

**TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MÜHENDİSLİK NANOPARÇACIKLARININ CANLI SİSTEMLER ve/veya  
ÇEVRE İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN ve MEKANİZMALARININ  
SİSTEMATİK OLARAK İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Fatma Güzde YÜCE**

**Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hatice DURAN DURMUŞ**

**NİSAN, 2020**

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı



**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.



**Prof. Dr. Nurdan DEMİRCİ SANKIR**  
Ana Bilim Dalı Başkan

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 161611022 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Fatma Gözde YÜCE'nin** ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**MÜHENDİSLİK NANOPARÇACIKLARININ CANLI SİSTEMLER VE/VEYA ÇEVRE İLE ETKİLEŞİM TÜRLERİNİN ve MEKANİZMALARININ SİSTEMATİK OLARAK İNCELENMESİ**” başlıklı tezi **22/04/2020** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Hatice DURAN DURMUŞ**

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi



**Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN**

Ankara Üniversitesi



**Prof. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN**

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi





## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.



Fatma Gzde Yüce



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MÜHENDİSLİK NANOPARÇACIKLARININ CANLI SİSTEMLER VE / VEYA ÇEVRE İLE ETKİLEŞİMLERİNİN MEKANİZMALARININ VE ETKİLERİNİN SİSTEMATİK OLARAK İNCELENMESİ

Fatma Gözde Yüce

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hatice Duran Durmuş

Tarih: Nisan 2020

Son yıllarda, parçacıkların nanometre skalasında üretimleri artmıştır. Bu parçacıklar akademik ve endüstriyel alanlarda büyük ölçüde çalışılmakta ve nanoparçacık olarak isimlendirilmektedir. Nanoparçacıkların üretimi, gıda ürünlerinden kozmetik ürünlere kadar çok geniş alanda kullanımı ve insanların nanoparçacıklara maruz kalma oranı günden güne artmış ve yaygınlaşmıştır. Bununla beraber çeşitli türlerdeki nanoparçacıkların üretimi ve uygulama alanlarında büyük bir artış görülmesine rağmen, bu parçacıklara maruz kalımdan sonra etkilerini çalışan araştırmalar aynı oranda artış göstermesine rağmen, sistematik bir çalışma yapılmamasından dolayı aralarında bir fikir birliği oluşmamıştır. Buradan yola çıkarak, bu çalışmada, hücrelerle etkileşen çeşitli şekil, boyut ve türdeki oksit nanoparçacıkların *in vitro* ve *in vivo* toksisitelerinin sistematik bir şekilde incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada ticari olarak satın alınan yalın haldeki titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>, E171) nanoparçacıkları, düzensiz şekil ve boyut dağılımına sahip yalın haldeki ve yüzeyleri amino propil silan (APTES) molekülüyle modifikasyonu gerçekleştirilen demir oksit

(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparçacıkları ve küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip yalın haldeki ve yüzeyleri amino propil silan (APTES) molekülüyle modifikasyonu gerçekleştirilen demir oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparçacıkları kullanılmıştır. Bu nanoparçacıkların çözücü içerisinde dağılımları ve parçacık büyüklüğü hakkında genel bilgi edinmek için dinamik ışık saçılımı (DLS), yüzey morfoloji ve topografi analizleri için geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), yüzey kimyasal yapısı ve yüzey modifikasyonlarının başarılı olup olmadığını analiz etmek için X-ray ışın spektroskopisi (XPS), kristal yapısı ve kristal özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak için X-ışını kırınım spektroskopisi, yüzey alanı ve gözenek çapı analizi için Branauer-Emmet-Teller (BET), demir oksit nanoparçacıklarının manyetik özellik ve karakteristiğini belirlemek amacıyla titreşim numune manyetometresi (VSM) yöntemlerinden yararlanılarak fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla sıralanan karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Nanoparçacıkların toksik özelliklerinin belirlenebilmesi için hücre canlılık (MTT) ve oksidatif stres deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, küresel şekle ve homojen boyut dağılımına sahip nanoparçacıkların *in vitro* ortamda sitotoksitesi insan epitel kolorektal adenokarsinoma (CaCo-2) hücre hattı kullanılarak 7,81-500 µg/ml konsantrasyonlarında MTT'leri değerlendirilmiştir. Daha sonra, IC50/2 ve IC50/4 konsantrasyonlarında oksidatif stres özellikleri incelenmiştir. Küresel şekle ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkların *in vivo* genotoksik etki ve yaşam özelliği toksitesi incelenmesi için ise tatlı su tatarcığı *Chironomus riparius* larvaları kullanılarak kg sediment başına 1, 5, 10, 50 ve 100 mg nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> konsantrasyonlarında deneyler gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonunda nanoparçacıkların başarılı bir şekilde yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Nanoparçacıkların fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenerek, *in vivo* ve *in vitro* deneyler yapılarak sistematik bir şekilde toksik özellikleri değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Nanoparçacık, Nanotoksikoloji, Yüzey modifikasyonu, Yüzey karakterizasyonu, Sitotoksiste, Ekotoksiste, Genotoksiste

## ABSTRACT

Master of Science

SYSTEMATIC INVESTIGATIONS OF THE MECHANISMS AND EFFECTS OF  
ENGINEERED NANOMATERIAL INTERACTIONS WITH LIVING SYSTEMS  
AND/OR THE ENVIRONMENT

Fatma Gzde Yüce

TOBB University of Economics and Technology  
Institute of Natural and Applied Sciences  
Micro and Nanotechnology Science Programme

Supervisor: Assoc. Prof. Hatice Duran Durmuş

Date: April 2020

Especially in recent years, the production of particles on the nanometer scale has increased. These particles are widely studied in academic and industrial fields and are called nanoparticles. The production of nanoparticles, their wide use area from food products to cosmetics, and the rate of human exposure to nanoparticles have increased day by day and become widespread. Nonetheless, there has been a great increase in the production and application areas of various types of nanoparticles, and although the researches that studied their effects after exposure to these particles have increased in the same proportion, there has been no consensus among them due to the lack of a systematic study. From this point of view, in this study, it is aimed to systematically investigate *in vitro* and *in vivo* toxicities of oxide nanoparticles of various shapes, sizes and types that interact with cells.

The commercially purchased bare titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>, E171) nanoparticles, irregular shape and sized bare and amino propyl silane (APTES) modified iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles, and spheric and uniform bare and 3-amino propyl silane (APTES) modified iron oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles were used. Various characterization techniques have been carried out to determine the physical and



chemical properties of these nanoparticles. Dynamic light scattering (DLS) to obtain general information about the dispersion and particle size in the solvent, transmission electron microscopy (TEM) for surface morphology and topography analysis, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) to analyze surface chemical structure and whether surface modifications are successful or not, X-ray diffraction (XRD) spectroscopy to investigate crystal structure and crystal properties, Brunauer-Emmett-Teller (BET) for surface area and pore diameter analysis, vibration sample magnetometry (VSM) methods for the magnetic properties and characteristics of iron oxide nanoparticles were used.

Cell viability assay (MTT) and oxidative stress experiments were carried out to determine the toxic properties of nanoparticles. For this purpose, the cytotoxicity of nanoparticles with spherical shape and homogeneous size distribution was evaluated with MTT results at 7.81-500  $\mu\text{g/ml}$  concentrations by using human epithelium colorectal adenocarcinoma (CaCo-2) cell line *in vitro*. Then, oxidative stress properties at IC<sub>50</sub> / 2 and IC<sub>50</sub> / 4 concentrations were investigated. For the *in vivo* genotoxic effect and life treatment toxicity of spheric and uniform iron oxide nanoparticles experiments were carried out at 1, 5, 10, 50 and 100 mg nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> concentrations per kg of sediment using freshwater midge *Chironomus riparius* larvae.

At the end of the study, the surface modification of the nanoparticles was successfully performed. By determining the physical and chemical properties of nanoparticles, *in vivo* and *in vitro* experiments were performed to evaluate their toxic properties systematically.

**Keywords:** Nanoparticle, Nanotoxicology, Surface modification, Surface characterization, Cytotoxicity, Ecotoxicity, Genotoxicity

## TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden başlayarak yüksek lisans eğitimimde de akademik anlamdaki değerli bilgi birikimini paylaşmaktan hiç çekinmeyen, her zaman yol gösterici, eğitici ve bilgilendirici bakış açısıyla çalışmalarına ışık tutan, psikolojik açıdan da desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Hatice DURAN DURMUŞ' a,

Tez jürimde de yer alan, çalışmalarımın bazı adımlarında yol gösterici fikirler sunan Prof. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN'e, tez çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için laboratuvardaki tüm imkanlarını bizimle paylaşan Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN ve öğrencisi Recep UYAR'a, birlikte çalıştığımız Boris Jovanović ve Dimitrija Savić Zdravković'e katkılarından dolayı,

Hayatımın her anında kilometrelerce uzakta olsak dahi varlıklarını ve bana olan güvenlerini her zaman hissettiren, hangi sorunla karşılaşırsam karşılaştığım her zaman yanımda olacaklarını bildiğim, bugüne dek kazandığım tüm başarılarıdaki en büyük destekçilerim, benim için hayatta her şeyden ve herkesten daha değerli olan başta annem ve babam olmak üzere, minik yeğenim Mihrimah'ı ailemize kattığı için ve bölümümü seçerken en büyük destekçim olan ablama, benden sadece 1 yaş küçük olan ancak benim için her zaman küçük bir çocuk olarak kalacak kardeşime,

2013 yılından bu yana birlikte her türlü zorluğa göğüs gererek beraber aşmaya çalıştığımız, 1 yıl boyunca aynı evi paylaştığımız, günden güne artan sevgi, saygı ve güvenimizle inşa ettiğimiz ömürlük dostluğumuzun eş mimarı Eylül'e, Eylül sayesinde tanışarak ev arkadaşı olduğumuz miniğimiz Habiboş'a, liseden bu yana hiç kopmayan bağlar ile her zaman yanımda olan Biray'a, yalnızca enişte değil aynı zamanda bir arkadaş bir dost olan Salih'e, hem lisans hayatımda hem de yüksek lisans hayatımda yanımda olan, manevi olarak da desteğini her zaman hissettiren, bugünlere gelmem de payı olduğunu bildiğim Zehroş'a, karşılıklı şakalaşmalarımızla eğlendiğimiz laboratuvar arkadaşım Göktürk'e,

Bugüne dek birlikte çalıştığım tüm MiNiERG araştırma grubu üyelerine,

Hem lisans hem de yüksek lisans eğitimim boyunca tüm akademik ve sosyal imkanlarını açan ve burs sağlayan TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi'ne, Avrupa Birliği destekli NANOFISH projesine ve 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı ile finansal desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.





## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>xvii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>2</b>
1.1. Giriş.....	2
1.2. Çalışmanın Amacı.....	4
<b>2. LİTERATÜR ÖZETİ</b> .....	<b>6</b>
2.1 Nanoteknoloji.....	6
2.2 Nanoteknolojinin Avantajları.....	7
2.3 Nanoteknolojinin Dezavantajları .....	8
2.4 Nanoteknolojini Uygulama Alanları.....	9
2.4.1 Tıp ve biyomedikal alandaki uygulamalar.....	9
2.4.2 Elektronik alandaki uygulamalar .....	11
2.4.3 Çevre uygulamaları .....	12
2.4.4 Savunma ve uzay sanayi alanındaki uygulamalar.....	13
2.4.5 Tekstil alanındaki uygulamalar .....	13
2.4.6 Kozmetik alandaki uygulamalar .....	14
2.5 Nanopartiküller .....	15
2.6 Nanopartiküllerin Toksik Etkileri .....	16
2.6.1 Boyut etkisi .....	17
2.6.2 Şekil etkisi.....	17
2.6.3 Yüzey kimyası ve kimyasal bileşen etkisi .....	18
2.6.4 Doz etkisi .....	18
2.6.5 Serbest radikal üretimi .....	18
2.7. Nanopartiküllerin Ekotoksik Etkileri .....	19
2.8. Titanyum Dioksit (TiO <sub>2</sub> ) Nanopartikülleri.....	21
2.9. Demir Oksit (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) Nanopartikülleri .....	22
2.10. Nanoparçacıkların Toksik ve Ekotoksik Özelliklerinin Sistemik Olarak Araştırılmasının Önemi .....	23
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>26</b>
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler .....	26
3.1.1 Küresel Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacık sentezinde ve yüzey modifikasyonunda kullanılan kimyasal malzemeler.....	26
3.1.2 Düzensiz şekil ve boyuta Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacık sentezinde ve yüzey modifikasyonunda kullanılan kimyasal malzemeler.....	26

3.1.3	TiO <sub>2</sub> yüzey modifikasyonunda kullanılan kimyasal malzemeler.....	26
3.1.4	Canlılık ve oksidatif stres deneylerinde kullanılan kimyasal malzemeler .....	26
3.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler.....	27
3.3.	Nanopartikül Sentezi ve Yüzey Modifikasyonu .....	27
3.3.1	TiO <sub>2</sub> nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu.....	27
3.3.2	Düzensiz şekil ve boyuta sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkların sentezlenmesi ve yüzey modifikasyonu .....	28
3.3.3	Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının sentezlenmesi ve yüzey modifikasyonu .....	28
3.4.	Küresel Şekle ve Homojen Boyuta Sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Nanoparçacıklarının Sitotoksosite ve Oksidatif Stres Deneyleri.....	29
3.5.	Küresel Şekle ve Homojen Boyuta Sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> Nanoparçacıkların Ekotoksosite Deneyleri.....	30
3.5.1	Biyokimyasal analizler.....	31
3.5.2	Yaşam özelliği toksisitesi.....	31
3.5.3	Genotoksosite.....	33
3.5.3.1	Jel elektroforez yöntemi (Comet Assay).....	33
3.5.3.2	İstatistiksel analiz .....	33
3.6.	Sentezlenen ve Yüzey Modifikasyonu Yapılan Nanoparçacıkların Karakterizasyonu.....	34
3.6.1	Dinamik Işık Saçılımı (DLS) .....	34
3.6.2	Zeta Potansiyel Ölçümü .....	35
3.6.3	Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) .....	37
3.6.4	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) .....	39
3.6.5	X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS).....	40
3.6.6	X-ışını Kırınımı (XRD).....	42
3.6.7	Branauer-Emmet-Teller (BET) .....	43
3.6.8	Titreşim Numune Manyetometresi (VSM) .....	44
3.6.9	<i>In vitro</i> sitotoksosite deneyleri .....	45
3.6.10	<i>In vivo</i> ekotoksikoloji deneyleri .....	47
<b>4.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>48</b>
4.1.	Titanyum Dioksit (TiO <sub>2</sub> ) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları.....	48
4.1.1	Titanyum dioksit nanoparçacıklarının boyut, şekil ve morfoloji analizi.....	48
4.1.2	Titanyum dioksit nanoparçacıklarının APTES ile yüzey modifikasyonunun kimyasal karakterizasyonu .....	50
4.1.3	Titanyum dioksit nanoparçacıklarının kristal yapı özelliklerinin belirlenmesi .....	51
4.1.4	Titanyum dioksit nanoparçacıklarının yüzey alanı ve gözenek çapı analizi .....	52
4.2.	Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları.....	53
4.2.1	Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının boyut, şekil ve morfoloji analizi.....	53
4.2.2	Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının APTES ile yüzey modifikasyonunun kimyasal karakterizasyonu.....	54
4.2.3	Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının manyetik özelliklerinin incelenmesi .....	55

4.2.4	Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının yüzey alanı ve gözenek çapı analizi .....	56
4.3.	Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları.....	57
4.3.1	Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) nanoparçacıklarının boyut ve morfoloji analizi .....	57
4.3.2	Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının yüzey yükünün belirlenmesi.....	60
4.3.3	Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının APTES ile yüzey modifikasyonunun kimyasal karakterizasyonu .....	60
4.3.4	Küresel şekle ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının kristal yapı analizi .....	61
4.3.5	Küresel şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının manyetik özelliklerinin araştırılması.....	62
4.3.6	Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip küresel demir oksit nanoparçacıklarının <i>In Vitro</i> sitotoksikite ve oksidatif stres deney sonuçları....	63
4.3.7	Küresel şekle ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının sedimentasyon özelliklerinin incelenmesi.....	67
4.3.7.1	Kaba kum-NP etkileşimi .....	67
4.3.7.1.1	Yalın haldeki kumun SEM incelemesi .....	67
4.3.7.1.2	50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ kum örneğinin SEM incelemesi .....	68
4.3.7.1.3	100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ kum örneğinin SEM incelenmesi.....	69
4.3.7.1.4	1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/kum örneğinin SEM incelemesi .....	70
4.3.7.2	İnce kum-NP etkileşimi.....	71
4.3.7.2.1	Yalın haldeki kumun SEM incelemesi .....	71
4.3.7.2.2	50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/Kum örneğinin SEM incelemesi .....	71
4.3.7.2.3	100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/kum örneğinin SEM incelemesi .....	72
4.3.7.2.4	1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kum Örneğinin SEM İncelenmesi .....	73
4.3.8	Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip küresel demir oksit nanoparçacıklarının <i>in vivo</i> ekotoksikite deney sonuçları.....	75
4.3.8.1	Yaşam özelliği analizi .....	75
4.3.8.2	Genotoksikite analizi .....	76
5.	<b>ÖN ÇALIŞMALAR ve PLANLANAN ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>78</b>
6.	<b>SONUÇ ve DEĞERLENDİRME.....</b>	<b>82</b>
7.	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>86</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>92</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2-1 Nanoskala [10].....	6
Şekil 2-2 Nanoteknolojinin tıp ve biyomedikal alandaki uygulamaları.....	10
Şekil 3-1 Negatif yüklü bir parçacık için Zeta potansiyeli [54].....	37
Şekil 3-2 TEM Çalışma Prensibi [56].....	38
Şekil 3-3 SEM Çalışma Prensibi [56].....	39
Şekil 3-4 XPS Çalışma Prensibi [61].....	41
Şekil 3-5 XRD Temel Prensibi (Bragg Yasası) [53].....	43
Şekil 3-6 BET Analizi Adsorpsiyon süreci [64].....	44
Şekil 4-1 TiO <sub>2</sub> nanoparçacıklarının TEM görüntüleri.....	49
Şekil 4-2 APTES ile kaplanan TiO <sub>2</sub> NP'lerinin TEM görüntüleri.....	49
Şekil 4-3 Yalın haldeki TiO <sub>2</sub> NP'lerin yüzey kimyası analizi.....	50
Şekil 4-4 Yalın haldeki TiO <sub>2</sub> NP'lerin karakteristik titanyum piki.....	50
Şekil 4-5 APTES Kaplı TiO <sub>2</sub> Nanoparçacıklarının (a) Karakteristik N1s piki. (b) Karakteristik O1s piki (c) Karakteristik C1s piki (d) Karakteristik Ti2p piki ...	51
Şekil 4-6 TiO <sub>2</sub> nanoparçacıklarının XRD pikleri.....	52
Şekil 4-7 Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıkların TEM görüntüleri.....	53
Şekil 4-8 APTES modifikasyonu yapılmış demir oksit nanoparçacıkların TEM görüntüleri.....	53
Şekil 4-9 Yalın haldeki Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP'lerin yüzey kimyası analizi.....	54
Şekil 4-10 APTES kaplı Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP'lerin yüzey kimyası analizi.....	54
Şekil 4-11 Yalın haldeki ve APTES kaplı düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının manyetizasyon eğrisi.....	55
Şekil 4-12 Yalın haldeki Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP'lerin adsorpsiyon grafiği.....	56
Şekil 4-13 APTES kaplı Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP'lerin adsorpsiyon grafiği.....	57
Şekil 4-14 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının TEM görüntüsü.....	58
Şekil 4-15 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının boyut dağılım grafiği.....	59



Şekil 4-16 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının TEM görüntüsü.....	59
Şekil 4-17 Yalın haldeki küresel Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının Fe2p, O1s ve C1s XPS pikleri .....	60
Şekil 4-18 APTES kaplı küresel Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının N1s, Fe2p, O1s ve C1s XPS pikleri .....	61
Şekil 4-19 Yalın haldeki ve APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının XRD pikleri .....	62
Şekil 4-20 Yalın haldeki küresel demir oksit nanoparçacıklarının manyetizasyon eğrisi .....	62
Şekil 4-21 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki MTT analiz sonuçları .....	64
Şekil 4-22 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki MTT analiz sonuçları .....	65
Şekil 4-23 Yalın haldeki ve APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının MTT analizine göre karşılaştırılmalı canlılık sonuçları (x=Uygulama Dozu, mg/mL, p<0,05) .....	65
Şekil 4-24 Yalın haldeki kaba kumun SEM görüntüsü.....	67
Şekil 4-25. 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba kum örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır).....	68
Şekil 4-26.50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi .....	68
Şekil 4-27. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır).....	69
Şekil 4-28. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi .....	69
Şekil 4-29. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır).....	70
Şekil 4-30. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi .....	70
Şekil 4-31 Yalın haldeki ince kumun SEM görüntüsü.....	71

Şekil 4-32. 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır).....	72
Şekil 4-33. 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin EDX analizi .....	72
Şekil 4-34. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanoparçacık kırmızı halka içine alınmıştır) .....	73
Şekil 4-35. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin EDX analizi .....	73
Şekil 4-36. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanoparçacık kırmızı halka içine alınmıştır) .....	74
Şekil 4-37. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin EDX Analizi .....	74
Şekil 4-38 <i>C. riparius</i> 'un ortalama kümülatif günlük oluşumu .....	76
Şekil 5-1 Altın yüzey üzerine tutundurulan CHO K1 hücreleri.....	79

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 1.1 Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal parametreleri.....	4
Çizelge 4.1 TiO <sub>2</sub> nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları .....	52
Çizelge 4.2 Yalın haldeki Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları.....	56
Çizelge 4.3 APTES kaplı Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları .....	56
Çizelge 4.4 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki canlılık sonuçları (p<0,05) .....	63
Çizelge 4.5 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki canlılık sonuçları (p<0,05) .....	64
Çizelge 4.6 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının TBA testi analiz sonuçları (p<0,05) .....	66
Çizelge 4.7 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının TBA testi analiz sonuçları( p<0,05) .....	66
Çizelge 4.8 Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarına maruz kalan <i>C. riparius</i> 'ta yaşam döngüsü parametreleri: Ortaya çıkış oranı (ER); Ölüm oranı (M); Gelişim süresi (DT); Gelişim oranı (DR). .....	75
Çizelge 4.9 Yalın haldeki küresel demir oksit nanoparçacıklarının <i>C. riparius</i> dördüncü dönem larvalarında genotoksik etkisi.....	76

## KISALTMALAR

<b>nm</b>	: Nanometre
<b>NP</b>	: Nanoparçacık
<b>TiO<sub>2</sub></b>	: Titanyum Dioksit
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b>	: Demir Oksit
<b>SPION</b>	: Superparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacık
<b>APTES</b>	: 3-Aminopropiltrietoksisilan
<b>AP-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b>	: APTES kaplı demir oksit
<b>DLS</b>	: Dinamik Işık Saçılımı
<b>XPS</b>	: X-Ray Fotoelektron Spektroskopisi
<b>TEM</b>	: Geçirimli Elektron Mikroskopisi
<b>BET</b>	: Branuer-Emmet-Teller
<b>VSM</b>	: Titreşimli Numune Manyetometresi
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>TBA</b>	: Tiobarbitirik Asit
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>Fe</b>	: Demir
<b>O</b>	: Oksijen
<b>C</b>	: Karbon
<b>N</b>	: Nitrojen
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium





## SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
T	Sıcaklık
$\rho$	Yoğunluk
$k_B$	Boltzman sabiti
$\eta$	Viskozite
$R_H$	Hidrodinamik çap
$\mu_e$	Elektroforetik mobilite
Z	Zeta Potansiyeli
$\epsilon$	Dielektrik sabiti











# 1. GİRİŞ

## 1.1.Giriş

Nanoteknoloji, modern global teknolojik gelişmenin başlıca etkenlerinden biridir. Birçok alanda kullanımı ile insan hayatının kalitesini arttırmaya yönelik alanlarda kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Günümüzde birçok nanoteknoloji temelli kozmetik ürünleri (güneş kremleri, diş macunları vb.), elektronik bileşenler (fotovoltaik piller), tekstil kumaşları (kırışmayan, leke tutmayan ve anti bakteriyel kumaşlar), inşaat dolgu maddeleri (süper hidrofobik yüzeyler, çizilmemiş boyalar vb.), ambalaj katkı maddeleri (bariyer, UV bloğu, yangın geciktirici) [1] ve tıbbi ürünler (kalp valfleri, bandajlar, ilaç ve gen dağıtım malzemeleri) [2] gibi ticari ürünlere katkı maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta ve pazarlanmaktadır. Günlük yaşantımızda nanopartiküllerin (NP) kullanımının oldukça artış gösterdiği görülmektedir. Bu durum NP'lerin doğrudan veya dolaylı olarak insanlarla ve çevreyle temas içinde olmasına yol açmaktadır ve parçacıkların ekolojik ve biyolojik sistemler (proteinler, membranlar, hücreler, DNA ve organeller gibi) üzerindeki potansiyel etkilerini anlamak gerekliliğini de beraberinde getirmektedir.

NP'lerin ve biyolojik sistemlerin etkileşimi hem NP'lerin hem de canlı sistemlerin dinamikliği ve çeşitliliği nedeniyle sistematik bir şekilde araştırılarak, anlaşılmasını zorlaştıran karmaşık bir süreçtir [3]. Birçok NP, boyutu ve sahip olduğu eşsiz özellikleri sayesinde hücre zarı ile başarıyla etkileşime girebilmekte ve hücre zarını kolayca geçebilmektedir. Ancak her NP hücre zarı ile aynı etkileşimi göstermemekte ve aynı mekanizma ile içeriye alınmamaktadır. Bu nedenle, NP'lerin hücrelere alımı ve bunların hücre içinde dahil oldukları mekanizmalar ile ilgili süreçleri detaylıca araştırmak büyük önem taşımaktadır. Farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip partiküllerin hücrelere girdiği mekanizmalar, fagositoz, makropinositoz, kathrin aracılı endositoz, caveolaemediated endositoz ve adhezif etkileşimler yoluyla doğrudan giriş mekanizmalarını içerir [4]. NP'lerin hücreye bu kadar kolay alınabilmesi, toksisiteleri konusunda büyük bir endişe uyandırmaktadır. Bu alanda yapılan birçok çalışma, bazı NP'lerin biyo-uyumluluk açısından bir sorun teşkil

etmemesine rağmen, canlılar tarafından, iyi tolere edilemediğini göstermiştir. Parçacık çapı moleküler boyuta indikçe, yüzey alanında çarpıcı bir artış olur. Bu nedenle, NP'ler, küçük boyutları nedeniyle normal hücresel prosesleri negatif yönde etkileyebilecek ters biyolojik aktivite gösterebilir. Bir başka endişe, hücrelerin hızla şişmesi, metabolizmaları değiştirilmiş veya kapanması ve membranın bütünlüğünde kaybolması nedeniyle parçalanması sırasında bu materyallerin sitotoksitesidir. Ayrıca NP'ler, bir hücrenin genetik materyaline, genetik mutasyon indükleyerek kalıcı ve geri dönülemez bir hasar meydana getirebilir. Partikülün doğasına bağlı olarak, hücresel bileşenlerle NP'lerin etkileşimi, serbest yüzey enerjisinde konformasyonel değişikliklere veya oksidatif stres oluşumuna neden olan oksidan oluşumunu ve hasar üreten değişiklikleri etkileyebilir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretildiği bir redoks dengesizliği halindedir. ROS geniş bir biyolojik hedef yelpazesine tepki verdiği için, ROS aracılı genotoksitenin DNA ve hücre hasarına neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca, hücre dışı ortamdaki ardışık nano-biyoloji ara yüzeylerindeki etkileşimler ve asitlendirici lizozom, toksik iyonların salınması yoluyla hücre toksisite yaratır ve hücre içi çevre, lizozomal hasar, mitokondriyal pertürbasyon ve kemokin üretimi gibi bir dizi zararlı hücresel sonucu indükleyebilir [5,6].

Teknolojik açıdan NP kullanımı birçok avantaj sağlasa da bu tür materyallerin çevre ve sağlık üzerinde neden olabileceği olumsuz etkilerine ilişkin geniş etkileri henüz detaylı bir şekilde anlaşılamamıştır. NP'lere maruz kalınmasına sebep olabilecek potansiyel yollar kontrollü salınım, inhalasyon, deri teması ve emilimini içerir. NP'ler, aynı zamanda, nano-malzeme araştırma ve geliştirme laboratuvarlarında (Ar-Ge) veya üretim hatlarında yanlışlıkla yutulabilir veya sindirim sisteminde yiyecek bulaşıkları olarak yutulabilir. Buna rağmen, farklı NP'lerin toksisitesini sistematik olarak karşılaştırmak ve araştırmak için kapsamlı bir test sistemi geliştirilmemiştir. Parçacık şekli ve boyutu, NP'lerin tipleri ve saflıkları, NP-hücre inkübasyon koşulları NP'lerin alım kinetiği ve mekanizması toksisitelerinde önemli rol oynayabilmektedir [7]. Ayrıca, NP'lerin canlı organizmalar üzerindeki zehirli etkisini açık ve kesin olarak ifade etmek ayrıntılı bir analiz gerekmektedir. Bu tez çalışmasında aşağıda verilen Çizelge 1.1'de listelenen tüm kimyasal ve fiziksel parametreler göz önüne alınarak NP'ler ve canlı hücreler arasındaki etkileşimler üzerine sistematik ve kapsamlı bir araştırma yapılmıştır;

Çizelge 1.1 Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal parametreleri

Parametre	Tip
Parçacık tipi	TiO <sub>2</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkları
Parçacık boyutu	10-100 nm çapında NP
Parçacık şekli	Küresel veya gelişigüzel şekle sahip
Parçacık boyut dağılımı	Dar veya geniş skalada boyut dağılımı
Agregasyon durumu	Her bir NP grubu için, dispersiyon hali, toksisite ölçümü öncesi ve sırasında hücre inkübasyon koşullarında test edilecektir.
Yüzey Fonksiyonallığı	Silan Grubu
Doz	Her bir NP için doz, ortamdaki maruz kalma
Yüzey Alanı	Brunauer-Emmett-Teller (BET) yüzey alanı
Safsızlık	NP sentezinde yer alan kimyasallar

## 1.2.Çalışmanın Amacı

Bu çalışma, son yıllarda, teknolojik açıdan üretimi ve kullanımıyla maruziyeti artan NP'lerin, canlı sistemlerle etkileşimlerinin, onları nasıl etkilediğini ortaya çıkarmayı ve anlamayı, böylelikle NP'lerin istenmeyen özelliklerini önlemeyi amaçlamakta ve disiplinler arası bir karakter taşımaktadır. Buradan yola çıkarak bu tez çalışması,

- Hem *in vivo* hem *in vitro* ortamda NP etkileşiminin kinetiği ve termodinamiği hakkında, tüm kimyasal ve fiziksel parametreleri (Çizelge 1.1) ayrıntılı bir şekilde göz önünde bulundurarak bilgi edinmek,
- Canlı hücrelerle olan etkileşimlerine (ROS tahlilleri) dayalı olarak sentezlenecek olan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının, aynı zamanda ticari olarak satın alınan TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiş ve gerçekleştirilmemiş hallerinin toksisitelerini hücre kültürlerinde ve çeşitli difüzyon koşullarında inceleyerek, doğrudan toksik etkilerini değerlendirmek,
- Sentezlenen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkların tatlı su midye *Chironomus riparius*'un tortu yaşayan larvalarında *in vivo* genotoksik etkisini ve toksisitesini belirlenen konsantrasyonlarda incelemek,
- NP maruziyetine bağlı olarak sitotoksik ve ekotoksik etkilerin potansiyelini araştırmak,

- Çeşitli NP'lere karşı hücre geçirgenliğini ölçmek,
- NP / hücre etkileşimleri, NP/ canlı etkileşimlerini incelemek
- Nanoparçacıkların hücre içi yerleşimlerinin hücre canlılığına ve ölümlerine etkilerini araştırmak
- NPlerin sitotoksik ve ekotoksik etkilerinin bulgularını sistematik olarak değerlendirmek konularını açığa kavuşturmayı hedeflemektedir.

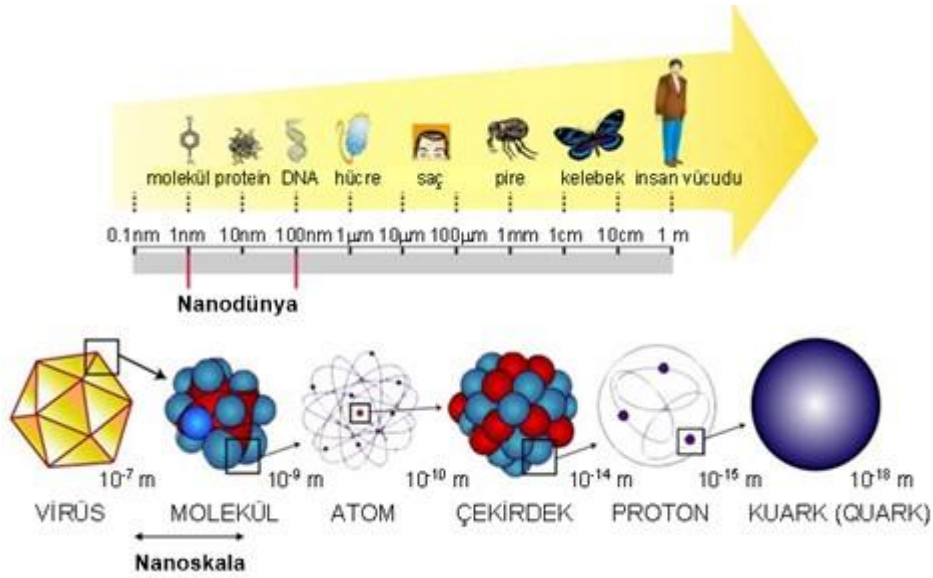


## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Nanoteknoloji

Nano kelimesi cüce veya aşırı küçük anlamına gelen Yunanca “Nanos” kelimesinden gelmektedir. Nanoteknoloji fikri ise ilk olarak 1959 yılında “There’s Plenty of Room at the Bottom” konuşmasını yapan ünlü fizikçi Richard Feynman tarafından ortaya atılmıştır. Feynman çalışması ile küçük parçalardan yeni bir şeyler yaratma fikrini savunmuştur. Feynman’ın 1959 yılında yaptığı bu konuşmanın da verdiği ilham ile birçok araştırmacının katkılarıyla nanoteknoloji günümüzdeki gelişmişliğine ulaşmıştır [8].

