



**KADMIYUM SÜLFÜR (CdS) KUANTUM
NOKTALARININ BİYOSENTEZİ, YAPISAL
KARAKTERİZASYONU VE
TOKSİSİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Atefeh VARMAZYARI

Doktora Tezi

Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

Nanomalzeme Bilim Dalı

Prof. Dr. Özlem BARIŞ

2018

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**KADMIYUM SÜLFÜR (CdS) KUANTUM NOKTALARININ
BİYOSENTEZİ, YAPISAL KARAKTERİZASYONU VE
TOKSİSİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Atefeh VARMAZYARI

**NANOBİLİM VE NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
Nanomalzeme Bilim Dalı**

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**KADMIYUM SÜLFÜR (CdS) KUANTUM NOKTALARININ BİYOSENTEZİ,
YAPISAL KARAKTERİZASYONU VE TOKSİSİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Özlem BARIŞ danışmanlığında, Atefeh VARMAZYARI tarafından hazırlanan bu çalışma, 26/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı Nanomalzeme Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

Üye : Doç. Dr. Önder METİN

Üye : Doç. Dr. Güven TURGUT

Üye : Doç. Dr. Mesut TAŞKIN

Üye : Doç. Dr. Özlem BARIŞ

İmza : 

İmza : 

İmza : 

İmza : 

İmza : 

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu .06./09./2018. tarih ve .35./...48..... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KADMİYUM SÜLFÜR (CdS) KUANTUM NOKTALARININ BİYOSENTEZİ, YAPISAL KARAKTERİZASYONU VE TOKSİSİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Atefeh VARMAZYARI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı
Nanomalzeme Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Özlem BARIŞ

Bu tez çalışmasında *Viridibacillus arenosi* K64 izolatu kullanılarak CdS kuantum nokta partiküllerinin çevre dostu, ekonomik, güvenilir ve kontrollü üretimi sağlayan biyosentez yöntemi ile üretilmesi araştırılmıştır. Bu bakterinin seçilmesinde özel tampon çözelti içerisinde yapılan denemelerde yüksek dozlarda dahi canlılığını 3 güne kadar sürdürebilmesidir. Stok kültürlerden alınan çok sayıda izolat ile yapılan ön denemelerde biyosentez işlemleri için canlılığın önemi düşünülerek yapılan denemeler sonucunda aktif izolat ile çalışmalar devam edilmiştir. Bu sayede hem bakterinin optimum faaliyet gösterebileceği ideal bir ortam hazırlanmıştır hem de partikül oluşumu için en ideal bakteri ve ortam belirlenmiştir. Doğru bakteri ve ortamın belirlenmesi için çeşitli ön denemeler yapılmış ve kısmi optimizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Floresan nitelikli partikül oluşup oluşmadığı mikroskop ile incelenmesi kontrol amaçlı yapılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin optik özellikleri için UV-VIS-NIR spektrofotometresi ve spektrofluorometrik analizi, yapısal analiz için DLS-zetasizer, enerji dispersif X-ışınları (EDS), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve X ışınları difraksiyonu (XRD) ölçüm teknikleri; morfolojik özellikleri için taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ölçüm teknikleri kullanılmıştır. Çalışmamızda üretilen CdS kuantum noktaların canlı sistemlerdeki toksik etkisinin araştırılması için *in vitro* ve *in vivo* modeller kullanılmıştır. Sonuç olarak floresan özelliklere sahip, 4-18 nm boyutlarında hegzagonal kristal modelinde ideal CdS kuantum noktalar biyosentez ile üretilmiştir. Elde edilen kuantum nokta nitelikli nanopartikülün toksikolojik özellikleri üç farklı hücre hattında (Beyincik Nöron, Korteks Nöron, Olfaktori Nöron) değerlendirilmiş ve 1 ng/ml dozunda kullanılabilir olduğu belirlenmiştir. Patolojik incelemeler sonunda hücre işaretleme ve ilaç taşıma işlemlerinde kullanılabilir nitelikte olduğu yönünde değerlendirmeler yapılmıştır.

2018, 114 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, CdS, Biyosentez, Kuantum Nokta, Toksikite

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE STUDY OF THE BIOSYNTHESIS OF CADMIUM SULPHIDE QUANTUM DOTS AND ITS STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND TOXICITY

Atefeh VARMAZYARI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Nanoscience and Nanoengineering
Science of Nanomaterials

Supervisor: Prof. Dr. Özlem BARIŞ

In present study the production of CdS quantum dot particles was investigated by using biosynthesis method which provides environmentally friendly, economical, reliable and controlled production with using *Viridibacillus Arenosi* K64 isolate. With this bacterium selected it is possible that this bacterium can survive for up to 3 days even in high doses in experiments with special buffer solutions, can last up to 3 days. Preliminary experiments with a large number of isolates from stock cultures have continued to work with active isolates as a result of experiments conducted with consideration for the viability of biosynthesis processes. In this way, an ideal environment in which the bacterium can optimally operate has been prepared and the ideal bacteria and environment for particle formation have been determined. Several preliminary experiments have been carried out to determine the correct bacteria and environment and partial optimization studies have been completed. Inspection with fluorescent microscope for the formation of fluorescent particles was done for control purposes. UV-VIS-NIR spectrophotometer and spectrofluorometric analysis for the optical properties of synthesized nanoparticles, DLS-zetasizer for structural analysis, energy dispersive X-ray (EDS), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and X-ray diffraction (XRD) measurement techniques; scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscope (TEM) measurement techniques were used for their morphological characteristics. In vitro and in vivo models were used to investigate the toxic effect of CdS quantum dots produced in our study in living systems. As a result, ideal CdS quantum dots were produced by biosynthesis in the hexagonal crystal model of 4-18 nm with fluorescence properties. The toxicological properties of the obtained quantum dot nanoparticle were evaluated in three different cell lines (Cerebellar Neurons, Cortex Neurons, Olfactory Neurons) and were found to be usable at 1 ng /ml. At the end of pathological examinations, cell marking and drug transport procedures were evaluated to be useful.

2018, 114 pages

Keywords: Nanoparticle, CdS, Biosynthesis, Quantum Dot, Toxicity

TEŞEKKÜR

Bu doktora tez çalışması süresince bilgisini, her türlü manevi destek ve yardımlarını esirgemeyen Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Özlem BARIŞ'ya teşekkür ederim.

Tez çalışma boyunca değerli görüş ve tecrübelerinden istifade ettiğim ve analizleri yapmamda katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Önder METİN'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali TAGHIZADEHGHALEHJOUGHİ'ye, Sayın Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet MAVİ'ye ve Prof. Dr. Recep KOTAN'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez değerlendirmelerinde bulunan Sayın Doç. Dr. Mesut TAŞKIN'a, Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ'e, Doç. Dr. Güven TURGUT'a değerli öneri ve desteklerinden ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesine olanak sağlayan Atatürk Üniversitesi, Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve elemanlarına ve her türlü laboratuvar imkanından yararlandığım Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) yöneticilerine ve çalışmalarına ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Analizlerin alınması ve değerlendirilmesindeki yardımları nedeniyle Uzman Ahmet Emre Kasapoğlu, Dr. Elham ZARFSAZ, Dr. Maryam ENTESHARI, Dr. Behzad MOKHTAREH'e ve Dr. Kübra SOLAK tüm çalışma arkadaşlarıma, her zaman beni yüreklendirerek yanımda olan aileme, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen en içten teşekkürlerimi sunarım.

Atefeh VARMAZYARI

Temmuz 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	11
2.1. Nanobilim, Nanoteknoloji.....	11
2.2. Nanomalzemeler.....	12
2.2.1. Nanomalzemelerin boyutları.....	14
2.3. Nanopartiküller.....	15
2.3.1. Metal nanopartiküller.....	16
2.3.2 Karbon nanotüpler.....	16
2.3.3. Manyetik nanopartiküller.....	16
2.3.4. Kuantum noktaları.....	17
2.4. Kuantum Noktaları Bazı Uygulama Alanları.....	20
2.5. Kuantum Nanokristallerin Sentez Yöntemleri.....	20
2.5.1. Nanomateryallerin biyosentezi.....	23
2.5.2. Bakteriler ile CdS nanobiyosentez.....	24
2.5.3. Biyosentezin mekanizması.....	28
2.5.3.a. Hücre içi kuantum nokta biyosentez.....	30
2.5.3.b. Hücre dışı kuantum nokta biyosentez.....	31
2.6. CdS Nanopartikülleri.....	33
2.7. Kuantum Noktaların Toksisitesi.....	34
2.8. Beyin ve Beyincik Önemi.....	35
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	38
3.1. Materyal.....	38
3.1.1. Nanopartiküllerin sentez ve karakterizasyonda kullanılan cihazlar.....	38
3.1.2. Hücre kültüründe denemede kullanılan cihazlar.....	39

3.1.3. Araştırmada kullanılan besi yerleri ve çözeltiler.....	39
3.1.4. Hücre kültüründe kullanılan besiyerleri ve çözeltiler	40
3.1.5. Çalışmada kullanılan bakteriler.....	41
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Sentez işlemlerinde kullanılan kimyasallara dayanıklı izolatların seçimi.....	41
3.2.2. Bakterilerin Cd direnci belirlenmesi	42
3.2.3. CdS nanopartiküllerinin biyosentezi, saflaştırılması ve karakterizasyona hazırlanması.....	42
3.3. Elde Edilen Partiküllerin Karakterizasyonu	43
3.3.1. Nanopartiküllerin floresan mikroskobunda görüntülenmesi.....	44
3.3.2. Spektrofotometrik analiz	44
3.3.3. Spektrofluorometrik analiz.....	45
3.3.4. Zetasizer analizi.....	45
3.3.5. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) ile görüntüleme	46
3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntüleme	46
3.3.7. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) ile element analiz	47
3.3.8. X- Işını Difraktometresi (XRD) ile kristal yapı analizi.....	47
3.3.9. X-ışını fotoelektron Spektroskopisi (XPS) kimyasal bileşenlerin analizi.....	48
3.4. Elde Edilen Partikülün Toksikolojik Niteliğinin Belirlenmesi	48
3.4.1. Kullanılan hücre kültürü.....	49
3.4.2. MTT analizi	49
3.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK) analizi.....	50
3.4.4. Toplam Oksidan Sayısı (TOS) analizi.....	51
3.4.5. Histopatolojik uygulama	51
3.4.6. İmmunohistokimyasal boyama.....	52
3.4.7. İstatiksel analiz	53
3.9. Nanopartiküllerin Kararlılığının Saptanması	53
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	54
4.1. Biyosentez İçin Bakteri Kültürünün Hazırlanması	54
4.1.1. En yüksek uygulama süreleri ve dozlarının belirlenmesi.....	55
4.1.2. Bakterinin Cd direncinin belirlenmesi	55
4.2. Biyosentez İşlemleri	56

4.3. Biyosentetik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	56
4.3.1. Floresan mikroskobu ile elde edilen görüntüler	57
4.3.2. Spektrofotometrik analiz sonuçları	58
4.3.3. Spektrofluorometrik analiz sonuçları	58
4.3.4. Zetasizer sonuçları.....	59
4.3.5. TEM görüntüleri.....	60
4.3.6. SEM görüntüleri	62
4.3.7. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) ile analizi.....	64
4.3.8. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile içerik analizi	65
4.3.9. Kristal Yapının Belirlenmesi (XRD).....	66
4.4. Optimizasyon Çalışmaları	67
4.5. Toksikolojik Sonuçlar	67
4.5.1. Beyincik Nöron sonuçları.....	68
4.5.1.a. Beyincik Nöron MTT analizi	68
4.5.1.b. Beyincik Nöron Antioksidan Kapasitesi	68
4.5.2.c. Beyincik Nöron Oksidan Seviyesi.....	69
4.5.2. Korteks Nöron sonuçları	70
4.5.2.a. Korteks Nöron MTT analizi	70
4.5.2.b. Korteks Nöron Antioksidan Kapasitesi	71
4.5.2.c. Korteks Nöron Oksidan	72
4.5.3. Olfaktori Nöron sonuçları	73
4.5.3.a. Olfaktori Nöron MTT analizi	73
4.5.3.b. Olfaktori Nöron Antioksidan Kapasitesi	74
4.5.3.c. Olfaktori Nöron Oksidan Seviyesi	75
4.5.4. Histopatolojik bulgular	76
4.5.5. İmmunohistokimyasal bulgular	80
4.6. Nanopartiküllerin Kararlılığının Saptanması	85
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	86
KAYNAKLAR	104
ÖZGEÇMİŞ	115

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a,b,c	Örgü parametreleri
Å	Angstrom
CdS	Kadmiyum sülfür
d	Kiristal düzlemleri arası mesafe
DAB	Diaminobenzidine
DAYTAM	Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
EDS	Enerji dağılımlı X-Ray Spektroskopisi
E _g	Yarıiletken yasak enerji aralığı
eV	Elektron Volt
g	Gram
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
KN	Kuantum nokta
L	Litre
LB	Luria Bertani broth
M	Molar
ml	Mililitre (10 ⁻³)
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide
N	Normal
NA	Nutrient agar besiyeri
NIR	Yakın kızıl ötesi ışın bölgesi
nm	Nanometre (10 ⁻⁹)
°C	Derece (Sıcaklık)
rpm	Dakikada devir sayısı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TAK	Toplam Antioksidan Kapasitesi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
TOS	Toplam Oksidan Sayısı
UV	Morötesi (ultra- viyole) ışınları

X- ray	X- ışınları
XPS	X-ışını fotoelektron spektroskopisi
XRD	X-Işını Difraktometresi
α	Absorpsiyon katsayısı
λ	Dalgaboyu
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre (10^{-6})
μM	Mikromolar
θ	Gelen ışınlarla düzlem arasındaki Açık
2θ	Kırınım açısı
8 OHdG	8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Mikro ve nanometre büyüklükteki yapıların karşılaştırılması.....	11
Şekil 2.2. . Kuantum noktalarının temeli olan kuantum sınırlamasının ve büyüklüğe bağlı özelliklerinin gösterimi	19
Şekil 2.3. Kuantum noktalarının büyüklüğünün artmasıyla floresan emisyon dalga boyunun artması	19
Şekil 2.4. Nanopartikül sentezinde kullanılan metotlar	22
Şekil 2.5. Mikroorganizmalar tarafından kuantum parçacıklarının biyosentezi için genel şema	30
Şekil 2.6. Bakteriyal sentezin şematik gösterimi	31
Şekil 2.7. Metal sülfür nanopartiküllerinin biyosentezi.....	32
Şekil 3.1. Şematik olarak CdS nanopartiküllerin biyosentezi	43
Şekil 3.2. Elde edilen nöron ücreleri.....	49
Şekil 4.1. <i>V. arenosi</i> K64 izolatının NA ortamda gelişmesi.....	54
Şekil 4.2. Sıvı Cd dirençli <i>V. arenosi</i> K64 kültürleri.....	55
Şekil 4.3. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin.....	56
Şekil 4.4. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin ait floresan mikroskobu.....	57
Şekil 4.5. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin absorban spektrumu.....	58
Şekil 4.6. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin ait spektrofotometrik sonuçlar	59
Şekil 4.7. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin ait Zetasizer sonuçları	60
Şekil 4.8. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin TEM görüntüleri	61
Şekil 4.9. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin SEM görüntüleri	63
Şekil 4.10. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin EDS grafiki bir nokta	64
Şekil 4.11. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin XPS genel spektroskopisi ve Cd ve S spektroskopisi	65
Şekil 4.12. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin XRD kırınım deseni	67
Şekil 4.13. Beyincik nöron hücrelerin CdS nanopartiküllerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir.....	68

Şekil 4.14. Beyincik nöron hücrelerin CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet antioksidan kapasitesi oranları gösterilmektedir.	69
Şekil 4.15. Beyincik hücrelerin CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası toplam oksidan seviyeleri gösterilmektedir.....	70
Şekil 4.16. Korteks Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir	71
Şekil 4.17. Korteks Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Antioksidan Kapasitesi gösterilmektedir	72
Şekil 4.18. Korteks Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Oksidan Seviyesi gösterilmektedir.....	73
Şekil 4.19. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir	74
Şekil 4.20. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Antioksidan Kapasitesi gösterilmektedir	75
Şekil 4.21. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Oksidan Seviyesi gösterilmektedir	76
Şekil 4.22. Histopatolojik Beyin dokusunda.....	78
Şekil 4.23. Histopatolojik Beyincik dokusunda.....	79
Şekil 4.24. 8 OHdG Beyin dokusunda.....	82
Şekil 4.25. 8 OHdG Beyincik dokusunda	83
Şekil 4.26. GFAP Beyin dokusunda	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Kuantum sınırlama ve malzeme boyutu arasındaki ilişki.....	14
Çizelge 2.2. Bakteriler ile CdS kuantum nokta nanopartiküllerin sentezi ve özellikleri	27
Çizelge 2.3. CdS nanokristallerin genel özellikleri.....	33
Çizelge 4.1. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin EDS Spektroskopisi veri dokumu	64
Çizelge 4.2. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin XPS veri dökümü.....	66
Çizelge 4.3. Beyin ve beyincik dokularının histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmesi.	85

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, geniş anlamda nanometre büyüklüğündeki maddenin olağanüstü özelliklerini kullanarak, insan yaşamını iyileştirecek yeni malzemelerin ve araçların geliştirilmesini ifade eder. Nanoteknoloji fizik, kimya, biyoloji, malzeme bilimi, tıp ve mühendisliğin birçok alanının ortak katılımıyla ortaya çıkan disiplinler arası bir alandır (Zhang 2011; Rai and Ingle 2012). Nanoteknoloji kavramının doğuşunun, Amerikalı fizikçi Richard Feynman'ın 1959 yılında Amerikan Fizik Topluluğuna yapmış olduğu ünlü "There's Plenty of Room at the Bottom" ("Aşağıda Daha Çok Yer Var") konuşmasıyla başladığı kabul edilmektedir. Feynman bu konuşmasında, atomlardan ve moleküllerden başlayarak yeni özelliklere sahip olan yapıların hazırlanabileceğini ve bu yapılardan yararlanılarak, yeni kullanılabilir ürünlerin geliştirilebileceğini belirtmiştir. Ayrıca gerekli yapıların hazırlanması sırasında, makro dünyada yerçekimi gibi baskın olan kuvvetlerin, atomlardan ve moleküllerden hazırlanmış çok küçük yapıların işlenmesi sırasında yüzey gerilimi, Van der Waals ve dipol-dipol gibi zayıf etkileşimlerin daha önemli olacağını vurgulamıştır (Feynman 1992; Erkoç 2008).

Nanoteknoloji, son yıllarda, en kapsamlı çalışmaların yapıldığı alanlardan biri haline gelmiştir. Elektronik, sağlık, tekstil, boya sanayi, kozmetik, muhabere, bilgisayar, enerji ve çevre gibi hemen hemen her alanda adı duyulan nanoteknoloji henüz başlangıç evresindedir. Nanoteknoloji çalışmalarında oligonükleotidler, peptit-proteinler, mikroorganizmalar ve hücreler kullanılarak yeni nanoyapılar ve malzemeler hazırlanmakta, biyolojik süreçler gözlemlenerek, genetik mühendisliği, proteomiks ve tıpta kullanılacak yeni materyaller hazırlanmaktadır (Berk ve Akkurt 2016).

Nanoteknoloji, gelişen bu uygulamalarda diğer bilimlere göre özellikle biyoloji için daha fazla önem taşımaktadır. Çünkü birçok biyolojik yapı zaten orijinal olarak nanometre büyüklüğündedir. Dolayısıyla bu kapsamda ifade etmek gerekirse, canlılığın nanometre boyutlarında nano-dünya içerisinde devam ettiğini söyleyebiliriz. Örneğin canlılığın temelini oluşturan proteinler, karbonhidratlar ve lipitler işlevleri de göz önünde bulundurulduğunda, nanometre boyutundaki biyolojik yapıların en önemli temsilleri

olarak karşımıza çıkar. Nano boyuttaki bu işlevsel yapıların bir araya gelmesiyle oluşan makromoleküller ise daha yüksek fonksiyonel organizasyonlar meydana getirmektedir. Fakat aynı yapıya sahip olan moleküller, çeşitli moleküler organizasyonlar oluşturur ve bu organizasyonlar da farklı özellikler gösterir. Bu bağlamda, doğanın termodinamik nedenlerden dolayı bir araya gelmeye zorladığı yapıların dışında, yeni özelliklere sahip organizasyonlar hazırlamak da mümkün olmuştur. Böylece değişik özellikleri, insanoğlunun sürekli karşı karşıya olduğu birçok sorunun çözülmesinde daha etkili bir şekilde kullanılabilir. Canlılığın temel unsuru olan hücrenin çalışma potansiyeline bakıldığında, hücrenin nanoteknoloji kapsamına tam olarak uyduğu görülür. Birçok nanomakinanın kollektif olarak bir harmoni içerisinde çalıştığı bir nanoteknoloji merkezi olarak düşünülebilir.

Tek bir boyutu 1-100 nm olan parçacıklar, nanomalzeme olarak tanımlanmaktadır. Malzemelerin yapılarının nano boyutta kontrolünün sağlanması, bilim ve teknolojiye bir devrim yaratmıştır (Özdemir 2009; Valizadeh *et al.* 2012). Nanomalzemeler daha az maliyetle daha çok üretim yapılabilmesine olanak tanımaktadır. Özellikle enerji kaynaklarından tasarruf sağlamaktadır ve enerji maliyetinde düşüşe neden olmaktadır. Üretim sürecini kısıtlayarak zaman ve maliyetten tasarruf sağladığı gibi daha kaliteli ürün ve bu nedenle daha kaliteli, sağlıklı ve güvenli yaşam olanakları sunmaktadır (Erat vd 2010). Nanomalzemelerin bu avantajları nedeniyle bulk materyallerden tamamen farklı, yeni ve daha üstün fiziksel, kimyasal, manyetik ve optik özelliklere sahip olmasından kaynaklanır. Nanoölçeğin parçacık özelliklerine etki etmesinin temelde iki nedeni bulunmaktadır; yüzey alanının artışı ve kuantum etki. Boyut küçüldükçe malzemenin yüzey alanı artar, böylece dış yüzeyde bulunan atom sayısı da artar. Tüm maddeler atomların sahip olduğu değerlik elektronu denilen dış yörünge elektronları aracılığıyla etkileşime girdiği için yüzeyde artan atom sayısı doğrudan maddenin yeni etkileşimler, yani bağlar kurmasına neden olur. Bu elektron hareketleri de malzemenin yeni özelliklerini belirler (Sobolev 2005).

Teknolojileri geliştirmemize nanopartiküller (NPs), hastalıkların ve enerji bağımlılığı gibi insanlığın çözülmemiş pek çok konusunu ele alınmıştır. Nanoteknoloji biliminde

önemli bir etkiye sahiptir ve ikisi birden düzeyleri, örneğin bulk malzemeler ve atomik veya moleküler yapılardır. Nanomalzemelerin benzersiz özellikleri, optoelektronik gibi çeşitli uygulamalarda (Colvin *et al.* 1994), kataliz (Hoffman *et al.* 1992), tek elektronlu transistörler (Weller 1998), manyetik (Shi *et al.* 1996) ve biyomedikal cihazlar (Dagani 2002). Nanoteknoloji araştırmalarının kilit alanı, nanomalzemeleri üretmek için kontrol edilebilir ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi ile ilgilidir.

Nanobilimin en önemli malzemesi nanopartiküllerdir. Nanopartiküller organik ve inorganik malzemeler olmak üzere iki ana başlıkta sınıflandırılmaktadır. Karbon nanopartiküller organik nanopartiküllerdir. Manyetik nanopartiküller, metal nanopartiküller (platinyum, altın ve gümüş) ve yarı iletken nanopartiküller (tityum dioksit ve çinko oksit) inorganik nanopartiküller olarak sınıflandırılmaktadır (Asmathunisha and Kathiresan 2013).

Kuantum noktalar (KN = Quantum Dots = QDs) dünyanın en pahalı yüksek teknoloji ürünlerinden biri olan, cep telefonundan kanser tanı sistemlerine kadar günlük yaşamda kullandığımız pek çok üründe kullanılmaktadır (Valizadeh *et al.* 2012; Galan 2013; Yang *et al.* 2015; Berk ve Akkurt 2016). Bütün bunların yanında nanoteknolojinin uygulama alanları olarak düşünülen bazı alanlar da bulunmaktadır. Nanoölçekte elektronik devre elemanları ile daha küçük, daha hızlı, daha az enerji harcayan bilgisayarlar, mikro ölçekteki uzay araçlarında kullanılabilecek nanoölçekte aletler, nanoelektronik ile desteklenen uçuş sistemleri, bilgisayar ve elektronik alanındaki muhtemel uygulamalara örnek olarak verilebilir. İlaçların vücutta sadece gerekli olduğu bölgede kullanımını sağlayan sistemler, tehlikeli hastalıkları haber veren algılayıcılar ise tıp alanında düşünülen muhtemel uygulamalardır (Medina *et al.* 2007; Erkoç 2008; Berk ve Akkurt 2016). Yakın Kızılötesi Bölgesinde Işıyan Kuantum Noktacıkları (YKBIKN) biyoteknoloji ve enerji uygulamaları için son zamanlarda büyük önem kazanmaktadır.

Kuantum noktaları, proteinler, oligonükleotidler ve siRNA (small interfering RNA) gibi spesifik ilaçların özellikle merkezi sinir sistemindeki hedeflenmiş kanser hücrelerine nüfuz etmesini sağlayan lüminesan kristaller olarak bilinmekte ve bu nedenle biyolojik

görüntüleme için kullanılmaktadır. Ancak, kuantum noktaların toksisite sorunları, insanlara tıbbi uygulamada büyük bir engel teşkil etmektedir (Dikpati *et al.* 2012).

Kuantum noktaları suda çözünür hale getirme ve biyomoleküllere hedefleme yeteneği, hücresel etiketleme, deeptid görüntüleme, test etiketleme ve verimli floresan rezonans enerji transfer donörleri olarak bilinmektedir (Medintz *et al.* 2005).

Mahendra *et al.* (2008), kuantum noktaların orta asidik ve alkalın koşullara maruz kaldığında yüzey kaplamalarının bozunmasını, kuantum noktanın bozunması ve toksik çekirdek bileşenlerin salınması belirlenmiştir. Sonuçlar kuantum noktaların, nötr pH'da çeşitli uygulamalarda güvenli bir şekilde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Zehirli inorganik bileşenlerin, insan vücudundaki asidik veya alkalın koşullar altında havaya çıkarılması sırasında serbest bırakılması veya çevre kısa vadeli toksisite testleri ile tahmin edilmesi zor olabilecek istenmeyen zararlara neden olabilir.

Son yıllarda neticesinde nükleer tıp alanında görüntüleme ve terapi amaçlı bazı radyoizotop işaretli kuantum noktalar hazırlanmaktadır. Kuantum noktaları 2-8 nanometre boyutlarında yarı iletken malzemedan hazırlanan yapılar olup, büyüklükleri ve boyutlarıyla floresan yayma özellikleri değişen nanopartiküller olarak bilinmektedir. Bu yarı iletken nanokristaller, floresan yayan diğer moleküller ile karşılaştırıldığında floresan yayma özelliklerinin değiştirilebilmesi, daha iyi ışımaya parlaklığı verebilmesi, foto bozunmaya dayanıklı olması ve multipleks görüntüleme amacıyla kullanılabilir olması bakımından daha üstündürler. Kuantum noktalarının kullanımıyla daha iyi hücresel ve biyomedikal görüntüleme yapmanın da mümkün olacağı düşünülmektedir. Aslında kuantum noktalarının üstün özellikleri, kuantum büyüklük sınırlamasından (quantum size confinement) kaynaklanmaktadır. Bu özellik ilk defa 1982'de Ekimov ve Onushchenko tarafından gözlenmiştir.

Elektron enerji bantları, kuantum noktalarının enerji seviyelerinin sürekliden ziyade kesikli olması nedeniyle, bir veya birkaç atomun Kuantum noktalarına eklenip çıkarılmasıyla kolayca etkilenebilir. Kuantum noktalarının değiştirilmesi de aynı etkiyi

oluşturmaktadır. Böylece kuantum noktasının büyüklüğünün değiştirilmesiyle soğurma ve yayma özelliği de kolayca değiştirilebilir. Kuantum noktalarının büyüklüklerine bağlı olarak floresan yayma özelliklerinin değişimi görülmektedir. Kuantum noktaları büyüdükçe yayılan elektromanyetik radyasyonun dalga boyu kırmızıya kaymaktadır. Böylece ihtiyaca bağlı olarak istenilen dalga boyunda soğuran ve ışık yayan kuantum noktaları hazırlanabilmektedir. Kuantum noktalarının diğer bir özelliği ise lazere maruz kalmaları durumunda uzun süre bozunmamaları ve floresan özelliklerini korumalarıdır. Tüm bu özelliklerle birlikte kuantum noktalarının floresan görüntüleme amacıyla kullanımının mümkün olması, suda çözünen formlarının sentezlenmesi ve biyomoleküllere bağlanması ancak 1998'de mümkün olmuştur (Bruchez *et al.* 1998). Bu ilk çalışmalardan sonra devam eden çok yoğun çalışmalar neticesinde kuantum noktaları, önce suda çözünürlüklerini arttırmak için suda çözünebilen bir polimerle kaplanmış (Pellegrino 2004) daha sonra da üzerine küçük proteinler (Hanaki 2003), peptitler (Akerman 2002), nükleik asitler (Mahtab 1995), karbohidratlar (Osaki 2004), polimerler (Akerman 2002) ve küçük moleküller (Lingerfelt 2003) bağlanmıştır. Böylece biyomoleküllerin bağlanmış olduğu kuantum noktaları kullanılarak, hücre yüzeyindeki algılayıcıların gerçek zamanlı görüntülenmesi (Dahan 2003) ve hayvanlar üzerinde tümör tanısı yapılabilmektedir (Gao 2004).

Kuantum noktalarının biyolojik uygulamalarda kullanılabilmesi için suda çözünür olmasının önemi daha önce de vurgulanmıştır fakat birçok kuantum noktasının sentezi hidrofobik çözücülerde yapılmaktadır. Ayrıca kuantum noktalarının biyolojik uygulamalarda kullanılabilmesi için uzun süre su içerisinde kararlı kalabilmeleri, yüzeylerinde biyolojik moleküllerin bağlanabileceği ulaşılabilir fonksiyonel gruplar bulundurmaları, canlı sistemlerle biyo-uygunluk içerisinde olmaları ve bağışıklık sisteminde sorunlar oluşturmamaları son olarak da yapılan işlevsizleştirmeden sonra kuantum noktasının özelliklerinde herhangi bir değişikliğin oluşmaması gerekmektedir. Böylece uygun yapıya sahip hale gelen kuantum noktaları hücrelerde ya da çeşitli biyolojik örneklerde kullanılma imkanına olmaktadır. Hücre içi faaliyetlerin gözlemlenebilmesi için de kuantum noktalarının öncelikle hücre içerisine gönderilmesi gerekmektedir. Kuantum noktalarını kontrollü bir şekilde hücre içerisine göndermek ise

ayrı bir itina isteyen noktadır. Bu nedenle bu nanoparçacıkları hücre içine göndermede birçok strateji bulunmaktadır ve yeni stratejiler geliştirmek için de çalışmalar hızla devam etmektedir.

Nanotıpın önemli beklentilerinden birisi de birçok işlevi aynı anda yerine getirebilecek moleküler yapıların oluşturulabilmesidir. Örneğin görüntüleme ve hedefleme gibi iki önemli fonksiyonu yerine getirebilen yapıların hazırlanması birçok hastalığın hem tedavisinde hem de teşhisinde kullanılabilir. Son yapılan çalışmalardan birinde hedeflenecek ilacın hapsedildiği bir immuno-lipozom'a, kanserli hücreleri hedefleyen reseptörler ve kuantum noktaları bağlanarak oluşturulmuş yapı görünmektedir. Oluşturulan bu yapı hem ilaç hedefleme hem de görüntüleme amacıyla kullanılabilir (Weng 2008). Kısaca anti-kanser ilacı olan doxorubicin önce immünolipozom içerisine hapsedilmiştir daha sonra çekirdek/kabuk kuantum noktası ve kanserli hücreyi hedefleyen bir moleküler yapı (anti- HER2/ErbB2 single chain Fv fragment), bir ara molekül yardımıyla (poli etilen glikol) bu lipozoma bağlanmaktadır. İlaç ve gen hedeflenmesi de son yıllarda üzerinde çalışılan önemli konulardan biridir. Dolayısıyla nanoteknolojik ürünlerin ilaç ve gen hedeflenmesinde kullanımları da son yıllarda çok güncel olan konular haline gelmiştir. İlaç hedeflemesi uzun yıllardır üzerinde durulan bir konu olduğu için çeşitli detaylı araştırmalar sonucunda günlük hayatımıza kadar giren ürünlerin oluşmasını sağlamıştır. Bu konuya yeni ve/veya alternatif bir bakış açısı kazandırmak ve yeni gelişmelere zemin oluşturmak üzere nanoteknolojik yapılar çok kısa bir sürede bu uygulamada da kendini göstermeye başlamıştır. Bu amaçla en çok tercih edilen nanoparçacıklar arasında kuantum noktalar, karbon nanotüplerin ve altın nanoparçacıkların ilaç hedeflenmesinde kullanımları bilinmektedir.

Gen hedeflenmesini gerektiren durumlardan bazıları, organizmada işlevini yerine getiremeyen, yetersiz kalan genlerin veya gereksiz/zararlı gen ifadelerinden dolayı oluşan birçok genetik hastalığın bulunması olduğu için bu etkilere sahip birtakım genlerin susturulması gerekebilir. Bu amaçla geliştirilen siRNA teknolojisi son yıllarda üzerine birçok araştırmanın yapıldığı bir konu olup, genlerin susturulmasında kullanılmak üzere her geçen gün çalışmaların biraz daha yoğunlaştığı bir alan olmuştur. Fakat siRNA

teknolojisinin önünde bazı engeller bulunmaktadır ki bunlar; siRNA'nın hücre içerisine gönderilmesi, taşıyıcıdan salıverilmesi, endozomal kaçışlar ve birçok hücrel moleküler işlemler ile etkileşmesidir (Yezhelyev 2008). Fakat umut vaat edici bazı çalışmaların olduğu da bilinmektedir. Örneğin yapılan bir çalışmada siRNA transferi ve hücrel görüntüleme birleştirilmiştir. Kuantum noktası $-COOH$ ve $-NR_2$ gruplarına sahip moleküler yapı ile kaplanmış ve böylece yüzey yükü ayarlanabilir bir özellik kazanmıştır. Yüzey yapısında bulunan üçüncül amin yapı ise, siRNA'nın bağlanması için pozitif yükü sağlamakta ve ayrıca sağladığı pozitif yük nedeniyle kuantum noktası-siRNA kompleksinin hücre içerisine girmesini kolaylaştırmaktadır.

Geliştirilen nanoparçacıklar arasında kuantum noktalarının üstün floresan yayma özellikleri, kanserli dokuların ve tümörlerin tespitinde kullanımlarını ideal yapmaktadır. Daha önce de bahsedildiği üzere kuantum noktaları floresan ışık yayan moleküller ile karşılaştırıldıklarında hem daha dayanıklı hem de daha fazla verimle ışımaya yapabilmektedirler. Bu nedenle daha hassas tanı uygulamalarında oldukça önemli yere sahip olacaklardır. Daha önce belirtildiği üzere kuantum noktalarının kullanılmasındaki en önemli engel toksik özellikler taşımalarıdır. Bu nedenle son yapılan çalışmalarda toksik etkilerinin giderilmesi üzerinde çalışmalar yoğunlaşmaya başlamıştır. Yüzey özelliklerinin çeşitli yöntemler ile işlevselleştirilmesi mümkün olmuşsa da kullanıma sunulmasında çekinceler hala devam etmektedir. Bu nedenle biyolojik sentez yöntemleri uygulanmakta ve bu deneme çalışmaları şimdilik hayvan deneyleri ile sınırlı kalmaktadır.

Kuantum noktalar diğer nanopartiküller de fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri olduğu gibi biyolojik sentez yöntemi ile elde edilebilir. Nanobilim ve nanoteknoloji, atom ve molekülleri değiştirip işleyerek onların istenilen düzene getirilmesini ifade eder. Bu durumda insanoğlunun atom ve molekülleri işleyecek yolları bulması gerekmektedir. Bu amaçla da iki yaklaşım kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi "yukarıdan aşağıya" (top-down) yaklaşımıdır ki, insanoğlu var olduğundan beri bu yöntemi kullanmaktadır; yani yontarak, keserek ve kalıba dökerek yeni malzeme ve araçlar oluşturmaktadır. İkincisi ise, nanoteknoloji kavramının ortaya çıkmasıyla ön plana çıkan "aşağıdan yukarıya" (bottom-up) yaklaşımıdır ki bu yaklaşım; yeni malzemelerin ve araçların atom atom veya

molekül molekül oluşturulmasında kullanılmıştır ve “kendiliğinden düzenlenme” ölçekte adlandırılır denilir (Nagajyothi and Lee 2011; Berk ve Akkurt 2016).

Kimyasal ve fiziksel sentez, kuantum nokta nanopartiküllerin sentezi için en çok kullanılan yöntemlerden biridir, kontrollü reaksiyon koşulları altında sıvı ve gaz fazında gerçekleşir. Ancak, çevresel sorunların artması ve fiziksel ve kimyasal sentezin olumsuz etkileri nedeniyle çoğu araştırmacılar tarafından nanopartikül sentezi için biyolojik yöntem geliştirilmesine ihtiyaç duymaktadır. (Rai *et al.* 2008). Bu toksik kimyasalların kullanımı, biyomedikal uygulamalarını sınırlanmaktadır. Bu nedenle kuantum noktaların sentezi için toksik olmayan ve çevre dostu bir yöntem geliştirilmesi son derece önemlidir. Bu sorunun üstesinden gelmenin bir yolu, mikroorganizmalar kullanarak bu partiküllerin biyolojik sentezinin yapılmasıdır.

Üretilen malzemelerin biyoyumlu olması için yapılan araştırmalarda sentez yöntemlerinin geliştirilmesidir. Önemli olma nedeni ile araştırmalar biyolojik sentez/biyosentez yöntemini deneyerek çeşitli canlıların üzerinde yapılan çalışmalar sonucu mikroorganizmaların oldukça kullanışlı olduğu anlaşılmıştır. İstenilen malzemenin üretiminde nano boyutta olmasıyla, biyoyumlu, biyobozunan, toksisitesi az, çevre dostu olan malzemelerin üretilmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla nanopartikül üretimi sonucu ortaya çıkan malzemeler de ticari olarak değer kazanmaktadır (Akmayan 2015).

