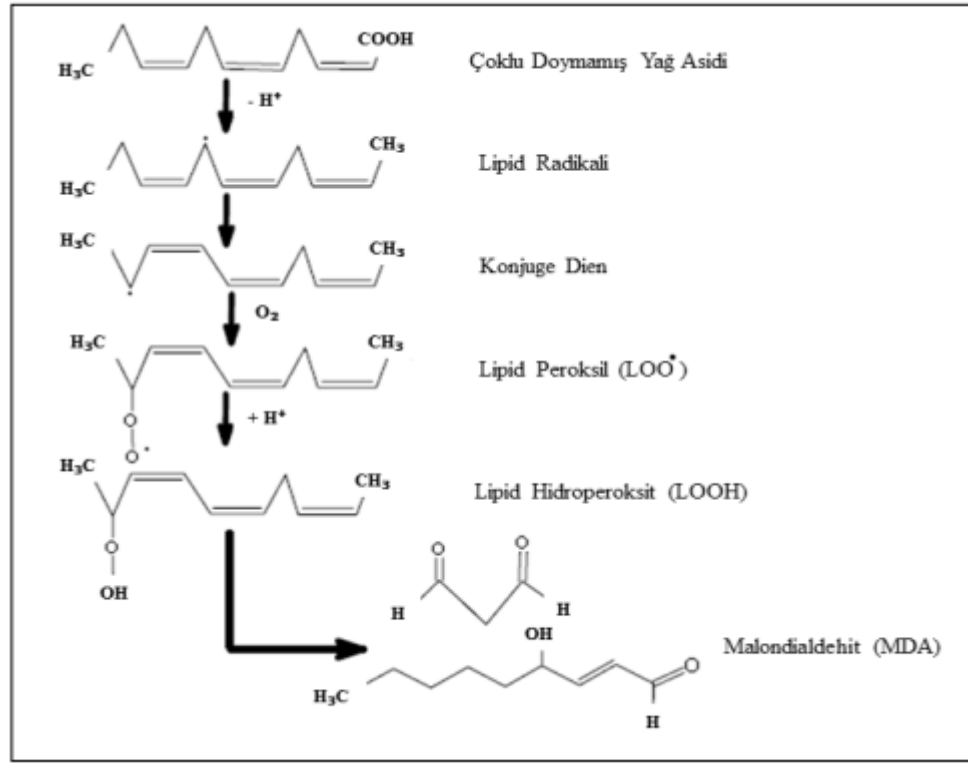


peroksitleri (LOOH) yıkıldığında aldehitler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. Malondialdehit (MDA) yağ asidi oksidasyonunun kantitatif bir indikatörü olmamasına rağmen lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi bir bağlantı gösterir [105, 106, 107].

Lipid peroksidasyonun son bileşiği olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan ve üç karbonlu bir yapıya sahip olan bir dialdehittir. MDA oksidatif durumun göstergesi olarak kullanılmaktadır. Meydana gelen MDA hücrede deformasyon, iyon transportu, hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu ve enzim aktivitesi gibi zar özelliklerinin değişmesine neden olduğu vurgulanmıştır [108].

Lipit peroksidasyonunun sürekli olarak devam ederse antioksidan olan E vitamini sayesinde lipit peroksidasyonu sonlanabilir [108].

Lipid peroksidasyonu ile hücrenin membran bütünlüğü yok olur. Ayrıca hücrenin elektrolitlere permeabilitesinin artmasına neden olur. Hücre içerisine giren kalsiyum ve sodyum iyonlarının geçişi ile hücre ATP tüketir hale gelir. Böylelikle hücrenin enerji mekanizması etkilenmiş olur. Ca iyonlarındaki artış protein ve lipidlerde daha fazla hasar veren proteaz ve fosfolipazı aktive eder [109, 110].



Şekil 2.7. Lipid peroksidasyon oluşumu [111]

## 2.6. Reaktif Oksijen Türleri

### 2.6.1. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

Denklem 2.4 'te görüldüğü gibi moleküler oksijenin ( $O_2$ ), bir elektron almasıyla süperoksit radikali oluşur. Kararsız bir yapıya sahiptir. Fe ve Cu iyonlarının etkisiyle de meydana gelebilirler (Denklem 2.5, 2.6) [112].



Süperoksit radikali oksijen molekülünün farklı bileşikler ile reaksiyona girmesiyle, beyaz kan hücreleri üretimi sırasında oluşabilmektedir.

Süperoksit radikali hem oksitleyici hem de indirgeyici özelliktedir. Bu radikal hücreye direkt olarak zarar vermemektedir. Bu radikal anyonun en önemli özelliği hidrojen peroksitin kaynağıdır. Aynı zamanda geçiş metallere indirgeyicisi olarak görev yapmaktadır [113].

Bu radikal normal şartlarda antioksidan savunma mekanizması ile hızlı bir şekilde ortadan kaldırılabılır. Örneğin sitoplazmada bakır süperoksit dismutaz (Cu-SOD), mitokondride mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) tarafından süperoksit radikali  $H_2O_2$ 'e çevrilir [114].

Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmayan iki elektron bulunmaktadır. Bu elektronlar paylaşılmayıp ayrı orbitallerde buldukları zaman ve spinleri aynı yönde olduğunda en düşük enerji seviyesine sahip olurlar. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul alabilirler. Bu orbitaller eğer tek elektron alırsa ile süperoksit radikali, iki elektron alması ile peroksi anyonu meydana gelir. Meydana gelen peroksi anyonu eğer ortamdan iki proton alırsa hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşturabilir [115].

Süperoksit radikali insanda en fazla üretilen serbest radikal çeşitlerindedir. Ancak bir kere meydana geldiği anda başka serbest radikallerin üretimine neden olur. Lipit, aminoasit ve DNA ile yaptığı reaksiyonlar çok yavaştır. Süperoksit radikalının zararlı yönleri olduğu gibi faydalı tarafları da vardır. Örneğin, fagositik hücreler tarafından üretilmiş olan süperoksit radikali bakterileri öldürmede bu hücrelere yardım etmesinin yanında aynı zamanda kandaki oksijen seviyesinin algılanmasında da önemli bir görevi vardır [116].

### 2.6.2. Hidrojen peroksit radikali ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksitin oluşumu farklı şekillerde olabilmektedir. Bunlardan ilki süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron almasıyla oluşmaktadır (Denklem 2.7).



İkincisi ise moleküler oksijenin çevresinde bulunan moleküllerden iki elektron almasıyla oluşmaktadır (Denklem 2.8) [101].



Bir başka oluşum mekanizması ise şu şekildedir. İlk olarak süperoksit radikali perhidroksi radikalini oluşturmak üzere protonlanır (Denklem 2.9).



Daha sonra oluşan bu perhidroksi radikali ile süperoksit radikali birbiriyle reaksiyona girerek indirgenme ve oksitlenme olur. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucunda oksijen ve hidrojen peroksit oluşur (Denklem 2.10) [101].



Hidrojen peroksit uzun ömürlü bir oksidan olmasının yanında ayrıca moleküler yapısında su bulunmadığı için membrandan geçebilme özelliğine de sahiptir [117].

Hidrojen peroksidin yapısı incelendiğinde paylaşılmamış elektronu bulunmamaktadır. Bu yüzden radikal bir özellik taşımamaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin sebebi ise demir ve bakır metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalini meydana getirmesidir. Bu oksitleyici özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde oluştukları andan itibaren hemen uzaklaştırılması gerekir. Hücrede bu uzaklaştırma görevini antioksidan enzimlerden olan peroksidaz ve katalaz yapmaktadır [118].

### 2.6.3. Hidroksil radikali (OH·)

Hidroksil radikali oksijen radikalleri içerisinde en zararlı ve en reaktif olan türdür. Bu radikal olduğu yerde hangi molekül var ise direk onunla etkileşime girebilecek kapasitededir. Bunun sebebi ise bu radikalın eşlenmemiş elektron bulunduran dış

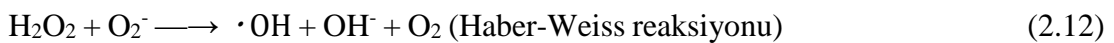
orbitalinin elektron alma ilgisinden dolayıdır. Oluştığı yerde hemen reaksiyona girer [119].

Bu radikal oluştuğu yerlerde büyük hasarlara neden olur. Hücre içinde neredeyse tüm yapılarla reaksiyona girebilir. DNA, protein, karbonhidrat ve fosfolipitler ile reaksiyona girme eğilimi yüksektir. Bu radikal lipid peroksidasyonunu başlatıp hücre zararının geçirgenliğinin artmasına neden olur. Daha ilerleyen aşamalarda ise yapıyı tamamen bozup hücre ölümüne sebebiyet verebilir. Aynı zamanda DNA üzerinde kırılmalara ve aynı zamanda mutajenik etkileri de bulunmaktadır. Radikal olmayan biyolojik moleküller ile reaksiyon verip daha sonra zincirleme reaksiyonlarının meydana gelmesine neden olur [120]. Hidroksil radikali eğer DNA'ya yakın bir yerde oluşursa pirimidin ve pürin gibi bazlara saldırıp mutasyona neden olabilir.

Hidroksil radikali iki şekilde oluşabilmektedir. Bunlardan birincisi Fenton reaksiyonudur. Eğer ortamda Fe, Cu, Mn gibi geçiş metalleri mevcut ise hidrojen peroksit bu metaller ile reaksiyona girip hidroksil radikali oluşabilir (Denklem 2.11) [121].



İkincisi ise Haber-Weiss reaksiyonudur. Ortamdaki hidrojen peroksit süperoksit varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidroksil radikaline dönüşür (Denklem 2.12).



## 2.7. Antioksidanlar

Karbonhidratları, proteinleri, lipitleri, DNA'yı ve diğer oksitlenebilme özelliğine sahip substratları oksidasyondan koruyan maddelere antioksidan denilmektedir. Organik maddelerin oksidasyonu ile serbest radikaller oluşur. Antioksidanlar, serbest radikallerin stabil hale geçebilmeleri için gereksinim duydukları elektronu verirler.

Antioksidanlar hidrojeni verdikten sonra dönüştüğü radikaller kararlıdır ve aynı zamanda oksidasyon zincir reaksiyonlarını durdurabilirler [122].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önleyen veya oluşan bu türlerin sebep olduğu hasarı ortadan kaldırmak için vücutta bir takım savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmasına dahil olan tüm yapılara antioksidanlar denir. Antioksidan savunma sistemi ile peroksidasyon zincir reaksiyonları sonlandırılıp veya zincir reaksiyonuna neden olan reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonu inhibe edilmiş olur. Antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla reaktif oksijen türleri oluşur ve bu durum hücrede oksidatif strese neden olur [95].

## **2.8. Enzimatik Savunma Sistemi**

### **2.8.1. Süperoksit dismütaz (SOD)**

Süperoksit dismütaz katalitik aktivitesi oldukça yüksek olan bir enzim çeşididir. Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunmaktadır. Bu enzimin asıl görevi aerobik organizmaları süperoksitin zararlı etkisine karşı korumaktır. Bu koruma işlevini ise  $O_2^-$  radikalini, serbest oksijen ve  $H_2O_2$ 'ye çevirerek yapmaktadır (Denklem 2.13, 2.14) [123]. Oluşan  $H_2O_2$  fotosentezi inhibe eder ve kloroplastın fonksiyonunu bozucu bir etki yapar.



Bu reaksiyon kendiliğinden de gerçekleşebilir. Fakat SOD varlığında 4000 kat daha hızlı gerçekleşmektedir.

SOD aktifleşmiş oksijen üreten bütün hücre alt yapılarında ve tüm aerobik organizmalarda bulunmaktadır. Oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında önemli bir görevi olduğu düşünülmektedir [124].

SOD'ların aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlarına göre üç gruba ayrılmaktadır. Birincisi Bakır ve Çinko içeren dismutazlar (Cu, Zn SOD)'dır. Bunlar ökaryotların sitoplazmasında, kloroplastlarda ve bazı prokaryotların periplazmasında bulunmaktadır. İkincisi Mangan içeren dismutazlar (Mn-SOD)'dır. İkinci sınıf bakterilerde, arkelerde, mitokondri ve kloroplastlarda bulunur. Üçüncü grup ise Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD)'dır. Bunlar hem aerobik hem de anaerobik bakterilerde, arkelerde ve bitkilerde bulunmaktadır [125].

SOD süperoksiti uzaklaştırarak metallerin katalizlediği Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikalini oluşumunu azaltır. Böylece SOD enziminin aktivitesi hidroksil radikallerini üreten Haber-Weiss reaksiyonunun iki bileşenini belirlemiştir. Hidroksil radikali yüksek reaktiviteye sahip olduğundan dolayı konsantrasyonlarını enzimatik olarak kontrol altına almak oldukça zordur. Canlı organizmalar SOD enzimi yardımıyla süperoksiti parçalayarak hidroksil radikalinin etkisinden kurtulmuş olurlar [126].

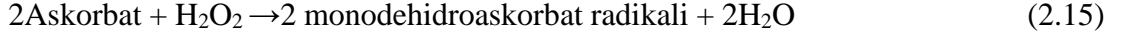
SOD tamamen detoksifiye edici özelliğe sahip bir enzim değildir. Çünkü ürün olarak  $H_2O_2$  oluşmaktadır. Oluşan bu  $H_2O_2$  toksik bir ajandır. Fakat  $O_2^{\cdot-}$ 'in dismutasyonuna giden enzimatik yolun ilk basamağını oluşturmaktadır. İkinci basamak ise katalaza dayanır. Katalaz enzimi sayesinde  $H_2O_2$ 'in suya dönüşümü gerçekleşir [127].

Hücreler normal metabolizma sırasında da yüksek oranda süperoksit üretirler. Fakat süperoksit dismutaz enzimi sayesinde hücre içindeki süperoksit miktarı düşük seviyede tutulur. SOD'nin hücre dışındaki aktivitesi oldukça düşüktür [108].

### **2.8.2. Askorbat peroksidaz enzimi (APOD)**

Askorbat peroksidaz enzimi hidrojen peroksiti parçalamakla görevlidir. Bu enzim parçalama işlemini yaparken substrat olarak askorbatı kullanır. APOD'un bitki hücrelerinde kloroplast ve sitoplazmalarında oluşan  $H_2O_2$ 'yi temizlemesinde etkili olduğu düşünülmektedir [128, 129].

Bitki hücrelerinde oluşan  $H_2O_2$  gideriminde sitosol ve kloroplastta askorbat-glutatyon döngüsü meydana gelerek detoksifikasyon mekanizması gerçekleşmektedir. Bu mekanizma ile  $H_2O_2$  askorbat peroksidaz enzimi vasıtasıyla askorbik asit kullanılarak  $H_2O$ 'ya indirgenmektedir. Bu reaksiyon sonucunda monodihidro askorbat (MDHA) oluşmaktadır (Denklem 2.15) [129].



Oluşan monodehidroaskorbat radikali başka enzimler ile tekrardan askorbata indirgenmektedir. Askorbat peroksidaz peroksizomlarda, kloroplastlarda ve sitozolde bulunur. Tüm askorbat peroksidaz enzimleri elektron vericisi olarak askorbata yüksek özgülük gösterir [113].