Nanoteknoloji, National Nanotechnology Initiative tarafından ‘nano ölçekte, yaklaşık 1 ile 100 nanometre ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), yürütülen bilim, mühendislik ve teknolojidir.’ şeklinde tanımlanmaktadır [9]. Nanoskalanın daha iyi anlaşılabilmesi için aşağıda Şekil 2-1 verilmiştir.



Şekil 2-1 Nanoskala [10]

Nanoteknoloji, farklı mühendislik ve anabilim dallarının bilgi birikimine dayanarak gelişmiş multidisipliner bir bilim dalıdır. Nanoteknoloji sayesinde malzemeler, atomik



ve moleküler boyutlarda kontrol edilerek, onlara nano skalada yeni, gelişmiş ve eşsiz özellikler kazandırılmaktadır.

Nanoteknoloji, temel olarak fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mühendislik gibi bilim dallarını bir araya getirerek teorik ve deneysel çalışmaları tetikleyen, çok disiplinli bilimlerden ortaya çıkan bir bilim dalı olmuştur [11]. Ayrıca, nanoteknoloji, getirdiği inovatif bakış açısıyla birlikte, gıda, enerji, kozmetik, uzay endüstrisi, biyomedikal uygulamalar ve yeni ilaç tasarımı gibi geniş yelpazeye sahip çalışma alanı sunmaktadır [12].

Nanoteknoloji, sağladığı birçok avantaj ile pek çok araştırmacının yöneldiği konu olmuştur. Çok kısa süre zarfı içerisinde nanoteknoloji alanında yapılan çalışmalar büyük bir gelişim göstermiştir

## **2.2 Nanoteknolojinin Avantajları**

Nanoteknoloji kullanılarak, atom ve moleküllerin manipülasyonu yoluyla, malzemelere fiziksel, kimyasal veya biyolojik olarak birçok yeni ve gelişmiş üstün özellikler kazandırılmaktadır. Malzemeler nano boyuta indirildikçe, hafiflik, sağlamlık, kalite, kullanım ömrü, fiyat performans açısından daha makul ve tercih edilen özellikler kazanmaktadır [13].

Günümüzde modern tıp uygulamalarının en çok yararlandığı bilim, nanoteknoloji olmuştur. Nanoteknoloji ile yeni tedavi, görüntüleme ve teşhis yöntemleri geliştirilmiş, etkili ve sonuç odaklı gelişmiş ilaç tasarımları yapılmıştır. Nanoteknoloji enerji üretimi ve depolama konusunda da köklü ve etkili yöntemlerin kapısını açmıştır. Daha ucuz ve verimliliği yüksek yeni nesil yakıt pili, güneş pili ve batarya uygulamalarında nanoteknoloji büyük bir yer edinmeye başlamıştır. Günümüz modern bilgisayarlarının vazgeçilmez parçaları olan transistörler, nanoteknoloji sayesinde gittikçe küçülmüştür. Esnek, bükülebilir, katlanabilir, yuvarlanabilir ve gerilebilir elektronikler nanoteknoloji ile ortaya çıkmış ve artık çeşitli sektörlerin ürünlerine kolaylıkla entegre edilebilir hale gelmiştir. Tekstil alanında üretilen kumaşlar, nano ölçekli katkı maddeleri veya yüzey işlemleri ile buruşma ve lekelenmeye karşı direnç sağlarken anti-bakteriyel özellikler de kazanabilmektedir. Gözlükler, bilgisayar ve kamera ekranları ve pencereler gibi yüzeyler üzerindeki şeffaf nano filmler sayesinde, su ve kir tutmayan, buğulanmayan, yansıma önleyici, kendi kendini temizleyen, ultraviyole veya kızılötesi ışığa dayanıklı, antimikrobiyal ve çizilmeye dayanıklı hale

gelmektedir. Nano yapılı seramik kaplamalar, makine parçaları için geleneksel aşınmaya dayanıklı kaplamalardan çok daha fazla direnç göstermektedir. Nanoteknoloji özellikli motor yağları da aşınma ve yıpranmayı önemli ölçüde azaltmakta, bu da elektrikli el aletlerinden endüstriyel makinelere kadar her şeyde hareketli parçaların ömrünü önemli ölçüde uzatmaktadır. Nanoteknoloji kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Titanyum dioksit ve çinko oksit gibi nanoparçacıklar, sürüldüğünde ciltte görünmeme özellikleriyle güneşten koruma sağlayan kozmetik ürünlerde yıllardır kullanılmaktadır.

Nanoteknoloji, özellikle son yıllarda birçok teknoloji ve sanayi sektörünü önemli ölçüde iyileştirmeye, köklü değişimler ile devrimsel nitelikte ürünler ortaya çıkarmakta büyük bir rol üstlenmiştir.

### **2.3 Nanoteknolojinin Dezavantajları**

Mühendislik nanomalzemelerinin uygulamaları günden güne katlanarak artmaktadır. Ancak, hükümet, endüstri ve kamu güvenliği konularının farkındalığıyla birlikte, nano yapılı ürünlerin kontrolsüz bir şekilde çoğaldığı ve güvenlikleri yeterli ve net bir şekilde test edilmeden kullanıldığına dair olumsuz algıların neden olduğu kamuoyu endişesi de beraberinde artmaktadır [14]. Nanoteknoloji kullanılarak ürünlerin maliyeti düşürülebilmektedir. Ancak düşük maliyetli ürüne ulaşmak için yapılan ar-ge çalışmaları için harcanan bütçeler, nanoteknolojiyi pahalı bir bilim haline getirmektedir. Nanoteknoloji, bilinçsiz ve kötü amaçla kullanılırsa atom altı tanecik silahları daha erişilebilir ve daha yıkıcı hale gelme riski taşımaktadır.

Nanomalzemelerin birçok farklı alanda birçok farklı uygulamada kullanılmasıyla birlikte, çeşitli nanopartiküllerin çevreye ve insanlara salınımı hızla artmıştır. Nanopartikül maruziyetinin bu denli artması da bu parçacıkların sahip olabileceği insan ve çevre toksisiteleri konusundaki soru işaretlerini beraberinde getirmiştir [15].

Uygulama alanı ve şekli değiştikçe, nanopartiküllerin şekli, boyutu fiziko-kimyasal özellikleri, yüzey yükü gibi önemli parametreler ve nanopartikül maruziyet dozu farklılık göstermektedir. Bu nedenle nanopartiküller için toksiktir veya zararsızdır şeklinde tek bir yargı belirtebilmek oldukça zordur. Bu bilinmezlik nanoteknolojinin sahip olduğu en kritik dezavantajdır.

## 2.4 Nanoteknolojini Uygulama Alanları

Günümüzde, hayatımızın hemen hemen her alanında nanobilim ve nanoteknolojiye rastlamak mümkündür. Nanoteknolojinin getirdiği avantajlar sayesinde nanomalzemeler her alana kolaylıkla entegre edilebilecek özellikler kazanmaktadır. Bu durum, nanoteknolojinin birçok farklı uygulamada kendini göstermesini sağlamıştır. Makro ölçekte mümkün olmayacak veya olmayan özellikler, nanoteknoloji ile mümkün hale gelmektedir. Bu nedenle, nanoteknoloji, elektronik, tıp, biyomedikal uygulamalar, enerji, malzeme bilimi, fizik, kimya, biyoloji, çevre, savunma sanayi, uzay sanayi, tekstil ve kozmetik gibi çok geniş bir kullanım alanı yelpazesine sahiptir [16]. Aşağıda nanoteknolojinin başlıca kullanım alanları listelenmiştir:

- 1) Tıp ve Biyomedikal Alandaki Uygulamalar
- 2) Elektronik Alandaki Uygulamalar
- 3) Çevre Uygulamaları
- 4) Savunma ve Uzay Sanayi Alanındaki Uygulamalar
- 5) Tekstil Alanındaki Uygulamalar
- 6) Kozmetik Alandaki Uygulamalar

### 2.4.1 Tıp ve Biyomedikal Alandaki Uygulamalar

Gün geçtikçe artan dünya nüfusu, hasta insan popülasyonunun artmasına, yeni hastalıkların ortaya çıkmasına ve hali hazırda uzun yıllardan beri mücadele edilen hastalıklarla yeni savaşma yöntemleri geliştirilmesine ortam hazırlamaktadır. Özellikle son yıllarda bu motivasyon ile nanotıp alanındaki çalışmalara yönelim büyük bir artış göstermiştir (Şekil 2-2). Nanoparçacık yüzeylerinin çeşitli biyolojik ajanlar ile markalanabilir olması, yüzey modifikasyonlarına elverişli olmaları, nano boyuta indikçe parçacıkların kazanabildiği eşsiz özellikler ve şekil ve boyut manipülasyonu sayesinde vücudun çeşitli organlarına hedeflendirilebilir olmaları sayesinde birçok tedavi, teşhis ve görüntüleme olasılığı sunan nanoteknoloji tıp alanında etkili bir şekilde yer almaya başlamış ve nanotıp bilim dalının ortaya çıkmasını sağlamıştır.

Nanotıp alanında yapılan ar-ge çalışmaları, hastalıkların kolaylıkla tespit edilerek, teşhis yöntemlerini geliştirmeye ve ayrıca moleküler düzeyde insan vücudu üzerinde güçlü bir terapötik etkiye ancak minimum yan etkilere sahip olan, ekonomik yönden daha uygun ilaçların üretimine odaklanmaktadır. Çünkü nanoskalada geliştirilen bazı

ilaç sistemlerine kanda ve vücut sıvılarındaki yüksek çözünürlük, biyouyumluluk, daha az toksisite ve kontrollü ilaç salınımı gibi kazandırılan gelişmiş yetenekler, bazı farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri olumlu yönde etkilemiştir. Nano boyutta tasarlanan yeni nesil ilaçlar geleneksel ilaç sistemleri ile karşılaştırıldığında, geniş yüzey alanlarından dolayı, gelişmiş çözünürlük ve çözünme hızı, oral biyouyumluluk, hızlı terapötik etki, düşük ancak etkili dozajlar ve daha az hastadan hastaya değişkenlik gibi üstün yetenekler ve performanslar göstermektedirler. Bu özellikleri hasta ile uyumluluğu artırılmış, hedeflenmiş ilaç salınım sistemlerinin üretimine olanak sağlamıştır [17].



Şekil 2-2 Nanoteknolojinin tıp ve biyomedikal alandaki uygulamaları

Nanoteknoloji, yaygın hastalıkların tedavisinin yanında kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi spesifik hastalıkları teşhis ve tedavi etme gibi çarpıcı bir yeteneğe de sahiptir [18]. Özellikle son yıllarda, vücuda yan etkisi fazla olan ve uzaklaştırılması zor radyoaktif ilaç verilmesi yerine, vücuttan kolayca atılabilen, hedefe güdümlü ve yüksek çözünürlükte görüntü sağlayan bir kontrast ajan olarak nanoteknolojinin gelişmesiyle üstün özellikleri ortaya çıkan süperparamanyetik metal-

oksit nanoparçacıkların kullanılması konusundaki çalışmalar, kanser gibi hastalıkların erken teşhis ve görüntülenmesinde büyük bir adım olarak göze çarpmaktadır [19]. Yine kanser vakalarında, kemoterapi gibi yan etkileriyle hastaları hem fiziksel hem de psikolojik olarak yoran tedaviler yerine, hayat şartlarını kötüleştirmeden, hasta konforunu en üst düzeyde tutarak ve çeşitli yüzey modifikasyonları sayesinde sadece kanser hücreleri üzerine hedeflendirilmiş nanoparçacıklar kullanılarak uygulanan yeni tedavi yöntemlerinden biri olan hipotermi çalışmaları önemli gelişmeler kaydetmiştir. Bunlara ek olarak, doku mühendisliği çalışmalarında, yeni nesil implant ve protez uygulamalarında, biyosensör geliştirme çalışmalarında, gen tedavisi uygulamalarında da nanoteknolojiden yararlanılmaktadır [20].

#### **2.4.2 Elektronik Alandaki Uygulamalar**

Nanoteknolojinin elektronik alanda kullanılmaya başlamasıyla birlikte, cihazların kapasiteleri kaliteleri ve yetenekleri artarken, ağırlıkları ve güç tüketimleri konusunda da avantajlar sağlanmıştır.

Elektronik cihazlarda, ekranların ağırlıklar ve tükettikleri güç oranı düşürülürken, nanoteknoloji sayesinde katlanabilir, bükülebilir, renk kalitesi ve ömrü arttırılmış ekranlar entegre edilebilir ve kullanılabilir hale gelmiştir.

Bilgisayarlarda bellek olarak kullanılan sabit diskler, hareketli parçası olmayan yarıiletken bellekten daha fazla güç tüketir ve çok daha fazla hata riskine sahiptir. Bu nedenle, katı hal bilgisayar belleği (solid-state computer memory), tabletler gibi daha küçük bilgisayarlarda kullanılabilir hale gelmiştir ve popülaritesi artmıştır. Bu yeni nesil katı hal bilgisayar belleği daha az yer kaplamakta, düşük pil tüketimine sahip ve düşürüldüğünde veya darbe aldığıda daha az zarar görme özellikleriyle dikkat çekmektedir. Nanoteknoloji, katı hal bilgisayar belleğinin yoğunluğunu arttırmak için kullanılmaktadır [21].

Nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte transistörlerin boyutları oldukça küçülmüştür. Bu gelişim, entegre devreler arasındaki elektrik sinyallerinden mümkün olandan daha yüksek hızlı veri iletimini sağlamada önemli rol oynamıştır.

Nanoteknoloji alanındaki son gelişmelerle birlikte, nanometre skalasında yanal ölçeklerde yarıiletkenleri modelleme teknikleri kullanılabilir hale gelmiştir. Bu sayede, yarı iletkenlerin atomik olarak hassas epitaksiyal büyüme yöntemleri ile birleştirilerek, yarı iletken cihazların ve en küçük minyatürleştirilmiş silikon

transistörden bile çok daha küçük yapıların özelliklerini keşfetmek mümkün gelmiştir. Bu "nanoelektronik" cihazların davranışları üzerine yapılan araştırmalar, geleneksel transistörlerin minyatürleştirilmesi ve geleneksel olmayan prensiplerle çalışan yeni nesil cihazlara geliştirilmesine önayak olmuştur [22].

### 2.4.3 Çevre Uygulamaları

Nanoteknoloji, global çevre bilincinin gelişmesi ve dünyadaki doğal kaynakların artan dünya popülasyonu ile birlikte hızla tükenmesine bağlı olarak, çevresel kirlenmeleri tespit etmeye ve temizlemeye yardımcı olabileceği birçok çevre uygulamalarında kullanılmaya başlanmıştır.

Su, Dünya'nın akarsularının, göllerinin ve okyanuslarının ana bileşenidir. Dünyanın yaklaşık dörtte üçü sularla kaplıdır ve su bilinen tüm yaşam formları için gereklidir. Su eksikliği günümüzde büyük bir küresel sorundur. Dünya üzerinde ne yazık ki yaklaşık bir milyar insanın güvenli içme suyuna erişimi bulunmamaktadır ve dünya nüfusu arttıkça ve kaynaklar tükenmeye başladıkça bu sayı her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle, suyun artımı ve içmek için uygun olmayan suların çeşitli yöntemler kullanılarak içme suyuna dönüştürülmesi dünyanın geleceği için hayati önem taşımaktadır. Bu amaçla yapılan bazı çalışmalarda, su arıtımında yeni ve etkili bir yöntem olarak sudaki safsızlıkların hızlı, düşük maliyetli tespiti ve işlenmesi yoluyla uygun fiyatlı nanoparçacıklardan yararlanması önerilmiştir [23]. Bu çalışmaların bulunduğu ortak nokta, farklı türde kirlenmiş su kaynaklarının, (zehirli metal iyonları, organik ve inorganik çözünenler ve mikroorganizmalar ile kirlenmiş yüzey su, yeraltı suyu ve atık su gibi) nanoteknoloji kullanılarak verimli bir şekilde arıtılabilir olduğudur [24].

Nanoteknolojinin çevre uygulamaları dört ana kategoriye ayrılabilir; iyileştirme, koruma, bakım ve geliştirme. Bu dördü arasında iyileştirme en hızlı büyüyen kategoridir, koruma ve bakım çevre biliminde nanoteknoloji uygulamasının ana bölümünü oluştururken, çevre geliştirme nanoteknoloji uygulama kategorilerinin küçük bir bölümünü temsil etmektedir. Nanoparçacıklar hava ve su arıtımında, katalitik uygulamalarda ve çevre moleküler biliminde araştırmalarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır [20]. Nanoparçacıkların, çevre uygulamalarında bu denli göze çarpmasının sebepleri arasında, gelişmiş adsorpsiyon yetenekleri ve 10 nm'den

daha küçük partikül için farklı kirleticilerle oksidasyon veya indirgeme reaksiyonlarını hızlandırabilen benzersiz katalitik özellikleri yer almaktadır.

#### **2.4.4 Savunma ve Uzay Sanayi Alanındaki Uygulamalar**

Nanoteknoloji, daha hafif, daha güvenli, daha akıllı ve daha verimli araçlar, uçaklar, uzay araçları ve gemilerin yapımına ve bakımına katkıda bulunacak çok işlevli malzemeler geliştirme konusundaki etkili bilim dallarından biri olmuştur. Savunma ve uzay sanayisinde geliştirilen ürünlerin, ağır çevre koşullarına (yüksek sıcaklık, çok düşük veya çok yüksek basınç, nem, kurak vs.) dayanıklı, mekanik olarak sağlam ve kolay erişilebilir malzemelerden yararlanılarak üretilmesinde nanoteknolojiden yararlanılmaktadır.

Nanoteknoloji sayesinde üretimi mümkün hale gelen daha hafif ve daha güçlü malzemeler, uçan makine üreticilerine büyük fayda sağlamıştır. Aynı şekilde uzay aparatları için de hafiflik temel unsurlardan biridir.. Nanoteknoloji, malzemelerin boyutunu ve ölçülerini azaltmaktadır ve buna bağlı olarak uçakları, uzay araçlarını havaya uçurmak, roket ve füzelerin fırlatılması için gereken yakıt kullanımını azaltmaya yardımcı olmaktadır [25].

Nanoteknolojinin askeri ve havacılık sistemlerinde kullanımının başlıca avantajları silah, koruma ve iletişim alanlarındadır. Nanoteknoloji, daha küçük, daha hafif, daha akıllı, daha güçlü, daha ucuz, daha temiz ve daha hassas askeri cihazlar, yapılar ve malzemeler üretmek için kullanılmaktadır. Koruma ve savunma alanında, hafif ve ince, ancak yüksek hızlı bir merminin etkisine dayanacak kadar güçlü ve güçlü vücut zırhı (Kevlar vb.) üretmek için nano üretim yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Ayrıca su ve kara karşı dayanıklı, kışın sıcak, yazın serin tutan hafif kıyafetlerin üretimi de nanoteknoloji sayesinde gerçekleştirilmektedir [26].

#### **2.4.5 Tekstil Alanındaki Uygulamalar**

Nanoteknolojinin gelişmesiyle yeni tasarlanan nanofiberlerin kullanımı giysileri su ve leke tutmaz veya buruşmaz hale getirmektedir. Nano üretim metotları ile üretilen ve geliştirilen malzemeler daha az zamanda ve daha düşük sıcaklıklarda yıkanabilir hale gelmekte ve enerji tasarrufu sağlama konusunda avantaj sağlamaktadır. Yüksek gerilme mukavemeti, benzersiz yüzey yapısı, dayanıklılık, su itici, yangın geciktirici,

antimikrobiyal özellikler ve benzeri gibi istenen tekstil özellikleri için nanoteknolojiden yararlanılmaktadır [20].

Tekstil endüstrisi de nanoteknolojiden en çok etkilenen endüstrilerden biri olmuştur. Nano boyutlu malzemeler, kendi kendini temizleyen kumaşlar, su itici, uv korumaya sahip, anti-bakteriyel, anti-statik, kırışıklık direnci yüksek, yanmayan özellikleriyle geleneksel tekstil ürünlerinin fiziksel özelliklerine katkıda bulunmuştur. Bu durum da tekstil alanında nanoteknolojiden yararlanılarak geliştirilen ürünler ile hayatın her alanında tanışma fırsatı doğmasına yardımcı olmuştur.

#### **2.4.6 Kozmetik Alandaki Uygulamalar**

Nanoteknoloji sayesinde çeşitli özellikler kazandırılabilen nanoparçacıklar kozmetik dünyası için oldukça ilgi çekici olmuştur. Özellikle ilaç taşıma sistemlerinde nanoparçacık kullanımı, kozmetik endüstrisinin nanoteknolojiye olan güvenini arttırmıştır. Kullanılan sistemlerden bazıları arasında nanoemülsiyonlar ve nanokristaller, lipozomlar, miseller, polimerik nanokapsüller, katı lipit nanoparçacıkları ve nanoyapılı lipit taşıyıcılar, karbon nanotüpler ve fullerenler ve dendrimerler bulunmaktadır [20]. Özellikle titanyum dioksit ( $TiO_2$ ), çinko oksit ( $ZnO$ ) gibi nanoparçacıklarının ultraviyole (UV) filtreleri olarak kullanımı dikkat çekmektedir. Çeşitli bileşimlerde, şekillerde, yapılarda, boyutlarda ve reaktivitede üretilebilirler. Kozmetik ürünlerde nanopartikül formülasyonlarının kullanılması,

- Nanoparçacıklar içinde kapsüllenmiş doymamış yağ asitleri, vitaminler veya antioksidanlar gibi çeşitli kozmetik bileşenlerin stabilitesini arttırmak,
- Vitaminler ve diğer antioksidanlar gibi bazı bileşenlerin penetrasyonunu arttırmak,
- Cilt yüzeyindeki UV filtrelerinin etkinliğini ve toleransını arttırmak,
- Ürünü daha estetik olarak daha hoş hale getirmek (örneğin mineral güneşten koruyucularda, aktif mineral parçacıklarını daha küçük yapmak, fark edilir bir beyaz döküm bırakmadan uygulanmasına izin verir) şeklinde avantajlar sağlamaktadır [27].



Özellikle vücut kremleri ve losyonları, jel, hidrojel ürünlerinde, bazı deri hastalıklarının (egzema, akne, enflamasyon vb.) tedavisinde, geleneksel güneş kremlerinin beyaz kireçli görünümünü ortadan kaldırarak UV filtreleme ve emiliminde (özellikle ZnO veya TiO<sub>2</sub> üzerine yapılan modifikasyonlar sayesinde UV koruma sistemlerinin güneş koruma faktörünü arttırdığı bildirilen çalışmalar bulunmaktadır) nanoteknolojiden yararlanılarak üretilen kozmetik ürünlerinin kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır [27].

## 2.5 Nanopartiküller

Nanoteknoloji sayesinde nano skalada üretim arttıkça nanopartiküller hem akademik hem de endüstriyel alanda çok dikkat çekmişlerdir. Nanopartiküller (NP'ler), bir boyutu en az 100 nm'den az olan, partikül maddeleri içeren geniş bir malzeme sınıfıdır[1].

Nanopartiküller doğada doğal olarak da bulunduğu gibi insan faaliyetlerinin sonucunda laboratuvar ortamında da üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Submikroskopik boyutları nedeniyle benzersiz malzeme özelliklerine sahiptirler ve üretilen nanoparçacıklar tıp, mühendislik, kataliz ve çevresel iyileştirme dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılmaktadırlar.

Nanopartiküllerin doğal avantajlı özelliklerinin yanında, çeşitli yüzey modifikasyonları yapılarak, çeşitli üretim metotları kullanılarak, farklı şekil, boyut ve türlerde üretimi gerçekleştirilerek eşsiz özellikler kazandırılabilir [28].

NP'ler genel olarak morfoloji, boyut ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak çeşitli kategorilere ayrılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özelliklere dayanarak, en çok bilinen karbon bazlı, metal, seramik, yarıiletken, polimerik ve lipit bazlı nanopartiküller olarak sıralanabilir.

Nanopartiküllerin kullanım alanları arttıkça doğaya salınımı ve canlıların nanopartikül maruziyeti günden güne artmaktadır.

## 2.6 Nanopartiküllerin Toksik Etkileri

Nanoteknolojinin getirdiği avantajlar sayesinde gün geçtikçe artan uygulama alanları bir önceki bölümde detaylı bir şekilde anlatılmıştır. Buradan da yola çıkarak nanoteknolojinin çalışma alanlarının oldukça geniş olması nedeniyle, özellikle insan vücudu ile birebir temas eden uygulama alanlarında (tıp, biyomedikal, tekstil, kozmetik) kullanımlarının artmasıyla birlikte, bu malzeme ve ürünlerin, toksik etkilerinin incelenmesi ihtiyacı doğmuştur. Bu ihtiyaçla, nanomalzemelerin toksik etkilerini inceleyen yeni bir bilim olarak nanotoksikoloji bilimi ortaya çıkmıştır [29]. Nanotoksikoloji, nano yapılı malzemelerin yaşayan sistemlerdeki (organizmalar ve ekosistemler) etkilerini incelemektedir. Nano skalada üretilen malzemelerin eşsiz fiziksel ve kimyasal yapıya sahip olmaları onları zorlu bir çalışma alanı haline getirmektedir. Bu malzemelerin biyolojik etkileri, malzemenin boyutu ve şekline göre farklı davranışlar sergileme eğilimine sahiptir. Benezersiz özellikler kazandırılabilen mühendislik nanomalzemeleri gün geçtikçe artan ürün yelpazesıyla, potansiyel olumsuz sağlık etkilerine ilişkin belirsizlikleri nedeniyle araştırılması gereken kritik bir konu haline gelmiştir. Bu nedenle, bu malzemelerin hem *in vitro* hem de *in vivo* araştırmaları yoğunlaşmıştır. Bazı kritik raporlar, bu malzemelerin olumsuz toksik etkilere sahip olabileceğine dair riskler hakkında bilgi vermiştir [30]. Bununla birlikte, nanomalzemelerin karakterizasyonlarına ilişkin zorluklar, kompleksler ve nanomalzemelerin çevrede ve biyolojik sistemlerde dinamik doğası birçok yönden mevcut verilerin hücre yanıtları ve yan etkileri açısından yorumlanmasını karmaşık hale getirmektedir. Bu nedenle hem ekosistem hem de canlı organizmalar açısından bu malzemelerin sebep olabileceği olumsuz sağlık etkilerinin sistematik araştırmalara dayandırılarak, bunlar için yapılan risk değerlendirmeleri nanotoksikoloji ile mümkün hale gelmiştir. Nanotoksikoloji, bu ürünler için toksiktir veya toksik değildir şeklinde genel geçer bir yargı ortaya koymasa da olumlu veya olumsuz etkilerini araştırmak ve bilgi sahibi olmak için önemli bir avantaj sağlamakta ve yeni araştırma konuları ortaya koymaktadır [29].

Boyut, şekil, yüzey kimyası, kimyasal bileşenler, doz ve oksidatif stres fonksiyonları gibi bazı parçacık özellikleri nanotoksistide önemli rol oynamaktadır. Parçacıkların bu önemli özellikleri üzerinde kontrolü sağlayarak, zararlı etkilerini azaltmak mümkün olmaktadır. Böylece belirli şartlarda bu malzemelerin kullanımını konusundaki risk fak-

törleri olabilecek en düşük seviyeye indirgenebilir [31].

### 2.6.1 Boyut Etkisi

Nanoboyuta gidildikçe parçacık boyutunun azalmasıyla birlikte yüzey alanında ciddi bir artış meydana gelmektedir. Bu artış, yüzeyin aktivitesini de beraberinde arttırarak herhangi bir kimyasal molekülün tutunumunu kolaylaştırmaktadır. Bu durum ise parçacıkların toksik etkilerinde artışa neden olabilmektedir.

Birçok çalışma nanoparçacıkların emilimi üzerine yoğunlaşmıştır. Mukozal emilme gerçekleşikten sonra, nanoparçacıklar kolaylıkla kan dolaşımına katılır ve ardından da dokulara kolaylıkla ulaştırılır [32].Yayınlanan bir çalışmada yer alan gözlemlere göre, bağırsağın mukozal ve lenfatik dokularında parçacık boyutuna göre, 50 nm'nin %33'ü, 100 nm'nin %26'sı ve 500 nm %10'sı gözlemlenmiştir. 1 µm'den büyük nanoparçacıklara nadiren rastlanırken ve 3 µm'den büyük nanopartiküllerin lenfatik dokularda nadiren görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda şu sonuçlar çıkarılmıştır:

- 100 nm'den küçük nanoparçacıklar bağırsak hücreleri tarafından emilirken büyük nanoparçacıklar (300 nm) emilmez.
- Lenfatik dokuda daha küçük nanopartiküllerin (100 nm) emilimi bağırsak hücrelerinden daha fazladır.
- Bağırsak hücreleri 400 nm'den büyük nanopartikülleri ememez.
- Dolaşım sistemine sadece 500 nm'den küçük nanopartiküller girebilir [32].

Yapılan çalışmaya göre, parçacık boyutu değiştikçe, parçacıkların girebildikleri, emilebildikleri ve birikebildikleri dokular farklılık göstermektedir. Bu nedenle de farklı dokularda farklı etkilere yol açabilmektedirler. Ayrıca boyut azaldıkça artan yüzey alanı nedeniyle yüzeye tutunabilen kimyasal molekül oranı, aynı konsantrasyonda fakat daha büyük boyuttaki parçacıktan daha fazladır. Bu durum, boyut küçüldükçe artan toksik etkinin nedenini açıklamaktadır.

### 2.6.2 Şekil Etkisi

Nanopartiküllerin şekli değiştikçe hücreler ile olan etkileşimlerinde büyük değişiklikler gözlenmektedir. Bu durum nanopartiküllerin hücre tarafından alım mekanizmasına, alım yollarının değişmesine, serbest radikal üretim miktarının değişmesine neden olmaktadır. Bu durum aynı nanopatikülün farklı şekillerdeki formlarının hücreler üzerinde farklı toksik etki göstermesine neden olabilmektedir

[33]. Örneğin, küresel NP'ler endositoza nanotüp ve nanofiberlerden daha yatkındır. Nanopartiküller küresel, çubuk, kübik, silindirik, ince film ve oktahedron şeklinde üretilebileceği gibi düzensiz şekillerde de üretimleri mümkündür [30].

### **2.6.3 Yüzey Kimyası ve Kimyasal Bileşen Etkisi**

Nanoteknolojinin en büyük avantajlarından biri de malzeme yüzeylerinin istenilen şekilde manipüle edilebilmesi ve onlara istenilen özelliklerin kazandırılabilmesidir. Parçacıkların yüzey kimyası değiştikçe hücrelerle ve dokularla olan etkileşimleri de farklılık göstermektedir. Yapılan yüzey modifikasyonları parçacıkların reaktivitesini arttırabilir veya azaltabilir. Aynı malzemenin farklı yüzey yüküne ( $\text{NH}_4^+/\text{COO}^-$ ) ve farklı hidrofobik/hidrofilik gibi özellik gösteren farklı yüzey modifikasyonları ile doku penetrasyon, emilim ve toksik özelliklerinin değiştiğini doğrulayan birçok çalışma bulunmaktadır. Nanoparçacık yüzeyleri en çok silan veya polimer grupları, dokulara tutunumu arttıran reseptörler, markalamayı sağlayan floresan boyalar, antikör ve antijen molekülleri ile modifiye edilmektedir [16].

Ayrıca nanomalzeme üretimi ve yüzey modifikasyonları sırasında kullanılan kimyasal bileşenlerin de toksisiteye sebep olduğu görülmektedir. Eğer bir nanomalzeme biyomedikal alanda bir uygulamada kullanılacaksa genellikle biyouyumlu bileşenler yardımı ile üretimi tercih edilmektedir.

### **2.6.4 Doz Etkisi**

Nanoparçacıkların toksisitesi büyük oranda maruz kalma dozuna bağlıdır. Ancak toksik etki görülen doz her nanoparçacık için aynı değildir. Nanoparçacıkların toksik etki göstererek hücrelere zarar verdiği doz nanopartikül çeşidine, özelliklerine (boyut, şekil vs.), hücre, doku ve organizma çeşidine göre farklılık göstermektedir. Bu alanda yapılan sistematik bir çalışma ise henüz yoktur. Ancak bazı araştırmalar göstermiştir ki, çok yüksek dozlarda partiküller küçük veya büyük sağlığa zararlı etki göstermektedir [29].

### **2.6.5 Serbest Radikal Üretimi**

Patojenik partiküllerin çoğu veya tamamı serbest hücre sisteminde serbest radikaller üretir ve bu özellikleri oksidatif strese neden olur, bu da iltihaplanma, hücre yıkımı ve genotoksisiteye neden olur.

Serbest radikallerin partikül yüzeyi redoks döngüsünü aktive edebildiği ve partikül toksisitesine neden olabildiği bilinmektedir.