Biyosentetik partikül üreticileri olarak bitkilerin, bitki ekstraktlarının (Geethalakshmi and Sarada 2010; Song *et al.* 2010) bakterileri (Husseiny *et al.* 2007; Shahverdi *et al.* 2007, 2009) ve insan hücrelerinin (Anshup *et al.* 2005) kullanıldığına da literatürde bilgi bulunmaktadır. Mikroorganizmalar ile partikül sentezi de bir hayli yaygındır (Jeffryes *et al.* 2015), funguslar (Parikh *et al.* 2008; Gajbhiye *et al.* 2009), aktinomisetler (Ahmad *et al.* 2003; Golinska *et al.* 2014), likenler (Shahi and Patra 2003) ve algler (Singaravelu *et al.* 2007; Chakraborty *et al.* 2009). S-layer bakteriler, diatomlar ve magnetotaktik bakteriler gibi dahil olmak üzere pek çok mikroorganizmanın, nanopartikülleri sentezleme yeteneğine sahip oldukları bulunmuştur (Kumar and Yadav 2009; Satyavathi

et al. 2010). Birçok açıdan avantajlara sahip olan biyosentez yöntemi çok çeşitli canlı sistemlerini üretici kaynağı olarak kullanmaktadır (Mohanpuria *et al.* 2008).

Hüresel sistemler ile yapılan sentezler hücre içi (intracellular) ve hücre dışı (extracellular) sentez olmak üzere genel olarak iki kategoriye ayrılmaktadır (Mallikarjuna *et al.* 2011). Hücre içi sentez, hücrelerde bulunan bazı özel iyon taşıma sistemlerini kullanarak üretim yapmaktadır. Bunun yanında hücrelerin sahip olduğu metabolik aktiviteler, hücre dışında nanopartikül çökmesine neden olur. Hücre dışı sentez ile bu şekilde üretim yapılması hücrenin bulunduğu ortamda metal iyonlarının bulunması gereklidir. Böylece özellikle mikroorganizmalar tarafından salınan indirgeyici ajanlar ile ortamda bulunan metal iyonları indirgenmekte ve partikül ekstraselüler yolla şekillendirilmektedir.

Hücre içi sentez ilk etapta boyut dağılımının ve şekil kontrolünün sağlanması noktasında avantajlı görünse de partiküllerin saflaştırılması konusunda maliyeti ve iş yükünü artırmaktadır (Zhang *et al.* 2011). Hücre dışı sentezde, hücre tarafından salınan redüktaz enzimleri, ortama ilave edilen iyonları kullanarak redoks reaksiyonu sonucunda nanopartikülleri oluşturur. Ekstraselüler sentez partiküllerin karalılığını artırmak için protein vb. ile modifikasyonu eş zamanlı yaptığı için daha etkileyicidir.

Mikroskop ile görülebilecek boyuttaki prokaryotik (genetik materyal sitoplazmada) ve ökaryotik (genetik materyal zar ile çevrili çekirdekte) tüm canlılar mikroorganizma sınıfına dahildir. Tek hücreli organizmalar ister prokaryot olsun ister ökaryot, temel ihtiyaçlarını görebilecek sistemlere (proteinler, enzimler, ribozomlar vs.) sahiptirler. Bu şekilde hem hayati ihtiyaçlarını karşılarlar hem de çevresel şartlara uyum sağlar, şartlar zorlaştığında ise hayatta kalmanın bir yolunu ararlar.

Mikroorganizmalardan küf, maya, alg, diatomlar ve bakteriler nanopartikül sentezinde kullanılmaktadır. Özellikle bakterilerden biyosentez amacıyla faydalanmak manipülasyonların çok daha kolay olması bunun yanında kültüre alınmasındaki basitlik ve partiküllerin kolay bir şekilde elde edilmesi açısından literatürde kullanımları oldukça yaygındır. Bakteriler ucuz üretim ve kolay saflaştırma süreci nedeniyle nanomateryal

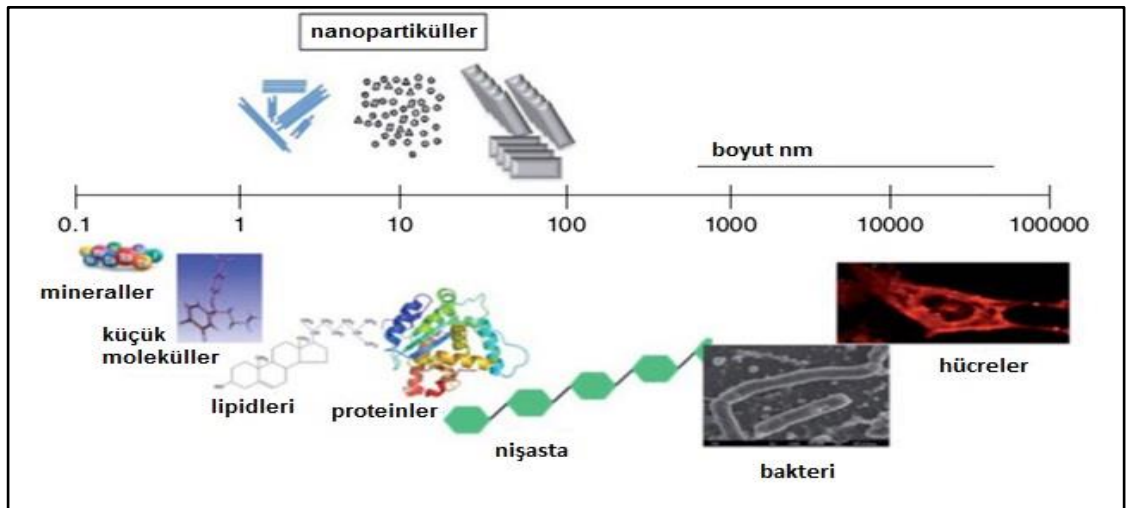
sentezinde en sık kullanılan mikroorganizmalardır (Vaseeharan *et al.* 2010; Thakkar *et al.* 2011; Rajesh *et al.* 2012; Renugadevi and Aswini 2012; Zhang *et al.* 2011).

Bu çalışma ile önemli bir kuantum nokta olan kadmiyum sülfür (CdS), biyolojik yöntem ile sentezlenmiştir. Floresan özelliği olan kadmiyum sülfür kuantum noktalar birden fazla alanda kullanılmaktadır. Bu kullanımlar için iyi karakterize edilmiş olması gerekmektedir. Bu amaç için elde edilen partiküller Spektrofotometrik, Spektrofluorometrik, Zetasizer, TEM, SEM, EDX, XRD ve XPS yöntemleri kullanılarak nanokarakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Karakterizasyon işlemlerinden sonra hücre görüntüleme ve ilaç taşınımı gibi işlemlerde kullanılacak boyut ve nitelikte olduğu belirlenen malzemenin bazı seçici toksisite testleri yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Nanobilim, Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, nano ve teknoloji kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşmuş son yıllarda hızla gelişen yeni bir bilim dalıdır. *Nano* kelimesi, eski Yunanca'da "cüce" anlamına gelmektedir (Keiper 2003; Devon *et al.* 2007). Teknoloji kelimesi ise Yunanca *tekhné* (el işi veya sanat) ve *logia* (herhangi bir alandaki çalışma) kelimelerinin birlikte kullanılmasıyla oluşmuştur (Kutucu 2010). "nm" tanımında ise insanoğlunun geçmişten bu yana standart bir uzunluk ölçü birimi olarak kullandığı metreye dayandırılarak yapılan tanımları karşımıza çıkar. Böylece geleneksel olarak metreyle karşılaştırılarak ifade edilen en yaygın "nm" tanımı; '1 metrenin milyarda (1,000,000,000) biri olan ölçü birimi" olarak ifade edilebilir ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Bu büyüklüğün daha iyi anlaşılabilmesi için Şekil 2.1'de doğal olarak mevcut olan ve insan yapımı birçok malzemenin büyüklüklerinin karşılaştırılması verilmiştir. Nanoteknoloji de bu bağlamda "çok küçük maddelerin teknolojisi" olmaktadır (Buzea *et al.* 2007).



Şekil 2.1. Mikro ve nanometre büyüklükteki yapıların karşılaştırılması (Singh 2015)

Nanoteknoloji, geniş anlamda maddenin nanometre büyüklüğündeki olağanüstü özelliklerini kullanarak, insan yaşamını iyileştirecek yeni malzemelerin ve araçların

geliştirilmesini ifade eder. Nanoteknoloji ise fizik, kimya, biyoloji, malzeme bilimi, tıp ve mühendisliğin birçok alanının ortak katılımıyla ortaya çıkan disiplinler arası bir alandır. Nanobiyoteknoloji kavramı oldukça geniş bir alanı kapsamına rağmen hedeflerinden bazıları şöyle sıralanabilir; nanoteknoloji yardımıyla oligonükleotidlerin, peptit-proteinlerin, mikroorganizmaların ve hücrelerin kullanımıyla yeni nanoyapıların ve malzemelerin hazırlanması, biyolojik süreçlerin gözlemlenmesi, tıp ve biyolojide kullanılabilir yeni araçların hazırlanmasıdır.

Pek çok alana hizmet eden nanoteknoloji özellikle temel ve uygulamalı bir bilim olarak biyoloji için büyük önem arz etmektedir. Çünkü birçok biyolojik yapı zaten orijinal olarak nanometre büyüklüğünde mevcuttur. Dolayısıyla bu kapsamda ifade etmek gerekirse, canlılığın nanometre büyüklüğünde nano-dünya içerisinde devam ettiğini söyleyebiliriz. Örneğin canlılığın temelini oluşturan proteinler, karbonhidratlar ve lipitler işlevleri de göz önünde bulundurulduğunda, nanometre boyutundaki biyolojik yapıların en önemli temsilleri olarak karşımıza çıkar. Nano boyuttaki bu işlevsel yapıların bir araya gelmesiyle oluşan makromoleküller ise daha yüksek fonksiyonel organizasyonlar meydana getirmektedir. Fakat aynı yapıya sahip olan moleküller, çeşitli organizasyonlar oluşturur ve bu organizasyonlar da farklı özellikler gösterir. Bu bağlamda, doğanın termodinamik nedenlerden dolayı bir araya gelmeye zorladığı yapıların dışında, suni olarak hazırlanmış yeni özelliklere sahip organizasyonlar hazırlamak da mümkün olmuştur. Böylece hazırlanan bu suni yapıların değişik özellikleri, insanoğlunun sürekli karşı karşıya olduğu birçok sorunun çözülmesinde daha etkili bir şekilde kullanılabilir.

2.2. Nanomalzemeler

Malzemenin nanometre boyutundaki olağanüstü özellikleri ile canlılığın yürüdüğü boyut birlikte ele alındığında insanoğlunun hem keşfetmesi gereken yeni yapılar ve malzemelerin olduğu hem de hazırlayabileceği üstün özelliklere sahip araçların bulunduğunu varsaymak abartı olmayacaktır.

Canlılığın temel unsuru olan hücrenin çalışma potansiyeline bakıldığında, hücrenin nanoteknoloji kapsamına tam olarak uyduğu görülür. Böylece, hücrenin birçok nanomakinanın kolektif olarak harmoni içerisinde çalıştığı bir nanoteknoloji merkezi olduğu düşünülebilir.

Bir malzeme en azından bir boyutu sınırlandırıldığında benzersiz özellikler kazanırsa nanomalzeme olarak adlandırılmaktadır (Işık 2010). Nanomalzeme, 1 ile 100 nm arasındaki boyutlarında bulunan metal, seramik, organik moleküler topluluk, polimerik veya kompozit malzemelere verilen genel bir isimdir. Nanomalzemeleri geleneksel malzemelerden ayıran en önemli parametre, partikül yapılarının büyüklüğüdür. Geleneksel malzemelerin çapları mikrondan milimetreye kadar uzanan bir seviyede olurken, nanomalzemelerin çapları 1-100 nanometre arasında değişmektedir (Lee 2008; Akçay 2011).

Nanomalzeme daha az maliyetle daha çok üretim yapılabilmesine olanak tanımaktadır. Enerji kaynaklarından tasarruf sağlar ve enerji maliyetinde düşüşe neden olur. Üretim sürecini kısıtlar böylece zaman ve maliyetten tasarruf, daha kaliteli ürün ve dolayısıyla daha kaliteli, sağlıklı ve güvenli yaşam olanakları sunar. Nanomalzemelerin bu avantajları, bulk materyallerden tamamen farklı, yeni ve daha üstün fiziksel, kimyasal, manyetik ve optik özelliklere sahip olmasından kaynaklanır. Nanoölçeğin parçacık özelliklerine etki etmesinin temelinde iki nedeni bulunmaktadır; yüzey alanının artışı ve kuantum etki. Boyut küçüldükçe malzemenin yüzey alanı artar, böylece dış yüzeyde bulunan atom sayısı da artar. Tüm maddeler atomların sahip olduğu değerlik elektronu denilen dış yörünge elektronları aracılığıyla etkileşime girdiği için yüzeyde artan atom sayısı doğrudan maddenin yeni etkileşimler, yani bağlar kurmasını sağlar (Sobolev 2005). Bu elektron hareketleri de malzemenin yeni özelliklerini belirler.

2.2.1. Nanomalzemelerin boyutları

Nanomalzemelerin morfolojisi ya da şekilleri toksisiteleri üzerine önemli bir rol oynadığında bu boyut sayılarına dayalı sınıflandırma kullanışlı olmaktadır (Çizelge 2.1) (Buzea *et al.* 2007).

Çizelge 2.1. Kuantum sınırlama ve malzeme boyutu arasındaki ilişki

Yapı	Kuantum Sınırlama	Serbest Boyut
Bulk	0	3D
Kuantum well / süperlattis	1	2D
Kuantum teller	2	1D
Kuantum noktalar/ Nanokristaller	3	0D

Nanomalzemelerden kuantum noktalar ve birçok nanopartikül yapıları 3 boyutta kuantum sınırlama etkisinde olduğu için sıfır boyutlu (0D) materyallerdir. Bunun yanında tüp ve teller tek boyutlu olarak sınıflandırılır (Lee 2008).

Bir boyutlu (1D) nanomateryaller: Nanometre ölçeğindeki bir boyutlu (1D) malzemeler genel olarak ince filmler veya yüzey kaplamalardır.

İki boyutlu (2D) nanomateryaller: İki boyutlu (2D) nanomateryaller nano ölçekte iki boyuta sahiptir. Bunlar, küçük partikülleri süzme ve ayırma işlemlerinde kullanılan nano gözenekli filtreleri veya bir alt tabakaya sağlam bir şekilde bağlanan nanoyapılar ile iki boyutlu nanoyapılı filmleri içerir.

Üç boyutlu (3D) nanomateryaller: Her üç boyutta büyüklükleri nanometrik skalada verilmiş malzemeler üç boyutlu (3D) olarak kabul edilir.

Kuantum sınırlama nedeniyle maddelerin kuvvet etkileşimleri, elektron ilişkileri, band-gap enerjileri vb. tüm atomik etkileşimleri bulk materyale göre farklı davranışlar

sergilemektedir. Bu şekilde kazandıkları yeni özellikleri ile nanomalzemeler sağlık, tekstil, otomobil sanayi, boya sanayi, inşaat ve elektroniğe kadar uzanan yeni ve çeşitli kullanım alanlarında kendilerine yer bulabilmişlerdir. Nanotüp, nanotel, nanoçubuk, nanoküre, topak, nanolif, çok tabakalı filmler, grafen, lipozomlar ve dendrimerler, nanokristaller ve kuantum noktalar başlıca nanoyapı örnekleridir (Işık 2010).

2.3. Nanopartiküller

Atomik ve moleküler uzunluk ölçüsünde en azından bir boyutu sınırlandırılmış olan parçacıklara nanopartiküller adı verilir. Nanopartiküller amorf veya kristal forma sahip olabilir ve yüzeyleri sıvı damlacıklar ya da gazlar için taşıyıcı olarak işlev görebilir. Bir dereceye kadar nanopartiküller, geniş yüzey alanı ve kuantum boyut etkileri gibi farklı özelliklerinden dolayı katı, sıvı, gaz ve plazma durumlarına ilaveten maddenin farklı bir durumu olarak düşünülebilir (Buzea *et al.* 2007).

Nanopartiküllerin olağan dışı fizikokimyasal özellikleri (yüzey yapısı, yüzey reaktivitesi, yüzey grupları ve kaplamaları, çözünürlük, yüzey morfolojisi, adsorblanan kimyasalların etkisi, şekil ve topaklanması) 100 nanometreden küçük olması kaydıyla Kabul edilmiştir (Habeeb 2013; Hulkoti and Taranath 2014).

Altın, gümüş, platin, alüminyum, çinko, karbon, titanyum, paladyum, demir ve bakır gibi metal nanopartiküller, son zamanlarda muazzam bir önem kazanmıştır (Hulkoti and Taranath 2014; Liu *et al.* 2017).

Nanopartiküller son zamanlarda yüksek derecede patojenik mikroorganizmalar için antimikrobiyal olarak ve ilaç dağıtımı gibi biyomedikal araştırma ve uygulamaları için tıp alanında kullanılmaktadır (Habeeb 2013).

2.3.1. Metal nanopartiküller

Altın, gümüş ve bakır gibi metal nanopartiküllerdir; altın, bir soy metaldir ve aslında hiçbir element ile reaksiyona girmediği bilinir. Ancak nanoboyutlarda altın reaktiftir. Bu gelişmelerle birlikte altın ve gümüş nanopartiküllerler, günümüzde nanobiyoteknoloji alanında oldukça önemli bir yer edinmiş ve pratik olarak birçok uygulamada kullanılmak üzere değişik yöntemlerle sentezlenmeye başlamıştır (West 2003). Her malzeme gibi metaller de ışık ile etkileşime girmektedir.

2.3.2. Karbon nanotüpler

Tek katlı/duvarlı KNT'ler TKKNT'ler, bir grafen tabakasının yuvarlanarak, geniş kenarlarından birbirlerine bağlanmasıyla oluşan yapılar olarak tarif edilebilir. Karbonun allotropları olan elmas, fulleren, grafit ve Karbon nanotüplerin KNT'ün yapıları ise grafit tabakasının katlanarak TKKNT oluşturması ve bunun taramalı tünelleme mikroskopu görüntüsü görülmektedir. Çoklu katlı/duvarlı KNT ÇKKNT'ler, TKKNT'lerin iç içe geçmiş hali olarak düşünülebilir (Saito 1999).

2.3.3. Manyetik nanopartiküller

Manyetik nanopartiküller isminden de anlaşılacağı üzere, manyetik özellik gösteren ve manyetik alanda değiştirilerek ayarlanmasıyla elde edilebilen nanopartiküllerdir. Genel olarak demir, nikel ve kobalt gibi manyetik özelliği olan elementlerden ve bu elementlerin bileşiklerinden oluşurlar. Genel olarak da 1-100 nm büyüklüğündeki nanopartiküller super manyetik özellikler göstermektedir. Manyetik nanopartiküller bu yeni özellikleri ile katalizör olarak kullanılabileceği gibi, nükleer manyetik rezonans (NMR) görüntüleme, biyotıpta, veri depolamada ve çevre kirlenmelerinin temizlenmesinde de kullanılabilmektedir (Mornet 2006).

2.3.4. Kuantum noktaları

Kuantum noktaları (QDs-KN) nanometre boyutlarında yarı iletken malzemedен hazırlanan yapılar olup, büyüklükleri ve boyutlarıyla floresan yayma özellikleri değişen nanoparçacıklardır. Bu yarı iletken nanokristaller, floresan yayan diğer moleküller ile karşılaştırıldığında floresan yayma özelliklerinin değiştirilebilmesi, daha iyi ışımaya parlaklığı verebilmesi, foto bozunmaya dayanıklı olması ve multipleks görüntüleme amacıyla kullanılabilir olması bakımından daha üstündürler. Kuantum noktalarının kullanımıyla daha iyi hücresel ve biyomedikal görüntüleme yapmanın da mümkün olacağı düşünülmektedir. Aslında Kuantum noktalarının üstün özellikleri, kuantum büyüklük sınırlamasından (quantum size confinement) kaynaklanmaktadır (Carver 2006).

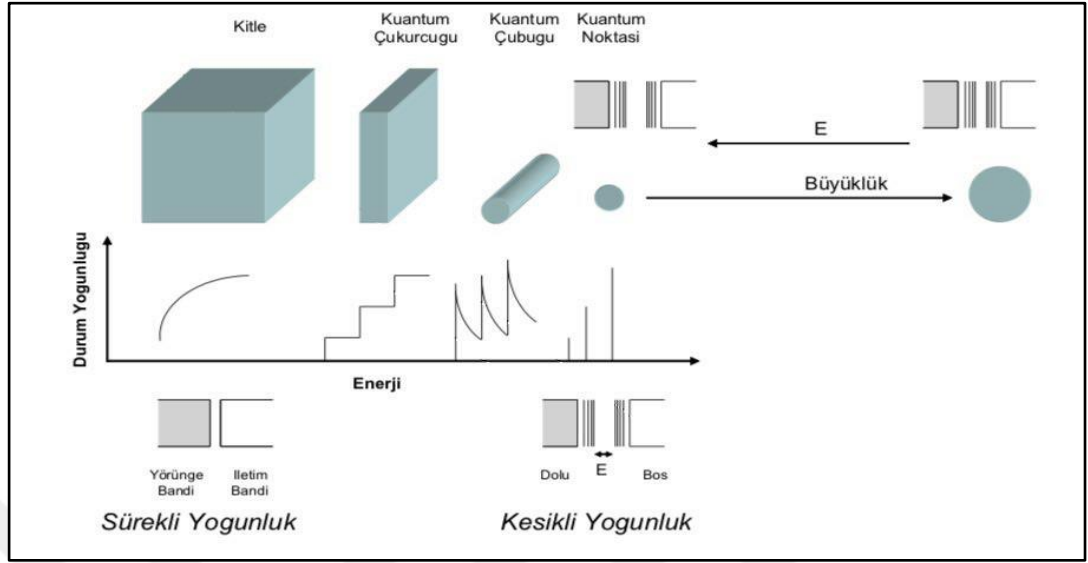
Kuantum noktalarının büyüklükleri ve yapılarını oluşturan yarı iletkenlerin kompozisyonu değiştirilerek farklı dalga boylarında yayılım yapıları sağlanabilir. Kütle halindeki yarı iletkenlerin elektronları birçok enerji seviyesinde bulunur ve bu enerji seviyeleri birbirine çok yakındır. Bazı enerji seviyeleri ise elektronların ulaşamayacağı seviyede olur; yasaklanmış olan bu bölgeler de “bant aralığı” (band gap) olarak adlandırılır. Bant aralığının altında elektronlar bulunduran bant ise “değerlik bandı” olarak adlandırılır. Elektronların çoğu değerlik bandında bulunur ve kütle halindeki yarı iletkenin değerlik bandındaki elektronların bant aralığını geçmek için yeterli enerjisi yoktur. Işık, voltaj veya ısı gibi bir uyarıcının dışarıdan uygulanması ile elektronların bir bölümü yasak bölge olan bant aralığını aşarak “iletkenlik bandı” (conduction band) olarak adlandırılan banda geçer. Elektronların iletkenlik bandına geçerken geride bıraktıkları yerlere “delik” (hole) ismi verilir ve bu geçiş ile bıraktıkları değerlikte pozitif yük bırakırlar. Bir üst banda yükselen elektronların değerlik bandında bırakmış olduğu pozitif yük çifti ise “exciton” olarak adlandırılır. Dışarıdan uyarılma ile iletkenlik bandına yükseltelen elektronlar değerlik bandına dönerken, enerji seviyeleri arasındaki farka bağlı olarak elektromanyetik radyasyon (ışık) yayar ve bu enerji yarı iletkenine göre değişir. Elektronlar, iletkenlik bandının en düşük enerji seviyesinden değerlik bandının en yüksek enerji seviyesine düşme eğilimindedir ve bu nedenle bantlar

arasındaki enerji de her bir yarı iletken için belirlidir. Şekil 2.2’de kuantum noktalarının temeli olan kuantum sınırlamasının ve büyüklüğe bağlı özelliklerinin değişimi görülmektedir.

Kuantum noktaları kütle halindeki yarı iletkenlerle karşılaştırıldığında; kütle halindeki yarı iletkenlerin kristallerindeki “Bohr Yarıçapı Uyarımı” olarak adlandırılan uyarımlar arasındaki fiziksel mesafe, kuantum noktalarındakinden çok daha fazladır ve uyarımların doğal sınırlarında kalmaktadır. Yarı iletken kristallerin boyutları küçüldükçe malzemenin Bohr yarıçapı uyarımı sürekli elektron enerji seviyelerinden ayrılıp, kesikli (discrete) enerji seviyeleri arasında belirli ve küçük ayrışma başlar. Bu enerji seviyelerindeki ayrışma “kuantum hapsi” olarak adlandırılır. Bu şartlar altında malzeme, kütle haline göre çok farklı soğurma ve yayma özelliğine sahiptir ve neticede “kuantum noktası” olarak adlandırılır.

Elektron enerji bantları, kuantum noktalarının enerji seviyelerinin sürekliiden ziyade kesikli olması nedeniyle, bir veya birkaç atomun kuantum noktalarına eklenip çıkarılmasıyla kolayca etkilenebilir. Kuantum noktalarının değiştirilmesi de aynı etkiyi oluşturmaktadır. Böylece kuantum noktasının büyüklüğünün değiştirilmesiyle soğurma ve yayma özelliği de kolayca değiştirilebilir. Şekil 2.3’da, kuantum noktalarının büyüklüklerine bağlı olarak floresan yayma özelliklerinin değişimi görülmektedir.

Kuantum noktaları büyüdükçe yayılan elektromanyetik radyasyonun dalga boyu kırmızıya kaymaktadır. Böylece ihtiyaca bağlı olarak istenilen dalga boyunda soğuran ve ışık yayan kuantum noktaları hazırlanabilmektedir.



Şekil 2.2. Kuantum noktalarının temeli olan kuantum sınırlamasının ve büyüklüğe bağlı özelliklerinin gösterimi. Büyüklük azaldıkça enerji seviyeleri daha az sürekli ve daha kesikli hale gelir. Kuantum noktalarının bant aralığı enerjisi, parçacığın boyutuyla değiştiğinden dolayı ışık emisyonunun ayarlanabilmesine imkan verir.



2.3 —————> 5.5
Boyut (nanometre)

Şekil 2.3. Kuantum noktalarının büyüklüğünün artmasıyla floresan emisyon dalga boyunun artması (Liu 2008).

Tüm bu özelliklerle birlikte kuantum noktalarının floresan görüntüleme amacıyla kullanımının mümkün olması, suda çözünen formlarının sentezlenmesi ve biyomoleküllere bağlanması ancak 1998'de mümkün olmuştur (Chan and Nie 1998). Bu ilk çalışmalardan sonra devam eden çok yoğun çalışmalar neticesinde kuantum noktaları, önce suda çözünürlüklerini arttırmak için suda çözünebilir bir polimerle kaplanmış daha sonra da üzerine küçük proteinler, peptitler, nükleik asitler, karbohidratlar, polimerler ve küçük moleküller bağlanmıştır. Böylece biyomoleküllerin bağlanmış olduğu kuantum

noktaları kullanılarak, hücre yüzeyindeki algılayıcıların gerçek zamanlı görüntülenmesi ve hayvanlar üzerinde tümör tanısı yapılabilmektedir (Gao 2004). Kuantum noktala hangi alanlarda kullanılabilirliği genel olarak aşağıda bahsedilmektedir.

2.4. Kuantum Noktaları Bazı Uygulama Alanları

Kuantum nanokristaller ilgili birçok özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanılmaktadır.

Kuantum noktalar, optoelektronik, güneş pilleri, biyoloji, tıp ve sanayi alanlarında uygulama alanı bulmaktadır. Bu uygulamalar, Kuantum noktaların molekül boyutuna bağlı elektronik ve optik özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Wang *et al.* 2011; Liu *et al.* 2017).

Kuantum noktaların; biyoteknolojik uygulamalarda, nanotıp uygulamalarında, hücreler için biyo görüntüleme, ilaç ve gen hedeflenmesi, (nano)-biyosensör amaçlı kullanımları ve güneş pilleri olarak yaygın şekilde kullanılabildiği bilinmektedir. Özellikle yukarıda bahsedilen nanopartiküllerin biyoloji, tıp ve biyomedikal amaçlı kullanımları birkaç örnekle anlatılmış tüm nanopartiküllerin kullanımlarının detaylarına değinilmemiştir (Liu 2008; Parra *et al.* 2018).

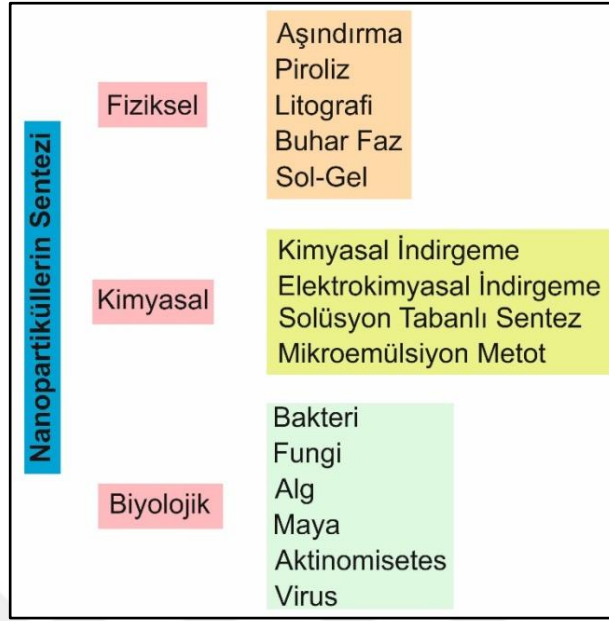
2.5. Kuantum Nanokristallerin Sentez Yöntemleri

Sentez yöntemleri temelde top-down ve bottom-up yaklaşımlar olarak iki ana başlık altında kategorize edilmektedir. Bu yaklaşımlar kapsamında fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez yöntemleri literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Nanopartiküllerin uygulama alanları çok geniştir, fakat nanoteknolojinin potansiyelini anlamak için ve bu materyallerin gerçek dünyada kullanılacak bu nanomalzemelerin verimli yöntemlerle geliştirilmesini gerektirir. Nanomateryal sentezi ilk sırasında, fiziksel

yollar, buhar yoğunlaşması, püskürtme, foto-ışınlama, ve termal dekompozisyon rutin olarak kullanılmıştır (Sakamoto *et al.* 2009). Bu yöntemler genel olarak yukarıdan aşağıya (top-down) yöntemi olarak bilinmektedir; bir malzemeyi küçülterek nanoboyuta getirmek için makinada işleme ile üretilmektedir (Skaff and Emrick 2004). Genelde fiziksel metotların verimi düşüktür, Bu sentez yöntemleri yüksek basınç ve ısıya duyduğu ihtiyaçtan dolayı yüksek enerji harcar. Nanomalzemelerin sentezi için fiziksel yöntemlerden ziyade kimyasal, aşağıdan yukarıya yaklaşım (bottom-up) atomların veya moleküllerin bilinçli bir şekilde dizilmesiyle nanoyapıların oluşturulmasıdır (Bansal *et al.* 2012). Aşağıdan yukarı sentez, kimyasal yöntem buhar halinde alt kategorilere ayrılır (örneğin, piroliz, inert gaz yoğunlaştırması) ve sıvı fazlar (Örneğin, sol-jel, solvo-thermal) fabrikasyonu (Vengala *et al.* 2012). Öte yandan ikinci sentez yöntemi ise, iyonik bir başlatıcı ile nanopartiküllerin bir çözelti içerisinde koloidal oluşumunu sağlamak ve büyümesini kontrol etmek esasına dayanır. Teknik olarak ikinci yöntemle oranla çok daha düşük maliyetlidir ve bu yöntem ile daha küçük boyutlarda sentez yapılabilir ancak bu yaklaşım sonucunda hazırlanan materyale müdahale şansı azdır, yani yapı kendi istediği yönde şekillenebilmektedir (Hussainova 2014). Ayrıca kullanılan bazı kimyasalların güçlü toksik etkileri nanomateryallerin canlı ve çevre sistemlerinde kombinasyonunda sorun teşkil etmektedir. Dolayısıyla nanopartiküller sentezinde çalışmalar bu yönde yoğunlaşmış ve birçok sentez yöntem; literatüre kazandırılmıştır (Bansal *et al.* 2011, 2012).

Nanoteknolojinin çok hızlı gelişmesi, yaşam kalitesini artırma konusunda ümit verse de bilinmeyen etkilerinin görülebilmesi ihtimali bir yandan da korku salmaktadır. Birçok bilim insanı nanomateryallerin çevre ve sağlık açısından oluşturabileceği zararlı etkiler hakkında endişe duymaktadır (Kühnel 2016). Bu nedenle biyolojik metotlarla nanopartiküllerin sentezlenmesi çevre dostu olması ve toksisite göstermemesi açısından önem arz etmektedir (Hulkoti and Taranath 2014) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Nanopartikül sentezinde kullanılan metotlar

Nanoteknolojinin bugün karşı karşıya olduğu iki sorundan birisi istenilen boyutlarda ve şekilde nanopartiküllerin büyük miktarlarda hazırlanamaması ve bu nanopartiküllerin kontrollü bir şekilde geniş alanlar üzerine bir, iki ve üç boyutlu örgüler haline getirilememesidir. Birinci sorun kısmen de olsa, birçok nanopartikülün sentezlenmesiyle aşılmış görünmektedir fakat ikinci sorunun aşılması için uzun bir yol vardır ve zorlu çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Yapılan biyokimya ve moleküler biyoloji çalışmalarının neticesinde her bir hücrel organizasyonun bir bütün olarak görevini yürütebilmesi için büyük molekülleri parçalayabilen ve ihtiyaç duyduğu küçük yapıları üretebilen bir sistem hem de gerek duyduğu büyük molekül ve sistemleri üretebilmesi için küçük molekülleri kullandığını göstermektedir. Örneğin hücreler DNA replikasyonu ve sitokinezle sonlanan hücre bölünmesi sürecinde var olan bir hücrede mevcut molekülleri kullanarak ikinci hücrenin ihtiyaç duyacağı tüm organel, protein ve enzimleri sentezlemektedir. Bunun yanında bir hücre işlevini kaybetmiş veya hatalı protein gibi büyük molekülleri yapı taşlarını kullanabileceği seviyede parçalamaktadır. Kısaca her hücrel sistem doğal yol ile top-down ve bottom-up sentez yöntemlerini profesyonelce kullanmakta ve hücrenin

ihtiyacına göre modifikasyon yaparak hedef moleküllerini elde etmektedir. Bunun dışında biyosentez yöntemi, sentez kaynağı olan canlının yaşadığı ortam şartlarının (sıcaklık, pH, vb.) ayarlanması ile şekil ve boyut kontrolünde ve istenilen modifikasyonların yapılmasında kolaylık sunacak büyük çapta nanomalzeme üretimini ekonomik yoldan sağlayabilmektedir (Bansal *et al.* 2012).

2.5.1. Nanomateryallerin biyosentezi

Biyosentetik partikül üreticileri olarak bitki ekstraktlarının (Geethalakshmi 2010; Song 2010) ve insan hücrelerinin (Anshup 2005) kullanıldığına literatürde rastlamaktayız. Bunların yanında mikroorganizmalar ile partikül sentezi de bir hayli yaygındır (Mandal 2006; Jeffryes *et al.* 2015). Mikroskop ile görülebilecek boyuttaki prokaryotik ve ökaryotik tüm canlılar mikroorganizma sınıfına dahildir. Tek hücreli organizmalar ister prokaryot olsun ister ökaryot, temel ihtiyaçlarını görebilecek sistemlere (proteinler, enzimler, ribozomlar vs.) sahiptirler. Bu şekilde hem hayati ihtiyaçlarını karşılarlar hem de çevresel şartlara uyum sağlar, şartlar zorlaştığında ise hayatta kalmanın bir yolunu ararlar.

Mikroorganizmalardan küf, maya, alg, diatomlar ve bakteriler nanopartikül sentezinde kullanılmaktadır (Thakkar *et al.* 2010; Bansal *et al.* 2011, 2012). Özellikle prokaryotik bakterilerin manipülasyonların kolay olması bunun yanında kültüre alınmasındaki basitlik ve partiküllerin kolay bir şekilde elde edilmesi açısından literatürde oldukça yaygındır. Bakteriler ucuz üretim ve kolay saflaştırma süreci nedeniyle nanomateryal sentezinde en sık kullanılan mikroorganizmalardır. Nanopartikül sentezinde mikroorganizmaların kullanımı oldukça yenidir. Nanopartiküllerin biyosentezinde, çözüldüden hedef iyonları yakalayan mikroorganizmaların kullanılması oldukça başarılı olmuştur (Ulloa *et al.* 2016).

Kuantum noktanın mikrobiyolojik olursk üretimi, kimyasal üretimle karşılaştırıldığında daha sürdürülebilir bir sentez yolu için yeni yollar açmıştır. Biyo-esaslı sentez ile enerji verimi yüksek, toksik reaktifler daha düşük bir girdiye ihtiyaç duyduğu ve

biyoyumluluğu yüksek ve sert koşullara toleranslı nanopartiküller üretilmektedir (Ulloa *et al.* 2016).

Mikroorganizmalar doğal yaşam alanlarında spesifik fonksiyonel materyaller sentezlenmektedir. Örneğin magnetit sentezi için manyetotaktik bakteriler ve silika sentezi için diatomlar, metalik nanopartikül sentezinde en ideal canlılar olarak mayalar karşımıza çıkmaktadır. Özellikle yarıiletken kuantum nanokristallerin sentezi konusunda mayaların kullanıldığı birçok yayın mevcuttur. Aktinomisetler ve algler dışında nadiren virüs kullanılarak biyosentez çalışmaları bulunmaktadır. Biyosentetik nanomateryallerin en çok da farmasotik alanda anahtar faktör olacağı düşünülmektedir. Ayrıca boyut, şekil, kompozisyon ve partiküllerin homojen dağılımının kontrolü de çalışılmıştır (Zhang *et al.* 2011).

2.5.2. Bakteriler ile CdS nanobiyosentez

Doğal kaynaklar arasında bakterilerin biyolojik NP sentezi için daha kolay manipüle edilmeleri nedeniyle yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Nair and Pradeep 2002; Ahmad *et al.* 2003; Singh 2015). Birçok bakteri oda sıcaklığında ve sıvı kültürde 0.1 nm ile 1000 nm arasında NP'ler üretebilir. Ancak oluşturulacak nanopartiküllerin boyutu ve morfolojisi (fiziksel ve kimyasal) parametreler çözeltinin pH'sı ve inkübasyon süresine bağlıdır (Narayanan and Sakthivel 2010; Thakkar *et al.* 2010).

Mikroorganizmaların sitokrom-c gibi elektron taşıma sistemleri ile indirgenen elektronlar metal iyonlarının da indirgenmesinde kullanılmaktadır (Yan *et al.* 2013). *Shewanella oneidensis* MR-1, sitokrom-c'nin 42 çeşidine sahiptir. Bu sitokromlar redüktaz enzimlerinin yapısında bulunurlar ve böylece metallerin indirgenme reaksiyonunda görev alırlar. Gram negatif bakterilerde sitokrom-c ve redüktaz enzimleri sitoplazmik membran ve periplazmada bulunurlar (Marshall 2006).