## 2.9. Mikroalgler

Plankton su içinde yaşayan, hareket etmek için özel organelleri bulunmayan ancak su hareketleri ile pasif bir şekilde yer değiştirebilen organizmalara denmektedir. Planktonik organizmalar iki gruba ayrılırlar. Bunlar fitoplankton ve zooplankton'dur. Zooplankton hayvansal planktondur. Fitoplankton ise tek veya çok hücreli basit yapıya sahip olan ve klorofil taşıyan bitkisel planktondur. Fitoplanktonların boyu birkaç mikron ( $\mu$ ) ile birkaç yüz  $\mu$  arasında değişen bitkisel organizmalardan oluşmaktadır. Fitoplanktonlar algleri önemli bölümünü oluşturmaktadır [130].

Mikroalgler, karbondioksiti güneş enerjisini kullanarak biyokimyasal maddelere dönüştürebilen fotosentetik mikroorganizmalardır. İnsan ve hayvan solunumunda gerekli olan oksijenin yaklaşık %73 - %87' sinden sorumludurlar.

Algler güneş ışığı altında karbondioksiti alıp oksijeni üretmelerinin yanında aynı zamanda hücrel olarak bünyelerinde tuttıkları değerli metabolitlerin yüksek ticari değere sahip olmasından dolayı da yoğun ilgi görülen bir konu haline gelmiştir [131].



Mikroalgler yüksek yağ içeriğine sahip olmalarının yanında aynı zamanda hızlı büyüme ve üretilebilme özelliğine de sahiptir. Üretilbilmeleri için alan ihtiyaçları düşüktür. Bu özelliği onları yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanma potansiyelini arttırmaktadır. Mikroalglerden biyodizel üretim konusu üzerine yapılan araştırmalar ve çalışmalar her geçen önem kazanmaktadır [132].

Tablo 2.3. Bazı biyoyakıt kaynaklarının karşılaştırılması [133]

ÜRÜN	YAĞ ÜRETİMİ (L/ha)
Mısır	172
Soya	446
Kanola	1190
Jatrofa	1892
Hindistan cevizi	2689
Palmiye	5950
Mikroalg (%70 yağ içerikli)	136900
Mikroalg (%30 yağ içerikli)	58700

Mikroalgler bakterilerle birlikte kirlenmiş sulardaki ağır metalleri ve organik maddeleri giderdiği bilinmektedir. Algler ortamda bulunan ağır metalleri hücrelerinde absorplayarak arıtım sağlamaktadır. Organik maddelerin giderimi ise azotlu ve fosforlu bileşikler gelişmelerinde kullanmaları ile olmaktadır [134].

Mikroalgler fotosentez ile ürettikleri ürünlerin belli bir kısmını nişasta ve yağ şeklinde depolamaktadır. Depoladıkları lipitler çoğunlukla triaçilgliserol formunda olup 16 ve 18 numaralı karbon atomlarınca zengin yağ asidi içermektedir. Mikroalglerin içermiş oldukları yüksek orandaki yağ asidi çeşitleri sayesinde yakıt olarak kullanımına fayda sağlamaktadır. Aynı zamanda yanma noktası, akışkanlık, yoğunluk gibi değerleri petrole oldukça yakındır. Karasal bitkilerle karşılaştırıldığında tüm yıl boyunca üretim imkanının olması, logaritmik üreme fazındaki ikiye katlanma süresinin yaklaşık 3,5 saate kadar kısılması ve kuru ağırlığını % 1- 70'lik kısmını yağ olarak biriktirebilmesi mikroalgleri biyodizel üretiminde ön plana çıkarmaktadır [133, 135].

Tablo 2.4. Bazı mikroalg türlerinin yağ içeriği [133]

Mikroalg	Yağ İçeriği (% Kuru Ağırlık)
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella sp.</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannachloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

Mikroalglerin çeşitli alanlarda kullanımları da mevcuttur. Örneğin, akuakültürdeki karbondioksit ve oksijen dengesini bakterilerle birlikte ayarlamaktadırlar. Kümes hayvanları, böcek ve domuzların yem katkı malzemesi için kullanılmaktadır. Uzayda hava temizleyicisi olarak kullanımı için yapılan çalışmalar mevcuttur. Karbonhidrat, protein, vitamin ve mineral yönünden oldukça zengin olduğundan insan beslenmesinden de önemli bir yere sahiptir. Yapılan çalışmalarda mikroalgin sindirim sistemini desteklediği ve bağışıklık sistemini güçlendirici bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Enerji seviyesini koruduğu için kilo kaybına yardımcı olmaktadır ve bu yüzden bazı diyetlerde destekleyici olarak kullanılır. Radyasyon ve bazı toksik metallerin etkisinden vücudu korur. Mikroalgler aynı zamanda tarımda gübre, toprak iyileştiricisi, havalandırmayı sağlamak, toprağın sürülmesini kolaylaştırmak ve erozyonu azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. [136]

Farklı sanayi alanlarında kullanımlarıyla mikroalgler büyük katkı sağlamaktadırlar. Alkol sanayisinde şarap ve bira berraklaştırmada kullanılmaktadır. Kağıt sanayisinde kağıtların yüzeylerini cilalamakta ve mürekkebin dağılmasını önlemesi amacıyla kullanımı yaygındır. Kozmetik sanayisinde cilt kremleri, losyonlar, saç spreyi ve boyalarında ana madde olarak kullanılırlar. Sabunlarda köpük arttırıcı özelliğe sahiptir.[136]

### 2.9.1. Chlorella vulgaris

Alem : Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm : Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf : Chlorophyceae

Takım: Chlorococcales

Aile : Oocystaceae

Cins : *Chlorella*

Tür : *Chlorella vulgaris*

- Bilinen en eski canlılardandır.
- Tek hücrelidir.
- Küre veya elips şeklindedirler.
- Klorofil taşıyıp fotosentez yaptıklarından dolayı bitkilere benzemektedirler.
- Yapısında bol miktarda protein, mineral, nükleik asit, aminoasit, vitamin, temel yağ asitleri ve karotenoidleri barındırır.
- Tek başına tam bir besin kaynağıdır.
- Klorofilin doğada bilinen en yüksek oranlı kaynağına sahiptir.
- Sığır karaciğerinin içermiş olduğu B12 vitamininden daha fazla miktarda B12 vitamini içerir.
- Hücreler çoğunlukla 5-8,5 mikrometre çapındadır.
- Kuru ağırlığının yaklaşık %50-60'ı protein ve klorofilden oluşmaktadır.
- Yapısında fosfor, iyot, demir, çinko ve kalsiyum da bulunmaktadır
- Ağır metal gideriyle birlikte aynı zamanda azot ve fosfor giderimini sağlayıp atıksu arıtımı özelliğine sahiptir.
- Bitkiler arasında en yüksek üreme hızına sahip algdir.
- pH dengesini sağlamaktadır. Bu yüzden “alkali oluşturan besinlerin kralı” olarak adlandırılır.
- Kanser tedavisi uygulamalarında gelecek vaad etmektedir [137]

Tablo 2.5. *Chlorella vulgaris*'in kimyasal kompozisyonu [138]

Protein	%51-58
Lipit	%14-22
Karbonhidrat	%12-17
Mineral	%5-10

## BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

### 3.1. Çalışma Materyali

Çalışmada, Sakarya Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nden temin edilen 21 nanometre boyutundaki titanyum dioksit kullanılmıştır. *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü ise Sakarya Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'ne ait Su ve Atıksu Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Alg kültürünün geliştirilmesi

Toksikoloji çalışmalarında kullanılacak olan alg hücreleri Sakarya Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Laboratuvarında üretilen *C. vulgaris*'tir.

Alg besi ortamı olarak pH 7,5'te 0,05 g/L MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,03 g/L CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,17 g/L NaNO<sub>3</sub>, 0,17 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 0,04 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,01 mg/L CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 0,01 mg/L CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0,02 mg/L ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1,6 mg/L FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0,4 mg/L MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 4,4 mg/L Na<sub>2</sub>EDTA, 2,5mg/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,1 mg/L thiaminHCl, 6 µg/L Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O, 1,3 µg/L H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 0,05 µg/L biotin ve 0.05 µg/L B12 kullanılmıştır [139]. Algler 500 ml'lik otoklavlanmış erlene 200 ml olarak alınıp aşısı olarak geliştirilmiştir. Büyüme inhibisyon deneyleri boyunca alg hücreleri 12:12 ışıklı-karanlık döngüsü ile 100 µmol foton/m<sup>2</sup>s ışık yoğunluğunda üretilmiştir. Testlerde kullanılacak ışık kaynağı olarak 400-700nm dalga boyu aralığında görünür spektrumda soğutmalı beyaz floresans lambalar kullanılmıştır. Şişeler günde üç kez 8 saat ara ile çalkalanmıştır [140, 141].

Mikroalgler öncelikle BG11 besi yeri kullanılarak, tüpler içinde kültüre edildikten sonra erlenlerde ve daha sonra 5 ve 10 L'lik kaplarda üretime devam edilmiştir.

### 3.2.2. Nanopartikül çözeltisinin hazırlanması

21 nanometre boyutundaki TiO<sub>2</sub> nanopartikülü 1 g/L'lik stok çözeltiler halinde hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler hazırlanırken 30 dakika sonikatör ile homojenize edilmiştir. Stok çözeltiden alg ortamında 1mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyon olacak şekilde eklenmiştir.

### 3.2.3. Klorofil analizi

Klorofil-a ölçümlerinde alg kültürünün 5 ml'si 4000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir ve topaklar pigment ekstraksiyonu için 5 mL HPLC saflığında metanol ile homojenize edilmiştir. Karışım vortex ile kuvvetlice çalkalanmıştır ve 4 °C'de 24 saat bekletilmiştir. Metanol ekstraksiyonu yapılan numunelerde topakların gideriminde 10000 rpm' de 5 dk santrifüjlenmiştir ve supernatant kısım 750, 665 ve 652 nm'de absorpsiyonları UV-Vis spektrofotometre ile okunmuştur. Tüm absorpsiyonlar HPLC saflığında Metanol kullanarak kontrol edilmiştir ve aşağıdaki eşitlikten Chl a hesaplanmıştır [142].

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/L}) = 16,29.(A_{665}-A_{750})-8,54(A_{652}-A_{750})$$

### 3.2.4. Toplam süperoksit dismutaz (SOD)

Toplam SOD aktivitesini belirlemek için Beyer ve Fridovich (1987) metodu kullanılmıştır. 2 mL hacimde alınan kültürler +4°C'de ve 15000 rpm'de 20 dk boyunca santrifüjlendikten sonra elde edilen pellet %2'lik PVP (polivinilpirolidon), 1 mM Sodyum EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA) ve 100 mM potasyun-fosfat (pH = 7.0) içeren çözelti ile ekstrakte edilmiştir. +4 °C'de 14.000 rpm'de 20 dk. santrifüjden sonra süpernatantlar alınmıştır. % 1'lik triton X-100, 100 mM potasyun-fosfat tamponu (pH = 7.8), 5.7x10<sup>-5</sup> M NBT (nitroblue tetrazolyum), 9.9x10<sup>-3</sup> M metionin kullanılarak hazırlanan

reaksiyon çözeltisine son hacim 1030  $\mu\text{L}$  olacak şekilde ilave edilmiştir. Reaksiyonun başlaması için 0.9  $\mu\text{M}$  riboflavin eklenmiştir. Tüpler  $375 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  şiddetindeki ışığa 15 dakika boyunca maruz bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 560 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart grafik kullanılarak bulunmuştur (U/mg protein) [143].

### 3.2.5. Toplam askorbat peroksidaz (APOD)

Toplam APOD aktivitesini belirlemek için Wang ve ark. (1991) metodu kullanılmıştır. 2 mL’lik kültürler  $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 15000 rpm’de 20 dk boyunca santrifüjlendikten sonra elde edilen pellet 1 mM sodyum EDTA ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), 50 mM Tris-HCl (pH = 7.2), % 2’lik PVP ve 2 mM askorbat içeren çözelti ile ekstrakte edilmiştir.  $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 14000 rpm’de 20 dk boyunca santrifüjlendikten sonra süpernatantlar alınmıştır. 100  $\mu\text{g}$  protein içeren enzim karışımı, 2.5 mM askorbat ve 50 mM potasyum-fosfat tamponundan (pH = 6.6) oluşan reaksiyon çözeltisine eklenmiştir. Son hacim 1000  $\mu\text{L}$  olacak şekilde reaksiyon 10 mM hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ilavesiyle başlatılmıştır. Spektrofotometrede 290 nm’de 1 dk boyunca absorbans değerleri alınmıştır. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM/cm.290 nm) ile reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat/dakika/mg protein).

### 3.2.6. Malondialdehit (MDA) analizi

Malondialdehit miktarının belirlemek için Heath ve Packer (1968) metodu kullanılmıştır. 15 mL kültür ortamı  $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 4000 rpm’de 15 dk. boyunca santrifüjlendikten sonra pellet elde edilmiştir. elde edilen bu pellet 5 mL 0.1% triklorikasit (TCA) ( $4^{\circ}\text{C}$ ) ile homojenize edildikten sonra 10 dk boyunca 4100 rpm’de santifürüj edilmiştir. 0.5 mL süpernatant, 1 ml TCA–TBA çözeltisi (15% w/v) (trikloroasetik asit–0.375% w/v tiyobarbitürikasit) ve 0.5 mL 0.1 M Tris–HCl (pH 7.6) ile karıştırılmıştır. Daha sonra 30 dk sıcak su banyosunda ( $95^{\circ}\text{C}$ ) bekletilmiştir. Reaksiyon karışımlarının absorbansları 532 ve 600 nm dalga boyunda ölçülmüş ve MDA miktarı ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır [143].

### 3.2.7. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) analizi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının belirlenmesi Heath ve Packer (1968) metodu kullanılmıştır. 15 mL hacimde alınan kültürler +4°C'de 4000 rpm'de 15 dk. boyunca santrifüjlendikten sonra pellet elde edilmiştir. Elde edilen bu pellet 5 mL 0.1% TCA (4°C) ile homojenize edilmiş ve sonra 4100 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. 0.5 mL süpernatanta, 1 mL 1 M KI (potasyum iyodür) ve 0.5 mL 0.1 M Tris-HCl (pH = 7.6) eklenerek ardından 390 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri belirlenmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı daha önce hazırlanmış olan standart grafik yardımıyla hesaplanmıştır [143].

### 3.2.8. Lipid ekstraksiyon yöntemi

Lipid ekstraksiyonu, hasat edildikten sonra 60 °C'de kurutulan mikroalg kütesinin mikrodalga ve hidrotermal asit uygulamasıyla hücre yapısının bozundurulmasından sonra kloroform/methanol ve hegzan solvent ekstraksiyonu ile yapıldı. Hidrotermal asit uygulaması, %70 nitrik asit ve % 70 sülfürik asit ile yapıldı [144].