Özetle, nanotoksikoloji nanoteknolojinin de gelişmesiyle son yıllarda ilgi odağı olan yeni bilim dallarından biri olmuştur. Doğada çeşitli yollarla maruz kalınan doğal ve laabaratuvarlarda yeniden üretimi gerçekleştirilen nanopartüküllerin geniş bir kullanım alanı mevcuttur. Buna bağlı olarak da bu nanopartüküllerin özellikleri değiştikçe maruz kalma yolları, biyo-uyumlulukları, farmokinetik/farmodinamik, toksikokinetik/toksikodinamikler ve patolojik özellikleri farklılık göstermektedir [34]. Ancak, nanopartüküllerin neden olabileceği olumsuz sonuçların belirlenebileceği fizikokimyasal ve biyolojik kurallar tam anlamıyla belirlenememiştir. Birçok bilim adamı tarafından disiplinler arası bir anlayış ile nanotoksikoloji alanında yapılan çalışmaların oluşan soru işaretlerini gidermek için pusula niteliğinde olacağı düşünülmektedir [35].

## **2.7.Nanopartüküllerin Ekotoksik Etkileri**

Günümüzde çevre kirliliği, dünyanın ve insanların karşılaştığı en büyük zorluklardan biridir. Özellikle sanayileşmenin hızla artmasıyla birlikte çevreye yayılan ağır metaller, hava kirliliğine yol açan gazların salınımı, nehirlere ve göllere bırakılan fabrika atıkları çevrenin kirlenmesine neden olmuş, birçok canlı habitatına zarar vermiş ve yaşanabilir alanları da daraltmaya başlamıştır. Bu durumun fark edilmesiyle birlikte, yeni politikalar uygulanmaya ve araştırılmaya başlamış, ekotoksikoloji bilimi ortaya çıkmıştır. Ekotoksikolojinin ortaya çıkmasıyla birlikte de, çevresel ve ekolojik risk değerlendirmeleri önemli bir hal almaya başlamıştır [36].

Günümüzde nanoteknolojinin de hızla gelişmesiyle birlikte, nanomalzemelerin üretimi ve nanopartüküllerin hava ve su da dahil olmak üzere çevreye yayılmasında da ciddi bir artış meydana gelmiştir. Nanoteknolojinin uygulama alanlarında da bahsedildiği gibi çevrenin korunmasına katkı sağlaması beklenmekteyken, üretilen nanomalzemelerin çevreye ve canlıların yaşam habitatlarına etkileri konusunda belirsizlikler söz konusu olmuştur. Günümüzde birçok araştırma, insan sağlığını ve doğadaki yaşamı nanomalzemelerin olası potansiyel olumsuz etkilerinden korumak için, endüstride yaygın olarak kullanılan nanoparçacıkların toksisitesinin değerlendirilmesine odaklanmıştır [37].

Birçok nanoparçacık (örneğin  $TiO_2$ ,  $ZnO$ ,  $SiO_2$  ve fullerenler) fotokimyasal olarak aktiftir yani ışığa maruz kaldıklarında uyarılmış elektronlar üretirler. Oksijen varlığında bu elektronlar, doğrudan elektron transferi ile süperoksit radikalleri oluşturabilir [37]. Bu nedenle, organizmaların aynı anda nanoparçacıklara ve ışığa (özellikle görünür ışığa göre daha enerjik olan UV ışığına) maruz kaldığı durumlar, ekotoksosite açısından oldukça önemli hale gelmektedir.

Ekotoksosite ölçümleri, mikroorganizmalar, bitkiler, omurgasızlar ve omurgalılar dahil olmak üzere farklı gelişmişlik seviyesine sahip canlılarda gerçekleştirilir ve test sistemleri artık bazı organizmalar ve bazı maruz kalma koşulları için standartlaştırılmıştır. Standart protokoller bazı fiziksel ve fizyolojik koşulları (ortam bileşimi, organizmaların yaşı vb.), maruz kalma sürelerini (örn. akut veya kronik toksisite için) ve hangi uç noktaların ölçüleceğini (büyüme, doğurganlık, enzimlerin aktivitesi, ekspresyonu, genlerin ifadesi vb.) belirtir. Mikroorganizmalar (çoğunlukla bakteriler olmakla birlikte mantarlar, protozoa ve algler) her yerde bulunma ve çok çeşitli olmaları (çeşitli habitatları ve fonksiyonlara sahip olma), küçük (minyatür testlere izin verme) ve kısa nesil süreleri (hızlı testlere izin verme) avantajına sahiptir[38].

Ekotoksosite, çevresel organizmalar için toksisite anlamına gelmektedir. Ekotoksosite testleri ile bir bileşiğin neden olduğu toksisite veya stres, organizmanın doğada yaşadığı habitatta veya bu habitat taklit edilerek ölçülebilmektedir. Bu testlerin bazı parametreleri standart haline getirilmiş olsa da testin yapıldığı ortama, canlı türüne, nanoparçacık türüne, nanoparçacığın çözündüğü matrise göre değişiklik göstermektedir. Bu nedenle standart testler olsa bile bu testlerin sonuçları henüz standart hale getirilememiştir. Yapılan çalışmaların ekotoksosite açısından sonuçlarında hala ikilemler mevcuttur. Çünkü, iyonlar, doğal kolloidler ve diğer yüklü yüzeyler gibi çevresel matris bileşenleri ile temas ettikten sonra nanopartiküllerin modifikasyonunun sadece hareketliliği, agregasyonu vb. etkilemesi değil, aynı zamanda toksisite özelliklerini de değiştirmesi muhtemeldir [37].

Sonuç olarak, nanoparçacıkların ekotoksikolojisi hakkında genel bir ifade yapılabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Nanoparçacıkların toksikolojik ve ekotoksikolojik yönden yol açabileceği potansiyel zararlı etkileri kesinleştirilmeden, nanopartikül kullanım güvenliği doğrulanmadan, doğaya ve çevreye salınımı en asgari düzeye indirilmelidir. Böylelikle doğal yaşam alanlarına ve

doğal mikroorganizma ve canlılara zarar verme riski (ekotoksosite) en aza indirgenmiş olacaktır.

## **2.8.Titanyum Dioksit (TiO<sub>2</sub>) Nanopartikülleri**

TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının, yüksek kimyasal stabiliteleri, yüksek yüzey alanı, gözeneklilik ve düşük maliyet gibi özellikleri nedeniyle fotokatalizör, pigment, fotovoltaiik uygulamalar, gaz sensörleri, güneş yanığı losyonları, kozmetik, ilaç ve gıda renklendirici gibi birçok alanda kullanımı yaygınlaşmıştır [15]. Gıda ürünlerinde bir bileşen olarak TiO<sub>2</sub> NP'ler genellikle E171 olarak listelenir ve insanların maruziyeti çeşitli günlük tüketilen gıda ürünlerinde (süt, yoğurt, sakız, şeker, çikolata vb.) gibi besinlerden dolayı oldukça fazladır [39]. Sonuç olarak, insan hücreleri bu nanoparçacıklara doğrudan veya dolaylı olarak maruz kalmaktadır.

TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının parçacık boyutu, şekli, üretim şekli ve dozajı gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri de kritik öneme sahiptir. Çünkü normal şartlar altında toksik etki göstermezken, canlı hücrelerle etkileşime girdikten sonra çeşitli çevresel etkilerden (ultra viyole ışık, sıcaklık vb.) dolayı toksik etkiler gösterebilmektedirler. Aynı zamanda, canlı hücreler bu partikülleri belirli bir doza kadar tolere edebilir, ancak bu doz aşıldığında, partiküllerin bazı sitotoksik ve genotoksik etkileri hücrelerde ortaya çıkmaya başlayabilir [38]. Bu nedenle, TiO<sub>2</sub> gibi günlük hayatta oldukça fazla miktarda maruz kalınan yüzey modifikasyonu yapılmış veya yapılmamış nanoparçacıkların, hücreye girerek uğradığı biyodegradasyon sonucunda nasıl davrandığını görmek hayati önem taşır. Bu hücrelerin biyo-bozunmuş nanoparçacıklara verdiği yanıtın hücre içinde birikebilecekleri veya organel bütünlüğünü bozan davranışlar sergileyebilecekleri için incelenmesi oldukça kritiktir. Yapılan birkaç araştırmada, hücrelerin TiO<sub>2</sub> NP'lere maruz kalmasının DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve apoptoz yoluyla nihai hücre ölümüne neden olduğunu iddia edilmiştir. Bununla birlikte, başka raporlarda ise TiO<sub>2</sub> NP'lerine maruz kalmanın membran hasarına veya hücre ölümüne yol açmadığı belirtilmiştir. Bu çatışma, TiO<sub>2</sub> NP'lerinin toksik etkileri üzerine yapılan yetersiz çalışmalardan kaynaklanmaktadır. TiO<sub>2</sub> nanomalzemeleri üzerinde toksikolojik veri eksikliği, maruziyetle ilişkili bir risk olup olmadığını belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, ortaya çıkan bu nanopartiküllerin sağlık etkisini ve sitotoksitesini değerlendirmek için çok önemli bir gereklilik bulunmaktadır [40].

## 2.9.Demir Oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanopartikülleri

Nanoteknolojide en çok kullanılan nanopartiküller son zamanlarda metal bazlı nanopartiküller olmuştur. Metal bazlı nanomalzemelerin enerji üretimi, optik endüstrisi, nanotıp ve biyomedikal alanda kullanımı son derece yaygınlaşmıştır. Bu nanopartiküllerden en çok dikkat çekenlerden birisi ise demir oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanopartikülleri olmuştur. Demir oksit nanoparçacıkları tutunma, yapışma mukavemeti, biyouyumluluk, düşük toksisite, kararlılık, yüksek yüzey alanı/hacim oranı gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikleri yüzeylerine çeşitli fonksiyonel grupları boyalar, ligandlar ve antikorlarla ile modifikasyona izin vermekte ve birçok potansiyel kullanım alanı sunmaktadır [41]. Bunun yanında, demir oksit nanoparçacıkların kendilerine özel ayrıcalıklı süperparamanyetik özellikleri ise onları eşsiz kılmaktadır. Benzersiz süperparamanyetik özellikleri, kimyasal yüzey modifikasyonları ile iyileştirilerek çeşitli alanlarda (nanotıp, ilaç verme, hedeflendirilmiş ilaç taşınımı, hipatermi, tıbbi görüntüleme, vb.) kullanım potansiyelini artırmıştır [42]. Süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık (SPION) formülasyonları ABD Gıda ve İlaç İdaresi ve Avrupa Komisyonu tarafından manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kontrast maddeleri olarak onaylanmıştır [43].

SPION'ların çok çeşitli boyut dağılımlarında üretimi gerçekleştirilebilir. Bu boyut dağılımları sayesinde SPION'lar kullanım alanlarını ve amaçlarını arttıran farklı ve avantajlı özelliklere sahip olmaktadır.

Ek olarak, SPION'ların eşsiz özelliklerinden birisi de harici bir manyetik alana maruz bırakılarak manipüle edilebilir olmalarıdır. Manyetik nanoparçacıklar MRI kontrast arttırıcı ajanlar olarak önemli bir rol oynar çünkü manyetik nanopartiküller etrafındaki bir protonun manyetik momenti rezonant emilimiyle yakalanabilir. Bu avantajları sayesinde, MR da kontrast ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır [43].

Son yıllarda nanoparçacıklar birçok biyomedikal uygulamada kullanılmaya başlanmıştır. NP'lerin toksisitesini araştıran birçok çalışma olmasına rağmen, sürekli değişen yöntemler, materyaller ve hücre dizileri nedeniyle NP toksisitesi hakkında yayınlanmış çalışmalarda fikir birliği yoktur. Bu sorunu çözmek amacıyla farklı şekil ve büyüklükteki demir oksit nanoparçacıkları sitotoksisite deneylerine tabi tutulmuş ve hücre-NP etkileşimi sistematik olarak farklı yöntemlerle incelenmiştir. Demir oksit NP'lerin biyofizik ve tıpta en sık çalışılan malzemelerden biri olması, bu çalışmada



araştırılmasının en önemli nedenlerinden biridir [44].

## **2.10. Nanoparçacıkların Toksik ve Ekotoksik Özelliklerinin Sistemik Olarak Araştırılmasının Önemi**

Nanoteknolojinin hızla gelişmesi ve hemen hemen her alanda yaygınlaşmasıyla nanoparçacıkların endüstriyel atık olarak doğrudan havaya, suya ve toprak sistemlerine veya kontamine olmuş alanların iyileştirilmesi yoluyla çevreye salınım oranı da hızla artmaktadır. Çevreye girdikten sonra nanoparçacıklar potansiyel olarak metabolik ağlar ve hücresel bileşenlerle etkileşime girebilirler. Doğal ekosistemlerin karmaşıklıkları göz önüne alındığında, bu nanoparçacıkların karasal ve sucul ekosistemler üzerindeki etkileri araştırılmalıdır [37].

Mühendislik nanoparçacıkları hızla kozmetik, gıda ambalajı, ilaç dağıtım sistemleri, terapötikler, biyosensörler gibi kullanım alanları ile günlük hayatımızın bir parçası haline gelmiştir [45]. Nanoparçacık içerikli ticari ürünlerin sayısı günden güne artış göstermiştir. Bu nanoparçacıklar renk, şeffaflık, çözünürlük ve kimyasal reaktivite gibi özellikleri nedeniyle öncelikle endüstri, tıp gibi alanlardaki ürünler için çekici adaylar haline gelmişlerdir. Bu ürünlerde sıklıkla kullanılan titanyum dioksit, altın nanopartiküller, gümüş nanopartiküller, demir oksit nanopartiküller ve polimerler gibi çözünmeyen ve stabil nanoparçacıklar vücuda doğrudan girebilir ve olumsuz sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilirler [1,42,46].

Popülasyon ihtiyaçları artmaktadır ve bu ihtiyaçları kolay ve pratik çözümlerle karşılama içgüdüsünden dolayı nanoparçacıkların kullanım ve uygulama alanları çeşitlenmiş buna bağlı olarak da maruz kalma oranı artmaya devam etmiştir. Küçük partüküllerin gücünün bariz faydalarına rağmen, günlük yaşam için kullanılan nanoparçacıkların çevreyi nasıl etkileyebileceği konusunda hala cevaplanmamış birçok soru bulunmaktadır [33]. Bu nedenle nanopartiküllerin seri üretimlerinden veya çeşitli alanlarda kullanımının yaygınlaştırılmasından önceki en önemli konulardan biri canlılar üzerindeki toksisite davranışlarının incelenmesi ve çevre üzerindeki etkilerinin belirlenmesidir. Nanoparçacıkların yeni, eşsiz ve manipüle edilebilir özelliklerinin toksik etkilere sebep olma potansiyeli ile olumsuz biyolojik etkilere yol açabileceğine dair önemli tartışmalar bulunmaktadır [47]. Nanopartiküllerin hücresel ortamda biyodegradasyona uğradığı zaman ortaya çıkan hücresel tepkilerin, biyolojik olarak parçalanmış nanopartiküllerin hücreler içinde birikip birikme durumları ve

organel bütünlüğünün bozulması veya gen değişimleri gibi hücre içinde yol açabileceği değişikliklerin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu anlamda, farklı türlerde, farklı şekil ve boyutlarda, farklı üretim parametreleri ile sentezlenen nanopartiküllerin hem *in vivo* hem *in vitro* davranışlarının sistematik olarak belirlenmesi nanopartiküllerin güvenli kullanımı açısından kritik önem taşımaktadır.





### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

##### **3.1.1 Küresel Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacık Sentezinde ve Yüzey Modifikasyonunda Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

Küresel demir oksit nanoparçacık sentezi ve yüzey modifikasyonu için, Sigma-Aldrich ten temin edilen Demir (III) oksit (hidratlı), 1-Oktadesen (%90), Oleik asit (%90), Susuz kloroform ( $\geq$ %99, %0,5-1.0 etanol içerir), 3-Amino propil trietoksi silan (APTES, %99) ve etanol (%99) kullanılmıştır. Ayrıca sıvı azot ve Argon gazı (Linde Gazı) kullanılmıştır.

##### **3.1.2 Düzensiz Şekil ve Boyutta Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacık Sentezinde ve Yüzey Modifikasyonunda Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

Düzensiz şekil ve boyutta Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikül sentezi ve yüzey modifikasyonunda, Sigma-Aldrich ten temin edilen FeSO<sub>4</sub> (>99%), KNO<sub>3</sub> (99%), KOH (>90%), 3-Aminopropiltrioksisilan (APTES, %99) ve etanol (>99%) kullanılmıştır.

##### **3.1.3 TiO<sub>2</sub> Yüzey Modifikasyonunda Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu için; ticari olarak satın alınan TiO<sub>2</sub> NP'leri (Pharmorgana GmbH, Eppstein, Almanya, %99), Sigma Aldrich'ten satın alınan Toluen (% 99,7), 3-Aminopropiltrioksisilan (APTES), etanol (% 99,8), sıvı azot ve Argon Gazı (Linde Gazı) kullanılmıştır.

##### **3.1.4 Canlılık ve Oksidatif Stres Deneplerinde Kullanılan Kimyasal Malzemeler**

Canlılık ve Oksidatif stres deneyleri için Sigma Aldrich'ten temin edilen Cell Proliferation Kit I-MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide), phosphate buffered saline (PBS, pH=7,4), Sodium dodesill sülfat (SDS, 98%), Gibco'dan temin edilen penisilin-streptomisin, Fetal Bovine Serum (FBS, %10), insan epitel kolorektal adenokarsinoma hücre hattı (Caco-2, hattı ATCC® □

HTB-37™□), TBARS Assay Kiti (CAYMAN) kullanılmıştır.

### **3.2.Kullanılan Araç ve Gereçler**

Nanopariteül sentez ve yüzey modifikasyon deneylerinde; döner buharlaştırıcı (Heidolph Marka Hei-Vap Precision, MI/G3), masa üstü glove box (MTI, EQ-VGB-1), santrifüj (Hermle, Z 206A), kar tipi buz makinası (LAB312), 0,1-2 µL, 0,5-10 µL, 2-20 µL, 10-100 µL mikro pipetler (Nichipet EXII), ultrasonik banyo (Bandelin Sonorex, RK52H), etüv (IRMECO, SLN 53 STD), manyetik karıştırıcı-ısıtıcı (Heidolph, RA19458 MR Hei-Tec), yüksek vakum fırını (Binder, VD), hassas terazi (Mettler Toledo, JE703C/M, d=0,1 mg), sıcaklık kontrolcüsü cihaz ve ekipmanları kullanılmıştır.

Hücrelerin absorpsiyonu için plate okuyucu (Spectromax ix3 Molecular Devices, multimodes, ABD) kullanılmıştır.

### **3.3.Nanopartikül Sentezi ve Yüzey Modifikasyonu**

#### **3.3.1 TiO<sub>2</sub> Nanoparçacıklarının Yüzey Modifikasyonu**

Ticari olarak satın alınan yalın haldeki TiO<sub>2</sub> (E171) nanopartiküllerinin yüzey modifikasyonu için sırasıyla aşağıdaki prosedür uygulanmıştır:

1. Cam malzemeleri nemden ve gazlardan arındırmak için, malzemeler temizlenmiş ve 1 hafta boyunca 160 °C sıcaklıkta fırında kurutulmuştur
2. Tolüen deneyde kullanılmadan önce içerisindeki nemden arındırma amacıyla mikro elek yardımıyla 24 saat kurutulmuştur.
3. 400 mg TiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları, 60 ° C'de 480 ml kuru tolüen ile argon gazı altında karıştırılmıştır.
4. Argon gazı altında 0,163 µl APTES ve 10 ml kuru toluen karıştırılmış ve bu çözeltinin 5 ml'si TiO<sub>2</sub> çözeltisine damla damla ilave edilmiş ve 16 saat boyunca karışmaya bırakılmıştır.
- 5.Çözelti bir kez 10 dakika boyunca ve 5000 rpm'de santrifüjde yıkanmıştır, ardından 3 kez etanol ile yıkanmıştır.
6. Toplanan nanoparçacıklar 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

### 3.3.2 Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacıkların Sentezlenmesi ve Yüzey Modifikasyonu

Düzensiz şekil ve boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının sentezi ve yüzey modifikasyonu için aşağıdaki prosedür uygulanmıştır:

1. FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (20 g, 72 mmol), 140 ml saf su içerisinde çözülmüştür.
2. 60 ml saf su içerisinde NO<sub>3</sub> (1,62 g, 16 mmol) ve KOH (11,23 g, 200 mmol) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, azot baloncukları altında yaklaşık 5 dakika içinde yukarıda belirtilen çözeltiliye damla damla ilave edilmiştir.
3. Tüm çözelti ilave edildikten sonra, reaksiyon karışımı, 1 saat boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılarak 90 °C'ye ısıtılmıştır.
4. Ardından çözelti gece boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Manyetik demir oksit nanoparçacıklar manyetik olarak toplanmış ve birkaç kez de-iyonize su ile yıkanmıştır.
5. Yıkanan nanoparçacıklar 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

Düzensiz şekil ve boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu için;

1. Toplanan manyetik demir oksit nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu yapılabilmesi için, etanol (320 ml) içine APTES (13 ml, 55,5 mmol) ilave edildikten sonra demir oksit nanopartikülleri (1 g) ilave edilmiştir.
2. Karışım mekanik olarak 3 saat 40 °C'de karıştırılmıştır.
3. Manyetik olarak toplanan amin grupları ile fonksiyonelleştirilmiş nanoparçacıklar, etanol ile iyice yıkanmıştır.
4. Yıkanan nanoparçacıklar 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

### 3.3.3 Küresel Şekle ve Homojen Boyuta Sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacıklarının Sentezlenmesi ve Yüzey Modifikasyonu

Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının sentezi ve yüzey modifikasyonu için aşağıdaki prosedür uygulanmıştır:

1. Cam malzemeleri nemden ve gazlardan arındırmak için, malzemeler temizlenmiş ve 1 hafta boyunca 160 °C sıcaklıkta fırında kurutulmuştur.
2. Senteze başlamadan önce, balon jojenin boynundan 20-30 dakika boyunca Ar gazı verilmiştir.
3. FeO(OH) öğütülmüş ve 125 µm gözenek çapına sahip filtreden geçirilmiştir.

4. Oleik asit oda sıcaklığına getirildikten sonra, balon jöjeye sırasıyla FeO(OH), Oleik asit ve 1-Oktadenin ilave edilmiş ve 500 rpm'de karıştırılmıştır.
5. Sıcaklık kontrol cihazı yardımıyla sıcaklık, oda sıcaklığından 10 °C /dakika hızında 320°C'ye yükseltilmiştir. 320 °C'de 1 saat geri akış yapılmış ve ısıtıcıdan çıkarılarak soğutulmuştur.
6. Çözelti bir kez hekzan-aseton (1:2, h:h) ile santrifüjde 20 dakika ve 6000 rpm'de yıkanmıştır ve sonra 3 kez hekzan-aseton (1:2) ile yıkanmıştır.
7. Yıkanan nanoparçacıklar 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının yüzey modifikasyonu için;

1. 250 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları amin guruplarıyla fonksiyonelleştirmek için, 83 ml APTES-etanol çözeltisine (%2, hacim/hacim) dağıtılmıştır.
2. Dağılmış çözelti mekanik olarak 3 saat 40 °C'de karıştırılmıştır. APTES-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları etanol ile santrifüjde 20 dakika ve 6000 rpm'de 3 kez yıkanmıştır.
3. Son olarak APTES kaplı nanoparçacıklar manyetik olarak toplanmıştır.
4. Toplanan nanoparçacıklar 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

### **3.4. Küresel Şekle ve Homojen Boyuta Sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacıklarının Sitotoksikite ve Oksidatif Stres Deneyleleri**

Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının sitotoksik özelliklerinin belirlenebilmesi için MTT deneyleleri yapılmıştır. MTT deneyleleri için aşağıdaki adımlar uygulanmıştır:

Bu çalışmada kullanılacak CaCo-2 kültürlerinden elde edilen hücreler, 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklarda (PBI International), 37 °C, %5 nemli ortamda, %10 FBS (Fetal Bovine Serum-Gibco) ve antibiyotik (penisilin-streptomisin, Gibco) içeren 14 ml DMEEM HIGH GLUCOSE Medium içerisinde kültür edilmiştir. Hücrelerin subkültürleri; 4-5 günde bir her bir flask başına 2 ml 1:3 Tripsin-EDTA çözeltisi ile yapılmıştır. Hücrelerin konfluensliği Juli Br (Seul, Güney Kore) cihazı yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Deneyleyden bir gün önce hücreler 96 kuyucuklu plate'lere 30X10<sup>4</sup> hücre/ml olacak şekilde aktarılmıştır.

1. 96 kuyucuklu platelere aktarılan CaCo-2 hücrelerine nanoparçacıklar 500 µg/mL konsantrasyonundan başlayarak yarı dilüsyon seyreltilerek uygulanmıştır.

2. 24 saat inkübasyonu takiben üzerindeki vasat boşaltılarak 15 µl MTT çalışma solüsyonu (5 mg/ml PBS) eklenmiştir.
3. Formazan oluşumunun mikroskopik görüldüğü iki saatlik inkübasyondan sonra 100 µl %1'lik SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) ilave edilmiştir. Işığa duyarlı bir yöntem olmasından dolayı çalışmanın tamamı karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir.
4. Platelere, yatay karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra (100 rpm, 20 dakika), optik dansiteleri mikropate okuyucuda 540 nm dalga boyunda okunmuştur.
5. Daha sonra GRAPHPAD/Prism8 istatistik programı kullanılarak IC50 değerleri belirlenmiştir.

Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının oksidatif stres oluşturma özellikleri S 2-tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) ölçülmesiyle belirlenmiştir. MTT analizinde olduğu gibi büyütülen hücreler 6 kuyucuklu platelere aktarılmıştır.

1. Reaksiyon karışımı 20 ml %8,1 (ağ/hac) SDS, 150 ml %0,8 2-tiyobarbitürik asit, 150 ml % 20 asetik asit, 70 ml H<sub>2</sub>O çözeltilerinin eklenmesiyle elde edilmiştir ve daha bu reaksiyon karışımı sonra 60 dakika kaynatılmıştır.
2. Karışım soğutulduktan sonra santrüfjlenmiştir (11000 rpm, 3 dakika) ve süpernatant çözeltinin absorpsiyonu 532 nm'de ölçülmüştür. Asit işlemiyle malondialdehid veren malondialdehid bis (dimetil asetal) standart olarak kullanılmıştır.

### **3.5.Küresel Şekle ve Homojen Boyuta Sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparçacıkların Ekotoksikite Deneyleri**

Küresel şekle ve homojen boyuta sahip Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının ekotoksikite deneyleri 2 aşamada gerçekleşmiştir. Bu çalışmada test hayvanı olarak larva evresinde ısırğan olmayan tatarcık *Chironomus riparius* (Meigen, Diptera, Chironomidae) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan *Chironomus riparius* örnekleri, OECD yönergelerine göre yetiştirilen Nis Üniversitesi, Fen ve Matematik Fakültesi laboratuvarının stok kültüründen alınmıştır. Larvalar, 23 °C ± 2 °C sıcaklıkta, 16 saatlik fotoperiyotta, sürekli havalandırılmalı cam tanklarda (sediment olarak rendelenmiş selüloz kağıt ve üzeri musluk ve de-iyonize su ile kaplanmış) yetiştirilmiştir ve TetraMin® balık yemi pul karışımıyla beslenmiştir. Taze serilmiş yumurta kütleleri toplanmış ve deneyler için kullanılacak stok kültür akvaryumundan



(pH değeri 7.6 olan ve 350 mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> içeren musluk suyu ve de-iyonize su karışımı) su ile doldurulmuş Petri kaplarına yerleştirilmiştir.

### 3.5.1 Biyokimyasal Analizler

*Chironomus riparius* larvaları, OECD (No:218, “Katkılı Sediment Kullanılarak Sediment-Su Kironomid Toksikite Testi”) [48] yönergesine uygun metod kullanılarak Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lere maruz bırakılmıştır.

Biyolojik tayin 2 deneyden oluşmaktadır:

- 1. deneyde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin yaşam özelliği toksisitesi (life trait toxicity) yetişkin tatarcıklarda değerlendirilmiştir. Deney 22 gün sonra sonlandırılmıştır.
- 2. Deneyde tatarcık larvaları üzerinde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin *in vivo* genotoksitesi değerlendirilmiştir. Deney 13 gün sonra sonlandırılmıştır.

Larvalar, her biri 3 tekrar grubu içeren bir kontrol grubu ve kg sediment başına 1, 5, 10, 50 ve 100 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri ile karıştırılmış sedimente maruz bırakılmıştır. Bu deney 2 kez tekrarlanmıştır.

Deney kabı olarak 8 cm çapında cam 600 ml'lik beherler kullanılmıştır. Sediment olarak kuvars kumu kullanılmıştır. Belirlenen konsantrasyondaki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri, elle iyice karıştırılarak ıslak tortu içerisinde eşit olarak dağıtılması sağlanmıştır. Her test kabında, tepesine kadar de-iyonize ve musluk suyu (1: 1) karışımı ile 3 cm derinliğinde sediment tabakası bulunmaktadır. Test kapları 23 ± 1 °C sıcaklık ve 16s:8s aydınlık-karanlık döngüsüne sahip izotermal odaya yerleştirilmiştir. Sediment larvalar eklenmeden önce 2 gün boyunca yaşlandırılmıştır. İlk gelişim evresindeki larvalar (3 günlük) 1. deney için deney kabı başına 20 larva ve 2. deney için deney kabı başına 25 larva içerecek şekilde tüm deney kaplarına eklenmiştir. Larvaların eklenmesinden 24 saat sonra sediment tabakasının 2 cm üzerine sabitlenmiş bir plastik pipet yoluyla, her test kabına nazik bir havalandırma imkanı sağlanmıştır. Larvalar, her iki günde bir TetraMin® balık yemi pul karışımı ile beslenmiştir (ilk 2 gün boyunca günde larva başına 0,5 mg ve deneyin geri kalanında günde larva başına 1 mg).

### 3.5.2 Yaşam Özelliği Toksikitesi

Tam olarak ortaya çıkan tatarcık sayısı yeni yetişkin çıkmayana kadar (5. güne kadar) her gün kaydedilmiştir ve 5 gün sonunda deney sona erdirilmiştir. Tatarcıklar, larvalar

sedimente verildikten sonra 10. günde ortaya çıkmaya başlamıştır ve son ortaya çıkan yetişkin, 17. günde görülmüştür.

Ortaya çıkma oranı (ER), ölüm oranı (M), gelişim süresi (DT) ve gelişim oranı (DR), Test No. 218'de açıklandığı gibi OECD yönergelerine göre hesaplanmıştır:

$$ER = \frac{ne}{na} \quad (3.1)$$

ER Ortaya çıkma oranı

ne Deneysel kabı başına ortaya çıkan tatarcıkların toplamı

na Deneysel kabı başına ortama bırakılan larva sayısı

Ölüm oranı (M) ise “1- ER” ile hesaplanmaktadır. Gelişim süresi (DT) larvaların deney ortamına verilmesi (testin 0. günü) ve deneysel tatarcık topluluğunun ortaya çıkması arasındaki ortalama süreyi temsil etmektedir.

$$DT = \sum Ndx_d / N_t \quad (3.2)$$

DT Gelişim süresi

d Deneysel kabın başlangıcından itibaren geçen günlerin sayısıdır (larvaların ortama verildiği günden itibaren)

Nd O gün (d) ortaya çıkan yetişkin sayısı

Nt Deneysel kabın sonunda ortaya çıkan canlı yetişkinlerin toplam sayısı formülü ile hesaplanmaktadır.

Gelişim oranı (DR), geliştirme süresinin (birim: 1/gün) karşılığı olup, larva gelişiminin günlük gerçekleşen bir kısmını temsil etmektedir.

$$DR = \sum Ndx_d / N_t, \quad D=1/(d-0.5) \quad (3.3)$$

İstatistiksel analiz kapsamında, tüm değişkenler normallik (Shapiro-wilk) için test edilmiştir, test edilen gruplar arasındaki istatistiksel farklar SPSS istatistiksel yazılım paketi (IBM Corporation, New York, Amerika Birleşik Devletleri), Windows için 19.0 sürümü kullanılarak tek yönlü analiz (ANOVA) ile incelendi. Anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak belirlenmiştir.

### 3.5.3 Genotoksisite

#### 3.5.3.1 Jel Elektrophorez Yöntemi (Comet Assay)

Jel elektrophorez testi Singh ve arkadaşlarının 1988 yılında geliştirdikleri yöntemde küçük değişiklikler yapılarak uygulanmıştır [49]. Çalışmada negatif ve pozitif kontrol grupları kullanılmıştır. Somatik hücrelerdeki DNA hasarı seviyesini belirlemek için, negatif kontrol grubundan ve her konsantrasyon için Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP ler ile on canlı larva homojenleştirilmiş, süzölmüş ve 3 mL süspansiyon tamponu (1X PBS, 20 mM EDTA, %10 DMSO, pH=7.4) içerisinde yeniden süspansiyon edilmiştir. Homojenat, 15 dakika süreyle 1500 rpm'de 4 °C'de santrifüjlendi ve 150 µL süspansiyon tamponu içerisinde yeniden süspansiyon edilmiştir. Hücre süspansiyonundan 10 µL, 75 mL %1 LMA ile karıştırılmış ve bu karışımın 75 µL'si, mikroskop lamı üzerine yayılmıştır.

Üzerinde hücre bulunan lamlar, karanlıkta 10 dakika boyunca etidyum bromür ile lekelenmiştir, üzeri cam ile kapatılmış ve CCD kameraya bağlı bir floresan mikroskop Nikon (Ti-Eclipse) altında gözlemlenmiştir. Toplam 150 hücre (3 tekrar lamın her birinden 50 hücre) puanlanıp, analiz edilmiştir. Her lam için DNA hasarı derecesi görsel olarak değerlendirilmiştir [50] ve jel elektrophorez skoru Manoharan ve Banerjee'ye [51] göre hesaplanmıştır.

