



**İSKENDERUN TEKNİK**  
ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

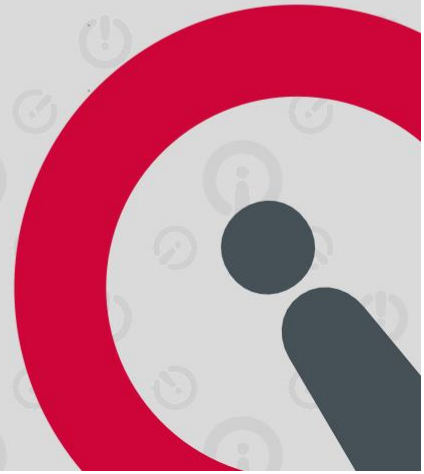
**DOKTORA  
TEZİ**

**BİZMUT SÜLFÜR ( $Bi_2S_3$ ) ve  
Kobalt (Co) NANOPARTİKÜLLERİNİN  
MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNDE  
OLASI NANOTOKSİKOLOJİK  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ayşegül ERGENLER**

SU ÜRÜNLERİ  
ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2023





**BİZMUT SÜLFÜR ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) ve KOBALT (Co) NANOPARTİKÜLLERİNİN  
MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNDE OLASI NANOTOKSİKOLOJİK  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ayşegül ERGENLER**

**DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**AĞUSTOS 2023**

Ayşegül ERGENLER tarafından hazırlanan “BİZMUT SÜLFÜR ( $Bi_2S_3$ ) ve KOBALT (Co) NANOPARTİKÜLLERİNİN MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNDE OLASI NANOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile İskenderun Teknik Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Funda TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Başkan:** Prof. Dr. Funda TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Yasemin BİRCAN-YILDIRIM

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi Teknik Üniversitesi)

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Mustafa Kemal SANGÜN

Kimya Anabilim Dalı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Doç. Dr. Ersin Bahçeci

Metalurji ve Malzeme Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 28/08/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ersin BAHÇECİ  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

İskenderun Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu,
  - Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirim, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Ayşegül ERGENLER

28/08/2023

**BİZMUT SÜLFÜR (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) ve Kobalt (Co) NANOPARTİKÜLLERİNİN MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNDE OLASI NANOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ  
(Doktora Tezi)**

**Ayşegül ERGENLER**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**Ağustos 2023**

**ÖZET**

Bilim ve teknolojiye en önemli gelişmelerden biri olan nanomalzemeler, görünmez küçük boyutlu parçacıklar olup; çeşitli alanlarda uygulamaları olan benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Sürekli olarak kullanılan nanoyapıların birçok avantajının arkasında hala belirsizliğini koruyan nanotoksik etkileri ve çelişkili durumları mevcuttur. Teknolojik çalışmalarda popüler olan nanomalzemelerin akuatik ekosistemde toksik etkileri belirsizdir. Çalışmamızda, Bizmut sülfür (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) nanoçiçekler ve Kobalt (Co) nanoyaprakları mikrodalga bazlı hidrotermal süreç kullanılarak sentezlenmiş ve sentezlenen nanomalzemelerin ayırt edici özellikleri saptamak için; XRD (X ışını kırınımı), SEM (Taramalı elektron mikroskobu) ve FTIR (Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi) analizleri yapılarak, model organizma (*Cyprinus carpio*), (*Daphnia magna*) üzerindeki genotoksik etkileri araştırılmıştır. Kullanılan nanomalzemelerin (Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü) yönergelerine göre yapılmıştır. İlk bölümde Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerin 96 saat sonunda LC50 değeri probit analizi ile 350 mg L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiş ve LC50 değerine göre üç subletal konsantrasyon (35, 87 ve 175 mg L<sup>-1</sup>) seçilmiştir. LC50 değerine göre Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçekleri AB Direktifi 93/67/EEC sınıflandırma şemasına göre sucul organizmalar için toksik bulunmamıştır. Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerinin subletal konsantrasyonlarına ait genotoksikolojik değerlendirmede, 35 ve 87 mg L<sup>-1</sup> doz gruplarının DNA hasarı ve mikronükleus düzensizlikleri; kontrol grubu ile benzer bulunurken; 175 mg L<sup>-1</sup> Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> grubunda, kontrol ve diğer doz gruplarına göre yüksek DNA hasarı ve eritrosit anormallikleri belirlenmiştir. İkinci bölümünde, sentezlenen kobalt nanoyapraklarının diğer model organizmamız olan *Daphnia magna* üzerinde olası sitotoksik ve genotoksik etkileri araştırılmıştır. Model organizma, Kobalt (Co) nanoyaprakların farklı konsantrasyonları (1, 5, 10, 15, 20 ve 25 µg L<sup>-1</sup>) 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda maruz bırakılmış ve 96. saatin sonunda, LC50 değeri probit analizi ile 9.705 µg L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesine İlişkin Küresel Uyumlaştırılmış Sistem tarafından belirlenen toksisite seviyelerine göre, Kobalt (Co) nanoyapraklarının yüksek derecede toksik kategorisine girmiştir. Ayrıca, 96 saatlik akut toksisite testi ile Güvenli Uygulama Oranı (SAR) ve Güvenlik Faktörü (SAFE) katsayıları hesaplanmış, sırasıyla 0,025 ve 0,243 olarak bulunmuştur. Subakut denemede, Co nanoyaprakların en yüksek konsantrasyonundaki (2,5 µg L<sup>-1</sup>) DNA hasarı (%53.00±0.94) kontrol grubuna (%28,33±1,52) göre yaklaşık 2 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, ISO10993-5'e göre, Kobalt nanoyapraklar *D. magna* üzerinde belirli konsantrasyonlar için sitotoksik olarak sınıflandırılmıştır. Bu tez çalışması Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçekleri ve Co nanoyapraklarının sucul yaşam üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak ve toksikolojisi hakkında somut veriler ortaya koymak adına ilk çalışma olup, bu nanomalzemelerinin çevresel etkileri ve risklerine yönelik daha fazla sistematik çalışma yapılması gerekmektedir.

Bu tez çalışması 100/2000 YÖK Doktora Bursu, TÜBİTAK 2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı, TÜBİTAK BİÇABA tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nanotoksikoloji, bizmut sülfür nanoçiçek, kobalt nanoyapraklar

Sayfa Adedi:51

Danışman : Prof. Dr. Funda TURAN

**DETERMINATION OF POSSIBLE NANOTOXICOLOGICAL EFFECTS OF  
BISMUTH SULFIDE (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) and Cobalt (Co) NANOPARTICLES ON MODEL  
ORGANISMS  
(Ph. D. Thesis)**

**Ayşegül ERGENLER**

**ISKENDERUN TECHNICAL UNIVERSITY  
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES**

**Ağustos 2023**

**ABSTRACT**

Nanomaterials, invisible particles with unique physical, chemical, and biological properties, have numerous applications in various fields. However, their toxic effects on aquatic ecosystems remain unclear. A study synthesized Bismuth sulfide (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) nanoflowers and Cobalt (Co) nanosheets using microwave-based hydrothermal processes investigated their genotoxic effects on *Cyprinus carpio* and *Daphnia magna* using XRD, SEM, and FTIR analysis. Made according to the guidelines of the nanomaterials used (Organization for Economic Cooperation and Development). In the first part, LC50 value of Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoflowers at the end of 96th hour was determined as 350 mg L<sup>-1</sup> by probit analysis and three sublethal concentrations (35, 87 and 175 mg L<sup>-1</sup>) were selected according to LC50 value. According to LC50 value, Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoflowers are not found toxic to aquatic organisms according to EU Directive 93/67/EEC classification scheme. In the genotoxicological evaluation of the sublethal concentrations of Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoflowers, DNA damage and micronucleus disorders of 35 and 87 mg L<sup>-1</sup> dose groups; while it was found similar to the control group; Higher DNA damage and erythrocyte abnormalities were detected in the 175 mg L<sup>-1</sup> Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> group compared to the control and other dose groups. In the second part, possible cytotoxic and genotoxic effects of synthesized cobalt nanoleaves on our other model organism, *Daphnia magna*, were investigated. The model organism was exposed to different concentrations of Cobalt (Co) nanoleaves (1, 5, 10, 15, 20 and 25 µg L<sup>-1</sup>) for 24, 48, 72 and 96 hours and at the end of the 96th hour, the LC50 value was determined by probit analysis. It was determined as 9,705 µg L<sup>-1</sup>. According to the toxicity levels determined by the GHS, Cobalt(Co) nanoleaves are in the highly toxic category. Safe Administration Rate (SAR) and Safety Factor (SAFE) coefficients were calculated with the 96-hour acute toxicity test and found to be 0.025 and 0.243, respectively. In the subacute trial, DNA damage (53.00±0.94%) at the highest concentration (2.5 µg L<sup>-1</sup>) of Co nanoleaves was approximately 2 times higher than that of the control group (28.33±1.52%). ISO10993-5, Cobalt nanoleaves are classified as cytotoxic for certain concentrations on *D. magna*. This thesis is the first study to reveal the effects of Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoflowers and Co nanoleaves on aquatic life and to reveal concrete data on their toxicology, and more systematic studies are needed on the environmental effects and risks of these nanomaterials. This thesis study was supported by 100/2000 YÖK Doctoral Scholarship, TÜBİTAK 2211-C Domestic Doctoral Scholarship Program for Priority Areas, and TÜBİTAK BİÇABA.

Keywords: Nanotoxicology, bismuth sulfide nanomaterials, cobalt nanoleaves

Number of Pages:51

Supervisor: Prof. Dr. Funda TURAN

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her adımında çözüm odaklı olan doktora konu seçimimden araştırmamın yürütülmesine kadar tezimi geliştirici fikir ve önerilerle gece gündüz bana yardımlarını esirgemeyen, akademik rotamı insanlığa yönelik faydalı şekilde değerlendirmemi sağlayan; her daim yolunda olduğum değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Funda TURAN'a çok teşekkür ederim. Akademik anlamda ilerlemem için lisansta karar vermemi sağlayan bilim dünyasının kapılarını ilk bana açan ve bu dünyayı daha da çok sevdiren, maddi manevi her zaman desteği olan değerli hocam Prof. Dr. Cemal TURAN'a teşekkür ederim. Tezimin ilerlemesi ve geliştirme aşamalarında ilham kaynağı olan ve doktora dönemimin en kritik noktasında beni yalnız bırakmayan; kendisi gibi iyi insanlara yolumu çıkararak ayrıca bir ömür minnet duygusu duyduğum değerli Rektör Hocam Prof. Dr. Tolga DEPCİ 'ye teşekkür ederim. Tezimin başlangıcından sonuna kadar özellikle sentez ve analiz süreçlerinin yapılmasında, makale yazım sürecinde asla yalnız bırakmayan, BAKIRDERE RESEARCH GROUP laboratuvarında çalışma desteğini veren, olumlu fikirleriyle motivasyon kaynağı olup ufkumu açan, akademik rotamın oluşmasına katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE 'ye; teşekkürü borç bilirim. Tez izleme Komitemde yer alan değerli fikirleri ile yaptığım tez çalışmamın şekillenmesini sağlayan Doç. Dr. Ersin Bahçeci ve diğer hocalarıma teşekkürü borç bilirim. Genotoksikoloji çalışmalarımda tüm yardımları sağlayan Prof. Dr. Bertan YILMAZ ve ekibi Dr. Seda ILGAZ'a; Dr. Hale ÖKSÜZ'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca iyi ve kötü günde sürekli yanımda olan tezime çok büyük destek veren her daim en yoğun anında bile bana yardım eden beni asla geri çevirmeyen, en kıymetli en sevdiğim arkadaşım Doktora öğrencisi Tuğba Buse ZAMAN'a teşekkür ederim. Motivasyon kaynağım olan yorulduğum anda hayatta beni cesaretlendiren; ayrıca güzel anlarımı da beraberinde de paylaştığım değerli yaşam koçum canım ağbim Turgay BAYSEÇKİN'e teşekkür ederim. Beni bugünlere getiren maddi manevi tüm sıkıntılarında yanımda olan; her zaman 'İyilik kötülüğe diz çöktürür' kızım deyip iyi insan olmam yolunda emek verdiği her şeye canım anneme teşekkür ederim. Ayrıca doktora sürecimin tamamlanmasını sağlayan maddi katkılarından dolayı 100/2000 YÖK Doktora Bursu, TÜBİTAK 2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı, TÜBİTAK 2250-Lisansüstü Bursları Performansı ve TÜBİTAK BİÇABA (Birlikte Çalışıp Birlikte Başaracağız Programı) teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

**İÇİNDEKİLER****Sayfa**

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Atıksu Arıtımı ve Nanomalzemelerin Kullanımı.....	5
1.1.1. Nanomalzemeler ve suda nanopartiküllerin davranışları .....	5
1.2. Nanoçiçek (Nanoflower) ve Nanoyapraklar (Nanoleaves) .....	7
1.3. Nanotoksikoloji.....	8
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	14
3.1. Denemede Kullanılan Nanomalzemeler.....	14
3.2. Denemede Kullanılan Model Organizmalar.....	14
3.2.1. Sazan ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	14
3.2.2. Su piresi ( <i>Daphnia magna</i> ) (Straus, 1820).....	15
3.3. Yöntem.....	16
3.3.1. Nanomalzemelerin sentezi .....	16
3.4. Nanomalzemelerin Karakterizasyonu .....	17
3.5. Deneme Ortamının Hazırlanması .....	18
3.5.1. Akut ve Subakut konsantrasyonların belirlenmesine yönelik biyodeneyleler .	18



3.6. Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Model Organizma ( <i>Daphnia magna</i> )' ya Uygulanması.....	19
3.7. Genotoksite testi.....	20
3.7.1. Mikronükleus (MN) testi.....	20
3.7.2. Mikronükleus sayım kriterleri .....	21
3.7.3. Tek hücre Jel Elektroforez (Comet Assay) Testi .....	21
3.8. Sitotoksisite testi.....	22
3.8.1. Trypan Mavisi ile Hücre Canlılığı Testi .....	22
3.9. İstatistiksel Analiz.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	24
4.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu ve Toksikolojisine Ait Bulgular.....	24
4.1.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin karakterizasyonu .....	24
4.1.2. Taramalı elektron mikroskobu analizi (SEM) .....	24
4.1.3. Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi analizi (FT-IR) .....	24
4.1.4. X-ışını kırınımı (XRD).....	25
4.2. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerin Akut Toksitesine Ait Bulgular.....	26
4.3. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerin Sub-akut Toksitesine Ait Bulgular .....	27
4.4. Model Organizma ( <i>Cyprinus carpio</i> ) Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Biyobirikimi .....	27
4.5. Model Organizma ( <i>C. carpio</i> ) Davranışsal Tepkisi.....	28
4.6. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Genotoksitesine Ait Bulgular .....	29
4.6.1. Tek Hücre Jel Elektroforezi (Comet Assay) Testi.....	29
4.6.2. Mikronükleus Test Tekniği .....	31
4.7. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Karakterizasyon ve Toksikolojisine Ait Bulgular	32
4.7.1. Kobalt (Co) nanoyaprakların karakterizasyonu .....	32
4.7.2. Taramalı elektron mikroskobu analizi (SEM) .....	32
4.7.3. X-ışını kırınımı (XRD).....	33

4.8.	Kobalt (Co) Nanoyaprakların Akut Toksikitesine Ait Bulgular.....	34
4.8.1.	Model Organizma ( <i>D.magna</i> ) davranışsal tepkisi .....	34
4.9.	Kobalt (Co) Nanoyaprakların Sub-Akut Toksikitesine Ait Bulgular .....	35
4.10.	Kobalt (Co) Nanoyaprakların Genotoksitesine Ait Bulgular.....	36
4.10.1.	Tek Hücre jel elektroforezi (comet assay) testi .....	36
4.11.	Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Sitotoksitesi Ait Bulgular .....	37
4.11.1.	Hücre canlılığı test tekniği (Tripan Mavis) .....	37
5.	TARTIŞMA.....	38
5.1.	Nanomalzemenin Karakterizasyonu .....	41
5.1.1.	Bizmut Sülfür ( $Bi_2S_3$ ) Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu .....	41
5.1.2.	Kobalt (Co)Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu .....	42
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
	KAYNAKLAR.....	44

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.2. Akut toksisite testi sırasında <i>Cyprinus carpio</i> davranışsal durumları	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.3. Bizmut sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin farklı konsantrasyonlar da tespit edilen canlı-ölü birey miktarı .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki $\text{Bi}_2\text{S}_3$ nanoçiçeklerinin balıkların solungaç dokularında oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama $\pm$ standart hata).	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki $\text{Bi}_2\text{S}_3$ nanoçiçeklerinin balıkların karaciğer dokularında oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama $\pm$ standart hata).....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki $\text{Bi}_2\text{S}_3$ nanoçiçeklerinin balıkların eritrositlerinde oluşturdukları mikronukleus verileri (%) (ortalama $\pm$ standart hata). ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.7. Akut toksisite testi sırasında <i>D. magna</i> 'nın davranışsal tepkileri.	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.8. Kobalt (Co) n nanoyaprakların farklı konsantrasyonlar da oluşturdukları tespit edilen canlı-ölü birey miktarı.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.8. Deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki Kobalt (Co) nanoyapraklarının <i>Daphnia magna</i> da oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama $\pm$ standart hata).	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri.	24
Şekil 4.2. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi Analizi (FT-IR).....	25
Şekil 4.3. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin XRD ışınımı .....	26
Şekil 4.4. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin <i>Cyprinus carpio</i> üzerindeki akut toksisitesi. ....	26
Şekil 4.5. Model organizma üzerinde $\text{Bi}_2\text{S}_3$ nanoçiçeklerinin birkimlerini gösteren SEM mikrografları. (A ve B) <i>C. carpio</i> 'nun bağırsağı (C ve D) <i>C. carpio</i> 'nun solungaçları.....	28
Şekil 4.6. Kobalt (Co) nanoyaprakların farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri .....	33
Şekil 4.7. Kobalt (Co) nanoyaprakların XRD ışınımı.....	33
Şekil 4.8. Kobalt (Co) Nanoyaprakların <i>D. magna</i> üzerinde ki Akut Toksikitesi.....	34
Şekil 4.9. Model Organizma ( <i>D. magna</i> ) Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Sitotoksitesi ....	37

## RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Bizmut sülfür $\text{Bi}_2\text{S}_3$ nanoçiçekleri (soldaki) ve Kobalt nanoyaprakları(Sağdaki).....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.2. Model organizma Sazan Balığı ( <i>Cyprinus carpio</i> ) (Orjinal) ..	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.3. Model organizma Su piresi ( <i>Daphnia magna</i> ) Orjinal .....	15
Resim 3.4. Bizmuth Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin Mikrodalga Destekli Hidrotermal Yöntemle Sentezlenmesi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.5. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Mikrodalga Destekli Hidrotermal Yöntemle Sentezlenmesi (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.6. SEM Cihazı Zeiss EVO LS10 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.7. FTIR JASCO 6700 model Fourier transform Cihazı (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.8. XRD Malvern Panalytical /Empyrean markalı Cihazı (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.5. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Mikrodalga Destekli Hidrotermal Yöntemle Sentezlenmesi (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.6. SEM Cihazı Zeiss EVO LS10 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.7. FTIR JASCO 6700 model Fourier transform Cihazı (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.8. XRD Malvern Panalytical /Empyrean markalı Cihazı (Orjinal) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Resim 3.9. Balıklardan kan alımı ve Mikronükleus Testi (Orjinal) .....	20
Resim 3.10. Tek Hücre Jel Elektrofrezisi (Comet Assay )Testi.....	22
Resim 3.11. Hücre Canlılığı (Tripan Mavis) Testi .....	22

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

### Simgeler

(Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O

°

°C

AU

Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>

Bi<sub>5</sub>O(OH)<sub>9</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>

CaCO<sub>3</sub>

cm

Co

DNA

DO

EMS

FAO

FT-IR

GHI

GSH

LC<sub>50</sub>

mg L<sup>-1</sup>

mL

mmol

MN

mV

### Açıklamalar

Cobalt(II) nitrate

Derece

Santigrat

Arbitrary Unit

Bizmut Sülfür

Bismuth oxynitrate

Klasiyum Karbonat

Santimetre

Kobalt

Deoksiribo nükleik asit

çözülmüş oksijen

Etilmetan sülfonat

Birlesmis Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi Analizi

Genetik Hasar İndeksi

Küresel Uyum Sistemi

Lethal Doz

Miligram/Litre

Mililitre

Milimol

Mikronükleus

Hız

OECD	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
pH	Potansiyel Hidrojen
rpm	Revolutions Per Minute (Dakikada Bir Devir Sayısı)
SD	Standart Sapma
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi
v:v	Hacimce 100 birim çözültide bulunan çözünenin hacimce kesridir
XRD	X ışını kırınımı
$\theta$	Sinüs
$\mu\text{l}$	Mikrolite



## 1. GİRİŞ

Dünya genelinde temiz su kaynakları temini giderek azalmaktadır. Nüfus artışı, hızlı sanayileşme ve şehirleşme, dünyadaki su tüketiminde önemli bir artışa neden olmaktadır. Dünya nüfusunun üç kat artması, su kullanımının da yedi kat daha fazla kullanılmasına sebep olmuştur. Çevre kirliliği, iklim değişikliği, su kaynakları üzerinde ciddi baskı yaratmaktadır Türkiye’de su kaynakları sorunlarının başlıca sebebi çevre kirliliği olup; bu durumdan payını alan; 2020 yılında yaklaşık 30 milyon insan olacağı, 2050 yılında ise bu verilerin yaklaşık üç katını bulacağı varsayılmaktadır. Ayrıca; 2025 yılında Dünya genelinde 1,8 milyar insanın daimi su kıtlığı olan bölgelerde yaşayacağı tahmin edilmektedir. Su stresi “**belirli bir zaman diliminde suya talebin su arzını aştığı**” durum olarak tanımlanabilmekle birlikte; Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ise su stres seviyesini; tatlı su tüketiminin mevcut tatlı su kaynaklarına oranı olarak tanımlamaktadır [1].