CdS nanopartiküllerinin, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus* sp., *Coriolus versicolor*, *Rhodospseudomonas palustris*, *Fusarium oxysporum*,

Schizosaccharomyces pombe, *Clostridium thermoaceticum* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi çeşitli mikroorganizmalar tarafından sentezlendiği rapor edilmiştir (Durán and Seabra 2012). Örneğin altın, gümüş, bakır, kadmiyum sülfid yarı iletken nanokristallerinin *Escherichia coli* bakterileri kadmiyum klorid (CdCl_2) ve sodyum sülfid (Na_2S) ile inkübe edildiğinde kendiliğinden oluştuğunu göstermiştir. Nanokristaller 2-5 nm boyut dağılımına sahip bir wurtzit kristal fazından oluşmaktadır. Nanokristal oluşumu, hücrelerin büyüme fazına bağlı olarak çarpıcı şekilde değişmiştir (Sweeney *et al.* 2004).

Çeşitli araştırmalar CdS partiküllerinin *Klebsiella aerogenes*'de mikrobiyal olarak üretilebileceğini, *K. aerogenes* bakterisinin Cd^{2+} iyonlarına maruz bırakılmasının, 20-200 nm boyut aralığında CdS nanopartiküllerin hücre içi oluşumuyla sonuçlandığını göstermiştir. Ayrıca, büyüme ortamının tampon bileşiminin, CdS kristalitlerinin oluşumunda önemli bir rol oynadığı da belirtilmiştir. 2 mM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ varlığında yetiştirilen *K. aerogenes* hücreleri tarafından alınan CdS toplam biyokütlenin ~%20'sine kadar belirlenmiş ve CdS NP'leri sentezlemek için *K. pneumonia* bakterisi kullanılmış ve spektroskopik olarak davranışları karakterize edilmiştir. *R. palustris*, 1 mM CdSO_4 ile 30°C'de 72 saat inkübe edildiğinde CdS nanopartiküllerinin üretebilmiştir. Bu araştırmada nanopartiküllerin sentezinden C-S-lyaz (sitoplazmada yer alan bir hücre içi enzim) sorumlu olduğu bulunmaktadır. Bu çalışmanın ilginç sonuçlarından biri, *R. palustris*'in Cd nanopartiküllerini hücrenin dışında sentezlemesidir (Bai *et al.* 2009).

Gluconoacetobacter xylinus suşundan türetilmiş bakteride selüloz (BC) nanofiberleri, CdS NPs oluşturma kabiliyeti gösterilmiştir. Eter ve hidroksil fonksiyonel gruplar sadece CdS NP oluşum kabiliyetini arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda stabilize CdS NP'leri de bir araya getirerek agregasyonu önlediği gözlemlenmiştir (Li *et al.* 2009a).

El-Raheem *et al.* (2012), *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079'nin kültür süpernatantlarını kullanarak CdS'nin hızlı ve düşük maliyetli biyosentezini bildirmiştir (El-Raheem *et al.* 2012). *Escherichia coli* PTCC 1533 ve *Klebsiella pneumoniae* PTCC 1053 kullanılarak CdS

nanopartiküllerin sentezin Mousavi *et al.* (2012) tarafından gösterilmiştir. Sentez, oda sıcaklığında (30°C) ve pH 9'da 96 saat inkübasyonun sonra gerçekleşmiştir. Nanopartiküllerin 5-200 nm boyut aralığında polidispers olduğu bulunmuştur (Mousavi *et al.* 2012).

Tüm bu verilerin yanında biyolojik yolla sentezlenen CdS lüminesan nano-kristaller elektrolüminesanslı görüntüler ve biyolojik işaretleme ajanları veya biyolojik belirteçler gibi bazı uygulamalar için kullanılmaktadır (Yang *et al.* 2015).



Çizelg 2.2. Bakteriler ile CdS kuantum nokta nanopartiküllerin sentezi ve özellikleri

Organizma	Boyut (nm)	Hücre dışı / Hücre içi	Morfoloji	Kaynaklar
<i>Clostridium thermoaceticum</i>	-	Hücre dışı	Amorf	Cunningham and Lundie 1993
<i>Escherichia coli</i>	2-5	Hücre içi	Wurtzite	Sweeney <i>et al.</i> 2004
<i>Klebsiella aerogenes</i>	20-200	Hücre içi	kiristel	Holmes <i>et al.</i> 1995
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	8.01 ± 0.25	Hücre içi	Kristel/kübik	Bai <i>et al.</i> 2009
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5-200	Hücre duvari	küresel	Smith <i>et al.</i> 1998
<i>Gluconoacetobacter xylinu</i>	30	Lif üzerinde	-	Li <i>et al.</i> 2009b
<i>Lactobacillus sp.</i>	4.93	Hücre dışı	-	Prasad and Jha 2010
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3.57	Hücre dışı	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	30-100	Hücre içi	amorf	Harikrishnan <i>et al.</i> 2014
<i>Bacillus licheniformis</i> MTCC 9555	4.6-5.6	Hücre dışı	hegzanol	Tripathi <i>et al.</i> 2014
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	2.5-5.5	Hücre dışı	kristel	Raouf Hosseini and Nasiri Sarvi 2015
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	2.5-5.5	Hücre dışı	kiristel	Raouf Hosseini and Nasiri Sarvi 2015
<i>Escherichia coli</i>	6	Hücre içi	küresel	Mi <i>et al.</i> 2011
<i>Lactobacillus acidophilus</i> DSMZ 20079T	2.5-5.5	Hücre dışı	kiristel	Raouf Hosseini and Nasiri Sarvi 2015
<i>Lactobacillus sp.</i>	2.5-5.5	Hücre dışı	hegzanol	Prasad and Jha 2010
<i>Pseudomonas fragi</i>	10-40	Hücre dışı	-	Gallardo <i>et al.</i> 2014
<i>Pseudomonas limi</i>	10-40	Hücre dışı	-	Gallardo <i>et al.</i> 2014
<i>Fusarium oxysporum</i>	5-20	Hücre dışı	-	Ahmad <i>et al.</i> 2002

2.5.3. Biyosentezin mekanizması

NP biyosentez mekanizması henüz açık değildir. Ancak, mineral detoksifikasyonunda yer alan, organik matriks vasıtasıyla biyoredüksiyon (proteinler ve diğer makromoleküller) inorganik yapıların çekirdeklenmesi ve büyümesini kontrol eder (Parikh *et al.* 2008; Sharma *et al.* 2012).

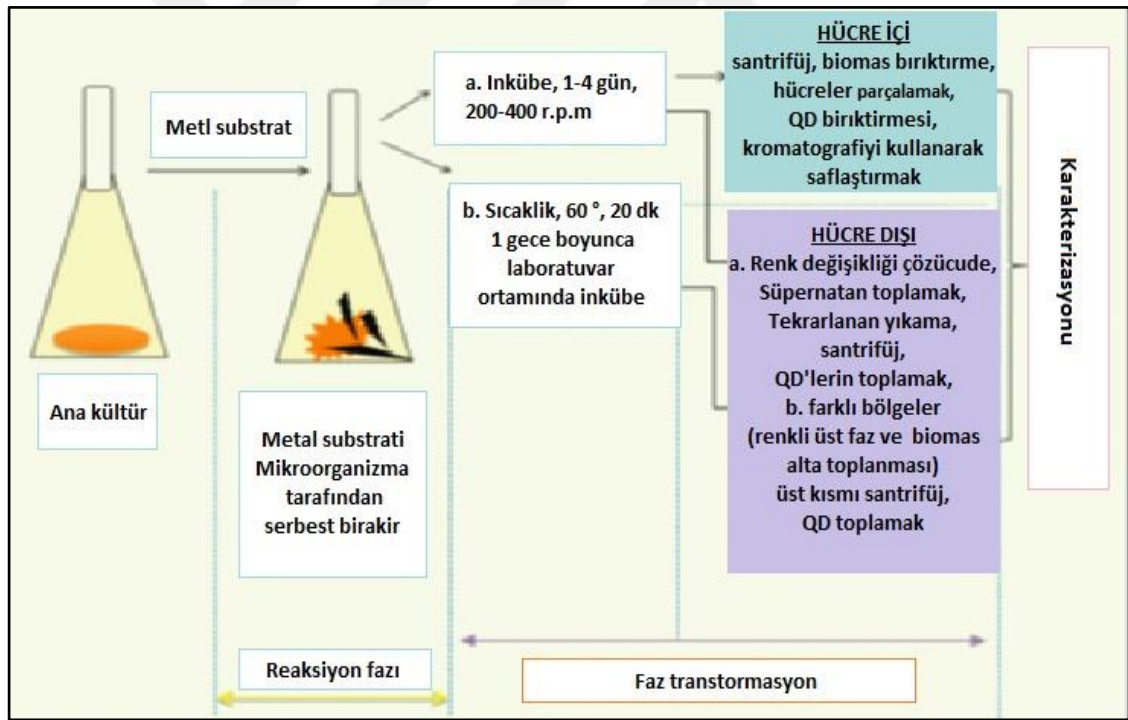
Mikroorganizmalar 3 nedenden dolayı nanopartikül üretebilmektedirler; I) enerji üretimi için kemolitotrofi, II) özel fonksiyonlar için nanopartiküllerin kullanımı ve III) toksik çevrede hayatta kalmaya devam edebilmeleri için detoksifikasyon. İster tek hücreli ister çok hücreli olsun, her organizma kendini metal stresinden koruyabileceği mekanizmalara sahiptir. Stres şartlarında mikroorganizmalar ağır metalleri indirgeyerek nanopartikül üretmektedirler. Sonuçta mikroorganizmalar doğal yaşamlarını sürdürürken, metalleri indirgeyip yüzeylerinde biriktirmektedirler.

Nanopartiküller oluştukları yere göre hücre içi (intraselüler) ve hücre dışı (ekstraselüler) olmak üzere iki kategoride toplanır (Hulkoti and Taranath 2014) NP'lerin mikrobiyal sentezi, hücre içi ve hücre dışı olarak gerçekleşebilmektedir (Şekil 2.5). Tanımlanmış birkaç mekanizma, biyosorpsiyon ve bakteriyel hücre içinde veya dışında proteinlerden (redüktaz vb.) yardım ile biyolojik sentez gerçekleşmektedir. Hücre içi yöntem, enzimlerin varlığında nanopartiküller oluşturmak için iyonların mikroorganizma hücre içine taşınmasını içermektedir.

Mikroorganizmalar multipli mekanizmalar (enzimatik oksidasyon, indirgeme, sorpsiyon ve şelasyon), hücredeki peptidler veya polisakaritler ile nanopartiküllerin hücre dışı veya hücre içi üretimi yoluyla çekirdeklenmeyi ve büyümeyi kolaylaştırır. Mikroorganizmalar, ağır metallerin hücre zarından içeri ve dışarı taşınması, pasif mekanizma ile hücre dışı taşınan metalin çökmesi veya oksidasyonu bir kısım prokaryotların özellikleri arasında bildirilmiştir (Krumov *et al.* 2009; Moghaddam 2010).

Mikrobiyal hücreler tarafından üretilen enzimler ile metallerin indirgenmesi sonucunda üretilen nanopartiküllerin sentezi ile ilgili oldukça başarılı sonuçların alındığına yönelik çeşitli çalışmalar mevcuttur. Zaten mikroorganizmaların, özellikle bakterilerin, metallerin biyojeokimyasal döngüsünde çok önemli bir konuma sahip olduğu, çok eskiden beri bilinmektedir. Mikroorganizmanın; toksik ağır metallere direnç yeteneğine, mineral detoksifikasyonun ve membran iyonu geçişin özelliklerinin NP üretiminde önemi büyüktür (Lengke *et al.* 2006).

Bakteriler toksik metalik ortamlarda hayatta kalabilmek için sayısız detoksifikasyon mekanizması geliştirmektedir. Bu mekanizmalar, oksidasyon veya indirgeme, kompleksleşme süreçlerini içermektedir (Das and Marsili 2011).

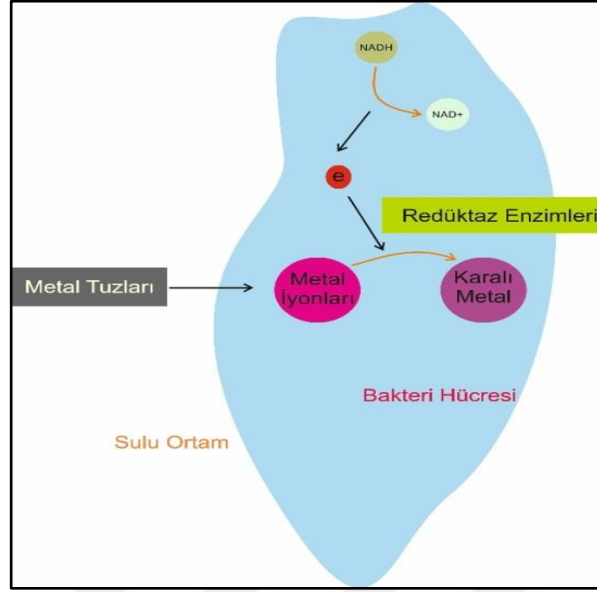


Şekil 2.5. Mikroorganizmalar tarafından kuantum parçacıklarının biyosentezi için genel şema (Jacob *et al.* 2016)

2.5.3.a. Hücre içi kuantum nokta biyosentez

Hücre içi sentezde, hücrelerde bulunan bazı özel iyon taşıma sistemleri kullanarak üretim yapılmaktadır. Bunun yanında hücrelerin sahip olduğu metabolik aktiviteler neticesinde, hücre dışında nanopartikül çökmesine gözlenilmektedir. Hücre içi biyosentezde hücre duvarı ile dış çevredeki metal iyonlarının elektrostatik etkileşimi böylelikle hücre duvarında iyonların toplanması, iyonların hücre içine alınması ve NP oluşumu gerçekleşmektedir. Hücre içi sentez ilk etapta boyut dağılımının ve şekil kontrolünün sağlanması noktasında avantajlı görünse de partiküllerin saflaştırılması konusunda maliyeti ve iş yükünü artırmaktadır (Zhang *et al.* 2011).

Biyolojik indirgemedede, metal iyonunun toksisitesi, metal iyonunun redoks durumunu değiştirerek veya metallerin hücrelerarası çökmesini sağlayarak azaltılır veya yok edilir. Biyolojik indirgemedede, metal iyonunun toksisitesi, metal iyonunun redoks durumunu değiştirerek veya metallerin hücrelerarası çökmesini sağlayarak azaltılır veya yok edilir. İşlemin ilk adımı, hücre duvarı yüzeyinde metal iyonlarının tutulması; hücre duvarı enzimlerindeki metal iyonları ve pozitif yüklü gruplar arasındaki elektrostatik etkileşim nedeniyle gerçekleşmektedir. Metal iyonlarının enzimatik indirgenmesi, biyosentetik süreçlerde ana faktör olan NADH'ye bağımlı redüktaz gibi spesifik indirgeyici enzimlerin kullanımıyla da gerçekleştirilebilmektedir.



Şekil 2.6. Bakteriyal sentezin şematik gösterimi. Metal tuzlarını içeren ortamda bakteriyel enzimler redoks reaksiyonunun gerçekleşmesi için zemin oluşturur. Hücre içi sentezde, hücre içine alınan metal iyonları enzimatik reaksiyonlar ile indirgenir ve NP şekillenir (Singh 2015).

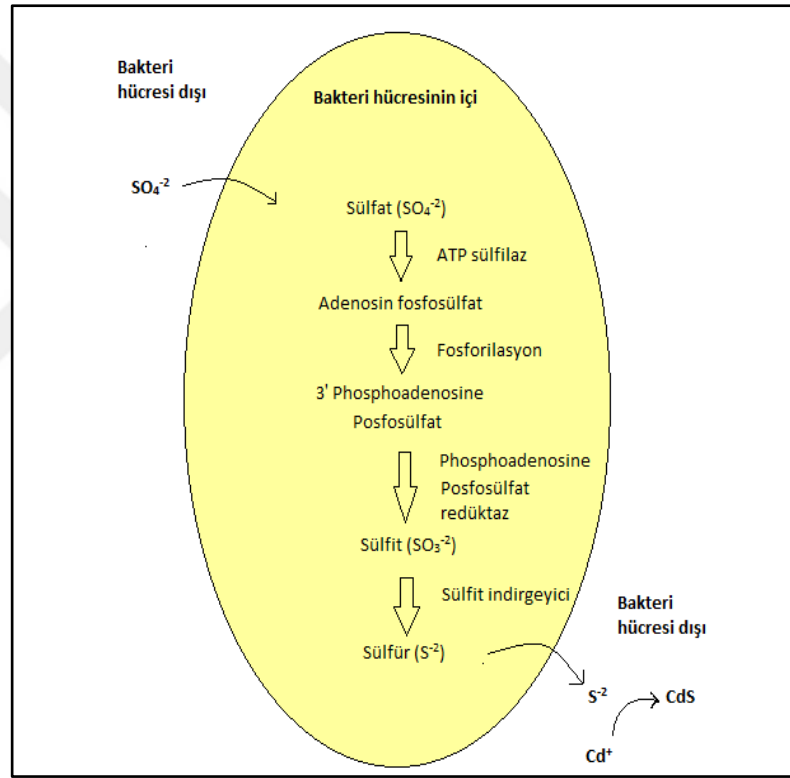
2.5.3.b. Hücre dışı kuantum nokta biyosentez

Nanopartiküllerin biyosentezinde saflaştırma ve geri kazanım aşamasını azaltmak için hücre dışı sentez mekanizmaları tercih edilmektedir (Kowshik *et al.* 2002). Hücre dışı sentez ilk üretim yapılması hücrenin bulunduğu ortamda metal iyonlarının bulunması gereklidir. Böylece özellikle mikroorganizmalar tarafından salınan indirgeyici ajanlar ile ortamda bulunan metal iyonları indirgenmekte ve partikül sentezlenmektedir.

Hücre dışı sentezde, hücre tarafından salınan redüktaz enzimleri, ortama ilave edilen iyonları kullanarak redoks reaksiyonu sonucunda NP'leri oluşturur. Ekstraselüler sentez partiküllerin kararlılığını artırmak için protein vb. ile modifikasyonu eş zamanlı yaptığı için daha etkili olduğu düşünülmektedir (Zhang *et al.* 2011).

Tioglikolik asidin tiol grupları tarafından Cd tabanlı fotolüminesansı KN'lerde sentezlenmiştir. Ekstraselüler CdS parçacıklarının sentezinde, kadmiyum iyonlarını, 5'-adenilylsülfat redüktazların detoksifiye eden sülfat asimile edici bakterilerde

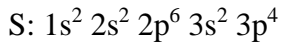
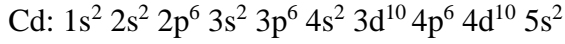
gerçekleşmektedir. Hücre dışındaki sülfat iyonları alınarak ve ATP sülfürilaz enziminin desteği ile adenosin fosfosfat'a dönüştürülen LB broth içinde nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Sülfid iyonları, mikrobiyal metal detoksifikasyon sisteminin bir parçası olarak salgılanan sülfid redüktazları kullanarak sülfid iyonlarına indirgenmekte. Sülfür iyonları daha sonra hücre dışı ortamda CdS nanopartikülleri oluşturmak için inorganik metal iyonlarıyla (kadmiyum gibi) birleşmektedirler (Şekil 6) (Malarkodi *et al.* 2014).



Şekil 2.7 Metal sülfür nanopartiküllerinin biyosentezi (Malarkodi *et al.* 2014).

2.6. CdS Nanopartikülleri

Kadmiyum sülfür yarıiletkeninin yapısını oluşturan, atom numarası 48 olan kadmiyum ve atom numarası 16 olan kükürt elementlerinin elektron dizilişleri aşağıdaki gibidir:



Kadmiyum atomu +2 (Cd^{+2}), kükürt atomu ise -2 (S^{-2}) değerlidir. Cd ile S reaksiyona girerse S atomu, Cd atomundan 2 elektron kazanır ve iyonik yapılu bileşik olan kadmiyum sülfür bileşiği oluşur (Cobb 2007). Moleküler ağırlığı 144.47 g olan CdS, hekzitetrahedral ve hekzagonal yapının her ikisine de sahip olabilir. Her iki allotropta doğada mineral olarak bulunur. CdS nanopartiküllerin genel özellikleri aşağıdaki tabloda verilmektedir (Çizelge 2.3)

Çizelge 2.3. CdS nanokristallerin genel özellikleri (Sanghi and Verma 2009; Raouf Hosseini and Nasiri Sarvi 2015; Malarkodi *et al.* 2014).

Metal sulfid	CdS
Bant boşluğu enerjisi (eV)	2.38
Exciton Bohr yarıçapı (nm)	2.8
Dielektrik sabiti	9.35, 10.33
Renk	Sarı / Turuncu

Nanoteknolojinin en hızlı büyüyen ve en heyecan verici alanlarından biri, biyolojide kuantum noktaların kullanılmasıdır. KN'ler, 2 ila 10 nm çap aralığında nanopartiküllerdir ve optik ve elektronik özellikleri olan yarıiletken CdS malzemelerdir (Dey *et al.* 2011). Kadmiyum sülfür en yaygın çalışılan yarı iletkenlerden birisidir. CdS NP'leri kuantum etkiden dolayı eşsiz kimyasal ve optik özelliklere sahiptirler ve bu nedenle fotoelektrokimyasal piller, güneş pilleri ve transistörler gibi birçok uygulamada kullanılmaktadırlar.

2.7. Kuantum Noktaların Toksisitesi

Biyolojik uygulamalar için KN'ların toksikliği kritik bir faktördür. KN toksisitesi hakkında farklı görüşler bulunmaktadır. KN'lerin sadece mitokondriyi bozmakla kalmayıp aynı zamanda mitokondri ölümüne, endotel apoptozun indüksiyonu ve aktivasyonu toksisitesini ile neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, CdTe KN'lerin sitotoksitesinin sadece Cd²⁺ iyonlarının salınmasıyla değil, aynı zamanda hücre içindeki KN'lerin dağılımı ile ilişkili nanoskala etkileri olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer tarafta, KN'lerin *in vivo* akut toksisitesinin en düşük seviyede olabileceğini göstermiştir. Fosfolipid miselle kapsüllenmiş CdSe / CdS / ZnS KN'ler ile enjekte edilen Rhesus makakların, kan ve biyokimyasal belirteçlerin, tedaviyi takiben normal aralıklarda kaldığını ve önemli organların histolojisinin 90 gün sonra herhangi bir anormallik göstermemiştir. Farklı bir çalışmada, histolojik ve biyokimyasal analiz ve vücut ağırlığı ölçümü, farelerde uzun süren maruz kalma sürelerinde dahi KN'lerin belirgin toksisitesinin olmadığını göstermektedir (Valizadeh *et al.* 2012).

Bununla birlikte, yarı iletken kuantum noktalarıyla prokaryotik hücreler arasındaki etkileşimde kullanılan hücrelerin, (hepatositler) nanokristaller varlığında öldüğü gözlemlenmiştir. Kuantum nokta toksisitesinde en çok endişe kaynağı olan, koantum noktalarının oksidasyonudur ki bundan sonra Cd²⁺ iyonlarının açığa çıkması sağlık riski taşımaktadır. Kısacası, nanopartiküller ve kadmiyum bazlı bileşiklerin toksisitesi için mevcut veriler incelendiğinde, çeşitli mikroorganizmaların ağır metal toksisitesini azaltmak amacıyla, biyosentez işlemlerinde kullanıldığı görülmektedir (Gallardo *et al.* 2014; Singh 2015).

2.8. Beyin ve Beyincik Önemi

Beyin, öğrenme ve diğer tüm zihinsel işlemlerin merkezidir. “Uyuyan dev” olarak da tanımlanan beyin, yaklaşık 100 milyar nörondan oluşur. Bir insan ortalama olarak beyin kapasitesinin ancak %1-2’sini kullanabilmektedir (Özden 2003).

Beyincik – beyincik kafanın arkasında beynin oksipital lobunun altında yer almaktadır. Beyinden dura kıvrıntısı olan tentoriumla ayrılır. Beyincik ince el hareketlerinin koordinasyonunu sağlar (cerrahi yada bir sanat eseri yaparken ki gibi). Vücut postürümüzün devamını kaslarının tonusunun devamı ile dengenin sağlanmasında önem arz etmektedir. Beyincik tekrarlayan hızlı hareketlerin yapılmasında önemli katkı sağlamaktadır (örneğin video oyunları gibi) beyinciğin hangi tarafında lezyon varsa bulgularda vücudun o tarafında olmaktadır beyinde ise çaprazlanmadan dolayı tam tersi olmaktadır.

Beyin – beyin iki önemli ana bölüme ayrılmıştır sağ ve sol beyin yarısı (hemisfer). İki hemisfer korpus kallozum ile birbirine bağlanmıştır. Korpus kallozum her iki beyin yarısını birbirine bağlayarak birbirleri arasında mesaj geçişini sağlarlar. Beynin yüzeyi milyarlarca nöron ve glia hücrelerinden oluşmaktadır.

Beynin korteksi gri kahverengi yapıda olduğu için buraya gri cevher denilir. Beynin yüzeyi girintili çıkıntılı kıvrımlara sahiptir. Beyin korteksindeki küçük yarıklara sulkus, büyüklerine ise fissür denilir yarıklar arasındaki çıkıntıya da girus denilir. Bu fissür ve sulkuslar anatomik olarak isimlendirilmişlerdir. Korteksin altında nöronları birbirine bağlayan liflerin olduğu beyaz renginden dolayı beyaz cevher denilen yapı bulunmaktadır. Sulkus v fissür denilen yapılarla beyin iki hemisferi loblara ayrılmaktadır bu loblar çift taraflı olarak bulunmaktadır.

Lobların isimleri frontal, parietal, oksipital ve temporal’dır. Her lob spesifik fonksiyonlara bölünmüştür. Her lob yalnız olarak fonksiyon görmemektedir ve diğer loblarla kompleks bağlarla birbirine bağlanmışlardır.

Beynin içindeki mesaj birçok yolla iletilebilmektedir. Sinyaller yolak denilen bağlantılar sayesinde yayılmaktadır. Beyin dokusundaki herhangi bir tümör yada lezyon yolaklar arasındaki bağlantıyı bozabilir. Bunun sonucunda konuşma, okuma yada hareket etme yetileri bozulabilir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki vücudun bir tarafına dokunulunca karşı taraftaki beyin yarımının bu hissi aldığı yada vücudun sağ tarafını hareket ettirmek istiyorsak sinyalleri beynin sol tarafından göndeririz. Bu nedenle beynin sol tarafındaki tümör sağ kolda güçsüzlüğe (felce) neden olur.

Merkezi sinir sisteminin en önemli kısmı olan beyin, kafatası kemikleri içinde, kütlesi yetişkinlerde ortalama olarak 1300-1400 gram, yüzeyi ise ortalama olarak 2000-2100 cm² olan bir organımızdır (Jensen 1998). Beyin, vücut ağırlığımızın yaklaşık %2'si kadar olmasına karşın, vücut enerjisinin %20 ile %25'ini kullanır (Sprenger 2002; Sausa 2001). Sinir(nöron) hücreleri ve glial (glue) hücreler olmak üzere iki tür hücrenin bulunduğu beyin, yaklaşık bir trilyon hücreden oluşur. Beynin çoğunluğunu oluşturan glial hücreler nöronları bir arada tutar ve nöronların dışındaki zararlı maddeleri süzer (Sausa 2001).

Nöronlar sinir sistemi ve beyin fonksiyonlarının ana unsurlarıdır. Bir nöron üç temel kısımdan oluşur: hücre gövdesi, dendrit ve akson. Nöronlar, dendrit adı verilen ve hücre gövdesinden çıkan on binlerce kola sahiptir. Beyindeki iletişim sinir hücreleri arasında elektriksel ve kimyasal sinyallerle oluşur (Wolfe 2001).

Dendritler diğer nöronlardan aldığı elektriksel etkiyi akson adı verilen uzun bir lif (fiber) boyunca diğer nöronlara iletir. Her nöron miyelin kılıfı ile sarılı bir tane aksona sahiptir (Sausa 2001). Nöronlar sinaps adı verilen ve akson uçları, dendrit veya hücre gövdesi arasında bulunan birleşme noktaları ile birbirleriyle iletişim kurarlar (Wolfe 2001).

Araştırmacılar beyni lob olarak adlandırılan dört bölgeye ayırırlar. Bunlar arka kafa (occipital), ön (frontal), yan kafa (parietal) ve şakak (temporal) loblarıdır. Arka kafa lobu beynin arka ortasında yer alır ve görmeden sorumludur.

Ön lob kafanın ön bölgesinde olup yaratıcılık, problem çözme, karar verme ve planlama gibi maksatlı eylemleri kapsar. Yan kafa lobu üst arka bölgededir ve yüksek algılama ve dil işlevlerini kapsayan süreçleri yerine getirir. Şakak lobu (sağ ve sol kısım) kulakların çevresinde ve üst kısmında yer alır. Bu bölge temel olarak duyma, hafıza, anlama ve dilden sorumludur. Ayrıca lobların fonksiyonlarında bazı örtüşmeler de bulunmaktadır (Jensen 1998). Beynin orta bölgesi hippocampus, thalamus, hypothalamus ve amygdala kısımlarından oluşur. Limbik sistem olarak da bilinen beynin bu orta bölümü duygular, uyku, dikkat, vücut işleyişi, hormonlar, cinsellik, koku ve beyin kimyasallarının birçoğunun üretiminden sorumludur (Jensen 1998).

Beynin tabanında yer alan beyin sapı çoğunlukla kontrolümüz dışında yaşamsal önemi olan otonom fonksiyonları denetler. Occipital lobun hemen altında bulunan beyincik denge, vücut duruşunu muhafaza etme ve kasların koordinasyonunu düzenler.

Thalamus küçük bir erik biçimindeki yapısıyla beynin merkezinde bulunur. Beynin bu kısmı duyu organları ile korteks arasında direk bilgi iletimini sağlar. Thalamusun hemen altında bulunan hypothalamus, beden ısısı, açlık, susuzluk ve cinsellikle ilgili duyguları yönetir. Thalamus ve hypothalamusun yanında bulunan ve beynin psikolojik nöbetçisi olarak da bilinen amygdala duyguların yönetiminde büyük bir role sahiptir (Wolfe 2001). Hippocampus, temporal lobun derinlerinde yer alır ve bellek, duygular ve anıların bulunduğu kısımdır. Öğrenme ve hafızadan güçlü olarak hippocampus sorumludur (Stevens and Goldberg 2001).

Korteks Serebri (Substantia Grisea) Hemisferlerin dıştan 1,5-4mm kalınlıktaki kısmıdır. Bütün bilinçli ve istemli fonksiyonların gerçekleştiği bölümdür. Nöron gövdeleri, dendritleri, aksonları, başka alanlardan gelen sinir liflerini, nöroglia ve kan damarlarını içerir. Toplam korteks hacmi 300 cm^3 olup 10-14 milyar nöron içerdiği tahmin edilmektedir. Olfaktori Nöron: Olfaktör sistem koku alma veya koku duyusu için kullanılan duyu sistemidir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Nanopartiküllerin sentez ve karakterizasyonda kullanılan cihazlar

Sıra	Cihaz
1	İnkübatör (Mammert IN55)
2	Otoklav (HMC Hirayama Hiclava HV-50L, JAPAN)
3	Steril Kabin (Nuair 425-500E)
4	Çalkalayıcı (Zhicheng ZHWY-200B, CHINA)
5	Magnetik Karıştırıcı (Daihan Scientific MSH 20A, KOREA)
6	PH Metre (InoLab pH730 wtw Series, GERMANY)
7	Derin Dondurucu (Nuair-86 Ultralow Freezer, NU6613W37, U.S.A.)
8	Hassas Terazı (Mettler Toledo AL204, CHINA)
9	Buzdolabı (Beko BK9470, TÜRKİYE)
10	Saf Su Cihazı (GFL 2004, GERMANY)
11	Santrifüj (Hettich EBA 21, GERMANY)
12	Vorteks (Heidolph Reax Top, GERMANY)
13	Fluoresans Mikroskopu (Zeiss)
14	UV-VIS-NIR Spektrofotometresi (UV-Vis) (Shimadzu UV-3600 Plus)
15	Spektroflorometrik (Agilent Cary Eclipse)
16	Zetasizer Nano Zeta (Zetasizer) (Malvern Zetasizer Nano ZSP)
17	TEM (Geçirmeli Elektron Mikroskopu) (Jeol 2100F 200kV RTEM)
18	SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu) (Zeiss Gemini marka Sigma 300)
19	EDS (Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi) (Zeiss marka Sigma 500)
20	XRD (X- Işını Difraktometresi) (INSPECT S50, U.S.A.)
21	XPS (X-ışını fotoelektron spektroskopisi) (Specs-Flex)

3.1.2. Hücre kültüründe denemede kullanılan cihazlar

Sıra	Cihaz
1	İnkübatör: su ısıtmalı CO ₂ İnkübatörü 37°C %5, Co ₂ , %95 nem
2	Santrifüj: Allegra X-30R+4°C 1200 rpm
3	Steril Kabin: class I hepa filtreli tek kişilik
4	Otoklav: Lica
5	Ultra derin dondurucu Nuaire
6	Invertfloresan mikroskop: Leica ebq 100-04
7	Distilatör: mega home MH943
8	Spectrofotometre: BIOTEK
9	Çalkalayıcı: Heidoph Titramax100

3.1.3. Araştırmada kullanılan besi yerleri ve çözeltiler

Nutrient agar besiyeri: 20 gr Nutrient Agar (Merck) 1 L dH₂O içinde çözülmüş pH 7.0'a ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilerek 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

Stok besiyeri: 0.65 g Nutrient Broth'a 36 ml gliserol eklendikten sonra son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda karıştırılan besiyeri, otoklavda steril edilerek. Aseptik olarak steril 2 ml'lik eppendorf tüplerine 1.2 ml konularak hazırlanmıştır.

Mineral salt basal (MSB): Bu çözeltinin hazırlanmasında 1000 ml için 0.75 g KH₂PO₄, 0.2 g KH₂PO₄ ve 0.09 g MgSO₄.7H₂O sırasıyla steril bir erlen içerisine ilave edildi. Üzerine 1000 ml ultra saf su eklendi ve çözeltinin homojen olması için manyetik karıştırıcı üzerine konuldu. Bu esnada çözeltinin pH'sı NaOH ve HCl yardımıyla 7.0 ± olarak şekilde ayarlandı. En son işlem olarak 121°C'de 20 dakika otoklavlanmıştır (Kundu *et al.* 2014).

LB (Luria Bertani) broth: Bileşimi maya ekstraktı 5.0 g/L, pepton (kazein) 10.0 g/L, NaCl 10.0 g/L şeklindedir. 25 g hazır karışım besiyeri 1 litre distile suda çözüldü ve

121°C'da 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Hazırlanan besiyeri berrak ve sarımsı kahverengi olup, 25°C 'da pH'sı 7.0±0.2'dir.

5 mM Kadmiyum asetat: 0.1332 g kadmiyum asetat hassas terazide tartıldıktan sonra erlen içerisine aktarılır ve üzerine 100 ml hazırlanmış LB ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlandı ve sonra 121°C'da 15 dakika otoklavda steril edildi.

0.25 M Kadmiyum Klorür (CdCl₂): 0.92 g CdCl₂ tartıldıktan sonra kapaklı şişe içerisine aktarılır ve üzerine 20 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanmıştır.

0.5 M Sodyum sülfid (Na₂SO₃): 0.19 g Na₂SO₃ tartıldıktan sonra kapaklı şişe içerisine aktarıldı ve üzerine 5 ml distile su ilave edilir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlandı.

Fosfat Tampon Çözeltisi: PBS tabletlerinden 1 tane PBS 200 ml mililitre distile suda çözülerek 121 °C'da 15 dakika otoklavda steril edildi.

Yıkama Solüsyonları: Saf su, n-Hegzan ve Etanol (%99'luk) ile kullanıldı.

3.1.4. Hücre kültüründe kullanılan besiyerleri ve çözeltiler

Bir günü dolmamış Sprague Dawley sıçan yavrusu. NBM (Neuro Basal Medium, Sigma Gibco 21103-049), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), FBS (Fetal bovin Serum Sigma&Aldrich MFCD00132239), Supplement B27 (Life Technology 12587-010), Trypsin (Sigma&Aldrich MFCD00130286).

3.1.5. Çalışmada kullanılan bakteriler

Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) stok kültürlerden aldığımız Gram pozitif bakteri *Viridibacillus arenosi* K64 (GenBank Kabul No: KR873397) mağaralardan izole edilmiş izolatu aseptik tekniklerle NA besiyeri üzerine çizgi ekim yapılarak inküle edilmiştir. Bu işlemin ardından kültürler 28°C’de 24 saat boyunca inkübasyon sürecine bırakılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sentez işlemlerinde kullanılan kimyasallara dayanıklı izolatların seçimi

Mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebilmelerine imkan sağlayacak şekilde çalışmada kullanacak olan öncü metalik çözeltilerin dozunu ve sentez için optimum süreyi belirlemek amacı ile ayrı bir çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Bu amaçla her bir öncü madde için farklı miktarlarda MSB (50, 49, 45 ve 40 ml) ve 1 M’lik farklı miktarlarda öncü madde (kadmiyum klorür, kadmiyum asetat ve sodyum sülfid) çözeltileri (0, 1, 5 ve 10 ml) içeren (toplamda 50 ml olacak şekilde) dört ayrı cam şişe içerisine eşit miktarlarda (5 ml 0.5×10^8 CFU/ml) bakteri çözeltilisinden ilave edilmiştir (Kundu *et al.* 2014).

Her günün sonunda cam şişelerdeki çözeltilerden alınan örneklerin Spektrofotometrik yardımıyla hücre yoğunluğu ölçülerek mikroorganizmaların yoğunlukları gözlemlenmeye çalışılmıştır. Yine benzer şekilde aynı amaç için cam şişelerden alınan örnekler NA besiyeri üzerine yayma ekim yapılarak mikroorganizmaların canlılıkları gözlemlenmeye çalışılmıştır.