Kalsiyum ve magnezyum içermeyen fosfat tamponlu salin (PBS), DNA elektrophorezi için agaroz ve düşük erime noktalı agaroz (LMA) Alfatrade Enterprise D.O.O'dan temin edilmiştir.

#### 3.5.3.2 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz kapsamında, kontrol grubu ve NP'ye maruz bırakılan larvalar arasındaki istatistiksel farklılıklar, SPSS istatistiksel yazılım paketi (IBM Corporation, New York, Amerika Birleşik Devletleri), Windows için sürüm 13.0 kullanılarak tek yönlü analiz (ANOVA) ile incelenmiştir. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak belirlenmiştir.

### 3.6. Sentezlenen ve Yüzey Modifikasyonu Yapılan Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Sentezlenen ve yüzey modifikasyonu gerçekleştirilen nanoparçacıkların fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek ve incelemek amacıyla çeşitli karakterizasyon yöntemleri kullanılmıştır.

#### 3.6.1 Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

Dinamik Işık Saçılımı yöntemi, bir sıvı içerisinde dağılmış olan parçacıkların boyut dağılımı (1 nm ye kadar) hakkında bilgi veren bir yöntemdir. Parçacıklar bir sıvı içinde dağıldığında tüm yönlerde rastgele hareket ederler. Bu rastgele hareketin sonucunda da partiküller sıvı molekülleri ile sürekli çarpışırlar. Bu harekete Brownian hareketi denir. Bu çarpışmalar, parçacık hareketini indükleyen belirli miktarda enerjinin aktarılmasına neden olur. Enerji transferi neredeyse sabittir ve bu nedenle daha küçük parçacıklar üzerinde daha büyük bir etkiye sahiptir. Sonuç olarak, daha küçük parçacıklar daha büyük parçacıklardan daha yüksek hızlarda hareket eder. Parçacık hareketi üzerinde etkisi olan diğer tüm parametreler bilindiğinde, parçacıkların hızını ölçerek hidrodinamik çapı belirlenebilmektedir.

Partiküllerin hızı ile partikül büyüklüğü arasındaki ilişki Stokes-Einstein denklemi (Denklem 3.4) ile verilmiştir. Parçacıkların hızı, translasyonel difüzyon katsayısı  $D$  tarafından verilir. Ayrıca denklem, boyut analizi yapılacak malzemenin dağıtıldığı sıvının viskozitesini ve sıcaklığını içermektedir, çünkü her iki parametre de parçacık hareketini doğrudan etkiler. Stokes-Einstein denkleminin geçerli olabilmesi için parçacıkların hareketinin Brownian hareketine dayanması gerekmektedir.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_H} \quad (3.4)$$

$D$  Translasyonel difüzyon katsayısı [ $m^2/s$ ] – “Parçacıkların hızı”

$k_B$  Boltzman sabiti [ $m^2kg/Ks^2$ ]

$T$  Sıcaklık [K]

$\eta$  Viskozite [Pa.s]

$R_H$  Hidrodinamik çap [m]

DLS yöntemi, nanopartiküller, miseller, polimerler proteinler ve kolloidler için rahatlıkla uygulanabilmektedir. Bu yöntem temel olarak, numunenin belli bir dalga boyuna sahip lazer ışını ile aydınlatılması ve saçılan ışığın dalgalanmalarının bilinen bir saçılma açısında, hızlı bir foton dedektörü tarafından tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Mikroskopik açıdan bakıldığında, solvent içerisindeki parçacıklar ışığı dağıtır. Bu durum parçacıkların hareketleri hakkında bilgi sahibi olmaya izin vermektedir. Böylelikle, saçılan ışığın dalgalanmalarının analizi parçacıkların boyutu hakkında bilgi vermektedir.

Bu çalışmada, NP'lerin hidrodinamik yarıçapını belirlemek için oda sıcaklığında ve 37° C'de 633 nm dalga boyunda 5 mW'lık bir He-Ne lazer kaynağı ile Malvern ZetaNano ZS kullanılmıştır.

### 3.6.2 Zeta Potansiyel Ölçümü

Zeta potansiyeli, parçacıklar arasındaki elektrostatik büyüklüğün veya çekme/itme yükünün bir ölçüsüdür. Ayrıca partiküllerin stabilitesini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Zeta Potansiyel ölçümü biyomedikal uygulamalar, ilaç endüstrisi, elektronik, su arıtma gibi çok çeşitli uygulamalara sahiptir.

Parçacık dispersiyonları ve formülasyonları elektrostatik itme, sterik engel veya bu iki kuvvetin kombinasyonu ile stabilize edilir. Yeterli stabilizasyon sağlanmadığında parçacıklar çeşitli kuvvetlerin etkisiyle bir araya gelmeye başlayacak ve bir süre sonra birikeceklerdir. Bazı araştırmacılar zeta potansiyelini parçacıkların elektrostatik stabilizasyonunun bir göstergesi olarak ifade etmektedirler. Zeta potansiyeli, süspansiyondaki parçacıkların elektroforetik hareketliliğinin ölçülmesiyle elde edilmektedir. Elektroforetik mobilite, partikül ve çözelti özelliklerine (iyonik güç, iyonik kompozisyon ve viskozite) bağlıdır. Bu nedenle, her bir partikül üzerinde doğru yükün belirlenmesi, değişen fizyolojik tamponlarda nano-biyo etkileşimleri hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. NP'lerin yüzey yükü sıvılardaki fiziksel durumlarını (örn. Stabilite, proteinlerin emilimi) ve dolayısıyla biyolojik sistemlerle etkileşimlerini etkiler. Partikülün verildiği sistem içerisindeki stabilitesini, dozajını etkileyen ve alım mekanizmasını belirleme açısından da kritik öneme sahiptir. Daha önce de bahsedildiği üzere zeta potansiyel değerleri, partiküllerin sulu ortamlarda birikme eğilimini belirlemek için bir kriter olarak kullanılabilir ve NP fiziksel-kimyasal özelliklerini *in vitro* ve *in vivo* olarak ilişkilendirmek için yararlı bilgiler vermektedir.

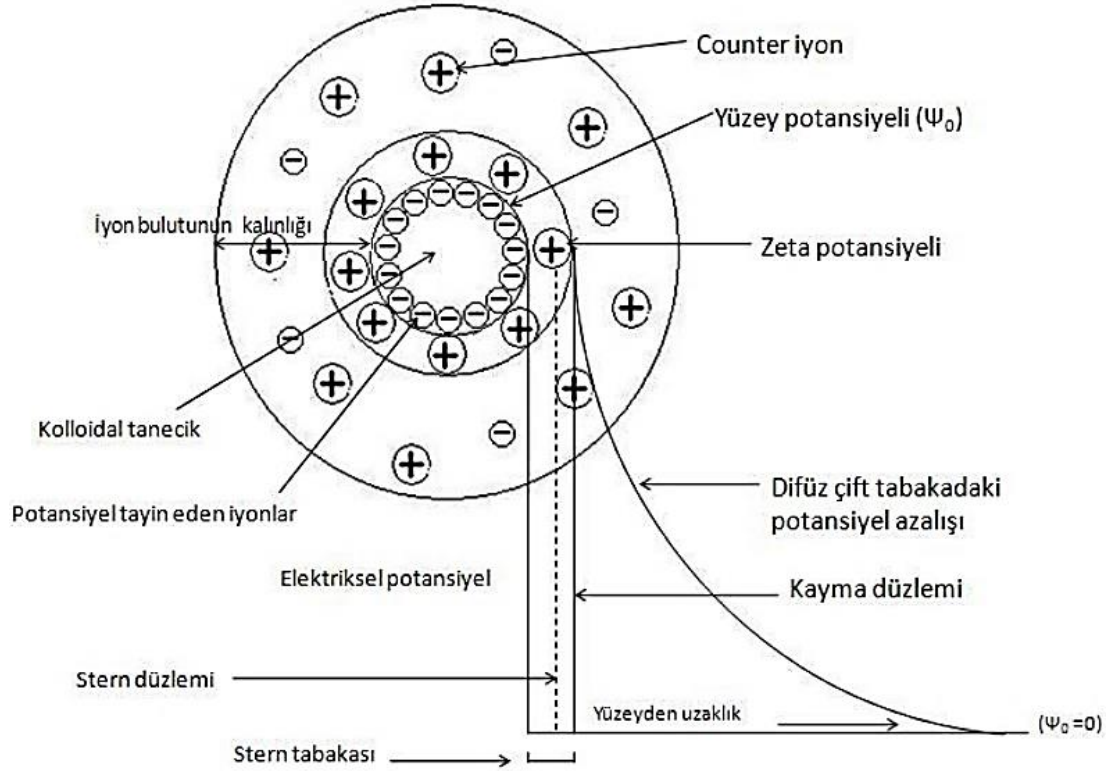
(örneğin NPs-hücre etkileşimleri). Spesifik durumlarda, dağıtıcı ortamın çevresel koşullarının (ör., Ortam bileşimi, titrasyon ve pH) değiştirilmesi, farklı koşullarda NP fiziksel-kimyasal özelliklerinin belirlenmesi çalışmalarında önem kazanmaktadır. İn vivo sistemlerde etki mekanizmalarını taklit etmek bu anlamda güzel bir örnek teşkil etmektedir. Bahsedilen bu nedenlerden ötürü zeta potansiyel değerleri, özellikle biyomedikal uygulamalar için tasarlanan NP'leri karakterize etmek için oldukça dikkat çekici olmaktadır [52], [53].

Yüklü NP'ler bir sıvı içinde dağıldıklarında, yüzeylerine güçlü bir şekilde zıt yük iyonlar bağlanır ve "Stern tabakası" olarak adlandırılan yüklü ince bir tabaka oluşturur (Şekil 3-1). Stern tabakası, "difüzyon iyonu tabakası" adı verilen daha az çekim gücüne sahip iyonlardan ikinci bir dağılık dış tabakanın oluşumunu indükler ve bu iki katman "elektrikli çift katman" olarak isimlendirilir. NP'ler sıvı fazda yerçekimi, kinetik enerji veya uygulanan bir elektrik alanın altında etkisiyle hareket ettiklerinde yüklü NP'nin yüzeyinden dışa doğru yayılmış bir yüzey oluşur. Bu yüzey içerisinde "kayma yüzeyi" olarak adlandırılan bir sınır bulunur. Yüklü NP ile onun etrafında çeşitli kuvvetler etkisiyle bulunan iyonlar kayma yüzeyi sınırına kadar yekpare olarak hareket eder. İşte bu "kayma düzlemi" sınırındaki elektrostatik potansiyele zeta potansiyel denir (Şekil 3-1).

Zeta potansiyel ölçümleri sırasında, numune boyunca bir yüklü alan yüklü parçacıkların hareketini indükler. Elektroforetik mobilite ( $\mu_e$ ) olarak bilinen NP hızı ve dışarıdan uygulanan elektrik alan arasındaki oran ölçülür ve Henry denklemi kullanılarak zeta potansiyeline ( $z$ ) dönüştürülür [52]:

$$\mu_e = \frac{2\varepsilon Z f(k, a)}{3\eta} \quad (3.5)$$

- $\mu_e$  Elektroforetik mobilite – "Parçacıkların hızı"  
 $Z$  Zeta Potansiyeli [ $m^2kg/Ks^2$ ]  
 $\varepsilon$  Dielektrik sabiti  
 $\eta$  Viskozite [Pa.s]  
 $f(k, a)$  Henry fonksiyonu



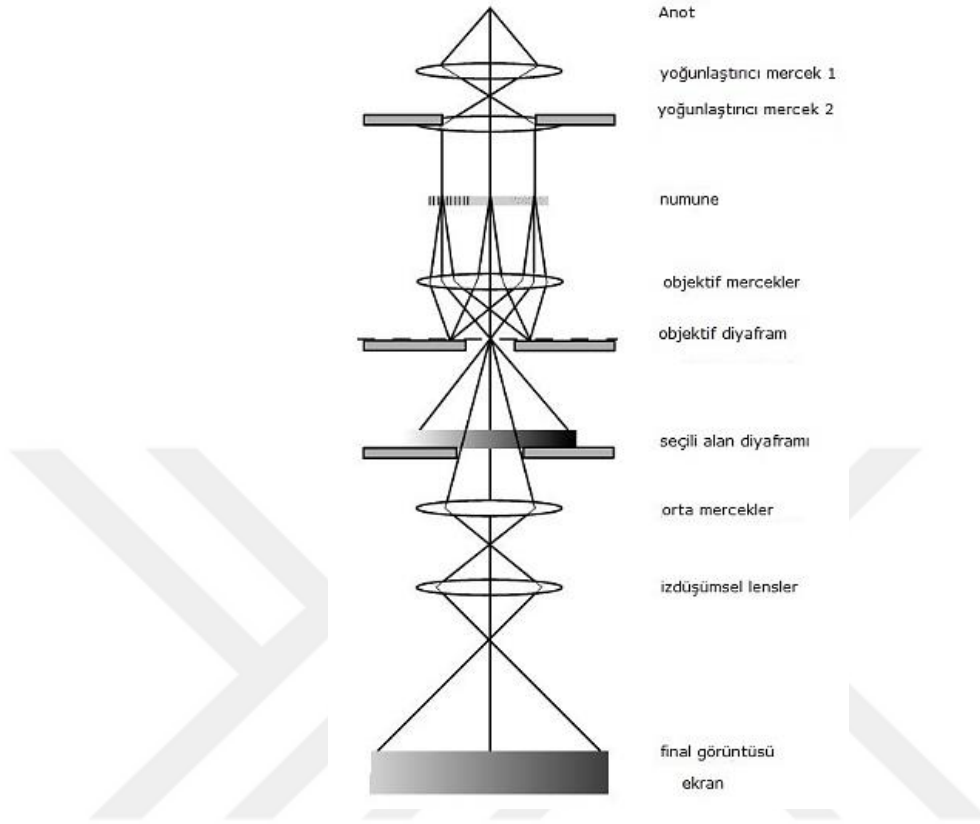
Şekil 3-1 Negatif yüklü bir parçacık için Zeta potansiyeli [54]

Bu çalışmada, NP'lerin stabilitesi hakkında bilgi sahibi olmak ve parçacık yükünü belirlemek için oda sıcaklığında ve 37 ° C'de 633 nm dalga boyunda 5 mW'lık bir He-Ne lazer kaynağı ile Malvern ZetaNano ZS kullanılmıştır.

### 3.6.3 Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM)

Geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), bir elektron demetinin ultra ince örnek üzerine iletiildiği bir mikroskopi tekniğidir. TEM, ışık mikroskobu ile aynı temel prensiplerle çalışır, ancak burada ışık yerine elektron demeti kullanır. Bir elektron demeti bir malzemenin ultra ince kesitli bir örneğinden geçtiğinde, elektronlar saçılır. Gelişmiş bir elektromanyetik lens sistemi, çalışma moduna bağlı olarak dağınık elektronları bir görüntüye, kırınım modeline veya nano analitik bir spektruma odaklar. Görüntü fosfor ekrana çarpar ve kullanıcının görüntüyü görmesini sağlayan ışık oluşturulmuş olur (Şekil 3-2). Elektronlar numuneden geçerken, numunedeki bileşen elementlerin oluşturduğu elektrostatik potansiyel tarafından saçılırlar. Numuneden geçtikten sonra, numunenin bir noktasından saçılan tüm elektronları görüntü

düzlemindeki bir noktaya odaklayan elektromanyetik objektif merceğinden geçerler. Bu objektif lensin arka odak düzlemdir ve kırınım paterninin oluştuğu yerdir [55].



Şekil 3-2 TEM Çalışma Prensibi [56]

Geçirimli elektron mikroskopunda (TEM), numune yüksek enerjili elektronlarla bombardımana tutulur. Bu elektronlar enerji seviyelerine bağlı olarak numuneden geçer veya kırınımına neden olurlar. Kırınım elektronları, bir kırınım modeli oluşturarak malzemenin atomik yapısı hakkında bilgi verir. Numuneden geçen elektronlar, malzeme içindeki atomlarla etkileşime bağlı olarak hem atomik yapı hem de malzeme kusurları hakkında bilgi verir [55].

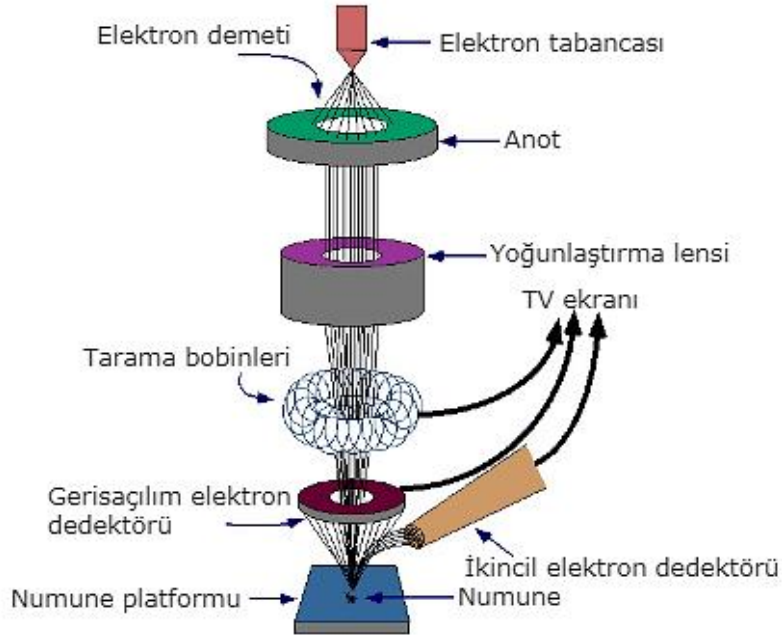
Bu çalışmada nanopartiküllerin şekil, morfoloji ve partikül boyutlarını görselleştirmek için TEM karakterizasyon yönteminden yararlanılmıştır. TEM görüntüleri FEI Tecnai G2 F30 kullanılarak elde edilmiştir. TEM karakterizasyonu için küresel  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları hekzan içinde, düzensiz şekilli  $Fe_3O_4$  ve  $TiO_2$  NP'leri ise etanol ile çözülerek seyreltik çözelti oluşturulmuştur. Ardından hazırlanan bu çözeltilerden karbon kaplı bakır TEM ızgaraları üzerine 2-3 damla damlatılarak TEM örnekleri hazırlanmıştır.



### 3.6.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM boyut, şekil, yüzey morfolojisi, gözeneklilik ve gözenek şekli, yüzey kontaminasyonu, mikro yapı ve topaklaşma eğilimi gibi malzemelerin karakteristikleri hakkında bilgi elde etmek için geliştirilmiş çok yönlü karakterizasyon yöntemlerinden biridir [57].

SEM’de enerjisi yüksek bir elektron demeti numune üzerine çeşitli lensler yardımı ile odaklanarak gönderilir. Numune ile etkileşime giren elektron demetleri elektron ve foton saçılımına sebep olur. Saçılan elektronlar bir algılayıcı yardımı ile toplanır. Bu elektronlar ikincil elektronlardır ve bu elektronlar yüzeye çok yakın kısımlardan geri saçılan elektronlardır. Bu elektronlar malzemenin yüzeyi hakkında bilgi verir. Yüzeyin daha derin taraflarından saçılan ve nispeten enerjisi daha yüksek olan elektronlar ise geri saçılan elektronlar olarak isimlendirilir. Geri saçılan elektronların enerjisi numunenin atom numarasının büyüklüğüne veya küçüklüğüne göre değişmekle birlikte bu elektronlar numunenin kompozisyonu hakkında da bilgi vermektedirler. SEM’in çalışma prensibi Şekil 3-3’te gösterilmiştir. SEM tek başına elementel analiz yapmak için yeterli bir yöntem değildir. Genellikle bir EDS dedektörü ile birlikte kullanılarak numune hakkında nitel ve nicel olarak element analizi yapma imkanı sağlamaktadır [58].



Şekil 3-3 SEM Çalışma Prensibi [56]

Bu çalışmada, *in vivo* toksisite ve genotoksisite incelemesi yapılan küresel şekil ve homojen boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının, deney ortamında canlı gelişimi için sediment olarak kullanılan ince ve kalın kum ile 50, 100 ve 1000 mg / kg (NP/kum) konsantrasyonlarda sedimentasyon davranışlarını, özelliklerini NP-kum etkileşimini ve NP yüzey morfolojisi, agregasyon durumunu ve partikül büyüklüğünü incelemek amacıyla SEM karakterizasyonu yapılmıştır. SEM analizine paralel olarak Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDX) kullanılarak nanopartiküllerin kum örnekleri üzerinde bulunduğu yer belirlenmiştir. SEM görüntüler, FEI Nova Nano SEM 430 (10-20 kV) kullanılarak elde edilmiştir.

### 3.6.5 X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), kantitatif olarak atomik ve kimyasal kompozisyonu belirlemek için kullanılır. Örnek yüzeyinden yaklaşık 50-70 Å derinliğe kadar uzanan bir yüzey analiz tekniğidir. Alternatif olarak, XPS, matris düzeyindeki elemanların derinliğin bir fonksiyonu olarak nicelendirilmesiyle ince filmlerin karakterize edilmesi için püskürtme derinliği profili oluşturmak için kullanılabilir [59].

XPS, ultra yüksek vakum (UHV) koşullarında, yaklaşık  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  milibar (mbar) arasında gerçekleştirilir. Fotoelektron spektroskopisi, başlangıçta Hertz tarafından gözlemlenen ve daha sonra Einstein tarafından ışığın kuantum doğasından ortaya çıkmasıyla açıklanan fotoelektrik etkinin uygulanmasına dayanır. Einstein, bir örnek üzerinde ışık olduğunda, bir elektronun bir fotonu soğurabildiğini ve maksimum kinetik enerjisiyle malzemedeki elektronun saçılabilirliğini ortaya koymuştur.

$$E_k = h\nu - E_b - e\Phi \quad (3.6)$$

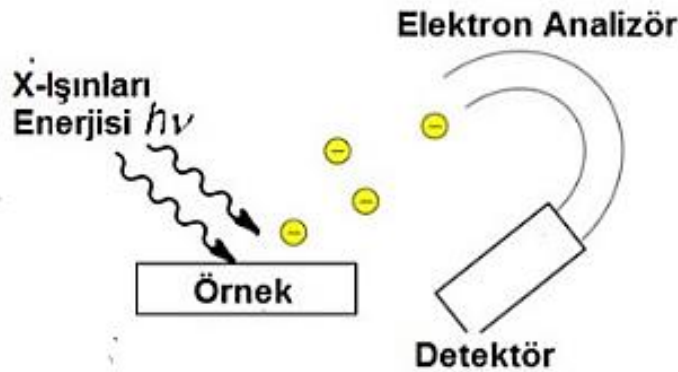
$E_k$  Kinetik Enerji (ölçüsüdür delokalize bir elektronun metal yüzeyinden uzaklaştırılması için gereken minimum enerji)

$\nu$  Foton frekansı,

$E_b$  Elektron bağlama enerjisi

$\Phi$  İş fonksiyonu (yüzeydeki değerlik elektronlarının kaçmasını önleyen potansiyel bariyerin bir ölçüsü)

Bir katının yüzeyi, katının iç kısmından farklı kimyasal bileşime ve fiziksel özelliklere sahiptir. Yoğun bir ultraviyole veya X-ışını ışığı demeti molekülleri veya atomları iyonize eder. Kullanılan ışık, en azından atomların en yüksek değerlikli kabuğundan elektronları iyonize etmek için yeterli bir enerjiye sahip olmalıdır.  $h\nu$  daha büyükse, elektronlar daha derin seviyelerden de çıkarılabilir. Daha düşük enerjide X-ray bölgesinde dalga boyuna sahip fotonlar kristal yüzeyde meydana geldiğinde çekirdek elektronlar atomlardan dışarı atılır (Şekil 1). Spektrum, yüzeyden kaçan elektronların özellikleri ölçülerek elde edilir. Bu elektron spektroskopik yöntem X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) denir ve çalışma prensibi Şekil 3-4'te verilmiştir. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisinde (XPS), yayılan kinetik enerjinin dağılımını uygun bir elektron enerji analizörü kullanılarak ölçülür ve bu yolla bir fotoelektron spektrumu kaydedilir. Ayrıca, XPS çekirdek düzeylerini analiz etmek için yumuşak X-ışını (200-1500eV) radyasyon kullanılır [60].



Şekil 3-4 XPS Çalışma Prensibi [61]

Bu çalışmada Monokromatik Al  $K\alpha$  (1486.6 eV) 300W X-ışını kaynağı kullanılmıştır. Örnek yüzeyinin genel spektrumu (survey spectrum) için 117,40 eV'lik bir geçiş enerjisi kullanılmıştır. Spektrumlar, normal yüzeye göre 60 °'lik bir kalkış açısı kullanılarak kaydedilmiştir. XPS karakterizasyonu, nanopartiküllerin fonksiyonelleştirilip, yüzeyde modifikasyonlarının başarılı bir şekilde gerçekleştirilip gerçekleştirilmediğini belirlemek için yapılmıştır. XPS numune hazırlama için nanoparçacıklar iki taraflı yapışkan bakır bant üzerinde düzleştirildi. XPS karakterizasyonu için küresel  $Fe_3O_4$ , düzensiz şekilli  $Fe_3O_4$  ve  $TiO_2$  NP'leri kullanılarak bağlar ve bağlanma enerjileri elde edilmiş ve yorumlanmıştır.

### 3.6.6 X-ışını Kırınımı (XRD)

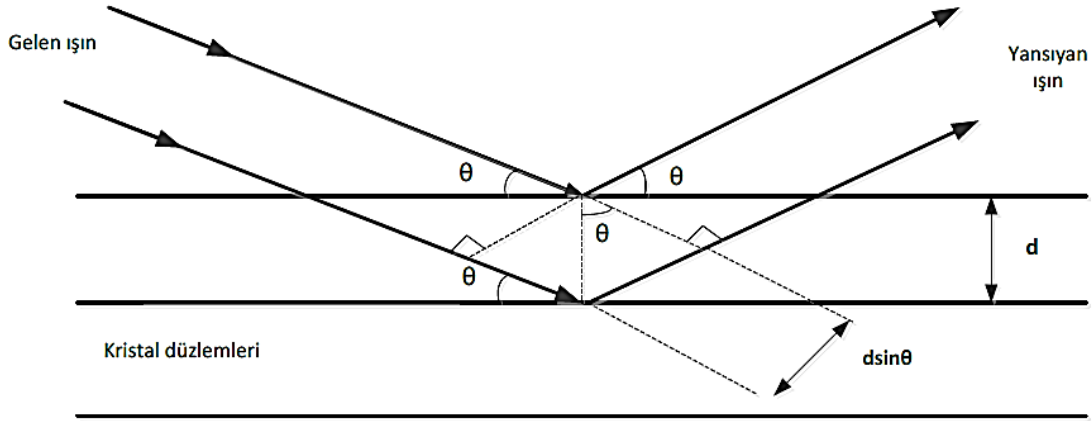
X ışını kırınımı (XRD), Malzemelerin yapısı, fazları, tercih edilen kristal yönelimi (doku) ve ortalama tane büyüklüğü, kristalitesi, gerinim ve kristal kusurları gibi yapısal özellikleri hakkında bilgi sağlayan kristalin malzemelerin karakterizasyonu için güçlü bir tahribatsız tekniktir [62].

X-ışını kırınımı, monokromatik X-ışınlarının ve bir kristal numunenin yapıcı girişimine dayanmaktadır. Bu X-ışınları bir katot ışınlı tüp tarafından üretilir, monokromatik radyasyon üretmek üzere filtrelenir, konsantre bir şekilde toplanarak numuneye doğru yönlendirilir. Gelen ışınların örnekle etkileşimi, koşullar Bragg Yasasını (3.7) karşıladığında yapıcı girişim (ve kırınan bir ışın) üretir. Bu yasa, elektromanyetik radyasyonun dalga boyunu kırınım açısına ve kristalin bir numunedeki kafes aralığına ilişkindir. Bu kırılmış X-ışınları daha sonra tespit edilir, işlenir ve sayılır. Numune  $2\theta$  açı aralıklarıyla taranarak, malzemenin rastgele yönlendirilmesinden dolayı kristal kafesinin tüm olası kırınım yönelimlerine ulaşılır (Şekil 3-5). X ışını kırınım pikleri, bir numunedeki her kafes düzlemi kümesinden belirli açılarda dağılmış tek renkli bir X-ışını demetinin yapıcı girişimiyle üretilir. Pik yoğunlukları, atomların kafes içindeki dağılımı ile belirlenir. Sonuç olarak, X-ışını kırınım paterni, belirli bir malzemedeki periyodik atomik düzenlemelerin parmak izidir [62,63].

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (3.7)$$

n	Kırınım mertebesi
$\lambda$	Dalga boyu
d	Kafes aralığı
$\theta$	Kırılma açısı

Bu çalışmada X ışını kırınım ölçümleri, Pananalytical X'pert Pro multipurpose X-ray diffractometer kullanılarak yapılmıştır ve 40 kV ve 40 mA'da çalıştırılarak  $\text{CuK}\alpha$  radyasyonu ( $\lambda = 0.154 \text{ nm}$ ) kullanılmıştır. Ölçümler  $0.05^\circ$  'lik adımlarla  $2\theta$  de  $1^\circ$  ile  $80^\circ$  arasında yapılmıştır.



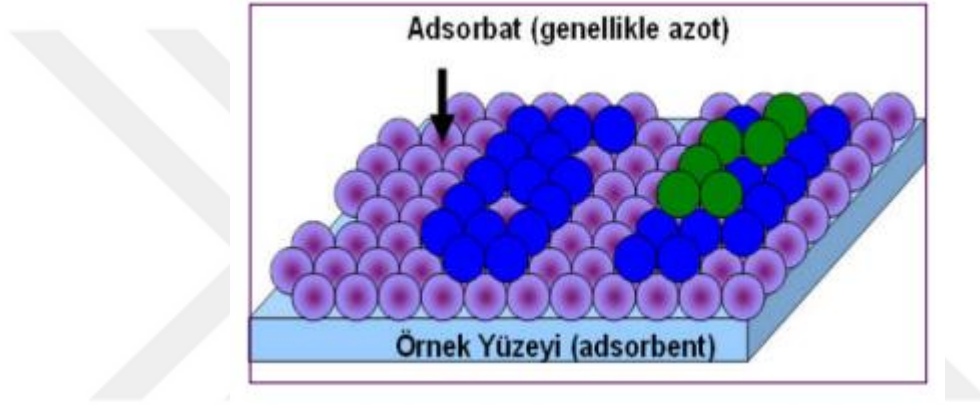
Şekil 3-5 XRD Temel Prensibi (Bragg Yasası) [53]

### 3.6.7 Branauer-Emmet-Teller (BET)

Yüzey alanı ve porozite katı fazdaki malzemeler için çok önemli iki fiziksel özelliktir. Malzeme içerisindeki parçacıkların yüzey alanları ve poroziteleri karakteristik performansını büyük ölçüde etkilemektedir. BET, yüzey alanı ve porozite hesaplamalarında kullanılan önemli bir karakterizasyon yöntemidir. Stephan Brunauer, Paul Emmet ve Edward Teller tarafından 1938 yılında Journal of American Chemical Society de yayınlanan makaleleri ile BET yöntemi ve teorisi tanıtılmıştır.

Yüzey alanı ve porozite ölçümü için genel olarak gaz adsorption analiz yöntemi kullanılmaktadır. Malzemenin spesifik yüzey alanı ölçümü için BET teorisi, gaz moleküllerinin fiziksel adsorpsiyonunu açıklar. Adsorpsiyon, birbirleriyle zayıf Van der Waals bağları ile etkileşime giren gazların yüzeye tutunmasıdır. Adsorp olan gazın miktarı malzeme yüzeyine, sıcaklığa, gaz basıncına ve gaz ve katı arasındaki etkileşimin gücüne bağlıdır. Katı maddelerin yüzey alanı, katı yüzey üzerindeki monolayer olarak adsorplanan gaz miktarının hesaplanmasıyla belirlenir. Porozite ise, monolayer oluşumundan sonra tüm porlar kapanana kadar gaz adsorpsiyonu devam eder. Bu süreçte tutunan gaz moleküllerinin miktarının hesaplanmasıyla da porozite belirlenmiş olur. BET yüzey analizlerinde doğru bir sonuç için, kullanılan malzeme üzerindeki safsızlıkların ve por içerisindeki gazların uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla outgassing denilen proses uygulanmaktadır. BET yüzey analizinde yüksek saflığından ve katı ile olan güçlü etkileşiminden dolayı sıklıkla Nitrojen gazı kullanılmaktadır. Katı ve gaz arasındaki etkileşim düşük sıcaklıklarda arttığı için,  $N_2$

yüzeyle tutunmasının artırılması amacıyla yüzey sıvı azot ile soğutulur. Böylece gönderdiğimiz nitrojen gazları yüzeye çabucak tutunmuş olur (Şekil 3-6). Gönderilen Nitrojen gazının miktarı bilinmektedir. Gazın tutunması için, basınç vakumla azaltılır. Gaz yüzeye tutundukça basınç, satürasyon değerine yaklaşır ve satürasyon değerine geldikten sonra basınç sabitlenir ve daha fazla tutunma gerçekleşmez. Bu aşamada monolayer ve multilayer oluşumu gerçekleşir ve yüzey alanı ve porozite burada hesaplanır. Bundan sonraki proses desorpsiyondur. Burada örnek nitrojen atmosferinden alınır ve adsorplanan gazın geri salınımı için ısıtılır ve hesaplanır. Bu verilerden BET izotermi elde edilir. Bu izoterm adsorplanan gazın miktarına ve relatif basınca göre çizilir. Bu şekilde 5 tane izoterm eğrisi mevcuttur.