Birleşmiş Milletlerin hazırladığı rapora göre günümüzde 1 milyar insan su stresi olarak tanımlanan su kıtlığı limit değerinin altında yaşamaktadır. Ayrıca Dünya nüfusunun %20’lik bir diliminin ise temiz suya erişimi maalesef bulunmamaktadır. 2025 yılı hedef seçilerek yapılan tahminlere göre; 3 milyardan fazla insanın su stresine maruz kalacağı ve yaklaşık 15 ülkenin su stresinden su kıtlığı durumuna düşeceği varsayılmaktadır. Türkiye’de kişi başı düşen su miktarı Dünya ortalamasının altındadır. Türkiye, 1543 m<sup>3</sup>/yıl su miktarı ile su stresi yaşayan ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye “su azlığı” çeken bir ülke olup, gelecekte “su fakiri” olma tehlikesi altındadır. Su kaynaklarının yönetiminde sürdürülebilir olması için atık su yönetiminde önemli adımlar atılmaya başlanılmıştır [2].

Canlıları için vazgeçilmez olan suyun temiz ve güvenli olması önem arz etmektedir. Bu yüzden atık su arıtımının sürdürülebilirliği önemlidir. Teknolojinin ileri düzeylere her geçen gün gelmesiyle su kaynaklarında bulunan toksik maddelerin uzaklaştırılması önem arz eden konularından biridir. Atık suyun arıtılması çevreye kazandırılması uygun hale getirilmesi günümüz kirliliğinde elzem bir durum olmuştur. Atık su arıtımı önceden belirlenmiş su miktarlarının arıtılması olarak gerçekleşmekteydi. Oysaki yeni yapılan çalışmalar da insan ve çevre sağlığı üzerinde zararlı etkisi olmayan mikro ya da nano ölçekli arıtım proseslerini geliştirmeye yöneliktir [3]. Atık su arıtımı için etkin yöntemlerden olan biri olan kimyasal çökelme, iyon değişim, adsorpsiyon, membran filtrasyonu, elektrokimyasal işlemler kirlenici metal giderimi için uygulanan proseslerdendir. Diğer arıtma yöntemlerinden biri de biyolojik kökenli olan biyomateryallerin kullanımınıdır. Biyomateryallerin vasıtasıyla atık



suların kirleticilerden uzaklaştırılmasına biyosorpsiyon denilmektedir. Biyosorpsiyon tekniğinde tarımsal atıklar, bakteriler, algler ve yengeç, istakoz dan elde edilen uzaklaştırıcı biyomateryaller (biyoabsorban) kullanılmaktadır). Sürdürebilir su yönetimi ve atık değerlendirmede kimyasal ve biyolojik prosesler gibi (Adsorpsiyon, çöktürme, pıhtılaşma ve aktif çamur prosesleri, biyomateryal) geleneksel atıksu arıtma teknolojilerinin, düşük arıtma verimliliği, yüksek maliyet gibi birçok dezavantajı vardır. Bundan dolayı artık günümüzde eşsiz fizikokimyasal özellikleri, ekonomik yararları, verimlilikleri ve çevre dostu olmalarından dolayı, su kalitesi yönetiminde nanopartiküllere büyük ilgi gösterilmiştir[4].

Nanopartiküllerin trend sınıflandırılmasında olan; nanoçiçekler 4 – 20 µm aralığındaki mikro boyutlu olup; nano boyutlu yapraklardan oluşmaktadır. Nanoçiçeklerin diğer nanopartiküllere göre üstün yetenekleri vardır. Daha geniş yüzey alanına sahip üç boyutlu olmaları nedeniyle çeşitli işlevlerde da etkindir. Basit Hazırlama yöntemleri, yüksek kararlılığa sahiptirler. Çiçeğe benzer yapıda ki özellikleri ile su arıtımında diğer malzemelere göre daha fotokatalitik etkiyi daha kararlı sunmaktadırlar. Nanoparçacıkların sert yapıları, metalik iyonlar veya organik bileşen formları dahil olmak üzere toksisitesine katkıda bulunabilir. Nanopartiküllerin morfolojileri, göçü, konsantrasyonları ve dönüşüm süreçleri, sucul ekosistem ve çevre için risk oluşturabilir [5-6].

Nano Dünyada trend olan ve ilginç özelliklere sahip malzemelerden biri de ilingesel (topolojik) yalıtkanlardır. Bu tür malzemeler hem iki hem de üç boyutlu bileşiklere sahiptirler. “Maddenin ilingesel fazları ve ilingesel faz geçişlerinin teorik keşfi” isimli çalışmalarıyla 2016 Nobel fizik ödülünü alan bilim insanlarının [7] yaptıkları araştırmada spesifik olarak ilingesel yalıtkanlar üzerinde araştırma yapmışlardır. Kazandıkları Nobel Ödülü, ilingesel yalıtkanların önemini vurgulamaktadır. Dolayısıyla bu özellikleriyle keşfedilmeye hazır yeni nesil malzemeler için yeni uygulama alanları araştırmak popüler hale gelip bilim dünyasının dikkatini çekmiştir. İlingesel yalıtkanlar yüksek yük taşıma mobilitesine sahiptir, spintronik ve kuantum sızayışı analiz etme hesaplamada kullanılmaktadır. Bu özellikte ki malzemeler spin yörünge etkileşimi incelendiğinde, valans bandı ile iletkenlik bantlarının yerlerinin sıra değiştirdiği (bant evrilmesi -band inversion- olarak adlandırılır) tesit edildiğinden bahsetmişlerdir. Yalıtkanlıklarıyla ve kendilerine ait özel kimyasal ağ yapılarıyla iyi elektron ileten yapıya sahip olup teknoloji ve sağlık dünyasının gözde malzemeleri arasına girmişlerdir. Yüksek spin-yörünge enerji bant aralıklı ilingesel (maddenin süperiletkenlik, süperakışkanlık veya ince manyetik filmler gibi sıradışı fazlarda bulunma durumları)özelliğe sahip olan Bizmut Periyodik cetvelin 3 A Grubundadır.

Ayrıca III-A grubu elementlerinin Bizmut ile yaptıkları (X-Bi, X-Bi<sub>3</sub>; X=Ga, In) bileşikler bu konuda dikkat çeken malzemeler arasında bulunmaktadır. Bizmut yapısal özellikleri nedeniyle elektroseramik, oksijen dedektörü, nanofiber teknoloji, algılama sistemlerinin gaz miktarının tespitinde, su arıtımında yüksek fotokatalitik özelliğinde bulunmasından dolayı fotokatalizör olarak ve son olarak da yakıt hücreleri ve gaz sensörleri olarak karşımıza çıkmaktadır [8].

Diğer önemli tez de kullandığımız elementlerden kobalt; Periyodik cetvelin 4. periyot VIII B grubunda yer alan sembolü Co ve atom numarası 27'dir. Kobalt nanomalzemeleri kristal, yüksek zorlayıcılık, orta derecede doyumluk manyetizasyonu, kimyasal kararlılık ve mekanik sertlik gibi benzersiz özelliklere sahiptir. Kobalt nanomalzemeler özellikleri yönüyle önemli nanomalzemelerden biridir. Bu nanomalzeme katalizörler, enerji depolama, elektrokimya, sensörler, manyetizma ve su arıtma sürecinde organik kirleticilerin azaltılması gibi çeşitli alanlarda önemli uygulamalara sahiptir. Kobalt nanomalzemeler katalizörler, enerji depolama, elektrokimya, sensörler, manyetizma ve su arıtma sürecinde organik kirleticilerin azaltılması gibi alanlarda çeşitli önemli uygulama sahalarına sahiptir. Aynı bu nanopartiküller antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antifungal ve enzim inhibisyon özellikleri göstermektedir [9]. Ticari ürünlerde yaygın olarak kullanılan bu nanoparçacıklar, kimyasal stabilizeye ek olarak yüksek adsorpsiyon kapasitelerine sahiptir. Nanopartiküllerin yaygın kullanımı, sucul ekosistemlere deşarj olma potansiyellerini artırmaktadır. Ayrıca, bu nanopartiküller antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antifungal ve enzim inhibisyon özellikleri gösterir [10]. Ticari ürünlerde yaygın olarak kullanılan bu nanoparçacıklar, kimyasal stabilizeye ek olarak yüksek adsorpsiyon kapasitelerine sahiptir. Nanopartiküllerin yaygın kullanımı, sucul ekosistemlere deşarj olma potansiyellerini artırmaktadır. Günümüzde yeni nesil mazleme teknolojisinin önemli sınıflarından nanomateryaller ilgili nanotoksikolojik veriler ile ilgili çalışmalar yapılmaya başlamıştır ancak yeterli sayıda Nanopartiküllere maruziyeti akuatik canlılar için henüz netlik kazanmamıştır. Nanotoksikoloji bilim dalı multidisipliner bir bilim dalı olup malzeme teknolojisi ve jeolojik bilimler, kolloid kimya teknolojisini, genotoksikoloji içermektedir. Nanotoksikoloji çalışmaları genellikle nanomalzemelerin çevreye olan potansiyel risklerini değerlendirmek için yapılmaktadır [11-12]. NM'lerin doğrudan veya dolaylı olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine yol açarak oksidatif strese birlikte genotoksik veya sitotoksik etkiye neden olabileceği birçok çalışmalar da bildirilmiştir. Bu etki, pro-oksidan fonksiyonel grupların varlığına bağlı olabilir. Bazı nanomalzemeler, reaktif yüzeyleri veya NM-hücre etkileşimleri

nedeniyle gen mutasyonlarının indüklenmesi, DNA sarmal kırılmaları ve kromozomal fragmentasyon gibi DNA hasarına neden olabilir. Ayrıca birçok literatür çalışmaları NM'lerin tamamlayıcı proteinleri, ROS'u ve reseptör kaynaklı nekroz/apoptoz gibi toksik yan ürünleri indükleyerek enflamasyonu indüklediğini, toksisiteye neden olduğunu ve hücre ölümünü teşvik ettiğini bildirmiştir [13-14]. Bu bileşiklerin ekosisteminin biyolojik ve çevresel unsurları ile etkileşimi önemli bir endişe kaynağı olsa da, bu nanomalzemelerin risk ve toksisite değerlendirmesi hakkında sınırlı bilgi vardır. Literatürde özellikle nanomalzemeler arasında nanoçiçeklerin ekolojik olarak değerlendirilmesine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır [15].

Farklı model organizmalardaki farklı nanomalzemelerin etkisini anlamak ve sucul ekosistem için suda güvenli kullanımlarına yönelik düzenlemeleri ve sınırlamaları belirlemek için nano-toksisite testleri oldukça gereklidir. Birçok çalışma, balıkların sucul ekosistemdeki toksisiteyi değerlendirmek için iyi bir model organizma olduğunu doğrulamıştır. Çünkü balıklar ksenobiyotikleri metabolize edebilmektedir ve kirleticilere karşı hassastır [16]. Ayrıca, balıklar çeşitli kirleticileri biyolojik olarak biriktirebilir. Biyo-akümüle olmaları sebebiyle çevre kirliliği çalışmalarında potansiyel risklerin tahmini için en uygun model organizmalardan biridir [17-18].

Diğer önemli model organizmalardan biri; su piresi (*Daphnia magna*)' dir. Tatlı su sucul canlılar arasında model organizmalardan biri olan daphniaların, diğer organizmalara kıyasla çevresel kirleticilere karşı nispeten yüksek duyarlılığa sahip olduğu bilinmektedir. *Daphnia* türlerinin in vitro ortamında yetiştirilmenin kolaylığı ve bulunduğu ortamda ani değişikliklere karşı yüksek duyarlılığa sahiptir. Besin zincirinin önemli halkalarından biri olan Daphnialar bu yüzden ideal model organizmalar arasındadır. *Daphnia magna*, birçok bilim insanı tarafından akuatik toksikoloji çalışmaları amacıyla seçilmiştir [19-20]. *Daphnia*'daki genlerin sayısı insanlara oranla daha fazla olması moleküler ve toksikolojik çalışmalarda önemini arttırmaktadır. Genotoksikolojik çalışmalarda toksisite testlerini rat ve fareler üzerinde uygulamaya gerek kalmadan problemlerin çözülmesine yardımcı olabilmektedir [21]. *D. magna*, nanopartiküllerin hem kimyasal hem de nanopartiküle özgü toksisitesini ele almak için uygun özelliklere sahiptir.

Son yıllarda nanoçiçeklerin endüstriyel uygulamalarda üretimi ve potansiyel kullanımı yoğun bir şekilde çalışılmaktadır [22-23-24-25-26]. Tüm bu değerli araştırmalara rağmen, nanoçiçeklerin potansiyel toksisitesi veya hem su ekosistemleri hem de çevre üzerindeki

olası etkileri hakkında yapısal bir bilgi yoktur. Bu husus araştırılması gereken önemli bir konudur çünkü nanoçiçeklerin yapısı potansiyel toksisitelerini etkileyebilir[15]. Nanoçiçekler gibi çeşitli nanopartiküllerin kullanımının artması ve çeşitli organizmalar üzerindeki etkilerine ilişkin yeterli bilgi mevcut değildir. Bu nedenle nanoçiçeklerin toksik etkilerine ilişkin çalışmaların yapılması büyük önem taşımaktadır. Yapılan literatür çalışmalarında bizmut sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) ve kobalt (Co) nanoyaprakların model organizmalar üzerindeki olası nanotoksikolojik etkilerini ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı; Atıksu arıtımında yaygın olarak kullanılan bimumsülfür ve kobalt nanopartikülleri sentezlemek, sucul ekosistem de ki olası çevresel davranışlarını açıklamak ve model organizmalar üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerini analiz etmektir.

## **1.1. Atıksu Arıtımı ve Nanomalzemelerin Kullanımı**

### **1.1.1. Nanomalzemeler ve suda nanopartiküllerin davranışları**

Nanoteknolojinin yol almasıyla nanomalzemelerin kullanımının ve kullanım sahalarının günden güne artması, bu malzemelerin çevreye kontrolsüzce salınımına neden olmaktadır. Bu bağlamda yeni nesil malzemelerin ekotoksitesini araştırmak ve belirlemek son yıllarda trend konulardandır. Metal atomların ve iyonların çözünebilme kapasitesi, toksik etki bakımından tahmin edilebilmektedir [27]. Nanopartiküllerin çevreye salınımından kaynaklanan toksik etkileri ile ilgili çok az bilgiye rastlanılmaktadır. Nanopartiküllerin çözünmesi de-agregasyonun neden olduğu agrega içindeki parçacıklar olarak nanopartiküllerin agregasyonunu etkileyebilir [28]. Nanopartikül agregasyonu yüzey kimyasını etkileyebilir, boyut ve yoğunluk anlamında değişikliğe sebebiyet verebilmektedir. Bu sorunların, çözünme üzerine nanoparçacık agregasyon etkisi ve agregasyon üzerine nanoparçacık çözülme etkisi yeterince iyi anlaşılammıştır ancak önemli olan nanopartikül hareketliliğinin çevreye olan etkileri açısından daha geniş bir bağlamda anlaşılmasının sağlanmasıdır. Nanopartiküllerin canlıyla etkileşimi sulu faz yoluyla gerçekleşebilmektedir. Soluduklarında ciğer içine alınmaları ve ağız yoluyla alınmaları, tükürük ve mide-bağırsak sistemindeki diğer sıvıların aracılığıyla kan plazmasına ulaşmasına neden olur [27-29-15].

Nanomalzemelerin çevresel etkilerini anlaşılması yüzey ligand yer değiştirme etkileri konusunda iyi bir bilgiye sahip olmayı gerektirir. Nanopartiküllerin hücre zarından

fizikokimyasal özelliklerinden dolayı kolay geçebilme yeteneği, DNA veya RNA gibi nükleik asitlerin taşıyıcıları olarak birçok alternatif yöntemde yarar sağlamaktadır [30].

Nanotaşıyıcılar, terapötik etkinliğin artırıcı özellik taşımasından ilerde gelecek vaad ettiği düşünülmektedir. Nanotaşıyıcı sistemler akıllı ilaç teknolojisinde kilit nokta olacağı varsayılmaktadır [31]. Bu bağlamda Küresel Nanoteknoloji Piyasasına bakıldığında nanoteknolojik faaliyetler yılda yaklaşık olarak %5 artarak ekonomik sahada kendini göstermektedir. Ayrıca 2016 yılından günümüze kadar olan süreçte yılda yaklaşık %17,5 artmış beraberinde bazı endişeleri de getirmiştir [27].

Nanoteknolojinin sektörel açıdan tüm dünya da ilgi odağı olması bu malzemelere maruz kalan canlı sayısında da dramatik şekilde artış kazanmasına neden olmuştur. İnsan ve Çevre Sağlığı üzerindeki zararlı etkileri yeni yeni ortaya çıkan ve asbest benzeri özellik gösterdiği kanıtlanan bu malzemelerin kullanımı, taşınması ve en önemlisi üretimi esnasında alınması gereken önlemler büyük önem taşımaktadır. Nanomateryaller ile ilgili risklerin değerlendirilmesi konusunda literatür yetersizliği nanotoksikolojik çalışmaların gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır [29]. Yine yapılan çalışmalar nanopartiküllerin akuatik ve karasal canlılarda hücre membranlarından geçerek kan yoluyla taşınabildiğini ve hedef dokularda birikerek toksik etkiler neden olduğu tespit edilmiştir. Yaş grubu fark etmeksizin nanopartiküllere maruziyet ciddi sağlık problemlerini beraberinde getirmektedir. Nanopartiküller organizmaya maruziyetinden sonra yarılanma ömürleri uzun olduğundan biyobirikime sebep olduğu düşünülmektedir. İlâveten nanopartikül boyutlarına bakıldığında küçük boyutlu olan yapının daha çok zarar verdiği saptanmıştır. Nanomateryallerin üretim ya da kullanım sırasında maruziyet sonrasında bu partiküllerin sebep olduğu genetik hasarların da çeşitli test methodlarıyla geliştirilmesi gerekmektedir. Son zamanlarda bu maddelerin toksik ve genotoksik potansiyellerinin ne olduğu konusuna merak giderek artmakta in vivo ve in vitro test sistemlerinde nanomateryallere ilişkin sitotoksikite, genetik materyal (DNA) hasarı, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu ve genotoksikite çalışmaları yapılmaktadır [32-17-18].

Nanopartiküllerin bazı hastalıkların gelişmesinde aktif olarak rol oynayabilen inflamasyona, oksidatif strese sitotoksikite, DNA hasarı gibi istenmeyen etkilere yol açtığı bildirilmiştir [33-29]. İstenmeyen etkileri önleyebilmek için yeni nanomalzeme bilim ve teknolojilerinin güvenli kullanımını sağlamak oldukça önemlidir.

## 1.2. Nanoçiçek (Nanoflower) ve Nanoyapraklar (Nanoleaves)

Nanopartikül yapılarının arasında farklı yapıya sahip olan, nanoçiçekler (nanoflower) 100-500 nm nanoölçek aralığında bitki çiçeklerine yapısal benzerlik gösteren gelişmekte olan nanopartikül çeşitidir [34]. Nanoçiçek üzerine yapılan araştırmalar, organik, inorganik malzemelerden basit sentez yöntemiyle önem kazanmakta ayrıca stabilitesini ve verimliliğini artırmak için hem organik hem de inorganik malzemelerin bir kombinasyonundan oluşmaktadır. Nanoçiçekler ve nanoyapraklar kataliz, biyosensörler ve biyoteknolojik ilaç teknolojilerinde kullanılmaya başlanmaktadır [35].

Bir ve iki boyutlu örnekleriyle kıyas edildiğinde üç boyutlu nanomalzemeler katalizör yönünden daha aktiftir. Fiziksel yapısında bol gözeneklerinin bulunması reaktifliklerini arttırmakta ve geri dönüşümü kolay olmaktadır [36-34].

### Nanoçiçeklerin ve Nanoyaprakların Genel Olarak Özellikleri

- Katalitik Aktivite,
- Kararlılık,
- Seçicilik,
- Düşük Toksikite
- Sudaki Çözünürlüğüdür.

Bu nedenle çeşitli bilimsel ve teknik alanlarda kullanılmaktadır [36- 6].

Nanoçiçekler (nanoflowers) son zamanların en trend nanomalzemesi olup yaprakları ve boyut yapılarından dolayı reaksiyonlarda verebilecekleri etki tepki mekanizmalarını kontrol etmek malesef ki zordur. Bu yapıların sentezlenmesi esnasında toksik organik çözücüler, yüksek basınç ve yüksek sıcaklık gibi çok zorlu koşullar gerekebilir [37-38]. Geleneksel yöntemlerden farklı olarak organik-inorganik hibrit nano yapıların sentezlenmesi ile etkililiği ve dayanıklılığı arttırılmış farklı türde materyallerin oluşturulabileceği gösterilmiştir. Sentez reaksiyonları sonucunda oluşan bu yeni formlara “çiçek şekilli nano yapılar - nanoçiçekler” ismi de ilk kez belirtilerek “Flower-Like Nanostructures, Nanoflowers” terimi literatüre kazandırılmıştır [39]. Bu yapılar organik-inorganik hibrit nanoparçacıklar olup, kolay sentezlenebildikleri ve küresel şekilli nanoparçacıklara kıyasla daha geniş yüzey alanına sahip oldukları için reaksiyonlardaki yüksek verimleri ve enzimleri stabilize etme yetenekleri nedeniyle oldukça dikkat çekmişlerdir [38].