3.2.2. Bakterilerin Cd direnci belirlenmesi

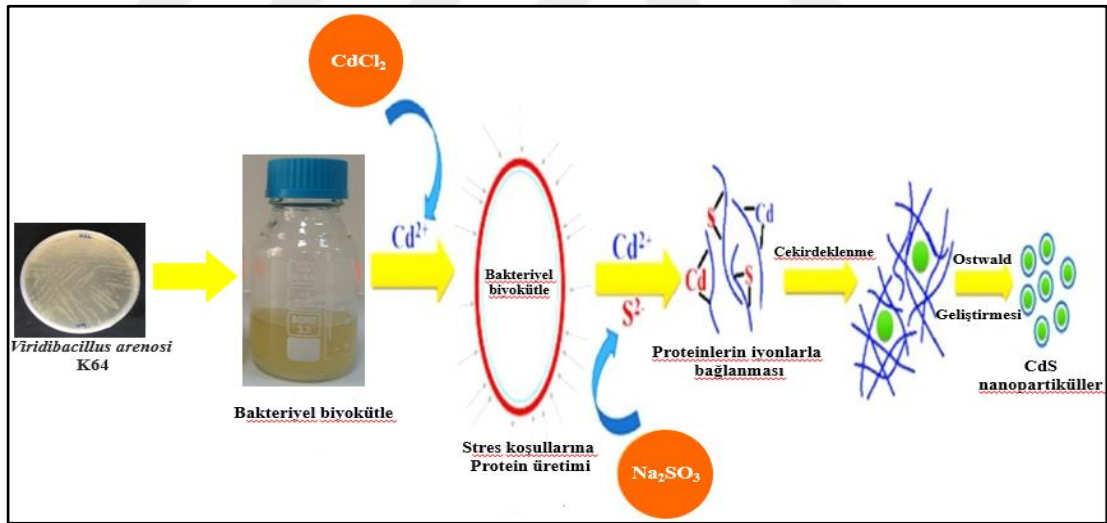
izolatların Cd direncinin belirlenmesinde LB (Luria-Bertani) sıvı besiyeri ve 0.1, 1 ve 5 mM kadmiyum asetat kullanılmıştır. Bakteri kültürleri NA'da 27°C'de 24 saat geliştirilmiş ve yaklaşık 0.5×10^8 CFU olacak şekilde süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyondan 0.1, 1 ve 5 mM kadmiyum asetat olacak şekilde eşit hacimde seyreltilmiş ve 50 ml LB içerisine eklenmiştir. Her bir süspansiyon içinde 1ml bakteri süspansiyonundan 1 ml alınarak LB bulunan tüplere inoklasyon yapılmış, 6 günlük inkübasyon döneminden sonra besiyerinde bakteri gelişme gösteren bakterilerin dirençli olarak değerlendirilmiştir. Besiyerindeki bakteri gelişimi 6 gün boyunca gözlemlenmiş ve bulanıklık görülme durumuna göre strainler pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir. Bir önceki işlem sonunda seçilen bakteri örneği ile denemelere başlanmıştır. Daha ideal gelişim gösteren bakteri örneği *V. arenosi* K64 ve en ideal konsantrasyon olarak 0.1 mM kadmiyum asetat belirlenmiştir.

1. Kontrol 50 ml LB + *V. arenosi* K64
2. 50 ml LB + 0.1 mM kadmiyum asetat + *V. arenosi* K64
3. 50 ml LB + 1 mM kadmiyum asetat + *V. arenosi* K64
4. 50 ml LB + 5 mM kadmiyum asetat + *V. arenosi* K64

3.2.3. CdS Nanopartiküllerinin biyosentezi, saflaştırılması ve karakterizasyona hazırlanması

1. Bakteri süspansiyonu ($\sim 0.5 \times 10^8$ CFU) 100 ml LB broth besiyerine aktarılmış ve 24 saat 32°C 120 rpm hızda çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.
2. Falcon tüpleri ultra santrifüjde 6.000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant 36 saat boyunca tekrar bakterilerin gelişimi için 32°C 120 rpm hızda çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.
3. Sonra steril ve taze LB ile (eşit hacimde eklenerek) seyreltilmiş ve 24 saat 32°C 120 rpm hızda çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.

4. İşlemi sonucunda üst fazdaki sıvı kısım (süpernatant) muhafaza edilmiş ve 20 ml CdCl_2 ve 5 ml Na_2SO_3 çözeltilerinden süpernatanta eklenmiştir.
5. Su banyosuna alınan süpernatant 60°C 10-20 dakika arasında sarı - beyaz rengi oluşana kadar bekletilmiştir.
6. Sentezlenmiş NP'lerin elde edilmesi için, 24 saat oda sıcaklığında ($22-25^\circ\text{C}$) karanlıkta bekletilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda nanopartiküllerin oluşumu Floresans Mikroskopu ile gözlemlenmiştir.
8. Sentezlenen kuantum noktaların elde edilmesi için 10.000 rpm 10 dakika 20°C 'de santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi Hegzan, etanol ve ultra saf su ile sırası ile yapılmış ve santrifüj işlemi ile üst fazlar uzaklaştırılmıştır (Sadowski *et al.* 2008; Mishra *et al.* 2011; El-Raheem *et al.* 2012).
9. Bakteri kullanmadan aynı yöntemi kontrol amaçlı yapmıştır.



Şekil 3.1. Şematik olarak CdS nanopartiküllerin biyosentezi

3.3. Elde Edilen Partiküllerin Karakterizasyonu

Nanomalzemelerin yapılarının ve yüzeylerinin atomik boyutta karakterizasyonu, nanoyapıların özelliklerinin ve işlevlerinin anlaşılması için büyük öneme sahiptir (Zhang 2006). Nanomalzemelerin yüzey özelliklerinin ve yapılarının karakterizasyonu için pek çok güçlü teknik mevcuttur. Bu teknikleri genel olarak spektroskopik ve mikroskopik

olarak ikiye ayırabiliriz. Spektroskopik teknikler, X-ışınları kırınımı (XRD), enerji dispersif X-ışınları (EDS), X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), ve UV/görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi'dir. Buna ek olarak dinamik ışık saçılması tekniği (DLS-Zetasizer) nanomalzemelerin karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikroskopik teknikler ise taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve Geçirimli Elektron Mikroskopu'dur (TEM). Bu çalışmada ilk olarak partikül oluşumunun gözlemlenmesi floresan mikroskop ile yapılmış daha sonra saflaştırma ve diğer karakterizasyon işlemlerine geçilmiştir.

3.3.1. Nanopartiküllerin floresan mikroskopunda görüntülenmesi

Ultraviyole gibi görme sınırimız dışında kalan bir ışık, floresan madde tarafından absorbe edilip, görülebilen ışık spektrumu içinde yansıtıldığında, görülebilir. Bu özellik floresan mikroskoplar kullanılarak belirlenebilmektedir. Sentezlenen nanopartikül tespitinin de DAYTAM bünyesinde yer alan Floresan mikroskopu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lam üzerine elde edilen sıvıdan küçük bir damla bırakılarak ve lamel yardımıyla yayılarak incelenmiştir. 350 nm dalga boylu ışık altında inceleme yapılmış ve görüntüler alınmıştır. Siyah zeminde parlak renkler görüntülenmesi hedeflenmiştir.

3.3.2. Spektrofotometrik analiz

Üretilen nanopartiküllerin optik analizinde DAYTAM bünyesinde yer alan Shimadzu UV-VIS Plus modeline sahip çift ışınlı UV-VIS-NIR spektrometre (200-1100 nm) kullanılarak soğurma ölçümleri alınmıştır. Spektroskopik çalışmalar, elektromanyetik dalganın (fotonun) madde ile etkileşmesi esasına dayanır. Bu etkileşme, elektromanyetik dalganın madde tarafından absorpsiyonu veya emisyonunu şeklinde gerçekleşir. Elde edilen sıvı kuvarz küvetlere alınarak ölçümler yapılmış ve veriler dijital olarak kaydedilerek grafikleri hazırlanmıştır.

3.3.3. Spektroflorometrik analiz

Üretilen nanopartikülerin emisyon analiz için DAYTAM bünyesinde yer alan Spectrofluorometer (Agilent Cary Eclipse) (180-900 nm) kullanılarak emisyon ölçümleri alınmıştır. Seçilen dalga boyundaki ışınlar örneğe ulaşır ve bu enerjiyi absorbe eden analit (örnek içerisinde analizi yapılacak bileşik) belli bir dalga boyunda başka bir ışın yaymaya başlar. Yayılan bu ışınlar 90°'lik bir açıyla yerleştirilen dedektörler tarafından tespit edilir ve bir fotometreye aktarılır. Burada yapılan ölçümün 90°'lik bir açıyla olmasının nedeni yayılan ışınların tüm boyutlarda (açılarda) dağılması ve dolayısıyla, uyarıcı ışınları yayılan ışınlarla karışmasından kaynaklanabilecek hataların önlenmesidir (Chan *et al.* 2012). Elde edilen sıvı kuvarz küvetlere alınarak ölçümler yapılmış ve veriler dijital olarak kaydedilerek grafikleri hazırlanmıştır.

3.3.4. Zetasizer analizi

Üretilen nanopartikülerin boyut analizi için DAYTAM bünyesinde yer alan tane büyüklüğü ve zeta potansiyel tayin cihazı (Zetasizer) (Malvern Zetasizer Nano ZSP) kullanılmıştır.

Zetasizer cihazı sıvı ortamlardaki parçacıkların veya moleküllerin üç karakteristik özelliğini ölçmek için kullanılır. Bu üç temel özellik; kolloidal süspansiyonlardaki parçacıkların veya moleküllerin büyüklük dağılımları, yüzey yükleri (zeta potansiyel) ve moleküler ağırlıklarıdır. Büyüklük dağılımları dinamik ışık saçılması (Dynamic Light Scattering, DLS), moleküler ağırlıkları ise statik ışık saçılması (Static Light Scattering, SLS) tekniği ile yapmaktadır. Zeta potansiyel ölçümleri de lazer doppler elektroforez (Laser Doppler Electrophoresis, LDE) ölçüm tekniği ile yapılmaktadır (Malvern 2008). Kullandığımız malzemelerin birçoğu küçük tanelerin bir araya getirilmesi ve bir işlemde geçirilmesi ile oluşturulur.

Elde edilen sıvı cihazın numune kabına 1 ml konulmuş ve üzeri saf su ile tamamlandıktan sonra ölçümler yapılmış ve veriler dijital olarak kaydedilerek grafikleri hazırlanmıştır.

3.3.5. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) ile görüntüleme

Üretilen nanopartiküllerin morfolojik özellikleri için ODTÜ merkez laboratuvarlarında yer alan TEM (Jeol 2100F 200kV RTEM) cihaz kullanılmıştır.

Geçirmeli elektron mikroskobu, elektron demetinin numune malzemenin içinden geçerek yol almasıyla atom seviyesinde görüntü elde edilebilen hassas bir tekniktir. Malzemenin içinden geçen elektronlar, bir ekranda izlenerek malzemenin yapısı ile ilgili görüntü oluştururlar. Bu teknik numunenin morfolojisi, kristal yapıları ve eksiklikleri, kristal safhaları ve oluşumları hakkında bilgi almamızı sağlar. TEM’de görüntüsü alınmak istenen malzemenin çok ince olması gerekir (100-1000 Å). Çünkü malzeme içerisinde elektronlar geçip gideceklerdir. Yüksek enerjili (200 keV), kısa dalga boylu elektron demeti, mercekle sistemlerinden geçirilerek numune üzerine odaklanır ve sonra tekrar mercekle sistemlerinden geçirilerek ekrana yansıtılır.

Sıvı olarak gönderilen numunedan analizler yapılarak veriler tarafımıza gönderilmiştir.

3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntüleme

Üretilen nanopartiküller morfolojik analizleri DAYTAM (Sigma 300 Model Ziess Gemini marka)’de SEM cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu, yüksek çözünürlüklü resim oluşturmak için vakum ortamında oluşturulan ve aynı ortamda elektromanyetik lenslerle inceltiren elektron demeti ile incelenecek malzemeyi analiz etme imkanı sunar. Mikroskopta oluşturulan resimler, elektron demeti ile etkileşiminden ortaya çıkan ışınlar veya geri yansıyan elektronlar sayılarak oluşturulur. SEM de vakum sistemi oldukça önemlidir, basınç elektron tabancasının engellemeyecek kadar düşük olmalıdır. Elektron yayan yüzeylerin koroze olmasını engellemek için olması istenir.

Saflaştırma ve yıkama işlemleri sonrasında kurutulan numuneler altın ile kaplanarak analiz edilmiştir.

3.3.7. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi (EDS) ile element analiz

Üretilen nanopartiküllerin morfolojik analizleri DAYTAM Sigma 500 Model Ziess Gemini marka EDS cihazı ile görüntüleri alınmıştır.

Elektrodepozisyonu yapılan nanopartiküllerin stokiyometrisinin belirlenmesinde elemental analiz gereklidir. Günümüzde nanopartiküllerin stokiyometrisini yani nanopartiküllerin komponentlerinin birbirine göre miktarlarının oranını bulmak için birçok teknik geliştirilmiştir.

EDS tekniği ile yüzeydeki komponentlerin kalitatif ve kantitatif analizi yapılmaktadır. Ancak bu teknik taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile kombine haldedir. Taramalı elektron mikroskopu tekniğinde elektron demeti kullanılır. Buna göre SEM’de, katı numune yüzeyi raster düzeninde yüksek enerjili bir elektron demetiyle taranır. Tarama neticesinde yüzeyden çeşitli tür sinyaller oluşturulur. Bunlar geri saçılmış ve ikincil elektronlar ve elektron mikroprob analizde kullanılan X-ışını emisyonudur. EDS ise elektron bombardımanına maruz bırakılan katı numunenin verdiği X-ışını emisyonunu ölçer. Yüzeydeki türlere göre söz konusu X-ışını emisyonunun enerjisi ya da dalga boyu farklılık gösterir. Elektrodepozisyonu yapılan CdS nanopartiküllerin bu teknik ile elementel analizinde JEOL marka SEM/EDS cihazı kullanılmıştır.

SEM için hazırlanan örnekte görüntü alınan noktalardan analizler gerçekleştirilmiştir.

3.3.8. X- Işını Difraktometresi (XRD) ile kristal yapı analizi

Sentezlenen nanopartikül yapısal analizler için DAYTAM bünyesinde yer alan PLAnalytical Empyream X-Ray Difraktometre cihazı kullanılmıştır.

XRD çalışma prensibi kristaldeki örgü parametreleri ile aynı mertebede dalga boyuna sahip X-ışını dalgalarının Kristal ile kırınımına uğraması olayına dayanır. XRD ile malzemenin içerdiği fazlar, tanecik boyutu, tanecik yönelimi, kimyasal kompozisyon ve örgü sabiti belirlemek mümkündür.

Saflaştırma ve yıkama işlemleri sonrasında kurutulan numuneler verilmiştir. Numune örnek tablasına konulan numune analize alınmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak grafikler hazırlanmıştır.

3.3.9. X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) kimyasal bileşenlerin analizi

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ölçümleri DAYTAM bünyesinde yer alan Specs-Flex XPS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kimyasal analiz için elektron spektroskopisi olarak bilinen XPS, yüzeylerin kimyasal bileşimini araştırılmak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir.

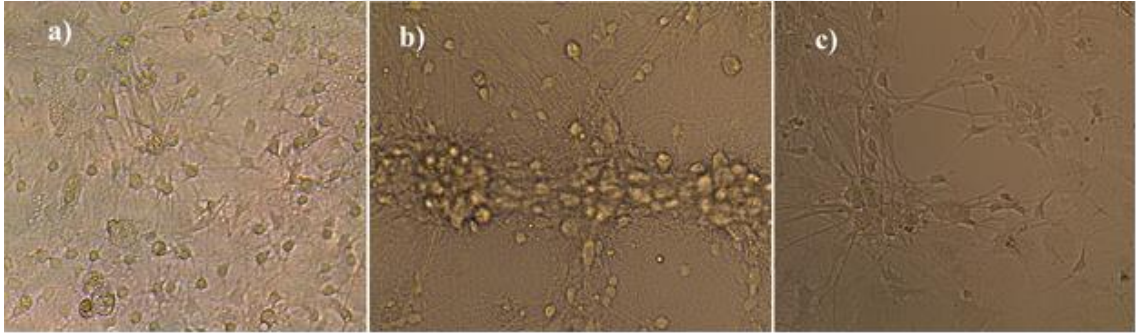
Saflaştırma ve yıkama işlemleri sonrasında kurutulan numuneler verilmiştir. Numune örnek tablasına konulan numune analize alınmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak grafikler hazırlanmıştır.

3.4. Elde Edilen Partikülün Toksikolojik Niteliğinin Belirlenmesi

Nanopartiküllerin konsantrasyon optimizasyonu farklı konsantrasyonlarda (1-100 µg/mL) CdS 3 farklı hücreleri ile muamele edilmesiyle sağlanmıştır. Nanopartiküller ile hücreler (24 saat) sürelerde muamele edilerek optimum maruz kalma süresi MTT ve tripan mavisi analizleri ile saptanmıştır. Aynı deneyler sisplatin, imatinib ve sağlıklı hücre hattı ile de tekrar edilmiştir.

3.4.1. Kullanılan hücre kültürü

Çalışmada kullanılan hücreler (Olfaktori, beyincik ve korteks hücreleri) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalından temin edilmiştir. Hücre temini işleminde alınan nöron hücreleri 1200 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiş ve sıvının üst fazını kullanılmıştır. Elde edilen saf nöron hücreleri hazırlanan nöron solüsyonuna NBM, 1/10 FBS, 1/50 B27, 1/1000 antibiyotik konularak ve 96’lık polilizin kaplı polisitren kaplarda ekilmiştir. Düzenli olarak her üç günde bir hücreler kontrol edilip besiyeri değişikliği yapılmıştır (Şekil 3.2). Hücreler 10 gün sonunda deneye alınmıştır.



Şekil 3.2. Elde edilen hücreler $\times 10$ a) Beyincik nöron hücreleri b) Korteks nöron hücreleri c) Olfaktori nöron hücreleri.

3.4.2. MTT analizi

Farklı kuantum noktaların dozlarının sitotoksitelerinin belirlenmesi için, “direkt temas test metodu” uygulanmıştır, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difeniltetrazilyum bromid içeren MTT maddesi ile (Sigma Aldrich Inc, St. Louis, USA) değerlendirme yapılmıştır. MTT testi ile sitotoksiteyi belirlemek için 1 ml PBS içinde 5 mg MTT tozu olacak şekilde hazırlanmıştır karışım, 0.20 μm ’lik steril filtreden (Corning, Wiessbaden, Almanya) geçirilerek dış yüzeyi alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra $+4^{\circ}\text{C}$ ’de kullanılacağı zamana kadar bekletilmiştir. İnkübe edilen hücrelerin ortam sıvıları uzaklaştırıldıktan sonra, daha önceden hazırlanmış olan örnekler her kuyucuğa yerleştirilerek 24 saat süreyle 37°C ’de %5 CO_2 içeren ortamda tekrar inkübasyon

bırakılmıştır. Böylece, kullanılan kuantum noktaların 24 saat sonundaki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.

KN nanopartiküllerinin maruziyeti sonrasında MTT solüsyonu ilave edilerek 4 saat süreyle inkübatörde bekletilmiştir. Bu süre sonunda kuyucuklara 100 µL DMSO (Sigma, USA) ilave edilerek formazen kristallerin çözülmesi sağlanmıştır. Absorbans, (optik yoğunluk) spektrofometrede (µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek) 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAK) analizi

TAK düzeyi tespitinde, 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sülfonat = ABTS+) radikal katyonunun oluşumunu inhibe edilmektedir. Bu yolla toplam antioksidan kapasitesi tespit edilmektedir. Tespit işleminde Rel Assay Diagnostics® (Sigma, USA) firması tarafından üretilen TAK ticari kitleri kullanılmıştır.

Kit Bileşenleri

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standart 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standart 2 Solüsyonu: 10 ml

30 µl örnek içeren kuyucuklara 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan eklenerek 660 nm'de ilk absorbans okunmuştur. Daha sonra aynı kuyucuklara 75 µl Reaktif 2 eklenerek 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme sonunda 660 nm'de ikinci absorbans değeri okunarak elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde uygun şekilde yerlerine konularak mmol Trolox Equiv./L cinsinden TAK düzeyleri tespit edilmiştir.

$$\text{TAK} \left(\frac{\text{mmol Trolox Equiv.}}{\text{L}} \right) = \frac{(\Delta \text{ Standart 1'in}) - (\Delta \text{ Örneğin değeri})}{(\Delta \text{ Standart 1'in değeri}) - (\Delta \text{ Standart 2'nin absorbansı})} \times 20$$

3.4.4. Toplam Oksidan Sayısı (TOS) analizi

Numunede bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır.

Çalışmamızda Rel Assay Diagnostics® firması tarafından üretilen TOS (Total Oxidant Status) kitleri kullanılmıştır.

Kit Bileşenleri

- Reaktif 1 Solüsyonu: 50 ml
- Reaktif 2 Solüsyonu: 10 ml
- Standart 1 Solüsyonu: 10 ml
- Standart 2 Solüsyonu: 10 ml

75 µl plazma örneğinin bulunduğu kuyucuklara 500 µl Reaktif 1 solüsyonundan ilave edilerek 530 nm’de ilk absorbansı okunmuştur. Daha sonra aynı küvete 25 µl Reaktif 2 solüsyonundan eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Bekleme sonunda 530 nm’de ikinci kez absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ve aşağıdaki formül kullanılarak mmol TOD düzeyleri Trolox Equiv./L cinsinden tespit edilmiştir.

$$\text{TOS } \left(\frac{\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv.}}{\text{L}} \right) = \frac{(\Delta \text{ Örneğin değeri})}{(\Delta \text{ Standart 2'nin değeri})} \times \text{Standart 2 değeri}$$

3.4.5. Histopatolojik Uygulama

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan beyin doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edilmiştir. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelenmiştir (Leica DM 1000, Germany). Kesitler immun pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirilmektedir.

3.4.6. İmmunohistokimyasal Boyama

Dehidrasyon, şeffaflandırma ve parafinizasyon işlemlerinin ardından parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alınarak polilizinli lamalar üzerine yerleştirilmiştir. Parafinin eritilerek uzaklaştırılması amacıyla lamalar preparat taşıma aparatına alındı ve 56 °C'de 1 saat etüvde bekletilmektedir. İmmunohistokimyasal boyama Expose Kit (Abcam: ab80436, İngiltere) üretici firmanın önerdiği şekilde yapıldı. Bu amaçla; 1- Ksilolde (3 defa) 15 er dk. 2- %100 etanol (2 defa) 5 er dk. 3- %96 etanol (1-2 defa) 5 er dk. 4- %90 etanol (1 defa) 5 dk. 5- %80 etanol (1 defa) 5 dk. 6- %70 etanol (1 defa) 5 dk. 7- Phosphate buffer solution (PBS) ile yıkama 5 dk. 8- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 lük hidrojen peroksit (300 ml distile su + 9ml H₂O₂) solüsyonunda 10 dk. Bekletildir. 9- Antijen retrieval aşaması için sodyum sitrat solüsyonu (pH = 6.0) ile mikrodalga fırında 15 dakika (600 watt) kaynamaya bırakıldı. 10- Solüsyondan çıkarmadan oda ısısında soğuması için 15 dk. bekletilmiştir ve süre sonunda PBS ile yıkandı. 11- Protein bloktan (Abcam: ab80436) her lam üzerine dokuyu kapatacak oranda damlatıldı ve 30-60 dakika nemlendirilmiş kap içerisinde bekletilmektedir. (Non spesifik antikor bağlanmasını bloke etmek için) 12- 1\100 oranında sulandırılan primer antikordan 8 OHdG (catno. sc66036, dilution 1/50; Santa Cruz, USA) ve GFAP (catno. ab68428, dilution 1/250; abcam, Cambridge, UK) her bir lam üzerine mikropipet kullanarak 100 µl eklendi, 1 saat 37°C etüvde nemlendirilmiş kap içerisinde inkübe edildi. 13- Etüvden çıkarılan preparatlara PBS ile 3 defa 5 er dk. süreyle yıkama işlemi uygulandı. 14- Sekonder antikordan (komplement) her doku üzerine 1-2 damla eklendi ve 20 dk. oda ısısında nemlendirilmiş kaptaki inkübe edilmektedir. 15- Bu süre sonunda PBS ile 3 defa 5 er dk. süreyle yıkandı. 16- HRP konjugat her bir dokuya 1-2 damla eklendi ve 30 dk. oda ısısında nemlendirilmiş kaptaki inkübe edilmiştir. 17- PBS ile 3 defa 5'er dk. süreyle yıkandı 18- Kromojen olarak 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kullanılmıştır. 19- Distile su ile yıkandı. 20- Hematoksilen (Mayer's) ile 15-20 saniye zıt boyama uygulandı. 21- Çeşme suyu hematoksilenin fazlası uzaklaşmaya kadar yıkanmıştır. Bu işlemden sonra sırasıyla; 3'er dk. %80 etanol, %96 etanol, %100 etanol ve ksilolde bekletilerek lamalar entallen yardımıyla lamelle kapatılmıştır.

3.4.7. İstatiksel analiz

Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların mukayesesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. Bu istatistik analizleri için SPSS 13.0 paket programı kullanılmaktadır.

3.8. Nanopartiküllerin Kararlılığının Saptanması

NP'lerin kararlılığı iki şekilde izlenecektir:

- 1- İnkübasyon sonrası çözeltiler herhangi bir uygulama yapılmadan 6 ay oda sıcaklığında bekletilecektir,
- 2- İnkübasyon sonrası çözeltiler 50 mL'lik santrifüj tüplerine aktarılarak yüksek devirde 30 dakika santrifüj edilerek NP'ler çöktürülecektir. Süpenatant ayrıldıktan sonra çöken NP'ler üzerine tekrar steril distile su eklenecek ve aynı şekilde santrifüj edilerek NP'ler yıkanacaktır. Yıkanma işlemi sonrası distile su dökülecek ve ultrasonik banyoda ultrasonifikasyonla su içerisine dağıtılacak ve 6 ay süre ile oda sıcaklığında kararlılığı izlenecektir.

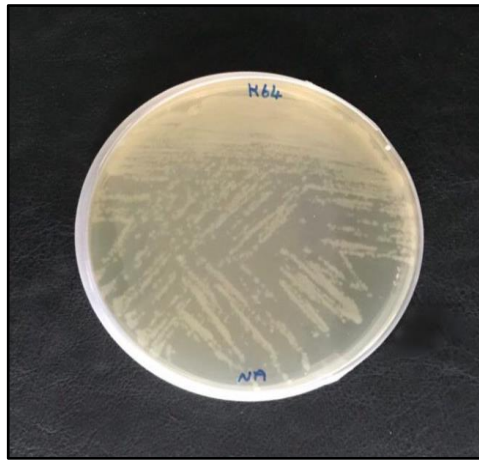
Kararlılık izlenmesi amacıyla çözeltinin ışığı maksimum absorbladığı dalga boyu spektrofotometrede 200-800 nm arasında taranacaktır (Vigneshwaran *et al.* 2007).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Biyosentez için Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) kültür koleksiyonunda yer alan daha önce kalsiyumlu bileşiklerin presipitasyonuna katıldığı belirlenen izolatlar kullanılmıştır. Bu bakteri izolatlarının yüksek iyon stresine dayanıklı olmaları ve gerek kendileri gerekse metabolitleri aracılığı ile mineral oluşumuna katıldıkları bilinmektedir. Biyosentez için uygun izolat taraması yapılarak denemelere devam edilemiş ve sentezlenen partiküllerin karakterizasyon işlemleri yapılarak kuantum nokta özellikleri olup olmadığı ve boyutlandırmaları yapılmıştır. Elde edilecek nanoboyutlu kuantum noktalar doğru ve tam bir karakterizasyon işlemi sonrası uygun kullanım alanlarındaki potansiyelleri araştırılmıştır.

4.1. Biyosentez İçin Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak bakteriler önce NA ortamında saf kültür olarak geliştirilerek 24 saatlik taze kültürlerden bir öze dolusu alınmış ve 100 ml LB broth içerisine inokule edilerek ve bir gece çalkalayıcıda (120 rpm/dk) inkübasyona bırakılmıştır.



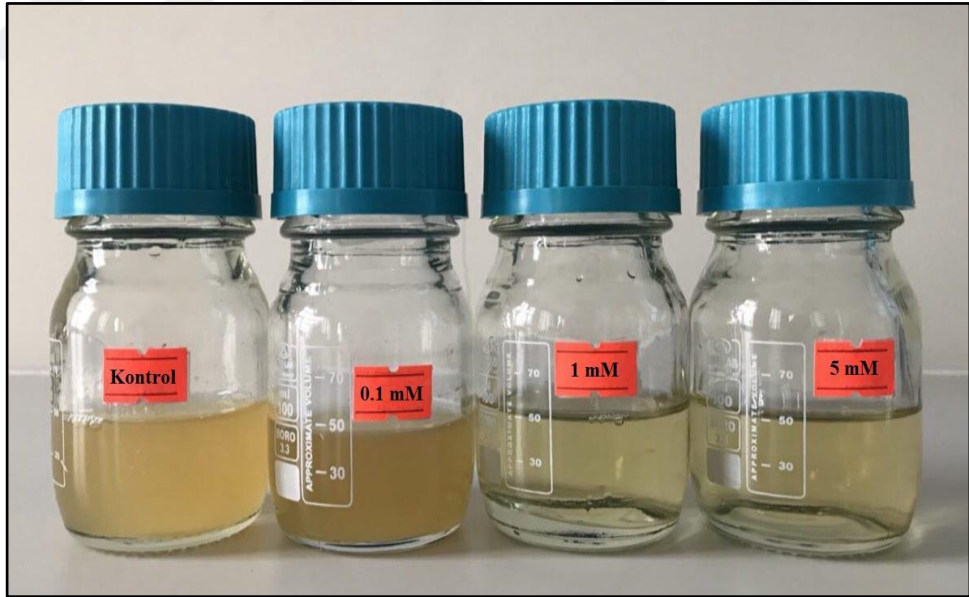
Şekil 4.1. *V. arenosi* K64 izolatının NA ortamda gelişmesi

4.1.1. En yüksek uygulama süreleri ve dozlarının belirlenmesi

Mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürebilmeleri uygun öncü metalik çözelti doz miktarının 5 ml uygulama'da (~0.1 M) ve uygun olan sürenin ise 3-5 gün olduğu belirlenmiştir. Belirtilen doz ve süre içerisinde canlılığın devam ettiği sonrasında ise canlılığın gözlemlenemediği belirlenmiştir.

4.1.2. Bakterinin Cd direncinin belirlenmesi

İzolatların Cd direnci belirlenmesinde LB (Luria-Bertani) sıvı besiyeri ve 0.1, 1 ve 5 mM kadmiyum asetat kullanılmıştır. elde edilen sonucuna göre farklı miktarlarda kadmiyum asetat (kontrol, 0.1 mM, 1 mM ve 5 mM) uygulanması sonucu 0.1 mM kadmiyum asetat çözeltisi bakterilerin gelişmektedir (şekil 4.2).



Şekil 4.2. Sıvı Cd dirençli *V. arenosi* K64 kültürleri

4.2. Biyosentez İşlemleri

Çalışma izolati belirlendikten sonra biyosentez için protokole uygun olarak reaksiyon basamaklarına alınmıştır. Yıkama basamaklarına geçmeden ilk doğrulama için kültür sıvısı floresan mikroskobunda görüntülenmiş ve mavi parlamalar gözlemlendikten sonra yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kadmiyum ve sülfid eklemeleri yapılan basamak sonucu elde edilen sıvının görünümü Şekil 4.3’de görülmektedir.



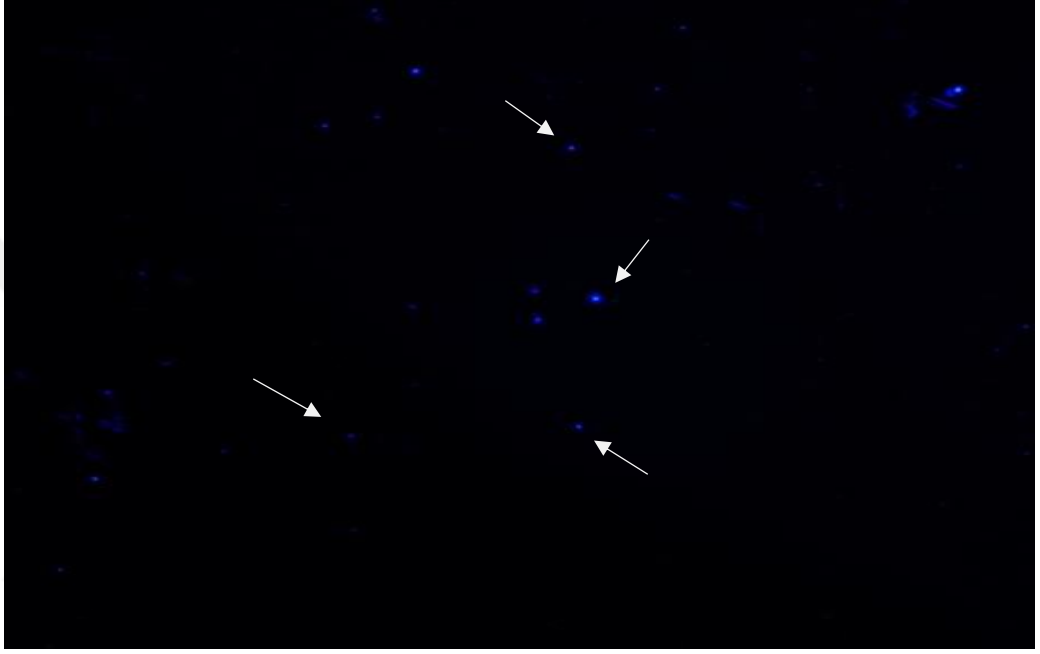
Şekil 4.3. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülleri

4.3. Biyosentetik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Sentezlenen nanopartiküllerin sentez oluşum aşamalarının izlenmesinde ve sentez sonrasında elde edilen ürünün karakterizasyon aşamasında aşağıdaki işlemler gerçekleştirilmiştir. Bakterisiz CdS Kaydi elde edilmemiştir.

4.3.1. Floresan mikroskobu ile elde edilen görüntüler

Bu tezde elde edilen biyosentez yöntemi ile nanopartiküler, tespitini oluşup-oluşmadığı floresan mikroskobu (Floresan cell 10×10 mm) cihazında görüntülenmiştir (Şekil 4.4).



(a)

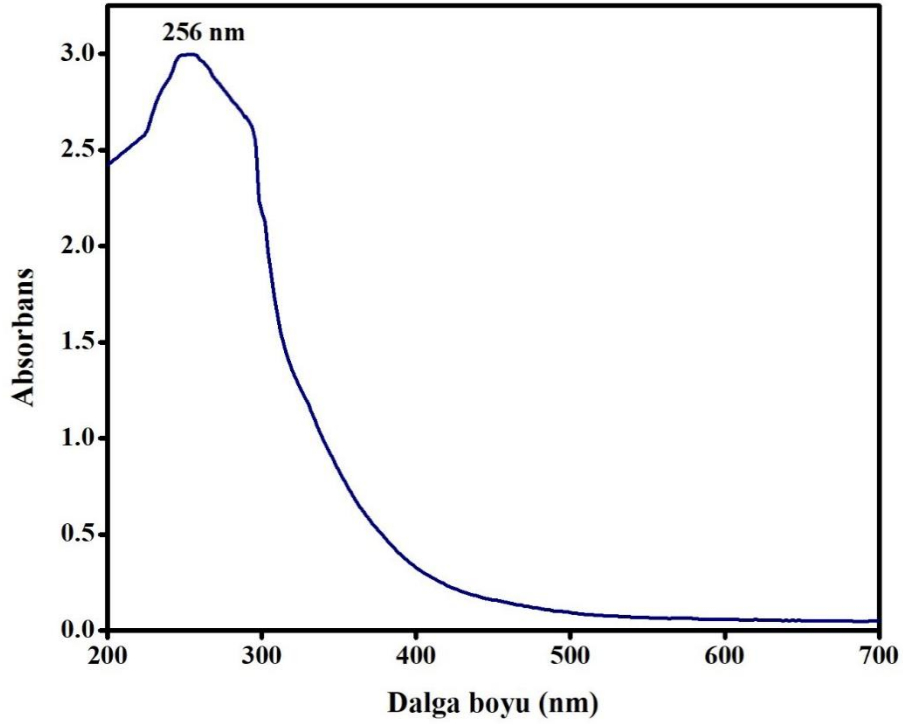


(b)

Şekil 4.4. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerin ait floresan mikroskobu

4.3.2. Spektrofotometrik analiz sonuçları

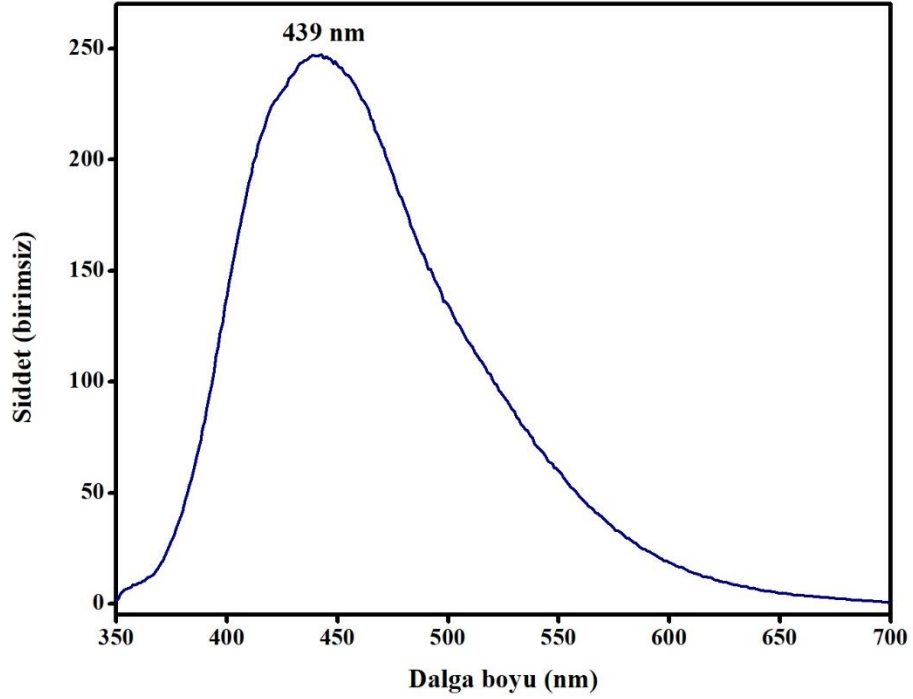
CdS nanopartikülerinin 200-700 nm dalga boyu aralığındaki UV-görünür spektrum ölçüm sonuçları verilmiştir. Numune üzerine düşen ışığın bir kısmı yansır, bir kısmı soğrulur ve bir kısmı da numuneyi geçer. Spektrumların hepsinin oldukça açık bir soğurma maksimumuna sahip olduğu, CdS nanopartikülerinin spektrumunda soğurmanın 700 nm dalga boyunda başladığı ve soğurma şiddetinin 256 nm dalga boyunda olduğu görülmüştür. Spektrumların hepsinin oldukça açık bir soğurma maksimumuna sahip olduğu gözlemlenen CdS'ün absorbands Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerin absorbands spektrumu

4.3.3. Spektrofluorometrik analiz sonuçları

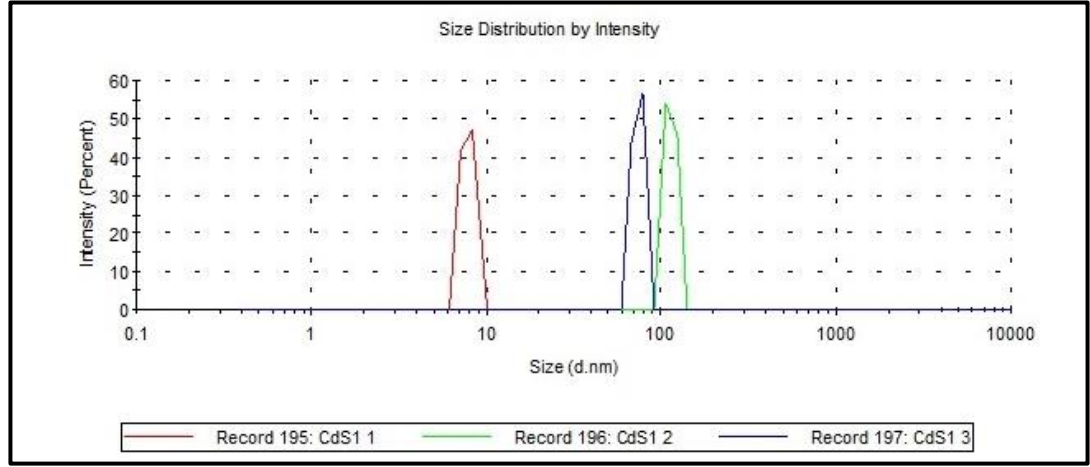
CdS nanopartikülerinin spektrofloremetrik analizi için 350-700 nm dalga boyları arasında ki bantta tarama yapılmıştır. En yüksek yoğunluğu 439 nm ile mavi ışığa isabet ettiği tespit edilmiştir. CdS'ün emisyon yoğunluğu sonuçları Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerin ait spektrofotometrik sonuçlar

4.3.4. Zetasizer sonuçları

CdS kuantum noktaların, partikül büyüklüğü ve dağılımlarının ölçülmesi, hazırlanan CdS çözeltilerin partikül büyüklüğü ve dağılımı, Malvern Zeta Sizer aletiyle tayin edilmiştir. Şekil 4.6'da CdS nanopartiküllerin boyutu 8-10, 80-90 ve 90-110 nm görülmüştür. Malvern Zeta Sizer cihazı, dinamik ve elektroforetik ışık saçılması yöntemiyle çalışmaktadır. Bu cihaz partikül büyüklüğü 0.6 ile 6000 nm aralığında ölçüm yapabilmektedir. Şekil 4.7'de zeta sizer ölçüm sonuçları görülmektedir.