Şekil 3-6 BET Analizi Adsorpsiyon süreci [64]

Bu çalışmada BET yüzey alanı analizi, N<sub>2</sub> atmosferinde Autosorb-iQ Station 1 ile gerçekleştirilmiştir. NP'lerin BET yüzey alanları 77 K'deki N<sub>2</sub> adsorpsiyon ve desorpsiyon testlerinden elde edilmiştir. Ölçümler alınmadan önce numuneler 15 saat 200 °C'de de-gaz işlemine tabii tutulmuştur.

### 3.6.8 Titreşim Numune Manyetometresi (VSM)

Titreşimli örnek manyetometre (VSM), manyetometrenin en başarılı uygulamalarından biridir. Bu teknikte, numune, numunede bir mıknatıslanmaya neden olan sabit çok büyük bir harici manyetik alana sokulur. Mıknatıslanmış numune daha sonra titreştirilince, dış manyetik alanda bozulmalar meydana getirir. Bu bozulmaları ölçmek için numunenin etrafına bir dizi bobin veya bazı manyetik alan sensörleri yerleştirilir. Örneğin bobinler durumunda, bobinleri delen manyetik akı değişecek ve bobinlerde bir emf (elektro hareket kuvveti) oluşmasına neden olur. Belirli bir bobin

geometrisi için, bobinlerde üretilen emf (a) titreşim genliği ve frekansına, (b) harici manyetik alana ve (c) numunenin mıknatıslanmasına bağlıdır. Doğru manipülasyon ile mıknatıslama değeri emf'den çıkarılmaktadır [41]. VSM'in amacı, ince tabakaların ve doğadaki çeşitli küçük kristallerin (manyetik oksit vb.) manyetik özelliklerini uygulanan manyetik alana ve sıcaklığa göre belirlemektir.

Bu çalışmada kriyojenik, 12T Magnet özelliğine sahip VSM kullanılarak küresel ve düzensiz şekilli Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin manyetik özellikleri belirlenmiştir.

### 3.6.9 *In Vitro* Sitotoksosite Deneyleri

Çok hücreli canlılara ait organizmalardan alınan hücrelerin laboratuvar ortamında uygun besi kabı, besi yeri sıcaklık ve nem koşullarında büyütülmesi ve yaşatılması hücre kültürü olarak isimlendirilmektedir. Hücre kültürü sıklıkla aşı geliştirilmesi, bir ilacın biyolojik aktivitesinin belirlenmesi, hücre alım mekanizmalarının araştırılması ve *in vitro* sitotoksosite testleri gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Sitotoksosite çalışmaları, bir numunenin hücre ölümüne yol açıp açmadığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalardır. Uygulama açısından kolaylık sağlamakla birlikte *in vivo* deneyleri için bir ön çalışma niteliğindedir. Hızlıca sonuca ulaşılabilir ve etik kaygılar açısından nispeten daha güvenli uygulama alanına sahiptir [65].

Sitotoksosite çalışmalarında, incelenen numunenin uygulama dozuna ve hücrelerin bu numuneye maruz kalma süresine bağlı olarak hücrelerde değişik tepkiler ve reaksiyonlar ortaya çıkmaktadır. Eğer numunenin Sitotoksosite derecesi çok yüksek olursa hücreler çoğalma yetenekleri kaybedebilir veya hücre ölümüne sebep olabilir. Sitotoksosite çalışmalarının temeli hücre canlılığının belirlenmesine dayanır, sitotoksosite deneyleri sonucunda ölü ve canlı hücrelerinin miktarı belirlenir. Sitotoksosite belirlenmesi çeşitli metodlar ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler enzimatik, kolorimetrik ve lüminesans yöntemler olarak sıralanabilir [47].

Kolorimetrik sitotoksosite hesaplamalarında mitokondriyal solunuma bağlı olarak 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT), 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (WST) yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden MTT ile tetrazolyum tuzlarının hücrelerde renk değişikliğine sebep olarak canlı hücre sayısı belirlenmektedir. Tetrazolyum tuzları

mitokondriyal aktivitesi devam eden hücrelerin içine girdiğinde indirgenerek formazan kristallerinin oluşmasıyla birlikte renk değişikliğine sebep olur. Bu hücrelerin belirli bir dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek canlı ve ölü hücre miktarı belirlenmektedir [66].

Hücre canlılığını etkileyen bir diğer önemli unsur da serbest radikal molekülleridir. Canlı sistemlerde boşta eşlenmemiş elektronu bulunan ve elektron alarak indirgenme eğilimi bulunan moleküllere serbest radikaller denir. Elektron almaya eğilimi oksijen içeren serbest radikallere oksidan denir. Oksidanlar eksik elektronlarını tamamlama ihtiyacından dolayı etkileşime girdiği moleküle bağlı olarak hücrede çeşitli hasarlara yol açmaktadırlar. Oksidanlar genetik materyale, hücre zarına veya çeşitli reaksiyonlara etki ederek hücreye zarar verebilirler. Hücreye verilen çeşitli ilaçlar, nanoparçacıklar ve maddeler hücrelerde oksidan oluşuma yol açabilmektedirler.

Hücre zarı ve dışında zar yapısı bulunan organellerin yapılarında fosfolipitler bulunmaktadır. Bu fosfolipitlerdeki doymamış yağlar kolaylıkla oksidanların saldırısına uğrayabilmektedirler. Bu olaya lipid peroksidasyonu adı verilir. Lipid peroksidasyonu sonucunda malondialdehit (MDA) adı verilen hücrede enzim aktivite değişikliğine yol açan veya membran geçirgenliğini bozan bir ürün açığa çıkmaktadır. Ayrıca MDA genetik materyale zarar vererek hücre için genotoksik etki göstermektedir. Lipid peroksidasyonunu belirleyebilmek için MDA'nın tiyobarbitürik asitle (TBA) ile kolaylıkla reaksiyon vermesinden yararlanılarak lipid peroksidasyon belirtisi olarak kullanılmaktadır. TBA testinde numune düşük pH'da TBA ile ısıtıldığında lipid peroksidasyonuna bağlı olarak bir renk değişimi gözlenir. Bu renk değişimi 532 nm de ölçülerek hücredeki oksidatif stres hakkında bilgi edinilir [67].

Klinik çalışmalarda doku, plazma ve idrarda oksidasyon ürünlerinin ölçümü, *in vivo* lipid peroksidasyonu yansıtmada yapılmaktadır. Lipid peroksitler kararsız bileşikler olup hızlıca bozunma eğilimi gösterdiklerinden kısa zincirli alkanlar, aldehitler gibi çeşitli ürünlere dönüşebilirler. Dolayısı ile genelde tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler (TBARS) ve sitotoksik aldehitlerin ölçümleri yapılmaktadır [68].

Bu çalışmada küresel şekil ve boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının sitotoksite deneyleri CaCo-2 hücre hattı üzerinde MTT yönteminden yararlanılarak yapılmıştır. Lipid peroksidasyonuna bağlı oksidatif stres analizi ise TBA testi ile gerçekleştirilmiştir.



### 3.6.10 *In Vivo* Ekotoksikoloji Deneyleri

Çeşitli kimyasalların test edilebilmesi, kimyasalların potansiyel tehlikelerinin belirlenmesi için hükümet, endüstri ve bağımsız laboratuvarlar tarafından uluslararası alanda kabul gören OECD yönergeleri kullanılmaktadır. Yeni üretilen kimyasal, malzeme ve ürünlerin çevre ve canlılar üzerindeki toksik etkilerinin araştırılması, dozun, maruz kalma süresinin belirlenmesi ve istatistik analizlerinin yapılabilmesi için OECD test yönergelerinden yararlanılmaktadır.

Bu çalışmada uygulanan OECD No:218 yönergesi test protokolleri, tatlı tatarcık *Chironomus riparius* sedimentte yaşayan larvalarının uzun süre kimyasala maruz kalmasının etkilerini değerlendirmek üzere tasarlanmıştır [48].

Ekotoksikite testlerinde DNA hasarını belirlemek için sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri de jel elektroforez yöntemidir. Çeşitli konsantrasyonlarda kimyasal maddelere maruz bırakılan canlı popülasyonlarında meydana gelen DNA hasarının tespit edilebilmesi için hızlı ama aynı zamanda hassas sonuçlar veren ve floresan mikroskopik yöntemlerden biri olan jel elektroforez kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, küresel şekle ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının, test hayvanı olarak kullanılan larva evresinde ısırğan olmayan bir tatarcık *Chironomus riparius* (Meigen) üzerindeki toksisitesini belirlemek için OECD No:218 test yönergesi uygulanmış ve bu canlılardaki DNA hasarını analiz edebilmek için ise jel elektroforez yönteminden yararlanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Titanyum Dioksit (TiO<sub>2</sub>) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları

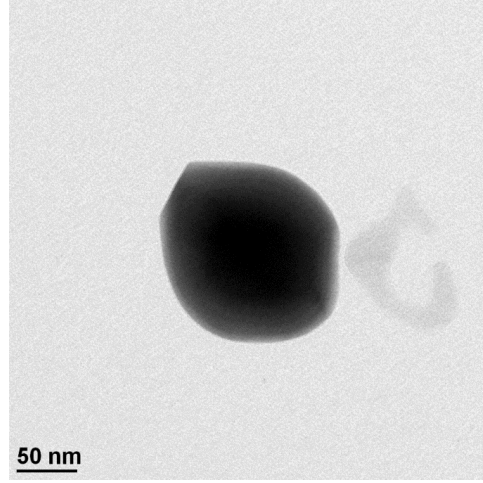
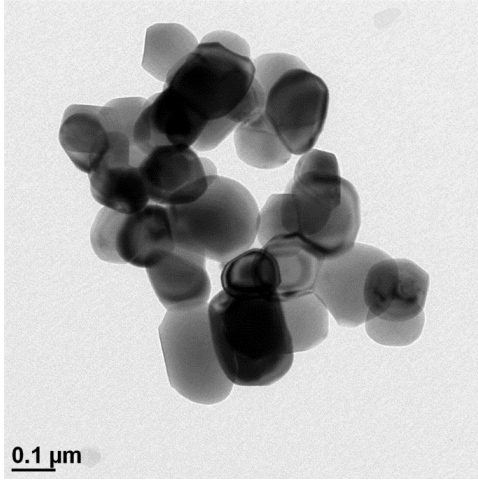
Titanyum dioksit nanoparçacıklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenebilmesi için DLS, TEM, XPS, XRD ve BET yöntemlerinden yararlanılmıştır. Ayrıca toksikolojisi hakkında bilgi edinmek amacıyla MTT canlılık testleri yapılmıştır.

#### 4.1.1 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklarının Boyut, Şekil ve Morfoloji Analizi

Titanyum Dioksit nanoparçacıklarının hidrodinamik ve stabil ortamlardaki boyut analizi için DLS ve TEM yöntemlerinden yararlanılmıştır.

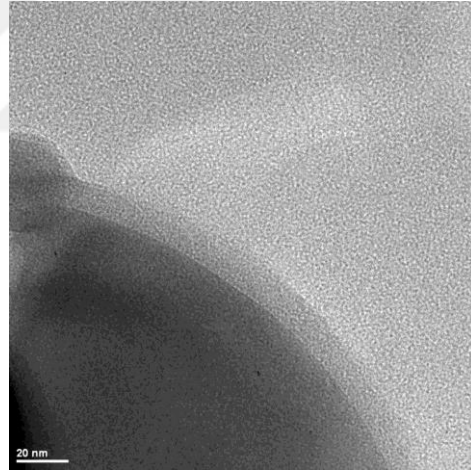
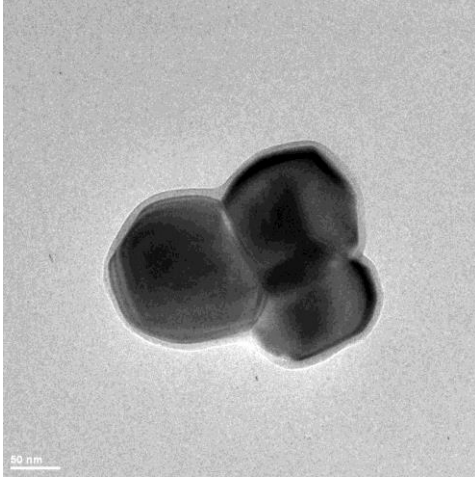
TiO<sub>2</sub> NP'lerinin toksisiteleri incelenirken hücre besiyeri solüsyonu olan DMEM içerisinde çözülerek hücrelere verilmiştir. Bu nedenle, DMEM içerisinde NP'lerinin hidrodinamik yarıçapının incelenmesi önem taşımaktadır. 0.05 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan TiO<sub>2</sub> NP/DMEM örneğinin DLS sonuçlarına göre titanyum dioksit nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı 566,0±18 nm olarak bulunmuştur. DLS ölçümlerinde NP'lerin zamana bağlı hidrodinamik çapının belirlenebilmesi için 1 saat içinde 5 dakika aralıklar ile ölçüm alınmıştır. TiO<sub>2</sub> NP'lerinin ortalama hidrodinamik yarıçapının 566 nm olduğu görülmüştür. Bu sonuçtan NP'ler solüsyon içerisinde bir araya gelerek agregasyona uğradığı çıkarılabilir. Ayrıca, DMEM, glikoz, esansiyel olmayan amino asitler, sodyum piruvat, fenol kırmızısı içeren karmaşık bir tampon çözeltidir. DMEM çözeltisinden bazı bileşenlerin nanoparçacıklara adsorpsiyonu da söz konusu olabilir.

Nanopartiküllerin şekil, morfoloji ve partikül boyutlarını görselleştirmek için TEM yöntemi kullanılmıştır (Şekil 4-1). Yalın haldeki E171 TiO<sub>2</sub>'nin yüzey morfolojisi ve kapsamlı boyut dağılımları TEM ile araştırılmıştır. Minimum ve maksimum partikül büyüklüğü 99,5 ile 237,7 nm arasında değişmektedir ve ortalama partikül büyüklüğü 139 nm olduğu görülmektedir. Buna göre TiO<sub>2</sub> NP'lerinin homojen bir boyut dağılımına sahip olmadığı görülmektedir.



Şekil 4-1 TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının TEM görüntüleri

TiO<sub>2</sub> NP'lerine APTES ile uygulanan yüzey modifikasyonu Şekil 4-2'de de görüldüğü üzere TEM ile doğrulanmıştır. TEM sonuçlarına göre, yüzey modifikasyonu yapılmış TiO<sub>2</sub> NP'lerin homojen yüzey modifikasyonunun  $2 \pm 0,75$  nm kalınlığında elde edildiği gözlenmiştir.

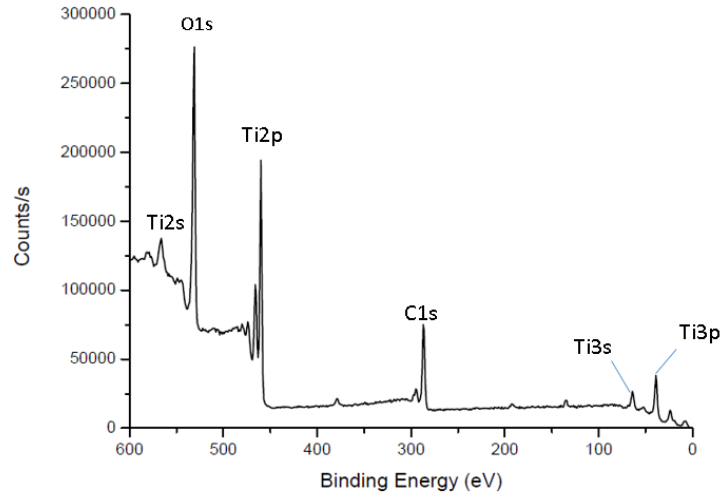


Şekil 4-2 APTES ile kaplanan TiO<sub>2</sub> NP'lerinin TEM görüntüleri

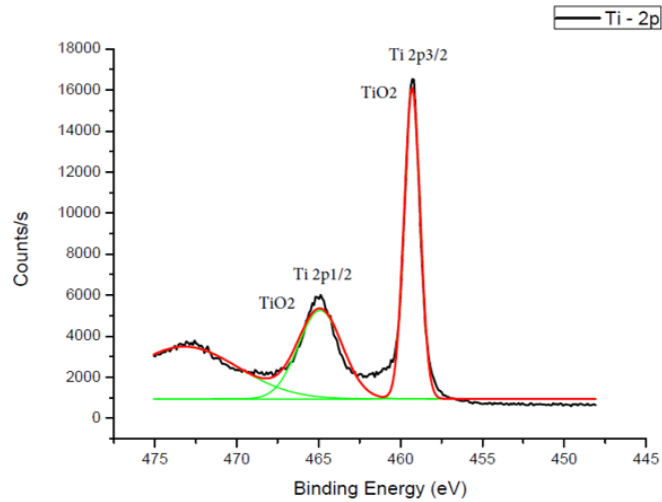
DLS karakterizasyonunda partikül boyutu TEM sonuçlarından daha yüksek bulunmuştur. Çünkü DLS yöntemiyle parçacıklar bir çözelti içinde karakterize edilmiştir ve hidrodinamik çap değerleri elde edilmiştir. NP'lerin bir çözelti içinde dağılması daha büyük kümelerin oluşumuna neden olabilmektedir. Ancak TEM karakterizasyonu ultra yüksek vakum ortamında yapılmaktadır. Buna bağlı olarak, tek bir parçacık için TEM ile parçacık çapı ölçülmektedir ve partükülün orijinal boyut bilgisi TEM ile rahatlıkla elde edilmektedir.

#### 4.1.2 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklarının APTES ile Yüzey Modifikasyonunun Kimyasal Karakterizasyonu

TiO<sub>2</sub> NP'lerine uygulanan APTES modifikasyonunun kimyasal olarak doğrulanması amacıyla XPS yönteminden yararlanılmıştır. Bunun için yalın haldeki ve APTES kaplı TiO<sub>2</sub> NP'leri ayrı ayrı incelenmiştir. Karakteristik titanyum 2p spektrumları 455-470 eV bölgesinde ortaya çıkmıştır. 2p<sub>1/2</sub> ve 2p<sub>3/2</sub>'nin bağlanma enerjileri, sırasıyla 465 ve 458 eV olduğu görülmüştür (Şekil 4-3, Şekil 4-4).

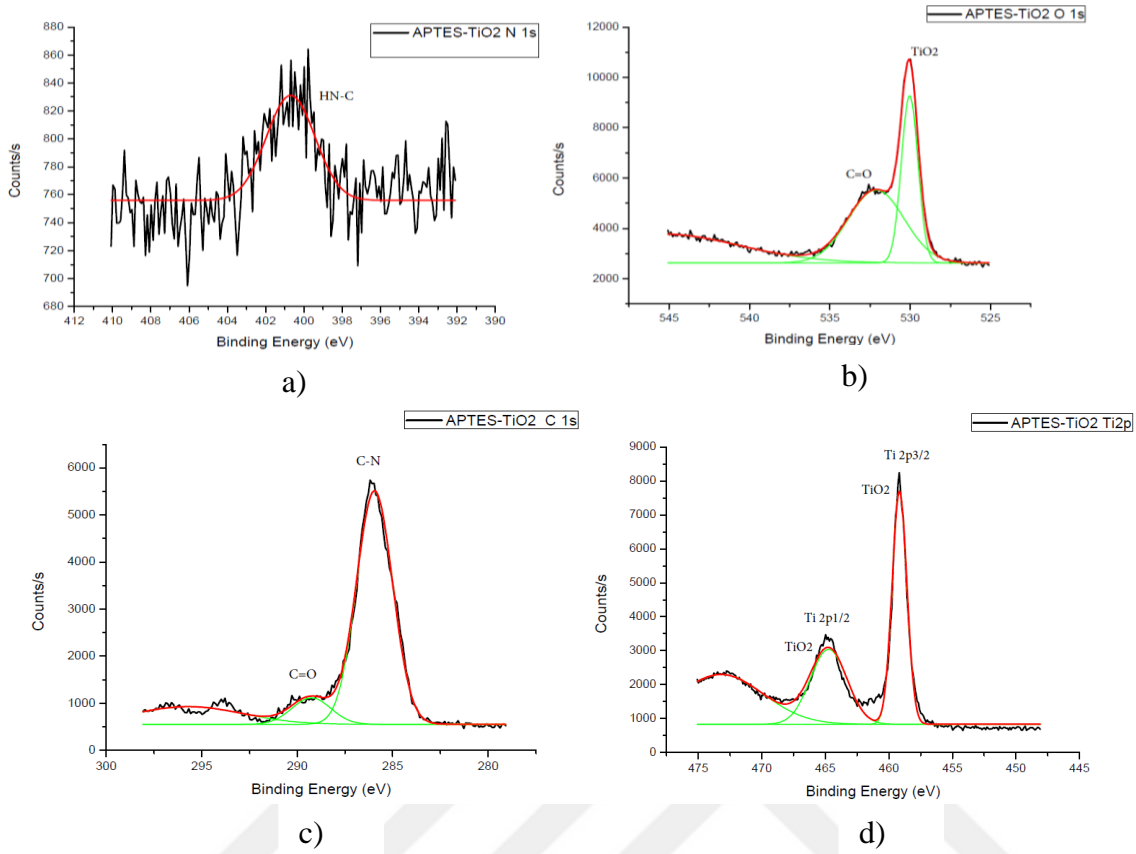


Şekil 4-3 Yalın haldeki TiO<sub>2</sub> NP'lerin yüzey kimyası analizi



Şekil 4-4 Yalın haldeki TiO<sub>2</sub> NP'lerin karakteristik titanyum piki

Titanyum dioksitin APTES ile fonksiyonelleştirilmesi ile yeni bağlar ortaya çıkar. Burada, kritik element azottur (Şekil 4-5).



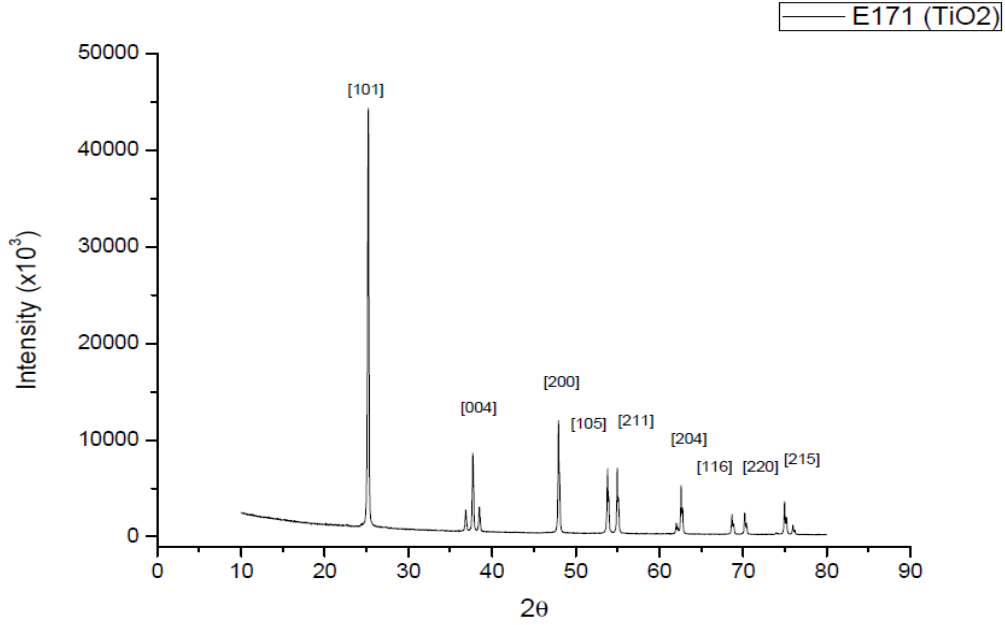
Şekil 4-5 APTES Kaplı TiO<sub>2</sub> Nanoparçacıklarının (a) Karakteristik N1s piki. (b) Karakteristik O1s piki (c) Karakteristik C1s piki (d) Karakteristik Ti2p piki

XPS sonuçlarından görüldüğü gibi, N1s pik değeri 400-401 eV arasında gelir, bağ bu bağlanma enerjisinde HN-C'dir. O 1'lerin yüksek çözünürlüklü taramasında, 532-533 eV arasındaki tepe noktası ve 531 eV'deki tepe noktası sırasıyla C = O ve TiO<sub>2</sub> bağlarına aittir. İlk tepe noktası 289 eV bağlama enerjisi ile C = O içine yerleştirilir ve ikinci tepe noktası 286 eV bağlama enerjisinde C-N bağına bağlanır. C = O bağ tepe noktasının havadan geldiği düşünülmektedir. XPS sonuçlarında görülen azot piki APTES ile modifikasyonun başarılı olduğunu TEM ile paralel bir şekilde doğrulamaktadır.

#### 4.1.3 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklarının Kristal Yapı Özelliklerinin Belirlenmesi

TiO<sub>2</sub> NP'lerin kristal yapı özelliklerini belirlemek için XRD yönteminden yararlanılmıştır. XRD ile elde edilen pikler literatürle karşılaştırıldığında, bu keskin pikler (101), (004), (200), (105), (211), (204), (116), (220) ve (215) TiO<sub>2</sub> nano

partiküllerinin kristal düzlemlerine karşılık geldiği görülmüştür (Şekil 4-6). XRD paterninde tüm kırınım piklerinin, diğer kristal formlarına atıfta bulunan hiçbir karakteristik pik saptanmadığından TiO<sub>2</sub>'nin anataz formunu belirttiği söylenebilir.



Şekil 4-6 TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının XRD pikleri

#### 4.1.4 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklarının Yüzey Alanı ve Gözenek Çapı Analizi

TiO<sub>2</sub> NP'lerinin yüzey alanı ve gözenek çapı BET yöntemi ile belirlenmiştir ve spesifik yüzey alanına göre, TiO<sub>2</sub> (E171) gözenek hacmi ve gözenek çapı Çizelge 4.1'de listelenmiştir. TiO<sub>2</sub> NP'lerinin önemli ölçüde küçük bir yüzey alanına, gözenek hacmine ve gözenek çapına sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1 TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları

	Spesifik Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g)	Por Hacmi (cc/g)	Por Çapı (nm)
TiO <sub>2</sub> (E171)	6,137	0,123	2,968

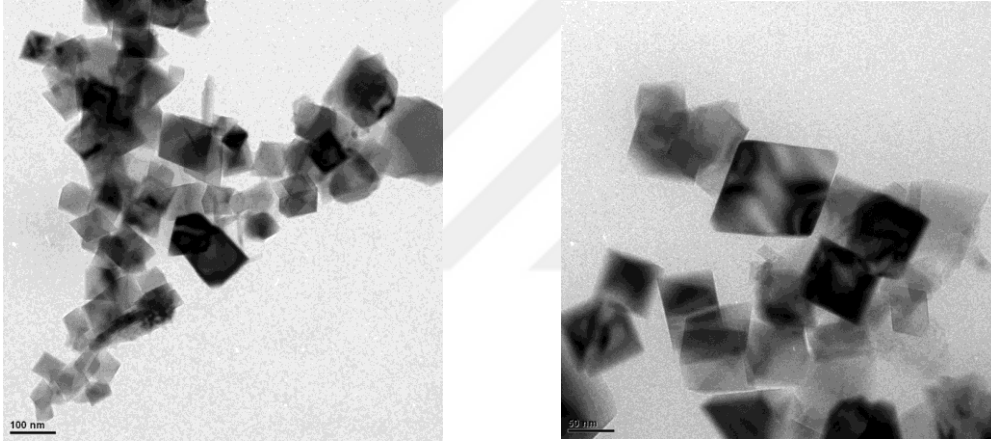
## 4.2.Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit ( $Fe_3O_4$ ) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları

Demir Oksit nanoparçacıklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenebilmesi için TEM, XPS, VSM ve BET yöntemlerinden yararlanılmıştır.

### 4.2.1 Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit $Fe_3O_4$ Nanoparçacıklarının Boyut, Şekil ve Morfoloji Analizi

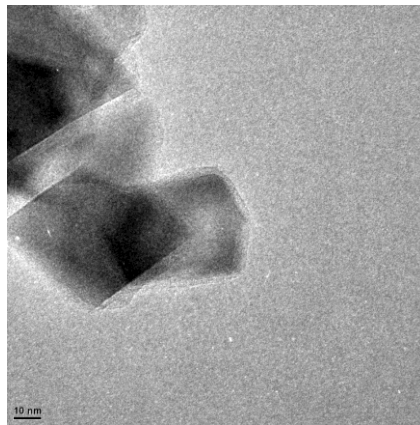
Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit ( $Fe_3O_4$ ) nanoparçacıklarının boyut ve morfoloji analizi TEM yönteminden yararlanılarak yapılmıştır.

Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıkların TEM görüntülerine göre (Şekil 4-7), demir oksit nanoparçacıkların geniş parçacık boyutu dağılımına sahip çoklu dağılmış çok yönlü morfolojiye sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 4-7 Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıkların TEM görüntüleri

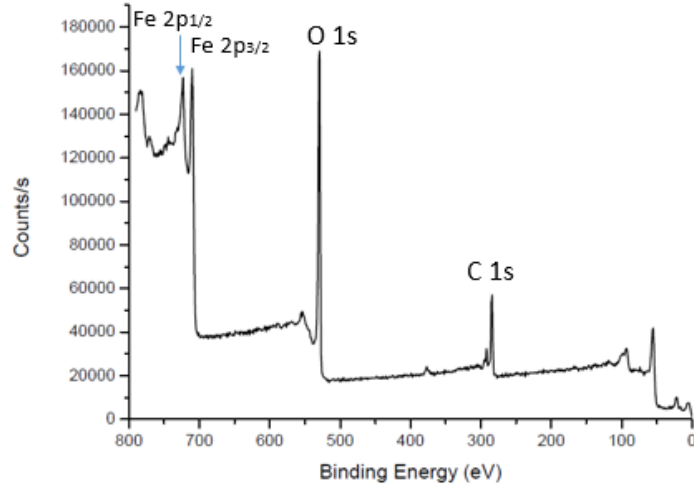
Demir oksit nanoparçacıkların 1-2 nm kalınlığındaki APTES tabakası ile modifikasyonu ise Şekil 4-8’de görüldüğü üzere TEM ile doğrulanmıştır.



Şekil 4-8 APTES modifikasyonu yapılmış demir oksit nanoparçacıkların TEM görüntüleri

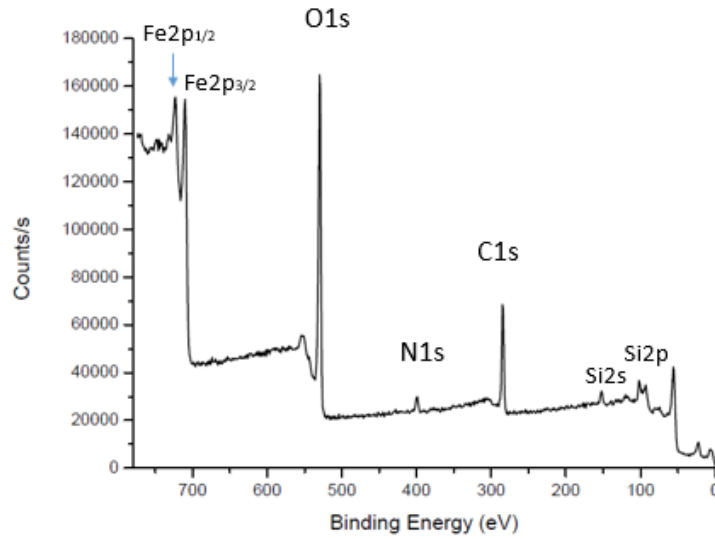
#### 4.2.2 Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının APTES ile Yüzey Modifikasyonunun Kimyasal Karakterizasyonu

Düzensiz şekle sahip  $Fe_3O_4$  NP lerine uygulanan APTES modifikasyonunun kimyasal olarak doğrulanması amacıyla XPS yönteminden yararlanılmıştır. Bunun için yalın haldeki (Şekil 4-9) ve APTES kaplı  $Fe_3O_4$  NP'leri ayrı ayrı incelenmiştir.



Şekil 4-9 Yalın haldeki  $Fe_3O_4$  NP'lerin yüzey kimyası analizi

$Fe_3O_4$  NP'lerin APTES ile yüzey modifikasyonu sonucunda, 400 eV'de azot (N1) sinyalinin ortaya çıkmıştır (Şekil 4-10). Silikon ile ilgili pikler, sırasıyla Si 2s ve Si 2p için 153 ve 103 eV'de görülmüştür. Kısacası, XPS  $Fe_3O_4$  NP'lerin yüzeyinin amin (-NH<sub>2</sub>) gruplarıyla başarılı bir şekilde işlevselleştiğini göstermiştir.