Nanoyapraklar (Nanoleaves) ise bazı uygulamalarda performanslarını artıracak mikro gözenekler içerir; örneğin, bu gözenekler, reaktant moleküllerin yüzeyin aktif bölgelerine doğru kayması için daha verimli bir yol sağlar. Bu gözeneklerin performanslarının yüksek olması sensör teknolojisini daha ileri seviyeye taşıyacağı düşünülmektedir. Ayrıca Elektrokimyasal değerlendirmelerin analiz sonuçlarına bakıldığında nanoyaprakların; yüksek hassasiyet, geniş doğrusal aralık ve düşük algılama limitine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, vericilerin meydana getirdiği dalgaların haricinde elektrik yüklerinin aktifliğinden kaynaklanan ve bu dalgaların ilettiği akımı bozan numunelerin saptanmasında anti-girişimi yapısı gösterdiği saptanmıştır. Nanoyaprakların kolay sentezlenme özelliğine sahip olup düşük maliyetle ortaya çıkması gelecekte bir çok uygulamada kullanabileceği fikirlerini ortaya çıkarmaktadır [6]. Nanoteknoloji, su arıtma, koruma ve yeniden kullanım için temiz içme suyunun sürdürülebilir mevcudiyetini ve su kaynaklarının korunmasını sağlama vaadine sahiptir. Nanoteknoloji deki mevcut ilerlemeler, su kalitesiyle ilgili birçok sorunun, uygulandıkları sahalarla umut vaat etmektedir. İleri malzeme teknolojisi hamlesiyle günümüzde hemen hemen her sahada kullanılan nano bazlı malzemeler, umut verici teknolojik gelişmelerin yanı sıra, canlılar için potansiyel sağlık riskleri ciddi anlamda araştırılmalı ve bu konuda ki literatür eksiklikleri giderilmelidir [17].

### 1.3. Nanotoksikoloji

Nanoteknolojik gelişmelerin çoğu henüz erken bir aşamada olmasına rağmen, özellikle ‘**Biyoteknolojik İlaç Teknolojileri**’ açısından büyük bir geleceğe sahip olması beklenmektedir. Günümüzdeki nanomalzemeler, yeni görüntüleme yöntemlerinde (X-ışını teşhisi veya manyetozonans tomografi) doku mühendisliğinde, akıllı ilaç teknolojileri sektöründe kullanılmaya başlanmıştır. Salgın hastalıkların çözümünde devrim yaratabilecek özel kaplamalı nano parçacıklarının hedef organa isabeti için gelişmeler devam etmektedir. İnsanlar için tasarlanmış günümüz harikası yeni nesil nano malzemelerin tehlikelerini doğru bir şekilde tahmin etmek için, potansiyel maruziyetlerini ve toksisitelerini bilmek gereklidir. Nanopartiküllerin; canlılarda ki moleküler, hücresel etkilerini inceleyip ekosistemdeki verdiği zararı kapsayan multidisipliner bilim dalı olan nanotoksikolojinin genel kabul gören ilkesi:  $Risk = Tehlike \times Maruziyet$  şekilde değerlendirir [40]. Çeşitli nanopartiküllerle ilgili son yıllarda yapılan literatür çalışmaları aşağıda verilmektedir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türkez ve diğerleri [41], yaptıkları araştırmada insan kan hücrelerinde bizmut trioksit ( $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ), trifenil bizmut (TPB), koloidal bizmut subsitrat (CBS) ve bizmut subnitrat (BSN)erkek sıçanlara farklı konsantrasyonlarda (100,200,400, 500,1000 $\mu\text{g/L}$ ) uygulamışlar. CBS enjeksiyonlarından sonra sıçanlara farklı aralıklarla (24, 48 ve 72 saat) anestezi uygulamışlar. Serum enzim seviyeleri belirlemişler. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP) ve kreatin kinaz (CK) seviyeleri, zamana bağlı olmaksızın tüm CBS maruziyetinden sonra miktarlarında artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Tüm bizmut dozları, 72 saat sonra laktat dehidrojenaz (LDH) serumunu önemli ölçüde etkilediğini gözlemlemişler. ALT ve LDH üzerinde toksik etki gözlemlemişler.

Abudayyak ve diğerleri [42], inceledikleri çalışmada karaciğer (HepG2 hepatokarsinom hücresi), böbrek (NRK-52E böbrek epitel hücresi), bağırsak (Caco-2 kolorektal adenokarsinom hücresi) ve akciğer (A549 akciğer karsinom hücresi) hücre kültürlerinde.  $\text{Bi}_2\text{O}_3$  bizmut oksit nanopartiküllerinin sitotoksik ve genotoksik özelliklerini incelemişler. Haepatokarsinom hücresi (HepG2) ve Böbrek epitel hücresi (NRK-52E) hücrelerinde apoptoz saptamışlardır. Ayrıca diğer hücre kültürlerinde Akciğer Karsinom Hücresi ( A549) ve kolorektal adenokarsinom ( Caco-2 ) hücrelerinde nekroz olduğu gözlemlendi. Ayrıca, A549 hücresi hariç HepG2, NRK-52E ve Caco-2 hücrelerinde glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve 8-hidroksi deoksiganin seviyeleri önemli ölçüde hasar gözlemlemişlerdir.

Çiğerci ve diğerleri [43], yaptıkları araştırma da;  $\text{CoCl}_2$  nanopartikülünün *Eisenia hortensis* türünde olan maruziyetini incelemişlerdir. Mevcut çalışma *Eisenia hortensis* solucanlarının sölomositlerinde  $\text{CoCl}_2$  kaynaklı genotoksisiteyi alkalın comet assay (CA) ve mikronukleus (MN) testi ile değerlendirmişler. Solucanlar (her grup için  $n = 10$ ), LD50'yi bulmak için farklı  $\text{CoCl}_2$  konsantrasyon serilerine (100, 200, 300, 400, 500, 600 ppm) maruz bırakıldı.  $\text{CoCl}_2$  için LD50 226 ppm'de bulundu. Daha sonra 48 saatlik LD50 /2, LD50 ve 2XLD50 dozları kullanıldı. Komet ve mikronükleus test sonuçlarında DNA hasarında ve kromozomal anormalliklerde önemli bir artış ( $P < 0.05$ ) gösterdiğini tespit etmişlerdir. En yüksek DNA hasarı ve kromozomal anormallikler 2XLD 50 olan grupta fark edildiğini öne sürmüşler. Kullandıkları nanopartikülün  $\text{CoCl}_2$ 'nin *Eisenia hortensis* türünde DNA hasarını, sitokinez yetmezliğini ve kromozomal anormallikleri indüklediği sonucuna varmışlar. Uyguladıkları doz grupları (100, 200, 300, 400, 500, 600 ppm) sonucunda en



yüksek doz grubu 600 pmm' in solucanların DNA sında ciddi hasara yol açtığını tespit etmişlerdir.

Abudayyak ve diğerleri [44], çalışmalarında memeli hücrelerinde Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerin toksisitesini değerlendirmek için karaciğerde (HepG2 hepatokarsinoma hücresi), böbrek (NRK-52E böbrek epitelyal hücresi), bağırsakta (Caco-2 kolorektal adenokarsinoma hücresi) ve akciğerde (A549 akciğer karsinom hücresi) toksik etkilerini maruziyet sonrası değerlendirmişler. Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerin mitokondri ve lizozom üzerinde parçalanarak hücre canlılığını azalttığını tespit etmişler. Ayrıca maruziyet sonrası HepG2, NRK-52E ve Caco-2 hücrelerinde oksidatif hasar neden olduğunu bunun sonucunda yüksek oranda hücre ölümüne neden olduğunu belirtmişler. Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerin, tüketici ürünlerinde güvenlikleri konusunda endişe uyandırılması gerektiğini bu konuyla ilgili çalışmalara daha fazla yer verilmesi gerektiğini rapor etmişlerdir.

Lish ve diğerleri [45], *Artemia salina*'ya gümüş nanopartiküllerin ( AgNP )toksik etkisini çevresel koşullarla (Işık süresi değişimi, tuzluluk miktarında değişim vb.) birlikte değişimini ve farklı tuzluluklarda AgNP süspansiyonunun bireylere vereceği durumu değerlendirmişlerdir. Sonuçlara göre, 48 saat sonra AgNP'lerin konsantrasyona bağlı olarak % 35 tuzlulukta *A. salina*'nın (evre I ve II) toksik etki gösterdiği ve tuzluluk artışına bağlı olarak uygulanan doz konsantrasyonlarının daha toksisitenin arttığını bildirmişlerdir.

Koca ve diğerleri [46], Allisin (*Allium sativum*'un aktif bileşeni) ve Cu<sup>2+</sup> iyonlarıyla birlikte yeşil sentez methodunu kullanarak canlı üzerinde ki antimikrobiyal etkilerini çalışmışlardır. Cu nanoçiçeklerinin antimikrobiyal etkilerini tespit etmek için *Aeromonas hydrophila* (Gram-pozitif), *Vibrio parahaemolyticus* ve *Lactococcus garvieae* (Gram-negatif) içeren üç balık patojen bakterisini üzerinde ki etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda; MIC değerini, 151 g/ml olarak hesaplamışlardır. Ayrıca Allisin bazlı bakır nano çiçek yapılarının balık patojen bakterilerine (*Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Lactococcus garvieae*) ilişkin antibakteriyel özellikler gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Raju ve diğerleri [47], inceledikleri araştırmada Kobalt oksit nanopartiküllerinin Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> tatlı suda yetişen yenilebilir salyangoz *Pila virens* (*P. virens*) üzerindeki toksisitesini araştırmayı hedeflemişler. Akut toksisite çalışmaları için toplam 10 adet tatlı su salyangozu kullanmışlar. Yapılan çalışma da 96. saat sonrası LC50değerini 509,45 µg/L tespit etmişler. Sub akut toksite denemesinde 24 saat boyunca 2 farklı doz uygulamışlar. *Pila virens* 'te lipid peroksidasyonu, katalaz, glutatyon sülfotransferazda artış gerçekleştiğini saptamışlar. Diğer

enzimlere baktıklarında glutasyon ve glutasyon peroksidaz aktivitesinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu malzemenin toksik olduğunu tespit etmişlerdir.

Balasurya ve diğerleri [48], yaptıkları çalışmada 5-fluorourasil, karvedilol, *para* - klorofenol ve metimazolün üç boyutlu (3D)  $MnWO_4$  nanoçiçeklerinin modifiye  $Ag_2WO_4$  nanoçubuklar ile fotodegradasyon yöntemini kullanarak su arıtımında etkili olup olmayacağını incelemişler. Kullandıkları nanohibrit malzemeyle  $MnWO_4 / Ag_2WO_4$  ile görünür ışık ışınması altında 5-Fluorourasil (FU), karvedilol (Car), *para* - klorofenol (PCP) ve metimazolün (Met) fotokatalitik bozunumuna odaklanmışlardır. Ayrıca fotokatalitik etkisini değerlendirmek için XRD, TEM, EDS, XPS, ESR, EIS, BET ve DRS ile karakterize etmişlerdir. MWO/AWO nanohibritin bant aralığı enerjisinin 2.75 eV saptayıp, görünür ışık altında etkili fotokatalitik aktivitesini verimli olduğunu tespit etmişlerdir. Fotokatalitik işlem sırasında oluşan ara ürünler, GC-MS/MS ile analiz etmişlerdir. Bozunan ürünün toksisitesi, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*'ye karşı gerçekleştirilmişlerdir. Ayrıca nanohibritin *Allium cepa*'ya karşı genotoksik etkisini incelemişler sonuç olarak düşük toksisite gösterdiğini saptamışlardır. Sentezledikleri nanohibrit malzemenin sonuç olarak iyi stabilite, yeniden kullanılabilirlik, çevre dostu ve uygun maliyetli malzeme olduğunu ayrıca fotokatalist olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Rodriguez- Garraus ve diğerleri [49], yaptıkları Çalışma da Farelerde yeme ihalve edilen gümüş kaolin bazından oluşan malzemeyi eklemişlerdir. İn vivo ortam koşullarını sağladıktan sonra doz grupları sırasıyla 50, 300 ve 2000 mg/kg olup 28 günlük maruziyete bırakmışlardır. Farelerde 28 Günlük maruziyet sonrası doz gruplarını mikronükleus testi, comet testine tabi tutmuşlar. Sonrasında 28 gün boyunca oral yoldan 2000 mg/kg gümüş kaolin naomalzemesinin kemik iliğinde mikroçekerdekleri indüklediğini, veya herhangi bir dozda karaciğer, dalak, böbrek te DNA zinciri kırıklarına rastlamadıklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca farelere uygulanan en yüksek doz grubu olan 2000 mg/kg herhangi bir hasara karşı tüm hedef organlarda ICP-MS ile ölçülüp elde edilen sonuçlar negatif korelasyon olarak doğrulandığını bildirmişlerdir. Kullanılan malzemenin toksik olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Feswick ve diğerleri [50], yaptıkları incelemede *Daphnia magna* ve *Ceriodaphnia dubia* da ki kuantum noktalardan sentezlenen PEG,  $NH_2$  ve  $COOH$  malzemelerinin 24 saat maruziyetten sonra bağırsak da ki birkimilerini incelemişler. Sonrasında birkimin depurasyonunu sağlamak için 4 saat boyunca malzeme olmayan suya daldırma işlemi

gerçekleştirmişler. *C. dubia*, 24 saat boyunca birikmiş olan PEG'nin %69,1'ini, NH<sub>2</sub>'nin % 59,2'sini ve COOH QD'lerin % 49,1'ini salınımını gerçekleştirmiş olup; 24 saatlik temizlemeden sonra, PEG ve NH<sub>2</sub> QD konsantrasyonları, toplam QD vücut yüklerinin %87,1'ini ve % 84,2'sini depurasyon yapmıştır. Araştırmacılar ışık mikroskopunda model organizmaların sindirim sistemini incelemişler; malzeme kalıntısının olmadığını hatta dışı bireylerde yumurta birikimi olduğunu saptamışlar.

Farsi ve diğerleri [20], OECD yöntemi (202) kullanılarak, *Daphnia magna*'larda Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ve Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıklarının farklı konsantrasyonları akut toksitesini incelemişlerdir. Demir oksit ve kobalt oksit NP'lerin LC 50'si, belirlenmesi için 96 saat sonra Probit yöntemiyle analiz etmişlerdir. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> için LC50değerini 163,21 mg L<sup>-1</sup> bulup diğer malzeme Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkları için 121,04 mg L<sup>-1</sup> bulmuşlardır (p<0,05). USEPA'nın toksik sınıflandırma kriterlerine göre LC50değeri 100 mg L<sup>-1</sup> 'in üzerinde olan nanopartiküller, suda yaşayan hayvanlar için daha düşük akut toksisiteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Kullandıkları nanoparçacıkların demir oksitin kobalt oksite göre daha az toksik etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Zhu ve diğerleri [51], *Daphnia magna* ya sırasıyla 0,1; 1,0 mg L<sup>-1</sup> Titanyum oksit' e 24 saat maruz bırakılmıştır. *Daphnia magna* da TiO<sub>2</sub> in biyobirikimini Michaelis-Menten kinetiği formülüyle hesaplayıp; besin zinciri tarafından zebra balığına (*Danio rerio*) transferini saptamışlardır. Deneme süresince 0. gün (kontrol olarak), 1, 3, 5, 7, 10, 14. gün (maruz kalma süresi) ve 15, 17, 19, 21. gün (depurasyon süresi) sonrasında balık örnekleri almışlardır. Sonuç olarak yaptıkları hesaplamada nanopartiküllerin sadece su salınımından değil yem olarak prey predator ilişkisinden de transfer olacağını bu yüzden nanomalzemelerin toksik değerlerinin bilinmesi gerektiğini savunmuşlardır.

Eşkin ve diğerleri [15], inceledikleri araştırma da model organizma olarak *Galleria mellonella*'da (Lepidoptera: Pyralidae) bakır fosfat nanoçiçeklerinin (p-CPnfs) (100, 500, 1000, 2000, 6000 ppm) doz gruplarında hemositler ve enzimatik tepkiler üzerindeki etkilerini araştırmışlar. Bakır Fosfat nanoçiçeklerinin yüksek dozda *G. mellonella* üzerinde etki gösterip; hemositler ve hemolenf asetilkolin esterase (AChE), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzimlerinin aktivitelerinin arttığını tespit etmişler.

Altınkaynak ve diğerleri [52], yaptıkları çalışma da Organik-inorganik hibrit nanoçiçek sentezi için organik bileşen olarak *Trigonella foenumgraecum* L. bitkisi tohum ekstresi ve inorganik bileşen olarak bakır iyonları kullanılarak bir çeşit yeşil sentez methodu

kullanmışlardır. Nanoçiçekler; *Pseudomonas aeruginosa* ve *Haemophilus influenza* dışında *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* ve *E. coli* türlerine karşı antibiyotikler ile kıyaslandığında yüksek düzeyde antimikrobiyal özellik tespit etmişlerdir. Ancak hem hibrit nanoçiçekler hem de serbest ham bitki ekstresi, *Candida albicans* ve *Candida glabrata* türlerine karşı antifungal aktivite tepkisi vermediğini saptamışlardır.

Bor ve diğerleri [53], yaptıkları çalışmada, Organik-inorganik nanoçiçeklerin ve bitkilerin metanollü ekstralarının karşılaştırmalı olarak cilt hastalıklarında önemli yere sahip olduğuna dair hyaluronidaz ve jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enzimlerinin inhibisyonuna yönelik genotoksikolojik çalışma yapmışlardır. Bu ekstralardan hareketle, bakır ve çinko iyonları kullanılarak iki farklı organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapıları sentezlenmiştir. Hyaluronidaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibitör aktiviteye *P. americana*'nın çinko hibrit nanoçiçek yapısı; jelatinaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibisyona ise *E. arvensis*'nin bakır hibrit nanoçiçek yapısının sahip olduğu tespit etmişler. Bu durumda çinko hibrit nanoçiçek yapısının genotoksik incelenmesinde bakır hibrit nanoçiçek yapısına oranla teranopatik ve biyoyumlu olduğunu saptamışlar.

### 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Denemede Kullanılan Nanomalzemeler

Bu tez çalışmasında nanoteknoloji endüstrisinde oldukça değerli olan bizmut sülfür  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçekleri ve Kobalt nanoçiçekleri Yıldız Teknik Üniversitesi, Bakırdere Research Laboratuvarı 'nda sentezlenmiştir (Resim 3.1).



Resim 0. Bizmut sülfür  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçekleri (soldaki) ve Kobalt nanoyaprakları (sağdaki)

#### 3.2. Denemede Kullanılan Model Organizmalar

##### 3.2.1. Sazan (*Cyprinus carpio*)

Bu tez çalışmasında deney hayvanı olarak *Cyprinus carpio* (L. 1758) türü Sazan balığı kullanılmıştır. Denemede kullanılan sazan balıklarının ortalama ağırlığı  $4,13 \pm 0,19$  g ve ortalama toplam uzunluğu ise  $4,4 \pm 1,1$  cm olup sistematikteki sınıflandırılması aşağıda verilmiştir (Resim 3.2).

**Üst Takım:** Teleostei

**Takım:** Cypriniformes

**Alt Takım:** Cyprinoidei

**Aile:** Cyprinidae

**Cins:** Cyprinus

**Tür:** *Cyprinus carpio*



Resim 0. Model organizma Sazan Balığı (*Cyprinus carpio*) (Orijinal)

### 3.2.2. Su piresi (*Daphnia magna*) (Straus, 1820)

Bu tez çalışmasında model organizma olarak tatlı su mikrokrustesası olan su piresi *Daphnia magna* kullanılmıştır (Resim 3.3). Denemede kullanılan su pireleri ortalama 3 mm boyutlu olup sistematikteki sınıflandırılması aşağıda verilmiştir.