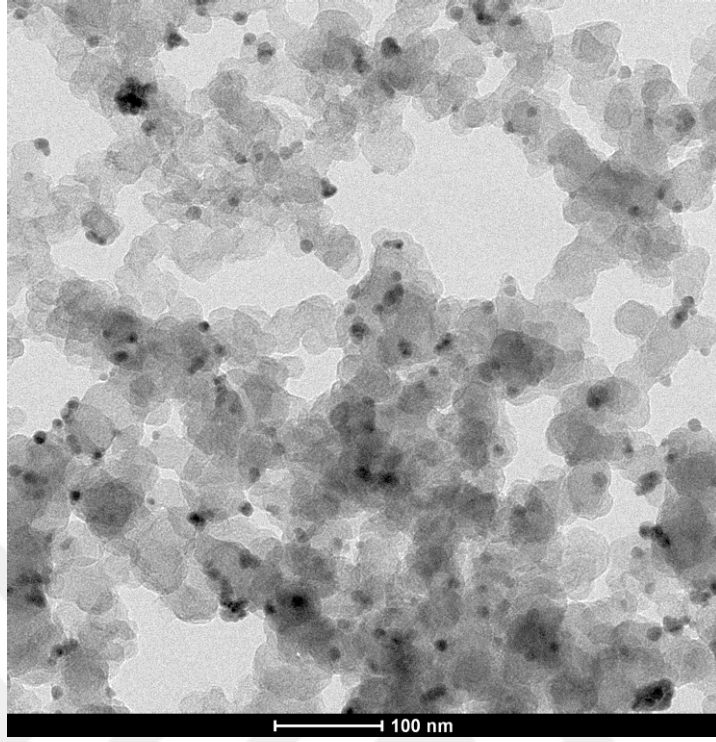


Şekil 4.7. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin ait Zetasizer sonuçları

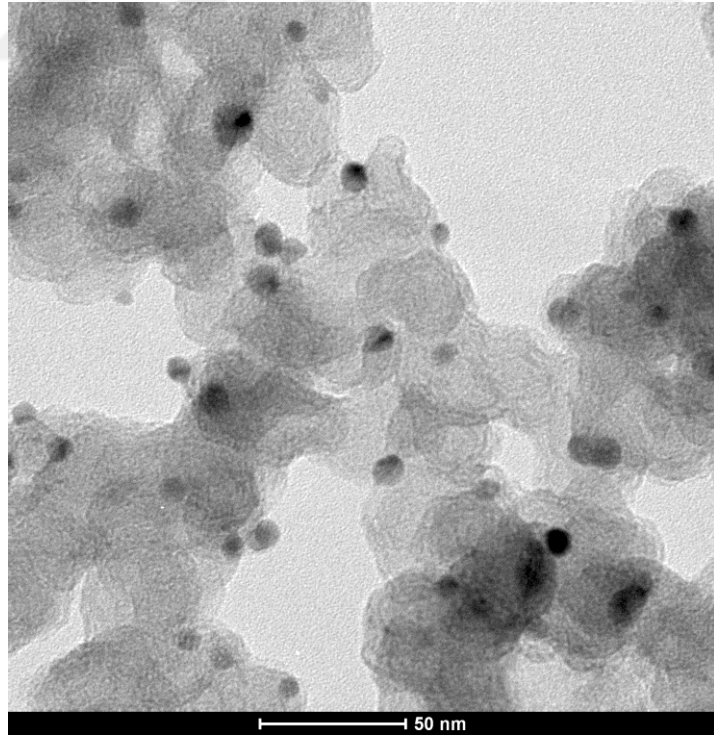
4.3.5. TEM görüntüleri

Biyosentetik CdS kuantum noktaların fiziksel görünümünün ve partikül büyüklüklerinin TEM ile belirlenmiştir. Hazırlanan CdS nanopartiküller disperse (3 dakika boyunca ultrasonik su banyosunda) edilerek. Oluşan süspansiyondan mikroskop lamının üzerine bir miktar ilave edilmiş ve 24 saat süresince vakum altında kurutulmuştur.

Hazırlanan örnek incelendiğinde CdS nanopartiküllerin boyutlarının 4-12 nm civarında olduğu görülmüştür (Şekil 4.8). Kümelenmelerin homojen bir dağılım sergilemediği ve nanoparçacıkların küresel yapılarda olabileceği düşünülmektedir.



(a)

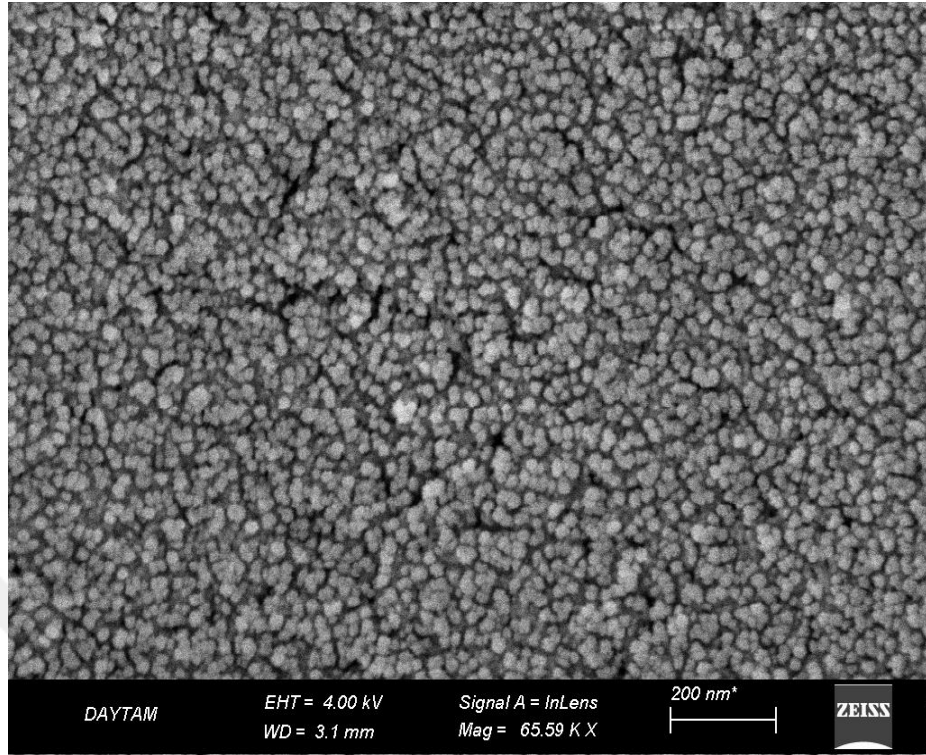


(b)

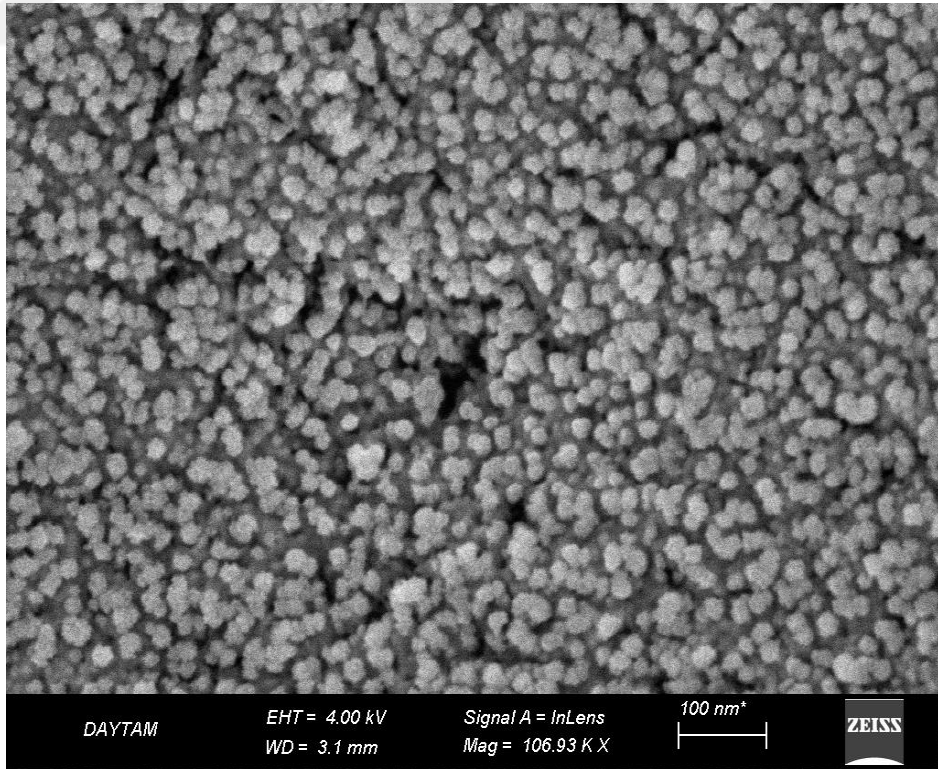
Şekil 4.8. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerinin TEM görüntüleri

4.3.6. SEM görüntüleri

V. arenosi K64 bakterisi aracılığıyla biyosentez yöntemiyle elde edilen CdS nanopartiküllerin şekillerini daha iyi anlamak için, SEM görüntüleri yardımıyla, filmlerin nanoboyutlarda büyütülebilmeleri, homojensizlikleri, kaliteleri ve fabrikasyonları konusunda bilgi elde edilmiştir. Nanopartikülleri görüntü alınabilmesi için kurutulmuştur. Hazırlanan materyalden alınan SEM görüntüleri neticesinde kümelenmiş halde farklı boyutlarda (8-25 nm, ortalama NP boyutları 18 nm) NPs içerdiği belirlenmiştir. CdS nanopartiküllerin 100-200 nm ölçekli SEM görüntüleri partiküllerin yüzey görüntüleri homojen nanoboyutlu tanecikler şeklinde olduğu tespit edilmiş olup SEM görüntüleri XRD sonuçları da bunu desteklemiştir. Oluşan nanoparçacıkların iç içe geçerek kümelenmiş halde buldukları ve bu kümelerin farklı boyutlarda nanoparçacıkları içerdiği belirlenmiştir. Kümelenmelerin homojen bir dağılım sergilemediği görülmüştür ayrıca NPs küresel ve hegzagonal yapılarda olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.9).



(a)

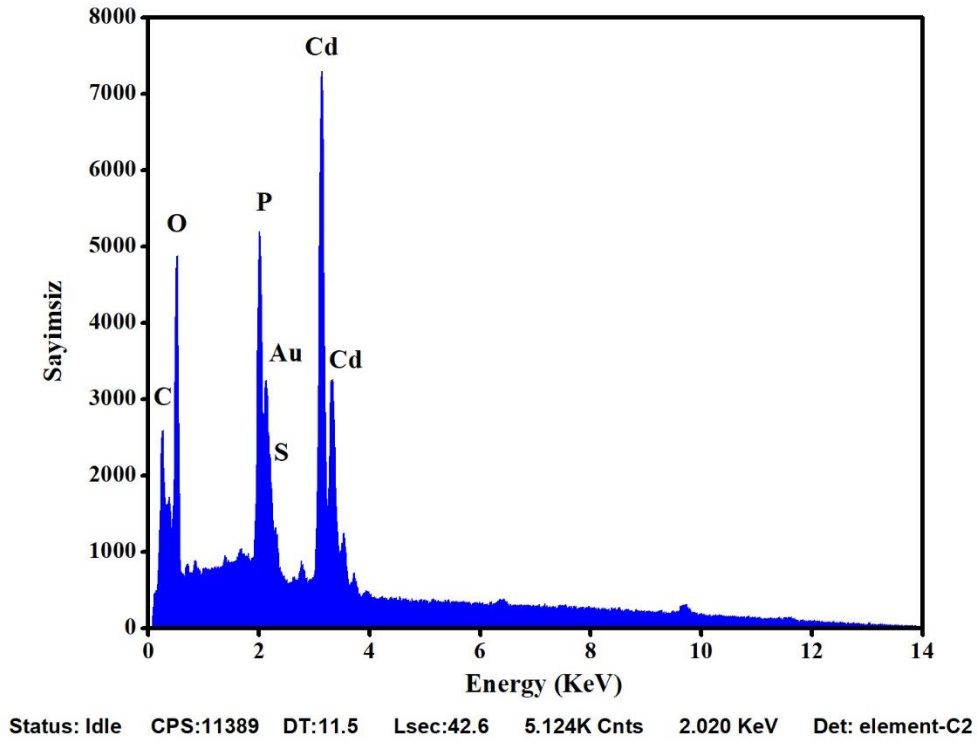


(b)

Şekil 4.9. (a) (b) Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerin SEM görüntüleri

4.3.7. Enerji Dağılımlı X-Işınlari Spektroskopisi (EDS) ile analizi

Elde edilen CdS nanopartiküllerin SEM ile görüntülendikten sonra entegre ünite yardımı ile EDS analizi alınmış ve elde edilen grafik ve analiz tablosu Şekil 4.10'da gösterilmiştir. EDS spektrumunda Cd, S ve farklı elementler görülmektedir (Şekil 4.10) ve (Çizelge 4.1).



Şekil 4.10 . Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin EDS grafiki bir nokta

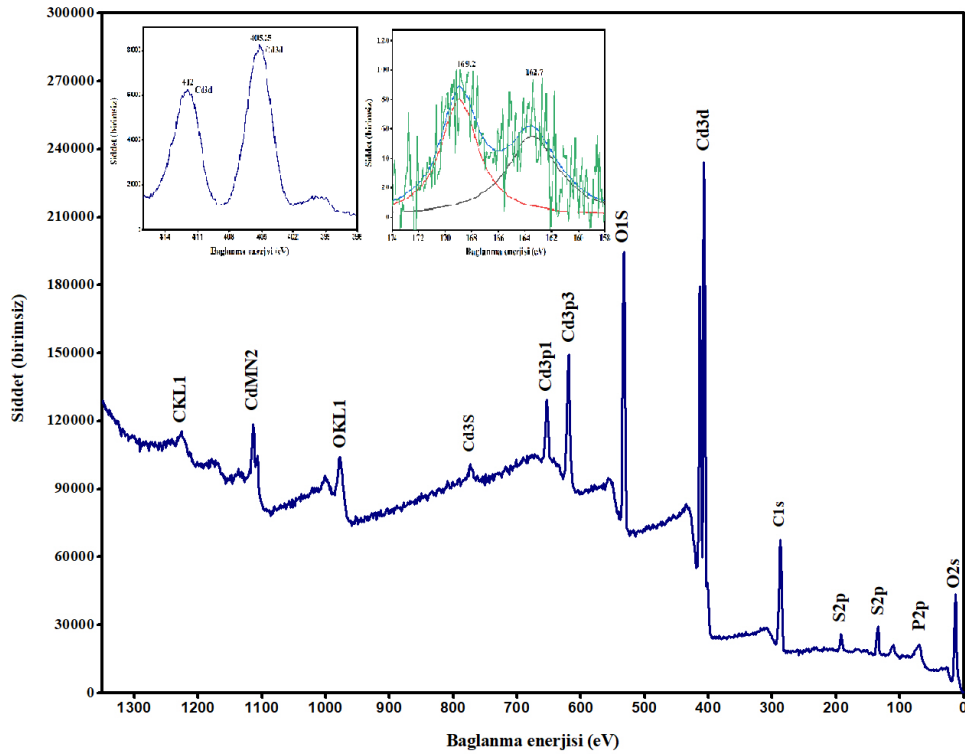
Çizelge 4.1. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin EDS Spektroskopisi veri dokumu

Element	Weight %	Atomic %	Error %	Net Int.	K Ratio	Z	R	A	F
C AbK	5.2	13.1	12.5	114.5	0.0208	1.2539	0.845	0.3175	1
O K	34.7	65.3	10.1	683	0.0661	1.2069	0.8696	0.1576	1
P K	8.9	8.7	4.9	765.3	0.0692	1.0687	0.9358	0.7196	1.0081
Au M	9.1	1.4	5.3	355.5	0.0891	0.7317	1.2963	1.2281	1.0922
S K	0.4	0.3	28.3	28.9	0.0027	1.0914	0.9438	0.6996	1.0044
Cd L	41.7	11.2	1.8	1519.6	0.3404	0.8198	1.1441	0.9901	1.0062

4.3.8. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile içerik analizi

XPS incelenen yüzeylerin elemental ve kimyasal hal bilgisinin analizi için kullanılır. Yüzeyden element ve kimyasal hal analizi yapılan cihazda incelenen numune kimyasal bağlara katılmış iyonları da tespit edilmektedir. Bu analizin sonuçları Şekil 4.12’de ve Çizelge 4.2’de verilen sonuçlar ile yorumlanmıştır. Şekil 4.11’de elde edilen Cd, S, O, C ve P elementlerine bağ yaptığı orbital, pik şiddetini ve yapıdaki elementlerin atomik yüzdesi verilmiştir. Yüzey kirliliğinin boyutunu incelemek için, CdS nanopartiküllerin XPS ile analiz edildi.

Spektrumdan Cd, S, O, C ve P da dahil olmak üzere beş çeşit element, yüzeyde gözlemlenmektedir. Göreceli olarak yüksek yoğunluklu O-ilişkili XPS (O1s) özelliği ile belirtildiği gibi, sentezlenen nanopartikülün yüzeyi önemli derecede oksitlenmiştir. Burada asıl gözlemlenmek istenen Cd ve S elementleridir. Ayrıca nanopartiküllerin kimyasal durumları da XPS ile incelenmiştir.



Şekil 4.11. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin XPS genel spektroskopisi ve Cd ve S spektroskopisi

Çizelge 4.2. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartiküllerin XPS veri dökümü

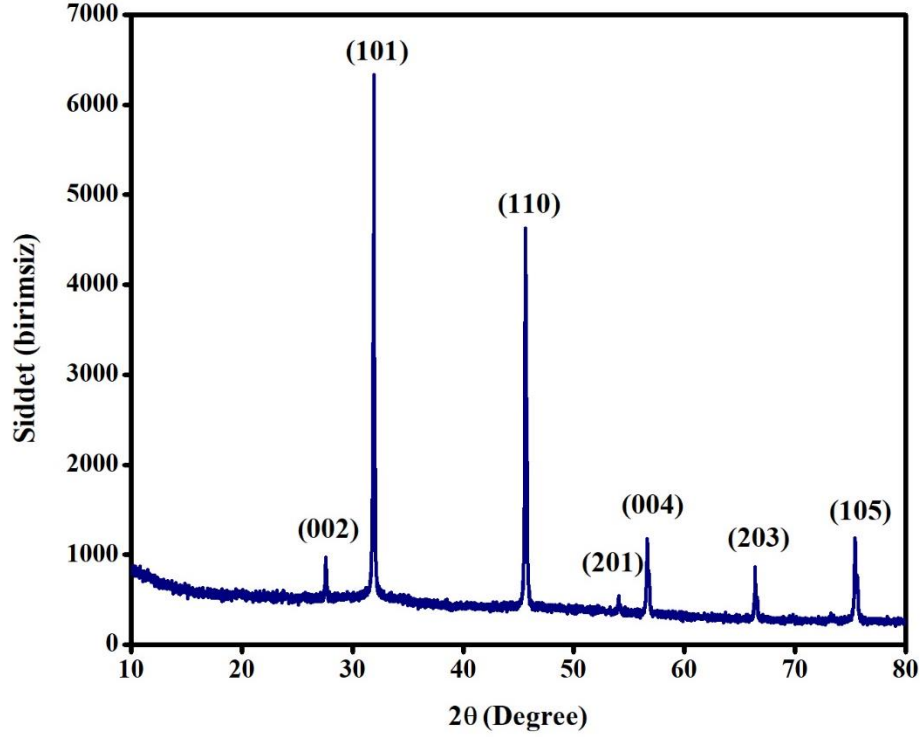
Name	Start BE	Peak BE	End BE	Height CPS	FWHM eV	Area (P) CPS.eV	Area (N) TPP-2M	Atomic %	SF L THERMO1	PP Hgt PP Height CPS	PP At. (N)	PP At. %
Cd3d	418.08	406.75	399.08	185579.47	3.52	1186099.09	622.51	8.33	29	201319.89	10.57	6.37
O1s	539.08	532.47	523.58	120309.16	3.75	490130.45	2844.64	38.07	2.881	125525.83	72.85	43.93
C1s	294.08	287.14	278.58	47092.93	4.88	242445.89	3404.77	45.57	1	49873.76	70.04	42.23
P2p	142.08	134.75	122.58	12377.88	4.06	61091.65	578.15	7.74	1.353	11985.98	11.34	6.84
S2p	170	165.07	159	615.02	3.78	3210.82	22.24	0.3	1.881	1503.19	1.04	0.63

4.3.9. Kristal yapının belirlenmesi (XRD)

X-ışını kırınımı, katı ve toz örneklerin yapılarındaki çeşitli kristal formlar veya fazlar hakkında bilgi veren analitik bir tekniktir. Biyosentez yöntemiyle elde edilen nanopartiküllerin bu teknik ile karakterizasyonunda, $\lambda=1.5405 \text{ \AA}$ dalgaboyuna sahip $\text{Cu-K}\alpha$ kaynaklı Panalytical Difraktometre XRD cihazı kullanılmıştır. Şekil 4.12’de, CdS nanopartiküllerin X-ışını kırınım deseni gösterilmektedir.

Bu kırınım deseni üzerinde, şiddetleri ve genişlikleri birbirinden farklı olan pikler gözlenmektedir. Gözlenen piklerin hegzagonal CdS yapısına ait olduğu ve bu piklerin (002), (101), (110), (201), (004), (203) ve (105) yansıma düzlemlerine karşılık geldiği belirlenmiştir. Burada, $2\theta=31.9^\circ$ ’deki pik, diğer piklere göre daha şiddetlidir.

Biyosentez yöntemi ile elde edilen CdS nanopartikül kristalografik özellikleri XRD (Xışınları kırınımı) tekniği ile belirlendi, yedi belirgin piki olup en şiddetli pik (101) yöneliminde görülmüştür. XRD desenleri, $2\theta = 27.6^\circ, 31.9^\circ, 45.6^\circ, 54.1^\circ, 56.6^\circ, 66.4^\circ$ ve 75.4° değerlerinde göstermiştir (SCPDS Card No: 41-1049).



Şekil 4.12. Biyosentez ile elde edilen CdS nanopartikülerin XRD kırınım deseni

4.4. Optimizasyon Çalışmaları

İlk yaptığımız 24 saatlik uygulamada kullanılabilir partiküller elde ettiğimiz için, optimizasyon denemelerine ihtiyaç duyulmamıştır.

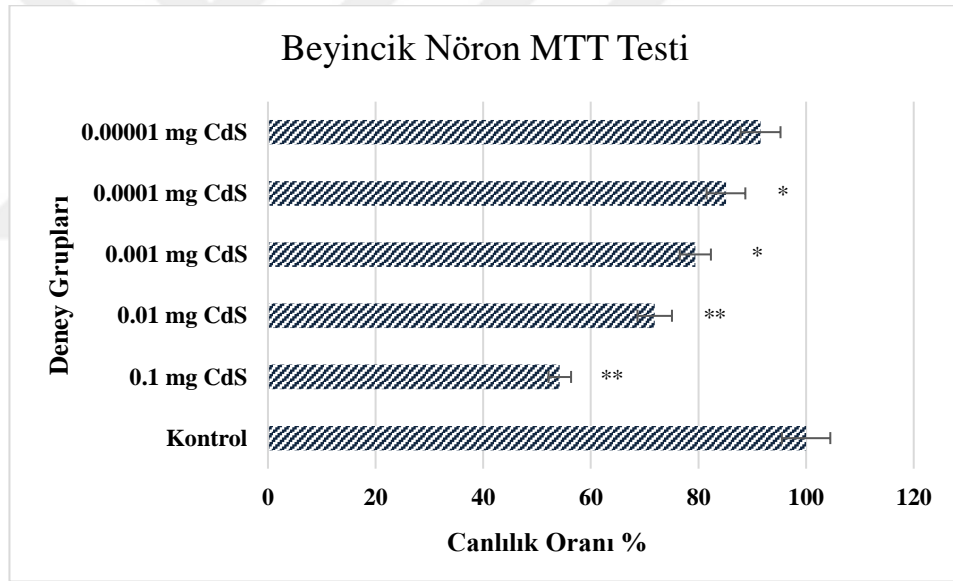
4.5. Toksikolojik Sonuçlar

Çalışmamızda üretilen CdS NPs canlı sistemlerdeki toksik etkisinin araştırılması için rat yavru beyin kültürü oluşturularak MTT testine tabii tutuldu. Bu amaçla elde edilen ayrı ayrı kültürlerde CdS NPs leri 24 saat boyunca hücrelerle etkileşime bırakıldıktan sonra sitotoksisite testi uygulandı. Beyincik, korteks ve olfaktori kültürleri rat yavrularından elde edilmiştir. Ayrılan hücreler 10 gün boyunca büyümeye bırakıldıktan sonra CdS NPs leri ilave edilmiş ve toksisite durumunu araştırmak için MTT, TAK ve TOS analizleri uygulanmıştır (Taghizadehghalehjoughi 2016).

4.5.1. Beyincik Nöron sonuçları

4.5.1.a. Beyincik Nöron MTT analizi

MTT analiz sonuçlarına göre canlılık oranı kontrol grubunda yüze eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Şekil 4.13’de görüldü üzere CdS 0.1 mg dozunda canlılık oranı % 54.2 iken 0.00001 mg yada 10 ng dozunda en yüksek canlılık oranı %91.5 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla $p < 0.001$ anlamlılık gösterirken 0.001 ve 0.0001 mg dozları kontrol grubuna kıyasla $p < 0.05$ oranında anlamlılık göstermektedirler.



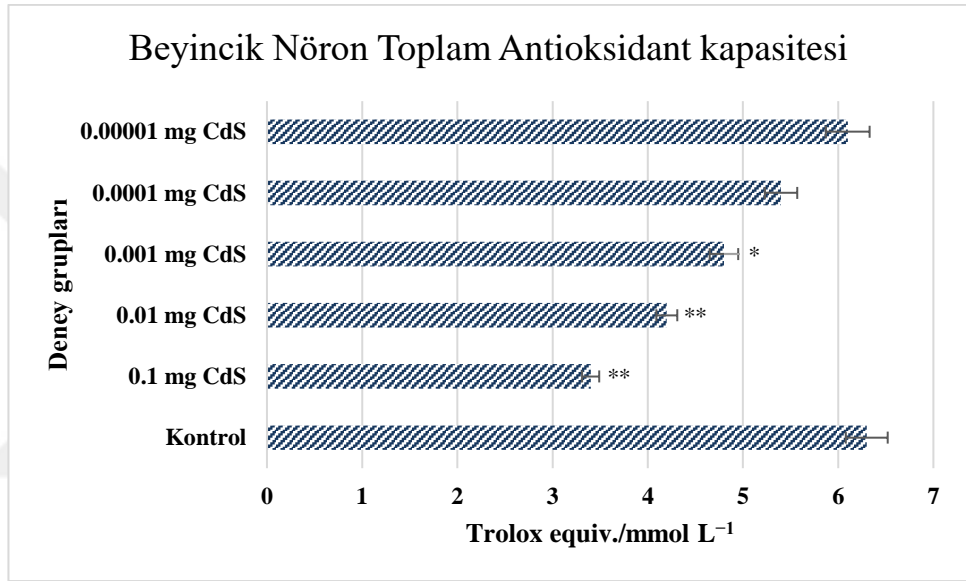
Şekil 4.13. Beyincik nöron hücrelerin CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.001$

4.5.1.b. Beyincik Nöron Antioksidan Kapasitesi

Toplam antioksidan kapasitesi kontrol maddesi olarak trolox kullanılmış ve uygulama dozları kontrole bağlı eşdeğer oran olarak belirlenmiş bu oran uygulanan madde dozuna bağımlı olarak düşüş göstermiştir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda

antioksidan kapasitesini 3.4 ve 4.2 Equiv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek antioksidan kapasitesi 6.1 ve 5.4 eşdeğer/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 0.00001 ve 0.0001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda önemli farklılık göstermemiştir (Şekil 4.14). Alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.

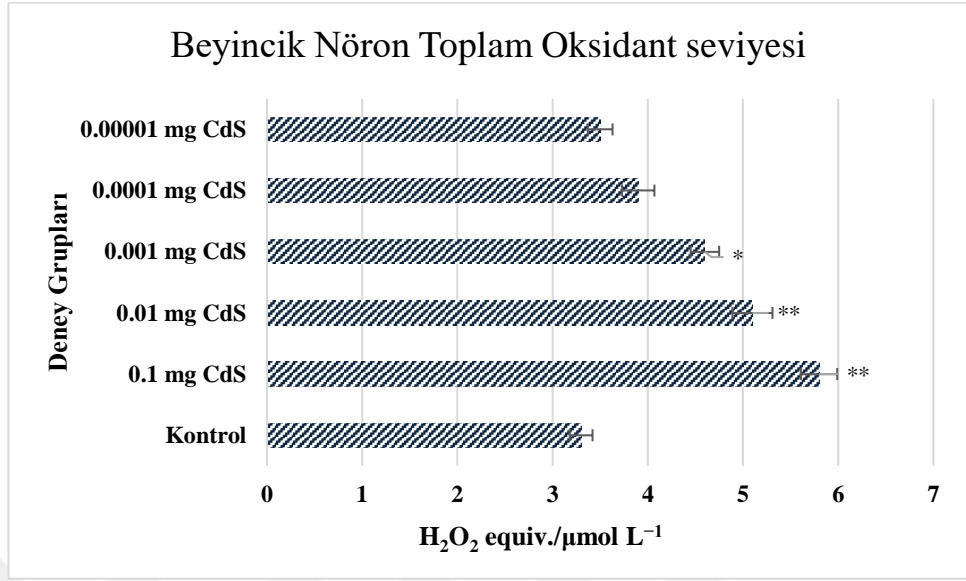


Şekil 4.14. Beyincik nöron hücrelerin CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet antioksidan kapasitesi oranları gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.1.c. Beyincik Nöron Oksidan Seviyesi

Yapılan testler sonucunda toplam oksidan seviyeleri kontrol grubunda H₂O₂ eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 mg dozunda canlılık oranı 5.8 Eqv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek oksidan kapasitesi 3.5 ve 3.9 Equiv/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 0.0001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda anlamlı farklılık göstermemiştir (Şekil 4.15). Alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.



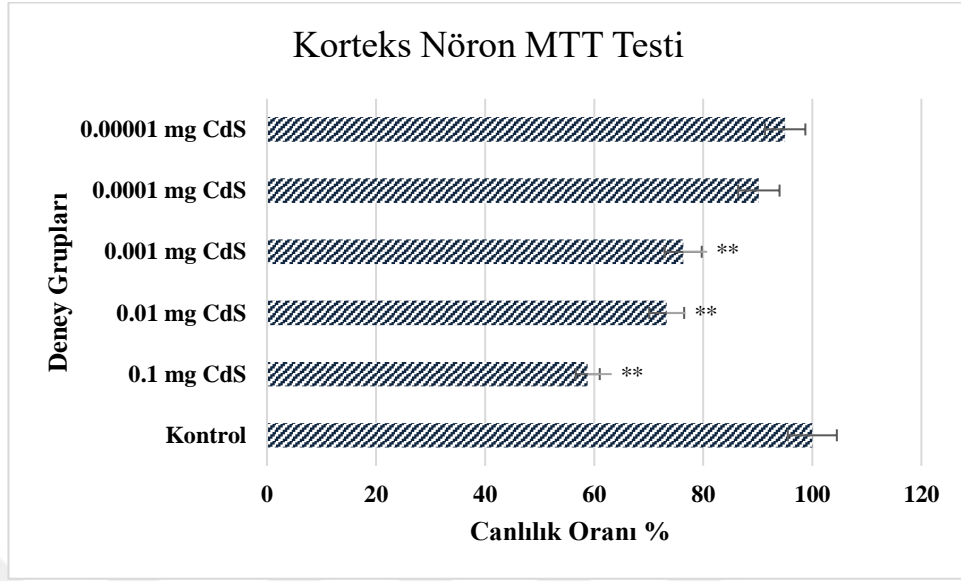
Şekil 4.15. Beyincik hücrelerin CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası toplam oksidan seviyeleri gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.2. Korteks Nöron Sonuçları

4.5.2.a. Korteks Nöron MTT analizi

MTT analiz sonuçlarına göre canlılık oranı kontrol grubunda yüzde eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1, 0.01 ve 0.001 mg dozunda canlılık oranı %58.8, 73.3 ve 76.3 belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda sırasıyla en yüksek canlılık oranı %95 ve 90.1 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.16). Alınan verilerde 0.1, 0.01 ve 0.001 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık göstermektedir.

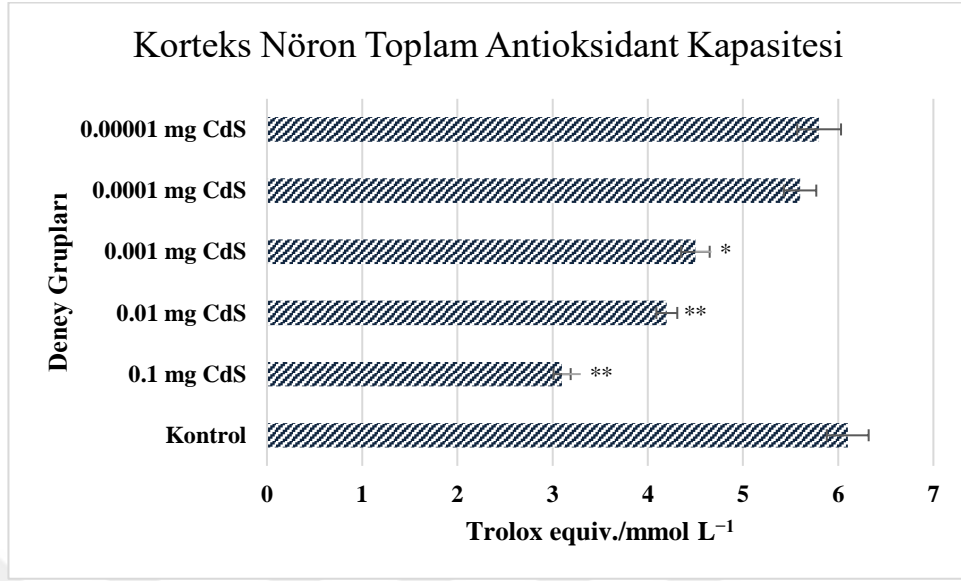


Şekil 4.16. Korteks Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.2.b. Korteks Nöron Antioksidan Kapasitesi

Toplam antioksidan kapasitesi kontrol maddesi olarak trolox kullanılmış ve uygulama dozları buna bağı eşdeğer oran olarak belirlenmiş bu oran uygulanan madde dozuna bağımlı olarak düşüş göstermiştir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda antioksidan kapasitesini 3.1 ve 4.2 Equiv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek antioksidan kapasitesi 5.8 ve 5.6 Trolox Equiv/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 0.00001 ve 0.0001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda anlamlı farklılık göstermemiştir (Şekil 4.17). Alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.

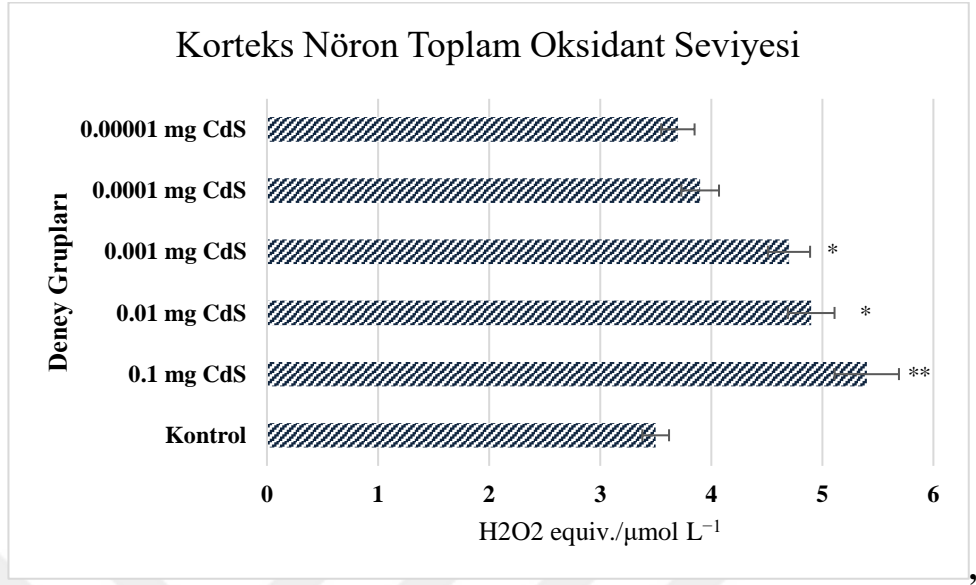


Şekil 4.17. Korteks Nöron CdS nanopartiküllerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Antioksidan Kapasitesi gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.2.c. Korteks Nöron Oksidan Seviyesi

Toplam oksidan seviyeleri kontrol grubunda H₂O₂ eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda canlılık oranı 5.4 ve 4.9 Equiv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek oksidan kapasitesi 3.7 ve 3.9 Equiv/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.18) Ayrıca 0.0001 ve 0.00001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda anlamlı farklılık göstermemiştir. Alınan verilerde 0.1 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.01 ve 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.