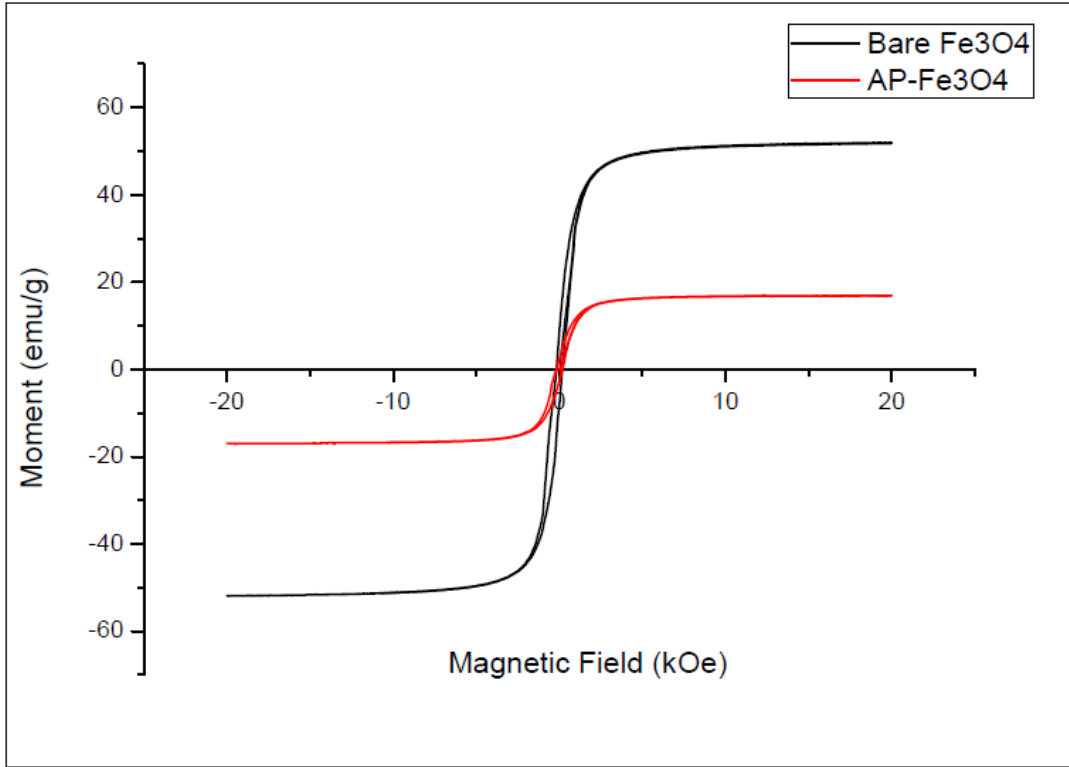


Şekil 4-10 APTES kaplı  $Fe_3O_4$  NP'lerin yüzey kimyası analizi



### 4.2.3 Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Manyetik Özelliklerinin İncelenmesi

Düzensiz şekle ve boyuta sahip  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'lerin manyetik özellikleri VSM yöntemi ile incelenmiştir. Şekil 4-11 de verilen manyetizasyon histeresiz eğrisine bakıldığında hem yalın haldeki hemde APTES ile modifikasyonu yapılmış  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'lerin manyetizasyon özellikleri kolaylıkla incelenebilmektedir.



Şekil 4-11 Yalın haldeki ve APTES kaplı düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının manyetizasyon eğrisi

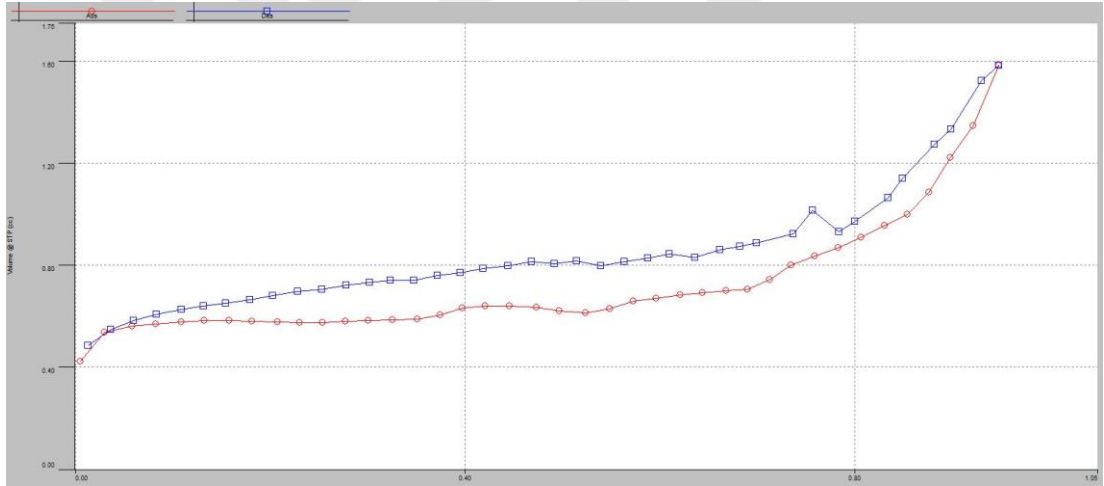
İki nanoparçacığın manyetizasyon eğrisi incelendiğinde ihmal edilebilir histerezis olduğu gözlemlenmiştir. Bu eğriler tipik süperparamanyetik nanoparçacığın manyetik özelliği göstermektedir. Ancak yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarının mıknatıslanma kuvvetinin, APTES kaplı olana göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçtan kaplamanın mıknatıslanma özelliğini etkilediği çıkarımı yapılabilir.

#### 4.2.4 Düzensiz Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Yüzeysel Alanı ve Gözenek Çapı Analizi

Düzensiz şekil ve boyuta sahip demir oksit nanoparçacıklarının yüzeysel alanı ve gözenek çapı analizi BET yöntemi kullanılarak yapılmıştır. BET spesifik yüzeysel alanı analizine göre Yalın haldeki düzensiz şekil ve boyuta sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının gözenek hacmi ve gözenek çapı Çizelge 4.2’te listelenmiş, adsorpsiyon grafiği ise Şekil 4-12’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Yalın haldeki  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları

	Spesifik Yüzeysel Alanı ( $m^2/g$ )	Toplam Por Hacmi ( $cc/g$ )	Por Çapı (nm)
<b><math>Fe_3O_4</math></b>	10.526	0.254	0.98

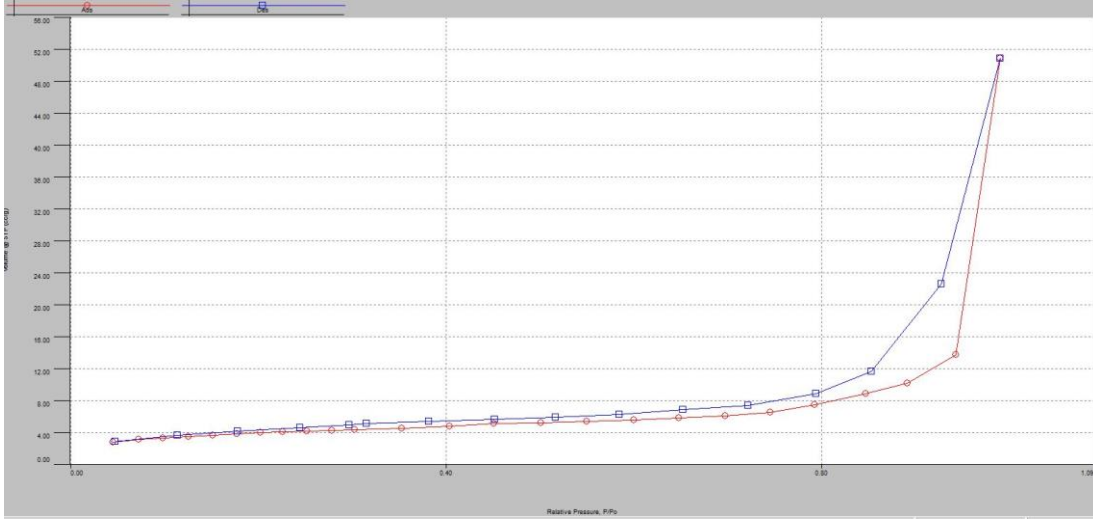


Şekil 4-12 Yalın haldeki  $Fe_3O_4$  NP’lerin adsorpsiyon grafiği

BET spesifik yüzeysel alanı analizine göre APTES kaplı düzensiz şekil ve boyuta sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının gözenek hacmi ve gözenek çapı Çizelge 4.3’te listelenmiştir. BET spesifik yüzeysel alanı analizine göre APTES kaplı düzensiz şekil ve boyuta sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının adsorpsiyon grafiği Şekil 4-13’te verilmiştir.

Çizelge 4.3 APTES kaplı  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının BET analiz sonuçları

	Spesifik Yüzeysel Alanı ( $m^2/g$ )	Por Hacmi ( $cc/g$ )	Por Çapı (nm)
<b>AP-<math>Fe_3O_4</math></b>	14.454	0.409	0.81



Şekil 4-13 APTES kaplı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin adsorpsiyon grafiği

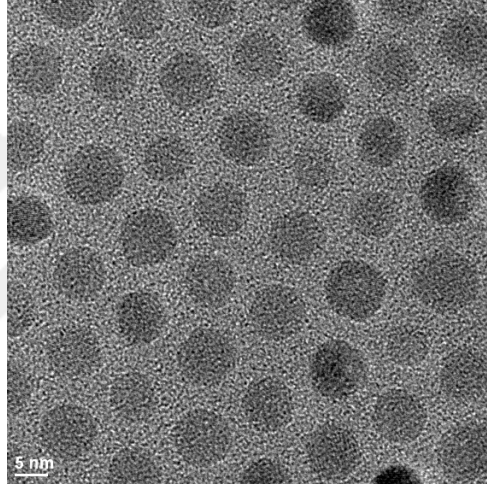
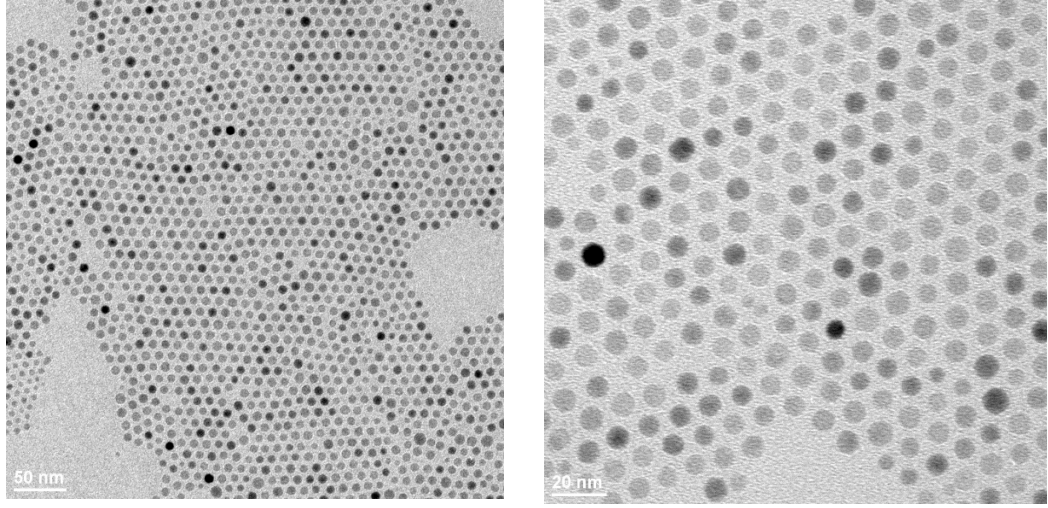
### 4.3. Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanoparçacıklarının Karakterizasyon Sonuçları

Küresel Şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla DLS, Zeta Potansiyel ölçümü, TEM, XPS, XRD ve VSM karakterizasyonları yapılmıştır. Ayrıca *in vitro* hücre deneyleri ve *in vivo* basit canlı deneyleri hücre canlılık ve ROS analizleri yapılmıştır.

#### 4.3.1 Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanoparçacıklarının Boyut ve Morfoloji Analizi

Nanoparçacıkların şekil ve morfolojik özelliklerini belirlemek, boyut dağılımı hakkında bilgi sahibi olmak için TEM yönteminden yararlanılmıştır.

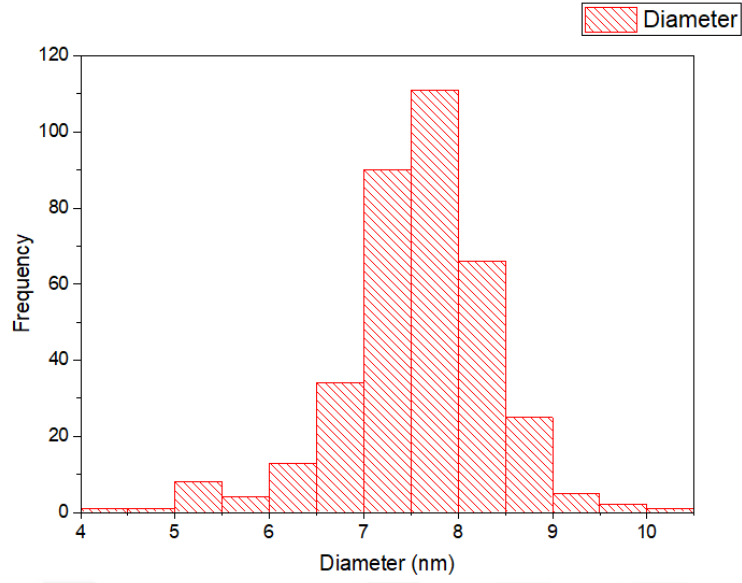
Yalın haldeki küresel şekle sahip NP'lerin TEM görüntüleri Şekil 4-14'te gösterilmektedir. Ayrıca verilen Şekil 4-15'ten de görüldüğü gibi, partikül boyutu 4.4 ve 10.1 nm değişmektedir ve ortalama partikül boyutu 7.5 nm civarında olduğu görülmektedir. TEM görüntüsü de baz alınarak tek bir nanoparçacık için boyut dağılımının ortalama  $7.5 \pm 0.78$  nm çapında elde edildiği görülmektedir.



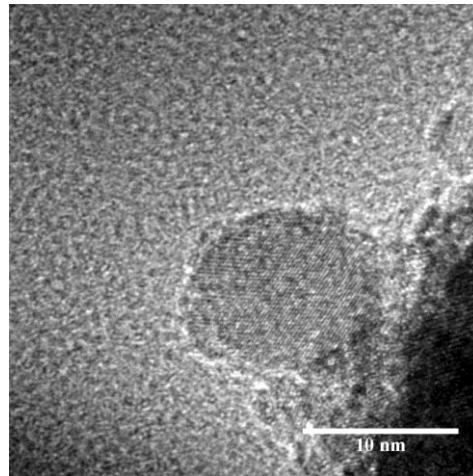
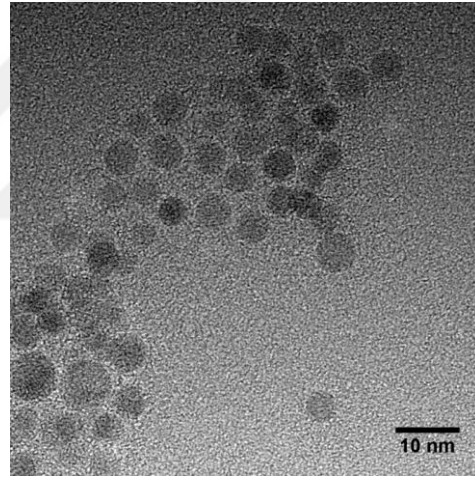
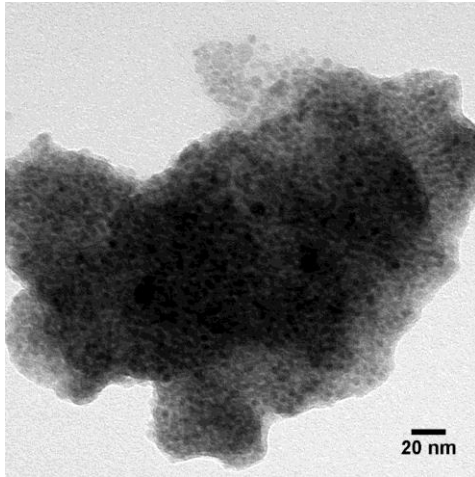
Şekil 4-14 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının TEM görüntüsü

APTES kaplı küresel şekle sahip  $Fe_3O_4$  NP'lerin TEM görüntüsünde (Şekil 4-16) ise, APTES'in bir polimer tabakası olarak NP'lerin etrafını sardığı görülmektedir. Aynı zamanda da tek bir NP etrafındaki 1-2 nm kalınlığındaki ince tabaka da NP yüzeyinin başarıyla APTES kaplandığının göstergesidir.

Küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip  $Fe_3O_4$  NP'lerin hidrodinamik çapını belirlemek için ise 200  $\mu g/ml$  konsantrasyonunda PBS çözeltisi hazırlanarak DLS ölçümü yapılmıştır. NP'lerin hidrodinamik yarıçapı 860 nm olarak ölçülmüştür. TEM analizi ile karşılaştırıldığında, partiküllerin çözeltide büyük agregatlar oluşturduğu açıktır. Zeta Potansiyel ölçümü ile de teyit edildiği gibi dispersiyon kalitesi düşüktür, nanoparçacıklar çözelti içerisinde stabil değildir.



Şekil 4-15 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının boyut dağılım grafiği



Şekil 4-16 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının TEM görüntüsü

### 4.3.2 Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Yüzey Yükünün Belirlenmesi

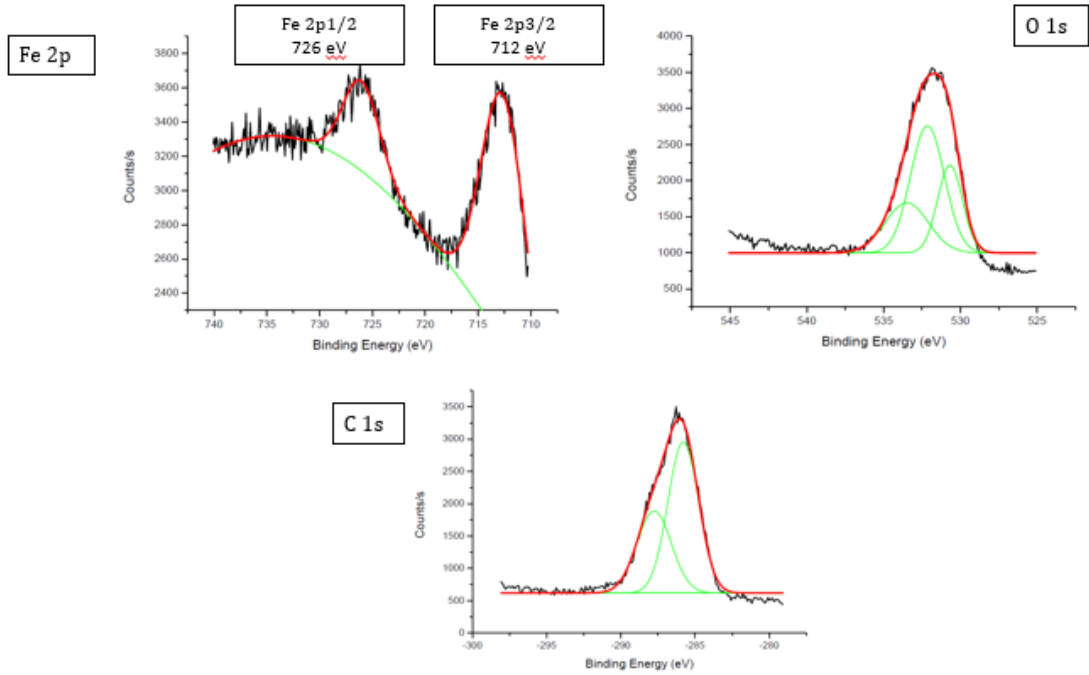
Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının Zeta potansiyeli  $-10,4$  mV bulunmuştur.  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının negatif yüzey gruplarına (-OH) sahip olduğu ve partiküllerin çöğünün çözeltide kararsız olduğu şeklinde yorumlanabilir.

APTES kaplı nanoparçacıkların ise belirli bir Zeta potansiyel değeri bulunamamıştır. Bu nanoparçacıklar için stabil ve kararlı bir çözelti elde edilememiştir. Ancak hem DLS hem de Zeta potansiyel ölçümleri farklı pH değerleri için tekrarlanacaktır

### 4.3.3 Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının APTES ile Yüzey Modifikasyonunun Kimyasal Karakterizasyonu

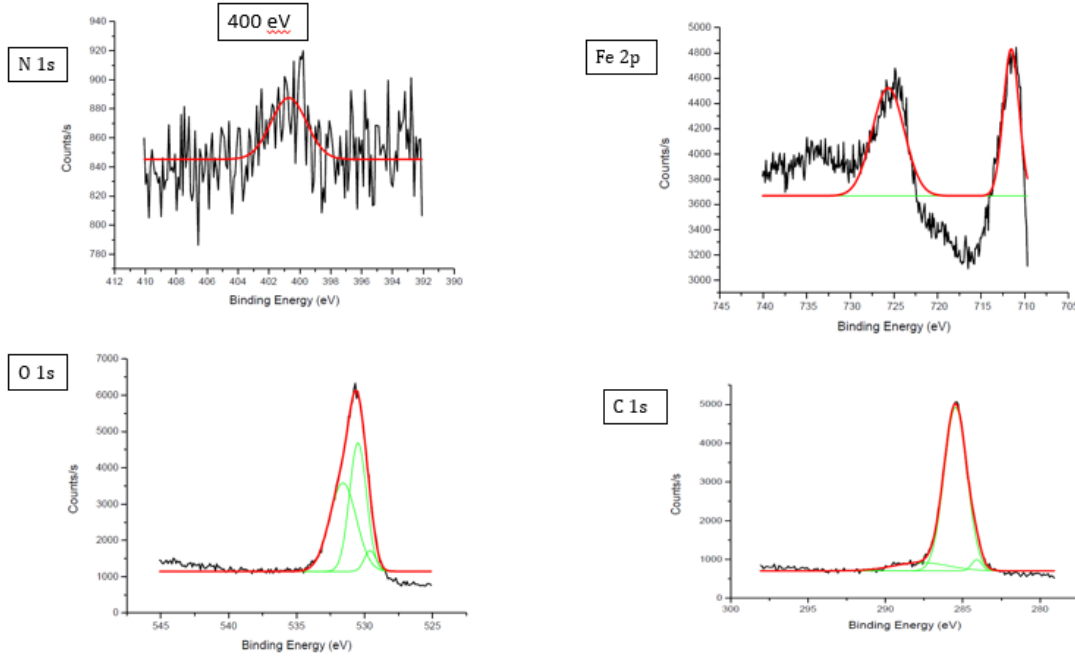
Yüzey kaplamalarının kimyasal yapısı ve dolayısıyla yüzey modifikasyonlarının başarısı XPS analizi ile belirlenmiştir. Hem yalın haldeki hem de APTES kaplı küresel  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların XPS sonuçları aşağıda verilmiştir.

XPS analizine göre, yalın haldeki küresel  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları için Şekil 4-17 ye göre Fe2p pikleri dikkate alındığında,  $726.28$  ve  $712.92$  eV'deki Fe2p<sub>1/2</sub> ve Fe2p<sub>3/2</sub>'nin bağlanma enerjileri  $Fe_2O_3$  yerine  $Fe_3O_4$  ile tamamen uyumludur.



Şekil 4-17 Yalın haldeki küresel  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının Fe2p, O1s ve C1s XPS pikleri

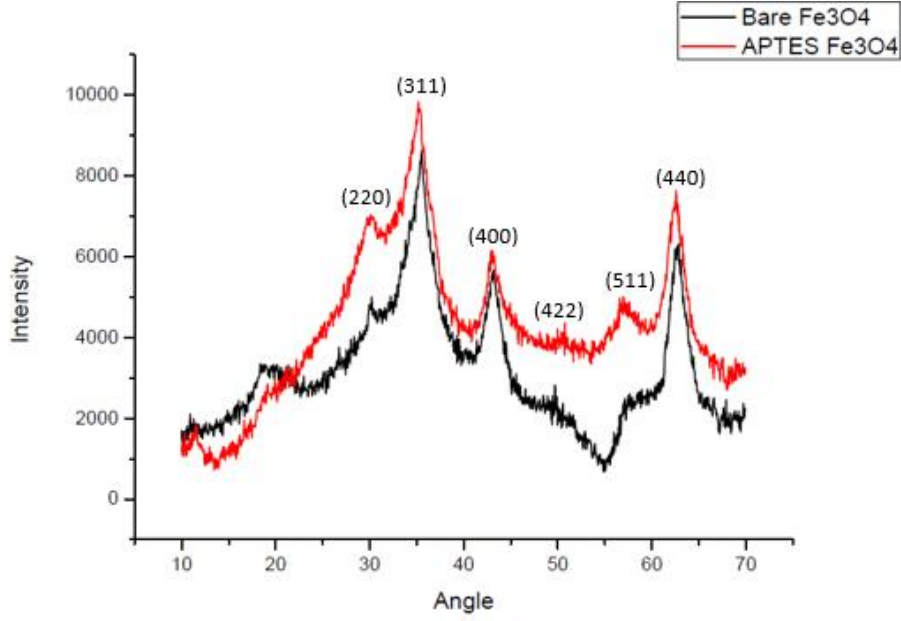
Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin APTES ile yüzey modifikasyonu, 400.70 eV'de azot (N1) sinyalinin ortaya çıkmasına neden olmuştur ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin yüzeyinin amin gruplarıyla başarılı bir şekilde işlevselleştiğini göstermiştir (Şekil 4-18). Ek olarak, APTES yapısı içerisinde var olan silikon sinyalleri de ortaya çıkmıştır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin APTES ile başarılı bir şekilde işlevselleştirildiği hem TEM görüntüleri hem de XPS pikleri ile doğrulanmıştır. Sonuçların birbiri içinde tutarlı olduğu görülmüştür.



Şekil 4-18 APTES kaplı küresel Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının N1s, Fe2p, O1s ve C1s XPS pikleri

#### 4.3.4 Küresel Şekle ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Kristal Yapı Analizi

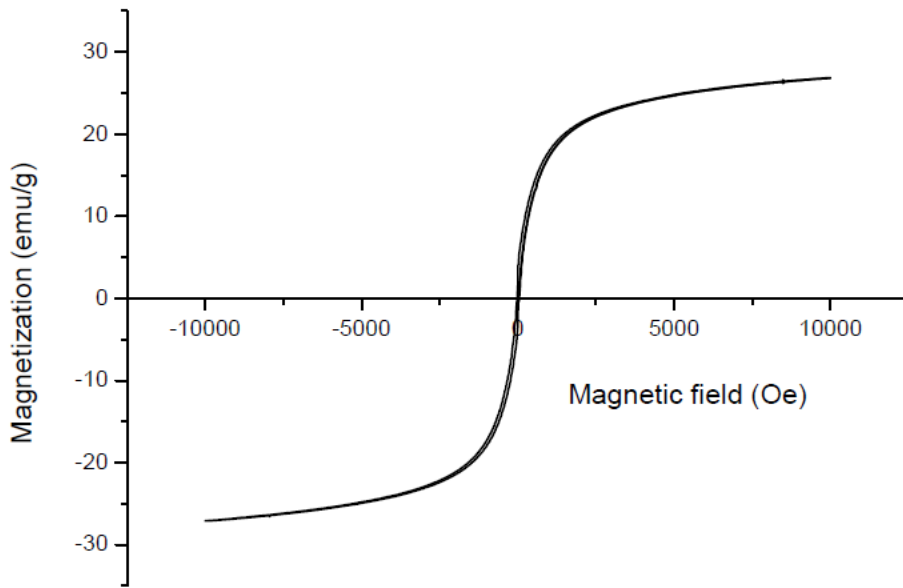
Hem yalın haldeki hem de APTES kaplı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri ile yapılan XRD analizinin sonucuna göre, amorf ve kristal fazlarının birlikte var olduğu görülmektedir. Keskin tepeler iki tip NP içinde (220), (311), (400), (422), (511) ve (440) kristal düzlemlerine karşılık gelmektedir (Şekil 4-19). Nanoparçacıkların aşırı küçük boyuta (yaklaşık 7.5 nm) sahip olmaları belirgin pik genişlemesine ve yarı kristal patern göstermelerine neden olmuştur. Ayrıca demir oksit nanoparçacıklarına APTES ile yapılan yüzey modifikasyonu sonucunda, parçacıkların kristal yapısını koruduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4-19 Yalın haldeki ve APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının XRD pikleri

#### 4.3.5 Küresel Şekil ve Boyuta Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Manyetik Özelliklerinin Araştırılması

$Fe_3O_4$  NP'lerin manyetik özellikleri VSM ile araştırılmıştır. Nanopartiküllerin manyetik alanına (M – H eğrisi) mıknatıslanma bağımlılığı oda sıcaklığında (298K) ölçülmüştür (Şekil 4-20). Mıknatıslanma eğrisine göre histerezis olmadığı, ihmal edilebilir koersivite ve kalıcı mıknatıslanma gözlemlenmiştir. Bu eğri tipik süperparamanyetik nanoparçacığın manyetik özelliği göstermektedir.



Şekil 4-20 Yalın haldeki küresel demir oksit nanoparçacıklarının manyetizasyon eğrisi



#### 4.3.6 Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Küresel Demir Oksit Nanoparçacıklarının *In Vitro* Sitotoksosite ve Oksidatif Stres Deney Sonuçları

Çalışma kapsamında CaCo-2 hücre hatlarında yapılan küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip küresel demir oksit nanoparçacıklarının yalın ve APTES kaplı formlarının uygulamasının 24. saatte hücre canlılığı üzerine etkisi gereç ve yöntem bölümünde verilen basamaklar uygulanarak MTT testleri ile belirlenmiştir.

Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattına uygulanmıştır. Uygulama sonunda MTT testine göre hücre canlılığına etkisinin belirtildiği % Canlılık sonuçları Çizelge 4-3'te ve Şekil 4-21'de verilmiştir.

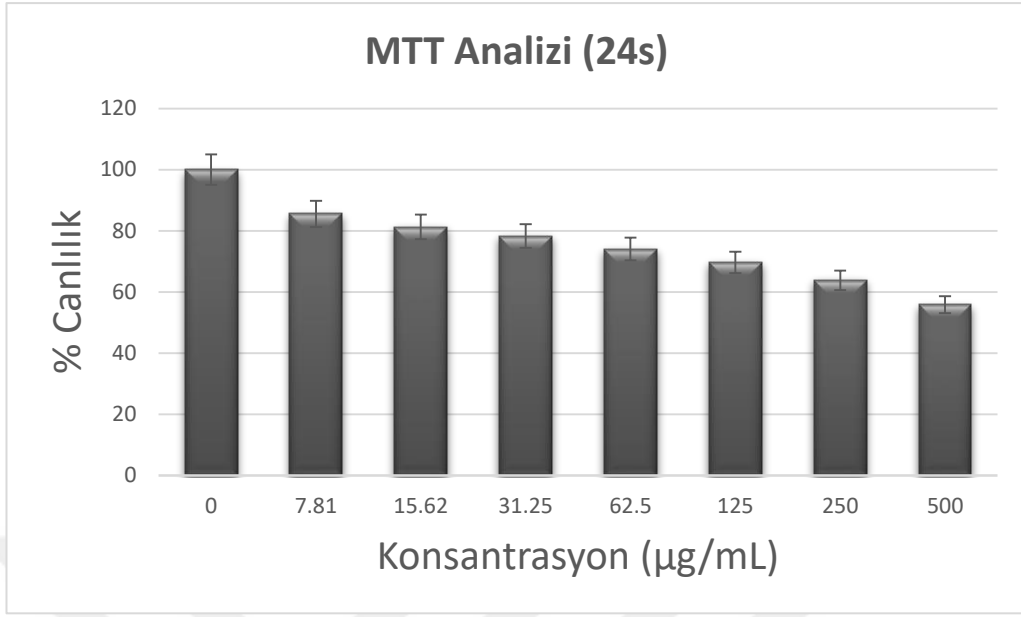
Hücre canlılığının en fazla 7,81 µg/mL nanoparçacık konsantrasyonunda 85,52±2,07 olduğu görülmüştür.

APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattına uygulanmıştır. Uygulama sonunda MTT testine göre hücre canlılığına etkisinin belirtildiği % Canlılık sonuçları Çizelge 4-6'da ve Şekil 4-22'de verilmiştir.