Kloroform/methanol ekstraksiyonu ile toplam lipid miktarı bulundu. Ön işlemden sonra yapılan solvent ekstraksiyonunda kloroform/metanol oranları 3/2, 1/1, 2/3, 1/2, 1/3 şeklinde değiştirilerek optimum oran belirlendi. Örnek olarak 1/2'lik oranla çalışma şöyle yapıldı: 10 g numune 10 mL kloroform ve 10 mL metanol ile karıştırılarak homojenize edildi. Karışıma 10 mL kloroform ilave edildi ve 30 s karıştırıldı. Daha sonra 10 mL destile su ilave edilip 30 s daha karıştırıldı. Homojen hale getirilmiş karışım solvent tam olarak geri kazanıncaya kadar filtre edildi. Solvent karışımı bir ayırma hunisine aktarıldı ve fazların tam olarak ayrılması için beklendi. Ayrılan kloroform fazı alındı. Lipid ekstraksiyonu yapıldıktan sonra solvent su banyosunda buharlaştırıldı ve elde edilen yağ sabit tartıma getirilmiş kap içinde tartıldı [144, 145, 146, 147].

### 3.2.9. Çalışmada uygulanacak lipid analiz yöntemi

Mikroalg lipidindeki yağ asitleri metil esterlerine transesterifike edildikten sonra GC-MS (Shimadzu) analiz edildi. Lipid ekstraktının transesterifikasyonu şöyle yapıldı.

Lipid tartıldı. 0,5 mL 0,5M NaOH metanol ilave edildi ve karışım tüp içerisinde 10 dk. 90°C'lik su banyosunda ısıtıldı. Tüp buz banyosunda soğutuldu ve 1,5 mL aşağıdaki esterleştirme karışımı eklendi.

Esterleştirme karışımı: 2 g NH<sub>4</sub>Cl, 60 mL CH<sub>3</sub>OH'a ilave edilir. Takiben 3 mL derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildi. Karışım bir balona konuldu ve elle çalkalanarak 15 dakika geri soğutucuda reflux edildi. Bu reaktif cam kapaklı bir balon jodede saklandı.

Esterleştirme karışımı eklenmiş olan tüp tekrar 90°C'de 10 dk ısıtıldı. Tüp buz banyosunda soğutuldu ve 5 mL n-heptan ve 10 mL saf su eklendi. Test tüpü birkaç kere çalkalandıktan sonra, fazların ayrılması için beklendi. Üstteki faz n-heptanda çözülmüş olan FAME'yi içerir.

Üst faz pastor pipeti ile alınarak bir vialde transfer edildi. GC-MS'de FAME kompozisyonu tayin edildi.

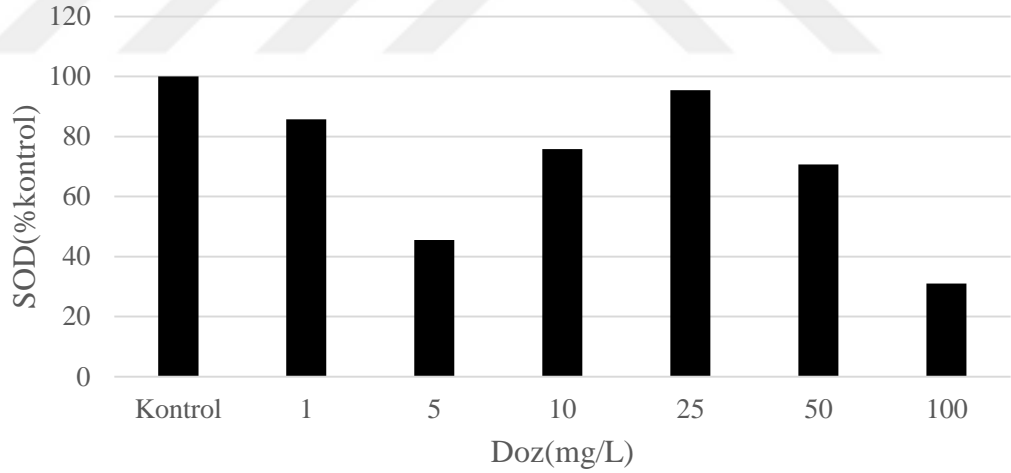
Lipid analizinde uygulanacak GC/MS programı; Kolon Sıcaklığı: 100 °C' de 4dk, sonra 220 °C (3 °C/dk) 36 dk, enjeksiyon sıcaklığı: 225 °C, split oranı 50:1, dedektör sıcaklığı: 225 °C /MS, taşıyıcı gaz: Helyum, kolon basıncı (kPa): 82,5, kolon akışı (ml/dk): 0,33, doğrusal hız (cm/s): 11,8, toplam akış (ml/dk): 20,3 olarak kullanılmıştır [149].



## BÖLÜM 4. DENEYSEL BULGULAR

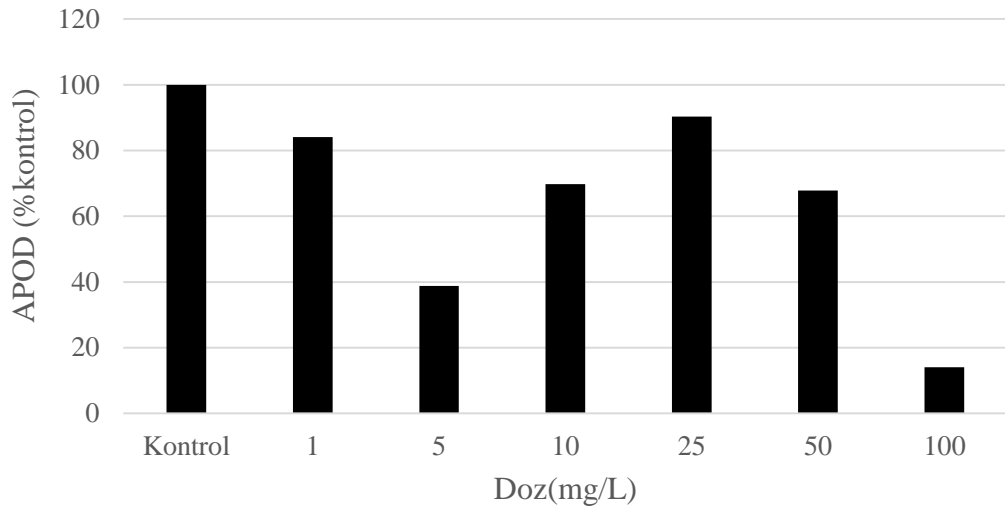
### 4.1. Nanotitanyum Dioksit Dozunun SOD, APOD Enzim Aktivitesi ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Klorofil-a Oluşumu Üzerine Etkisi

1 g/L'lik nanotitanyum dioksit stok çözeltisi kullanılarak 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 mg/L'lik nanotitanyum dioksit içeren alg çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltileri 1 günlük süre boyunca 100  $\mu\text{mol}$  foton/m<sup>2</sup>s ışık şiddetindeki soğutmalı beyaz floresans lambalar altında bekletilmiştir. 1 günün sonunda ise alg çözeltileri alınarak SOD, APOD enzim aktivitesi ile MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klorofil-a miktarları ölçülmüştür. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.



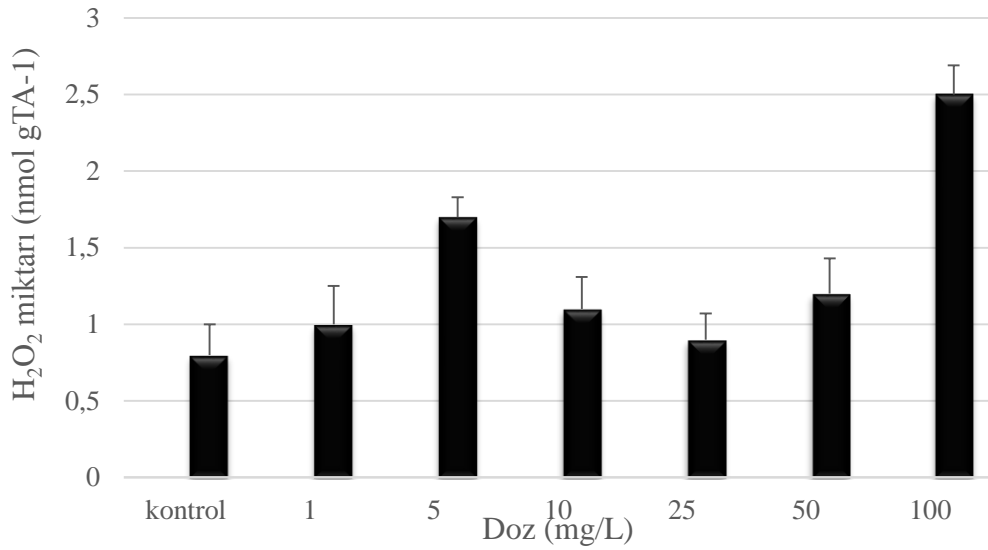
Şekil 4.1. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak toplam SOD aktivitesinde görülen değişim

*C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülünün SOD enzim aktivitesi üzerine olan etkisi Şekil 4.1.'de verilmiştir. 1, 10, 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarında titanyum dioksit nanopartikülünü maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalg kültürlerindeki SOD enzim aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişim göstermemiştir. 5 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



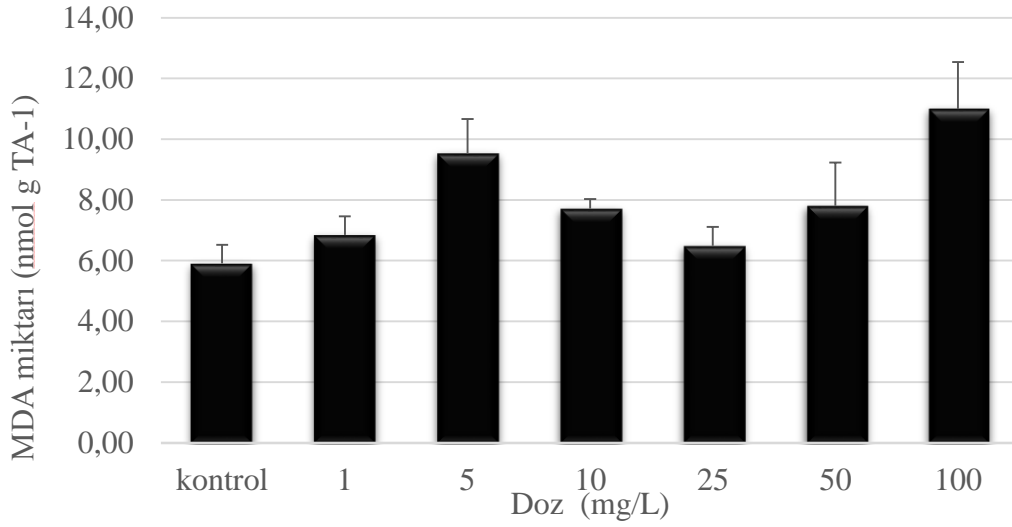
Şekil 4.2. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak toplam APOD aktivitesinde görülen değişim

*C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülünün APOD enzim aktivitesi üzerine olan etkisi Şekil 4.2.'de verilmiştir. 1, 10, 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarında titanyum dioksit nanopartikülünü maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalg kültürlerindeki APOD enzim aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişim göstermemiştir. 5 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



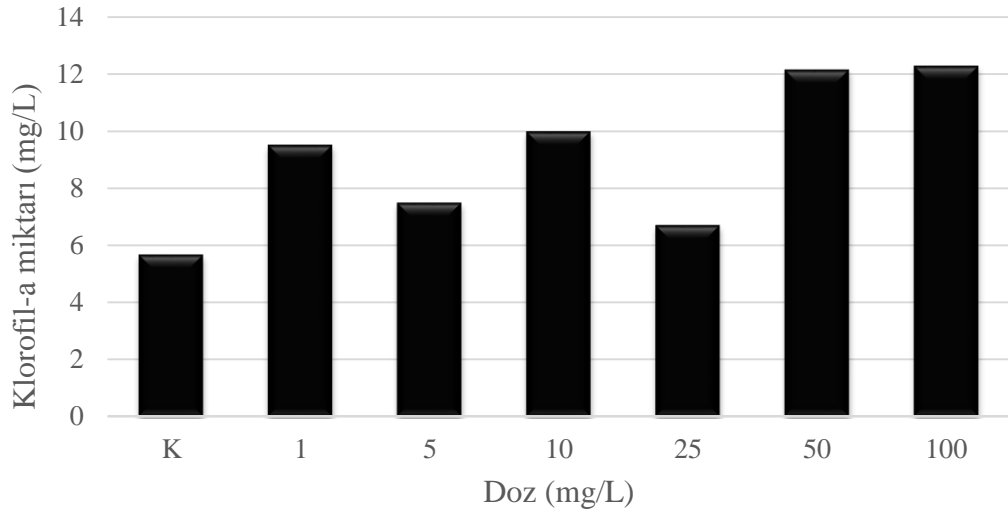
Şekil 4.3. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında görülen değişim

*C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülünün H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarına etkisi Şekil 4.3.'de verilmiştir. 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarında titanyum dioksit nanopartikülünü maruz bırakılan *C.vulgaris* mikroalg kültürlerindeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişim göstermemiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 100 mg/L konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artmıştır ( $p<0,05$ ). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının en yüksek (2,5nmol g TA<sup>-1</sup>) olduğu n-TiO<sub>2</sub> dozu 100 mg/L iken en düşük olduğu miktar (0,95nmol g TA<sup>-1</sup>) ise 25 mg/L n-TiO<sub>2</sub> dozudur.



Şekil 4.4. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak MDA miktarında görülen değişim

*C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülünün MDA miktarına etkisi Şekil 4.4.'de verilmiştir. 1, 5, 10, 25 ve 50 mg/L konsantrasyonlarında titanyum dioksit nanopartikülünü maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalg kültürlerindeki MDA miktarı kontrole göre anlamlı olarak değişim göstermemiştir. MDA miktarı 100 mg/L konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artmıştır ( $p < 0,05$ ). MDA miktarının en yüksek ( $10,99 \text{ nmol g TA}^{-1}$ ) olduğu n-TiO<sub>2</sub> dozu 100 mg/L iken en düşük olduğu miktar ise ( $6,48 \text{ nmol g TA}^{-1}$ ) 25 mg/L n-TiO<sub>2</sub> dozudur.