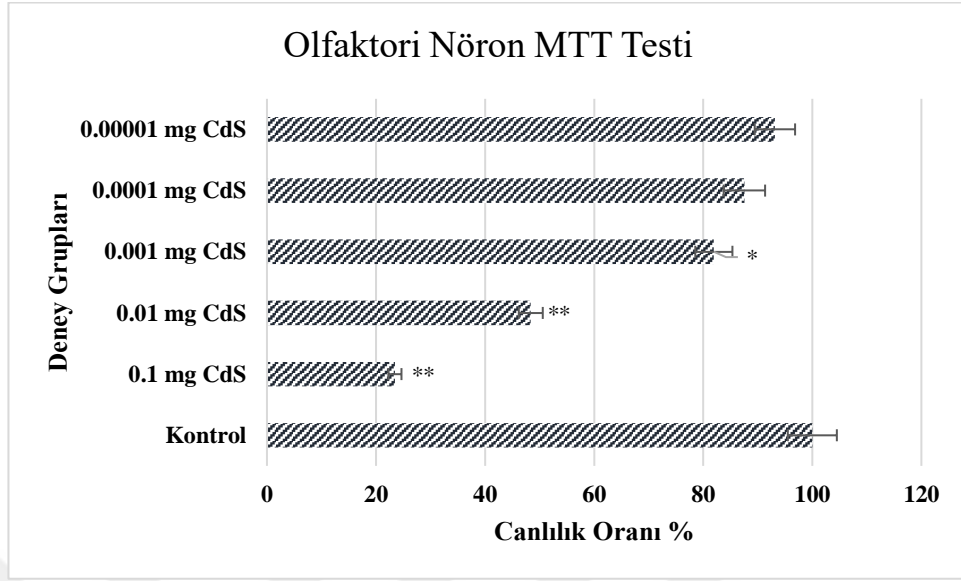
Şekil 4.18. Korteks Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Oksidan Seviyesi gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

3.6.3. Olfaktori Nöron Sonuçları

4.5.3.a. Olfaktori Nöron MTT analizi

MTT analiz sonuçlarında canlılık oranı kontrol grubunda yüze eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda canlılık oranı %23.4 ve 48.3 belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek canlılık oranı %93.1 ve 87.5 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.19). Ayrıca alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.

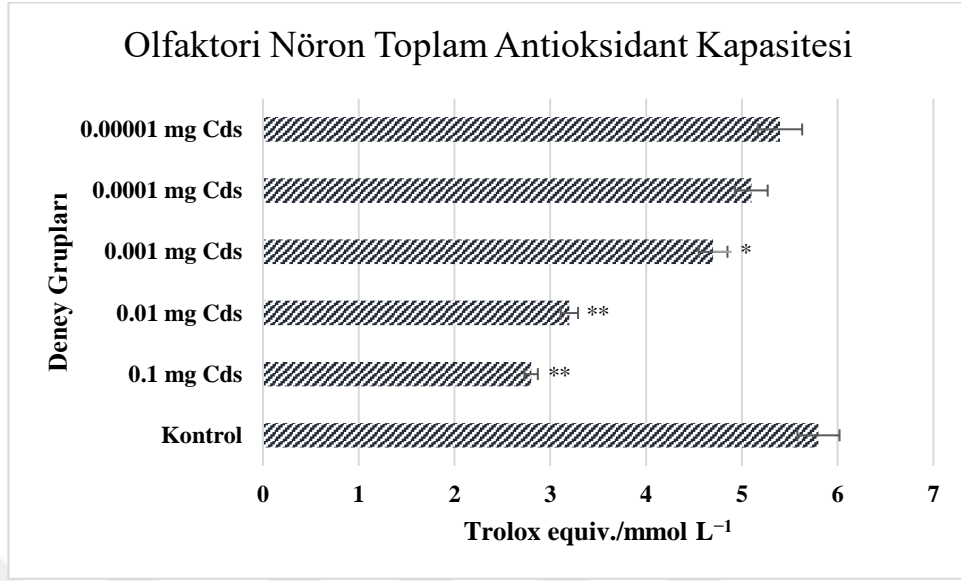


Şekil 4.19. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası canlılık oranları gösterilmektedir.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.001$

4.5.3.b. Olfaktori Nöron Antioksidan Kapasitesi

Toplam antioksidan kapasitesi tayin için kontrol maddesi olarak trolox kullanılmış ve uygulama dozları buna bağlı eşdeğer oran olarak belirlenmiştir. Bu oran uygulanan madde dozuna bağımlı olarak düşüş göstermiştir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda antioksidan kapasitesini 2.8 ve 3.2 Equiv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek antioksidan kapasitesi 5.4 ve 5.1 Trolox Equiv/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Ayrıca 0.00001 ve 0.0001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda anlamlı farklılık göstermemiştir. Alınan verilerde 0.1 ve 0.01 mg dozları kontrol grubuyla $p < 0.001$ anlamlılık gösterirken 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta $p < 0.05$ oranında anlamlılık göstermektedirler.

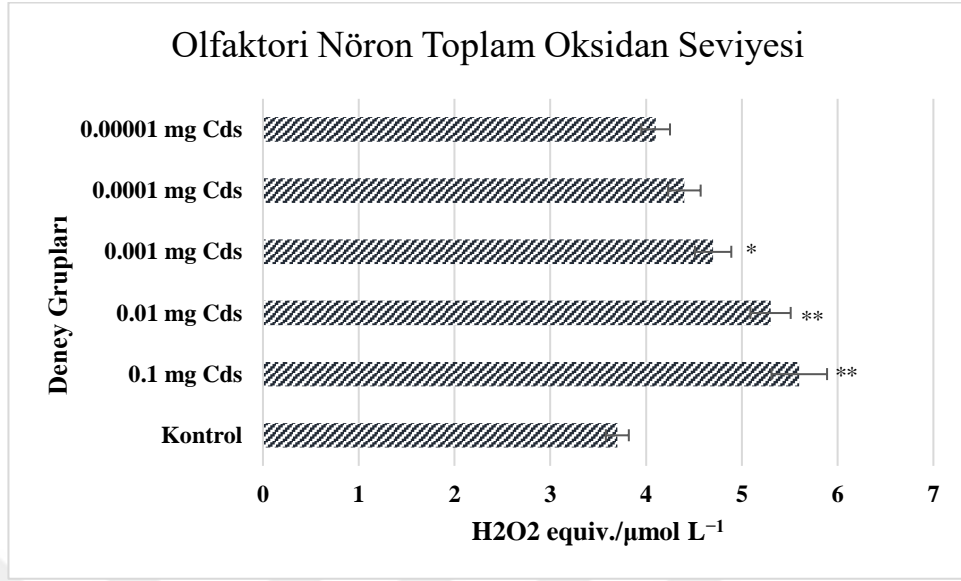


Şekil 4.20. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Antioksidan Kapasitesi gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.3.c. Olfaktori Nöron Oksidan Seviyesi

Toplam oksidan seviyeleri kontrol grubunda H₂O₂ eşdeğerken bu oran doza bağımlı olarak düşüş göstermektedir. Alınan sonuçlara göre CdS 0.1 ve 0.01 mg dozunda canlılık oranı 5.6 ve 5.3 Equiv/mmol L⁻¹ belirlenirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozunda en yüksek oksidan kapasitesi 4.1 ve 4.4 Equiv/mmol L⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.21). Ayrıca 0.0001 ve 0.00001 mg da kontrol ile kıyasladığımızda anlamlı farklılık göstermemiştir. Alınan verilerde 0.1 mg dozları kontrol grubuyla p<0.001 anlamlılık gösterirken 0.01 ve 0.001 mg dozları kontrol grubuna kıyasta p<0.05 oranında anlamlılık göstermektedirler.



Şekil 4.21. Olfaktori Nöron CdS nanopartikülerinin 24 saat maruziyet sonrası Toplam Oksidan Seviyesi gösterilmektedir.

* p<0.05 ** p<0.001

4.5.4. Histopatolojik Bulgular

Beyin ve beyincik dokusundaki değişimin tespit edilmesi açısından beyin ve beyincik dokuları alınarak histopatolojik inceleme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.22 ve Şekil 4.23 'de gösterilmiştir. Alınan sonuçlarda doz artışıyla birlikte atrofi ve hiperemi bulguları gösterilmektedir.

Bu sonuçlar doğrultusunda;

1- Kontrol: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde normal histolojik yapıda olduğu belirlenmektedir (Şekil 4.22 ve 4.23, A)

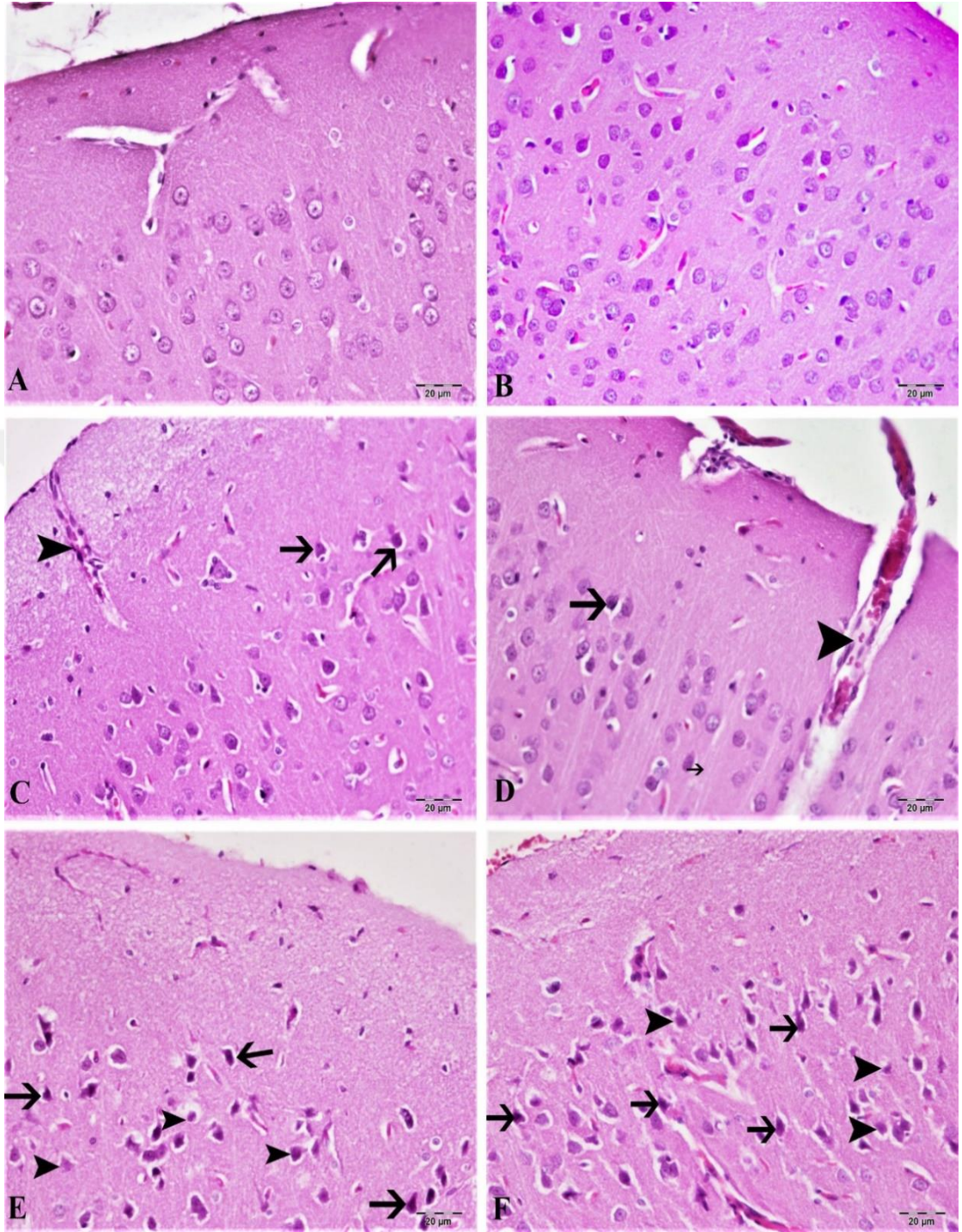
2- CdS NP 0.1 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde hafif düzeyde hiperemi görülmüştür (Şekil 4.22, B). Beyincikte damarlarda hiperemi belirlenmiştir (Şekil 4.23, B).

3- CdS NP 1 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda atrofi ve hafif düzeyde dejenerasyon görülmüştür (Şekil 4.22, C). Beyincikte purkinje hücrelerinde atrofi ve hafif düzeyde dejenerasyon tespit edilmiştir (Şekil 4.23, C).

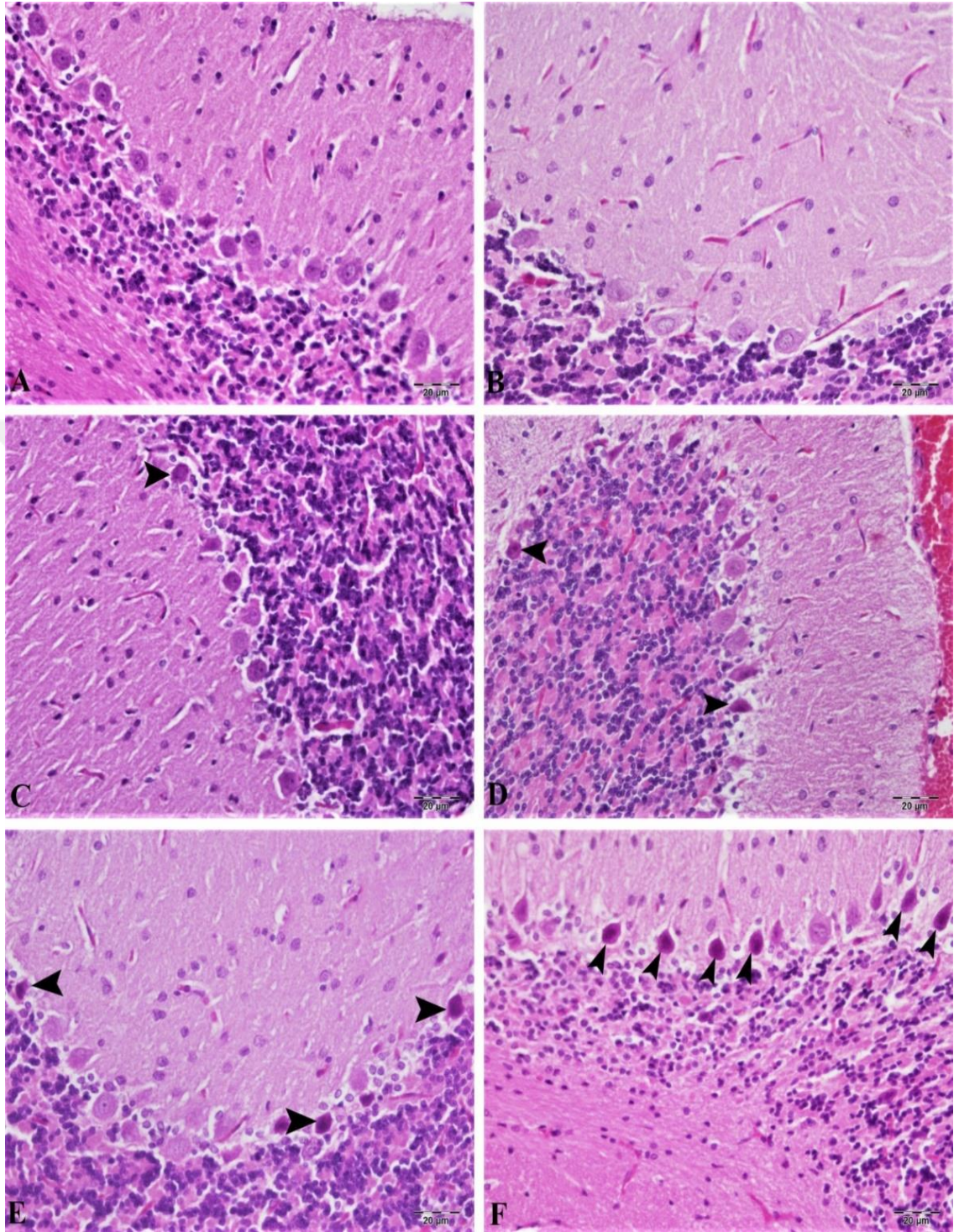
4- CdS NP 5 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda atrofi, dejenerasyon ve damarlarda hiperemi görülmüştür (Şekil 4.22, D). Beyincikte purkinje hücrelerinde hafif düzeyde atrofi ve dejenerasyon, damarlarda şiddetli hiperemi belirlenmiştir (Şekil 4.23, D).

5- CdS NP 15 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda atrofi orta düzeyde dejenerasyon, nekroz ve damarlarda hiperemi belirlenmiştir (Şekil 4.22, E). Beyincikte purkinje hücrelerinde orta düzeyde atrofi ve dejenrasyon ve likefaksiyon nekrozu görülmüştür (Şekil 4.23, E).

6- CdS NP 25 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda atrofi şiddetli düzeyde dejenerasyon, nekroz ve damarlarda hiperemi, (Şekil 4.22, F). Beyincikte purkinje hücrelerinde atrofi şiddetli düzeyde dejenrasyon ve likefaksiyon nekrozu belirlenmiştir. İmmunohistokimyasal bulgular Çizelge 4.3 de özetlenmiştir.



Şekil 4.22. Beyin dokusu, (A) **kontrol grup:** normal histolojik görüntüsü, (B) **0.1 grup:** damarlarda hafif hiperemi, (C) **1 grup:** damarlarda hiperemi (arrowhead), çok az sayıda nöronda atrofi (arrow), (D) **5 grup:** damarlarda şiddetli hiperemi (arrowhead), nöronda hafif düzeyde atrofi (arrow), (E) **15 grup:** nöronlarda orta şiddette atrofi (arrow), dejenerasyon ve nekroz (arrowhead), damarlarda hiperemi, (F) **25 grup:** Damarlarda şiddetli hiperemi, nöronlarda şiddetli atrofi (arrow), dejenerasyon ve nekroz (arrowhead), H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.23. Beyincik dokusu, (A) **kontrol grup:** normal histolojik görüntüsü, (B) **0,1 grup:** damarlarda hafif hiperemi, (C) **1 grup:** çok az sayıda purkinje hücrelerinde atrofi (arrow), damarlarda hiperemi, (D) **5 grup:** nöronlarda hafif düzeyde atrofi (arrow), damarlarda şiddetli hiperemi, (E) **15 grup:** nöronlarda orta şiddette atrofi (arrow), dejenerasyon ve nekroz (arrowhead), damarlarda hiperemi, (F) **25 grup:** Damarlarda şiddetli hiperemi, nöronlarda şiddetli atrofi (arrow), dejenerasyon ve nekroz (arrowhead), H&E, Bar: 20µm.

4.5.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

Dokuların iltihabi ve genetik hasar oranını belirlemek için beyin ve beyincik dokularında GFAP ve 8 OHdG boyaları uygulanarak immunohistopatolojik inceleme yapılmıştır. Her iki dokuda elde edilen sonuçlar Şekil 4.24, 4.25 ve 4.26'da sunulmuştur.

Bu sonuçlara göre;

1- Kontrol: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, 8 OHdG ve Glial fibrillary acidic protein (GFAP) ekspresyonu görülmüştür.

2- CdS NP 0.1 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda ve purkinje hücrelerinde bir iki hücrede intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlenmiştir. Beyinde astrositlerde çok az ve hafif GFAP ekspresyonu izlendi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı fark ($p<0.05$) görülmüştür.

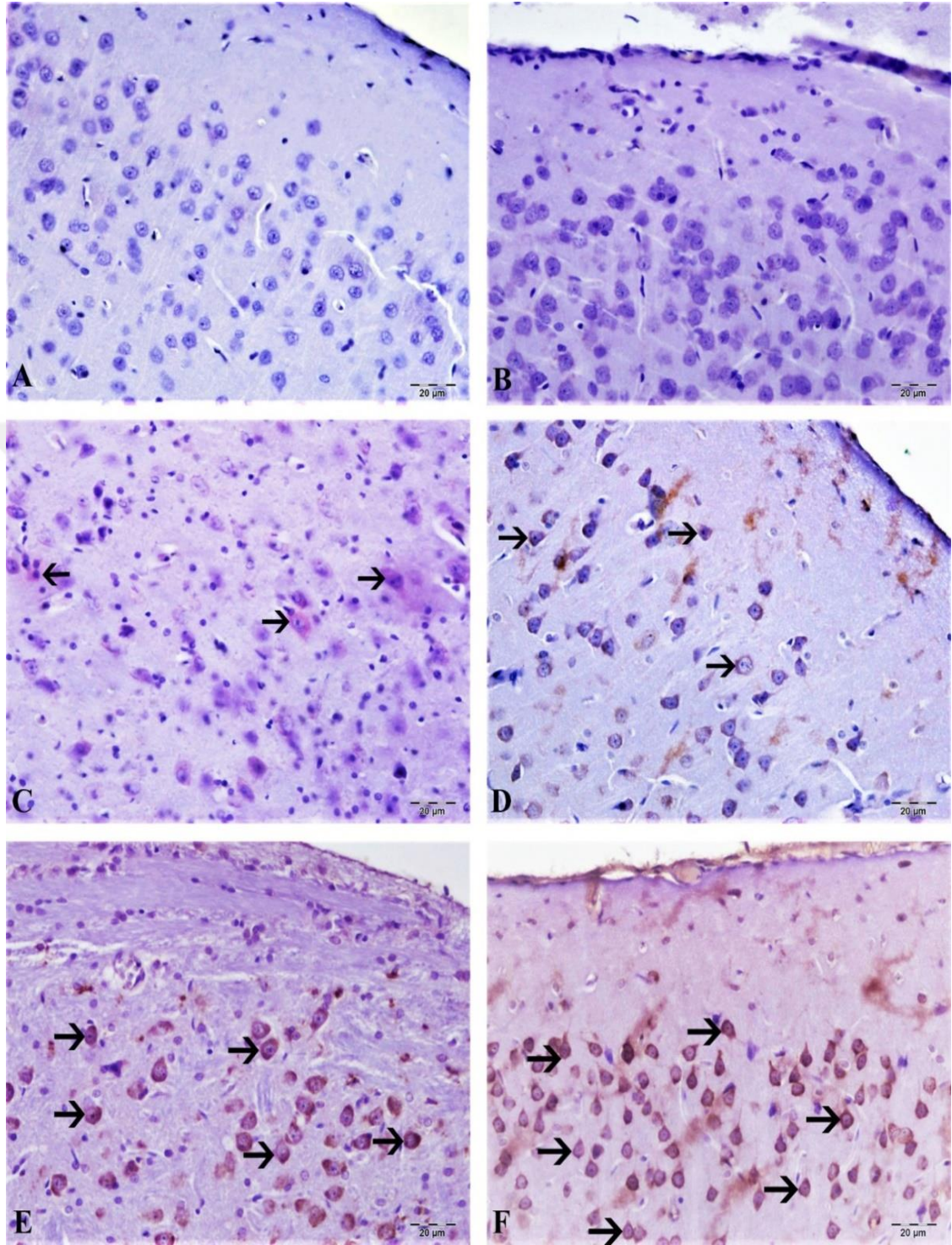
3- CdS NP 1 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda ve purkinje hücrelerinde çok az sayıda hücrede intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlendi. Beyinde astrositlerde hafif GFAP ekspresyonu görüldü. Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı fark ($p<0.05$) görülmüştür.

4- CdS NP 5 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda ve purkinje hücrelerinde hafif düzeyde sayıda hücrede intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlendi. Beyinde astrositlerde orta düzeyde GFAP ekspresyonu görüldü. Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı fark ($p<0.05$) görüldü.

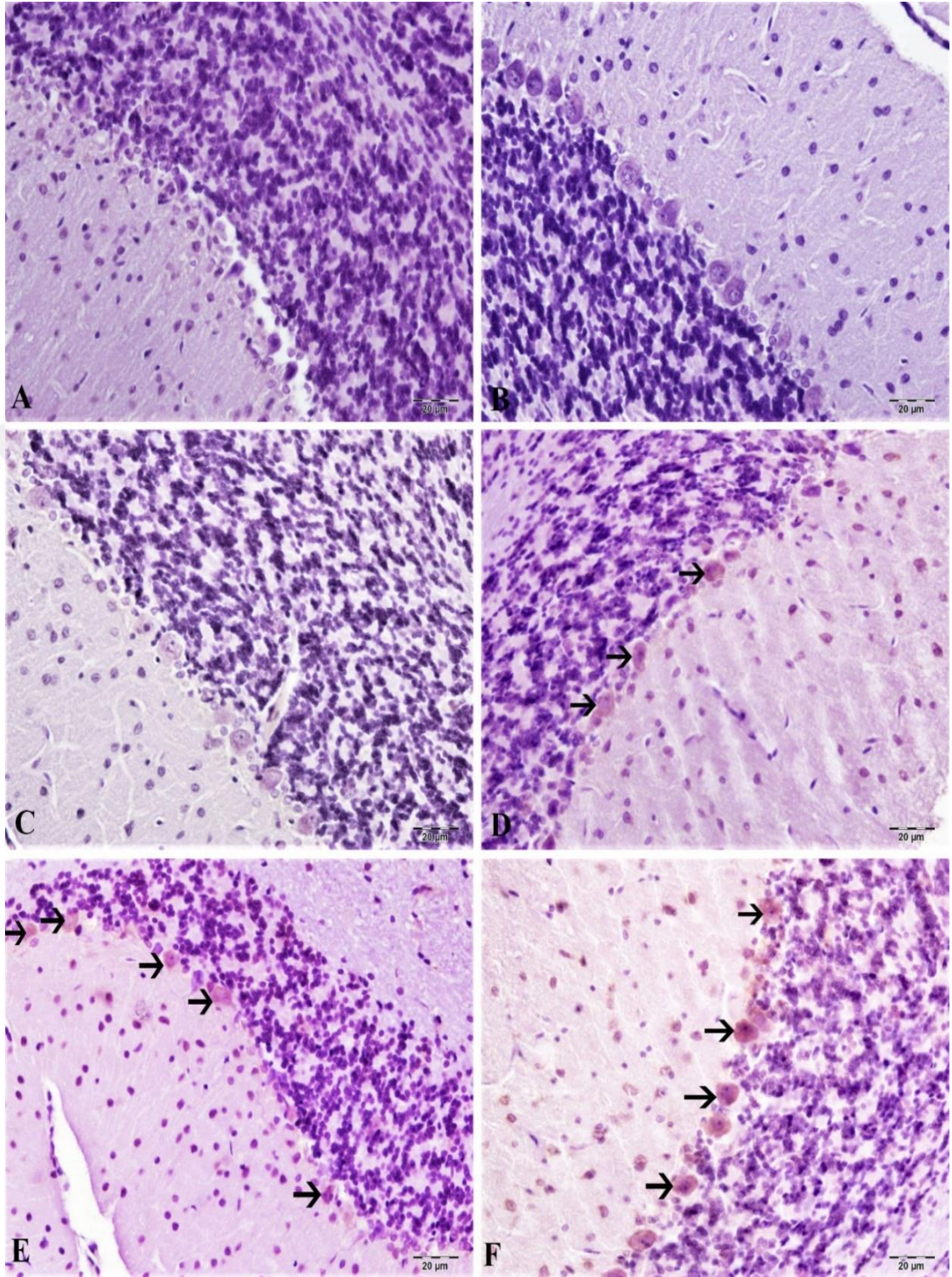
5- CdS NP 15 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda ve purkinje hücrelerinde orta düzeyde sayıda hücrede intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlendi. Beyinde astrositlerde orta/şiddetli düzeyde GFAP ekspresyonu görüldü. Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı fark ($p<0.05$) görülmüştür.

6- CdS NP 25 mg: Beyin ve beyincik dokuları incelendiğinde, beyinde nöronlarda ve purkinje hücrelerinde şiddetli düzeyde sayıda hücrede intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlenmiştir. Beyinde astrositlerde çok şiddetli düzeyde GFAP ekspresyonu görülmüştür. Diğer gruplarla kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ($p<0.05$) fark görülmüştür. İmmunohistokimyasal bulgular Çizelge 4.3’de özetlenmiştir.

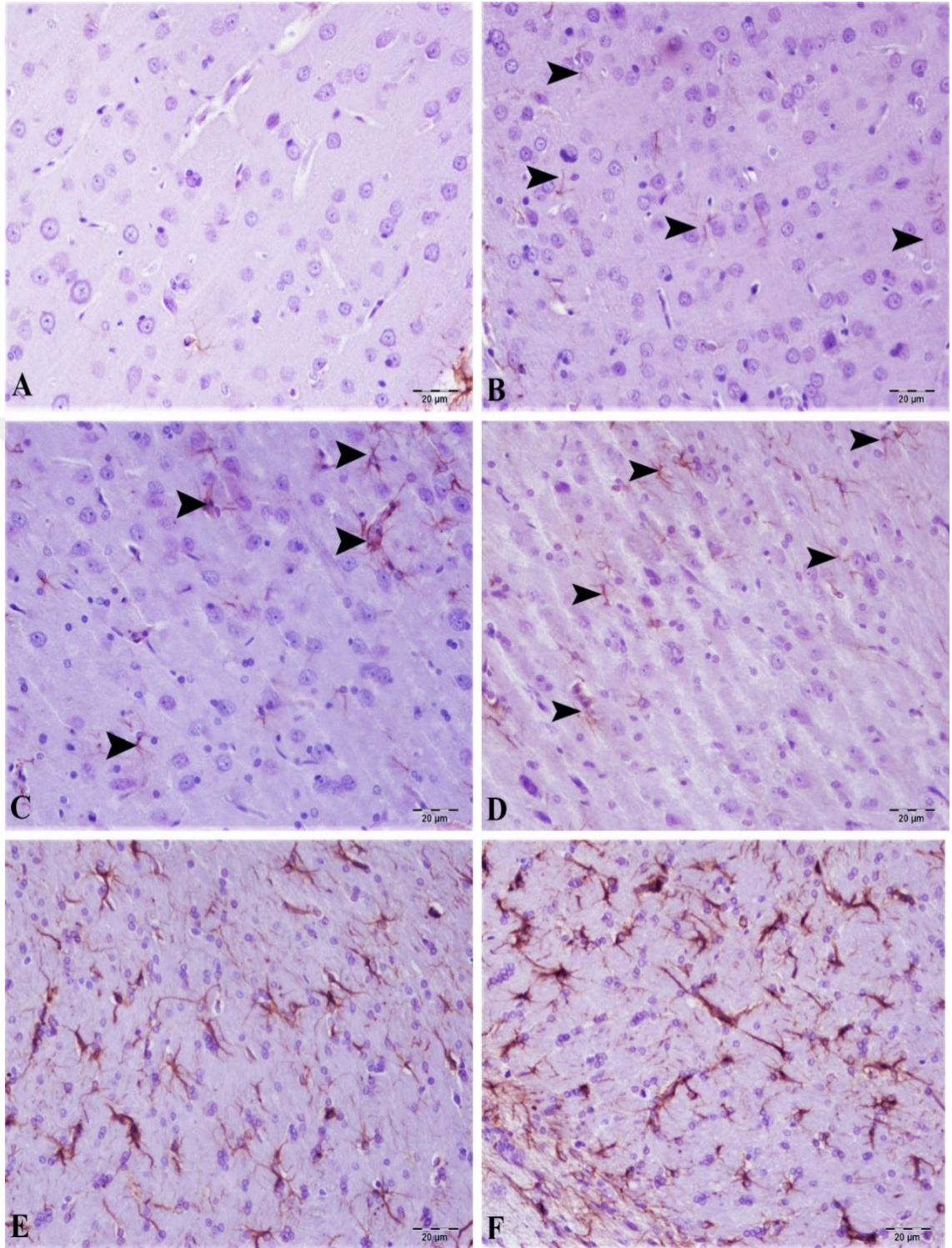




Şekil 4.24. Beyin dokusu, (A) **kontrol grup**, 8 OHdG ekspresyonu negatif, (B) **0.1 grup**, 8 OHdG ekspresyonu negatif, (C) **1 grup**, çok hafif düzeyde nöronlarda intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), (D) **5 grup**, hafif düzeyde nöronlarda intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), (E) **15 grup**, nöronlarda orta şiddette intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), (F) **25 grup**, nöronlarda şiddetli intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.25. Beyincik dokusu, (A) **kontrol grup:** 8 OHdG ekspresyonu negatif, (B) **0.1 grup:** 8 OHdG ekspresyonu negatif, (C) **1 grup:** 8 OHdG ekspresyonu negatif, (D) **5 grup:** hafif düzeyde purkinje hücrelerinde intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), (E) **15 grup:** purkinje hücrelerinde orta şiddette intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), (F) **25 grup:** purkinje hücrelerinde şiddetli intrastoplazmik 8 OHdG ekspresyonu (arrow), H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.26. Beyin dokusu, (A) **kontrol grup**, GFAP ekspresyonu çok hafif düzeyde, (B) **0.1 grup**, GFAP ekspresyonu çok hafif düzeyde, (C) **1 grup**, GFAP ekspresyonu hafif düzeyde (arrow), (D) **5 grup**, GFAP ekspresyonu orta düzeyde, (E) **15 grup**, orta/şiddetli düzeyde GFAP ekspresyonu (arrow), (F) **25 grup**, şiddetli düzeyde GFAP ekspresyonu (arrow), H&E, Bar: 20µm.

Çizelge 4.3. Beyin ve beyincik dokularının histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmesi.

	Kontrol	CdS NP 0.1 mg	CdS NP 1 mg	CdS NP 5 mg	CdS NP 15 mg	CdS NP 25 mg
Nöronlarda atrofi	-	+	++	++	+++	++++
Dejenerasyon	-	-	-	+	++	+++
Nekroz	-	-	-	-	++	+++
Damarlarda hiperemi	-	+	+	++	++	+++
8 OhdG	-	-/+	+	+	++	+++
GFAP	-/+	-/+	+	+	++	+++

4.6. Nanopartiküllerin Kararlılığının Saptanması

Çalışmada ilk sentezinin yapıldığı günden (Şubat 2017) tezin yazıldığı zamana (Nisan 2018) kadar geçen süreç içerisinde kararlılık için muhafaza edilen örneklerin floresans mikroskop görüntüsü verdiği belirlenmiş ve kararlılığını kaybetmediği görülmüştür. 3. ay, 6. ay ve 12. ay sonunda kararlılığını korumaktadır. Ancak bu analiz için daha uzun süre muhafazaya ve denemeye devam edilmelidir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile kuantum nanokristaller olarak bilinen ve birçok alanda uygulama imkanı bulunan CdS tabanlı nanokristaller biyolojik yolla sentezlenmiştir. CdS kuantum nokta nanopartikülünün sentezlenmesi için çeşitli fiziksel veya kimyasal yöntemler bulunmaktadır. Ancak sentez yöntemleri hem sentezlenen madde için hem de doğa ve canlı için önem arz etmektedir. Biyolojik yolla sentez dışındaki yöntemlerin ağır kimyasalların kullanımından dolayı toksik maddelerin emilimine neden olabildiği ve pahalı olduğu bilinmektedir. Doğaya ve canlıya zararlı olmasından dolayı yeni yöntemler araştırılmakta ve son yıllarda biyosentez önem kazanan kazanmaktadır. Çevreye ve doğaya uyumlu bir yöntem olan biyosentez ile düşük toksisite ve yüksek biyoyumluluk ile CdS sentezlenmesinin avantajları sağladığı konusunda literatür bilgileri mevcuttur (Hulkoti and Taranath 2014).

Diğer nanopartiküllerin sentez yöntemlerinde olduğu gibi CdS tabanlı kuantum nokta sentezinde litratörde çoğunlukla kimyasal yöntemler kullanılmıştır. Bunlardan bazıları sol-jel metodu, çökeltme, hidrotermal, ters mikroemülsiyon ve katı hal reaksiyonlarıdır. Ters mikro emülsiyon ve hidrotermal gibi metotlarla zayıf bir şekilde çöktürülmüş kadmiyum tabanlı nanomalzeme elde edilmiştir. Çökeltme işlemi ise basit, düşük maliyetli ve endüstriyel üretim için uygundur fakat elde edilen nanomalzeme düşük kalitede büyük partiküllerin ve topaklanmaların oluşmasına neden olmaktadır (Cengiz *et al.* 2008). Biyosentez ile biyoyumlu malzemelerin üretilmesi ve kimyasal yöntemler için kullanılan materyallerin toksik ve işlem basamaklarının maliyetinin yüksek olması nedeniyle, biyosentez metodu son yıllarda daha fazla dikkat çekmektedir (Asmathunisha and Kathiresan 2013; Hulkoti and Taranath 2014).

Sentezlenen nanopartiküllerin özellikleri çok yönlü ve dikkatle araştırıldığında büyük kullanım alanları, önemli teknolojik ve medikal faydaları olduğu kadar göz ardı edilemeyecek zararlarının olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle nanopartiküllerde aranan en önemli özellikler arasında, toksisitesinin olmaması veya az olması, biyobozunurluk ve biyoyumluluk değerli parametreler olarak sıralanabilir. Bu özelliklerin CdS tabanlı

kuantum noktalarda bulunması bu partiküllerin kıymetini arttırmaktadır (Cengiz *et al.* 2008; Liu *et al.* 2013; Lin *et al.* 2014).

Birçok nanopartikül (özellikle metalik nanopartiküller) toksik materyaller içerdiği düşünüldüğünde, kontrol edilmesi gereken parametreler oldukça önemlidir. Özellikle kimyasal sentezler ile üretilen değerli nanopartiküller, toksik nitelikleri nedeniyle kullanım alanları bulamamakta veya sınırlı kullanım alanı bulmaktadır. Örneğin; kadmiyum, önemli endüstriyel kirleticilerden biridir. Toksik konsantrasyonu kadmiyum iyonlarına sahip bir çevreye maruz kaldıklarında birçok canlının öldüğü ancak bazı bakterilerin hayatta kalmasını sağlamak için çeşitli olası mekanizmalara sahip olduğu belirlenmiştir (Silver 1992). Bu sentez toksik nitelikleri azaltılmış malzeme sentezine yeni bir uygulama alanı açmıştır.

