



T.C.

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**

**HÜMİK ASİT KAPLI GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (Ag-NP)
SAZAN (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) BALIKLARINDA HEMATOLOJİK
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHMET ALİ AKILLI

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ARİF AYAR**

**AMASYA
TEMMUZ 2020**

T.C
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

HÜMİK ASİT KAPLI GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (Ag-NP)
SAZAN (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) BALIKLARINDA HEMATOLOJİK
ETKİLERİ

Mehmet Ali AKILLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Arif AYAR

AMASYA
TEMMUZ 2020

MEHMET ALİ AKILLI tarafından hazırlanan “**HÜMİK ASİT KAPLI GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (Ag-NP) SAZAN (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) BALIKLARINDA HEMATOLOJİK ETKİLERİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **MOLEKÜLER TIP** Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Arif AYAR

Sabuncuoğlu Şerefeddin SHMYO, Tıbbi Laboratuvar Teknikler Bölümü, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Burak YAZGAN

Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

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

.....
Prof. Dr. Tuba YILDIRIM
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürümü



Sevgili aileme

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mehmet Ali AKILLI

24/08/2020

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmam sırasında tez konumun belirlenmesi, tez çalışmamın planlanması gibi değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren ilk danışman hocam Prof. Dr. Şevket KANDEMİR ve tezimin tamamlanıp sonuçlandırmasında emeği geçen danışman hocam Doç. Dr. Arif AYAR başta olmak üzere laboratuvar analizleri aşamasında yardımlarını hiç esirgemeyen sayın Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN, Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ, Doç. Dr. Hüseyin POLAT, Doç. Dr. Mehmet İlker DOĞRU ve Dr. Kenan ERDOĞAN hocalarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca her türlü desteğini eksik etmeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezimin gerçekleştirilmesinde bizleri FMB-BAP 18-0354 nolu proje ile destekleyen Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, ayrıca deneyde kullandığımız balıkları hibe olarak veren Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonu birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ.....	ivi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viiix
ÖZET	viii
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nanoteknoloji ve Tarihçesi	3
2.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları.....	5
2.3. Nanopartiküller	6
2.4. Nanopartiküllerin Genel Özellikleri	7
2.5. Nanomateryaller.....	8
2.6. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Tarihçesi.....	8
2.7. AgNP'lerin Genel Özellikleri ve Uygulama Alanları.....	8
2.8. AgNP'lerin Çevre ve İnsan Sağlığına Etkileri	9
2.9. Gelecek Vaat Eden Uygulama Alanları.....	11
2.10. Hümik Asit ve Yapısal Özelliği.....	12
2.11. Hümik Madde ve Bileşenleri	14
2.12. Sazan Balığı (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758).....	15
2.13. Balıklarda Hematolojik Parametreler ve Dolaşım Sistemi	16
2.14. Nanopartiküllerin Balıklara Etkileri	18
2.15. Biyodenyeler.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Deneyde Kullanılan Malzemeler	21
3.2. Deneyde Kullanılan Balıklar	21
3.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Üretimi	22
3.4. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Karakterizasyonu.....	22
3.4.1. Zeta boyut analizi.....	22

3.4.2. Atomik kuvvet mikroskobu	23
3.4.3. Elektron mikroskobu.....	23
3.4.4. UV-Vis spektrumu	23
3.4.5. FT-IR	23
3.5. Gümüş Nanopartiküllerin Sazan (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758) Balıkları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi	23
3.5.1. Deney ve akvaryum düzeneği.....	24
3.6. Analizler.....	25
3.6.1. Hematolojik Analizler.....	25
3.6.2. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR	27
4.1. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Üretimi ve Karakterizasyonuna Ait Bulgular ..	27
4.1.1. Zeta boyut analizi bulguları	27
4.1.2. Atomik kuvvet mikroskopisi ölçümleri	28
4.1.3. Elektron mikroskopisi ölçümleri	28
4.1.4. UV-Görünür bölge spektroskopisi ölçümleri	29
4.1.5. FT-IR bulguları	30
4.2. Hematolojik Etkilere Ait Bulgular.....	31
4.2.1. Lenfosit Oranları (L).....	31
4.2.2. Monosit Oranları (M).....	32
4.2.3. Total Lökosit Sayıları (WBC).....	33
4.2.4. Eritrosit Sayıları (Rbc).....	34
4.2.5. Granulosit Oranları (Gran).....	35
4.2.6. Hemogloblin Miktarları (Hb).....	36
4.2.7. Hematokrit Değerleri (Hct).....	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	38
6. KAYNAKLAR.....	41
EKLER	51
EK-1. Etik Kurul İzni	52
ÖZGEÇMİŞ	55