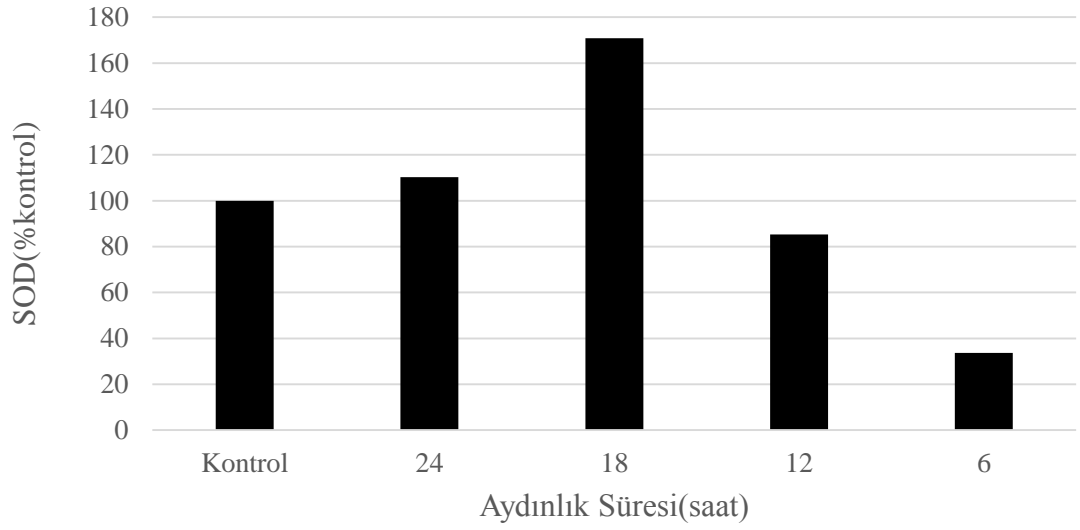


Şekil 4.5. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülüne bağlı olarak klorofil-a miktarında görülen değişim

*C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki titanyum dioksit nanopartikülünün klorofil-a miktarına etkisi Şekil 4.5'te verilmiştir. 1, 10, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalg kültürlerindeki klorofil-a miktarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış göstermiştir. Klorofil-a miktarı 5 ve 25 mg/L konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemiştir ( $p < 0,05$ ). Klorofil-a miktarının en yüksek (12,29 mg/L) olduğu n-TiO<sub>2</sub> dozu 100 mg/L iken en düşük olduğu miktar ise (6,72 mg/L) 25 mg/L n-TiO<sub>2</sub> dozudur.

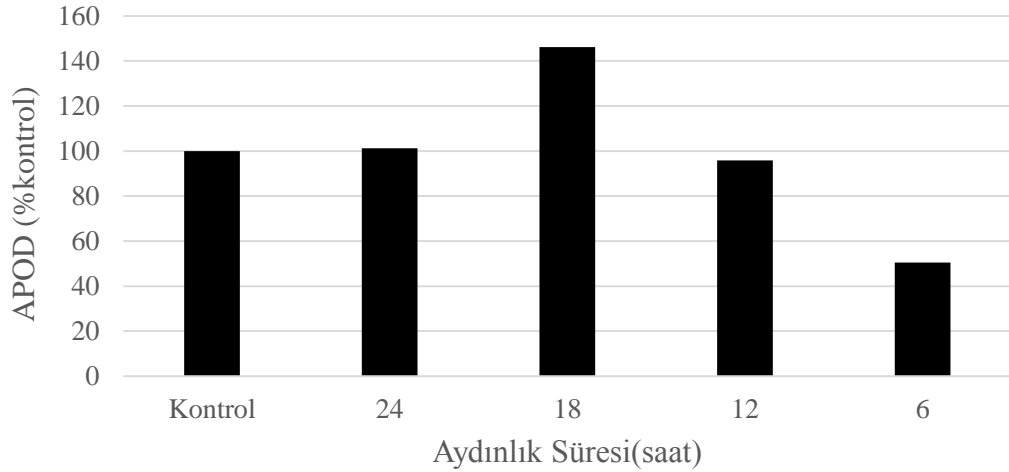
#### 4.2. Aydınlık / Karanlık Oranının SOD, APOD Enzim Aktivitesi Ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Klorofil-a Oluşumu Üzerine Etkisi

1 g/L'lik nanotitanyum dioksit stok çözeltisi kullanılarak 100 mg/L'lik nanotitanyum dioksit içeren alg çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltileri aydınlık ortamın ışık şiddeti 100  $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$  olan soğutmalı beyaz floresans lambalar altında 24 saat aydınlık, 18 saat aydınlık-6 saat karanlık, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ve 6 saat aydınlık- 18 saat karanlık olacak şekilde toplamda 1 günlük süre boyunca bekletilmiştir. 1 günün sonunda ise alg çözeltileri alınarak SOD, APOD enzim aktivitesi ile MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klorofil-a miktarları ölçülmüştür. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır



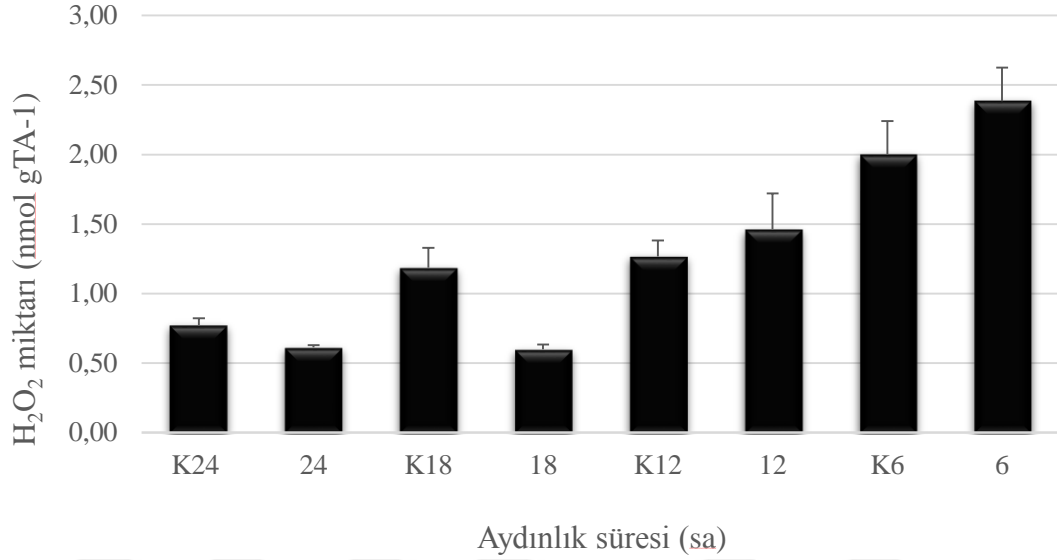
Şekil 4.6. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak Toplam SOD aktivitesinde görülen değişim

Farklı aydınlık / karanlık oranlarındaki sürelerde ışığa maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde SOD enzim aktivitesindeki değişim Şekil 4.6.'da verilmiştir. 18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen enzim aktivitesi anlamlı artış gösterirken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre aktivitede anlamlı azalma meydana gelmiştir ( $p < 0,05$ ).



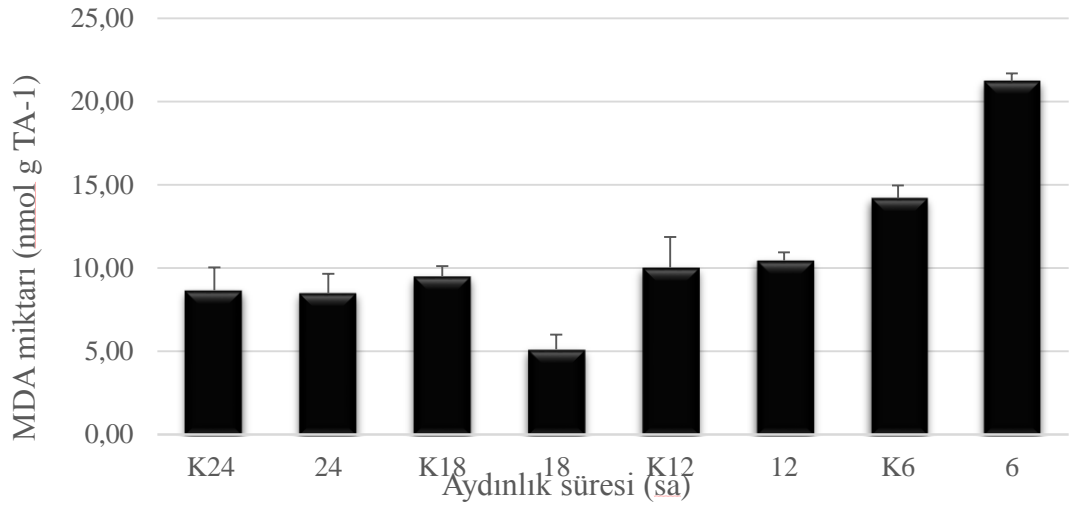
Şekil 4.7. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak Toplam APOD aktivitesinde görülen değişim

Farklı aydınlık / karanlık oranlarındaki sürelerde ışığa maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde APOD enzim aktivitesindeki değişim Şekil 4.7.'de verilmiştir. 18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen enzim aktivitesi anlamlı artış gösterirken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre aktivitede anlamlı azalma meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ).



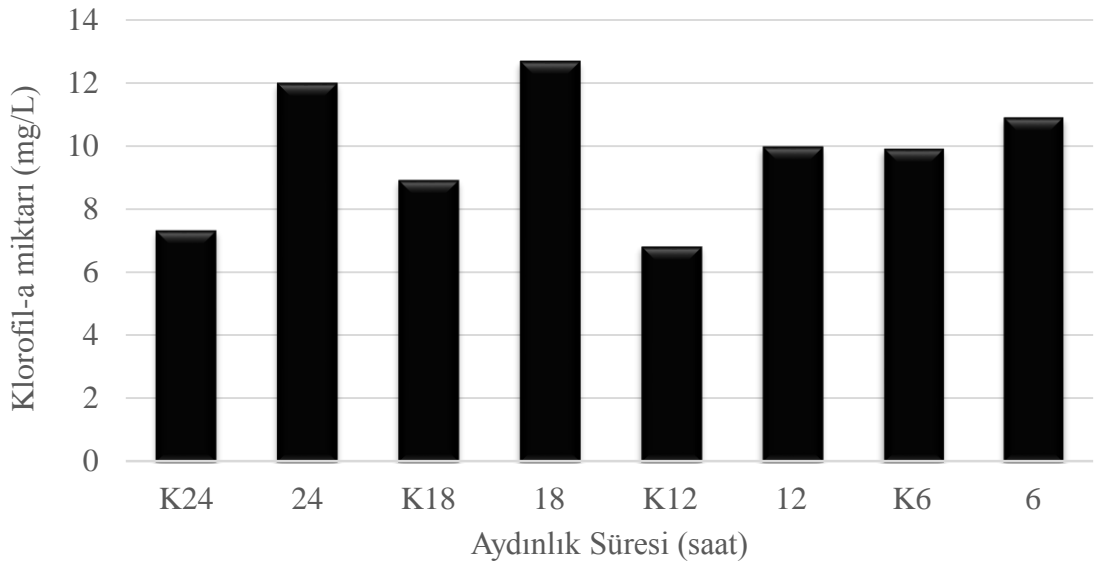
Şekil 4.8. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında görülen değişim

Farklı aydınlık / karanlık oranlarındaki sürelerde ışığa maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarları Şekil 4.8.'de verilmiştir. 18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı anlamlı azalırken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında anlamlı artma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



Şekil 4.9. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak MDA miktarında görülen değişim

Farklı aydınlık / karanlık oranlarındaki sürelerde ışığa maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan MDA miktarları Şekil 4.9.'da verilmiştir. 18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen MDA miktarı anlamlı azalırken, 6 saat aydınlık- 18 saat karanlık olan grupta ise kontrol grubuna göre MDA miktarı anlamlı artma göstermiştir ( $p < 0,05$ ).



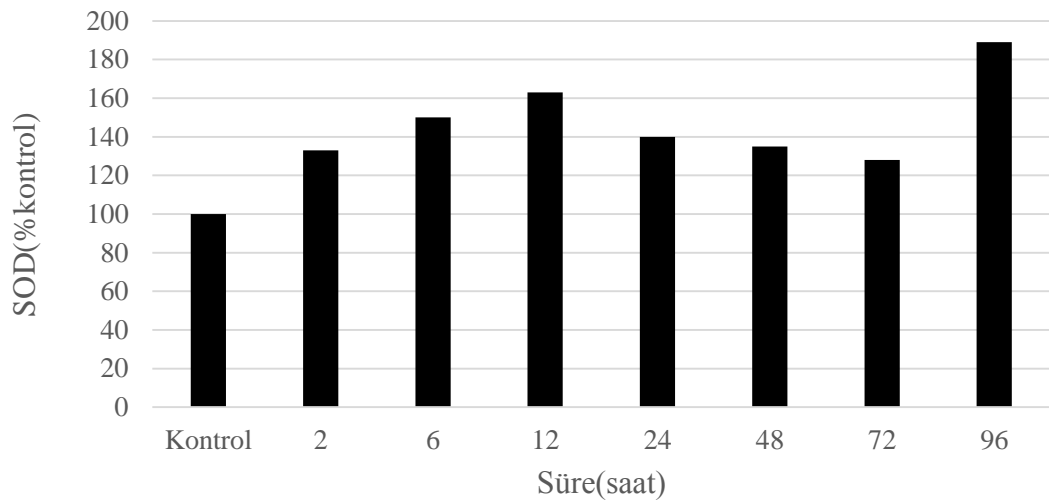
Şekil 4.10. *C. vulgaris* algine uygulanan farklı oranlardaki aydınlık/karanlık sürelerine bağlı olarak klorofil-a miktarında görülen değişim



Farklı aydınlık / karanlık oranlarındaki sürelerde ışığa maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan klorofil-a miktarları Şekil 4.10.'da verilmiştir. 24 saat aydınlık, 18 saat aydınlık-6 saat karanlık, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık olan gruplarda meydana gelen klorofil-a miktarı kontrol grubuna göre anlamlı artarken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı değişim gözlemlenmemiştir ( $p < 0,05$ ).