Biyolojik sentez mikroorganizmalar tarafından, yüksek foto kararlılığa sahip, suda çözülebilir CdS kuantum nokta nanopartikülleri sentezlemek için kolay hazırlanabilir reaktiflerin ve basit malzemelerin kullanıldığı yeni bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. SEM ve TEM görüntüleri ile bu partiküllerin oldukça küçük boyutlarda (4-18 nm) olduğu açıkça görülmüştür. Bu da, kuantum nokta nanopartiküllere vücudun birçok bölgesine erişebilme potansiyelinin yüksek olmasından dolayı tanı ve tedavide araştırmacılar yeni imkanlar verebilmektedir. Ayrıca CdS kuantum noktaların biyosentez ile modifikasyonları mümkündür. Bu sayede biyoyumlu ve daha az toksik CdS kuantum nokta hazırlanabilir. CdS kuantum nokta ilaç taşınmasında gelecek vaad etmektedir ancak daha çok sayıda ve detaylı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında biyolojik sentez için doğrudan canlı kullanılması, toksik niteliği yüksek materyaller dikkate alınarak seçilmiştir. Elde edilecek materyalin toksik niteliği daha sentez aşamasından itibaren kontrol edilebilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin optik özellikleri için UV-VIS-NIR spektrofotometresi ve spektrofluorometrik analizi, yapısal analiz için X ışınları difraksiyonu (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), enerji dispersif X-ışınları (EDS) ve DLS-zetasizer ölçüm teknikleri; morfolojik

özellikleri için taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ölçüm teknikleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada daha önceki çalışmalardan elde edilmiş ve tanılanmış Gram pozitif bir *V. arenosi* K64 (GenBank Kabul No: KR873397) Atatürk Üniversitesi DAYTAM kültür koleksiyonunda ki stok kültürlerden kullanılmıştır. Bu bakterinin seçilmesinde temel neden özel tampon çözelti içerisinde yapılan denemelerde yüksek dozlarda dahi canlılığını 3 güne kadar sürdürebilmesidir. Stok kültürlerden alınan çok sayıda izolat ile yapılan ön denemelerde biyosentez işlemleri için canlılığın önemi düşünülerek yapılan denemeler sonucunda aktif izolat ile çalışmalar devam edilmiştir. Çalışmanın başlangıcında çoğunluğu *Bacillus* cinsine ait 12 izolat ile denemeler yapılmıştır. Ayrıca *V. arenosi* K64 ile sentez öncüsü kimyasallar olan kadmiyum ve sülfid gruplarıyla yapılan denemelerde çalışmanın kullanılabilir doz değerleri belirlenmiştir.

Hem besiyerinde hem tampon çözelti içerisinde yapılan denemeler ile direnç özellikleri araştırılmıştır. Tampon çözelti içerisinde canlılığın muhafazası belirlenirken besiyeri ile hangi dozlarda hücresel gelişimin gözlemlenebildiği belirlenmiştir. Sentez için hangi mekanizmanın kullanıldığı bilinmediği için canlılık ve gelişme ayrı ayrı önem taşımaktadır. Ancak yapılan literatür taramaları Gram pozitif örnekler için hücre dışı sentezi işaret etmesi, enzimatik sentezin devamı için hücresel gelişimin gerekliliği, besiyerinde gelişimin görüldüğü en yüksek dozun belirlenmesi uygulama için önemlidir. İlk yapılan direnç çalışmalarında bu doz 0.1 mM kadmiyum konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar esnasında mikroorganizmaların gelişimi literatüre ve beklentilere uygun olarak devam etmiştir. CdS nanopartiküler elde etmek için öncü kimyasallar olarak Kadmiyum Klorid ($CdCl_2$) ve Sodyum Sülfid (Na_2SO_3) sulu çözeltiler kullanılmıştır. Biyosentez basamakları esnasında her hangi bir sorun belirlenmemiştir. Genel anlamda süreç takip edildiğinde bütün basamaklar literatürlere uygunluk göstermektedir (El-Raheem *et al.* 2012).

Protokol basamaklarının herhangi bir kısmında kültür gelişimlerinde bir sorun ile karşılaşmamıştır. Gelişen kültür ile yapılan sentez basamağı olan su banyosundan çıkarıldığında limon sarısı, turuncu renk oluşması beklenmektedir. Ancak bu çalışmada yapılan biyosentez işleminde daha açık renk olarak sarı-beyaz sıvı olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç değerlendirildiğinde ilk olarak floresan mikroskop altında parlayan bölgeler görüntülenmiş ve diğer işlemlere geçilmiştir (Zhu *et al.* 2016). Daha sonraki sonuçlar bu açık rengin sebebinin daha küçük boyutta oluşan partiküller olarak değerlendirmemize neden olmuştur (Malarkodi *et al.* 2014). Partikül boyutu küçüldükçe soğurduğu ve yansıttığı dalga boyları değişiklik göstermektedir. Kuantum nokta olarak kullanılacak CdS için partikül boyutunun küçük olması ise istenen bir durumdur. Literatüre göre oluşan farklılık daha iyi bir sentezi ve ürünü ortaya çıkarmıştır (Kowshik *et al.* 2002; El-Raheem *et al.* 2012; Yang *et al.* 2015; Zhu *et al.* 2016; Dunleavy *et al.* 2016; Feng *et al.* 2017; Venegas *et al.* 2017). Spektrofotometre ve spektrofluorometre analizleri ile bu sonuçlar tekrar doğrulanmıştır.

Kültürden herhangi bir saflaştırma yapılmadan floresan nitelikli partikül oluşup oluşmadığı amacıyla mikroskop ile incelenmesi, kontrol amaçlı yapılmıştır. Kültürün, su banyosundan alındıktan 24 saat sonra sıvının üst kısmından steril pipet yardımıyla alınarak lam üzerinde küçük damlacık bırakılmış ve lamel yardımıyla yayılarak başka bir işlem yapılmadan floresan mikroskop altında (10×10) 350 nm dalga boylu ışık kullanılarak görüntüler alınmıştır. Kültürlerden pozitif sonuç olup olmadığını teyit etmeden saflaştırma işlemlerine geçilmemiştir. Bu nedenle ilk karakterizasyon niteliğinden ziyade biyosentezin oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacıyla kullanılan bir test olarak değerlendirilmiştir. Floresans mikroskopta gördüğümüz siyah zeminde parlak mavi rengide açıklamaktadır. Bu işlem ile doğrudan partikül görüntülemek mümkün değildir ancak hücre kitleleri ve partikül kümelenmeleri floresan karakterleri ile ayırt edilebilmektedir (Zhu *et al.* 2016).

Optik özellikleri incelemek için ilk olarak absorbans ölçümleri alınmıştır. Sentezlenen nanokristallerin, UV-VIS-NIR spektrofotometresi bölge absorpsiyonu ve spektrofluorometre ile de floresan spektrumları incelenmiştir. Absorpsiyon ve floresan

spektrumlarına dayanarak kuantum nanokristallerin boyutlarına bağlı olarak ultra viyole (256 nm) bölgeden soğurma yapıp mavi bölgede (439 nm) emisyon yoğunluğu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar mevcut literatürler ile kıyaslandığında benzer nitelik gösteren (Mi *et al.* 2011) ve küçük de olsa farklılıklar gösteren (Kowshik *et al.* 2002; El-Raheem *et al.* 2012; Yang *et al.* 2015; Zhu *et al.* 2016; Dunleavy *et al.* 2016; Feng *et al.* 2017; Venegas *et al.* 2017) çalışmalar bulunmaktadır. Farklı alınan sonuçlarda absorbans ve emisyonun partikül boyutu ile ilgili olduğu açıkça görülmektedir. Boyutların değişmesi sentezde kullanılan tüm parametrelerden etkilenmektedir. Bu çalışma ile literatürde yer alan bir partikül sentezi hedeflenmemiş kullanılabilir boyutlarda kuantum nokta özelliği olan CdS elde edilmek istenmiş ve bu amaçla ulaşılmıştır. Elde edilen nanopartikülün optik nitelikleri değerlendirildiğinde ideal bir kuantum noktada olması gereken absorbans değerlerini yakalamıştır. Mavi bölgeye isabet eden emisyon ölçümleri ile de ideal bir hücre görüntüleme ve işaretleyici olarak kullanılabilmesi değerlendirilmiştir. Spektrumun soğurma şiddetinin yüksek olması, nanoparçacıkların soğurma kapasitesinin yüksek olmasından kaynaklanır (Kowshik *et al.* 2002; El-Raheem *et al.* 2012; Yang *et al.* 2015; Zhu *et al.* 2016; Dunleavy *et al.* 2016; Feng *et al.* 2017; Venegas *et al.* 2017). Elde edilen veriler genel literatür değerlerine göre oldukça iyi ve kullanılabilir niteliktedir.

CdS KN'nin Malvern Zetasizer cihazıyla partikül büyüklükleri ölçüldüğünde (Şekil 4.7), ortalama partikül büyüklüğünün 66.87 nm olduğu tespit edilememiştir. Ölçüm sonucu beklenen aralık olan ve literatürde (Dey *et al.* 2011) belirtilen partikül büyüklüğü aralığı olan 1-10 nm olarak belirtilen sonuçlarla bizim çalışmamızın sonuçlarının örtüşmediği tespit edilmiştir. Malvern Zetasizer sisteminin çalışma prensibi Dynamic Light Scattering (DLS) kullanarak örnekteki partiküllerin Brown hareketlerinin ölçülmesiyle partikül büyüklüğünün ölçümüne dayanır. DLS sistemi bir lazer yardımıyla partiküllerin ışık saçmasını sağlar ve yayılan ışıktaki dalgalanmaların yoğunluğunu analiz eder. Bu nedenle, KN'nin floresans özelliklerinden ötürü Malvern Zetasizer cihazıyla yapılan partikül büyüklüğü ölçüm sonuçları tutarsız bulunmuştur. Çünkü CdS KN'ları zaten kendileri floresans özellik göstermekte ve ışık yaymaktadır, lazer ışığı üzerlerine düştüğünde ekstradan floresans yayılım da ışın içine karışır ve hatalara neden olur, bu

nedenle analiz sonucunda bulunan büyük değerin doğru olmadığı düşünülmektedir. Zaten bu durum literatürde de belirtilmiştir, aşırı yansıma yapan, ışığı adsorbe eden ve floresans gösteren maddelerin DLS ile partikül büyüklüğü analiz sonuçları doğruyu yansıtmayabileceği belirtilmiştir (Xu 2001). Partikül büyüklüğü ve dağılımı tesbiti için daha detaylı görüntüleme teknikleri olan SEM ve TEM kullanılarak ölçümler de yapılmıştır. Bu yöntem ile alınan görüntüde (Şekil 4.7) CdS KN'nin partikül büyüklüğü ve dağılımlarının çok farklı olduğu gözükmemektedir. Görüntüde büyük partiküllerin yanı sıra küçük partiküllerin de bulunduğu görülmektedir. Bu farklılığın bir diğer nedeni olarak da numunenin hazırlanması işlemlerinde yeterince dispers edilmemiş veya bu işlemler esnasında agregasyon önüne geçilememesi olarak açıklanabilir. Çok büyük çıkan sonuçlar kümeleşme (agregasyon) ile açıklanabilir. Ancak yenilenen analizlerde de benzer sonuçlar alınmıştır. Bu sonuçlar mevcut çalışmalarda yeterince açıklanmamış olmakla beraber daha küçük boyutların analiz edildiği belirtilmiştir (Holmes *et al.* 1995).

Biyolojik yolla sentezlenen CdS kuantum noktasının, TEM (Şekil 4.8) ile fiziksel görünüşleri ve partikül büyüklükleri incelendiğinde, küçük boyutlu ve büyük boyutlu partiküllerin dağınık bir şekilde bulunduğu görülmektedir. Bu aşamada, saflaştırma işlemlerinden sonra yıkama prosedürleri uygulanmadan biyolojik olarak sentezlenen CdS nanopartiküllerin boyutları kullanıma uygun olup - olmadığını analiz etmek için ilk sonuçlardan TEM analizi yaptırılmıştır. Elde edilen nanopartikül boyutları 4-12 nm olarak ölçülmüştür. Mevcut çalışmaların incelenmesiyle 4-10 nm (Mi *et al.* 2011; Yan *et al.* 2017) ve daha küçük olarak 2-4 nm (Kowshik *et al.* 2002; Dunleavy *et al.* 2016) aralığında nanopartiküller sentezledikleri belirlenmiştir. Bu boyutlar arasında elde edilen partiküllerin kuantum nokta olarak kullanılabilirliği açık olarak gösterilmektedir. Bu çalışma ile elde edilen partikül, yıkama öncesi görüntülediği için organik bir tutucunun içerisinde oldukça net ve kümelenmemiş olarak görüntülenmiştir. Elde edilen partikülün kullanılabilir nitelikte olduğu düşünülmektedir. Fakat diğer işlemler için organik çözücüler ile yıkama işlemi yapılmıştır. Biyosentez ürünü morfolojik analiz olarak SEM'de görüntülenmiştir. Bu işlemden önce tüm yıkama prosedürleri tamamlanmış ve kurutulmuştur. Kurutulmuş numune SEM hizmet alım ile SEM 'de analiz edilmiştir. Elde edilen görüntülerde düzgün bir model ortaya çıkmış ancak büyük

boyutlarda kitleler gözlemlenmiştir. Bu kitlelerin sebebi kurutma işlemleri esnasında olan agregasyonlar olarak yorumlanmıştır. TEM görüntülerinde agregasyona mani olan tabanda ki organik kitle yıkama prosedürleri ile uzaklaştırıldığı için SEM görüntülerinde partiküllerde kümelenmeler olduğu yönünde değerlendirmeler yapılmıştır. Bu sonuçlarda partikül morfolojileri dikkatli incelendiğinde hegzagonal yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Gerek partikül boyutları ve şekilleri gerek kümelenme özelliği incelenilen kaynaklar ile büyük oranda benzerlik göstermektedir (Zhu *et al.* 2016). Daha önce yapılan çalışmalarda partikül ve kümelerin boyutları 2-2.5 nm'den 50-100 nm'ye kadar ölçüldüğü görülmektedir (Kowshik *et al.* 2002; Achal *et al.* 2012; Zhu *et al.* 2016).

Boyut olarak SEM görüntülerinde (Şekil 4.9) büyük kümeler (8-25 nm) görüntülenmesine karşın, TEM görüntüleri ve özellikle de spektrofotometrik ve spektroflorometrik analiz sonuçları partiküllerin bireysel boyutlarını açıklamakta oldukça etkili değerler sağlamıştır. SEM görüntülerinde yine de partikül boyutu ve şekli ile ilgili olarak değerlendirme yapılabilecek sonuçlar elde sağlamıştır. Daha sonra yapılan XRD analizleri ile kristal yapısı daha detaylı olarak sunulmuştur.

SEM sistemi ile entegre olarak çalışan elementer içerik analizi için kullanılan EDS sonuçları ise elde edilen görüntü alanlarından yapılmıştır. EDS analizlerine Cd ve S dışında farklı elementler (C, O, P ve Au) belirlenmiştir. Kirletici olarak değerlendirilen C, O, P ve Au elementlerinin % oranı sırası ile 5.2, 34.7, 8.9 ve 9.1 olarak belirlenmiştir. Aranılan temel elementlerimiz olan Cd ve S oranları ise 41.7 ve 0.4 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.10 ve Çizelge 4.1). İçerik analizinde kadmiyum yoğunluğuna karşın kükürt miktarı oldukça düşük olarak dikkat çekmektedir. Kirletici olarak görülen oksijen molekülün okside olduğunu düşündürmektedir. Biyosentetik partiküllerin analizlerinde farklı oranlarda bu kirleticiler gözlemlenmiştir. Kirleticilerden altın kaplama materyali olarak diğer karbon, oksijen ve fosfor ise organik sentez sonucu oluşan kirleticiler olarak düşünülmektedir (Holmes *et al.* 1995; Williams *et al.* 2002; Yang *et al.* 2015; Feng *et al.* 2017). Bu kirleticiler yıkama prosedürleri geliştirilerek uzaklaştırılabileceği düşünülmektedir. Ancak yapıda kükürt miktarının düşüklüğü açıklayabilecek herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Genel olarak yapının okside olduğu veya CdO veya CdO₂

oluşumu yönünde değerlendirme yapılabilmektedir (Aldwayyan1 *et al.* 2013). Bu kısmın açıklanması için XPS sonuçlarının da detaylı değerlendirilmesi ile mümkündür. Ancak daha önce yapılan analiz sonuçları CdS molekülüne uygun niteliktedir.

İçerik ve bağlanma yapıları için XPS ile yüzeylerin analizi yapılmıştır. XPS ile yüzeyden 10 nm derinliğine kadar elemental ve kimyasal durum analizi yapılabilmektedir. İncelenen numunenin kimyasal bağlara katılmış iyonları ve bağ enerjileri tespit edilebilmektedir. Biyolojik yolla sentezlenen CdS numunesinin genel XPS tarama eğrileri Şekil 4.11 gösterilmiştir. Spektrumda Cd(3d/2), O(1s), C(1s), P(2p) ve S(2p) dahil olmak üzere altı çeşit element, hem yüzeyde hem de CdS nanopartikül içerisinde ölçülmüştür. Göreceli olarak yüksek yoğunluklu O ilişkili XPS O(1s) özelliği belirtildiği gibi, büyütülen CdS NP yüzeyi önemli derecede oksitlenmiştir. Burada bu yüzdelik verilerin elementi içerisine dahil edilerek verilmiştir. Burada asıl gözlenmek istenen Cd ve S elementleridir. Cd(3d/2) spektrumunun geniş spektral özellikleri 405.25 ve 412 eV bağlama enerjisindeki 2 keskin pik noktasından ayrılabilir. Gösterilen S(2p) fotoelektron hattı ise birden fazla karmaşık piklere ayrılmıştır. En şiddetli pik ise 169.2 ve 162.7 eV bağında bağlanma enerjisi ile gösterilmektedir. Hedef olarak Cd ve S gözlemlenmek istenmektedir. Ancak kirletici elementler olarak C, O ve P dikkat çekmektedir. Yüzey incelemesinde bu elementlerin çıkması şaşırtıcı bir sonuç olarak değerlendirilmemektedir. Sentez edilmesi hedeflenen CdS içerikte görülmüş özellikle Cd 'un baskın yapıda çıkmıştır. Cd yoğun olarak karşımıza çıkması elimizdeki partikülün kadmiyum tabanlı bir partikül olduğunu açıkça göstermektedir. Elde edilen partikülün floresans özelliği CdS KN özelliği ile de uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile kadmiyum kalkonoidlerinden CdS sentezlemek için uygun öncü maddeler kullanılmıştır. Ancak aerob gelişim sonunda oksidasyonun oluşabileceği kaçınılmaz bir yapı olarak görülmektedir. Göreceli olarak yüksek yoğunluklu O-ilişkili XPS (1s) özelliği ile belirtildiği gibi, sentezlenen CdS NP yüzeyi önemli derecede oksitlenmiştir. Kükürtün genel spektrumda az çıkmasının sebebi kükürdüde yüzeyde oksitlenebiliyor olmasıdır. Diğer elementler olan O ve C organik maddelerdeki 2 ana makro element bolca bulunan yapılardır. EDS ve XPS de fosfatın baskın çıkması, sentezin hücre dışı mekanizmalar ile yapıldığını göstermektedir (Lovley 1993). Özellikle adenosin fosfat bu işlemde rol

aldığını ve mevcut yapıları fosforile ettiğini buda fosfat adenozin redüktaz enzimlerinin kullanıldığının işaretidir (Malarkodi *et al.* 2014). Ayrıca biyosentez ile elde edilen malzemelerde görülmesi belirli bir noktaya kadar sonuçları değiştirmedeği için sorun oluşturmamaktadır. Ancak yıkama prosedürleri değiştirilerek yada işlem sayıları artırılarak bileşikleri tamamen uzaklaştırmak veya azaltmak mümkündür. Elde edilen XPS sonuçları EDS sonuçlarını desteklemektedir.

Bu çalışma ile sentezlenen CdS kuantum nokta nanopartiküllerinin düzlemler arası mesafenin ve kristal yapıları hakkında bilgi edinmek için XRD analizi yapılmıştır. XRD analizinde birçok numunede kristal fazlar gözlemlenmiştir. Şekil 4.12 XRD desenlerinden elde edilen parametrelerin görülmesi ile kütüphane ve mevcut kaynaklar değerlendirilerek genel itibariyle hegzagonal kristallerin oluştuğu belirlenmiştir. XRD sonuçta elde edilen kristalit büyüklüklerini ve yasak bant aralıklarını grafik olarak göstermektedir. Bu çalışmada biyosentez yöntem ile elde edilen CdS'ün XRD ölçümlerine göre (27.6, 31.9, 45.6, 54.1, 56.6, 66.4 ve 75.4) sırasıyla (002), (101), (110), (201), (004), (203) ve (105) rastlamaktadır. XRD sonuçlarından en geniş pik yaklaşık 6400 değerinde (101) düzlemine ait en düşük pik genişliği ise (201) olarak ölçülmüştür.

Bu piklerin şiddetleri ve piklerin çıkış sıraları dikkate alındığında Soltani ve ekibine (2012) göre elde ettiğimiz kristallerin yapısı hegzagonal çok yakın gözükmekte ancak bazı piklerin şiddetlerindeki farklı hegzagonaldan kübik yapıya doğru yönelimin olduğunu göstermektedir (Soltani *et al.* 2012). Genel hatlar olarak bakıldığında ölçülen pikler ve açılara göre çıkan pik numaraları değerlendirildiği zaman numunemizin hegzagonal kristaller oluşturduğunu söylemek daha olasıdır. Çalışmaya başlanırken beklenen yapı küresel, kübik veya hegzagonal niteliktedir. SEM görüntülerine göre küresel ve hegzagonal, TEM görüntülerine göre hegzagonal, XRD den elde edilen verilere göre hegzagonal olduğu yönünde değerlendirmeler yapılmıştır. XRD sonuçları TEM ve SEM sonuçlarını destekleyici niteliktedir. Bakteri kullanılarak elde edilen CdS kuantum noktası için XRD sonuçlarımız mevcut kaynaklara uygun olarak hegzagonal kristal yapı olarak değerlendirilmiştir (Williams *et al.* 2002; Zhu *et al.* 2016; Venegas *et al.* 2017).

Bu morfolojik yapı ile kuantum noktaların farklı uygulamalar için kullanılması mümkün olabilmektedir. Özellikle hücrelere uygulamaları ve güneş pilleri için gelen güneş ışığının görünür bölgeden yakın mor ötesi bölgeye kadarlık kısmının soğurulmasında elde ettiğimiz CdS nanopartiküllerin kullanılması mümkün olabilmektedir.

Çalışmamızda üretilen CdS NPs canlı sistemlerdeki toksik etkisinin araştırılması için *in vitro* ve *in vivo* modeller kullanılmıştır. *In vitro* modeli için CdS NP'leri 24 saat boyunca beyincik, nöron ve olfaktori hücreler ile etkileşime bırakıldıktan sonra MTT, TAS ve TOS analizleri uygulanmıştır.

MTT analizinde, tüm hücre kültürlerinde kontrol grubunun canlılık oranı yüze eşitlenmiştir. Sonuçlarımıza göre CdS 0.1 mg dozunda canlılık oranı her kültürlerimizde (%54.2 beyincik, %58.8 korteks nöronunda ve %23.4 olfaktori hücrelerinde ($p < 0.001$)) en düşük olarak tespit edilirken 0.0001 (%85.1 beyincik ($p < 0.05$), %90.1 korteks nöron ve %87.5 olfaktori hücrelerinde) ve 0.00001 (91.5 beyincik, %95 korteks nöron ve %93.1 olfaktori hücrelerinde) mg dozlarında en yüksek canlılık oranları tespit edilmiştir. Elde edilen verilere baktığımızda sadece 0.00001 mg dozu tüm gruplarda kontrol grubuna en yakın canlılık oranını göstermektedir.

Munari ve arkadaşları (2014) yaptıkları çalışmada SAOS, HEK293T ve TOLEDO hücrelerinde 10 nmol.L^{-1} 3 gün, 10 nmol.L^{-1} 3 ve 5 gün ve 10 ve 50 nmol.L^{-1} da 3-5-7 gün gruplarını kullanarak kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarına baktığımızda canlılık oranı kontrol grubu ile eş değerde göstermektedir ve CdS 10 nmol.L^{-1} konsantrasyonunda nontoksik olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bizim 0.00001 mg dozunda elde ettiğimiz sonuçlarımızla korelasyon göstermektedir. Fakat 50 nmol.L^{-1} üzerini denemedikleri için bizim diğer dozlarımızla karşılaştırma söz konusu değildir (Munari *et al.* 2014).

Pujalte ve arkadaşları (2011) senesinde yaptıkları çalışmada IP15 (glomerular mesangial) ve HK-2 (epithelial proximal) hücreleri kullanarak farklı dozlarda CdS NPs'lerini denemişlerdir. Elde edilen sonuçlarında $1.4 \mu\text{g/cm}^2$ CdS konsantrasyonunda nontoksik

olarak belirlenirken $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ve $6.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ NP üzerinde toksisite tespit etmişlerdir ve hücrelerin canlılık oranını $\% 26 \pm 2.5$ olarak göstermişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik gösterirken 0.00001 ve 0.0001 mg dozları nontoksik olarak uyumaktadır ancak 5 ve $6.5 \mu\text{g}$ dozlarında bulunan canlılık bizim sonuçlarımızdan daha toksik olarak bulunmaktadır. Farklılık muhtemelen üretim tekniği ve parçacık boyutundan veya hücre türünden kaynaklanmaktadır (Pujalte *et al.* 2011)

Biswas ve arkadaşları (2016) yılında yaptıkları çalışmada CdS NP'lerini HeLa hücreleri üzerinde deneyerek MTT analizi yapmışlardır. Bu deneyde CdS nanoparçacıkları 1 , 5 , 10 , 15 , 20 ve $40 \mu\text{M}$ dozlarında kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara baktığımızda en yüksek canlılık oranı $1 \mu\text{M}$ dozunda görülürken doza bağımlı olarak konsantrasyon arttıkça canlılık oranı azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir. Canlı hücrelerin sayısındaki doza bağımlı olarak azalma olmuştur, 24 saat inkübasyondan sonra $\%17$ ila $\%99$ arasında değişmiştir. Bizim elde ettiğimiz bilgilere baktığımızda doza bağımlı olarak canlılık düşüş gösterdiği ayrıca $1 \mu\text{M}$ dozu bizim dozlarımıza (0.0001 ve 0.00001 mg) benzer olduğundan sonuçlar farklı sayılmamaktadır (Biswas *et al.* 2016).

Toplam antioksidan kapasitesi kontrol maddesi olarak trolox $\text{Equiv}/\text{mmol L}^{-1}$ kullanılmış ve uygulama dozları buna bağımlı eşdeğer oran olarak belirlenmiş, bu oran uygulanan madde dozuna bağımlı olarak düşüş göstermiştir. Alınan sonuçlara göre beyincik, korteks ve olfaktor sinir kültürlerinde CdS konsantrasyonunun düşmesi ile birlikte anti oksidant kapasitesinin artış gösterdiği beklenmektedir.

Toplam antioksidan kapasitesi, tüm hücre kültürlerinde kontrol grubunun canlılık oranı yüze eşitlenmiştir. Sonuçlarımıza göre CdS 0.1 mg dozunda antioksidant kapasitesi tüm kültürlerimizde (3.4 beyincik, 3.1 korteks nöron hücrelerinde ve 2.8 olfaktori hücrelerinde ($p < 0.001$)) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca en yüksek anti oksidant kapasitesi 0.0001 ve 0.00001 mg dozlarında sırasıyla (0.0001 mg; 5.4 beyincik, 5.6 korteks ve olfaktori 5.1 olarak) ve (0.00001 mg; 6.1 beyincik, 5.8 korteks ve 5.4 olfaktori hücrelerinde) tespit edilmiştir. Bu sonuçlar MTT sonuçlarımızla uyum içindedir ve antioksidant kapasitesinin düşmesi canlılık oranında da düşmeye neden olmaktadır.

Farklı çalışmalarda nöronal hasarlarda hücrel antioksidant kapasite düşüş göstererek hücre canlılığın etkilendiğini göstermektedir. Örneğin Mandrioli ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada motor korteks hasarlarında antioksidant kapasitenin düştüğünü göstermişlerdir. Ayrıca çalışmalarında anti oksidant kapasitesinin düşmesi ile Oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (Mandrioli *et al.* 2006).

Farklı toksinlerde nöronal antioksidant kapasitesinin düşmesine neden olmaktadır. Örneğin Souto ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada aflatoksin B1 maddesinin antioksidant kapasitesini düşürerek hücrel ölüme neden olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda kullanılan nano parçacıklar konsantrasyon artışıyla birlikte anti oksidant kapasitesinin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca antioksidant kapasitesinin azalması hücrel savunmayı azaltarak hücrelerin daha fazla dış strese maruz kalmasına ve devamında ise ölüm oranının artmasına neden olmuştur (Souto *et al.* 2017).

Toplam oksidan seviyesi kontrol maddesi olarak H_2O_2 Equiv/mmol L^{-1} kullanılmış ve uygulama dozları buna bağlı eşdeğer oran olarak belirlenmiş bu oran uygulanan madde dozuna bağımlı olarak artış göstermiştir. Alınan sonuçlara göre beyincik, korteks ve olfaktor sinir kültürlerinde CdS konsantrasyonun düşmesi ile birlikte antioksidant seviyesi artış göstermektedir.

Toplam oksidan seviyesi, tüm hücre kültürlerinde kontrol grubunun canlılık oranı yüze eşitlenmiştir. Sonuçlarımıza göre CdS 0.1 mg dozunda oksidant seviyesi tüm kültürlerimizde (5.8 beyincik, 5.4 korteks nöron hücrelerinde ve 5.6 olfaktori hücrelerinde ($p < 0.001$)) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca en düşük oksidant seviyesi 0.0001 ve 0.00001 mg dozlarında sırasıyla (0.0001 mg; 3.9 beyincik, 3.9 korteks ve olfaktori 4.4 olarak) ve (0.00001 mg; 3.5 beyincik, 3.7 korteks ve 4.1 olfaktori hücrelerinde) tespit edilmiştir. Bu sonuçlar MTT sonuçlarımızla uyum içindedir ve oksidant seviyesinin düşmesi canlılık oranında da artışa neden olmaktadır.

Farklı çalışmalarda oksidant kapasitesi nöronal hücrelerde artışıyla birlikte hasar seviyesinin artması ve canlılık oranının düştüğü belirlenmiştir. Örneğin Ozyurt ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada psikoz modelinde oksidant ve antimoksidant kapasitesini melatonin kullanarak bakmışlardır. Bu çalışmaya göre belirtiler ve psikozun artmasıyla birlikte oksidatif stres artış göstermektedir. Bizim çalışmamızda hücrenel veya nöronal stres CdS dozuna bağlı olarak konsantrasyon artışıyla birlikte artış göstermektedir (Ozyurt *et al.* 2014). Wang ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada Qdotların böbrek ve karaciğerdeki anti oksidant kapasitesi ve ROS oluşumunu incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre dölse bağlı olarak konsantrasyonun artışı oksidatif stresin çoğalmasına neden olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da doz artışı oksidant oluşumunun çoğalmasına neden olmuştur (Wang *et al.* 2017).

Deney süreleri sonunda planlanan saatlerde derin anestezi altında hayvanlar uyutularak beyin dokuları alınmıştır. Histopatolojik ve immunhistokimyasal boyaları yapılmıştır. Korteks ve beyincik dokusundaki değişimi tespit edilmesi açısından beyin ve beyincik dokuları alınarak histopatolojik inceleme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.22 ve Şekil 4.23 'de gösterilmiştir. Alınan sonuçlarda doz artışıyla birlikte atrofi ve hiperami bulguları gösterilmektedir.

Siddiqui'in 2010 senesinde yaptığı çalışmada 0.6 mg/gün Cd'u 30 gün boyunca ratlara vererek böbrek toksikasyonu araştırmıştır. Elde edilen verilere göre 30 gün sonunda dokuda harabiyet gözükmemektedir. Bu çalışma bizim açımızdan büyük önem taşımaktadır. Burada kullanılan doz bizim kullandığımız 1 ve 0.1 mg/kg dozuna çok yakındır. Bizim çalışmamızın histopatolojik sonuçlarına göre 1 mg/kg hafif düzeyde toksik etki gösterirken 0.1 mg/kg'ın toksik etkisi göz arda edilebilecek kadar azdır. Ayrıca yazarın belirttiği gibi saf Cd kullanılmış ama bizim çalışmamızda CdS kullanılmıştır (Siddiqui 2010).

El-Refaiy and Eissa 2013 yılında yaptıkları çalışmada Cd'un karaciğer ve böbrek üzerinde oluşturduğu toksisiteyi araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre 3 mg/kg

toksik etkilerinden dolayı karaciğerde büyük harabiyet gözlemlenmiştir ayrıca kullandıkları vitaminlerle bu harabiyeti tekrar kısmı de olsa geri çevirmeyi başardıklarını göstermişlerdir. Bu çalışmada da saf Cd kullanıldığından bire bir bizim çalışmamızla uyum göstermese de yüksek dozların toksik etkileri verilerce tespit edilmiştir. Onoda ve arkadaşları 2017 senesinde yaptıkları gebelik döneminde kullanılan nanopartikülerin oluşturduğu reaktif astroglial hücrelerin tedavisinde N-asetil sistein kullanımı adlı başlıklı çalışmada siyah karbon kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre fetüs beyin gelişimi esnasında kullanılan nano nanopartiküler GFAF boyasının beyin dokusunda aşırı boyandığını göstermişlerdir. Bu çalışmada 50 mg/kg dozunda kullanılan siyah karbon nanopartiküler beyin dokusunun reaktif astroglial hücre sayısını artırdığı gösterilerek bizim çalışmamızla uyum göstermektedir. Çalışmamızda korteks ve beyinciğe ait olan görüntülere bakıldığında 15 ve 25 mg CdS dozunda aşırı reaktif hücre miktarı artış göstermektedir. Oysa dozun düşmesi ile birlikte bu miktar azalarak kontrol grubuna yaklaşmaktadır.

Liu ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada seriyum dioksit parçacıklarını inhale olarak kullandıklarında hipokampus ve olfaktori bölgesinde değişimi gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada 40 mg/kg dozunda CeO₂ 1 hafta boyunca hayvanlara uygulanmıştır. Elde edilen verilerine göre hipokampus ve olfaktoride GFAF boyasının arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma da kullanılan doz ve iltihab açısından bizim çalışma ile uyum göstermektedir (Liu *et al.* 2016).

Abudayyak ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada kobalt ferrit parçacıklarını kullanarak 8 OHdG ve malondealdehit seviyelerini nöroblastoma, karaciğer, akciğer ve kolon hücrelerinde araştırmışlardır. Bu çalışmada kullanılan parçacıklar 100 µM dozundan fazla kullanıldığında DNA hasarı artarak 8 OHdG seviyesinin arttığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda CdS parçacıklarının dozu 5 mg/ml fazla olduğunda 8 OHdG immunhisropatolojik olarak seviyesinde büyük artış gözükmektedir. Bu veri DNA hasarın doza bağımlı olarak arttığını göstermektedir (Abudayyak *et al.* 2017).

Elde edilen bulgulara baktığımızda nöronal ilaç yetiştirme için kullanılması hedeflenen CdS düşük dozda kullanılmasına özen gösterilmesi gerekmektedir. Ayrıca histopatolojik verilerinde GFAP ve 8 OHdG boyalarının pozitif olması yüksek dozların glial hücrelerin iltihabına ve devamında DNA hasarın başlanmasına neden olmaktadır. Bu durumda ratlarda korteks katmanlarının hücresel yanıt ve beyincikte oluşan purkinje hücre hasarı oluşabilen en önemli ve geri dönüşümü olmayan durumlardandır ve bu dozun belirlenmesi literatüre önemli bilgi kaynağı sağlamaktadır.

Bu çalışma ile elde edilen partikülün önemli sonuçlarından birisi çalışma süresi kısa olmak ile beraber partikül kararlılığının belirlenmesidir. İlk sentezin yapıldığı (Şubat 2017) zamandan tezin yazıldığı (Nisan 2018) tarihine kadar geçen yaklaşık 14 aylık süre içerisinde belirli periyotlar ile floresan özelliği mikroskop altında ve spektrofotometre ile genel absorbans grafiğine göre değerlendirilmiştir. Mikroskop görüntülerinde değişim görülmemiş absorban eğrileri ve değerleri tutarlı aralıkta benzerlikler göstermektedir. Bir yılı aşan süre kararlılık için iyi olarak değerlendirilse de denemelerin devam etmesi gerekmektedir. Ancak çalışma süresi bu kısmı sınırlandırmaktadır.

Sonuç olarak, çalışmalarda biyosentez ile yüksek foto kararlılığa sahip, suda çözülebilir CdS kuantum dot nanopartikül üretimi için *V. arenosi* K64 izolatu tarafından CdS nanopartiküllerinin daha güvenli, ucuz, kontrollü üretimine, çevre dostu olması ve toksisitesi az olanak sağlayan biyosentez yöntemi kullanılmış ve başarı ile elde edilmiştir.

Bu çalışmada, uygun bir besiyeri ve bakteri izolatu seçilmesi önemlidir. Bu sayede hem bakterinin optimum faaliyet gösterebileceği ideal bir ortam hazırlanmıştır hem de partikül oluşumu için en ideal bakteri ve ortam belirlenmiştir. Yapılan deneylerde daha önce kalsiyumlu bileşiklerin presipitasyonuna katıldığı belirlenen izolatlar kullanılmıştır. Bu izolatları yüksek iyon stresine dayanıklı olmaları ve gerek kendileri gerek ise metabolitleri aracılığı ile mineral oluşumuna katıldıkları bilinmektedir.

Sentezlenen nanokristallerin, optik özelliklerin UV-Görünür bölge absorpsiyonu ve flüoresans spektrumları incelenmiştir. Morfolojilerini karakterizasyon işlemleri olarak;

kristal boyutu, kristalin şekli, için DLS-Zetasizer, TEM, SEM, elemental ve kimyasal durum analizi için EDS, XPS ve kristali tanımlamak için XRD analizlerinden faydalanılmıştır.