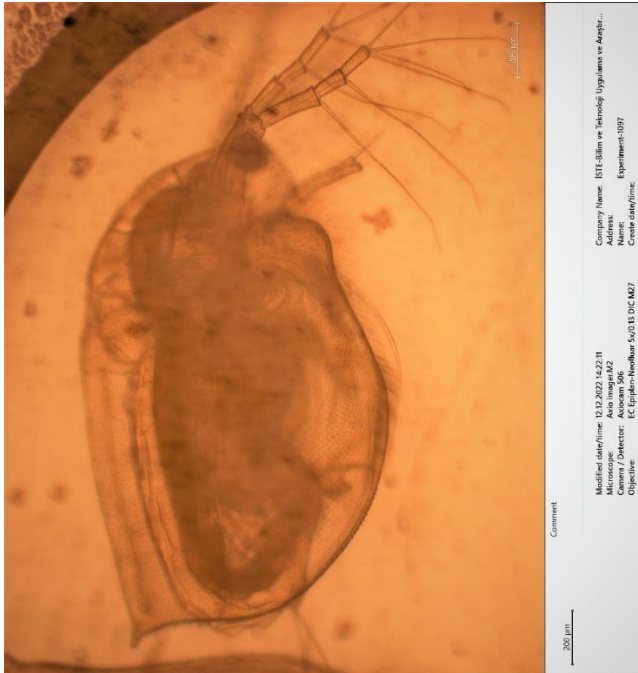
**Şube:** Arthropoda

**Takım:** Crustacea

**Aile:** Daphniidae

**Cins:** *Daphnia*

**Tür:** *Daphnia magna*



Resim 3.3. Model organizma Su piresi (*Daphnia magna*) Orijinal

### 3.3. Yöntem

#### 3.3.1. Nanomalzemelerin sentezi

##### Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin sentezi

Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçekleri, mikrodalga destekli hidrotermal yöntemle Chen ve diğerleri [54] modifiye edilerek sentezlenmiştir. Başlangıçta 0,50 mmol  $\text{Bi}_5\text{O}(\text{OH})_9(\text{NO}_3)_4$  ve 6,02 mmol tiyoüre, bir beher içinde 25 mL deiyonize su ve etilen glikol karışımı (1:3, v:v) içinde çözülmüştür. Çözelti manyetik karıştırıcı yardımıyla 1000 rpm'de oda sıcaklığında 1 saat kuvvetlice karıştırılmıştır. Daha sonra beher beher 5 mL deiyonize su ve etilen glikol karışımı ile yıkanarak beyaz renkli süspansiyon TEFLON kaplara alınmıştır.  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçekleri oluşturmak için bir mikrodalga sisteminde 60 dakikalık bir sıcaklık programı uygulanmıştır. Programa göre sıcaklık oda sıcaklığından 100 °C'ye 5 dakikada çıkarılmış ve 10 dakika bu sıcaklıkta tutulmuştur. Ardından diğer 5 dakikada sıcaklık 165 °C'ye ulaşmış ve 30 dakika aynı sıcaklıkta tutulmuştur. Son olarak 10 dakika ventilasyon yapılmıştır. Siyah renkli çökelti temiz bir test tüpüne alınarak daha iyi çökmesi için 3 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Ardından numune, test tüpünün tabanındaki tüm  $\text{Bi}_2\text{S}_3$ 'ü toplamak için 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant boşaltılıp ve nanoçiçekler ultra saf su ile yıkanarak üç defadan fazla santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra nanoçiçekler tam kuruma için 72 saat 55-60 °C'de etüvde bekletilmiştir. Kullanmadan önce, nanoçiçekler bir havanda öğütülerek toz formu elde edilmiştir.

##### Kobalt (Co) nanoyaprakların sentezi

Kobalt (Co) nanoyaprakları, mikrodalga destekli hidrotermal yöntemle Chen ve diğerleri [54] den modifiye edilerek sentezlenmiştir. Başlangıçta 0,50 mmol  $(\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ , 6,02 mmol tiyoüre, bir beher içinde 25 mL deiyonize su ve etilen glikol karışımı (1:3, v:v) içinde çözülmüştür. Çözelti manyetik karıştırıcı yardımıyla 1000 rpm'de oda sıcaklığında 1.0 saat kuvvetlice karıştırılmıştır. Daha sonra beher 5,0 mL deiyonize su ve etilen glikol karışımı ile yıkanarak beyaz renkli süspansiyon TEFLON kaplara alınmıştır. Kobalt nanoyaprakları oluşturmak için bir mikrodalga sisteminde 60 dakikalık bir sıcaklık programı uygulanmıştır. Programa göre sıcaklık oda sıcaklığından 100 °C'ye 5 dakikada çıkarılmış ve 10 dakika bu sıcaklıkta tutulmuştur. Ardından diğer 5 dakikada sıcaklık 165 °C'ye ulaşmış ve 30 dakika aynı sıcaklıkta tutulmuştur. Son olarak 10 dakika ventilasyon yapılmıştır. Siyah renkli

çökeltiler temiz bir test tüpüne alınarak daha iyi çökmesi için 3 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Ardından numune, test tüpünün tabanındaki tüm kobalt nanoyaprakları toplamak için 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant boşaltılıp ve nanoçiçekler ultra saf su ile yıkanarak üç defadan fazla santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra nanoyapraklar tam kuruma için 72 saat 55-60 °C'de etüvde bekletilmiştir. Kullanmadan önce, nanoyapraklar bir havanda öğütülerek toz formu elde edilmiştir [55].

### 3.4. Nanomalzemelerin Karakterizasyonu

Nano yapıları malzemelerin nanotoksik etkileri üzerinde, kullanılan malzemelerin parçacık numarası, yükleri, boyutları, boyut dağılımları, yüzey alanları, yapıları ve şekilleri ile kümeleşme durumları [56] ve ayrıca konsantrasyon oranı gibi birçok faktör önemli etkiye sahiptir. İn-vivo veya in-vitro koşullar altında tüm nanotoksikolojik araştırmalarda bu faktörleri belirlemek gerekir. Bu nedenle, tez kapsamında sentezlenen nano malzemelerin bu ayırt edici özellikleri saptamak için; XRD, SEM, FTIR analizleri yapılmıştır.

#### Taramalı elektron mikroskopu analizi (SEM)

İskenderun Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi nde SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Bizmut sülfür ve Kobalt nanoparçacıklarının SEM görüntülerini elde etmek için Zeiss EVO LS10 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) kullanılmıştır. SEM ölçümlerinden önce nanoparçacıklara bir Au-Pd kaplaması sağlamak için bir otomatik kaplayıcı kullanılmış ve kaplama işlemi toplam beş dakika sürmüştür, vakum sisteminde gerçekleştirilmiştir.

#### Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi analizi

İskenderun Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi nde FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir. FTIR ölçümleri için katı  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  ve Co nanoçiçekleri kullanılmıştır. Örneklerin FTIR spektrumlarını elde etmek için JASCO 6700 model Fourier transform kızılötesi spektrofotometrede 4000 - 400  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında tekrarlı ölçümler yapılmıştır. Çözünürlük, 2 mm/s tarama hızında 16 tarama için 4  $\text{cm}^{-1}$  olarak ayarlanmıştır. Alet, TGS detektörü ile donatıldı ve ölçümler için bir elmas kristal yerleştirilmiş ekipmanla zayıflatılmış bir toplam yansıtma (ATR) modu kullanıldı. FTIR spektrumu, ATR PRO I kullanılarak analiz edilmiştir.



### X ışını kırınımı (XRD)

İskenderun Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi nde Malvern Panalytical /Empyrean markalı cihazda Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> ve Co nanopartiküllerin XRD analizleri gerçekleştirilmiştir. XRD paterni, oda sıcaklığında bir Cu-K radyasyon kaynağı takılmış bir PANalytical X'Pert Pro analiz cihazı kullanılarak elde edildi. Tarama açısı 2θ, 5° ile 90° aralığında olacak şekilde ayarlandı ve kademeli tarama hızı, 45 kV ve 40 mA'da 40 s olarak ayarlanmıştır.

### **3.5. Deneme Ortamının Hazırlanması**

Model organizma olarak kullanılan Sazanlar biyodenyler başlatılmadan önce 80×40×20 cm boyutlarındaki 20-litrelik cam akvaryumlarda iki hafta süre ile tutularak ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Adaptasyon sürecinde %28 Ham protein içeriğine sahip sazan yemleriyle günde bir kez yemlenmiştir. OECD method 202 [57-58] kurallarına uygun olarak ortam şartları sağlanmıştır.

Model organizma olarak kullanılan diğer tür olan Su piresi (*Daphnia magna*) biyodenyler başlatılmadan önce 500 ml lik ölçülerdeki cam beherlere yerleştirilmiştir. OECD method 202 [59-58] adaptasyon süresince pH (8,28-8,42), sıcaklık (20 - 22° C), çözülmüş oksijen (DO) (4,5-5,5 mg L<sup>-1</sup>). Ayrıca toplam sertlik (CaCO<sub>3</sub>), 170 mg L<sup>-1</sup>, ışık süresi aydınlık/karanlık 16:8 şeklinde uygulanmıştır [59-58]. Su pirelerine yem olarak karışık alg (*S. subspicatus*) kültürü verilmiştir. Akut ve sub akut toksisite deneylerinde, yumurtadan yeni çıkış yapmış olan (neomate) (24 saatten daha küçük) bireyler kullanılmıştır.

#### **3.5.1. Akut ve Subakut konsantrasyonların belirlenmesine yönelik biyodenyler**

##### Bizmut Sülfür (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) nanoçiçeklerinin model organizma (*Cyprinus carpio*)'ya uygulanması

Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerinin Akut ve Subakut Konsantrasyonların Belirlenmesine Yönelik Biyodenyler, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü [59-58] yönergelerine göre yapılmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Bizmut Sülfür nanoçiçeklerin 100, 200, 400, 600, 800 mg L<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonluk süspansiyoları 10 mL ultra saf suda, 15 dakika boyunca 40 mV'de sonikasyona tabi tutularak hazırlanmıştır. Daha sonra; 20 litrelik cam akvaryumlarda 10'ar adet stoklanan sazanlar sürekli havalandırma yapılan statik sitemde sırasıyla 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerinin farklı konsantrasyonlarına

maruz bırakılmış ve ölüm oranları tespit edilmiştir. Deneme üç tekerrürlü olarak yürütülmüş ve deneme süresince yemleme yapılmamıştır. Ayrıca, 96. saat sonunda elde edilen ölüm yüzdeleri kullanılarak probit analizi yapılmış ve LC50 değeri elde edilmiştir. Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> Bizmut Sülfür nanoçiçeklerin 96 saat sonra LC50 değeri 350 mg L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. LC50 değerine (96 saat) dayalı olarak, subakut I (1/10 LC50~35 mg L<sup>-1</sup>), subakut II (1/4 of LC50~87 mg L<sup>-1</sup>) ve subakut III (1/2 LC50~175 mg L<sup>-1</sup>) dozları belirlenmiştir. Çalışmanı ikinci bölümünde ise yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda OECD kılavuzunda [57] kurallarına uygun olarak, 14 saat aydınlık:10 saat karanlık döngüsüne göre 20 litrelik akvaryumlara 20 adet sazan (1 adet /L) stoklanarak 30 günlük subakut denemesi başlatılmış ve semi statik olarak deneme yürütülmüştür. Deneme 3 farklı Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçek konsantrasyonları negatif ve pozitif kontrol grupları ile birlikte 5 farklı muamele gruplarında 3 tekerrürlü olarak 30 gün boyunca sürmüştür. Pozitif kontrol grubunda mutajenik olan Etilmetan sülfonat (5 mg L<sup>-1</sup>) kullanılmıştır[60]. Günde bir kez yemleme yapılarak, canlı-ölü birey kontrolleri sağlanmıştır. Haftda bir akvaryumlarda 1/3 oranında su değişimi yapılmış ve deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri takip edilmiştir. 30 günlük Sub-akut denemenin sonunda sazanlardan nanootoksikolojik testler için gerekli kan ve doku örneklemeleri yapılmıştır. Toksikite teslerine başlamadan önce balıklara 5 mg L<sup>-1</sup> kinoldin sülfat (Sigma) ile anestezi uygulanmıştır[61].

### **3.6. Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Model Organizma (*Daphnia magna*)' ya Uygulanması**

Kobalt (Co) nanoyaprakların Akut ve Subakut Konsantrasyonların Belirlenmesine Yönelik Biyodeneyle, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü [59] yönergelerine göre yapılmıştır. Çalışmanın ilk bölümünde Co nanoyaprakların (1, 5, 10, 15, 20 ve 25 mg L<sup>-1</sup>) konsantrasyonluk süspansiyoları 10 mL ultra saf suda, 15 dakika boyunca 40 mV'de sonikasyona tabi tutularak hazırlanmıştır Daha sonra; 100 ml lik cam beherlerde 10'ar adet stoklanan daphnialar sürekli havalandırma yapılan statik sistemde sırasıyla 24,48,72 ve 96 saat süre ile Co nanoçiçeklerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve ölüm oranları tespit edilmiştir. Deneme üç tekerrürlü olarak yürütülmüş ve deneme süresince yemleme yapılmamıştır. 96 saat sonunda elde edilem ölüm yüzdeleri kullanılarak probit analizi yapılmış ve LC50 değeri elde edilmiştir 96 saat sonra Kobalt (Co) nanoçiçeklerin LC50 değeri 9,705 mg L<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Ayrıca, LC50 değerine (96 saat) dayalı olarak, subakut I (1/10 of LC50~1 mg L<sup>-1</sup>), subakut II (1/4 of LC50~2.5 mg L<sup>-1</sup>), ve ölümcül olmayan III (1/2 LC50~5 mg L<sup>-1</sup>) dozları belirlenmiştir. Çalışmanı ikinci bölümünde ise

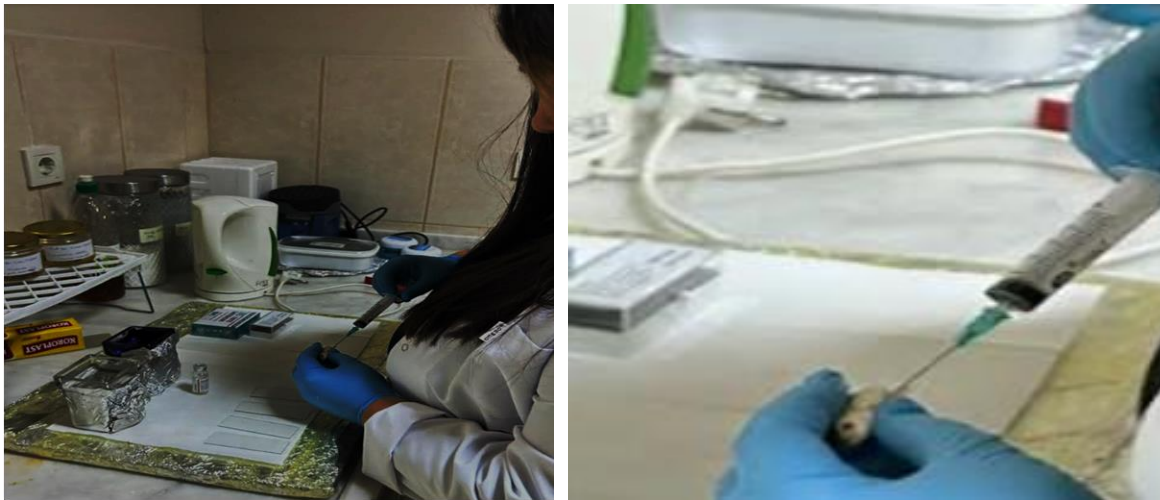
yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda OECD kılavuzunda [57] kurallarına uygun olarak, 16 saat aydınlık:8 saat karanlık döngüsüne göre 300 ml lik cam beherlere 20 adet daphnia stoklanarak 21 günlük subakut denemesi başlatılmış ve semi statik olarak deneme yürütülmüştür. Deneme 3 farklı Co nanoyaprak konsantrasyonları negatif ve pozitif kontrol grupları ile birlikte 5 farklı muamele gruplarında 3 tekerrürlü olarak 21 gün boyunca sürmüştür. Pozitif kontrol grubunda mutajenik olan Etilmetan sülfonat ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) kullanılmıştır [60].

Günde bir kez yemleme yapılarak, canlı-ölü birey kontrolleri sağlanmıştır. Haftda bir cam beherlere 1/3 oranında su değişimi yapılmış ve deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri takip edilmiştir. Ayrıca 21 günlük Sub-akut denemenin sonunda *Daphnia magna* nanotoksikolojik testler için gerekli örneklemeler yapılmıştır.

### 3.7. Genotoksite testi

#### 3.7.1. Mikronükleus (MN) testi

Mikronükleus test tekniği periferik kırmızı kan hücrelerinde uygulanmıştır. Her muamele grubundan 5 er balıktan kalpten kan örnekleri alınmıştır. Daha sonra hazırlanan preparatlar % 95 etanolde 20 dakika fikse edilmiştir. Slaytlar, 20 dakika boyunca % 5 Giemsa ile boyanmıştır (Resim 3.9). Mikronükleus hesaplaması, [62]'ye göre her slayttan 1000 hücre sayılarak tamamlanmıştır. Morfolojik çekirdek düzensizlikleri beş ana grup altında tahmin edilmiştir: iki çekirdekli, loblu çekirdek, tomurcuklu çekirdek ve çentikli çekirdek ve böbrek şeklinde olmak üzere toplanmıştır.



Resim 3.4. Balıklardan kan alımı ve Mikronükleus Testi (Orijinal)

### 3.7.2. Mikronükleus sayım kriterleri

Yapılan test sonucunda birey başına altı preparat hazırlanmış olup; tüm preparattan bin adet hücre sayımı gerçekleştirilerek mikronükleus sayım kriterleri gerçekleştirilmiştir. İncelenen preparatlarda mikronükleus yapısı ile karıştırılabilen durumların oluşmaması için mikronükleus sayımlarında standart kabul edilmiş durumlar dikkate alınmıştır. Başlıca bu durumlar şu şekildedir: Mikronükleuslar ana nükleustan ayrık olmalı, Mikronükleuslar ana nükleus 'la aynı mikroskopla görülebilecek görüntüyü vermeli, Mikronükleuslar ana nükleus'un ile boyama tonları eşit olacak şekilde yapılmalı, Mikronükleuslar ana nükleus'un merkezine fazla uzakta bulunmamalı, Mikronükleuslar boyut olarak ana nükleus'un 1/3'ünden daima daha küçük yapıya sahip olmalıdır [62].

Eritrositlerde mikroçekirdeğin dışında çift çekirdek, tomurcuklu çekirdek, çentikli çekirdek çekirdek gibi eritrositik çekirdek anormallikleri de bakılmıştır. İki çekirdeğe sahip olan hücreler çift çekirdekli (binükleus), çekirdek membranından küçük yapıdaki çıkıntı yapmış durumlar tomurcuklu çekirdek şeklinde adlandırılmış olup; tomurcuklu çekirdeklerden biraz daha büyük çıkıntılara gösteren yapı ve loplu görüntü veren çekirdekler loplu çekirdek olarak ifade edilmektedir [63].

### 3.7.3. Tek hücre Jel Elektroforez (Comet Assay) Testi

Tek hücre Jel Elektroforez (Comet Assay) Testi [64] modifiye edilerek uygulanmıştır. ElKullanacağımız hücre süspansiyonu soğuk fosfat tamponu (4 C'de) olacak şekilde 5 dk 3000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Bundan sonra; 10 µl hücre süspansiyonu, 100 µl % 0,7 LMPA ile karıştırılarak örnekler oluşturulmuş ve bu süspansiyondan 100 µl kullanılarak, normal agaroz (NMPA) kaplı lamaların üzerine konarak dondurulmuştur. Preparatlar lizis çözeltisinde 4 °C'de ve sonrasında elektroforez tamponunda 4 C° 20 dakika bekletilmiştir. Alkalın elektroforez 300 mA olarak uygulanmış ve sonrasında preparatlar 100 µl etidyum bromid (10 µl / ml) ile boyanmıştır (Resim 3.10). Preparatların incelenmesinde floresan mikroskobu (Leica marka, yeşil ışık altında) ve görsel skorlama methodu kullanılarak Arbitrary Unit ve diğer indeks hesaplamaları yapılmıştır. Fluoresan mikroskopu ile inceleme sonrası her bir lam için sayılan 100 hücrede DNA hasarı çekirdekten uzayan kuyruk uzunluğunun seviyelerine göre “hasarsız (0)”, “az hasarlı (1)”, “orta derecede hasarlı (2)”, “hasarlı (3)” ve “yüksek derecede hasarlı (4)” olmak üzere 5 kategoride (Tip'te) değerlendirilmiştir [65].



Resim 3.5. Tek Hücre Jel Elektroforezi (Comet Assay) Testi

### 3.8. Sitotoksosite testi

#### 3.8.1. Trypan Mavisi ile Hücre Canlılığı Testi

Trypan mavisi, toksikolojik testlerde hücre canlılığının tespit edilmesi için sürekli tercih edilen boya tiplerindendir. Trypan mavisi ile hücre canlılığı testi, Strober [66]'dan modifiye edilerek yapılmıştır (Resim 3.6).



Resim 3.6. Hücre Canlılığı (Tripan Mavisi) Testi

### 3.9. İstatistiksel Analiz

Bu veri setleri istatistiksel analizlerden önce normalite (Shapiro–Wilk test) ve homojenite (Levene's test) testine tabi tutulmuştur. Kullanılan bütün parametrelerin gruplar arasındaki benzer olmayan durumların kıyaslanmasında varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma testi içinde Duncan testi tercih edilmiştir. Farklılıklar,  $P < 0,05$ 'te istatistiksel

olarak anlamlı kabul edilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

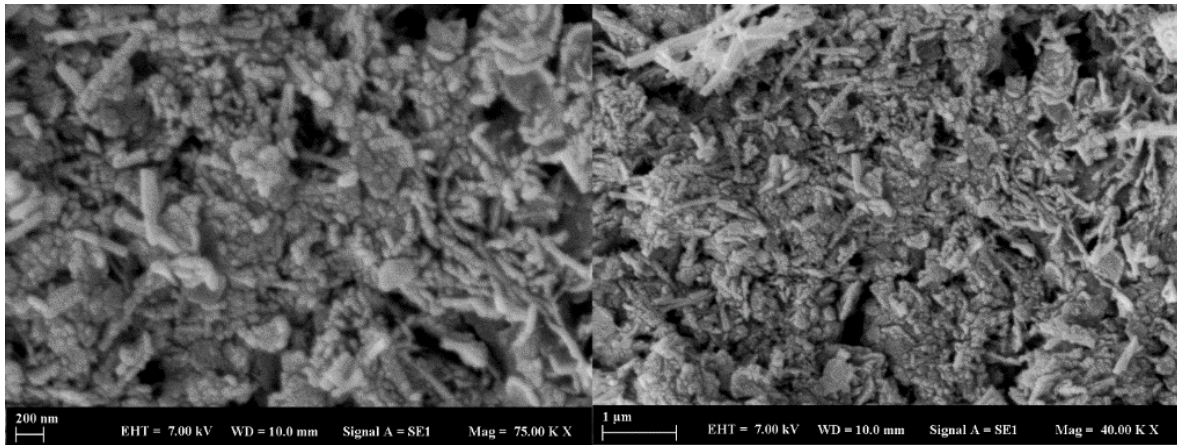
### 4.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu ve Toksikolojisine Ait Bulgular

#### 4.1.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin karakterizasyonu

Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçekleri mikrodalga destekli hidrotermal yöntemle sentezlenmiştir.  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçekleri oluşturmak için bir mikrodalga sisteminde 60 dakikalık bir sıcaklık programı uygulanmıştır. Kullanmadan önce, nanoçiçekler bir havanda öğütülerek toz formu elde edilmiştir.