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Farklı çaplardaki parçacıklarda yüzey moleküllerinin yüzdesi	8
Tablo 3.1. Deney grupları	25
Tablo 4.1. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Lenfosit (%) Oranlarına Etkisi.....	31
Tablo 4.2. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Monosit (%) Oranlarına Etkisi.....	32
Tablo 4.3. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Total Lökosit Sayılarına Etkisi	33
Tablo 4.4. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Eritrosit Sayılarına Etkisi.....	34
Tablo 4.5. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Granulosit (%) Oranlarına Etkisi.	35
Tablo 4.6. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Hemoglobin Miktarına Etkisi.	36
Tablo 4.7. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Hematokrit (%) Değerlerine Etkisi.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Nano, mikro ve makro şekillerin karşılaştırılması	3
Şekil 2.2. Drexler'in nanomakinelerinden seçilmiş bazı örnekler	4
Şekil 2.3. Karbon nanotüpe ait şematize edilmiş görüntü.....	5
Şekil 2.4. Nano teknolojinin uygulama alanları	6
Şekil 2.5. Hümik asitin kimyasal yapısı	13
Şekil 2.6. Balıklarda dolaşım sistemi	17
Şekil 4.1.a. Sitrat kaplı gümüş nanopartiküller	27
Şekil 4.1.b. Hümik asit kaplı gümüş nanopartiküller	27
Şekil 4.2.a. NP 2b morfolojik yapısı	28
Şekil 4.2.b. NP 3b morfolojik yapısı.....	28
Şekil 4.3. UV görünür bölge spektroskopik ölçüm sonuçları	29
Şekil 4.4. FT-IR spektroskopik ölçüm sonuçları.....	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758).....	16
Resim 3.1. Deneyde kullanılan sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758).....	21
Resim 3.2. Deneylerde kullanılan akvaryum sistemi.....	24
Resim 4.1. Hümik asit kaplı nanopartiküllerin elektron mikroskopisi görüntüsü	29



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler

Açıklama

ppm	Milyonda bir birim
mmol	Milimol
nm	Nanometre
dL	Desilitre
µL	Mikrolitre
pH	Çözelti asit-baz derecesi
L	Litre
mL	Mililitre
g	Gram
cm	Santimetre
%	Yüzde

Kısaltmalar

Açıklama

NP	Nanometre
Ag	Gümüş
HA	Hüyük asit
M	Monosit oranı
WBC	Total lökosit oran
Hct	Hematokrit değeri
Hb	Hemoglobin
Rbc	Eritrosit oranı
L	Lenfosit oranı
NOM	Doğal organik madde

ÖZET

HÜMİK ASİT KAPLI GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN (Ag-NP) SAZAN (*Cyprinus carpio* L., 1758) BALIKLARINDA HEMATOLOJİK ETKİLERİ

Mehmet Ali AKILLI

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Ağustos/2020
Danışman: Doç. Dr. Arif AYAR