Hücre canlılığının en fazla 7,81 µg/mL nanoparçacık konsantrasyonunda 59,64±2,59 olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki canlılık sonuçları (p<0,05)

Uygulanan Doz (µg/ml)	% Canlılık
0	100
7,81	85,52±2,07
15,62	81,27±1,23
31,25	78,29±2,26
62,5	74,05±3,19
125	69,65±1,95
250	63,82±2,61
500	55,83±2,24

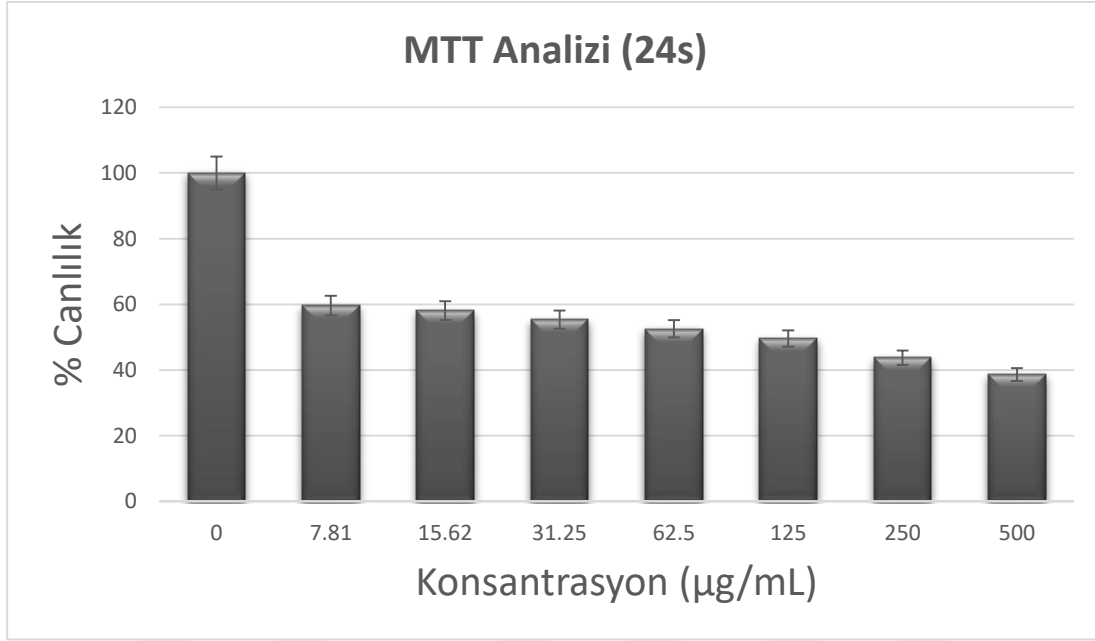


Şekil 4-21 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki MTT analiz sonuçları

Çizelge 4.5 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki canlılık sonuçları (p<0,05)

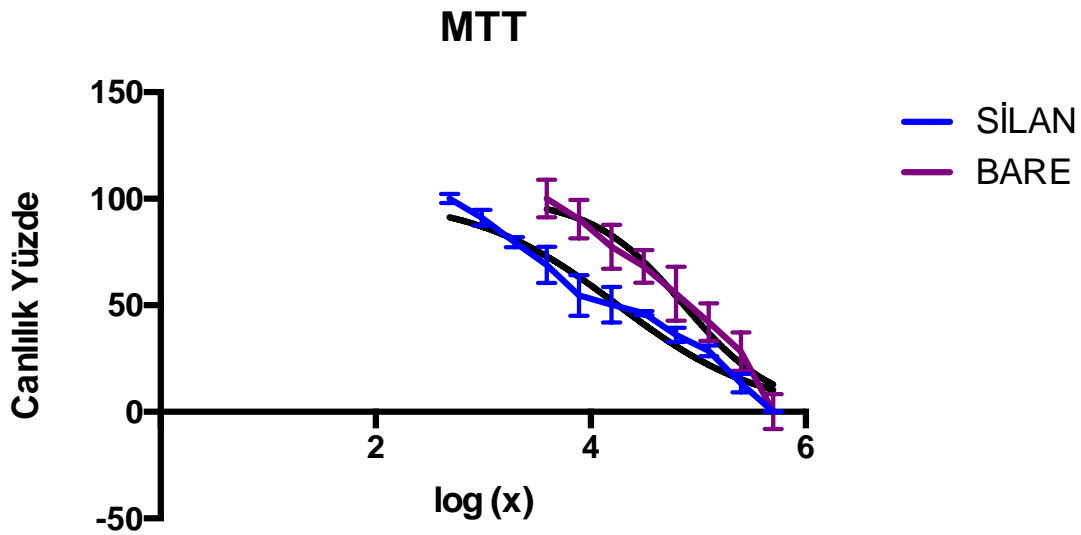
Uygulanan Doz (µg/ml)	% Canlılık
0	100
7,81	59,64±2,59
15,62	57,98±2,28
31,25	55,86±0,26
62,5	52,55±0,93
125	49,62±0,68
250	43,74±1,24
500	38,64±0,08

İki nanoparçacık tipi için de GRAPHPAD/Prism8 istatistik programı kullanılarak IC50 hesaplanmıştır. Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları için IC50 değeri 73,91 µg/ml bulunmuştur.



Şekil 4-22 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları 7,81-500 µg/ml doz aralığında 24 saat CaCo-2 hücre hattındaki MTT analiz sonuçları

APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları için ise IC50 17,93 µg/ml bulunmuştur. İki nanoparçacık türü için karşılaştırılmalı grafik Şekil 4-23'te verilmiştir.



Şekil 4-23 Yalın haldeki ve APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının MTT analizine göre karşılaştırılmalı canlılık sonuçları (x=Uygulama Dozu, mg/mL, p<0,05)

Sonuçlar incelendiğinde APTES kaplı küresel demir oksit nanoparçacıklarının, yalın haldeki nanoparçacıklara göre hücre canlılığına daha çok etki ettiği ve daha sitotoksik özellikte olduğu görülmüştür.

İki nanoparçacık türünün hücrede neden olduğu lipid peroksidasyon oranını belirlemek amacı ile MTT sonuçlarına göre hesaplanan IC50 dozunu takiben hücrelerin ölümünün en az olduğu doz ve aynı zamanda sitotoksik etkisinin görülebileceği doz aralığında olduğu düşünüldüğü için IC50/1 ve IC50/4 dozları ile oksidatif stres analizi için TBA testi uygulanmıştır. Yalın haldeki ve APTES kaplı küresel demir oksit nanoparçacıkları için uygulanan Oksidatif stres deney sonuçları çizelge 4-6 ve çizelge 4-7 de verilmiştir.

Çizelge 4.6 Yalın haldeki küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının TBA testi analiz sonuçları ( $p < 0,05$ )

Uygulanan Doz ( $\mu\text{g/ml}$ )	MDA/Toplam Protein
Kontrol	59,00 $\pm$ 0,54
IC50/2	61,02 $\pm$ 1,11
IC50/4	58,22 $\pm$ 2,20

Çizelge 4.7 APTES kaplı küresel şekil ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının TBA testi analiz sonuçları ( $p < 0,05$ )

Uygulanan Doz ( $\mu\text{g/ml}$ )	MDA/Toplam Protein
Kontrol	59,00 $\pm$ 0,54
IC50/2	73,99 $\pm$ 1,15
IC50/4	58,82 $\pm$ 0,43

TBA testi analizine göre hem yalın haldeki hem de APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının IC50/2 konsantrasyonunda neden olduğu oksidatif stresin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak MTT analizinde olduğu gibi APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklar, yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarına göre daha fazla oksidatif stres oluşumuna yol açmışlardır. Her iki nanoparçacık için IC50/4 konsantrasyonunda oksidatif hasar oluşturmadığı ifade

edilebilir. Oksidatif stres analizi ile MTT test sonuçlarının birbiri içinde tutarlı olduğu görülmüştür.

#### 4.3.7 Küresel Şekle ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Demir Oksit Nanoparçacıklarının Sedimentasyon Özelliklerinin İncelenmesi

*In vivo* deneylerinde basit canlılarla toksisite incelemesi yapılan küresel demir oksit nanoparçacıklarının, canlı ortamındaki sedimentasyon davranışlarını, özelliklerini NP-kum etkileşimini incelemek amacıyla SEM karakterizasyonu yapılmıştır.

Küresel Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri, kum numunelerinin yüzey morfolojisi değişikliklerini incelemek için 50, 100 ve 1000 mg / kg (NP/kum) konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

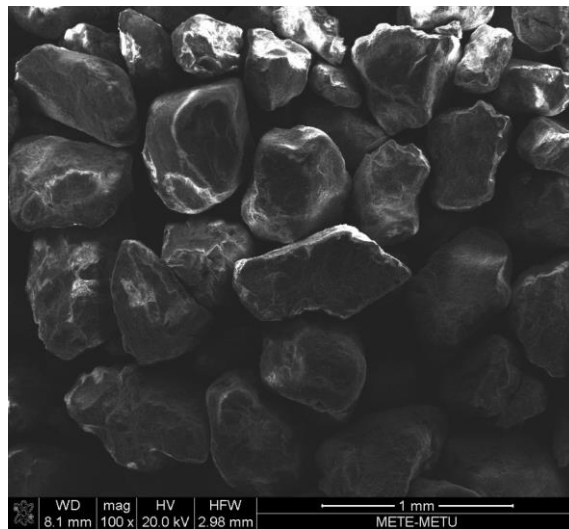
Örnekler aşağıdaki adımlar takip edilerek hazırlanmıştır:

- 5, 10 ve 100 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları, yukarıda verilen konsantrasyonları elde etmek için hacimsel şişede sırasıyla 100 g kaba ve ince kum ile karıştırıldı.
- Ardından, balon joje saf su ve musluk suyu ile doldurulmuştur (50:50).
- Çözeltiler 4 saat karıştırıldıktan sonra içerisindeki su buharlaştırılarak SEM örnekleri elde edilmiştir.
- Nanoparçacıklar, kimyasal yapılarına (EDX yoluyla), morfolojilerine ve parlaklıklarına göre takip edilmiştir.

##### 4.3.7.1 Kaba Kum-NP Etkileşimi

###### 4.3.7.1.1 Yalın Haldeki Kumun SEM İncelemesi

1 mm'lik ölçek çubuğuna sahip nanoparçacık içermeyen kum numunesinin SEM görüntüsü aşağıda verilmiştir.

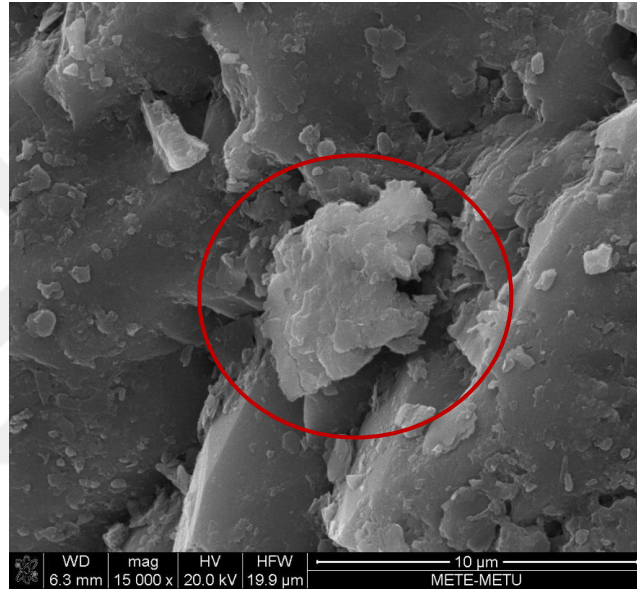


Şekil 4-24 Yalın haldeki kaba kumun SEM görüntüsü

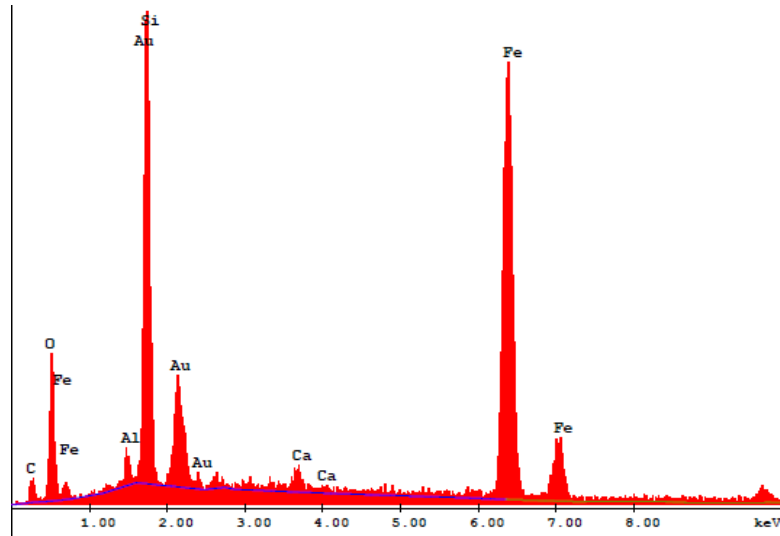
SEM görüntüsüne göre ortalama parçacık çapının  $0,573 \pm 0,175$  mm olduğu görülmüştür. Maksimum ve minimum kum tanesi çapı sırasıyla 1.044 ve 0.332 mm bulunmuştur (Şekil 4-24).

#### 4.3.7.1.2 50 mg/kg konsantrasyonunda $Fe_3O_4$ NP/ Kum Örneğinin SEM İncelemesi

Bu konsantrasyonda  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarını tanımlamak oldukça çok zor olmuştur. Ancak aşağıdaki EDX yardımıyla NP yerleri tespit edilebilmiştir. NP'lerin kümeler halinde kum tanecikleri ile etkileşime girdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4-25 ve Şekil 4-26).



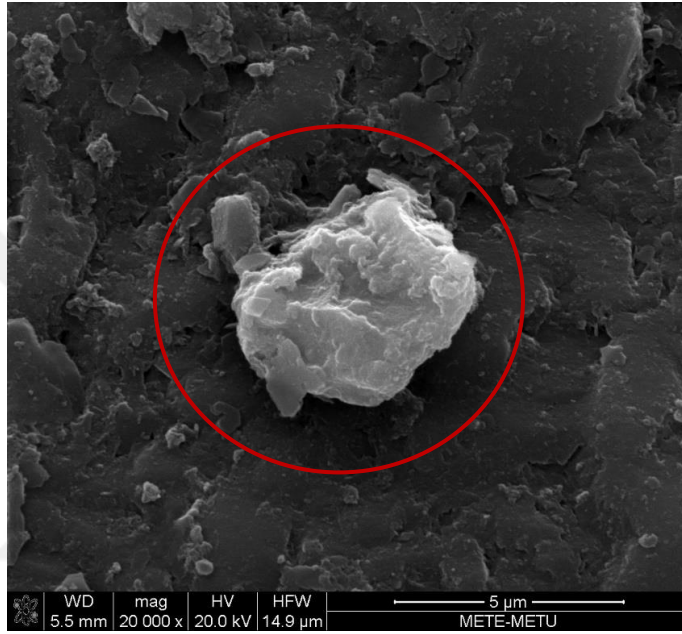
Şekil 4-25. 50 mg/kg konsantrasyonunda  $Fe_3O_4$  NP/ Kaba kum örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır)



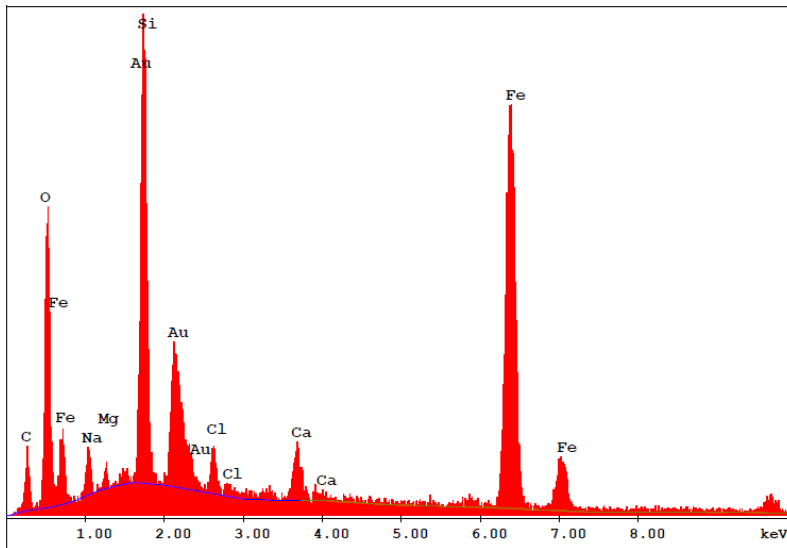
Şekil 4-26.50 mg/kg konsantrasyonunda  $Fe_3O_4$  NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi

#### 4.3.7.1.3 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kum Örneğinin SEM İncelenmesi

Bu konsantrasyondaki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin kum ile etkileşiminin SEM görüntüsü Şekil 4-27'de verilmiştir. Farklı bölgelerden alınan görüntülere göre Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP agregasının ortalama parçacık boyutu  $10,515 \pm 9,831 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Minimum ve maksimum partikül büyüklüğü sırasıyla 4,344 ve 25,175  $\mu\text{m}$  bulunmuştur (Şekil 4-27). Nanopartiküllerin varlığı ise EDX analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 4-28).



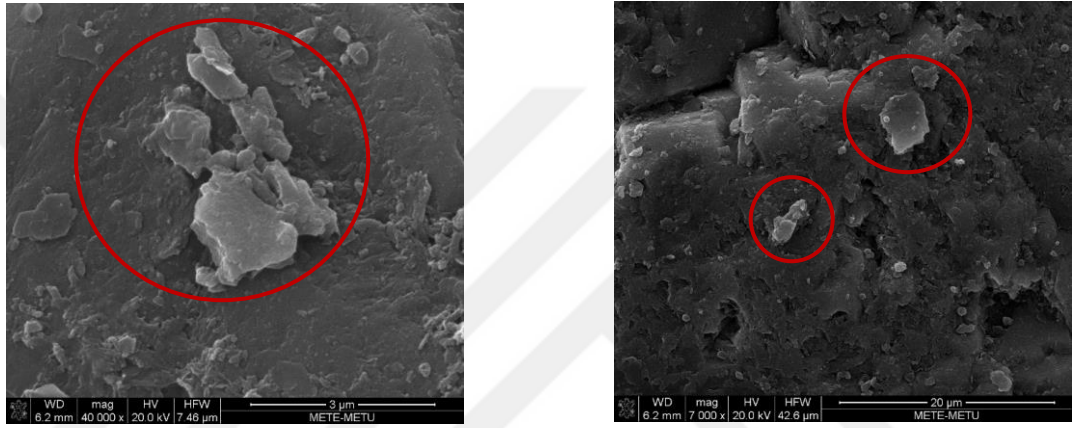
Şekil 4-27. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır)



Şekil 4-28. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi

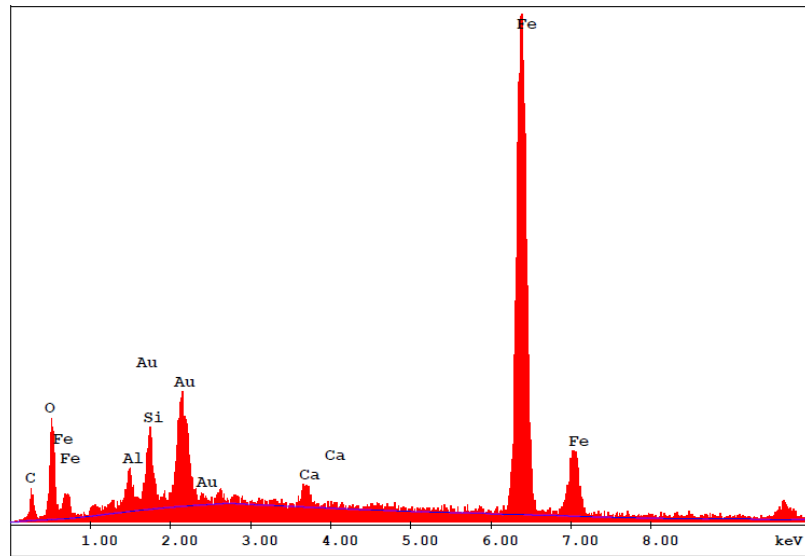
#### 4.3.7.1.4 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/Kum Örneğinin SEM İncelemesi

Bu konsantrasyonda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarını incelemek çok daha kolay gerçekleşmiştir. Bu konsantrasyondaki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının SEM görüntüsü Şekil 4-29'da verilmiştir. Farklı bölgelerdeki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının ortalama partikül büyüklüğü  $3,712 \pm 4,364 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Minimum ve maksimum partikül büyüklüğü sırasıyla 0,649 ve 13,491  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Bu konsantrasyon için boyut dağılımının çok geniş olduğu görülmüştür.



Şekil 4-29. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır)

EDX sonuçları incelendiğinde ise, NP konsantrasyonu arttığında, NP'nin tuz yerine kumla daha fazla etkileşime girmeyi tercih ettiği sonucuna varılmaktadır (Şekil 4-30).



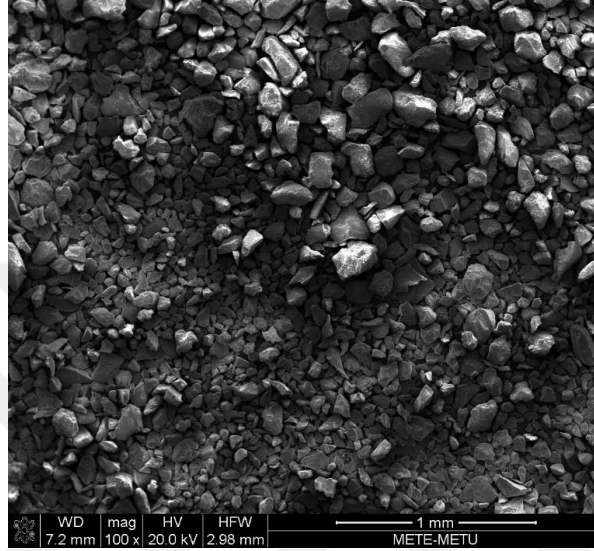
Şekil 4-30. 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kaba Kum Örneğinin EDX Analizi



### 4.3.7.2 İnce Kum-NP etkileşimi

#### 4.3.7.2.1 Yalın Haldeki Kumun SEM İncelemesi

1 mm ölçek çubuğuna sahip nanoparçacıkların SEM görüntüsü olmayan ince kum örneği Şekil 4-31’de verilmiştir.



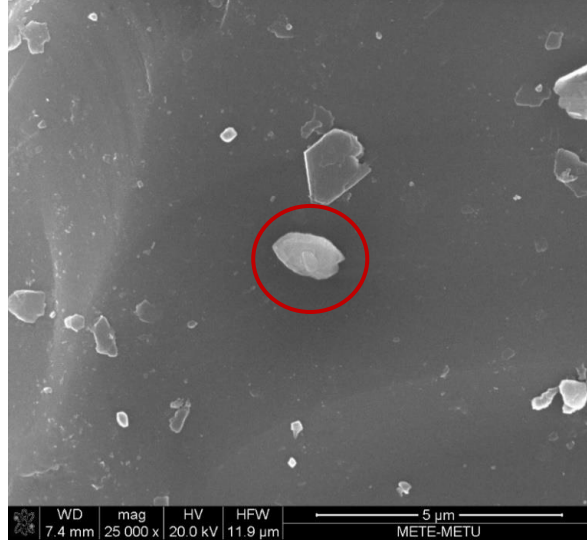
Şekil 4-31 Yalın haldeki ince kumun SEM görüntüsü

SEM görüntüsüne göre ortalama parçacık çapı  $0,152 \pm 0,046$  mm olduğu görülmektedir. Maksimum ve minimum parçacık boyutları sırasıyla 0,243 ve 0,065 mm bulunmuştur. Kaba kum ile karşılaştırıldığında kum taneleri arasındaki boyut farkı göze çarpmaktadır.

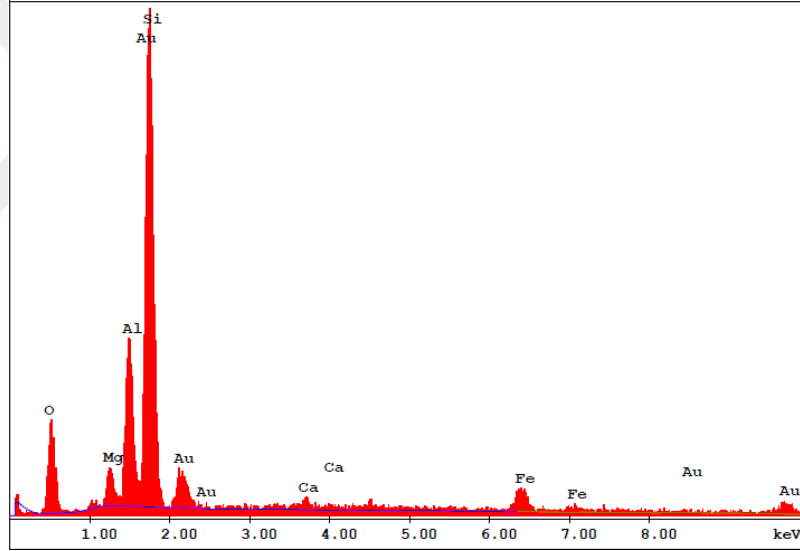
#### 4.3.7.2.2 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/Kum Örneğinin SEM İncelemesi

Kaba taneli kumla benzer şekilde bu konsantrasyonda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarına rastlamak çok zor olmuştur. Bununla birlikte, çok nadir Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP agregatları Şekil 4-32 (SEM) ve Şekil 4-33’te (EDX) gösterildiği gibi EDX yardımıyla yakalanmıştır.

Farklı bölgelerdeki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacık kümelerinin ortalama parçacık büyüklüğü  $1,36 \pm 0,295$  µm bulunmuştur. Maksimum ve minimum partikül büyüklüğü sırasıyla 1,44 ve 0,851 µm bulunmuştur. İnce kum örneğinde de EDX ile doğrulandığı üzere NP’lerin çoğunlukla Ca tuzu partikülleri ile etkileşime girdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4-32. 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanopartikül kırmızı halka içine alınmıştır)

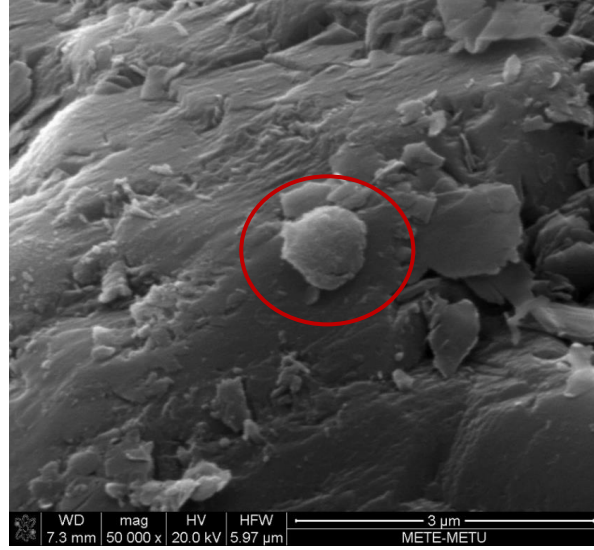


Şekil 4-33. 50 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin EDX analizi

#### 4.3.7.2.3 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/Kum Örneğinin SEM İncelemesi

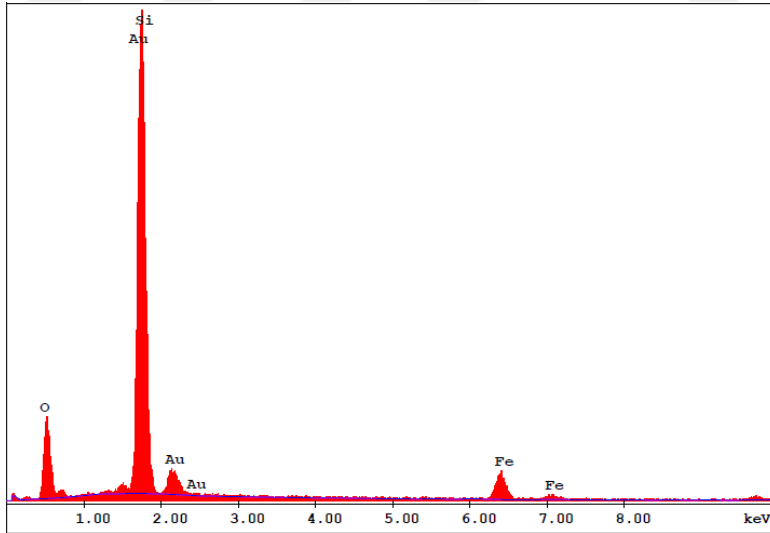
Bu konsantrasyondaki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının SEM görüntüsü Şekil 4-34'te verilmiştir.

Farklı bölgelerdeki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP agregatlarının ortalama parçacık büyüklüğü  $0,835 \pm 0,016 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Maksimum ve minimum partikül büyüklüğü sırasıyla 0.855 ve 0.822  $\mu\text{m}$  bulunmuştur.



Şekil 4-34. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanoparçacık kırmızı halka içine alınmıştır)

Nanopartiküllerin varlığı yine EDX analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 4-35). Bu konsantrasyonda da NPlerin kum içeriğindeki tuzla etkileştiği görülmüştür. Bununla birlikte, genellikle kum taneleri ve nanoparçacık arasındaki etkileşim baskın olduğu gözlemlenmiştir.

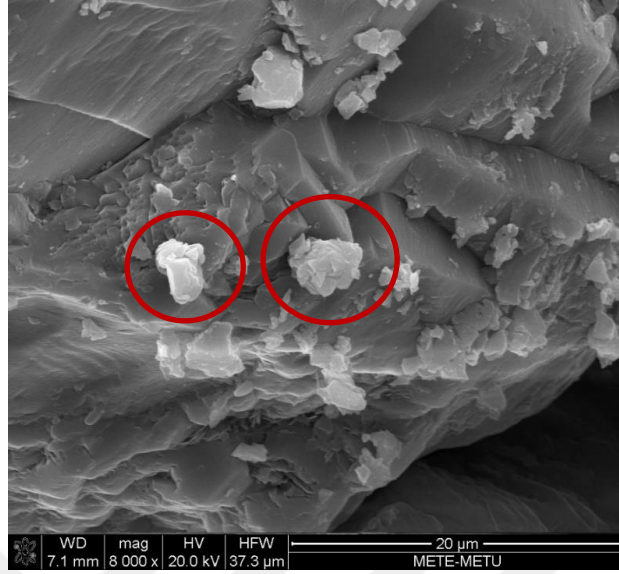


Şekil 4-35. 100 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ İnce Kum Örneğinin EDX analizi

#### 4.3.7.2.4 1000 mg/kg konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP/ Kum Örneğinin SEM İncelenmesi

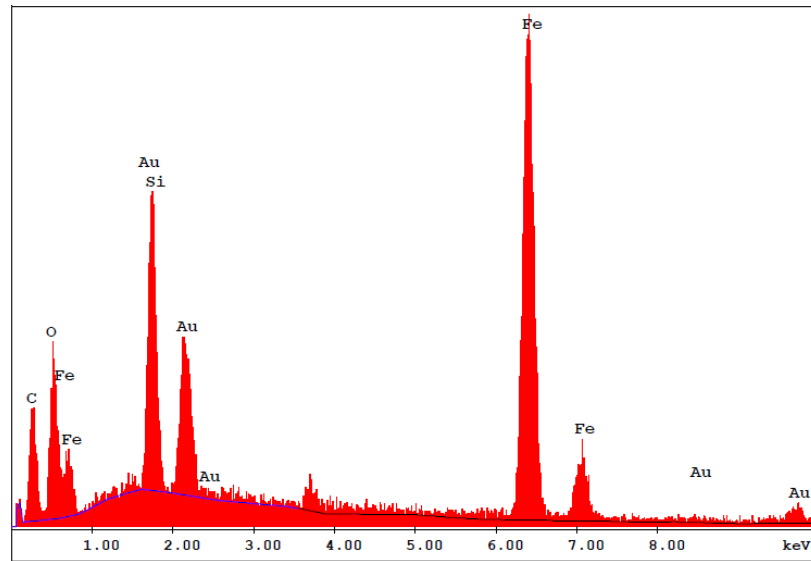
Bu konsantrasyonda, diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları ile karşılaşmak diğer konsantrasyonlarda hazırlanan sedimentlere

kıyasla oldukça kolay olmuştur.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklarının SEM görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4-36).



Şekil 4-36. 1000 mg/kg konsantrasyonunda  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP/ İnce Kum Örneğinin SEM görüntüsü (Nanoparçacık kırmızı halka içine alınmıştır)

Farklı bölgelerdeki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklarının ortalama partikül büyüklüğü  $3,052 \pm 1,058 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Minimum ve maksimum partikül büyüklüğü sırasıyla 1,161 ve 4,463  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Bu konsantrasyon için agregat boyutları düşük konsantrasyonlardan daha büyüktür. Kaba kumda olduğu gibi EDX sonucuna göre (Şekil 4-37) NP konsantrasyonu arttığında NP'nin tuz yerine kumla daha fazla etkileşime girmeyi tercih ettiği sonucuna varılmaktadır.



Şekil 4-37. 1000 mg/kg konsantrasyonunda  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP/ İnce Kum Örneğinin EDX Analizi

Sonuç olarak, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları çoğunlukla çeşitli boyutlarda agregatlar halinde kum taneleri ile etkileşime girmiştir. Düşük Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP konsantrasyonları için, nanopartiküller çoğunlukla her iki kum numunesi (kaba ve ince kum) için Ca tuzlarının yakınında bulunmaktadır. Çok yüksek NP konsantrasyonu için (1000 mg/kg), nanoparçacıklar çoğunlukla kum tanecikleri ile etkileşime girdiği görülmüştür.

#### 4.3.8 Küresel Şekil ve Homojen Boyut Dağılımına Sahip Küresel Demir Oksit Nanoparçacıklarının *In Vivo* Ekotoksisite Deney Sonuçları

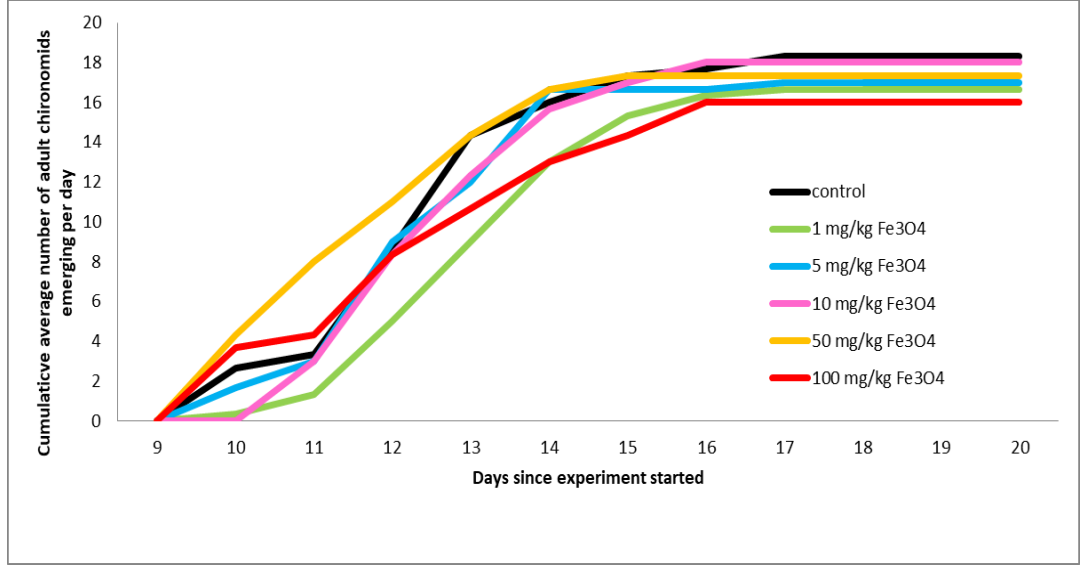
##### 4.3.8.1 Yaşam Özelliği Analizi

Tatarcıklar, deney kaplarına girişinden itibaren 10. günde ortaya çıkmaya başlamıştır, son tatarcık ise 17. günde not edilmiştir. Yaşam özelliği toksisite analizi, kontrol grubunda en yüksek sayıda tatarcıkların (ortalama 18,3 tatarcık) ortalama 12,68 gün içinde ortaya çıktığını göstermiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarına maruz kalan *C. riparius*'ta yaşam döngüsü parametreleri: Ortaya çıkış oranı (ER); Ölüm oranı (M); Gelişim süresi (DT); Gelişim oranı (DR).