#### 4.1.2. Taramalı elektron mikroskobu analizi (SEM)

Sentezlenen malzemeye ilişkin; Yüzey morfolojisi ve partikül boyut dağılımını analiz etmek için SEM kullanılmıştır. Bu cihaz ile tez çalışmasında sentezlenen malzemeye ait yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilmiştir. Bizmut sülfür nanoçiçeklerinin 100 nm'nin altında olduğu ve nanoçiçeğin yapraklarının birbirine oldukça benzediği görülmüştür. Sonuçlar bu malzemenin hazırlama yönteminin şeklinden dolayı oldukça verimli olduğunu göstermiştir. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri alınmıştır (Resim 4.1).

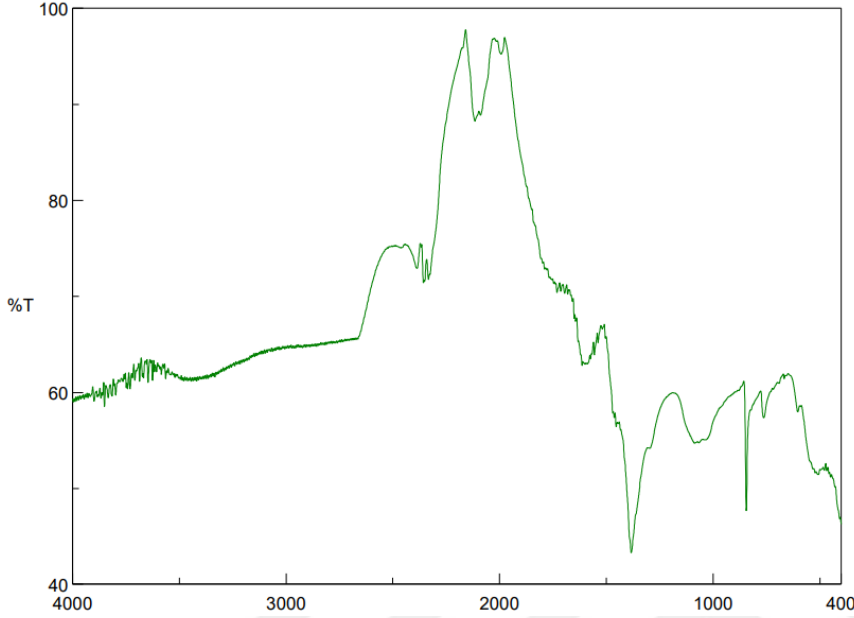


Resim 4.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri.

#### 4.1.3. Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi analizi (FT-IR)

Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerine ait FTIR ölçümünden elde edilen spektrum incelenmiş, sonuçlara göre  $4000\text{ cm}^{-1}$ -  $400$  aralığında kendini göstermiş olup; çözünürlüğü  $2,0\text{ mm/s}$  tarama hızı ile  $4,0\text{ cm}^{-1}$  olarak ayarlanmıştır. Sonuç olarak; Spektroskopi

analizinde  $3450\text{ cm}^{-1}$  aralığında belirgin pikle sahip olup;  $1500\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ 'de aralığında malzemenin kimyasal yapısında H-O-H bükülme mevcut olup;  $\text{CO}_2$ 'nin moleküler titreşim değeri  $1400\text{ cm}^{-1}$  dalga oranında gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).

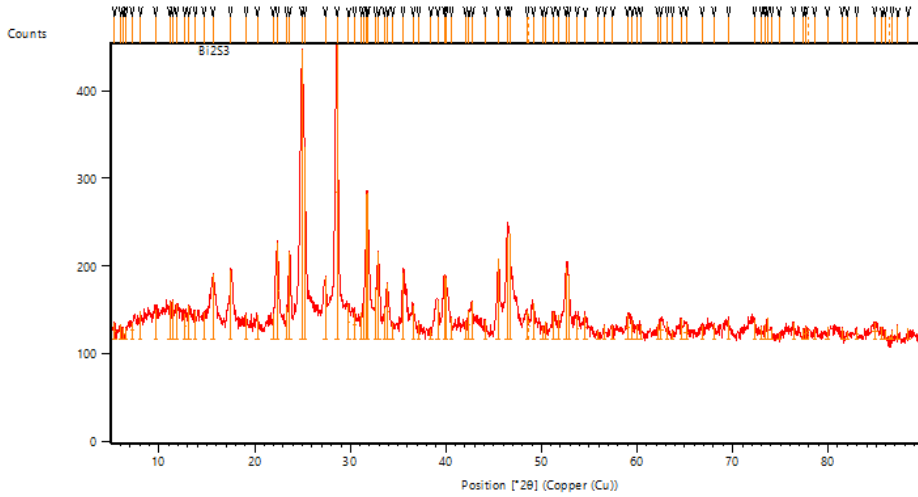


Şekil 4.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin FT- IR Analizi

#### 4.1.4. X-ışını kırınımı (XRD)

Sentezlenen  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin XRD'si, XRD difraktogramından, malzemenin yüksek saflıkta ve iyi kristal yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca  $2\theta$ : sırasıyla; 15,6 , 17,5, 22,4 , 24,9 , 28,6 , 31,7 , 35,5 , 40,0 ve 52,6 sinyal değerlerinde olup karakteristiktir. Bununla birlikte nanoparçacıkların yapısı için tipik tepe noktalarında geniş/orta tepe noktaları olduğunu göstermiştir. XRD ışınımı Şekil 4.2'de gösterilmektedir. Genel olarak pik seviyelerine bakıldığında Yüksek kristalinite yakın – Düşük Amorf faz görülmektedir. Kırınım tepe noktalarının genişlemesi küçük partikül yapısını ve malzemenin yüksek kristal yapıda oluştuğunu göstermektedir (Şekil 4.2).

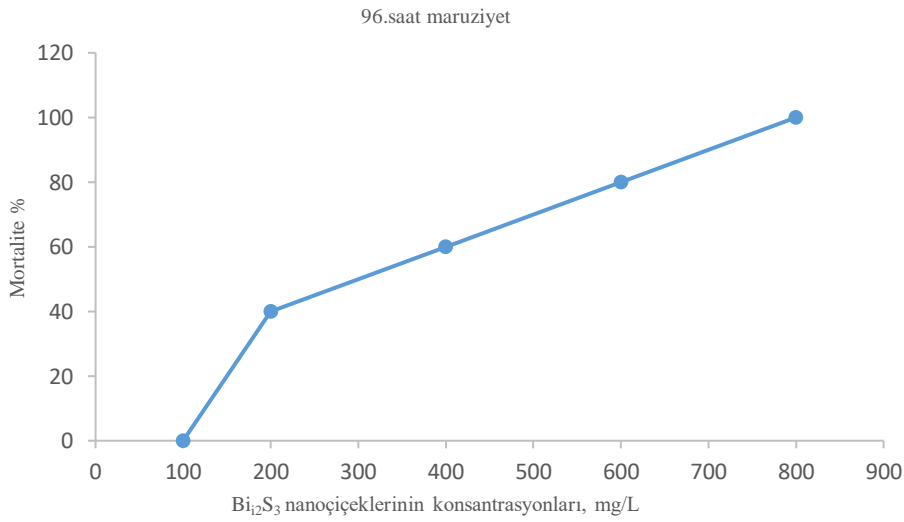




Şekil 4.2. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin XRD ışınımı

#### 4.2. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerin Akut Toksisitesine Ait Bulgular

$\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin Akut toksitesine ait LC50 değerini bulmaya yönelik yürütülen denemede sırasıyla 100, 200, 400, 600 ve 800  $\text{mg L}^{-1}$  doz grupları uygulanmıştır.  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin 96. saatte maruziyet sonrası model organizma *Cyprinus carpio* da sırasıyla %0, %40, %60, %80 ve %100 ölüm oranı tespit edilmiştir. Yapılan probit analizi sonucunda;  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerin %95 güven aralığı ile birlikte 96. saatteki LC50 değeri 350  $\text{mg L}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin akut toksisitesi

### 4.3. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerin Sub-akut Toksitesine Ait Bulgular

$\text{Bi}_2\text{S}_3$  Bizmut Sülfür nanoçiçeklerin sub-akut toksitesine ait 30 günlük deneme ortamına ait fizikokimyasal parametreleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.1).

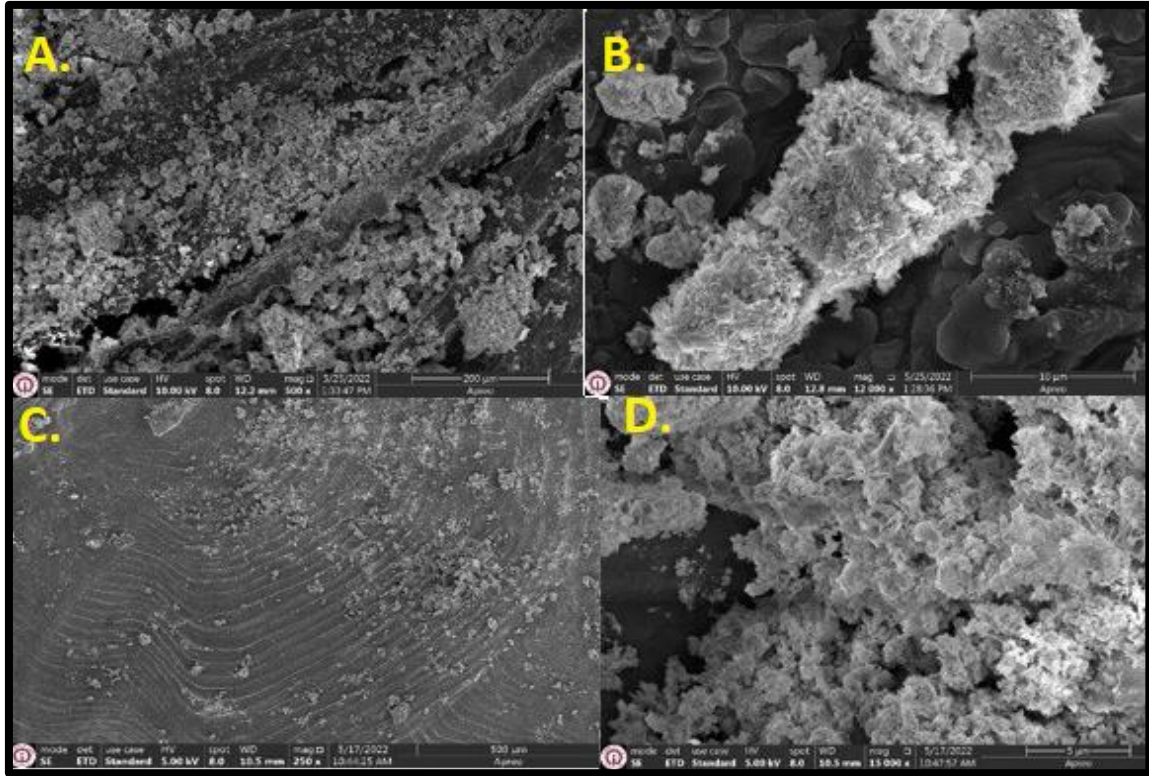
Çizelge 4.1. Deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri

Parametreler	Birimler	Değerler	Standard OECD Methodu (1992-2018)
pH	-	8,02±0,05	6 – 8,5
Sıcaklık	°C	22,05±1,05	20 - 24
Çözünmüş Oksijen	mg L <sup>-1</sup>	5,77±0,50	%80
NO <sub>2</sub> -N	mg L <sup>-1</sup>	0,075±0,005	-
NO <sub>3</sub> -N	mg L <sup>-1</sup>	0,375±0,005	0,3
NH <sub>3</sub> -N	mg L <sup>-1</sup>	0,001±0,0001	0,001
Toplam Sertlik	mg L <sup>-1</sup>	190±10	10 – 250

OECD method 203' e göre (OECD, 2009;2018) deneme süresince pH (8,02±0,05), sıcaklık (22,05±1,05), çözülmüş oksijen (DO) (5,77±0,50) NO<sub>2</sub>- N (Nitrit) değeri 0,075±0,005 mg L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>- N (Nitrat) değeri 0,375±0,005 mg L<sup>-1</sup>; NH<sub>3</sub>-N (Amonyak) değeri 0,001±0,0001 toplam sertlik, 190±10 mg L<sup>-1</sup> şeklinde uygulanmıştır. Deneysel suyun fizikokimyasal parametreleri, Standart OECD yönergelerinde (OECD 2009; 2018) açıklanan sıcaklık, pH, ÇO ve diğer ölçülen parametrelerle ilgili kalite aralığına uygundur.

### 4.4. Model Organizma (*Cyprinus carpio*) Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Biyobirikimi

Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin maruziyeti sonrasında *Cyprinus carpio* solungaçlarında ve bağırsağında  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin birikimi Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi (SEM) kullanılarak belirlenmiş ve mikrografları verilmiştir (Resim 4.2).



Resim 4.2. Model organizma üzerinde  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin birikimlerini gösteren SEM mikrografları. (A ve B) Bağırsak (C ve D) Solungaçları

Resim 4.2’de A ve B balığın bağırsaklarında ki birikimi göstermektedir. Yoğun olarak görülen malzemeler aglomere olmuş sindirim kanalının işlevsel yeteneklerini kaybetmesine neden olmuştur. Balıklarda mikro elementlerin emilimi esas olarak sindirim sisteminin en önemli organlarından bağırsakta gerçekleşir. Bu durumda nanoparçacıkların birikimi sindirim sisteminde zamanla olumsuz etkilere sebep olabilir [67-68]. Şekilde C ve D de ki bizmut sülfür nanoçiçeklerinin solungaç lamelin de yoğun olduğu görülmektedir. Zamanla bu durum solunum sırasında ki gaz alış verişini ve balıklarda ki metabolik atıkların solungaç yoluyla ber taraf edilmesini olumsuz yönde etkileyebilir. Kimyasal maddelerin difüzyon hızıyla solungaç epitelinin geçirgenliğiyle lamellere gelmesi solungaçlar da biyobirikime neden olmaktadır [69-70].

#### 4.5. Model Organizma (*C. carpio*) Davranışsal Tepkisi

Çalışma da 96 saatlik deneme süresince balıklarda ki davranış değişiklikleri takip edilmiştir. Bu maruziyetle birlikte yüksek dozdaki  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin konsantrasyonlarında (600 ve  $800 \text{ mg L}^{-1}$ ) balıklar da zamanla huzursuzluk, yüzme dengesini kaybetme, tankın dibine sığınma, hareket kabiliyetlerini kaybetme gibi davranışsal tepkiler meydana gelmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Akut toksisite testi sırasında *Cyprinus carpio* davranışsal durumları

Davranışsal Tepki	Yüzme	Aktiviteler	Solungaç Hareketleri
24 s	Normal	Normal hareket, barışçıl	Normal
48 s	Hızlı	Hızlı davranışsal tepkiler	Normal
72 s	Yavaş	agresiflik, ani yorulma, dibe doğru batıp tekrar yukarı çıkma	Yavaş
96 s	Çok Yavaş	Hareket etmede huzursuzluk, Denge sağlayamama, dibe doğru batma	Çok Yavaş

Akut Toksikite Testi sırasında ki Bizmut sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin farklı konsantrasyonlar daki tespit edilen canlı-ölü birey miktarı hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Bizmut sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerinin canlı-ölü birey miktarları

Doz Grupları ( $\text{mg L}^{-1}$ )	24s		48s		72s		96s	
	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)
Control	0	-	0	-	0	-	0	-
100	0	-	0	-	0	-	0	-
200	0	-	1	10	2	20	1	10
400	0	-	2	20	2	20	2	20
600	2	20	3	30	5	50	8	80
800	2	20	3	30	5	70	10	100

#### 4.6. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ )Nanoçiçeklerinin Genotoksitesine Ait Bulgular

##### 4.6.1. Tek Hücre Jel Elektrofrezisi (Comet Assay) Testi

Farklı konsantrasyonlardaki Bizmut Sülfür( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ )Nanoçiçeklerinin *C. carpio*'nun solungaç ve karaciğer dokularındaki DNA Hasarına ilişkin parametrelere bakılmıştır. DNA hasarı parametrelerinin sonuçları ve istatistiksel değerlendirilmeleri verilmiştir (Çizelge 4.4), (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda ki  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin balıkların solungaç

Doz grupları ( $\text{mg L}^{-1}$ )	DNA Hasar Frekansı (%)	Arbitrary Unit (AU)	Genetik Hasar İndeksi (%)
Pozitif Kontrol (EMS)	100,0±0,1 <sup>d</sup>	395,67±4,71 <sup>c</sup>	3,95±0,047 <sup>d</sup>
Kontrol (0)	25,67±2,49 <sup>a</sup>	48,67±2,05 <sup>a</sup>	0,48±0,02 <sup>a</sup>
35	25,33±2,05 <sup>a</sup>	45,00±6,37 <sup>a</sup>	0,45±0,06 <sup>a</sup>
87	35,00±2,49 <sup>b</sup>	75,33±3,85 <sup>b</sup>	0,75±0,03 <sup>b</sup>
175	50,33±2,86 <sup>c</sup>	136,67±5,32 <sup>b</sup>	1,36±0,05 <sup>c</sup>
P	p<0.001	p<0.001	p<0.001

dokularında oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama± standart hata).

Veriler aritmetik ortalama ± SD (standart sapma) olarak verilmiştir, \*Her sütunda farklı harfler, kontrol ve üç farklı bizmut sülfür nanoçiçek konsantrasyonları arasındaki önemli farklılıkları gösterir (\*, P<0,05; \*\*,P<0,01; \*\*\*,P<0,001).

Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerine ait *C. carpio*'nun solungaç dokularında tespit edilen DNA Hasarı parametrelerine bakıldığında; mutajenik pozitif kontrol grubunda beklenildiği gibi en yüksek DNA hasar değerleri (DNA Hasar Frekansı, Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksi) sırasıyla %100,0±0,1; 395,67±4,71 ve %3,95±0,047 olarak elde edilmiş olup tüm gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli farklılık bulunmuştur (P<0,001).

En düşük DNA Hasar frekansları ise kontrol ve 35 mg L<sup>-1</sup> Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçek gruplarında sırasıyla %25,67±2,49 ve %25,33±2,05 olarak elde edilmiş olup bu iki grup arasında istatistiki anlamda benzerlik bulunmuştur (P>0,05). Ayrıca 87 ve 175 mg L<sup>-1</sup>'lik doz gruplarında ise DNA Hasar Frekansı sırasıyla %35,00±2,49 ve %50,33±2,86 olarak belirlenmiştir. Bu doz grupları arasında ki en yüksek DNA Hasarı 175 mg L<sup>-1</sup> doz grubuna ait olup tüm doz gruplarda istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık görülmüştür (P<0,001). Aynı şekilde Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksine bakıldığında bu iki doz grubu arasındaki en yüksek değerler 175 mg L<sup>-1</sup>'lik doz grubunda 136,67±5,32 ve 1,36±0,05 olarak bulunmuş ve tüm doz gruplarda istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık tespit edilmiştir (P<0,001).

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlarda ki Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerinin balıkların karaciğer dokularında oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama± standart hata).

Doz grupları (mg L <sup>-1</sup> )	DNA Hasar Frekans (%)	Arbitrary Unit (AU)	Genetik Hasar İndeksi (%)
<b>Pozitif Kontrol (EMS)</b>	97,66±3,30 <sup>c</sup>	396,00± 0,01 <sup>d</sup>	3,96± 0,01 <sup>d</sup>
<b>Kontrol (0)</b>	21,67±1,24 <sup>a</sup>	36,33±1,88 <sup>a</sup>	0,36± 0,01 <sup>a</sup>
<b>35</b>	20,66±0,94 <sup>a</sup>	38,33±4,64 <sup>a</sup>	0,38±0,04 <sup>a</sup>
<b>87</b>	24,33±0,94 <sup>a</sup>	49,33±2,05 <sup>b</sup>	0,49±0,02 <sup>b</sup>
<b>P</b>	p<0.001	p<0.001	p<0.001

Veriler aritmetik ortalama ± SD (standart sapma) olarak verilmiştir, \*Her sütunda farklı harfler, kontrol ve üç farklı bizmut sülfür nanoçiçek konsantrasyonları arasındaki önemli farklılıkları gösterir (\*, P<0,05; \*\*,P<0,01; \*\*\*,P<0,001),

Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçeklerine ait *C. carpio*'nun karaciğer dokularında tespit edilen DNA Hasarı parametrelerine bakıldığında; mutajenik pozitif kontrol grubunda beklenildiği gibi en yüksek DNA hasar değerleri (DNA Hasar Frekansı, Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksi) sırasıyla %97,66±3,30; 396,00±0,01 ve %3,96±0,01 olarak elde edilmiş olup tüm gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli farklılık bulunmuştur (P<0,001).