CdS NP'nin karakteristik ışık absorpsiyonu 256 nm ve folorometre emesiyonu 439 nm ve SEM ve TEM görüntüleri ile bu parçacıkların oldukça küçük nano boyutlarda (4-18 nm) olduğu açıkça görülmüştür. Bu da, kuantum nokta nanoparçacıklara vücudun birçok bölgesine erişebilme potansiyelinin yüksek olmasından dolayı hastalığı bulma ve tedavi etme imkanı vermektedir. Sadece TEM görüntüleri kümelenmeler homojen bir dağılım sergilememiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde CdS nanoparçacıkların iç içe geçerek kümelenmiş halde buldukları ve bu kümelerin farklı boyutlarda nanopartiküler içerdiği görülmüştür. Nanopartiküllerin karakterizasyon verileri, CdS nanopartiküllerin mavi renk, hegzagonal bir yapıda olduğunu ve boyutlarının 4-18 nm arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda çalışmadaki veriler ile literatür verileri benzerlik göstermektedir. Ancak elde edilen partiküllerin analizlerinde farklı oranlarda bazı kirleticiler gözlemlenmiştir. Kirleticilerden karbon, oksijen ve fosfor ise organik sentez sonucu oluşan kirleticiler olarak düşünülmektedir. Bu kirleticiler yıkama prosedürleri geliştirilerek uzaklaştırılabileceği düşünülmektedir.

Kadmiyum sülfür (CdS) nanopartikülleri, biyoyumlulukları ve düşük toksisiteye sahip olmaları nedeni ile biyomedikal gibi alanlarda ve boya, kozmetik, ilaç ve kağıt gibi birçok endüstriyel ve tıbbi alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kuantum etkiden dolayı eşsiz kimyasal ve optik özelliklere sahiptirler ve bu nedenle fotoelektrokimyasal piller, güneş pilleri, biyoloji, tıp, sanayi ve transistörler gibi birçok uygulamada kullanılmaktadırlar.

Tezin ana hedeflerinden biri kuantum partiküllerin toksisitesi az olarak sentezlemektir. Çünkü biyolojik uygulamalar için KN'ların toksikliği kritik bir faktördür. Üretilen CdS KN'nın toksisitesini azaltmak için biyolojik sentez ile yapılmaktadır. Kuantum noktalar hücrel ve biyomedikal görüntüleme, Hücre içi faaliyetlerin gözlemlenebilmesi, İlaç ve gen hedeflenmesi, (Nano) Biyosensör amaçlı olarak uygulama alanlarında

kullanılabilmektedir. Kuantum noktalar ile yapılan birçok çalışmanın neticesinde “Nükleer Tıp” alanında görüntüleme ve terapi amaçlı bazı radyoizotop işaretli kuantum noktalar hazırlanmaktadır. Kuantum noktaları dönüşümlerini içeren uzun vadeli toksisite ve biyouyumluluk testleri, çeşitli çevresel koşullar, canlı veya çevre sağlığının riskinden ödün vermeden, amaçlanan uygulamalarında güvenliği sağlamak için şarttır.

Beyincik, korteks nöron ve olfaktori hücrelerinde beyin hücre hatları üzerine uygulandığında hücreler tarafından farklı toksisiteyi görülmektedir. Kontrol ile beyincik, korteks nöron ve olfaktori kıyaslandığında aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlılık içermektedir. Beyincik, MTT, TAS ve TOS göre istatistiksel olarak da anlamlı bir şekilde yüksek oranda bağlanabilmektedir.

CdS kuantum nokta nanopartiküllerin tüm hücre hatları için karşılaştırıldığında oldukça yüksek bağlanma oranlarına sahiptir. Ayrıca özellikle kuantum nokta hem normal hem kanser hücrelerindeki toksik özelliklerinin incelenmesi bu partiküllerinin çevresel etkilerinin ve ilaç potansiyelinin anlaşılması açısından önemlidir.

Elde edilen partikülün bakteri aracılığı ile kullanılabilir boyutlarda olduğu, soğurduğu UV ışınları mavi dalga boylu olarak yansıtması, toksisitesinin zayıf olması ideal bir kuantum nokta nanopartikül olarak üretilebilmiştir. Bu olumlu özellikler ile birlikte çeşitli analizlerde CdS içerdiği oksidasyona bağlı olarak bazı kirlilikler bulunduğu ve bu kirliliklerin organik sentez kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu kirliliklere rağmen kullanılabilir nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Tüm çalışmaların sonucunda kullanılabilir nitelikte CdS kuantum nokta nanopartikül elde edilmiştir. Ancak halen geliştirilebilir niteliktedir. Bu çalışmanın devamında aşağıdaki öneriler ile çalışmalar devam ettirilebilir.

Nanopartiküllerin sentez aşamasında yapılacak optimizasyonlar ve daha iyi yıkama ile bu aşamada saflik yönde yapılabilir.

Bulk malzeme üretim modelleri gibi geliştirilebilir, daha ideal boyutlu nanopartikül üretmek için yeni çalışmalar yapılabilir.

CdS ilaç taşıyıcı sistemler için çalışmalar yapılabilir.

Kararlılığını ve toksisitesini azaltmak için kaplamalar yapılabilir.

Bu nanopartiküller beyin tümörü tanı ve tedavisinde kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- Abudayyak, M., Gurkaynak, T.A. and Özhan, G., 2017. In Vitro Toxicological Assessment of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Several Mammalian Cell Types, *Biological Trace Element Research*, 175, 458-465.
- Achal, V. Pan X. and Zhang D., 2012. Bioremediation of strontium (Sr) contaminated aquifer quartz sand based on carbonate precipitation induced by Sr resistant *Halomonas sp.* *Chemosphere*, 89,764-768.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R. and Sastry, M., 2002. Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*, *Journal of the American Chemical Society*, 124(41), 12108-12119.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M.I., Kumar, R. and Sastry, M., 2003. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28(4), 313-318.
- Akçay, N., 2011. Cdse nanokristallerin sentezi ve karakterizasyonu. yüksek lisans tezi, gazi üniversitesi fen bilimleri enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Akerman, M.E., Chan, W.C., Laakkonen, P., Bhatia, S.N. and Ruoslahti, E., 2002. Nanocrystal targeting in vivo. *National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 12617-12621.
- Akmayan, I., 2015. Kalsiyum Tabanlı Nanopartiküllerin Bakteri Kullanılarak Biyosentezi ve Uygulama Alanlarının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, fen bilimleri enstitüsü, Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, Türkiye.
- Aldwayyan1, A.S., Al-Jekhedab, F.M., Al-Noaimi, M., Hammouti, B., Hadda, T. B., Suleiman, M. and Warad, I., 2013. Synthesis and Characterization of CdO Nanoparticles Starting from Organometallic Dmphen-CdI₂ complex. *International Journal Of Electrochemical Science*, 8, 10506 -10514.
- Anshup, A., Venkataraman, J.S., Subramaniam, C., Kumar, R.R., Priya, S., Kumar, T.R., Omkumar, R.V., John, A. and Pradeep, T., 2005. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir*, 21(25),11562-7.
- Asmathunisha, N. and Kathiresan K., 2013. A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 283-287.
- Bai, H.J., Zhang, Z.M., Guo, Y. and Yang, G.E., 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* is an International Journal, 70 (1), 142-146.
- Bansal, V., Bharde, A., Ramanathan, R. and Bhargava, S.K. 2012. Inorganic materials using 'unusual' microorganisms. *Advances in Colloid and Interface Science*, 179(182), 150-168.
- Bansal, V., Ramanathan, R. and Bhargava, S.K. 2011. Fungus-mediated biological approaches towards 'green' synthesis of oxide nanomaterials. *Australian Journal of Chemistry*, 64(3), 279-293.
- Berk, S. ve Akkurt, I., 2016. Nanopartikül: Geleceğin korkulu rüyası. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas.
- Biswasa, A., Sarkar, S., Bhadrab, K., and Dea, S., 2016. Novel synthesis of biologically

- active CdS nanoclusters in cell-mimicking vesicles. *Journal of Experimental Nanoscience*, 11(9), 681-694.
- Bruchez, M.J., Moronne, M., Ginm P., Weiss, S. and Alivisatos, A.P., 1998. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 281, 2013-2016.
- Buzea, C., Blandino, I.I.P. and Robbie, K., 2007. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 4 (2), 17 - 172.
- Carver, B.M., 2006, Intro into the Engineering and Science of Nanotechnology- Quantum dots, 0909,504-06.
- Cengiz, B., Gokce, Y., Yildiz, N., Aktas, Z., Calimli, A., 2008. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 322, 29-33.
- Cengiz, B., Gokce, Y., Yildiz, N., Aktas, Z., Calimli, A., 2008. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 322, 29-33.
- Chakraborty, N., Banerjee, A., Lahiri, S., Panda, A., Ghosh, A.N. and Pal, R., 2009. Biorecovery of gold using cyanobacteria and eukaryotic alga with special reference to nanogold formation – a novel phenomenon. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 145-152.
- Chan, H.S., Martins, Z. And Sephton, M.A., 2012. Spectrofluorometric analysis of amino acid mixtures: Implications for future space missions. *Planetary and Space Science*, 60(1), 336-341.
- Chan, W.C. and Nie, S., 1998. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, 281, 2016-2018.
- Cobb, A.B., 2007. The Elements Cadmium. *Marshall Cavendish Benchmark*, 1.Title, New York, 5, 15-16.
- Colvin, V.L., Schlamp, M.C. and Alivisatos, A.P., 1994. Light-emitting diodes made from cadmium selenide nanocrystals and a semiconducting polymer. *Natur und Recht*, 370, 354-357.
- Cunningham, D.P. and Lundie, L.L.Jr., 1993. Precipitation of cadmium by *Clostridium thermoaceticum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(1), 7-14.
- Dahan, M., Levi, S., Luccardini, C., Rostaing, P., Riveau, B. and Triller, A., 2003. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science*, 302,442-445.
- Das, S.K. and Marsili, E., 2010. A green chemical approach for the synthesis of gold nanoparticles: characterization and mechanistic aspect. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 9(3), 199-204.
- Das, S.K. and Marsili, E., 2011. Bioinspired metal nanoparticle: synthesis, properties and application. In: *Nanomaterials* (Rahman, M.M., ed.). InTech, Europe, pp. 253-278.
- Devon, F., Desai, S. and Kelty, C., 2007. The Early History of Nanotechnology. *Connexions*. 6 May <http://cnx.org/content/m14504/1.1/>
- Dey, N.S., and Rao, M.E.B., 2011. Quantum Dot: Novel Carrier for Drug Delivery. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(2), 458-448.
- Dikpati, A., Madgulkar, A.R., Kshirsagar, S.J., Bhalekar, M.R. and Chahal, A.S., 2012. Targeted drug delivery to CNS using nanoparticles. *Journal of Advanced*

- Pharmaceutical Sciences, 2(1), 179-191.
- Dunleavy, R., Lub, L., Kielya, C.J., McIntosha, S. and Bergera, B.W., 2016. Single-enzyme biomineralization of cadmium sulfide nanocrystals with controlled optical properties, *Biochemistry*, 113 (19), 5275-5280.
- Durán, N. and Seabra, A.B., 2012. Microbial syntheses of metallic sulfide nanoparticles: an overview. *Current Biotechnology*, 1, 287-296.
- Ekimov, A.I., and Onushchenko, A.A., 1982. Quantum size effect in the optical spectra of semiconductor microcrystals. *Soviet Physics Semiconductors*, 16, 775-778.
- El-Raheem, A., El-Shanshoury, R., E. Elsilik, S. and E. Ebeid, M., 2012. Rapid biosynthesis of cadmium sulfide (CdS) nanoparticles using culture supernatants of *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079T. *African Journal of Biotechnology*, 11(31), 7957-7965.
- El-Refaiy, A.I. and Eissa, F.I., 2013. Histopathology and cytotoxicity as biomarkers in treated rats with cadmium and some therapeutic agents. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(3), 265-80.
- Erat, M., Ozturk Doğan, H., Ciloğlu, G., Fidan, F. ve Cengiz, H., 2010. Kimya Alanında Nanoteknoloji Uygulamaları. MYO-OS - Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu, Düzce.
- Erkoç, Ş., 2008. Nanobilim ve Nanoteknoloji. Odtü Yayıncılık, Ankara, (3), 10-43.
- Feng, Y., Ngaboyamahina, E., Marusak, K.E. Cao, Y., You L., Glass, J.T., and Zauscher, S. 2017. Hybrid (Organic/Inorganic) Electrodes from Bacterially Precipitated CdS for PEC/Storage Applications. *The Journal of Physical Chemistry C*, 121, 3734-3743.
- Feynman, R.P., 1992. There is plenty room of at the bottom. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 1(1), 60-66.
- Gajbhiye, M., Kesharwani, J., Ingle, A., Gade, A. and Rai, M. 2009. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 5, 382-386.
- Galan, M., 2013. Confinement Effects on the Electronic and Optical Properties of Semiconductor Quantum Dots Revealed with Two-Dimensional Coherent Spectroscopy University of Colorado at Boulder, ProQuest Dissertations Publishing, 3592345.
- Gallardo, C., Monrás, J.P., Plaza, D.O., Collao, B., Saona, L.A., Durán-Toro, V., Venegas, F.A., Soto, C., Ulloa, G., Vásquez, C.C., Bravo, D. and Pérez-Donoso, J.M., 2014. Low-temperature biosynthesis of fluorescent semiconductor nanoparticles (CdS) by oxidative stress resistant Antarctic bacteria. *Journal of Biotechnology*, 187,(10), 108-115.
- Gallardo, C., Monrás, J.P., Plaza, D.O., Collao, B., Saona, L.A., Durán-Toro, V., Venegas, F.A., Soto, C., Ulloa, G., Vásquez, C.C., Bravo, D. and Pérez-Donoso, J.M., 2014. Low-temperature biosynthesis of fluorescent semiconductor nanoparticles (CdS) by oxidative stress resistant Antarctic bacteria. *Journal of Biotechnology*, 187, 108-115.
- Gao, X., Cui, Y., Levenson, R.M., Chung, L.W. and Nie, S., 2004. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nature Biotechnology*, 22, 969-976.

- Geethalakshmi, R. and Sarada, D.V.L., 2010. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using *Trianthema decandra* extract and evaluation of their anti microbial activities. *Engineering Science and Technology, an International Journal*, 2, 970-975.
- Golinska, P., Wypij, M., Ingle, A.P., Gupta, I., Dahm, H. and Rai, M., 2014. Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: Biomedical applications and cytotoxicity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 8083-8097.
- Habeeb, M.K., 2013. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 3 (1), 44-51.
- Hanaki, K., Momo, A., Oku, T., Komoto, A., Maenosono, S., Yamaguchi, Y. and Yamamoto, K., 2003. Semiconductor quantum dot-albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 302, 496-501.
- Harikrishnan, H. Shine K., Ponnurugan K. Moorthy., I.G and Kumar R.S., 2014. Optoelectron. *Journal of Biomedical Materials Research*, 6, 1.
- Hoffman, A.J., Mills, G., Yee, H. and Hoffman, M.R., 1992. Q-sized cadmium sulfide: synthesis, characterization, and efficiency of photoinitiation of polymerization of several vinylic monomers. *Journal of Physical Chemistry*, 96, 5546-5552.
- Holmes, J.D., Smith, P.R., Evans-Gowing, R., Richardson, D.J., Russell, D.A. and Sodeau, J.R., 1995. Energy-dispersive X-ray analysis of the extracellular cadmium sulfide crystallites of *Klebsiella aerogenes*. *Archives of Microbiology*, 163(2), 143-147.
- Hulkoti, N.I. and Taranath T.C., 2014. Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A review. *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hussainova, I., 2015. *Techniques for Synthesis of Nanomaterials*. 1-40.
- Husseiny, M.I., Abd El-Aziz, M., Badr, Y. and Mahmoud, M.A., 2007. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta*, 67, 1003-1006.
- Işık, K., 2010. Farklı Özellikteki ZnO Nanopartiküllerinin Fibroblast hücreleri Üzerindeki Etkilerinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.Türkiye.
- Jacobö J.M., Lens, P.N.L. and Balakrishnan, R.M., 2016. Microbial synthesis of chalcogenide semiconductor nanoparticles: a review. *Microbial Biotechnology*, 9(1), 11-2.
- Jeffryes, C., Agathos, S.N. and Rorrer, G., 2015. Biogenic nanomaterials from photosynthetic microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 23-31.
- Jensen, E., 1998. *Teaching with the Brain in Mind*. Alexandria, Virginia: Association for Supervision and Curriculum Development.
- Keiper, A., 2003. "The Nanotechnology Revolution," *The New Atlantis*, Summer (www.TheNewAtlantis.com). Updated on 10 August 2004, and used with permission.
- Kowshik, M., Deshmukh, N., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S.K. and Paknikar, K.M., 2002. Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode. *Biotechnology and Bioengineering*, 78(5), 583-588.
- Krumov, N., Perner-Nochta, I., Oder, S., Gotcheva, V., Angelov, A., Posten, C., 2009.

- Production of inorganic nanoparticles by microorganisms. *Chemical Engineering and Technology*, 32(7), 1026-1035.
- Kühnel D., Marquardt, C., Nau, K., Krug, H.F., Paul, F. and Steinbach, C., 2016. Environmental benefits and concerns on safety: communicating latest results on nanotechnology safety research-the project DaNa^{2.0}. *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (12), 11120-11125.
- Kumar, V. and Yadav, S.K., 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, 151-157.
- Kundu, D., Hazra, C., Chatterjee, A., Chaudhari, A. and Mishra, S., 2014. Extracellular biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Rhodococcus pyridinivorans* NT2: Multifunctional textile finishing, biosafety evaluation and in vitro drug delivery in colon carcinoma. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 140, 194-204.
- Kutucu, B., 2010. Nanoteknoloji ve Çift Duvarlı Karbon Nanotüplerin İncelenmesi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Lee, Y.S., 2008. *Self-Assembly and Nanotechnology*, Wiley, Canada, 221-224, 50-52, 92-96.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Black Well Scientific Publication, 157, Oxford.
- Lengke, M.F., Southam, G. 2006. Bioaccumulation of gold by sulfate-reducing bacteria cultured in the presence of gold (I)-thiosulfate complex. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 3646-3661.
- Li M., Chen Y., Liu Z., Shen F., Bian X. and Meng Y., 2009*a*. Anti-tumor activity and immunological modification of ribosome-inactivating protein (RIP) from *Momordica charantia* by covalent attachment of polyethylene glycol. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 41(9), 792-9.
- Li, X., Chen, S., Hu, W., Shi, S., Shen, W., Zhang, X. and Wang, H., 2009*b*. In situ synthesis of CdS nanoparticles on bacterial cellulose nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 509-512.
- Lin, K., Wu, C. and Chang, J., 2014. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape. *Acta Biomaterialia*, 10, 4071-4102.
- Lingerfelt, B.M., Mattoussi, H., Goldman, E.R., Mauro, J.M., and Anderson, G.P., 2003. Preparation of quantum dot-biotin conjugates and their use in immunochromatography assays. *Analytical Chemistry*, 75, 4043-4048.
- Liu, H., Zhang, L., Yan, M. and Yu, J., 2017. Carbon nanostructures in biology and medicine. *Journal of Materials Chemistry B*, 5, 6437-6450.
- Liu, L., Peng, Q. and Li, Y., 2008. Preparation of CdSe quantum dots with full color emission based on a room temperature injection technique. *Inorganic Chemistry*, 47(11), 5022- 5028.
- Liu, Q., Huang, S., Matinlinna, J.P., Chen, Z. and Pan, H., 2013. Insight into biological apatite: physicochemical properties and preparation approaches. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International, 929748, 13.
- Liu, Y., Fan, W., Xu, Z., Peng, W. and Luo, S., 2017. Transgenerational effects of reduced graphene oxide modified by Au, Ag, Pd, Fe₃O₄, Co₃O₄ and SnO₂ on two generations of *Daphnia magna*. Elsevier Science Publishing Company, 122, 669-

679.

- Liua, Y., Lia, Y., Yanga, T., Yanga, J., Wang, H. and Wua, G., Acute changes in murine hippocampus and olfactory bulb after nasal instillation of varying size cerium dioxide particles, *Journal Of Toxicology And Environmental Health, Part A*, 79(19), 869-877.
- Lovley, D.R., 1993. Reduction of Fe(III), Mn(IV), and toxic metals at 100°C by *Pyrobaculum islandicum*. *Annual Review of Microbiology*, 66(3), 1050-6.
- Mahendra, S., Colvin, H.V. and Alvarez, P., 2008. Quantum dot weathering results in microbial toxicity. *Environmental Science and Technology*, 42, 9424-9430.
- Mahtab, R., Rogers, J.P. and Murphy, C.J., 1995. Protein-sized quantum-dot minescence can distinguish between straight, bent, and kinked oligonucleotides. *Journal of the American Chemical Society*, 117, 9099-9100.
- Malarkodi, C., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Vanaja, M., Gnanajobitha, G., and Annadurai, G., 2014. Biosynthesis and Antimicrobial Activity of Semiconductor Nanoparticles against Oral Pathogens. *Hindawi Publishing Corporation Bioinorganic Chemistry and Applications*, 347167, 10.
- Mallikarjuna, K., Narasimha, G., Dilip, G.R., Praveen, B., Shreedhar, B., Shree-Lakshmi, C., Reddy, B.V.S. and Deva-Prasad Raju, B., 2011. Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum* leaf extract and their characterization. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(1), 181-186.
- Malvern Instruments Ltd. Printed in England, 2008. Zetasizer Nano User Manual.
- Mandal, D., Bolander, M. E., Mukhopadhyay, D., Sarkar, G. & Mukherjee, P. 2006. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69, 485–492 (2006).
- Mandrioli, J., Rio, D.D., Zini, A., Nichelli, P., Merelli, E., Beltrami, D., Cesari, C., Pellegrini, N., Brighenti, F. and Sola, P., 2006. Total antioxidant capacity of cerebrospinal fluid is decreased in patients with motor neuron disease. *Neuroscience Letters*, 401(3), 3, 203-208.
- Marshall, M.J., Beliaev, A.S., Dohnalkova, A.C., Kennedy, D.W., Shi, L., Wang, Z., Boyanov, M., Lai, B., Kemner, K.M., McLean, J.S., Reed, S.B., Culley, D.E., Bailey, V.L., Simonson, C.J., Saffarini, D.A., Romine, M.F., Zachara, J.M., Fredrickson a.K., 2006. c-type cytochrome-dependent formation of U(IV) nanoparticles by *Shewanella oneidensis*. *PLOS Biology*, 4, 1324–1333.
- Medina, C., Santos-Martinez, M.J., Radomski, A., Corrigan, O.I. and Radomski, M.W., 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *British Journal of Pharmacology*, 150, 552-8.
- Medintz, I.I., Uyeda, H.T., Goldman, E.R. and Mattoussi, H., 2005. Quantum dot bioconjugates for imaging, labeling and sensing. *Nature Materials*, 4, 435-446.
- Mi, C., Wang, Y., Zhang, J., Huang, H., Xua, L., Wangc, S., Fangb, X., Fangc, J., Maod, C. and Xu, S., 2011. Biosynthesis and characterization of CdS quantum dots in genetically engineered *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 153(3-4), 125-132.
- Mishra, A., Tripathy, S., Wahab, R., Jeong, S.H.I., Yang, Y., Yun, S., 2011. Microbial synthesis of gold nanoparticles using the fungus *Penicillium brevicompactum* and their cytotoxic effects against mouse mayo blast cancer C2 C12 cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(3), 617-630.
- Moghaddam, K.M., 2010. An introduction to microbial metal nanoparticle preparation

- method. *The Journal of Young Investigations*, 19(19), 1-6.
- Mohanpuria, M., Rana, N.K. and Yadav, S.K., 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517.
- Mornet, S., Vasseur, S., Grasset, F., Verveka, P., Goglio, G., Demourgues, A., Portier, J. Pollert, E. and Duguet, E., 2006. Magnetic nanoparticle design for medical applications. *Progress in Solid State Chemistry*, 34(2-4), 237-247.
- Mousavi, R.A., Sepahy, A.A. and Fazeli, M.R., 2012. Biosynthesis, purification and characterization of cadmium sulfide nanoparticles using Enterobacteriaceae and their application. *Proceedings of the International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties*, 1(1), 1862-2304.
- Munaria, M., Sturveb, J., Frenzilli, G., Sandersd, M.B, and Brunellie , A., 2014. Genotoxic effects of CdS quantum dots and Ag2S nanoparticles in fish cell lines (RTG-2) Antonio Marcominie, Marco Nigroc, Brett P. Lyonsd. *Mutation Research*, (89-93), 775-776 .
- Nagajyothi, P.C. and Lee, K.D., 2011. Synthesis of plant mediated silver nanoparticles using *Dioscoreabatatas* rhizome extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Journal of Nanomaterials* is archived, ID 573429, 7.
- Nair, B. and Pradeep, T., 2002. Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus strains*. *Crystal Growth and Design*, 4, 295-298.
- Onoda, A., Takeda, K. And Umezawa, M., 2017. Pretreatment with N-acetyl cysteine suppresses chronic reactive astrogliosis following maternal nanoparticle exposure during gestational period. *Nanotoxicology*, 1743-5404.
- Osaki, F., Kanamori, T., Sando, S., Sera, T. and Aoyama, Y., 2004. A quantum dot conjugated sugar ball and its cellular uptake on the size effects of endocytosis in the subviral region. *Journal of the American Chemical Society*, 126(21), 6520-6521.
- Özdemir, S., 2009. Nanocrystals and their pplications in biomaging. MS Thesis, the Graduate School of Engineering and Science of İzmir Institute of Technology, izmir, turkey.
- Özden, Y., 2003. Öğrenme ve Öğretme. Ankara: Pegema Yayıncılık.
- Ozyurt, H., Ozyurt, B., Sarsilmaz, M., Kus, I., Songur, A., Akyol, O., 2014. Potential role of some oxidant/antioxidant status parameters in prefrontal cortex of rat brain in an experimental psychosis model and the protective effects of melatonin, 18(15), 2137-44.
- Parikh, R.Y., Singh, S., Prasad, B.L.V., Sastry, M. and Shouche, Y.S., 2008. Extracellular synthesis of crystalline silver nanoparticles and molecular evidence of silver resistance from *Morganella* sp.: towards understanding biochemical synthesis mechanism. *BioChemBio*, 9(9), 1415-22.
- Parra, G.G., Ferreira, L.P., Gonçalves, P.J., Sizova, S.V., Oleinikov, V.A., Morozov, V.N., Kuzmin, V.A. and Borissevitch, I.E., 2018. Stimulation of Cysteine-Coated CdSe/ZnS Quantum Dot Luminescence by meso- Tetrakis (p-sulfonato-phenyl) Porphyrin, *Nanoscale Research Letters*, 13, 40.
- Pellegrino, T., Manna, L., Kudera, S., Liedl, T., Koktysh, D., Rogach, A.L., Keller, S., Radler, J., Natile, G. and Parak, W.J., 2004. Hydrophobic nanocrystals coated with an amphiphilic polymer shell: A general route to water soluble nanocrystals.

- Nano Letters, 4(4), 703-707.
- Prasad, K., and Jha, A.K., 2010. Biosynthesis of CdS nanoparticles: an improved green and rapid procedure. *Journal of Colloid and Interface Science*, 342(1), 68-72.
- Puiu, A., Fiorani, L., Menicucci, I., Pistilli, M. and Lai, A., 2015. Submersible Spectrofluorometer for Real-Time Sensing of Water Quality. *Sensors*, 15(6), 14415-14434.
- Pujalte, C.I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C. and Azou, B.L., 2011. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells, *Particle and Fibre Toxicology*, 8, 10.
- Rai, M. and Ingle, A., 2012. Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect-pest. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(2), 287-293.
- Rai, M., Yadav, A., Gade, A., 2008. Current trends in Phytosynthesis of metal nanoparticles. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 277-284.
- Rajesh, S., Raja, D.P., Rathi, J.M. and Sahayaraj, K., 2012. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ulva fasciata* (Delile) ethyl acetate extract and its activity against *Xanthomonas compestris pv.malvacearum*. *Journal of Biopesticides* 5(spl1), 119-128.
- Raouf Hosseini, M. and Nasiri Sarvi, M., 2015. Recent achievements in the microbial synthesis of semiconductor metal sulfide nanoparticles, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 40, 293-301.
- Renugadevi, K. and Aswini, R.V., 2012. Microwave irradiation assisted synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* leaf extract as a reducing agent and *in vitro* evaluation of its antibacterial and anticancer activity. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2(2), 5-10.
- Sadowski, Z., Maliszewska, I.H., Grochowalska, B., Polowczyk, I., Kozlecki, T., 2008. Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms. *Material Science Poland*, 26, 2.
- Saito, R., Dresselhaus, G. and Dresselhaus, M.S., 1999. Physical properties of carbon nanotubes. Imperial College Press, London.
- Sakamoto, M., Fujistuka, M. and Majima, T. 2009. Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism. *Journal of Photochemistry and Photobiology C* 10(1), 33-56.
- Sanghi, R. and Verma, P., 2009. A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus. *Chemical Engineering Journal*, 155, 886-891.
- Satyavathi, R., Krishna, M.B., Rao, S.V., Saritha, R. and Rao, D.N., 2010. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract and their application in non-linear optics. *Advanced Science Letters*, 3, 1-6.
- Sausa, D.A., 2001. *How The Brain Learns: A Classroom Teacher's Guide*. Thousand Oaks, California: Corwin Pres, Inc. 202-336.
- Shahi, S.K. and Patra, M., 2003. Microbially synthesized bioactive nanoparticles and their formulation active against human pathogenic fungi. *Reviews on Advance Materials Science*, 5, 501-509.
- Shahverdi, A.R., Minaeian, S., Shahverdi, H.R., Jamalifar, H. and Nohi, A.A., 2007. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of

- Enterobacteria: A novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42, 919-923.
- Shahverdi, A.R., Minaeian, S., Shahverdi, H.R., Jamalifar, H., Shahverdi, N., Wong, C.W. and NurYasumira, A.A., 2009. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of bacteria with microwave irradiation. *Journal of Chemistry*, 6(1), 61-70.
- Sharma, N., Pinnaka, A.K., Raje, M., Fnu, A., Bhattacharyya, M.S. and Choudhury, A.R., 2012. Exploitation of marine bacteria for production of gold nanoparticles. *Microbial Cell Factories*, 11(86), 1-6.
- Shi, J., Gider, S., Babcock, K. and Awschalom, D.D., 1996. Magnetic clusters in molecular beams, metals, and semiconductors. *Science*, 271, 937-941.
- Siddiqui, M.F., 2010. Cadmium induced renal toxicity in male rats, *Rattus rattus*, Cadmium induced renal toxicity in male rats, *Rattus rattus*, *Eastern Journal of Medicine*, 15/ 93-96.
- Silver, S., 1992. Plasmid-determined metal resistance mechanisms: range and overview, *Plasmid*, 27(1), 1-3.
- Singaravelu, G., Arockiamary, J.S., Ganesh-Kumar, V., Govindraju, K., 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57, 97-101.
- Singh, O.M., 2015. *Bio-Nanoparticles, Biosynthesis and Sustainable Biotechnological Implications*. Blackwell, 361 p, New Jersey, USA.
- Skaff, H. and Emrick, T., 2004. Semiconductor nanoparticles. In: *Nanoparticles: Building Blocks for Nanotechnology* (Rotello, V., ed.) Springer Science+Business Media, New York.
- Smith, P.R., Holmes, J.D., Richardson, D.J., Russell, D.A. and Sodeau, J.R., 1998. Photophysical and photochemical characterization of bacterial semiconductor cadmium sulphide particles. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 94, 1235-1241.
- Sobolev, K. and Gutierrez, M.F., 2005. How Nanotechnology Can Change the Concrete World. *American Ceramic Society Bulletin*, 84(10), 1014-18.
- Soltani, N., Saion E., Hussein M.Z., Erfani M., Abedini A., Bahmanrokh G., Navasery M. and Vaziri P., 2012. Visible Light-Induced Degradation of Methylene Blue in the Presence of Photocatalytic ZnS and CdS Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 12242-12258.
- Song, J.Y., Kwon, E.Y. and Kim, B.S., 2010. Biological synthesis of platinum nanoparticles using *Diopyros kaki* leaf extract. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33, 159-164.
- Souto, N.S., Claudia Monteiro Braga, A., Lutchemeyer de Freitas, M., Rechia Figuera, M., Royes, L.F.F., Schneider Oliveira, M. and Furian, A.F., 2017. flatoxin B1 reduces non-enzymatic antioxidant defenses and increases protein kinase C activation in the cerebral cortex of young rats. *Nutritional Neuroscience*, 21(4), 268-275.
- Sprenger, M.B., 2002. *Becoming a "Wiz" at Brain-Based Teaching*. Thousand Oaks, California: Corwin Pres, *A Sage Publications Company*, 5, 7619-7861.
- Stevens, J. and Goldbers, D., 2001. *For The Learner's Sake: Brain Based Instruction for the 21st century*. ABD: Zephyr Yay.
- Sweeney, R.Y., Mao, C., Gao, X., Burt, J.L., Belcher, A.M., Georgiou, G. and Iverson, B.L., 2004. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals. *Chemistry*

- and Biology, 11, 1553-1559.
- Taghizadehghalehjoughi, A., 2015. Metformin HCL/irinotekan yüklü PLGA nanopartiküllerinin glioblastoma multiforme üzerindeki etkilerinin in vivo ve in vitro olarak değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı. Erzurum, Türkiye.
- Taghizadehghalehjoughi, A., 2016. Antikanser ilaçların nöron ve glioblastoma multiforme kanser kültüründe glutamat taşıyıcıları ve reseptörleri üzerindeki etkileri. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı.
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S. and Parikh, R.Y. 2010. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 6(2), 257-262.
- Thakkar, K.N., Mhatre, S.S. and Parikh, R.Y., 2011. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine, 6(2), 257-262.
- Ulloa, G., Collao, B., Araneda, M., Escobar, B., Alvarez, S., Bravo, D. and Pérez - Donoso, J.M., 2016. "Use of acidophilic bacteria of the genus *Acidithiobacillus* to biosynthesize CdS fluorescent nanoparticles (quantum dots) with high tolerance to acidic pH". Enzyme and Microbial Technology, 95, 217-224.
- Valizadeh, A., Mikaeili, H., Samiei, M., Farkhani, S.M., Zarghami, N., kouh, M., Akbarzadeh, A., and Davaran, S., 2012, Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. Nanoscale Research Letters, 7(1), 480.
- Vaseeharan, B., Ramasamy, P. and Chen, J.C., 2010. Antibacterial activity of silver nanoparticles (AgNPs) synthesized by tea leaf extracts against pathogenic *Vibrio harveyi* and its protective efficacy on juvenile *Fenneropenaeus indicus*. Letters in Applied Microbiology, 50(4), 352-356.
- Venegas, F.A., Saona, L.A Monr'as, J.P., Ordenes-Aenishanslins, N., Giordana M.F., Ulloa, G., Collao, B., Bravod, D. and P'erez-Donoso, J.M. 2017. Biological phosphorylated molecules participate in the biomimetic and biological synthesis of cadmium sulphide quantum dots by promoting H₂S release from cellular thiols. RSC Advances, 7, 40270-40278.
- Vengala, P., Dasari, A. and Yeruva, N., 2012. Quantum Dots For Drug Delivery And Therapy. International Journal of Pharmacy and Technology, 4(2), 2055-2074.
- Vigneshwaran, N., Kathe, A.A., Varadarajan, P.V., Nachane, R.P. and Balasubramanya, R.H., 2007. Silver-protein (core-shell) nanoparticle production using spent mushroom substrate. Langmuir, 23, 7113-7.
- Wang, C., Dai, H. and Heidecker, M., 2011. Prevention of Quantum Dot Quenching on Metal Surfaces, United States Patent, Patent No: US 7.976.726 B2.
- Wang, J., Sun, H., Meng, P., Wang, M., Tian, M., Xiong, Y., Zhang, X. and Huang, P., 2017. Dose and time effect of CdTe quantum dots on antioxidant capacities of the liver and kidneys in mice. International Journal of Nanomedicine, 12, 6425-6435.
- Weller, H., 1998. Transistors and light emitters from single nanoclusters. Angewandte Chemie International Edition, 37, 1658-1659.
- Weng, K.C. and Noble, C.O., 2008. Papahadjopoulos-Sternberg B, Chen FF, Drummond DC, Kirpotin DB, Wang D, Hom YK, Hann B, Park JW. 2008. Targeted tumor cell internalization and imaging of multifunctional quantum dot-conjugated immunoliposomes in vitro and in vivo. Nano Letters, 8(9), 2851-2857.
- West, J.L. and Halas, N.J., 2003. Engineered nanomaterials for biophotonics applications:

- improving sensing, imaging, and therapeutics. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 5, 285-292.
- Williams, P., Keshavarz-Moore, E. and Dunnill, P., 2002. *Schizosaccharomyces pombe* fed-batch culture in the presence of cadmium for the production of cadmium sulphide quantum semiconductor dots. *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 354-362.
- Wolfe, P., 2001. *Brain Matters: Translating Research into Classroom Practice*. Alexandria, Virginia: Association for Supervision and Curriculum Development, 978 (1) 4166-1067.
- Xu R. 2010. *Particle characterization: light scattering methods*.1.The Netherlands: Kluwer academic publishers.
- Yan, F., He, Y., Wu, C. and Cheng, Y. 2014. Carbon Nanotubes Alter the Electron Flow Route and Enhance Nitrobenzene Reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Environmental Science & Technology Letters*, 1 (1), pp 128-132.
- Yang, Z., Lu, L., Berard, V.F. He, Q., Kiely, C.J., Berger, B.W. and McIntosh, S., 2015. Biomanufacturing of CdS quantum dots. *Green chemistry*, 17(7), 3655-4090.
- Yang, Z., Lu, L., Berard, V.F., He, Q., Kiely, C.J. and Bryan, W., 2015. Biomanufacturing of CdS quantum dots, Berger and Steven McIntosh, Cite this. *Green Chemistry*, 17(3775).
- Yezhelyev, M.V., Qi, L., O'Regan, R.M., Nie, S. and Gao, X., 2008. Proton-Sponge Coated Quantum Dots for siRNA Delivery and Intracellular Imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 130 (28), 9006-9012.
- Zhang, J. Z. and Noguez, C., 2006. Plasmonic Optical Properties and Applications of Metal Nanostructures. *Plasmonics*, 3, 127-150.
- Zhang, X., Yan S., Tyagi R.D. and Surampalli R.Y., 2011. Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates. *Chemosphere*, 82 (4) 489-494.
- Zhu, X., Kumari, D., Huang, M. and Achal, V., 2016. Biosynthesis of CdS nanoparticles through microbial induced calcite precipitation. *Materials and Design*, 98, 209-214.

ÖZGEÇMİŞ

Atefeh VARMAZYARI, IRAN’da doğdu. İlkokulu Cehad Khoyi okulunda, ortaokulu Sekhnavayi ve lise eğitimini Sdige Kobra Kız Lisesinde tamamladıktan sonra 2004 yılında Khoy Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği, Ziraat ve Bitki Islahı ve genetik Bölümü’ne girerek 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Khoy Üniversitesi, Ziraat Mühendisliği’nde yüksek lisansa başladı ve 2010 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü’nde doktora eğitimine başladı 2015 yılında doktora eğitimini tamamladı. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi, 2012 yılında Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalında’nda ikinci doktora eğitimine devam edilerek 2018 yılında doktora eğitimini tamamladı.