Verilen Konsantrasyon (mgNP/kg sediment)	Verilen Konsantrasyon					
	Kontrol	1	5	10	50	100
ER ± SP (%)	91.6±7.64	83.3 ± 17.5	85 ± 13.2	90 ± 13.2	86.6 ± 7.64	80 ± 8.7
M ± SP (%)	8.3±7.64	16.6 ± 17.5	15 ± 13.2	10 ± 13.2	13.3 ± 7.64	20 ± 8.7
DT ± SP (gün)	12.68±0.87	13.46±0.66	12.48 ± 0.86	12.81 ± 1.07	11.89 ± 1.04	12.67 ± 1.72
DR ± SP (%)	8.35±10.6	7.8 ± 0.46	8.45 ± 0.60	8.21 ± 0.69	8.92 ± 0.76	8.41 ± 1.14

Ortaya çıkma başarısı, günde ortaya çıkan tatarcıkların ortalama %7,8 ile %8,92 arasında değişen gelişme hızı ile ortalama %80 ile %91,6 arasında değişmektedir. Tatarcıkların kümülatif olarak günlük ortaya çıkış grafiği ise şekil 4-38'de verilmiştir.



Şekil 4-38 *C. riparius*'un ortalama kümülatif günlük oluşumu

#### 4.3.8.2 Genotoksisite Analizi

Larvaların hayatta kalması OECD yönergelerinin sınırları dahilinde ortalama% 84 ile % 93 arasında değişmiştir. Farklı konsantrasyonlarda demir oksit ile maruziyet sonrası genotoksik etkiler Çizelge 4-9' da sunulmaktadır.

Çizelge 4.9 Yalın haldeki küresel demir oksit nanoparçacıklarının *C. riparius* dördüncü dönem larvalarında genotoksik etkisi

Konsantrasyon (mg/kg)	Comet class					Toplam Jel Elektroforez Skoru <sup>a</sup>
	0	1	2	3	4	
<b>Negatif kontrol</b>	87.9 ± 0.42	12.1 ± 0.5	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	12.1 ± 0.54 <sup>†</sup>
<b>Pozitif kontrol</b>	62.2 ± 0.24	22.3 ± 0.81	7.1 ± 0.24	5.1 ± 0.8	3.3 ± 1.2	65.0 ± 0.5 <sup>*</sup>
<b>1</b>	86.8 ± 0.34	13.2 ± 0.22	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	13.2 ± 0.30 <sup>†</sup>
<b>5</b>	85.7 ± 0.72	14.3 ± 0.91	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	14.3 ± 0.8 <sup>†</sup>
<b>10</b>	85.2 ± 0.8	11.1 ± 0.20	3.7 ± 0.64	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	18.5 ± 0.82 <sup>†</sup>
<b>50</b>	64.4 ± 0.74	21.4 ± 0.23	7.1 ± 0.81	7.1 ± 0.51	0.00 ± 0.00	56.9 ± 0.94 <sup>*</sup>
<b>100</b>	68.8 ± 0.26	12.5 ± 0.84	12.5 ± 0.93	6.3 ± 0.80	6.3 ± 0.13	<b>81.6 ± 0.24<sup>**†</sup></b>

<sup>a</sup> Değerler, üç bağımsız deneyden ortalama ± SP'yi temsil etmektedir.

\* negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p < 0.05

† pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p < 0.05

1, 5 ve 10 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NP /kg sediment konsantrasyonları, negatif kontroldekilere benzer toplam jel elektroforez skoru göstermiştir, bu da demir oksit nanoparçacıklarının daha düşük konsantrasyonlarda genotoksik bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir. En yüksek iki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NP konsantrasyonu (50 ve 100 mg / kg) genotoksik etki göstermiştir, çünkü toplam jel elektroforez skoru, negatif kontrolden daha yüksek çıkmıştır (p>0.05). 50 mg/kg konsantrasyonu, pozitif kontrolüne benzer şekilde hasarlı hücrelerin frekansındaki artışı tetiklerken, 100 mg/kg'lık konsantrasyon uygulandıktan sonra DNA hasarındaki artışın, pozitif kontrolün 1,3 katı ve negatif kontrolün 6,7 katı olduğu görülmüştür.



## 5. ÖN ÇALIŞMALAR ve PLANLANAN ÇALIŞMALAR

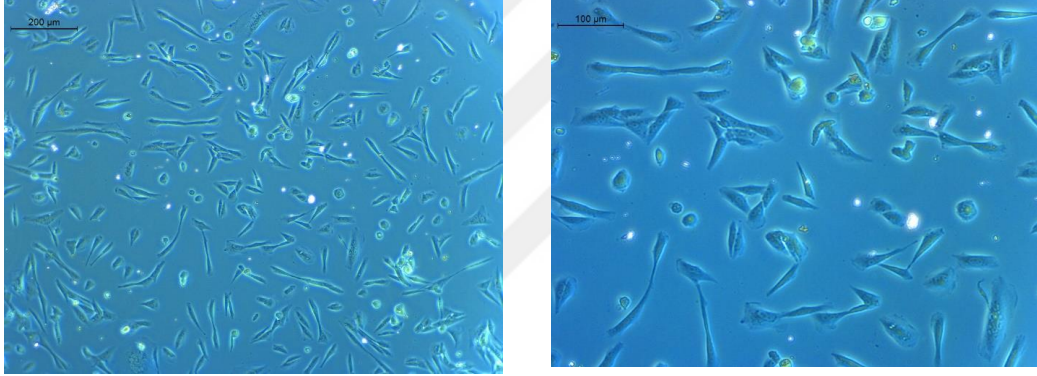
Bu çalışmada nanopartiküllerin *in vitro* ve *in vivo* toksisitelerinin incelenmesine paralel olarak, parçacık-hücre etkileşim gücü, parçacık difüzyon katsayısı ve parçacık hücre içine alım yollarını ölçmek için Yüzey Plazmon Rezonans spektroskopisi (SPR) kullanılması amaçlanmıştır. Yüzey plazmon polaritonları nüfuz ettikleri dielektrik materyaldeki kırılma indeksinin değişimine karşı çok hassastır. Bir prizma kuplaj konfigürasyonu (Kretschmann) kullanılması planlanmaktadır. Bir cam prizmanın tabanına kritik bir açıdan ( $\theta_c$ ) daha büyük bir açıyla yönlendirilen bir lazer ışını olduğunda, ışık arabirimde tamamen dahili olarak yansır (TIR). Elektrik alanı, altın metaldeki ( $\sim 50\text{nm}$ ) serbest elektronların yük yoğunluğu dalgalanmaları ile çiftleşir ve bir yüzey plazmonunu uyarır. Bu anda metalin dışına genliği azalan bir dalga üretilir ve bu metalin genliği yüzeyden üstel olarak bozunur. Farklı penetrasyon derinliği, sistemin kendi özelliğidir ve basitçe, örneğin, lazer dalga boyunu ayarlayarak (10 nm'den birkaç mikrometreye kadar) kontrol edilebilir. Genliği azalan dalga, substrat-dielektrik arayüze paralel yayılır. Bu yüzey mükemmel ara yüzey hassasiyeti ve seçicilik sağlar. Metal filmin üzerine ilave bir dielektrik katman ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ / hücre zarı) eklenirse, gelen ışığı sızdıran kılavuz modları yüzey plazmonları ile uyarma özelliğine sahiptir. Hem P hem de S-polarize ışık tarafından uyarılan yüzey plazmon rezonansı (sadece P-polarizasyonu) ve dalga kılavuzu modları ani bir düşüş yansıması olarak gözlemlenir. Bu yeni geometri, yüzey plazmon dalga kılavuzu rezonans (SPWR) spektroskopisi olarak adlandırılır. SPWR, hücre zarı içerisindeki refraktif indeks değişikliklerine dayandığından, hücre ile NP arasında mevcut olan refraktif indeks değişiminin çok yüksek bir duyarlılıkla saptanması amaçlanmaktadır. NP'lerin hücre zarıyla etkileşimi hem P hem de S-polarizasyonları için pozitif spektrum kaymalarına yol açarak kütle değişikliğine işaret eder ve membran içindeki organizasyon, NP teması üzerine oluşur. Böylece, hücre zarlarındaki NP'lerin alımına bağlı olarak SPWR'nin refraktif indeksindeki küçük değişiklikler, dalga kılavuzu koşullarında büyük kaymalara neden olabilir. NP ve membran arasındaki afinite sabitleri bir yana, SPWR, etkileşimlerini takiben NP ve membran yeniden organizasyonu hakkında da



bilgi sağlamaktadır. Dalga kılavuzu modlarının açılma konumu (rezonans kayması) NPların alım deneyleri sırasında yerinde izlenebilir. Bu, protein konformasyonu, yoğunluğu ve topaklanmadaki değişiklikleri izlemek için kullanılabilir. Bu tekniğin diğer bir avantajı, hücrede meydana gelen işlemleri, geleneksel spektroskopik analizle ayırt edilemeyen, üst yüzeyde oluşan işlemleri ayırt edebilme yeteneğidir.

Buradan yola çıkarak, öncelik altın substrat üzerine Çin Hamster Ovary (CHO K1) hücrelerinin bağlanması incelenmiştir. Altın yüzey hücrelerin tutunmasını sağlamak için hücre besiyi ile yıkanmıştır. Bundan sonra hücreler enjekte edilmiştir ve Şekil 5-1 de gösterilen altın yüzeye tutundurulması için %5 CO<sub>2</sub> ile 48 saat boyunca 37 ° C'de inkübe edilmiştir.

İşlemden sonra hücrelerin altın yüzeyine bağlanması başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5-1 Altın yüzey üzerine tutundurulan CHO K1 hücreleri

Hücrelerin altın yüzeye tutundurulmasından sonra SPR çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlara göre, hücreler yüzeye tutunsa da cihazın çalışma koşulları (Oda sıcaklığı, nem, sterilizasyon) hücrelerin yaşayabileceği uygun ortamı sağlamadığı için hücrelerin canlılığının devamı ölçümler sırasında sağlanamamıştır. Bu nedenle alınan SPR pikleri anlamsız sonuçlar vermişlerdir.

Bu çalışmalara ek olarak cihazın çalışma koşullarında yaşama olasılığı yüksek olan, oda sıcaklığında üreyebilen ve canlılığını devam ettirebilen özel besiyeri işe sağlıklı alabalık Miks Gonaol (RTG2) hücreleri ile altın yüzey üzerine hücreleri tutundurma çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda da hücrelerin yüzeye tutundurulması başarıyla gerçekleştirilmiştir ancak altın yüzey üzerindeki hücre yoğunluğunun arttırılmasına ihtiyaç duyulmuştur.

İlerleyen çalışmalarda cihazın çalışma koşullarında üreme ve canlılığını sürdürebilme yeteneğine sahip balık hücrelerinin altın yüzey üzerine daha yoğun olacak şekilde tutundurulurarak, SPR çalışmaları devam edecektir.





## 6. SONUÇ ve DEĞERLENDİRME

Nanoteknolojinin hızla gelişerek birçok uygulama alanında yararlanılan bilim haline gelmesiyle birlikte, özellikle nanoteknoloji yardımıyla üretilen parçacıklar yani nanoparçacıklar akademik ve endüstriyel alanda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Nanoparçacıkların kullanımının yoğunlaşması nedeniyle çevreye salınımı ve beraberinde canlı sistemlerin nanoparçacıklara maruz kalma oranı artmıştır. Bu nedenle laboratuvar ortamında sentezlenen mühendislik nanoparçacıklarının veya doğada hali hazırda nanoparçacıkların canlı sistemler ile etkileşimlerinin incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu tez kapsamında ticari olarak satın alınan, kozmetik ürünlerinde veya güneş koruma kremlerinde sıklıkla kullanılan titanyum dioksit (E171) nanoparçacıklarına 3-amino propil trietoksi silan (APTES) grubu bağlanarak 2 nanoparçağın da fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Yalın haldeki ve APTES kaplı titanyum dioksit nanoparçacıkları DLS, TEM, XPS, XRD ve BET analiz yöntemleri kullanılarak hidrodinamik çap, boyut, kimyasal bağ analizi, yüzey alanı ve gözenek çapı gibi fiziko-kimyasal özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir. Yapılan TEM ve XPS karakterizasyonlarının da birbirini doğruladığı üzere titanyum dioksit nanoparçacıklarının APTES ile yüzey modifikasyonunun başarıyla gerçekleştirildiği görülmüştür.

Bu çalışmalara ek olarak düzensiz şekil ve boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıkları sentezlenmiş ve yine yüzeylerine APTES modifikasyonu yapılmıştır. Hem yalın haldeki hem de APTES kaplanan demir oksit nanoparçacıkları şekil, boyut, kimyasal bağ analizi, manyetik özellikleri, yüzey alanı ve gözenek çapı gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi için TEM, XPS, VSM ve BET yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Titanyum dioksit nanoparçacıklarında olduğu gibi TEM ve XPS analizleri sonucunda düzensiz şekil ve boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının da APTES ile yapılan yüzey modifikasyonunun başarıyla gerçekleştirildiği görülmüştür. Düzensiz şekil ve boyut dağılımına sahip demir oksit

nanoparçacıklarının karakteristik süperparamanyetik özelliğe sahip olduğu VSM ile doğrulanmıştır. Ayrıca APTES ile yapılan kaplama mıknaatıslanma gücünü düşürse de parçacıklar süperparamanyetik özellik göstermeye devam etmiştir.

Çalışmanın bir bölümü ise küresel şekil ve homojen boyut dağılıma sahip demir oksit nanoparçacıklarının sentezlenmesi, APTES ile yüzey modifikasyonlarının yapılması ve hem *in vitro* hem de *in vivo* toksik özelliklerinin incelenmesini kapsamıştır.

Küresel demir oksit nanoparçacıkları ıslak kimya yöntemi ile sentezlenmiş ardından da yüzeyine APTES modifikasyonu yapılmıştır. Küresel demir oksit nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı, Zeta potansiyeli şekil, boyut ve morfoloji analizi, kimyasal yapı analizi, kristal yapısı ve manyetik özelliklerinin belirlenebilmesi için DLS, Zeta Potansiyel ölçümü, TEM, XPS, XRD ve VSM yöntemlerinden yararlanılmıştır. TEM ve XPS analizleri sonunda yalın haldeki küresel ve homojen boyut dağılımına sahip demir oksit nanoparçacıklarının yüzeyinin APTES ile modifikasyonu doğrulanmıştır.

Hem yalın haldeki hem de APTES kaplı küresel demir oksit nanoparçacıklarının sitotoksisite deneyleri MTT analizi ile CaCo-2 hücre hattı üzerinde, 7,81-500 µg/mL konsantrasyon aralığında gerçekleştirilmiştir. MTT analizi tetrazolyum tuzları içeren bir analiz yöntemidir. Tetrazolyum tuzu mitokondriyal aktivitesi devam eden hücrelerle etkileşime girdiğinde renk değişimine yol açan formazan kristallerinin oluşumuna yol açar. Bu hücrelerin absorbansı belirli bir dalga boyunda okunduğunda hücrelerin canlılığı hakkında bilgi edinilmektedir. Sitotoksisite deneylerinin sonucuna göre yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarının %canlılık oranı en yüksek 7,81 µg/mL konsantrasyonunda 85,52±2,07 olarak bulunmuştur. APTES kaplı demiroksit nanoparçacıkların ise en yüksek canlılığı aynı konsantrasyonda 59,64±2,59 olarak bulunmuştur. APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının yalın haldeki demiroksit nanoparçacıklara göre sitotoksisitesinin daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca bu nanoparçacıklar için IC50 değerleri belirlenmiştir. Yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklar için IC50 73,91 µg/ml iken, APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklar için 17,93 µg/ml olarak hesaplanmıştır. IC50 değerinden yola çıkarak bu nanoparçacıkların hücrelerde neden olduğu oksidatif stresi belirlemek için TBA testleri yapılmıştır. TBA test sonuçlarına göre yalın haldeki demir oksit nanoparçacıklarının IC50/2 konsantrasyonundaki oksidatif stresi kontrol grubuyla aynı çıkarken, APTES kaplı demir oksit nanoparçacıklarının oksidatif stresi kontrol

grubundan yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar MTT analizleriyle de uyumlu çıkmıştır. İki nanoparçacık türü için de IC50/4 konsantrasyonu kontrol grubu ile çok yakın çıkmıştır. Küresel demir oksit nanoparçacıklarının ekotoksosite deneyleri ise Chironomus Riparius larvaları üzerindeki toksik ve genotoksik özellikleri incelenerek gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda bu nanoparçacıklarının canlıların yaşadığı sediment ile olan etkileşimleri SEM ile incelenmiştir. 1-100 mg/kg konsantrasyon aralığında canlılara biyolojik analiz tayini ve yaşam özelliği testleri yapılmıştır. Aynı konsantrasyonlar için nanoparçacıkların canlılar üzerinde neden olduğu genotoksosite deneyleri jel elektroforez yöntemi ile OECD Test No:218 test yönergesine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Jel elektroforez yöntemi kullanılarak yapılan deney sonuçlarına göre en düşük dozlar (1, 5, 10 mg /kg) genotoksik aktivite göstermemiştir. Negatif kontrol grubu ile kıyaslandığında toplam jel elektroforez skorunda önemli artışlar, sadece 50 ve 100 mg / kg konsantrasyonlarında meydana gelmiştir ve bu da demir oksit nanoparçacıklarının DNA hasarını sadece çok yüksek dozlarda indükleyebildiğini göstermektedir. Buna ek olarak Chironomus Riparius larvaları gerçekleştirilen yaşam özelliği testlerinde yaşam parametrelerinin hiçbirinin test edilen konsantrasyonlarda toksik olmadığını göstermiştir.



## 7. KAYNAKLAR

- [1] **Khan, I., Saeed, K., and Khan, I.** (2019) Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. 12 (7), 908–931.
- [2] **Salata, O. V** (2004) Journal of Nanobiotechnology. *Journal of Nanobiotechnology*. 6 (3), 1–6.
- [3] **Obradovic, J.** (2005) 基因的改变 NIH Public Access. *Bone*. 23 (1), 1–7.
- [4] **Gillentine MA, Berry LN, Goin-Kochel RP, Ali MA, Ge J, Guffey D, JA, Rosenfeld, Hannig V, Bader P, Proud M, Shinawi M, Graham BH, Lin A, Lalani SR, Reynolds J, Chen M, Grebe T, Minard CG, Stankiewicz P, Beaudet AL, and Schaaf C.** (2017) 氢气和蛛网膜下腔出血 HHS Public Access. *J Autism Dev Disord*. 47 (3), 549–562.
- [5] **Sierra, M.I., Valdés, A., Fernández, A.F., Torrecillas, R., and Fraga, M.F.** (2016) The effect of exposure to nanoparticles and nanomaterials on the mammalian epigenome. *International Journal of Nanomedicine*. 11 6297–6306.
- [6] **Mailänder, V. and Landfester, K.** (2009) Interaction of nanoparticles with cells. *Biomacromolecules*. 10 (9), 2379–2400.
- [7] **Sun, X.-Y., Gan, Q.-Z., and Ouyang, J.-M.** (2017) Size-dependent cellular uptake mechanism and cytotoxicity toward calcium oxalate on Vero cells. *Scientific Reports*. 7 (1), 1–12.
- [8] **Taretia, R.** (2017) Nanotechnology-A Review. *Journal of Orofacial & Health Sciences*. 8 (1to3), 5.
- [9] "What is Nanotechnology?" <https://www.nano.gov/nanotech-101/what> (n.d.), alındığı tarih: 18/02/2020
- [10] **Beşergil B,** Nanokompozitler, [http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/9\\_3.html](http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/9_3.html), alındığı tarih: 20/02/2020.
- [11] **Nowack, B. and Bucheli, T.D.** (2007) Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*. 150 (1), 5–22.



- [12] **Wang, Y. and Herron, N.** (1991) Nanometer-sized semiconductor clusters: Materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties. *Journal of Physical Chemistry*. 95 (2), 525–532.
- [13] **Bhushan, B. and Winkelmann, K.** (2016) Global Perspectives of Nanoscience and Engineering Education. .
- [14] **Savolainen, K., Pylkkänen, L., Norppa, H., Falck, G., Lindberg, H., Tuomi, T.,** (2010) Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety - A review. *Safety Science*. 48 (8), 957–963.
- [15] **Vignardi, C.P., Hasue, F.M., Sartório, P. V., Cardoso, C.M., Machado, A.S.D., Passos, M.J.A.C.R.,** (2015) Genotoxicity, potential cytotoxicity and cell uptake of titanium dioxide nanoparticles in the marine fish *Trachinotus carolinus* (Linnaeus, 1766). *Aquatic Toxicology*. 158 218–229.
- [16] **Miyazaki, K. and Islam, N.** (2007) Nanotechnology systems of innovation-An analysis of industry and academia research activities. *Technovation*. 27 (11), 661–675.
- [17] **Vasir, J., Reddy, M., and Labhasetwar, V.** (2006) Nanosystems in Drug Targeting: Opportunities and Challenges. *Current Nanoscience*. 1 (1), 47–64.
- [18] **Wierzbinski, K.R., Szymanski, T., Rozwadowska, N., Rybka, J.D., Zimna, A., Zalewski, T.,** (2018) Potential use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vitro and in vivo bioimaging of human myoblasts. *Scientific Reports*. 8 (1), 1–17.
- [19] **Li, X., Wei, J., Aifantis, K.E., Fan, Y., Feng, Q., Cui, F.Z.,** (2016) Current investigations into magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 104 (5), 1285–1296.
- [20] **Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S.M., Sajjadi, M., and Issaabadi, Z.** (2019) Applications of Nanotechnology in Daily Life. 1st ed. Elsevier
- [21]"Computer Memory Improvements with Nanotechnology"  
<https://www.understandingnano.com/nanotechnology-computer-memory.html>, alındığı tarih: 21/02/2020.
- [22] **Beaumont, S.P.** (1996) III-V nanoelectronics. *Microelectronic Engineering*. 32 (1-4 SPEC. ISS.), 283–295.

- [23] **Farrukh, A., Akram, A., Ghaffar, A., Hanif, S., Hamid, A., Duran, H., et al.** (2013) Design of polymer-brush-grafted magnetic nanoparticles for highly efficient water remediation. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 5 (9), 3784–3793.
- [24] **Khani, R., Sobhani, S., and Beyki, M.H.** (2016) Highly selective and efficient removal of lead with magnetic nano-adsorbent: Multivariate optimization, isotherm and thermodynamic studies. *Journal of Colloid and Interface Science*. 466 198–205.
- [25] **Rakesh, M., Tn, D., Vishal, T., and Shalini, K.** (2015) Biotherapeutic Discovery Applications of Nanotechnology. *Nanomedicine & Biotherapeutic Discovery*. 5 (1), 1–5.
- [26] **Edwards, E., Brantley, C., and Ruffin, P.B.** (2017) Overview of Nanotechnology in Military and Aerospace Applications. *Nanotechnology Commercialization*. 133–176.
- [27] **Mu, L. and Sprando, R.L.** (2010) Application of nanotechnology in cosmetics. *Pharmaceutical Research*. 27 (8), 1746–1749.
- [28] **King, S., Dobson, P., Jarvie, H.,** *Nanoparticle*, <https://www.britannica.com/science/nanoparticle>, alındığı tarih: 22/02/2020.
- [29] **Forbe, T., García, M., and Gonzalez, E.** (2011) Potencial risks of nanoparticles. *Food Science and Technology (Campinas)*. 31 (4), 835–842.
- [30] **Gupta, R. and Xie, H.** (2018) Nanoparticles in daily life: Applications, toxicity and regulations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 37 (3), 209–230.
- [31] **Biazar, E., Majdi, Zafari, M., Avar, M., Aminifard, S., Zaeifi, D., et al.** (2011) Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *International Journal of Nanomedicine*. 1117.
- [32] **Dhawan, A. and Sharma, V.** (2010) Toxicity assessment of nanomaterials: Methods and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 398 (2), 589–605.
- [33] **Huang, Y.W., Cambre, M., and Lee, H.J.** (2017) The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*. 18 (12),.

- [34] **Chatterjee, S., Mankanna Kumari, R., and Nimesh, S.** (2017) *Nanotoxicology: Evaluation of toxicity potential of nanoparticles.* Elsevier.
- [35] **Philbert, M.A., Sayes, C.M., Marker, B.,** (2010) *Comprehensive Toxicology* 2<sup>th</sup> Edition, *Nanotoxicology, Volume 2, 707-715.*
- [36] **Kahru, A. and Dubourguier, H.C.** (2010) From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology.* 269 (2–3), 105–119.
- [37] **Rana, S. and Kalaichelvan, P.T.** (2013) Ecotoxicity of Nanoparticles. *ISRN Toxicology.* 2013 1–11.
- [38] **Kushwaha, A., Rani, R., and Agarwal, V.** (2016) Environmental fate and ecotoxicity of engineered nanoparticles current trends and future perspective. *Advanced Nanomaterials for Wastewater Remediation.* (July), 387–404.
- [39] **Jovanović, B., Bezirci, G., Çağan, A.S., Coppens, J., Levi, E.E., Oluz, Z.,** et al. (2016) Food web effects of titanium dioxide nanoparticles in an outdoor freshwater mesocosm experiment. *Nanotoxicology.* 10 (7), 902–912.
- [40] **Botelho, M.C., Costa, C., Silva, S., Costa, S., Dhawan, A., Oliveira, P.A.,** et al. (2014) Effects of titanium dioxide nanoparticles in human gastric epithelial cells in vitro. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 68 (1), 59–64.
- [41] **Sun, C., Lee, J.S.H., and Zhang, M.** (2008) Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 60 (11), 1252–1265.
- [42] **Qi, M., Zhang, K., Li, S., Wu, J., Pham-Huy, C., Diao, X.,** et al. (2016) Superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: Synthesis by a solvothermal process and functionalization for a magnetic targeted curcumin delivery system. *New Journal of Chemistry.* 40 (5), 4480–4491.
- [43] **Sharma, V.K., Alipour, A., Soran-Erdem, Z., Aykut, Z.G., and Demir, H. V.** (2015) Highly monodisperse low-magnetization magnetite nanocubes as simultaneous T1-T2 MRI contrast agents. *Nanoscale.* 7 (23), 10519–10526.

- [44] **Iii, S.E.G.** (2015) Synthesis , Surface Functionalization , and Biological Testing of Iron Oxide Nanoparticles for Development as a Cancer Therapeutic.
- [45] **Ray, P.C., Yu, H., and Fu, P.P.** (2009) Toxicity and environmental risks of nanomaterials: Challenges and future needs. .
- [46] **Cledón, M., Brar, S.K., and Zhang, T.C.** (2015) Nano-ecotoxicology of natural and engineered nanomaterials for microorganisms. *Nanomaterials in the Environment*. 439–468.
- [47] **Dağhoğlu, Y.,** (2018) Ekotoksisite Deneylelerinde Nanopartikül Karakterizasyonunun Önemi ve Yöntemleri. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*.
- [48] **Guideline, T.T. and America, N.** (2004) H867Á @ TB78EBG8RÁ9HQÁSA8ÁS8RSBG @ ÁH9Á6A8FB64ERÁ. (April), 1–21.
- [49] **Bernabò, P., Gaglio, M., Bellamoli, F., Viero, G., and Lencioni, V.** (2017) DNA damage and translational response during detoxification from copper exposure in a wild population of *Chironomus riparius*. *Chemosphere*. 173 235–244.
- [50] **Collins, A.R.** (2004) The comet assay for DNA damage and repair: Principles, applications, and limitations. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*. 26 (3), 249–261.
- [51] **Guimarães, M., & Silva, L.** (2016). C.T. de T. e a sua aplicabilidade para E. (1985) No Title品質操業情報解析システムの概要. *日本鉄鋼協会 第 109 回(春季)講演大会*. 11 (103), 1984.
- [52] **Yang, C.** (2014) Measuring Zeta Potential, Methods. *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. 1–13.
- [53] **Ersöz, P.D.M., Sulak, D.M., Bersani, D.M., Işıtan, D.A., Balaban, M., Yakar, D.Z., et al.** (2019) NANOTEKNOLOJİ 2- Karakterizasyon ve Uygulamalar. 1st ed. Denizli.
- [54] **Gedik, K.** (2015) Kolloid Giderimi. *ENDÜSTRİYEL ATIKSULARIN ARITILMASI Ders Notları*. 1–5.
- [55] **Kaech, A.** (2002) An Introduction To Electron Microscopy Instrumentation, Imaging and Preparation. *Center for Microscopy and Image Analysis*. 1–26.
- [56] **Akay, A.** (2014) Daha Yakın Olmak İçin: Elektron Mikroskopları.
- [57] **Smith, K.C.A. and Oatley, C.W.** (1955) The scanning electron microscope and its fields of application. *British Journal of Applied Physics*. 6 (11), 391–399.

- [58] **Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z.L., and Joy, D.** (2007) Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM). *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*. 1–40.
- [59] **Welker, R.W.** (2012) Size Analysis and Identification of Particles. Elsevier, .
- [60] **Zambonin, P.G. and Desimoni, E.** (1987) X-Ray Photoelectron Spectroscopy: Principles, Instrumentation, Data Processing and Molten Salt Applications. *Molten Salt Chemistry*. 425–445.
- [61] **Uslu, İ.** X-Ray Fotoelektron Spektrometresi, [https://www.academia.edu/1748531/X-Işını\\_Fotoelektron\\_Spektroskopisi\\_XPS\\_ile\\_Yüzey\\_Analizi](https://www.academia.edu/1748531/X-Işını_Fotoelektron_Spektroskopisi_XPS_ile_Yüzey_Analizi), alındığı tarih: 25/02/2020.
- [62] **Bunaciu, A.A., Udriştioiu, E. gabriela, and Aboul-Enein, H.Y.** (2015) X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews Analytical Chemistry*. 45 (4), 289–299.
- [63] **Barbara L D., Christine M. C.,** X-ray Powder Diffraction (XRD), [https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/techniques/XRD.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/XRD.html), alındığı tarih: 04/03/2020.
- [64] Merlab, Yüzey ve Gözenek Karakterizasyonu Tanıtım Broşürü, <https://merlab.metu.edu.tr/tr/system/files/Belgeler/TanitimBrosurleri/YGL.pdf>, alındığı tarih: 10/03/2020.
- [65] **Tokur, O. and Aksoy, A.** (2017) In Vitro Sitotoksosite Testleri. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. 6 (1), 112–118.
- [66] **Stacey, G.N.** (2011) Cancer Cell Culture, MTT assay. *Methods Mol Biol*. 731 (1), 79–91.
- [67] **Eken, A.** (n.d.) Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 69–73.
- [68] **Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., et al.** (2020) Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü - Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 26 (3), 362–369.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Fatma Gözde YÜCE  
**Uyruğu** : Türkiye Cumhuriyeti  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 06.08.1994 / HATAY TÜRKİYE  
**E-posta** : [fgozdeyuce@gmail.com](mailto:fgozdeyuce@gmail.com)

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Mühendisliği, Tam Burslu (3.67/4.00)
- **Lisans** : 2014, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği, Tam Burslu (3.29/4.00)
- **Yüksek Lisans** : 2017, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Mikro ve Nanoteknoloji, Tam Burslu (4.00/4.00)

### MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Kurum	Görev
2019-...	ASELSAN A.Ş.	Ar-Ge Mühendisi
2017-2019	TOBB ETÜ	Tam Burslu Yüksek Lisans Öğrencisi
2017	TOBB ETÜ	Stajyer
2016	Arçelik A.Ş.	Stajyer
2015	Yiğit Akü A.Ş.	Stajyer

Yıl	Kurum	Ödüller
2018-2020	TÜBİTAK	Yurt İçi Lisansüstü Bursu
2017	TOBB ETÜ	Yüksek Lisans Tam Bursu
2017	TOBB ETÜ	Mühendislik Fakültesi İkinciliği
2012-2017	TOBB ETÜ	Lisans Tam Bursu

**YABANCI DİL:** İngilizce ve Almanca

**TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:**

- Cetin, Y., Yıldızhan, Y., Adıgüzel, Z., Güngör, A., **Yuce, F.G.**, Duran, H. 2019. Evaluation of biosafety of nanoparticles, TiO<sub>2</sub> and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> , commonly used in nanomedicine upon in vitro models, 10<sup>th</sup> International Congress Of The Turkish Society Of Toxicology Oct. 2019, Antalya, Turkey (No Attendee)
- **Yuce F.G.**, Duran, H., 2018. Systematic Investigations of the Types and Mechanisms of the Interaction between Engineered Nanoparticles with Living Systems. 14th Nanoscience and Nanotechnology Conference NanoTR-14, by Izmir High Technology Institute, Sep. 2018, Izmir, Turkey (Oral Presentation)
- **Yuce F.G.**, Duran, H., 2018. 1st International Congress on Environment and Animal Health: Linking Endocrine Disrupters, Epigenetics, Biotechnology for Cancer in Animals, by University of Ankara, April 2018, Ankara, Turkey (Poster Presentation)