En düşük DNA Hasar frekansları ise kontrol ve 35 mg L<sup>-1</sup>, 87 mg L<sup>-1</sup> Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoçiçek gruplarında sırasıyla %21,67±1,24 ve %20,66±0,94; 24,33±0,94 olarak elde edilmiş olup bu

üç grup arasında istatistiki anlamda benzerlik bulunmuştur ( $P>0,05$ ). En yüksek DNA Hasarı grubu olan  $175 \text{ mg L}^{-1}$  ın DNA Hasar Frekansı  $42,33\pm 2,05$  olup; tüm doz gruplarında istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık görülmüştür ( $P<0,001$ ), Aynı şekilde Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksine bakıldığında doz grubu arasındaki en yüksek değerler  $175 \text{ mg L}^{-1}$ lik doz grubunda  $110,66\pm 4,92$  ve  $1,10\pm 0,04$  olarak bulunmuş ve tüm doz gruplarda istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,001$ ).

#### 4.6.2. Mikronükleus Test Tekniği

Farklı konsantrasyonlar da ki Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ )Nanoçiçeklerinin *C. carpio*'nun eritrositlerinde ki oluşturdukları mikronükleus verilerine bakılmıştır. Balıkların eritrositlerinde oluşturdukları sonuçlar ve istatistiksel değerlendirilmeleri verilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlar da ki  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin balıkların eritrositlerinde oluşturdukları mikronükleus verileri (%) (ortalama $\pm$  standart hata).

Gruplar ( $\text{mgL}^{-1}$ )	Mikronükleus	Böbrek	Binükleus	Çentikli	Loblu	Tomurcuklu
<b>Pozitif Kontrol</b>	$16,66\pm 0,15^e$	$13,60\pm 0,1^d$	$17,23\pm 0,15^e$	$15,10\pm 0,10^e$	$17,46\pm 0,20^e$	$19,93\pm 0,15^d$
<b>Kontrol</b>	$3,26\pm 0,25^a$	$3,50\pm 0,72^a$	$5,20\pm 0,10^a$	$7,93\pm 0,66^a$	$5,23\pm 0,28^a$	$4,16\pm 0,15^a$
<b>35</b>	$5,30\pm 0,08^b$	$6,10\pm 0,32^b$	$8,26\pm 0,24^b$	$9,40\pm 0,29^b$	$9,66\pm 0,12^b$	$11,33\pm 0,94^b$
<b>87</b>	$7,16\pm 0,28^c$	$6,86\pm 0,15^c$	$10,90\pm 0,10^c$	$12,16\pm 0,15^c$	$12,26\pm 0,20^c$	$12,20\pm 0,10^b$
<b>175</b>	$8,43\pm 0,40^d$	$7,33\pm 0,28^c$	$13,53\pm 0,25^d$	$14,10\pm 0,10^d$	$13,66\pm 0,15^d$	$13,23\pm 0,25^c$
<b>P</b>	***	***	***	***	***	***

Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SD (standart sapma) olarak verilmiştir, \*Farklı üst simgelere sahip değerler, üç farklı  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçek konsantrasyonu ve kontrol grubundan elde edilen sazanların periferik eritrositlerindeki mikronükleus frekansları ve eritrosit anormallikleri arasında önemli farklılıklar gösterir (\*,  $P<0,05$ ; \*\*,  $P<0,01$ ; \*\*\*,  $P<0,001$  ).

$\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerine ait *Cyprinus carpio*'nun eritrositlerinde tespit edilen mikronükleus parametrelerine bakıldığında; mutajenik pozitif kontrol grubunda beklenildiği gibi en yüksek mikronükleus düzensizlik değerler (Mikronükleus, Böbrek, Binükleus, Çentikli, Loblu, Tomurcuklu) sırasıyla  $\%16,66\pm 0,15$  ,  $\%13,60\pm 0,1$  ,  $\%17,23\pm 0,15$  ,  $\%15,10\pm 0,10$  ,  $\%17,46\pm 0,20$  ,  $\%19,93\pm 0,15$  olarak elde edilmiş olup tüm gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli farklılık bulunmuştur ( $P<0,001$ ).

En düşük mikronükleus frekansları ise kontrol grubunda olup diğer doz gruplarında (35, 87,  $175 \text{ mg L}^{-1}$  ) sırasıyla mikronükleus frekans değerleri  $3,26\pm 0,25$ ;  $5,30\pm 0,08$ ;  $7,16\pm 0,28$ ;  $8,43\pm 0,40$  olarak elde edilmiş olup tüm doz gruplarda istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,001$ ). En yüksek mikronükleus düzensizliğine sahip  $175 \text{ mg}$

$L^{-1}$  lik doz grubunda ise (Mikronükleus, Böbrek, Binükleus, Çentikli, Loblu, Tomurcuklu) sırasıyla  $8,43 \pm 0,40$ ;  $7,33 \pm 0,28$ ;  $13,53 \pm 0,25$ ;  $14,10 \pm 0,10$ ;  $13,66 \pm 0,15$ ;  $13,23 \pm 0,25$  tüm doz gruplarına kıyasla istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık görülmüştür ( $P < 0,001$ ).

Kontrol ve  $Bi_2S_3$  nanoçiçekleri grupları ile karşılaştırıldığında mikronükleus ve diğer eritrosit düzensizliklerin (tomurcuklu çekirdek, loblu çekirdek, çentikli çekirdek, binükleus ve böbrek ) frekans sıklığında önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır ( $P < 0,001$ ). Ayrıca en çok hasar gördüğü belirlenen  $175 \text{ mg } L^{-1}$   $Bi_2S_3$  nanoçiçekleri grubunun mikronükleus ve diğer nükleer anormallikleri, mutajenik grubun (pozitif grup) hasar seviyesinden neredeyse yüzde elli daha düşük bulunmuştur.

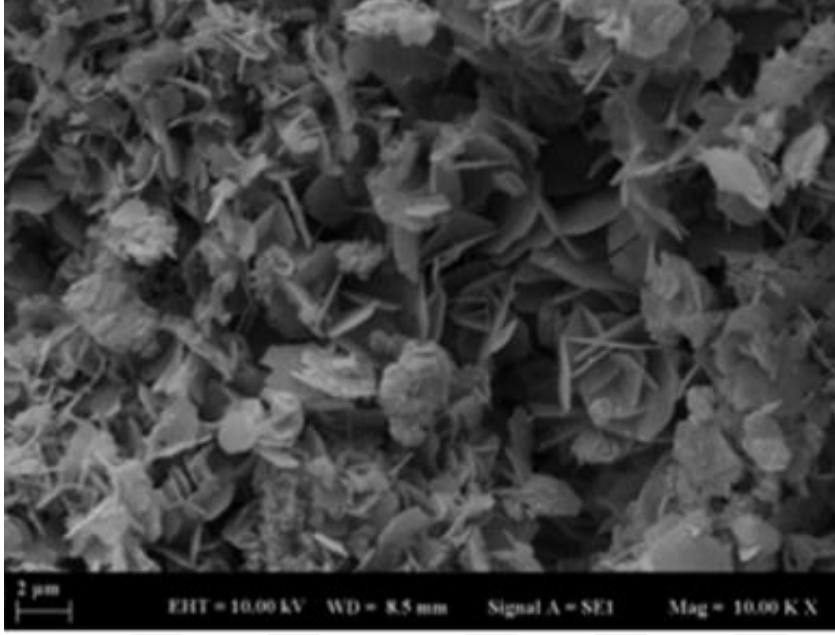
#### **4.7. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Karakterizasyon ve Toksikolojisine Ait Bulgular**

##### **4.7.1. Kobalt (Co) nanoyaprakların karakterizasyonu**

Kobalt (Co) nanoyaprakları mikrodalga destekli hidrotermal yöntemle sentezlenmiştir. Co nanoçiçekleri oluşturmak için bir mikrodalga sisteminde 60 dakikalık bir sıcaklık programı uygulanmıştır. Kullanmadan önce, nanopartiküller bir havanda öğütülerek toz formu elde edilmiştir.

##### **4.7.2. Taramalı elektron mikroskopu analizi (SEM)**

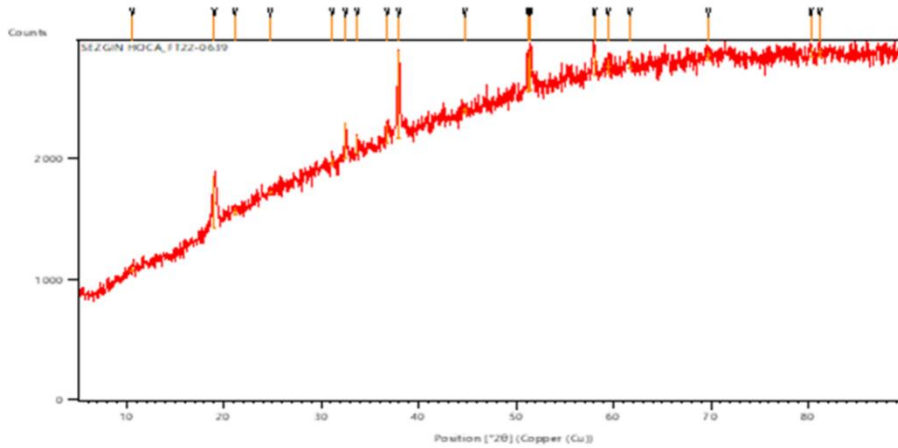
Sentezlenen malzemeye ilişkin; Yüzey morfolojisi ve partikül boyut dağılımını analiz etmek için SEM kullanılmıştır. Bu cihaz ile tez çalışmasında sentezlenen malzemeye ait yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilmiştir. Kobalt (Co) Nanoyaprakların birbirine oldukça benzediği ve geniş yüzey alanına sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlar Bu malzemenin hazırlama yönteminin şeklinden dolayı oldukça verimli ve pürüzsüz olduğunu göstermiştir (Resim 4.3).



Resim 4.3. Kobalt (Co) nanoyaprakların farklı büyütmelelerdeki SEM görüntüleri

#### 4.7.3. X-ışını kırınımı (XRD)

Sentezlenen Kobalt(Co) nanoyaprakların XRD'si, XRD difraktogramından, malzemenin yüksek saflıkta ve iyi kristal yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca sırasıyla;  $19,2^\circ$ ,  $32,47^\circ$ ,  $37,95^\circ$ ,  $51,22^\circ$ ,  $51,50^\circ$ ,  $58,02^\circ$ ,  $61,65^\circ$  sinyal değerlerinde olup karakteristiktir. Bununla birlikte nanoparçacıkların yapısı için tipik tepe noktalarında geniş/orta tepe noktaları olduğunu göstermiştir. XRD ışınımı Şekil 4.4'de gösterilmektedir. Genel olarak pik seviyelerine bakıldığında Yüksek kristalinite yakın – Düşük Amorf faz görülmektedir. Kırınım tepe noktalarının genişlemesi küçük partikül yapısını ve malzemenin yüksek kristal yapıda oluştuğunu göstermektedir (Şekil 4.4).

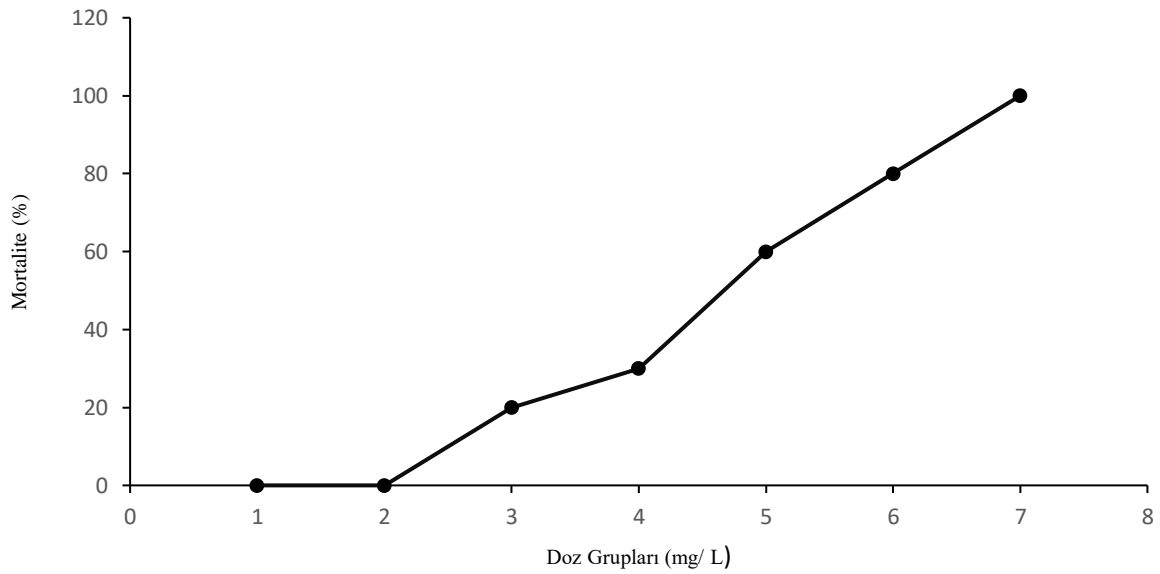


Şekil 4.4. Kobalt (Co) nanoyaprakların XRD ışınımı



#### 4.8. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Akut Toksikitesine Ait Bulgular

Kontrol grubunda ve 1 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonunda, test organizmalarında ölüm gözlenmemiştir. İlk ölüm, ilk 24 saat içinde bir ölümlle, 20 ve 25 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonlarında meydana gelmiştir. 25 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonunda, model organizmada yüksek bir ölüm oranı gözlenmiştir. Ayrıca; Akut test süresince; testin ilk 48 saatinde ve 72 saatinde sırasıyla 3 ve 6 birey (*Daphnia magna*) ölmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kobalt (Co) Nanoyaprakların *D. magna* üzerinde ki Akut Toksikitesi

Sonuçlar, 96 saatteki LC50 değerinin su piresi için 9,705 mg L<sup>-1</sup> olduğunu göstermiştir [71].

##### 4.8.1. Model Organizma (*D.magna*) davranışsal tepkisi

Nanoparçacıkların (96 saat) akut toksisitesi, OECD yönergesi [58] yönergesi incelenerek uygulanmıştır. Belli konsantrasyonlarda model organizma olan *Daphnia magna* nanopartikül konsantre *Daphnia*'nın akut toksisite deneyi sırasındaki davranışına ilişkin gözlemler Çizelge 4.7'de verilmiştir. Toksikite testi sırasında, zaman ilerledikçe, özellikle 72. saatte model organizmada anormal hareketler ve davranışlar gözlenmiştir. Bu davranışlar arasında kaçınma davranışı, durmaksızın rastgele yüzme, başkdiğer bireylere karşı saldırgan davranış, beherin dibine batma, hareket etmede huzursuzluk, dengeyi kaybedecek davranışlardan kaçınma vardı. Yüksek konsantrasyonlarda, 96. Saatte canlı kalan birey agresif davranışlar sergilemiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Akut toksisite testi sırasında *D. magna*'nın davranışsal tepkileri

Davranışsal Tepki	Yüzme	Aktiviteler	Anten Hareketleri
24 h	Normal	Normal hareket, uyum, barışçıl	Normal
48 h	Hızlı	Hızlı davranışsal tepkiler	Normal
72 h	Yavaş	Huzursuz rastgele yüzme, başka bir bireye karşı saldırgan davranış, ters düz hareket, batma	Yavaş
96 h	Çok Yavaş	Hareket etmede huzursuzluk, Denge sağlayamama	Çok Yavaş

Kobalt (Co) nanoyaprakların farklı konsantrasyonlarda oluşturdukları tespit edilen canlı-ölü birey miktarı hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Kobalt (Co) nanoyaprakların farklı konsantrasyonlarda oluşturdukları tespit edilen canlı-ölü birey miktarı

Doz Grupları (mg L <sup>-1</sup> )	24s		48s		72s		96s	
	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)	Ölü Birey	Mortalite (%)
Control	0	-	0	-	0	-	0	-
1	0	-	0	-	0	-	0	-
5	0	-	0	-	1	10	2	20
10	0	-	0	-	1	10	3	30
15	0	-	1	10	3	30	6	60
20	1	10	4	40	6	60	9	90
25	1	10	3	30	6	60	10	100

#### 4.9. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Sub-Akut Toksikitesine Ait Bulgular

Kobalt (Co) nanoyaprakların sub-akut toksitesine ait 21 günlük deneme ortamına ait fizikokimyasal parametreleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Deneme ortamının fizikokimyasal parametreleri

Parametreler	Birimler	Değerler	Standart OECD Methodu 203 (2009)
pH	-	8,35±0,07	6 – 9
Sıcaklık	°C	21,00±1,00	18 - 22
Çözünmüş Oksijen	mg L <sup>-1</sup>	4,95±0,55	≥3
Aydınlanma Süresi	lm	16:8	16:8
Toplam Sertlik	mg L <sup>-1</sup>	170	140-250

OECD method 202 ye göre [59-58] , suyun pH'ı (8,35 ±0,07), sıcaklık (21,00±1,00 °C) ve çözünmüş oksijen (DO) (4,95±0,55 mg L<sup>-1</sup>) ; Aydınlanma süresi, 16:8 aydınlık/karanlık olarak ayarlanmıştır. Test suyunun toplam sertliği olarak 170,0 mg L<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

Deneysel suyun fizikokimyasal parametreleri, Standart OECD yönergelerinde [59-58] açıklanan sıcaklık, pH, ÇO ve diğer ölçülen parametrelerle ilgili kalite aralığına uygundur.

#### 4.10. Kobalt (Co) Nanoyaprakların Genotoksitesine Ait Bulgular

##### 4.10.1. Tek Hücre jel elektroforezi (comet assay) testi

*Daphnia magna*'nın Kobalt (Co) nanoyapraklarının farklı konsantrasyonlarda DNA hasarı comet assay ile analiz edilmiş ve Hasar Frekansının (%)'si, Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksi (%) olarak ifade edilmiş ve DNA hasarı parametrelerinin sonuçları verilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki Kobalt (Co) nanoyapraklarının *Daphnia magna* da oluşturdukları DNA Hasar parametreleri (ortalama± standart hata)

Gruplar (mg L <sup>-1</sup> )	Hasar Frekansı (%)	Arbitrary Unit (AU)	Genetik Hasar İndeksi (GI) (%)
<b>Pozitif Kontrol</b>	99,00±1,73 <sup>e</sup>	391,67±6,81 <sup>e</sup>	3,91±0,06 <sup>e</sup>
<b>Negatif Kontrol</b>	28,33±1,52 <sup>a</sup>	48,33±2,08 <sup>a</sup>	0,48±0,02 <sup>a</sup>
<b>1,0</b>	38,33±0,16 <sup>b</sup>	97,00±1,12 <sup>b</sup>	0,97±0,01 <sup>b</sup>
<b>2,0</b>	45,33±4,04 <sup>c</sup>	120,00±6,93 <sup>c</sup>	1,12±0,07 <sup>c</sup>
<b>2,5</b>	53,00±0,94 <sup>d</sup>	158,00±5,29 <sup>d</sup>	1,58±0,05 <sup>d</sup>
<b>P</b>	***	***	***

Veriler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. \*Her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler önemli farklılıkları göstermektedir. Kontrolde elde edilen DNA hasarı *Daphnia magna* ile üç farklı Kobalt (Co) nanoçiçek konsantrasyonu arasındaki anlamlılık seviyesini gösterir (\*, P<0,05; \*\*,P<0,01; \*\*\*,P<0,001).

Kobalt nanoyapraklarına ait *Daphnia magna* 'da tespit edilen DNA Hasarı parametrelerine bakıldığında; mutajenik pozitif kontrol grubunda beklenildiği gibi en yüksek DNA hasar değerleri (DNA Hasar Frekansı, Arbitrary Unit ve Genetik Hasar İndeksi) sırasıyla %99,00±1,73, 391,67±6,81 ve %3,91±0,06 olarak elde edilmiş olup tüm gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli farklılık bulunmuştur (P<0,001). En düşük DNA Hasar frekansları ise kontrol ve 1,0 mg L<sup>-1</sup> Co nanoyapraklarına gruplarında sırasıyla %28,33±1,52 ve %38,33±0,16 olarak elde edilmiş olup bu iki grup arasında istatistiki anlamda önemli farklılıklar bulunmuştur (P<0,001).