### 4.3. Sürenin SOD, APOD Enzim Aktivitesi ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Klorofil-a Oluşumu Üzerine Etkisi

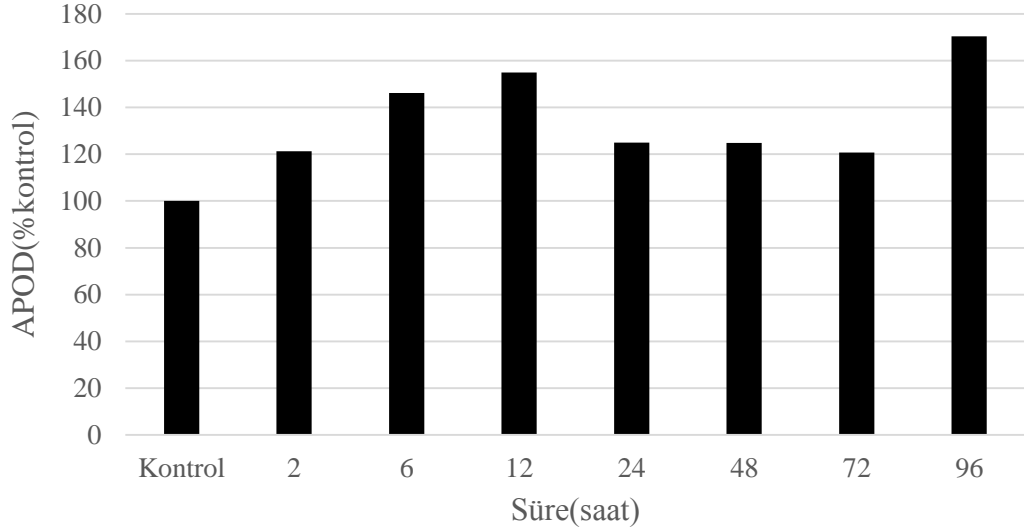
1 g/L'lik nanotitanyum dioksit stok çözeltisi kullanılarak 100 mg/L'lik nanotitanyum dioksit içeren alg çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltileri 2, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat olacak şekilde 100  $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$  ışık şiddetindeki soğutmalı beyaz floresans lambalar ile aydınlatılmıştır. Her bir sürenin sonunda alg çözeltisi alınarak SOD, APOD enzim aktivitesi ile MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klorofil-a miktarları ölçülmüştür. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 4.11. *C. vulgaris* algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak Toplam SOD aktivitesinde meydana gelen değişim

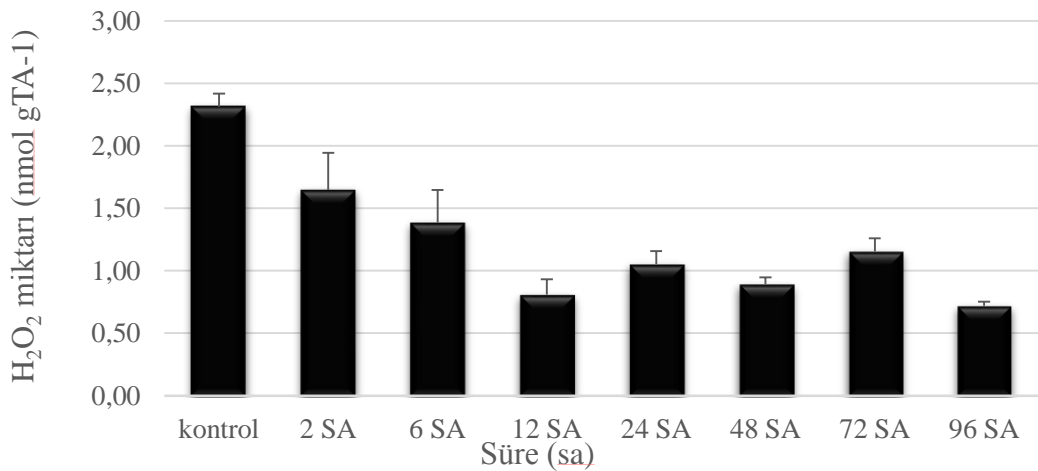
Farklı sürelerde titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde SOD enzim aktivitesinde meydana gelen değişim Şekil 4.11.'de

verilmiştir. 6,12 ve 96 saatlik sürelerde kontrol grubuna göre enzim aktivitesi anlamlı artma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



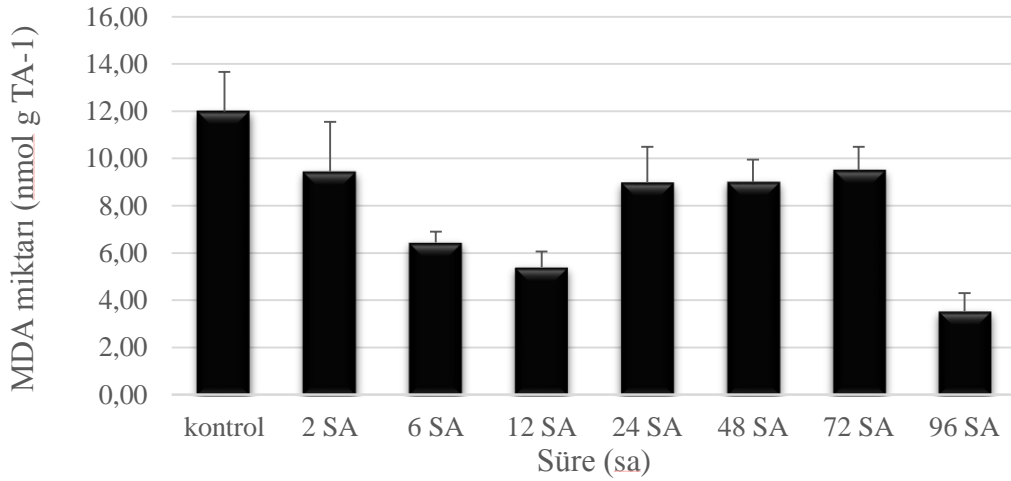
Şekil 4.12. *C. vulgaris* algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak Toplam APOD aktivitesinde meydana gelen değişim

Farklı sürelerde titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde APOD enzim aktivitesinde meydana gelen değişim Şekil 4.12.'de verilmiştir. 6,12 ve 96 saatlik sürelerde kontrol grubuna göre enzim aktivitesi anlamlı artma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



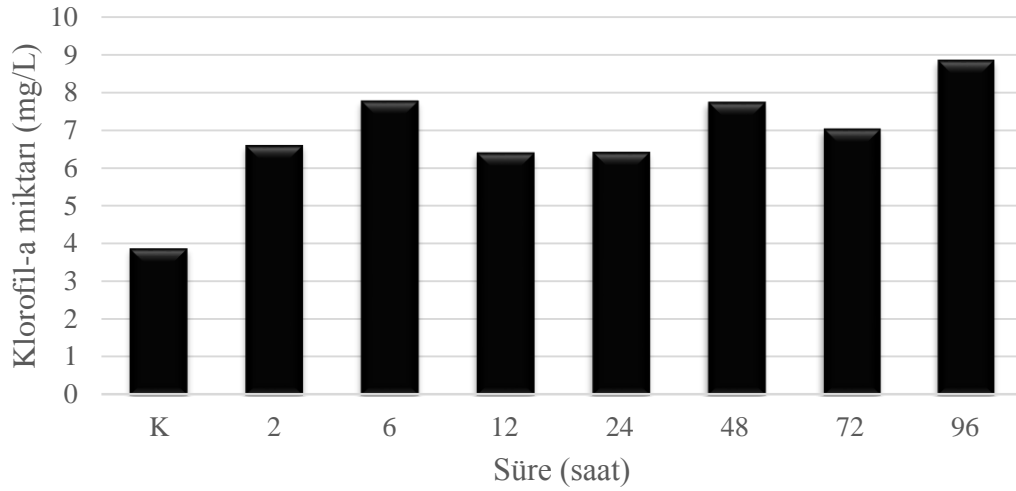
Şekil 4.13. *C. vulgaris* algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında meydana gelen değişim

Farklı sürelerde titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan  $H_2O_2$  miktarları Şekil 4.13.'de verilmiştir. 12 ve 96 saatlik sürelerde kontrol grubuna göre  $H_2O_2$  miktarları anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). En yüksek  $H_2O_2$  miktarı( $1,65\text{nmol g TA}^{-1}$ ) 2 saatlik süre sonunda oluşurken en düşük  $H_2O_2$  miktarı( $0,72\text{nmol g TA}^{-1}$ ) ise 96 saatlik sürenin sonunda oluşmuştur.



Şekil 4.14. *C. vulgaris* algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak MDA miktarında meydana gelen değişim

Farklı sürelerde titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan MDA miktarları Şekil 4.14.'de verilmiştir. 6,12 ve 96 saatlik sürelerde kontrol grubuna göre MDA miktarları anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). En yüksek MDA miktarı( $9,5\text{nmol g TA}^{-1}$ ) 72 saatlik süre sonunda oluşurken en düşük MDA miktarı( $3,54\text{nmol g TA}^{-1}$ ) ise 96 saatlik sürenin sonunda oluşmuştur.



Şekil 4.15. *C. vulgaris* algine uygulanan titanyum dioksit nanopartikülün farklı sürelerle bağlı olarak klorofil-a miktarında meydana gelen değişim

Farklı sürelerde titanyum dioksit nanopartikülüne maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalginde oluşan klorofil-a miktarları Şekil 4.15.'de verilmiştir. Tüm gruplarda kontrol grubuna göre klorofil-a miktarında anlamlı artış meydana gelmiştir ( $p < 0,05$ ). En yüksek klorofil-a miktarı (8,84 mg/L) 96 saatlik süre sonunda oluşurken en düşük klorofil-a miktarı (6,4 mg/L) ise 12 saatlik sürenin sonunda oluşmuştur.

#### 4.4. Titanyum Dioksit Nanopartikülünün Toplam Lipid Miktarına Etkisi

1 g/L'lik nanotitanyum dioksit stok çözeltisi kullanılarak 100 mg/L'lik nanotitanyum dioksit içeren alg çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltileri 1 günlük süre boyunca 100  $\mu\text{mol}$  foton/ $\text{m}^2\text{s}$  ışık şiddetindeki soğutmalı beyaz floresans lambalar altında bekletilmiştir. 1 günün sonunda ise alg çözeltileri alınarak toplam lipid miktarları ölçülmüştür. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

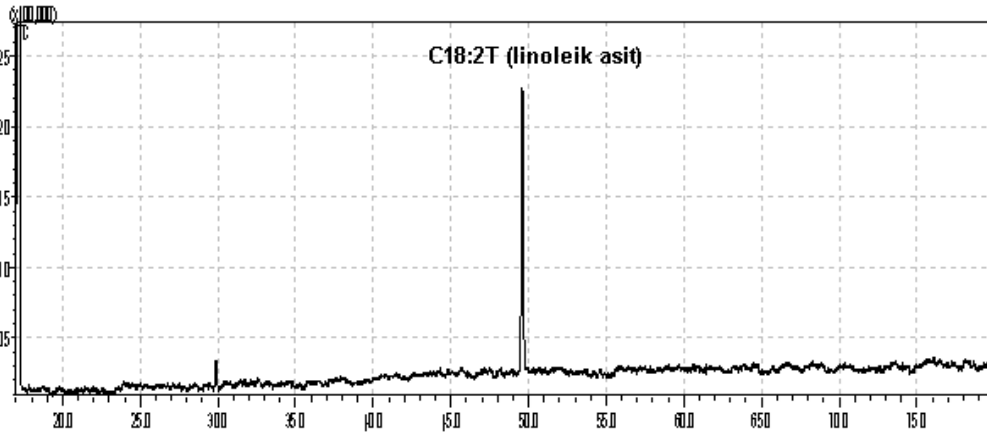
Tablo 4.1. Toplam Lipid Miktarları

Kontrol Grubundaki Toplam Lipid Miktarı	0,1267 gram
Nano $\text{TiO}_2$ 'li Gruptaki Toplam Lipid Miktarı	0,1285 gram

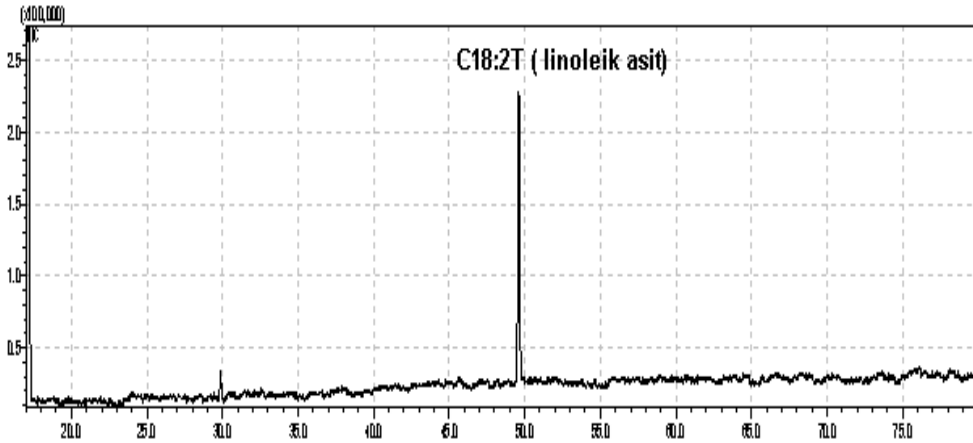
Kontrol grubuna göre toplam lipid miktarı artmıştır.

#### 4.5. Titanyum Dioksit Nanopartikülünün Yağ Asidi Metil Esterlerine Etkisi

1 g/L'lik nanotitanyum dioksit stok çözeltisi kullanılarak 100 mg/L'lik nanotitanyum dioksit içeren alg çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltileri 1 günlük süre boyunca 100  $\mu\text{mol}$  foton/ $\text{m}^2\text{s}$  ışık şiddetindeki soğutmalı beyaz floresans lambalar altında bekletilmiştir. 1 günün sonunda ise alg çözeltileri alınarak GC-MS cihazında yağ asidi metil esterleri ölçülmüştür. Bütün deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 4.16. Kontrol Grubunun GC-MS Sonuçları



Şekil 4.17. Nanotitanyum Dioksitli Grubun GC-MS Sonuçları

Hem kontrol grubunda hem de nanotitanyum dioksitli grupta yağ asidi metil esterleri olarak GC-MS cihazından C18:2T (linoleik asit) okunmuştur.

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu çalışmada *C.vulgaris* mikroalginin üzerine nano titanyum dioksitin farklı sürede, farklı konsantrasyonlarda ve farklı aydınlık/karanlık oranlarındaki sürede etki etmesi sonucu mikroalgin klorofil-a miktarı, toplam lipit miktarı, bazı antioksidan enzimlerin aktiviteleri (süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz) ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve malondialdehit miktarı değerlerinde görülen değişimler incelenmiştir.

Yapılan doz çalışması incelendiğinde SOD ve APOD enzim aktivitesi birbirine paralel olarak 5 mg/L ve 100 mg/L'lik dozlarda kontrol grubuna göre azalış göstermiştir. Li ve ark. (2015) titanyum dioksit nanopartikülünün *K. brevis* algi üzerindeki yaptığı çalışmada 10 mg/L'yi aşan dozlarda SOD enzim aktivitesinin azaldığını rapor etmişlerdir [150]. Yüksek konsantrasyona maruz bırakılan algin SOD ve APOD enzimi inhibe olmaktadır. Bunun sebebi ise titanyum dioksit nanopartikülün SOD ve APOD genine etki etmesi ve yapısını bozmasından ileri gelmektedir.

Yaptığımız çalışmada artan doz ile MDA miktarının da arttığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde *Phaeodactylum tricorutum* algleri ile yapılan bir çalışmada, nano-titanyum dioksit ve sezyum oksit dozunun artmasıyla birlikte MDA miktarı yükselmiştir [142]. Aynı şekilde Li ve ark. (2015) titanyumdioksit nanopartikülünün *K. brevis* algi üzerinde yaptığı incelemeler sonucunda artan konsantrasyonlar ile doğru orantılı olarak MDA miktarının da arttığını tespit etmişlerdir [150]. Ortama verilen nanopartikül, hücre için oksidan bir etkiye sahiptir. Bu nedenle MDA seviyesi, nano-titanyum dozundaki artışa paralel olarak artmaktadır. Bu etki ile üretilen antioksidan enzimlerin yüksek konsantrasyonlarda inhibe olmasına bağlı olarak da MDA miktarı artabilir.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı MDA artışı ile paralellik göstermiştir. Artan doz ile meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı da artmıştır. Li ve ark. (2015) titanyumdioksit nanopartikülünün *K. brevis* algi üzerindeki yaptığı çalışmada dozun artmasıyla birlikte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarın da arttığını rapor etmişlerdir [150]. Bunun sebebi ise APOD enziminin yüksek konsantrasyonlarda inhibe olmasından ileri geldiği düşünülmektedir.