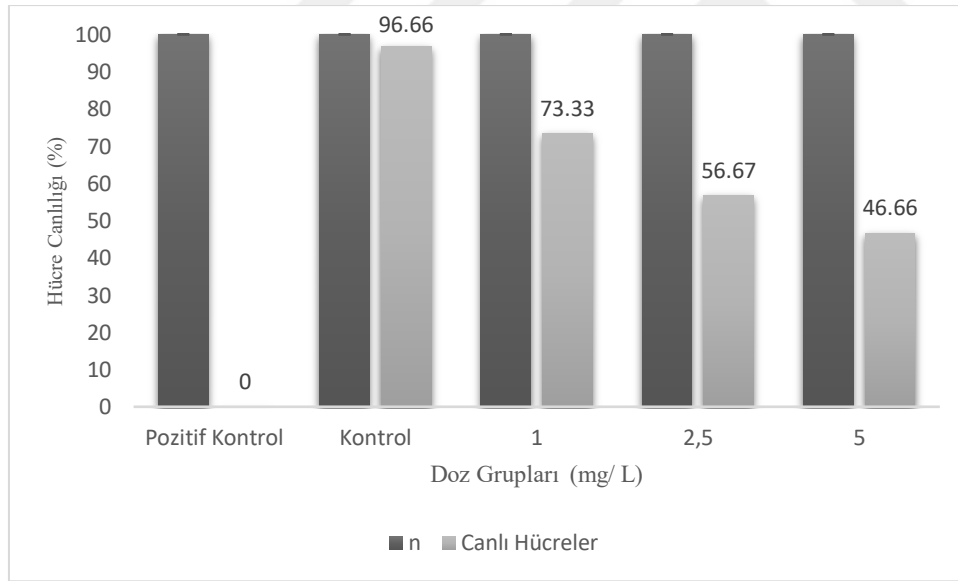
Doz gruplarından 2,0 ve 2,5 mg L<sup>-1</sup>'lik doz gruplarında ise DNA Hasar Frekansı sırasıyla %45,33±4,04 ve %53,00±0,94 olarak belirlenmiştir. Bu doz grupları arasında ki en yüksek DNA Hasarı 2,5 mg L<sup>-1</sup> doz grubuna ait olup tüm doz gruplarda istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık görülmüştür (P<0,001). Aynı şekilde Arbitrary Unit ve Genetik Hasar

İndeksine bakıldığında bu iki doz grubu arasındaki en yüksek değerler  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ lik doz grubunda  $158,00 \pm 5,29$  ve  $1,58 \pm 0,05$  olarak bulunmuş ve tüm doz gruplarında istatistiksel anlamda önemli derecede farklılık tespit edilmiştir ( $P < 0,001$ ).

#### 4.11. Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Sitotoksitesi Ait Bulgular

##### 4.11.1. Hücre canlılığı test tekniği (Tripan Mavisi)

Kobalt (Co) nanoyapraklarının *D. magna*'nın hücre canlılığı üzerindeki etkisi verilmiştir (Şekil 4.6). Co nanoyapraklarının doz grupları, artan konsantrasyonlarda; kontrol grubuna göre hücrelerin canlılığını önemli ölçüde azaltmış ve  $2,5 \text{ mg L}^{-1}$  Co nanoyapraklar grubunda maksimum sitotoksosite görülmüştür. Uluslararası Standart Organizasyonu (ISO)10993-5'e göre hücre canlılığında %30'dan fazla azalma sitotoksik etki olarak kabul edilebilir. ISO[72] göre kobalt nanoçiçekleri, çalışılan konsantrasyonlar için *D. magna* üzerinde sitotoksik olarak sınıflandırılır.



Şekil 4.6. Model Organizma (*D. magna*) Kobalt (Co) Nanoyapraklarının Sitotoksitesi

## 5. TARTIŞMA

Nanoteknolojinin endüstriyel faaliyetlerden veya doğal afetlerden (sel, deprem vb.) kaynaklı kasıtlı veya kazara şekilde kontrolsüz çevreye salınımı çevresel sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu durum endişeye sebebiyet verdiği için nanotoksikoloji dalının ortaya çıkmasını sağlamıştır [29]. Nanomalzemelerin olası toksisitesi besin zincirinin en üst basamağındaki insana kadar bulaşabilmektedir [20-73-74]. Toksite testleri uygulaması, çevreye salınan kirletici ajanların sucul canlılara karşı biyolojik olarak verdiği tepkisini ölçmektedir [20].

Bu tez çalışması kapsamında ilk bölümde Bizmut sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçekleri çalışılmıştır. Bizmutun toksik etkileri araştırılmış olmasına rağmen, nano ölçekteki toksisitesi hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada, Bizmut sülfürün nanoçiçek formundaki yapısının model organizma olan *Cyprinus carpio* üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık. Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında bizmut ve türevleri için toksik etki bulunurken; bu tez kapsamında yapılan araştırmada Bizmut sülfür  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  toksik olmadığı bildirilmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarına bakıldığında; Deshpande ve diğerleri [73] BALB/c3 T3 Hücre hatlarını memeli canlılardan alıp; nötral kırmızısı testi ve tunel testi kullanarak hücre hatlarındaki değişimi incelemişlerdir. Doz cevap ilişkisini değerlendirdiklerinde  $\text{IC}_{50}:28,51 \pm 9,96 \mu\text{g/ml}$  bulup [71]' ye göre bizmut nanopartiküllerinin zararlı derece de toksik olduğunu savunmuşlardır.

Liu ve diğerleri [75] yaptıkları çalışmada bizmut nanopartiküllerinin embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücre hattı üzerinde maruziyetini incelemişlerdir. Maruziyet sonrasında böbrek 293 (HEK293) hücre hattı üzerinde bizmut nanoparçacıklarının sitotoksositeye neden olduğunu ve bu nano partikülün sitotoksik olduğunu belirtmişler.

Abudayyak ve diğerleri [44] yaptıkları çalışmada  $\text{Bi}_2\text{O}_3$  nanoparçacıklarının HepG2, NRK-52E, Caco-2 ve A549 hücrelerinde genotoksik ve sitotoksik çalışmalar yapmışlardır. Nanomalzemenin maruziyeti sonrasında  $\text{IC}_{50}$  değerleri  $35,11-96,55 \mu\text{g/mL}$  şeklinde hesaplamışlardır. Doza bağlı olarak hücre hattında mitokondriyal ve lizozomal fonksiyonlarının yavaşladığını tespit etmişlerdir.

He ve diğerleri [76] zebra balığı embriyolarında bizmut-asparagin polimer kürelerinin 0,0125, 0,05 ve 0,1 g L<sup>-1</sup> doz gruplarında hasara bakmışlar. Zebra balığının kalp ve perikardiyal genlerinde; gen ekspresyonunda gecikmeler meydana geldiğini bu durumun normal olmadığını belirtmişler.

Ahamed ve diğerleri [77] araştırmalarında Bizmut oksit Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanopartiküllerinin kullandıkları model organizma da oksidatif stresi indüklediğini buna bağlı olarak ta beraberinde apoptotik tepkilerini ortaya çıkardığını tespit etmişlerdir.

Liu ve diğerleri [75] embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücre hattı üzerinde bizmut nanopartiküllerinin etkisini araştırmışlar. Uyguladıkları dozlar sırasıyla 0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0; 160,0 µg/ml olup embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücre hattı üzerinde sitotoksikiteye neden olduğunu bu nano partikülün sitotoksik olduğunu belirtmişler.

Quayyum ve diğerleri [78] yaptıkları araştırmada İsviçre Albino fareleri (dişi) farelerine 20 mg/kg; 40 mg/kg; 30 gün boyunca Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/CuO/GO nanomalzemelerini oral yöntemle uygulamışlar. Hematolojik ve patolojik değerlendirmeler için; karaciğer, akciğer, böbrek dokularından örnekler almışlar. Deney boyunca isviçre albino fareleri (dişi) nde uyku problemi, hiperaktivite, salivasyon, gözyaşı, terleme, idrara çıkma, doğrulma refleksi, kavrama kuvveti, kornea refleksi, kıvrınma refleksi, ağrı yanıtı gibi davranışlara rastlanmayıp; Bizmut oksit Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanomalzemesinin toksik olmadığını tespit etmişlerdir. Bahsedilen sınırlı sayıda ki çalışmalarda görüldüğü gibi bizmut nanopartikülün geneli toksik etki göstermiştir.

Ayrıca; Yeni nesil nanopartikül olan; Nanoçiçekler, son yıllarda geliştirilen diğer nanoparçacıklara kıyasla üstün özellikler gösteren bir nanoparçacık sınıfıdır. Nanoçiçekler çiçek benzeri yapılar halinde olması reaksiyon kinetiği, diğer nanopartikül sınıflarına göre daha uzun süreli kararlılık, yüksek verimlilik ve özellikle düşük toksisite gibi özellikler sergilemektedir [53].

Yaptığımız tez kapsamında kullandığımız birinci kısımda bahsedilen Bizmut sülfür nanoçiçeklerinin toksik olmadığı belirlenmiş olup; Quayyum ve diğerleri [78]'nin çalışmasıyla uyumludur.

Ayrıca benzer şekilde [53], özellikle yüksek konsantrasyonlarda, çinko nanoçiçeğin (NF) Cu-NF'den daha güvenli bir terapötik alternatif olabileceğini bildirmiştir.

Yeni nanoparçacıklardan biri olan  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin genotoksik değerlendirmesi üzerine herhangi bir literatür çalışması olmadığı için,  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanoçiçeklerinin genotoksisite sonuçları doğrudan karşılaştırılamamış olup bu tarz çalışmaların daha çok yapılması gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında ikinci kısmında kullanılan; *Daphnia magna* sucul ekosistem için kirleticilerinin tepkilerine çabuk yanıt veren besin zincirinde kilit pozisyonu olan önemli bir model organizmadır. Ayrıca *D. magna* gibi suda yaşayan canlılar, nanoparçacıkları yiyecek sanabilir ve onları yutabilir. Bu durumdan dolayı nanoparçacıklara maruz kalabilir. Bu koşullar altında, nanoparçacıklar sindirim sisteminde toplanarak ölümle sonuçlanır[20]. Bazı araştırmacılar, *D. magna*'nın boyutları 50 nm'den küçük olan parçacıkları tükettiğini bildirmiştir. Sucul ekosistemlerde nanopartiküllerin birikmesi sonucunda toksik etkilerin etkisi besin zincirinin en üst kısmında bulunan insana kadar taşınabilmektedir. Nanoparçacıkların çevreye olan etkilerini incelemek için akut ve subakut testleri önem arz etmektedir. Bu tez kapsamında ikinci nanomalzeme olan Kobalt (Co) nanoyaprakların model organizma *Daphnia magna* 'ya olan etkileri incelendiğinde akut toksite değerlendirmesi sonucunda LC50 değerinin  $9,705 \text{ mg L}^{-1}$  olduğu tespit edilmiştir [20]. GHS [71]'e göre Toksik sınıflandırma Kategorisine göre orta toksik kategoriye aittir. Ayrıca, ISO [72]' e göre ISO10993-5 sınıflandırma kategorisine göre sitotoksik olarak bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında Wang ve diğerleri [79] 'a göre yaptıkları çalışmada *gpt* delta transgenik fareleri  $50 \mu\text{g/L}$  kobalt nanoparçacıklarına maruz bırakmışlardır. Transgenik farelerde, nano kobalt genotoksik etkilere neden olup iltihaplanmaya yol açmış olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları in vivo çalışma da nano kobalt parçacıklarının toksik olduğunu belirtmişlerdir. Hwang ve diğerleri [80]'a göre silika kaplı kobalt ferrit manyetik floresan nanopartikülleri in vivo ve in vitro gen ekspresyon profillerindeki toksiteyi araştırmışlar. Farelere uyguladıkları silika kaplı kobalt ferrit floresan nanopartiküllerinin toksik olduğunu tespit etmişlerdir. Luggun ve diğerleri [81] göre inceledikleri çalışma da insan fibroblast hücrelerinde kobalt oksit alaşımlarının genotoksik etki gösterip göstermediğini araştırmışlar. Yaptıkları çalışma sonucunda kobalt oksit alaşımlarının oksidatif strese neden olduğunu bazı kanser hücrelerini tetiklediğini yaptıkları toksikolojik testler sonucunda ifade etmişlerdir. Sonuç olarak kobalt oksit alaşımlarının orta toksik etkiye sahip olduğunu savunmuşlardır. Bu yapılan çalışma ve diğer çalışmalar tez çalışmasıyla uyumlu görülmektedir. Ponti ve diğerleri [82] yaptıkları incelemede nano kobalt ve nano kobalt iyonlarını fare fibroblastlarında Balb/3T3 maruz bırakmışlardır. Uyguladıkları

toksikolojik testler sonrasında nano kobalt iyonlarının toksik olduğunu DNA zincir kırılmalarına neden olduklarını, nano kobalt formunun ise toksik etki göstermediğini öne sürmüşlerdir.

Yapılan çalışmalara genellikle bakıldığında nano kobalt formunun ve nano kobalt alaşımlarının toksik olduğu gözlemlenmiştir. Kobalt ve kobalt alaşımlarının Genellikle toksik olduğu canlı üzerinde ciddi etkide zararları olduğu görülmüştür. Bu zararlı etkilerden bazıları DNA zincir kırılmaları, gen değişimi, hücre ölümü ve apoptozdur[83]. Ayrıca bu tez çalışmasında; kobalt nanoçiçeklerle ilgili sonuçlarımız diğer çalışmalar ile benzer şekilde olup; nanoçiçekler de çalışılan konsantrasyonlar için *D. magna* üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

## 5.1. Nanomalzemenin Karakterizasyonu

### 5.1.1. Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu

Zhou ve diğerleri [84], yaptıkları çalışmada Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nano yapısının karakterizasyonu için SEM değerini 100-200 nm arasında bulup; eşsiz şekilde malzemenin dağılım yaptığını tespit etmişlerdir [85]. Yaptıkları incelemede Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nano yapısının mükemmel uyum içerisinde olduklarını 50 nm olduğunu tespit etmişlerdir. Chowdhury ve diğerleri [86]'e göre sentezledikleri Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nanopartikülünde çökme yapılaşma olmadığını ileri sürüp 100 nm nin altında SEM görüntüsü elde ettiklerinden bahsetmişlerdir. Liu ve diğerleri [87], Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nano yapılarının mükemmel uyum gösterdiğini silindir şekile sahip olduğunu SEM cihazında yaptıkları ölçümde 100 nm nin altında değer saptadıklarını belirtmişlerdir.

Zhou ve diğerleri [84], yaptıkları çalışmada da Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nano yapısının karakterizasyonu için FT-IR ölçümlerinde nano yapının moleküler tayininde pik seviyesini  $2500 \text{ cm}^{-1}$  olarak hesaplamışlardır. Bharathi ve Wang[85] yaptıkları çalışmada Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) Nano yapısının karakterizasyonu için çalışma da FT-IR ölçümünde moleküler arası bağ hesaplamalarında  $779,596,538 \text{ cm}^{-1}$  olarak tespit etmişlerdir. Liu ve diğerleri [87]sentezledikleri de Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nano yapının  $1467;1370;720 \text{ cm}^{-1}$  pik yaptığını fonksiyonel gruplar arasındaki titreşimi incelemişlerdir. Araştırılan literatür çalışmaları yaptığımız çalışma ile doğruluğu uyumludur.



### 5.1.2. Kobalt (Co)Nanoçiçeklerinin Karakterizasyonu

Ansari ve diğeri [88] yaptıkları çalışmada kobalt nanopartikülleri için SEM değerini 50-480 nm arasında değiştiğini saptamışlardır. Nano yapının pürüzsüz ve eşsiz olduğunu savunmuşlardır. Shatrova ve diğeri [89] yaptıkları araştırmada yüzey morfolojisi ölçmek için kullandıkları SEM sonuçları 100 nm nin altında tespit ettiklerini ifade etmişlerdir. Ji ve diğeri [90] yaptıkları inceleme de sentezledikleri nanomalzemenin 50 nm olduğunu kristal yapısının düzgün ve pürüzsüz olduğuna dikkat çekmişlerdir. Jiang ve diğeri [91] yaptıkları inceleme de nano yapının yüzey morfolojisi için 10-30 nm aralığında bulduklarını tespit etmişlerdir. Ansari ve diğeri [88] yaptıkları çalışma da kobalt nanopartikülleri için XRD değerini  $2\theta$  41.55°; 44.47°;47.41° ;62.52° ;75.87° olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca pik noktasının 51.2-6° olduğunu bildirmişlerdir. Aghazadeh ve diğeri [92] yaptıkları çalışmada bizmut sülfür için XRD pik noktasının 19.3 olduğunu bulmuşlardır. Ji ve diğeri [90] yaptıkları inceleme de sentezlenen nano yapının kırınım noktalarını  $15 \leq 2\theta \leq 70^\circ$  arasında değişkenlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Jiang ve diğeri [91]. Sentezledikleri nanomalzemenin kırınım üzerine düşen atomik dizilim dalga boyunun pik değerlerinin 44,2°; 51,5° kırınım tepe noktasına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Literatürdeki çalışmalar yaptığımız çalışma ile uyumludur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoteknoloji uygulamaları her geçen gün atmakta bu durum da bilim dünyasını endişelendirip, nanopartiküllerin toksikolojik, etkilerini araştırmaya teşvik etti. Farklı nanomalzemelerin (kobalt ve bizmut sülfür nanoçiçekler dahil) çevre ve sucul organizmalar üzerindeki toksisitesine ilişkin çalışmaların sayısı net değildir ve sınırlı sayıdadır. Tez çalışması kapsamında sentezlenen Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin; basit, etkili, maliyeti düşük, çevre dostu bir sentez yöntemi geliştirilmiştir.

*Cyprinus carpio*'daki Bizmut Sülfür ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) nanoçiçeklerin genotoksik sitotoksik değerlendirmesi hakkında yapılan ilk çalışmadır. Tasarlanan proseste mikrodalga hidro termal yönteminin kullanılması, çevre dostu bir metodoloji sağlarken, homojen bir reaksiyon ortamının oluşturulması, hızlı ve verimli senteze olanak sağlamıştır. Karakterizasyon çalışmaları, yukarıda belirtilen nanoçiçekler üzerinde önceki araştırmalarla tutarlı sonuçlar olduğunu göstermiştir. Nanopartiküllerin biyolojik sistemlerle etkileşim mekanizması bilmek nanomalzemelerin güvenilirliğini bilmeyi sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasının ikinci kısmında ki model organizma *Daphnia magna* da ki kobalt nanoçiçeklerin sitotoksik ve genotoksik etkilerini belirlemeye yönelik yapılan yine ilk çalışmadır. Bu çalışmanın sitotoksik ve genotoksik sonuçları, kobalt nanoyaprakların toksik olduğunu ve sucul ekosistemlerde uzun vadeli olumsuz etkilere neden olabileceğini göstermektedir.

Nanoteknolojinin bir çok saha da kullanılması inanılmaz kolaylıklar sağlamaktadır. Suda yaşayan organizmalar üzerindeki toksisitesini değerlendirmek için yeterli sayıda çalışma mevcut değildir. Nanopartiküllerin neden olduğu genetik hasarın etki mekanizmalarını hakkında bilgi sahibi olmak için, hücre döngüsü ve DNA tamiri konularını da kapsayan detaylı in vivo ve in vitro sitotoksikite ve genotoksikite çalışmalarına da ayrıca önem verilmelidir. Ülkemizde yoğun kullanılan nanopartiküller için nanotoksikite veri tabanlı bankalar kurulmalıdır. Araştırmalar sonucunda elde edilen veriler sayesinde bu nanopartiküllerin güvenilirliği test edilecek, ne kadar risk taşıdığı değerlendirilebilecek ve nanopartiküllerin kullanımına dair uygulamalara yön verilebilecektir. Son olarak, çevresel güvenlik konularının değerlendirilmesi için yönergeler geliştirmek ve nanomalzemeler ekosisteme girmeden önce kirlenmenin yolunu ve boyutunu belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. *Sustainability in Action*. Rome, Italy.
2. Gezer, A., & Erdem, A. (2018). Su stresi, su kıtlığı ve su tasarrufu hakkında halkın farkındalığının belirlenmesi: Akdeniz Üniversitesi örnek çalışması.
3. Ahmadi, E., Yousefzadeh, S., Mokammel, A., Miri, M., Ansari, M., Arfaeina, H., ... & Mahvi, A. H. (2020). Kinetic study and performance evaluation of an integrated two-phase fixed-film baffled bioreactor for bioenergy recovery from wastewater and bio-wasted sludge. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 121, 109674.
4. Xue, XY., Cheng, R., Shi, L., Ma, Z. ve Zheng, X. (2017). Su kirliliğinin izlenmesi ve iyileştirilmesi için nanomalzemeler. *Çevre kimyası mektupları* , 15 (1), 23-27.
5. Chakraborty, A., Ruzimuradov, O., Gupta, R. K., Cho, J., & Prakash, J. (2022). TiO<sub>2</sub> nanoflower photocatalysts: Synthesis, modifications and applications in wastewater treatment for removal of emerging organic pollutants. *Environmental Research*, 212, 113550.
6. Khakbiz, M., Shakibania, S., Ghazanfari, L., Zhao, S., Tavakoli, M., & Chen, Z. (2023). Biyomedikal uygulamalar için tasarlanmış nanoçiçekler, nanoağaçlar, nanoyıldızlar, nanodendritler ve nanoyapraklar. *Nanoteknoloji İncelemeleri*, 12 (1), 20220523.
7. Thouless, D. J., Haldane, F. D. M., & Kosterlitz, J. M. (2016). The Nobel prize in physics 2016. *Current Science*, 111(8), 1293.
8. Yılmaz, S. (2018). Kati Oksit Yakıt Hücrelerinde Kullanılmak Üzere Şerit Döküm Yöntemiyle Bizmut Tabanlı Yeni Tip Elektrolitlerin Üretilmesi Ve Yakıt Hücre Uygulaması. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7(1), 350-369.
9. Zhang, F., Wang, Z., Song, L., Fang, H., & Wang, D.-G. (2020). Aquatic toxicity of iron-oxide-doped microplastics to *Chlorella pyrenoidosa* and *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 257, 113451.
10. Zhang, Y., Song, W., Lu, Y., Xu, Y., Wang, C., Yu, D.-G., & Kim, I. (2022). Recent Advances in Poly( $\alpha$ -L-glutamic acid)-Based Nanomaterials for Drug Delivery. *Biomolecules*, 12(5), 636. <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/5/636>
11. Nogueira, V., Lopes, I., Rocha-Santos, T., Goncalves, F., & Pereira, R. (2015). Toxicity of solid residues resulting from wastewater treatment with nanomaterials. *Aquatic Toxicology*, 165, 172-178.
12. Das, P. P., Chaudhary, V., Ahmad, F., & Manral, A. (2021). Effect of nanotoxicity and enhancement in performance of polymer composites using nanofillers: A state-of-the-art review. *Polymer Composites*, 42(5), 2152-2170.