Doz miktarındaki artış ile *C. vulgaris* mikroalgindeki klorofil-a miktarı da artış göstermiştir. Özellikle 50 ve 100 mg/L'lik yüksek konsantrasyonlarda klorofil-a miktarı daha fazla artış göstermiştir. Deng ve ark. (2017) titanyum dioksit nanopartikülünün *Phaeodactylum tricornutum* diatomu üzerindeki yaptığı çalışmada özellikle yüksek dozlarda(10,20 ve 40 mg/L) klorofil-a miktarın arttığını rapor etmişlerdir [142].

Yapılan farklı aydınlık/karanlık oranlarındaki süreler incelendiğinde SOD ve APOD enzim aktivitesinde 18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen enzim aktivitesi anlamlı artış gösterirken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre aktivitede anlamlı azalma meydana gelmiştir. 18 saat aydınlık-6 saat karanlık olan grupta SOD enzim aktivitesinin artmasının nedeni titanyum dioksit nanopartikülünün O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve diğer serbest radikallerin üretimini artırmasından kaynaklanmaktadır. APOD enzim aktivitesinin artmasının nedeni ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in artmasından ileri gelmektedir. 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre aktivitede anlamlı azalma meydana gelmesinin nedeni ise SOD ve APOD enzimlerin inhibe olmasındandır.

18 saat aydınlık- 6 saat karanlık olan grupta meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA miktarı anlamlı azalırken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grup ise kontrol grubuna göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında anlamlı artma göstermiştir. *C. vulgaris*, uzun süreli karanlık ortamlarda fotosentez yapamamaktadır. Böylelikle hücrede oksidatif stres meydana gelmiş olur. Bu da MDA seviyesinin artmasına neden olmaktadır. Antioksidan enzimlerin aktivitesi stres koşulları nedeniyle yavaşladığından dolayı da MDA'da bir artış gözlenmiş olabilir. Böylelikle hücrede membran hasarı oluşmuştur. 18 saat

aydınlık-6 saat karanlık olan grupta MDA'nın azalmasının sebebi ise artan antioksidan enzim aktivitelerinden kaynaklanmaktadır.

24 saat aydınlık, 18 saat aydınlık-6 saat karanlık, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık olan gruplarda meydana gelen klorofil-a miktarı kontrol grubuna göre anlamlı artarken, 6 saat aydınlık-18 saat karanlık olan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı değişim gözlemlenmemiştir. Karanlık ortam koşullarında fotosentetik pigmentlerin aktivitesinin azalmasının nedeni toksik ortam şartlarına bağlı olarak oksidatif stresin meydana gelmiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Yapılan süre çalışmasında ise SOD ve APOD enzim aktivitesi birbirine paralel olarak 6, 12 ve 96. saatlerde kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Li ve ark. (2019) *Alexandrium tamarense* türü üzerinde titanyum dioksit nanopartikülünün oksidatif etkisini incelemişlerdir. İncelemeleri sonucunda süre artışıyla birlikte SOD enzim aktivitesinin de arttığını gözlemlenmiştir [151]. Dauda ve ark. (2017) *Chlorella vulgaris* *Beyerinck* üzerine titanyum dioksit nanopartikülünün oksidatif etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada APOD enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak arttığını tespit etmişlerdir [152]. SOD ve APOD enzim aktivitesinin artmasının nedeni olarak ortamdaki  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve diğer serbest radikallerin üretiminin artırmasından kaynaklanmaktadır.

6,12 ve 96 saatlik sürelerde kontrol grubuna göre MDA miktarı anlamlı azalış gösterirken, 12 ve 96. saatte ise  $H_2O_2$  miktarı anlamlı azalma göstermiştir. Chen ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada *Chlamydomonas reinhardtii* algi üzerine titanyum dioksit nanopartikülünün toksik etkisini araştırmışlardır. Süre artışıyla birlikte MDA miktarının azaldığını tespit etmişlerdir [153]. Bunun sebebi ise hücredeki antioksidan enzimlerin aktivitesiyle kontrol altına alındığı düşünülmektedir. Böylelikle hücredeki lipid peroksidasyonu önlenmiş olmaktadır.

Süre çalışmasında artan maruziyet sürelerine paralel olarak klorofil-a miktarı da kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Chen ve ark. (2012) *Chlamydomonas reinhardtii* algi üzerine titanyum dioksit nanopartikülünün toksik etkisini araştırdığı



çalışmasında artan süreye bağlı olarak klorofil-a konsantrasyonunda da artışların meydana geldiğini bulmuştur [153].

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada artan nanotitanyum dioksit dozuna bağlı olarak SOD ve APOD enzim aktivitesinde azalış meydana gelirken MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klorofil-a miktarında artış gözlemlenmiştir. Farklı aydınlık/karanlık oranlarındaki sürelerle ilgili olarak yapılan çalışmada ise SOD, APOD enzim aktivitesinde ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, klorofil-a miktarında değişiklikler meydana gelmiştir. Nanotitanyum dioksite maruziyet süresi arttıkça SOD ve APOD enzim aktivitesinde artış olurken MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında azalış olmuştur. Klorofil-a miktarında ise artış gözlemlenmiştir. Lipid çalışmasında nano TiO<sub>2</sub>'li olan grupta kontrol grubuna kıyasla lipid miktarında artış olmuştur. Tüm çalışmada meydana gelen enzim aktivitelerinde ve MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarındaki artış veya azalışın sebebi doz, süre ve farklı aydınlık/karanlık oranlarındaki sürelerle ilgili olarak mikroalgın ROS üretme kabiliyetinin değişmesinden ileri gelmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] A. McWilliams, "Bbc Report Highlights. Nanotechnology: A Realistic Market Assessment." 2006.
- [2] V. L. Colvin, "The Potential Environmental Impact Of Engineered Nanomaterials," Nature Biotechnology. 2003.
- [3] G. Federici, B. J. Shaw, And R. D. Handy, "Toxicity Of Titanium Dioxide Nanoparticles To Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*): Gill Injury, Oxidative Stress, And Other Physiological Effects," Aquat. Toxicol., Vol. 84, No. 4, Pp. 415–430, 2007.
- [4] Y. Özkan, "Artemia Salina'da  $TiO_2$ ,  $AgTiO_2$  Ve  $ZnO/TiO_2$  Nanopartiküllerinin Sulu Süspansiyonlarının Toksikitesi, Birikimi Ve Kümeleşmesinin Belirlenmesi," Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2014.
- [5] Funda Demirtaş Korkmaz, "Titanyum Dioksit Ve Çinko Oksit Nanopartiküllerinin In Vitro İnsan Lenfositlerindeki Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi," Gazi Üniversitesi, 2012.
- [6] N. Taniguchi, C. Arakawa, And T. Kobayashi, "On The Basic Concept Of 'nano-Technology'," In Proceedings Of The International Conference On Production Engineering, 1974-8, 1974, Vol. 2, Pp. 18–23.
- [7] T. N. S. Grubu, "Nanobilim Ve Nanoteknoloji Stratejileri Vizyon 2023 Projesi," Ankara, Türkiye, 2004.
- [8] E. Y. Krysanov, D. S. Pavlov, T. B. Demidova, And Y. Y. Dgebuadze, "Effect Of Nanoparticles On Aquatic Organisms," Biol. Bull., Vol. 37, No. 4, Pp. 406–412, 2010.
- [9] R. F. Service, "Calls Rise For More Research On Toxicology Of Nanomaterials," Science (80-. ), Vol. 310, No. 5754, P. 1609, 2005.
- [10] M. R. Wiesner, G. V Lowry, P. Alvarez, D. Dionysiou, And P. Biswas, "Assessing The Risks Of Manufactured Nanomaterials." Acs Publications, 2006.
- [11] M. Özkaleli, "Ticari Nanopartiküllerin *P. Subcapitata* Yeşil-Alg Türü Üzerindeki Akut Toksikitesinin İncelenmesi," Akdeniz Üniversitesi, 2014.

- [12] E. Özdoğan, A. Demir, And N. Seventekin, “Nanotechnology And Its Applications In Textile Industry,” *Tekstil Ve Konfeksiyon*, Vol. 16, No. 3, Pp. 159–168, 2006.
- [13] H. Balcı, “Akıllı (Fonksiyonel) Tekstiller, Seçilmiş Kumaşlarda Antibakteriyel Apre Ve Performans Özellikleri,” *Çukurova Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü, Tekst. Mühendisliği Anabilim Dalı, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi*. Adana, 2006.
- [14] J.-Y. Bottero Et Al., “Manufactured Metal And Metal-Oxide Nanoparticles: Properties And Perturbing Mechanisms Of Their Biological Activity In Ecosystems,” *Comptes Rendus Geosci.*, Vol. 343, No. 2–3, Pp. 168–176, 2011.
- [15] F. Caruso, “Nanoengineering Of Particle Surfaces,” *Adv. Mater.*, Vol. 13, No. 1, Pp. 11–22, 2001.
- [16] S. Sunar, “Titanium Dioksit Nanopartiküllerinin Sıçan T Ve B Lenfositleri Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması,” *Mersin Üniversitesi*, 2014.
- [17] T. Zorlu, “Farklı Dozlardaki Titanium Dioksit (TiO<sub>2</sub>) Nanopartikülünün *Galleria Mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae)’Nin Biyolojisine Ve Enzim Sistemine Etkisi,” *Marmara Üniversitesi*, 2016.
- [18] Z. Shi, L. Shao, T. P. Jones, And S. Lu, “Microscopy And Mineralogy Of Airborne Particles Collected During Severe Dust Storm Episodes In Beijing, China,” *J. Geophys. Res. Atmos.*, Vol. 110, No. D1, 2005.
- [19] D. Stefani, D. Wardman, And T. Lambert, “The Implosion Of The Calgary General Hospital: Ambient Air Quality Issues,” *J. Air Waste Manage. Assoc.*, Vol. 55, No. 1, Pp. 52–59, 2005.
- [20] D. A. Taylor, “Dust In The Wind,” *Environ. Health Perspect.*, Vol. 110, No. 2, Pp. A80–A87, 2002.
- [21] C. Buzea, I. I. Pacheco, And K. Robbie, “Nanomaterials And Nanoparticles: Sources And Toxicity,” *Biointerphases*, Vol. 2, No. 4, Pp. Mr17–Mr71, 2007.
- [22] M. Corachan, J. M. Tura, E. Campo, M. Soley, And A. Traveria, “Podoconiosis In Aequatorial Guinea. Report Of Two Cases From Different Geological Environments,” *Trop. Geogr. Med.*, Vol. 40, No. 4, Pp. 359–364, 1988.
- [23] M. Montella Et Al., “Classical Kaposi Sarcoma And Volcanic Soil In Southern Italy: A Case-Control Study,” *Epidemiol. Prev.*, Vol. 21, No. 2, Pp. 114–117, 1997.
- [24] A. Sapkota Et Al., “Impact Of The 2002 Canadian Forest Fires On Particulate Matter Air Quality In Baltimore City,” *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 39, No. 1, Pp. 24–32, 2005.

- [25] J. A. Mott Et Al., "Wildland Forest Fire Smoke: Health Effects And Intervention Evaluation, Hoopa, California, 1999," *West. J. Med.*, Vol. 176, No. 3, P. 157, 2002.
- [26] P. R. Buseck And M. Pósfai, "Airborne Minerals And Related Aerosol Particles: Effects On Climate And The Environment," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 96, No. 7, Pp. 3372–3379, 1999.
- [27] S. T. Ballard, J. C. Parker, And C. R. Hamm, "Restoration Of Mucociliary Transport In The Fluid-Depletedtrachea By Surface-Active Instillates," *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, Vol. 34, No. 4, Pp. 500–504, 2006.
- [28] A. Ahmad, S. Senapati, M. I. Khan, R. Kumar, And M. Sastry, "Extra-/Intracellular Biosynthesis Of Gold Nanoparticles By An Alkalotolerant Fungus, *Trichothecium Sp.*," *J. Biomed. Nanotechnol.*, Vol. 1, No. 1, Pp. 47–53, 2005.
- [29] H. Checkoway, N. J. Heyer, P. A. Demers, And N. E. Breslow, "Mortality Among Workers In The Diatomaceous Earth Industry.," *Occup. Environ. Med.*, Vol. 50, No. 7, Pp. 586–597, 1993.
- [30] D. Westerdahl, S. Fruin, T. Sax, P. M. Fine, And C. Sioutas, "Mobile Platform Measurements Of Ultrafine Particles And Associated Pollutant Concentrations On Freeways And Residential Streets In Los Angeles," *Atmos. Environ.*, Vol. 39, No. 20, Pp. 3597–3610, 2005.
- [31] G. Hoek, B. Brunekreef, S. Goldbohm, P. Fischer, And P. A. Van Den Brandt, "Association Between Mortality And Indicators Of Traffic-Related Air Pollution In The Netherlands: A Cohort Study," *Lancet*, Vol. 360, No. 9341, Pp. 1203–1209, 2002.
- [32] A. Afshari, U. Matson, And L. E. Ekberg, "Characterization Of Indoor Sources Of Fine And Ultrafine Particles: A Study Conducted In A Full-Scale Chamber Indoor Air 15: 141–150," *Find This Artic. Online*, 2005.
- [33] K. Husgafvel-Pursiainen, "Genotoxicity Of Environmental Tobacco Smoke: A Review," *Mutat. Res. Mutat. Res.*, Vol. 567, No. 2–3, Pp. 427–445, 2004.
- [34] L. Rushton, "Health Impact Of Environmental Tobacco Smoke In The Home.," *Rev. Environ. Health*, Vol. 19, No. 3–4, Pp. 291–309, 2004.
- [35] E. M. Fireman Et Al., "Induced Sputum Assessment In New York City Firefighters Exposed To World Trade Center Dust," *Environ. Health Perspect.*, Vol. 112, No. 15, Pp. 1564–1569, 2004.
- [36] L. Xiao, H. Takada, K. Maeda, M. Haramoto, And N. Miwa, "Antioxidant Effects Of Water-Soluble Fullerene Derivatives Against Ultraviolet Ray Or Peroxylipid Through Their Action Of Scavenging The Reactive Oxygen Species In Human Skin Keratinocytes," *Biomed. Pharmacother.*, Vol. 59, No. 7, Pp. 351–358, 2005.