13. Leudjo Taka, A., Tata, C. M., Klink, M. J., Mbianda, X. Y., Mtunzi, F. M., & Naidoo, E. B. (2021). A review on conventional and advanced methods for nanotoxicology evaluation of engineered nanomaterials. *Molecules*, 26(21), 6536.
14. Costell, M. H., Ancellin, N., Bernard, R. E., Zhao, S., Upson, J. J., Morgan, L. A., ... & Behm, D. J. (2012). Comparison of soluble guanylate cyclase stimulators and activators in models of cardiovascular disease associated with oxidative stress. *Frontiers in pharmacology*, 3, 128.
15. Eskin, A., Ekremoglu, M., Altinkaynak, C., & Özdemir, N. (2022). Effects of organic-inorganic hybrid nanoflowers' framework on hemocytes and enzymatic responses of the model organism, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 333-344.
16. Fiorino, A., Zhu, L., Thompson, D., Mittapally, R., Reddy, P., & Meyhofer, E. (2018). Nanogap near-field thermophotovoltaics. *Nature nanotechnology*, 13(9), 806-811.
17. Turan, F. Ergenler A. (2019) Assessment of DNA Damage by Comet Assay in *Trachinotus ovatus* Cells from Mersin Bay in the Northeastern Mediterranean. *NEsciences* 4(3): 25-
18. Turan, F. Ergenler, A. (2022). Acetamiprid'in *Cyprinus carpio*'daki Genotoksik Etkisinin Mikronükleus Analizi ve Comet Tahlihi Kullanılarak Araştırılması. *Türk Denizcilik ve Deniz Bilimleri Dergisi* , 8 (2), 80-89.
19. Buchman, J. T., Bennett, E. A., Wang, C., Tamijani, A. A., Bennett, J. W., Hudson, B. G., ... & Haynes, C. L. (2020). Nickel enrichment of next-generation NMC nanomaterials alters material stability, causing unexpected dissolution behavior and observed toxicity to *S. oneidensis* MR-1 and *D. magna*. *Environmental Science: Nano*, 7(2), 571-587.
20. Farsi, L., Sabzalipour, S., Khodadadi, M., Haghghi Fard, N. J., & Jamali-Sheini, F. (2021). The Ecotoxicity of Nanoparticles Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on *Daphnia magna* in Freshwater. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 43(6), 509-516.
21. Kutluyer, F., & Aksakal, E. (2013). Sucul model organizmalar ve biyoteknolojide kullanımı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(2), 101-107.
22. Baek, S. H., Roh, J., Park, C. Y., Kim, M. W., Shi, R., Kailasa, S. K., & Park, T. J. (2020). Cu-nanoflower decorated gold nanoparticles-graphene oxide nanofiber as electrochemical biosensor for glucose detection. *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110273.
23. Bilal, M., Asgher, M., Shah, S. Z. H., & Iqbal, H. M. (2019). Engineering enzyme-coupled hybrid nanoflowers: The quest for optimum performance to meet biocatalytic challenges and opportunities. *International journal of biological macromolecules*, 135, 677-690.

24. Chung, M., Jang, Y. J., & Kim, M. I. (2018). Convenient colorimetric detection of cholesterol using multi-enzyme co-incorporated organic–inorganic hybrid nanoflowers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *18*(9), 6555-6561.
25. Cui, J., & Jia, S. (2017). Organic–inorganic hybrid nanoflowers: A novel host platform for immobilizing biomolecules. *Coordination Chemistry Reviews*, *352*, 249-263.
26. Gulmez, C., Altinkaynak, C., Özdemir, N., & Atakisi, O. (2018). Proteinase K hybrid nanoflowers (P-hNFs) as a novel nanobiocatalytic detergent additive. *International journal of biological macromolecules*, *119*, 803-810.
27. Pikula, K., Johari, S. A., & Golokhvast, K. (2022). Colloidal Behavior and Biodegradation of Engineered Carbon-Based Nanomaterials in Aquatic Environment. *Nanomaterials*, *12*(23), 4149.
28. Elzey, S., & Grassian, V. H. (2010). Agglomeration, isolation and dissolution of commercially manufactured silver nanoparticles in aqueous environments. *Journal of Nanoparticle Research*, *12*, 1945-1958.
29. Malhotra, S. P. K., & Alghuthaymi, M. A. (2022). Biomolecule-assisted biogenic synthesis of metallic nanoparticles. *Agri-Waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials*, 139-163.
30. Tüylek, Z. (2019). Nanotıp alanında kullanılan sistemler. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *28* (2), 119-129.
31. Tüylek, Z. (2021). Biyolojik sistemlerde kaynaklar nano/biyosensör ürünlere hazırlık. *Uluslararası Biyosistem Mühendisliği Dergisi*, *2* (1), 17-39.
32. Demir, E. (2016). Nanomateryallerin toksisite ve genotoksisite çalışmalarında bir in vivo model organizma olarak *Drosophila melanogaster* (meyve sineği)'in kullanılması. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, *9*(1), 01-11.
33. Sancar, A. (2016). Mechanisms of DNA repair by photolyase and excision nuclease (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, *55*(30), 8502-8527.
34. Öner, M., Demir, C., Çetin, G., & Bakırdere, S. (2023). Development of a rapid and efficient analytical method for trace lead determination: Manganese dioxide nanoflower based dispersive solid-phase extraction. *Measurement*, *211*, 112606.
35. Shende, P., Kasture, P., & Gaud, R. S. (2018). Nanoflowers: The future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, *46*(sup1), 413-422.
36. Luo, Y. K., Song, F., Wang, X. L., & Wang, Y. Z. (2017). Pure copper phosphate nanostructures with controlled growth: a versatile support for enzyme immobilization. *CrystEngComm*, *19*(22), 2996-3002.

37. Kharisov, B. I. (2008). A review for synthesis of nanoflowers. *Recent Patents on Nanotechnology*, 2(3), 190-200.
38. Lee, S. W., Cheon, S. A., Kim, M. I., & Park, T. J. (2015). Organic–inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 13(1), 54.
39. Ge, J., Lei, J., & Zare, R. N. (2012). Protein–inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology*, 7(7), 428-432.
40. Krug, H. F., & Wick, P. (2011). Nanotoxicology: an interdisciplinary challenge. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(6), 1260-1278.
41. Türkez, H., Geyikoglu, F., & Keleş, M. S. (2005). Biochemical response to colloidal bismuth subcitrate: dose-time effect. *Biological trace element research*, 105, 151-158.
42. Abudayyak, M., Öztaş, E., Arici, M., & Özhan, G. (2017). Investigation of the toxicity of bismuth oxide nanoparticles in various cell lines. *Chemosphere*, 169, 117-123.
43. Çiğerci, İ. H., Ali, M. M., Kaygısız, Ş. Y., & Liman, R. (2016). Genotoxicity assessment of cobalt chloride in *Eisenia hortensis* earthworms coelomocytes by comet assay and micronucleus test. *Chemosphere*, 144, 754-757.
44. Abudayyak, M., Gurkaynak, T. A., & Özhan, G. (2017). In vitro evaluation of cobalt oxide nanoparticle-induced toxicity. *Toxicology and Industrial Health*, 33(8), 646-654.
45. Lish, R. A. D., Johari, S. A., Sarkheil, M., & Yu, I. J. (2019). On how environmental and experimental conditions affect the results of aquatic nanotoxicology on brine shrimp (*Artemia salina*): A case of silver nanoparticles toxicity. *Environmental Pollution*, 255, 113358.
46. Koca, F. D., Demirezen Yilmaz, D., Ertas Onmaz, N., Yilmaz, E., & Ocsoy, I. (2020). Green synthesis of allicin based hybrid nanoflowers with evaluation of their catalytic and antimicrobial activities. *Biotechnology Letters*, 42, 1683-1690.
47. Raju, N. V., Prasanth, P., Harsha, T., Naravula, J., Srikanth, K., & Nutalapati, V. (2022). Evaluation of oxidative stress biomarkers in *Pila virens* exposed to spinel Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Materials Science and Engineering: B*, 282, 115757.
48. Balasurya, S., Okla, M. K., Alaraidh, I. A., Soufan, W., Al-Ghamdi, A. A., Ahamad, S. R., ... & Khan, S. S. (2022). Photodegradation of 5-fluorouracil, carvedilol, par-chlorophenol and methimazole with 3D MnWO<sub>4</sub> nanoflower modified Ag<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> nanorods: A non-genotoxic nanomaterial for water treatment. *Chemosphere*, 297, 134130.
49. Rodriguez-Garraus, A., Azqueta, A., Vettorazzi, A., & Lopez de Cerain, A. (2020). Genotoxicity of silver nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(2), 251.

50. Feswick, A., Griffitt, R. J., Siebein, K., & Barber, D. S. (2013). Uptake, retention and internalization of quantum dots in *Daphnia* is influenced by particle surface functionalization. *Aquatic Toxicology*, 130-131, 210-218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.01.002>
51. Zhu, X., Chang, Y., & Chen, Y. (2010). Toxicity and bioaccumulation of TiO<sub>2</sub> nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 78(3), 209-215.
52. Altinkaynak, C., Baldemir, A., Özdemir, N., Yılmaz, V., & Öçsoy, İ. (2019). Synthesis of organic-inorganic hybrid nanoflowers using *Trigonella foenum-graecum* seed extract and investigation of their anti-microbial activity.
53. Bor, E., Koca Caliskan, U., Anlas, C., Durbilmez, G. D., Bakirel, T., & Ozdemir, N. (2022). Synthesis of *Persea americana* extract based hybrid nanoflowers as a new strategy to enhance hyaluronidase and gelatinase inhibitory activity and the evaluation of their toxicity potential. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 1-13.
54. Chen, J. S., Zhu, T., Hu, Q. H., Gao, J., Su, F., Qiao, S. Z., & Lou, X. W. (2010). Shape-controlled synthesis of cobalt-based nanocubes, nanodiscs, and nanoflowers and their comparative lithium-storage properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(12), 3628-3635.
55. Kartoğlu, B., Bahçivan, A., Erarpat, S., Bayraktar, A., & Bakirdere, S. (2023). Microwave assisted synthesis method for cobalt nanoleaves and its usage in sensitive determination of lead in blue butterfly tea extract and tap water samples by flame atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 121, 105373.
56. Chau, R., Doyle, B., Datta, S., Kavalieros, J., & Zhang, K. (2007). Integrated nanoelectronics for the future. *Nature materials*, 6(11), 810-812.
57. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (1992) Guidelines for Testing of Chemicals, Guideline 203: Fish Acute Toxicity Test. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
58. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2018) Guidelines for Testing of Chemicals, Test No. 433: Fish, Acute Toxicity Test. Guidelines for the Testing of Chemicals. Paris, France.
59. OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development (2009). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4: Health Effects. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD).
60. Cavas, T. (2011). In vivo genotoxicity evaluation of atrazine and atrazine-based herbicide on fish *Carassius auratus* using the micronucleus test and the comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1431-1435.
61. Bircan-Yildirim, Y., Genc, E., Turan, F., Cek, S., & Yanar, M. (2010). The anaesthetic effects of quinaldine sulphate, muscle relaxant diazepam and their

- combination on convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Günther, 1867) juveniles. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(3), 547-550.
62. Carrasco, K. R., Tilbury, K. L., & Myers, M. S. (1990). Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(11), 2123-2136.
  63. Çavaş, T., & Könen, S. (2008). In vivo genotoxicity testing of the amnesic shellfish poison (domoic acid) in piscine erythrocytes using the micronucleus test and the comet assay. *Aquatic Toxicology*, 90(2), 154-159.
  64. Cavalcante, D. G. S. M., Martinez, C. B. R., & Sofia, S. H. (2008). Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 655(1-2), 41-46.
  65. Collins, A. R., & Horvathova, E. (2001). Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: applications of the comet assay. *Biochemical Society Transactions*, 29(2), 337-340.
  66. Strober, W. (1997). Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current protocols in immunology*, 21(1), A-3B.
  67. Bury, N. R., Walker, P. A., & Glover, C. N. (2003). Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of experimental biology*, 206(1), 11-23.
  68. Sun, L., Wang, Y., Wang, R., Wang, R., Zhang, P., Ju, Q., & Xu, J. (2020). Physiological, transcriptomic, and metabolomic analyses reveal zinc oxide nanoparticles modulate plant growth in tomato. *Environmental Science: Nano*, 7(11), 3587-3604.
  69. Sijm, D. T., & van der Linde, A. (1995). Size-dependent bioconcentration kinetics of hydrophobic organic chemicals in fish based on diffusive mass transfer and allometric relationships. *Environmental science & technology*, 29(11), 2769-2777.
  70. Qiang, L., Pan, X., Zhu, L., Fang, S., & Tian, S. (2016). Effects of nano-TiO<sub>2</sub> on perfluorooctanesulfonate bioaccumulation in fishes living in different water layers: implications for enhanced risk of perfluorooctanesulfonate. *Nanotoxicology*, 10(4), 471-479.
  71. GHS, Globally Harmonized System, (2017). Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS) (Vol. ST/ SG/AC.10/30/Rev.7). Copyright Law of the United St.
  72. ISO (International Standard Organization) 10993-5. Biological evaluation of medical Devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. <http://nhiso.com/wp-content/uploads/2018/05/ISO-10993-5-2009.pdf>(accessed June 10, 2023).
  73. Deshpande, B. D., Agrawal, P. S., Yenkie, M. K. N., & Dhoble, S. J. (2020). Prospective of nanotechnology in degradation of waste water: A new challenges. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 22, 100442.



74. Lee, J. T., Mathur, S., Shen, S., Wu, J. M., & Chen, J. (2021). MoSe<sub>2</sub> nanoflowers for highly efficient industrial wastewater treatment with zero discharge. *Advanced Science*, 8(23), 2102857.
75. Liu, Y., Zhuang, J., Zhang, X., Yue, C., Zhu, N., Yang, L., ... & Zhang, L. W. (2017). Autophagy associated cytotoxicity and cellular uptake mechanisms of bismuth nanoparticles in human kidney cells. *Toxicology letters*, 275, 39-48.
76. He, N., Li, X., Feng, D., Wu, M., Chen, R., Chen, T., Feng, X. (2013) Exploring the toxicity of a bismuth–asparagine coordination polymer on the early development of zebrafish embryos. *Chemical Research in Toxicology* 26: 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.nanos.2020.100442>
77. Ahamed, M., Akhtar, M. J., Khan, M. M., Alrokayan, S. A., & Alhadlaq, H. A. (2019). Oxidative stress mediated cytotoxicity and apoptosis response of bismuth oxide (Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles in human breast cancer (MCF-7) cells. *Chemosphere*, 216, 823-831.
78. Qayyum, A., Batool, Z., Fatima, M., Buzdar, S. A., Ullah, H., Nazir, A., ... & Imran, R. (2022). Antibacterial and in vivo toxicological studies of Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/CuO/GO nanocomposite synthesized via cost effective methods. *Scientific Reports*, 12(1), 14287.
79. Wan, R., Mo, Y., Zhang, Z., Jiang, M., Tang, S., & Zhang, Q. (2017). Cobalt nanoparticles induce lung injury, DNA damage and mutations in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 14(1), 1-15.
80. Hwang, D. W., Lee, D. S., & Kim, S. (2012). Gene Expression Profiles for Genotoxic Effects of Silica-Free and Silica-Coated Cobalt Ferrite Nanoparticles. *Journal of Nuclear Medicine*, 53(1), 106.
81. Lugun, O., Singh, J., Thakur, R. S., & Pandey, A. K. (2022). Cobalt oxide (Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles induced genotoxicity in Chinese hamster lung fibroblast (V79) cells through modulation of reactive oxygen species. *Mutagenesis*, 37(1), 44-59.
82. Ponti, J., Sabbioni, E., Munaro, B., Broggi, F., Marmorato, P., Franchini, F., Colognato, R., & Rossi, F. (2009). Genotoxicity and morphological transformation induced by cobalt nanoparticles and cobalt chloride: an in vitro study in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Mutagenesis*, 24(5), 439-445.
83. Papageorgiou, I., Yin, Z., Ladon, D., Baird, D., Lewis, A. C., Sood, A., ... & Case, C. P. (2007). Genotoxic effects of particles of surgical cobalt chrome alloy on human cells of different age in vitro. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 619(1-2), 45-58.
84. Zhou, R., Zhou, Q., Ling, G., & Zhang, P. (2023). A cross-linked hydrogel of bismuth sulfide nanoparticles with excellent photothermal antibacterial and mechanical properties to combat bacterial infection and prompt wound healing. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 660, 130832.

85. Bharathi, P., & Wang, S. F. (2023). Integration of Bismuth sulfide/functionalized halloysite nanotube composite: An electrochemical tool for diethofencarb analysis. *Chemosphere*, 310, 136834.
86. Chowdhury, S. S., Bera, B., & De, S. (2023). Adsorptive remediation of aqueous inorganic mercury with surfactant enhanced bismuth sulfide nanoparticles. *Environmental Research*, 219, 115145.
87. Liu, J., Zheng, X., Yan, L., Zhou, L., Tian, G., Yin, W., ... & Zhao, Y. (2015). Bismuth sulfide nanorods as a precision nanomedicine for.
88. Ansari, S. M., Bhor, R. D., Pai, K. R., Sen, D., Mazumder, S., Ghosh, K., ... & Ramana, C. V. (2017). Cobalt nanoparticles for biomedical applications: Facile synthesis, physiochemical characterization, cytotoxicity behavior and biocompatibility. *Applied Surface Science*, 414, 171-187.
89. Shatrova, N., Yudin, A., Levina, V., Dzidziguri, E., Kuznetsov, D., Perov, N., & Issi, J. P. (2017). Elaboration, characterization and magnetic properties of cobalt nanoparticles synthesized by ultrasonic spray pyrolysis followed by hydrogen reduction. *Materials Research Bulletin*, 86, 80-87.
90. Ji, X., Hallam, P. M., Houssein, S. M., Kadara, R., Lang, L., & Banks, C. E. (2012). Printable thin film supercapacitors utilizing single crystal cobalt hydroxide nanosheets. *RSC advances*, 2(4), 1508-1515.
91. Jiang, Z., Wei, J., Zhang, Y., Niu, X., Li, J., Li, Y., ... & Li, J. (2023). Electron transfer mechanism mediated nitrogen-enriched biochar encapsulated cobalt nanoparticles catalyst as an effective persulfate activator for doxycycline removal. *Journal of Cleaner Production*, 384, 135641.
92. Aghazadeh, M., Barmi, A. A. M., Gharailou, D., Peyrovi, M. H., Sabour, B., & Khosroshahi, F. N. (2013). Cobalt hydroxide ultra-fine nanoparticles with excellent energy storage ability. *Applied surface science*, 283, 871-875.

## DİZİN

### A

Akut. 14, 26, 27, 32, 33, 40, 43, 49,  
50, 51

### B

$\text{Bi}_2\text{S}_3$ . 6, 18, 21, 22, 24, 25, 27, 30,  
31, 32, 38, 39, 40, 41, 42, 43,  
44, 45, 46, 47, 54, 56, 57, 58,  
59  
Bizmut Sülfür. 1, 27, 32, 38, 39,  
40, 41, 44, 46, 57, 58, 59

### C

Co, 4, 6, 22, 23, 24, 25, 28, 29, 30,  
31, 33, 47, 48, 49, 50, 51, 52,  
53, 54, 56, 58, 65

### D

Daphnia magna. 5, 15, 19, 20,  
26, 31, 33, 49, 50, 52, 53, 56, 60,  
61, 62, 65  
DNA. 5, 8, 12, 14, 35, 44, 45, 52,  
53, 57, 62, 63, 66, 67

### F

FAO. 2, 60  
Fourier dönüşüm kızılötesi. 24,  
39

### H

Hücre. 36, 37, 44, 52, 53, 55, 61

### K

Kobalt. 4, 14, 18, 22, 23, 24, 28,  
29, 33, 47, 48, 49, 50, 51, 52,  
53, 54, 56, 57, 58, 12.

### N

nano. 2, 3, 5, 10, 11, 24, 29, 54,  
55, 57, 58, 63, 66  
nanoçiçek. 13, 16, 27, 32, 44, 45,  
46, 52, 55  
Nanoçiçek. 9  
Nanopartikül. 8, 9  
Nanotoksikoloji. 4, 11

### M

Mikronükleus. 33, 34, 46, 62  
Model Organizma. 33, 41, 42,  
50, 52, 54

### O

OECD. 15, 26, 27, 31, 32, 33, 41,  
50, 51, 52, 65

### R

Referans · 5, 18  
resim · 2, 4, 20, 21, 28, 47  
Resimle · 27  
Resimlemelerin Açıklamaları · 21

### S

Sentez. 10  
su. 2, 3, 4, 5, 6, 10, 14, 15, 19,  
21, 22, 27, 28, 32, 33, 50, 60  
Subakut. 27, 32, 33

### T

Taramalı elektron mikroskobu.  
24, 38  
Tek Hücre Jel Elektrofrezisi. 36,  
44

### X

X ışınımı kırınımı (XRD). 3



**TEKNOVERSITE**



teknoversite İNGİLİZCENİZ

İSTE