- [37] G. Atacı, "Çeşitli Nanopartiküllerin Allium Ceba Ve Caenorhabditis Elegans Test Sistemlerinde Toksik, Genotoksik Ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması," Cumhuriyet Üniversitesi, 2018.
- [38] N. Sozer And J. L. Kokini, "Nanotechnology And Its Applications In The Food Sector," Trends Biotechnol., Vol. 27, No. 2, Pp. 82–89, 2009.
- [39] P. Xu Et Al., "Use Of Iron Oxide Nanomaterials In Wastewater Treatment: A Review," Sci. Total Environ., Vol. 424, Pp. 1–10, 2012.
- [40] P. Liang, T. Shi, And J. Li, "Nanometer-Size Titanium Dioxide Separation/Preconcentration And Faas Determination Of Trace Zn And Cd In Water Sample," Int. J. Environ. Anal. Chem., Vol. 84, No. 4, Pp. 315–321, 2004.
- [41] M. Hua, S. Zhang, B. Pan, W. Zhang, L. Lv, And Q. Zhang, "Heavy Metal Removal From Water/Wastewater By Nanosized Metal Oxides: A Review," J. Hazard. Mater., Vol. 211, Pp. 317–331, 2012.
- [42] G. Zelmanov And R. Semiat, "Phenol Oxidation Kinetics In Water Solution Using Iron (3)-Oxide-Based Nano-Catalysts," Water Res., Vol. 42, No. 14, Pp. 3848–3856, 2008.
- [43] K. Y. Kumar, H. B. Muralidhara, Y. A. Nayaka, J. Balasubramanyam, And H. Hanumanthappa, "Low-Cost Synthesis Of Metal Oxide Nanoparticles And Their Application In Adsorption Of Commercial Dye And Heavy Metal Ion In Aqueous Solution," Powder Technol., Vol. 246, Pp. 125–136, 2013.
- [44] M. A. Augustin And C. M. Oliver, "An Overview Of The Development And Applications Of Nanoscale Materials In The Food Industry," In Nanotechnology In The Food, Beverage And Nutraceutical Industries, Elsevier, 2012, Pp. 3–39.
- [45] A. Baruah, V. Chaudhary, R. Malik, And V. K. Tomer, "Nanotechnology Based Solutions For Wastewater Treatment," In Nanotechnology In Water And Wastewater Treatment, Elsevier, 2019, Pp. 337–368.
- [46] P. Oyar, "Diş Hekimliğinde Kullanılan Nanopartiküller, Kullanım Alanları Ve Biyouyumluluk," Atatürk Üniversitesi Diş Hekim. Fakültesi Derg., Vol. 24, No. 1.
- [47] H. Shi, R. Magaye, V. Castranova, And J. Zhao, "Titanium Dioxide Nanoparticles: A Review Of Current Toxicological Data," Part. Fibre Toxicol., Vol. 10, No. 1, P. 15, 2013.
- [48] C. M. Sayes Et Al., "Correlating Nanoscale Titania Structure With Toxicity: A Cytotoxicity And Inflammatory Response Study With Human Dermal Fibroblasts And Human Lung Epithelial Cells," Toxicol. Sci., Vol. 92, No. 1, Pp. 174–185, 2006.

- [49] D. B. Warheit, R. A. Hoke, C. Finlay, E. M. Donner, K. L. Reed, And C. M. Sayes, "Development Of A Base Set Of Toxicity Tests Using Ultrafine Tio<sub>2</sub> Particles As A Component Of Nanoparticle Risk Management," *Toxicol. Lett.*, Vol. 171, No. 3, Pp. 99–110, 2007.
- [50] H. A. Schroeder, J. J. Balassa, And I. H. Tipton, "Abnormal Trace Metals In Man: Titanium," *J. Chronic Dis.*, Vol. 16, No. 1, Pp. 55–69, 1963.
- [51] Y. Ju-Nam And J. R. Lead, "Manufactured Nanoparticles: An Overview Of Their Chemistry, Interactions And Potential Environmental Implications," *Sci. Total Environ.*, Vol. 400, No. 1–3, Pp. 396–414, 2008.
- [52] Kahraman Alper Yalçın, "Nanoteknoloji Ve Gıda Sanayiinde Uygulama Alanları," Namık Kemal Üniversitesi, 2010.
- [53] Mümin Akıcı, "Titanyum Dioksit Nanopartiküllerinin Sitotoksik Ve Genotoksik Etkilerinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi," Trakya Üniversitesi, 2017.
- [54] S. N. Frank And A. J. Bard, "Heterogeneous Photocatalytic Oxidation Of Cyanide İon İn Aqueous Solutions At Titanium Dioxide Powder," *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 99, No. 1, Pp. 303–304, 1977.
- [55] T. Matsunaga, R. Tomoda, T. Nakajima, And H. Wake, "Photoelectrochemical Sterilization Of Microbial Cells By Semiconductor Powders," *Fems Microbiol. Lett.*, Vol. 29, No. 1–2, Pp. 211–214, 1985.
- [56] P.-C. Maness, S. Smolinski, D. M. Blake, Z. Huang, E. J. Wolfrum, And W. A. Jacoby, "Bactericidal Activity Of Photocatalytic Tio<sub>2</sub> Reaction: Toward An Understanding Of Its Killing Mechanism," *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 65, No. 9, Pp. 4094–4098, 1999.
- [57] M. Geiser Et Al., "Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes By Nonphagocytic Mechanisms İn Lungs And İn Cultured Cells," *Environ. Health Perspect.*, Vol. 113, No. 11, Pp. 1555–1560, 2005.
- [58] M. Geiser, M. Casaulta, B. Kupferschmid, H. Schulz, M. Semmler-Behnke, And W. Kreyling, "The Role Of Macrophages İn The Clearance Of İnhaled Ultrafine Titanium Dioxide Particles," *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, Vol. 38, No. 3, Pp. 371–376, 2008.
- [59] A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita, And T. Hanawa, "Cytotoxicity Evaluation Of Ceramic Particles Of Different Sizes And Shapes," *J. Biomed. Mater. Res. Part A An Off. J. Soc. Biomater. Japanese Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, Vol. 68, No. 2, Pp. 244–256, 2004.
- [60] Emrah Şefik Abamor, "Gümüş (Ag) Ve Titanyum Dioksit (TiO<sub>2</sub>) Nanopartiküllerinin Kütanöz Leishmaniasis Etkeni L.Tropica Parazitleri Üzerindeki Antileishmanial Etkilerinin İncelenmesi," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2010.

- [61] M. Xu, N. Huang, Z. Xiao, And Z. Lu, "Photoexcited TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Through• Oh-Radicals Induced Malignant Cells To Necrosis," *Supramol. Sci.*, Vol. 5, No. 5–6, Pp. 449–451, 1998.
- [62] A.-P. Zhang And Y.-P. Sun, "Photocatalytic Killing Effect Of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles On Ls-174-T Human Colon Carcinoma Cells," *World J. Gastroenterol. Wjg*, Vol. 10, No. 21, P. 3191, 2004.
- [63] X. Zhu, Y. Chang, And Y. Chen, "Toxicity And Bioaccumulation Of TiO<sub>2</sub> Nanoparticle Aggregates In *Daphnia Magna*," *Chemosphere*, Vol. 78, No. 3, Pp. 209–215, 2010.
- [64] N. B. Hartmann, F. Von Der Kammer, T. Hofmann, M. Baalousha, S. Ottofuelling, And A. Baun, "Algal Testing Of Titanium Dioxide Nanoparticles—Testing Considerations, Inhibitory Effects And Modification Of Cadmium Bioavailability," *Toxicology*, Vol. 269, No. 2–3, Pp. 190–197, 2010.
- [65] E. Navarro Et Al., "Environmental Behavior And Ecotoxicity Of Engineered Nanoparticles To Algae, Plants, And Fungi," *Ecotoxicology*, Vol. 17, No. 5, Pp. 372–386, 2008.
- [66] K. Hund-Rinke And M. Simon, "Ecotoxic Effect Of Photocatalytic Active Nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) On Algae And Daphnids (8 Pp)," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, Vol. 13, No. 4, Pp. 225–232, 2006.
- [67] M. C. E. Lomer Et Al., "Dietary Sources Of Inorganic Microparticles And Their Intake In Healthy Subjects And Patients With Crohn's Disease," *Br. J. Nutr.*, Vol. 92, No. 6, Pp. 947–955, 2004.
- [68] J. F. Reeves, S. J. Davies, N. J. F. Dodd, And A. N. Jha, "Hydroxyl Radicals (Oh) Are Associated With Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>) Nanoparticle-Induced Cytotoxicity And Oxidative Dna Damage In Fish Cells," *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, Vol. 640, No. 1–2, Pp. 113–122, 2008.
- [69] V. S. Leblond, M. Bisson, And A. Hontela, "Inhibition Of Cortisol Secretion In Dispersed Head Kidney Cells Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) By Endosulfan, An Organochlorine Pesticide," *Gen. Comp. Endocrinol.*, Vol. 121, No. 1, Pp. 48–56, 2001.
- [70] I. Altinok, "Toxicity And Therapeutic Effects Of Chloramine-T For Treating *Flavobacterium Columnare* Infection Of Goldfish," *Aquaculture*, Vol. 239, No. 1–4, Pp. 47–56, 2004.
- [71] M. Ünsal, *Kirlilik Deneyleri: Yöntemler Sonuçların Değerlendirilmesi. Tc Tarım Ve Köy İşleri Bakanlığı Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 1998.

- [72] M. Doğan, “Sıfır Değerlikli Alüminyum Nanopartikülleri Kullanılarak Endokrin Bozucu Bisfenol A Kirleticisinin Giderimi Ve Toksikite Değişiminin İzlenmesi,” İstanbul Teknik Üniversitesi, 2017.
- [73] Seda Berna Baykal, “Nanomateriyallerin Tetrahymena Thermophila Üzerine Toksikolojik Etkilerinin Ekotoksikolojik Yöntemlerle Saptanması,” Marmara Üniversitesi, 2009.
- [74] A. Baun, N. B. Hartmann, K. Grieger, And K. O. Kusk, “Ecotoxicity Of Engineered Nanoparticles To Aquatic Invertebrates: A Brief Review And Recommendations For Future Toxicity Testing,” *Ecotoxicology*, Vol. 17, No. 5, Pp. 387–395, 2008.
- [75] A. Gajewicz Et Al., “Advancing Risk Assessment Of Engineered Nanomaterials: Application Of Computational Approaches,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Vol. 64, No. 15, Pp. 1663–1693, 2012.
- [76] T. Xia Et Al., “Comparison Of The Abilities Of Ambient And Manufactured Nanoparticles To Induce Cellular Toxicity According To An Oxidative Stress Paradigm,” *Nano Lett.*, Vol. 6, No. 8, Pp. 1794–1807, 2006.
- [77] M. Chen And A. Von Mikecz, “Formation Of Nucleoplasmic Protein Aggregates Impairs Nuclear Function In Response To SiO<sub>2</sub> Nanoparticles,” *Exp. Cell Res.*, Vol. 305, No. 1, Pp. 51–62, 2005.
- [78] Asiye Bulmuş, “Bazı Nanopartiküllerin İnsan Karbonik Anhidraz I Ve II Enzimleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi,” Sakarya Üniversitesi, 2019.
- [79] A. A. Shvedova Et Al., “Impaired Clearance And Enhanced Pulmonary Inflammatory/Fibrotic Response To Carbon Nanotubes In Myeloperoxidase-Deficient Mice,” *Plos One*, Vol. 7, No. 3, P. E30923, 2012.
- [80] A. Peters Et Al., “Translocation And Potential Neurological Effects Of Fine And Ultrafine Particles A Critical Update,” *Part. Fibre Toxicol.*, Vol. 3, No. 1, P. 13, 2006.
- [81] L. Gonzalez, D. Lison, And M. Kirsch-Volders, “Genotoxicity Of Engineered Nanomaterials: A Critical Review,” *Nanotoxicology*, Vol. 2, No. 4, Pp. 252–273, 2008.
- [82] N. Singh Et Al., “Nanogenotoxicology: The Dna Damaging Potential Of Engineered Nanomaterials,” *Biomaterials*, Vol. 30, No. 23–24, Pp. 3891–3914, 2009.
- [83] C. M. Sayes Et Al., “Functionalization Density Dependence Of Single-Walled Carbon Nanotubes Cytotoxicity In Vitro,” *Toxicol. Lett.*, Vol. 161, No. 2, Pp. 135–142, 2006.



- [84] J. Jiang, G. Oberdörster, And P. Biswas, “Characterization Of Size, Surface Charge, And Agglomeration State Of Nanoparticle Dispersions For Toxicological Studies,” *J. Nanoparticle Res.*, Vol. 11, No. 1, Pp. 77–89, 2009.
- [85] P. R. Lockman, J. M. Koziara, R. J. Mumper, And D. D. Allen, “Nanoparticle Surface Charges Alter Blood–Brain Barrier Integrity And Permeability,” *J. Drug Target.*, Vol. 12, No. 9–10, Pp. 635–641, 2004.
- [86] O. Harush-Frenkel, N. Debotton, S. Benita, And Y. Altschuler, “Targeting Of Nanoparticles To The Clathrin-Mediated Endocytic Pathway,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 353, No. 1, Pp. 26–32, 2007.
- [87] S. E. A. Gratton Et Al., “The Effect Of Particle Design On Cellular Internalization Pathways,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 105, No. 33, Pp. 11613–11618, 2008.
- [88] C. S. Isfort And M. Rochnia, “Production And Physico-Chemical Characterisation Of Nanoparticles,” *Toxicol. Lett.*, Vol. 186, No. 3, Pp. 148–151, 2009.
- [89] İncilay Gökbulut, “Oksidatif Strese Maruz Kalmış Farelerin Keten Tohumu İle Beslenmesinin Çeşitli Biyobelirteçler Üzerine Etkisi,” İnönü Üniversitesi, 2009.
- [90] L. A. Richards, *Diagnosis And Improvement Of Saline And Alkali Soils*, Vol. 78, No. 2. Lww, 1954.
- [91] S. Erdei, “Heavy Metal İnduced Physiological Changes İn The Antioxidative Response System,” *Acta Biol. Szeged.*, Vol. 46, No. 3–4, Pp. 89–90, 2002.
- [92] O. Özcan, H. Erdal, G. Çakırca, And Z. Yönden, “Oxidative Stress And İts İmpacts On İntracellular Lipids, Proteins And Dna,” *J. Clin. Exp. Investig.*, Vol. 6, No. 3, Pp. 331–336, 2015.
- [93] Sibel Özden, “Bazı Pestisidlerin Oksidatif Stres Oluşturma Potansiyellerinin Ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması,” İstanbul Üniversitesi, 2006.
- [94] Zeynep Görkem Doğaroğlu, “Endüstride Kullanılan Titanyum Dioksit (TiO<sub>2</sub>) Ve Çinko Oksit (ZnO) Nanopartiküllerinin Arpa (*Hordeum Vulgare L.*) Ve Ekmeklik Buğday (*Triticum Aestivum L. Michelangelo*) Bitkileri Tarafından Alınımının Ve Birikiminin İncelenmesi,” Mersin Üniversitesi, 2017.
- [95] İ. Akkuş, “Serbest Radikaller Ve Fiziopatolojik Etkileri,” Mimosza Yayınları, Konya, Vol. 1, 1995.
- [96] B. A. Freeman And J. D. Crapo, “Biology Of Disease: Free Radicals And Tissue Injury,” *Lab. Invest.*, Vol. 47, No. 5, Pp. 412–426, 1982.

- [97] G. Ö. Kavas, "Serbest Radikaller Ve Organizma Üzerine Etkileri," *Türkiye Klin. J. Med. Sci.*, Vol. 9, No. 1, Pp. 1–8, 1989.
- [98] G. Erenel, D. Erbaş, And A. Arıcıoğlu, "Serbest Radikaller Ve Antioksidan Sistemler," *Gazi Med. J.*, Vol. 3, No. 4, 1992.
- [99] A. Kahraman, H. Çakar, A. Vurmaz, F. Gürsoy, S. Koçak, And M. Serteser, "Ağır Egzersizin Oksidatif Stres Üzerindeki Etkisi," *Kocatepe Tıp Derg.*, Vol. 4, No. 2, 2003.
- [100] I. N. Cicerali, "Effect Of Salt Stress On Antioxidant Defense Systems Of Sensitive And Resistant Cultivars Of Lentil (*Lens Culinaris M.*)." Doctoral Dissertation, Msc Thesis, Middle East Technical University, Ankara ..., 2004.
- [101] Tarık Gökbulut, "Bazı Buğday Çeşitlerinde Selenyum Birikimi Ve Selenyum Toksisitesinin Antioksidan Enzim Aktivitesine Etkisi," *Erciyes Üniversitesi*, 2010.
- [102] M. S. Satoh And T. Lindahl, "Enzymatic Repair Of Oxidative Dna Damage," *Cancer Res.*, Vol. 54, No. 7 Supplement, Pp. 1899s-1901s, 1994.
- [103] Sezgi Pekşen, "Arpa'da Kök Büyümesi, Antioksidatif Enzim Aktivitesi Ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Arsenik'in Etkisi," *Trakya Üniversitesi*, 2014.
- [104] S. Çakır, "Selenyum Toksisitesinin İki Arpa (*Hordeum Vulgare L.*) Çeşitinde (Tarm 92, Bülbül 89) Antioksidan Enzim Aktivitesine Etkisi." *Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 2007.
- [105] K. Köse And P. Doğan, "Lipid Peroksidasyonu," *Erciyes Tıp Derg.*, Vol. 1992, Pp. 340–350, 1992.
- [106] İ. Dikici, "Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması," *Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokim. Anabilim Dalı, Uzm. Tezi*, Konya, 1999.
- [107] F. Benzer, "Fasciola Hepatica İle Enfekte Koyunların Kan Ve Karaciğer Dokularında Arginaz, Nitrik Oksit, Bazı Antioksidant Enzimler Ve Lipid Peroksidasyon Düzeyleri İle Karaciğer Arginaz Enziminin Biyokimyasal Özellikleri/Arginase, Nitrik Oxide, Some Antioxidant Enzy," 2001.
- [108] Filiz Atalay, "Gebelerden Alınan Amniyon Sıvılarının Karyotip Analizinde Normal, Down Sendromu Ve Nöral Tüp Defekti Olduğu Tespit Edilen Olguların Amniyon Sıvılarında Oksidatif Stres (Mda) Parametrelerinin, Antioksidan (Sod, Cat, Gsh-Px ) Ve Eser Element (Se, Zn, Cu ) D," *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi*, 2012.
- [109] J. M. Cummins, A. M. Jequier, And R. Kan, "Molecular Biology Of Human Male Infertility: Links With Aging, Mitochondrial Genetics, And Oxidative Stress?," *Mol. Reprod. Dev.*, Vol. 37, No. 3, Pp. 345–362, 1994.

- [110] B. Halliwell And J. M. C. Gutteridge, "The İmportance Of Free Radicals And Catalytic Metal İons İn Human Diseases," *Mol. Aspects Med.*, Vol. 8, No. 2, Pp. 89–193, 1985.
- [111] H. Kaya, "Tilapia'da (*Oreochromis Mossambicus*) Kurşun Toksisitesi: Oksidatif Stres Ve Bazı Fizyolojik Etkiler," Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 2012.
- [112] L. B. Becker, T. L. Vanden Hoek, Z.-H. Shao, C.-Q. Li, And P. T. Schumacker, "Generation Of Superoxide İn Cardiomyocytes During İschemia Before Reperfusion," *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, Vol. 277, No. 6, Pp. H2240–H2246, 1999.
- [113] Kadiriye Uruç Parlak, "Lemna Gıbba Ve Groenlandia Densa Bitkilerinde Ağır Metal Toksisitesine Karşı Oluşturulan Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi," Erciyes Üniversitesi, 2010.
- [114] J. S. Johansen, A. K. Harris, D. J. Rychly, And A. Ergul, "Oxidative Stress And The Use Of Antioxidants İn Diabetes: Linking Basic Science To Clinical Practice," *Cardiovasc. Diabetol.*, Vol. 4, No. 1, P. 5, 2005.
- [115] Yakup Yaylacı, "DeneySEL Olarak Etil Alkol İle Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda İhlamur (*Tilia Platyphyllos*) İnfüzyonunun Karaciğer Koruyucu Ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi," Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2013.
- [116] Hatice Kızıldaş, "Ferulago Angulata (Schlecht.) Boiss Bitkisinin Antioksidan, Antiradikal Aktivitesinin Ve N-Nitrozodimetilamin İle Oksidatif Stres Oluşturulan Ratlarda Etkisinin Belirlenmesi," Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2015.
- [117] B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, And C. E. Cross, "Free Radicals, Antioxidants, And Human Disease: Where Are We Now?," *J. Lab. Clin. Med.*, Vol. 119, No. 6, Pp. 598–620, 1992.
- [118] B. Halliwell And J. C. Gutteridge, "Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, And Antioxidant Therapy," *Lancet*, Vol. 323, No. 8391, Pp. 1396–1397, 1984.
- [119] K. B. Beckman And B. N. Ames, "The Free Radical Theory Of Aging Matures," *Physiol. Rev.*, Vol. 78, No. 2, Pp. 547–581, 1998.
- [120] B. Halliwell And J. M. C. Gutteridge, "Role Of Free Radicals And Catalytic Metal İons İn Human Disease: An Overview," İn *Methods İn Enzymology*, Vol. 186, Elsevier, 1990, Pp. 1–85.
- [121] Sevil Arabacı, "Karaciğer Đskemi Reperfüzyonu Sırasında Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Karşı Sumak (*Rhus Coriaria*)'In Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması," Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 2011.

- [122] V. Bondet, W. Brand-Williams, And C. Berset, “Kinetics And Mechanisms Of Antioxidant Activity Using The Dpph. Free Radical Method,” *Lwt-Food Sci. Technol.*, Vol. 30, No. 6, Pp. 609–615, 1997.
- [123] H. Mehlhorn, M. Lelandais, H. G. Korth, And C. H. Foyer, “Comparison Of Ascorbate-Dependent Peroxidase Activity In Horseradish Peroxidase Types I And II In Leaf Extracts,” *Febs Letts*, Vol. 378, Pp. 203–206, 1996.
- [124] C. Bowler, M. Van Montagu, And D. Inze, “Superoxide Dismutase And Stress Tolerance,” *Annu. Rev. Plant Biol.*, Vol. 43, No. 1, Pp. 83–116, 1992.
- [125] O. Onaca, D. W. Hughes, V. Balasubramanian, M. Grzelakowski, W. Meier, And C. G. Palivan, “Sod Antioxidant Nanoreactors: Influence Of Block Copolymer Composition On The Nanoreactor Efficiency,” *Macromol. Biosci.*, Vol. 10, No. 5, Pp. 531–538, 2010.
- [126] Nuran Durmuş, “Büyümeği Düzenleyici Maddelerin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri,” Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2003.
- [127] K. Asayama, S. Yokota, And K. Kato, “Peroxisomal Oxidases In Various Tissues Of Diabetic Rats,” *Diabetes Res. Clin. Pract.*, Vol. 11, No. 2, Pp. 89–94, 1991.
- [128] D. A. Dalton, F. J. Hanus, S. A. Russell, And H. J. Evans, “Purification, Properties, And Distribution Of Ascorbate Peroxidase In Legume Root Nodules,” *Plant Physiol.*, Vol. 83, No. 4, Pp. 789–794, 1987.
- [129] K. Asada, “Ascorbate Peroxidase—A Hydrogen Peroxide-Scavenging Enzyme In Plants,” *Physiol. Plant.*, Vol. 85, No. 2, Pp. 235–241, 1992.
- [130] S. Cirik And Ş. Gökpınar, “Plankton Bilgisi Ve Kültürü,” Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-Izmir, 1993.
- [131] F. E. Round, *The Ecology Of Algae*. Cup Archive, 1984.
- [132] İ. Akyurt And Y. Şahin, “Planktonlar Ve Fotobiyoreaktörler,” *Karadeniz Fen Bilim. Derg.*, Vol. 1, No. 1, Pp. 83–92, 2010.
- [133] Y. Chisti, “Biodiesel From Microalgae,” *Biotechnol. Adv.*, Vol. 25, No. 3, Pp. 294–306, 2007.
- [134] A. N. Say, Ü. D. Keriş, Ü. Şen, And M. D. Gürol, “Mikroalglerden Biyokütle Enerjisi Üretimi Ve Türkiye, VIII,” *Ulus. Temiz Enerj. Sempozyumu, Utes*, Vol. 10, Pp. 1–5, 2010.
- [135] G. Huang, F. Chen, D. Wei, X. Zhang, And G. Chen, “Biodiesel Production By Microalgal Biotechnology,” *Appl. Energy*, Vol. 87, No. 1, Pp. 38–46, 2010.
- [136] Tuğba Demiriz, “Bazı Alglerin Antibakteriyal Etkileri,” Ankara Üniversitesi, 2008.

- [137] Lida Shelknanloymılan, “Atık Sulardan Azot Ve Fosforun *Chlorella Vulgaris* Beijerinck Yardımıyla Deneysel Olarak Uzaklaştırılması,” Ankara Üniversitesi, 2013.
- [138] N. Ağırman, “*Chlorella Vulgaris* Ve *Scenedesmus Acutus*’un Gelişimi, Pigment Oluşumu, Lipit Ve Protein İçeriği Üzerine Farklı Stres Faktörlerinin Etkileri,” Fırat Üniversitesi, 2015.
- [139] C. Gunawan, A. Sirimanoonphan, W. Y. Teoh, C. P. Marquis, And R. Amal, “Submicron And Nano Formulations Of Titanium Dioxide And Zinc Oxide Stimulate Unique Cellular Toxicological Responses In The Green Microalga *Chlamydomonas Reinhardtii*,” *J. Hazard. Mater.*, Vol. 260, Pp. 984–992, 2013.
- [140] B. Xia, B. Chen, X. Sun, K. Qu, F. Ma, And M. Du, “Interaction Of  $TiO_2$  Nanoparticles With The Marine Microalga *Nitzschia Closterium*: Growth Inhibition, Oxidative Stress And Internalization,” *Sci. Total Environ.*, Vol. 508, Pp. 525–533, 2015.
- [141] Y. Wang Et Al., “ $TiO_2$  Nanoparticles In The Marine Environment: Physical Effects Responsible For The Toxicity On Algae *Phaeodactylum Tricornutum*,” *Sci. Total Environ.*, Vol. 565, Pp. 818–826, 2016.
- [142] X.-Y. Deng, J. Cheng, X.-L. Hu, L. Wang, D. Li, And K. Gao, “Biological Effects Of  $TiO_2$  And  $CeO_2$  Nanoparticles On The Growth, Photosynthetic Activity, And Cellular Components Of A Marine Diatom *Phaeodactylum Tricornutum*,” *Sci. Total Environ.*, Vol. 575, Pp. 87–96, 2017.
- [143] S. Ç. Özpınar, “Sülfonat Grupları İle Substitue Edilmiş Suda Çözünür Fitalosiyanınların *Arthrospira Platensis*’in Gelişimi Ve Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi,” Sakarya Üniversitesi, 2019.
- [144] I. Lee, J.-Y. Park, S.-A. Choi, Y.-K. Oh, And J.-I. Han, “Hydrothermal Nitric Acid Treatment For Effectual Lipid Extraction From Wet Microalgae Biomass,” *Bioresour. Technol.*, Vol. 172, Pp. 138–142, 2014.
- [145] M. Mubarak, A. Shaija, And T. V Suchithra, “A Review On The Extraction Of Lipid From Microalgae For Biodiesel Production,” *Algal Res.*, Vol. 7, Pp. 117–123, 2015.
- [146] E. G. Bligh And W. J. Dyer, “A Rapid Method Of Total Lipid Extraction And Purification,” *Can. J. Biochem. Physiol.*, Vol. 37, No. 8, Pp. 911–917, 1959.
- [147] R. Halim, M. K. Danquah, And P. A. Webley, “Extraction Of Oil From Microalgae For Biodiesel Production: A Review,” *Biotechnol. Adv.*, Vol. 30, No. 3, Pp. 709–732, 2012.
- [148] A. Widjaja, C.-C. Chien, And Y.-H. Ju, “Study Of Increasing Lipid Production From Fresh Water Microalgae *Chlorella Vulgaris*,” *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, Vol. 40, No. 1, Pp. 13–20, 2009.

- [149] P. Tanatti, İ. A. Şengil, And A. Özdemir, “Treatment Of Biodiesel Wastewater By Solvent Extraction: Evaluation Of Kinetic And Thermodynamic Data.,” *Environ. Eng. Manag. J.*, Vol. 17, No. 11, 2018.
- [150] F. Li, Z. Liang, X. Zheng, W. Zhao, M. Wu, And Z. Wang, “Toxicity Of Nano-Tio 2 On Algae And The Site Of Reactive Oxygen Species Production,” *Aquat. Toxicol.*, Vol. 158, Pp. 1–13, 2015.
- [151] M. Li, Y. Jiang, C. Chuang, J. Zhou, X. Zhu, And D. Chen, “Recovery Of Alexandrium Tamarense Under Chronic Exposure Of Tio 2 Nanoparticles And Possible Mechanisms,” *Aquat. Toxicol.*, Vol. 208, No. October 2018, Pp. 98–108, 2019.
- [152] B. Trebouxiophyceae, S. Dauda, M. A. Chia, And S. P. Bako, “Nitrogen Conditions,” *Aquat. Toxicol.*, Vol. 187, No. January, Pp. 108–114, 2017.
- [153] L. Chen, L. Zhou, Y. Liu, S. Deng, H. Wu, And G. Wang, “Toxicological Effects Of Nanometer Titanium Dioxide (Nano-TiO<sub>2</sub>) On Chlamydomonas Reinhardtii,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, Vol. 84, Pp. 155–162, 2012.

## ÖZGEÇMİŞ

Mesut SEZER, 20.02.1994 yılında Sakarya'da doğdu. İlkokulu İsmet İnönü İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini 80. Yıl Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladı. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nden, 2017 yılında ise Çift Anadal Programı (ÇAP) ile Sakarya Üniversitesi İnşaat Mühendisliği Bölümü'nden mezun olmuştur. 2017 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.