Bu çalışmada, yaygın endüstriyel kullanımı sebebi ile sucul ortamlarda çok fazla miktarlarda bulunan nano malzemelerden biri olan gümüş nanopartiküllerin (AgNP) hümik asit ile kaplanmış formlarının (AgNP+HA) sucul organizmalara etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Öncelikle çalışmada kullanılan nanopartiküllerin karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Bu amaçla Zeta boyut analizi, Atomik kuvvet mikroskopisi, Elektron mikroskopisi (SEM), UV-Vis spektroskopisi ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) gibi yöntemler kullanılmıştır. Daha sonra akvaryumlarda adaptasyonu sağlanmış sazan balıklarına (*Cyprinus carpio* L., 1758) farklı dozlarda (0,03 ppm AgNP; 0,3 ppm AgNP; 3,0 ppm AgNP; 0,03 ppm AgNP+HA; 0,3 ppm AgNP+HA; 3,0 ppm AgNP+HA) ve farklı sürelerde (4 ve 21 gün) AgNP ve AgNP+HA uygulanmıştır. Sonuçta elde edilen hematolojik değerler birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre sadece AgNP uygulanan gruplarda doz miktarına bağlı olarak akut ve subkronik sürelerde total lökosit sayılarında artış, lenfosit, eritrosit, hemoglobin ve hematokrit değerlerinde ise istatistiksel açıdan anlamlı azalmalar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Buna karşı hümik asitle birlikte yapılan uygulama gruplarında (AgNP+HA) ise doz ve muamele sürelerine bağlı olarak kontrol grubuna dah yakın sonuçlara ulaşıldığı gözlemlenmiştir.

Elde edilen verilerden akut ve subkronik sürelerin etkisi ile beraber uygulanan dozlara bağlı olarak hümik asit kaplı gümüş nanopartiküllerin meydana getirdikleri toksik etkilerin daha geç ve daha düşük oranlarda olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Cyprinus carpio*, Gümüş nanopartikül, Hematolojik Parametreler, Hümik asit

ABSTRACT

HEMATOLOGICAL EFFECTS OF HUMIC ACID COATED SILVER NANOPARTICULES (AgNP) IN SAZAN FISH (*Cyprinus carpio* L., 1758)

Mehmet Ali AKILLI

Amasya University, Institute of Health Sciences
Department of Molecular Medicine, MSc, August / 2020
Advisor: Assoc. Prof. Arif AYAR

In this study, it is aimed to investigate the effects of the humic acid coated forms (AgNP + HA) of silver nanoparticles (AgNP), which is one of the nano materials found in large quantities in aquatic environments due to its widespread industrial use, on aquatic organisms.

First of all, characterization processes of the nanoparticles used in the study were made. For this purpose, methods such as Zeta size analysis, Atomic force microscopy, Electron microscopy (SEM), UV-Vis spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were used. Later, in aquariums, adapted carp fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) in different doses (0,03 ppm AgNP; 0,3 ppm AgNP; 3,0 ppm AgNP; 0,03 ppm AgNP + HA; 0,3 ppm AgNP + HA; 3,0 ppm AgNP + HA) and different durations (4 and 21 days) AgNP and AgNP + HA were applied. The resulting hematological values were compared with each other.

As a result of the analysis, statistically significant decreases in lymphocyte, erythrocyte, hemoglobin and hematocrit values were found in the groups that were applied only AgNP compared to the control group, depending on the amount of dose, in the acute and subchronic periods ($p < 0.05$). On the other hand, in the application groups (AgNP + HA) made with humic acid, results similar to the control group were observed depending on the dose and treatment times.

From the data obtained, it was concluded that the toxic effects of the humic acid coated silver nanoparticles, depending on the doses applied together with the effects of acute and subchronic periods, were later and at lower rates.

Keywords: *Cyprinus carpio*, Silver nanoparticle, Hematological parameters, Humic acid

1. GİRİŞ

Yüksek teknoloji ekonomisinin en hızlı büyüyen sektörlerinden birisi olan nanoteknoloji, maddelere uygulanan çeşitli işlemlerle maddelerin atomik düzeyde molekül yapısını değiştirerek başka maddeler ve ürünler geliştirmeyi amaçlayan, özellikle mühendislik ve kimya gibi alanların meydana getirdiği bir bilim dalıdır. Bu şekilde üretilen nanometre büyüklüğündeki malzemelerin canlı organizmalar ve çevre üzerindeki olası yan etkilerinin araştırıldığı alt bilim dalına ise nanotoksikoloji denilmektedir [1]. Nano teknoloji uygulaması son zamanlarda tıp, biyoteknoloji, malzeme mühendisliği, enerji ve çevre gibi birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknolojiye duyulan ihtiyaçtaki artışın, farmakoloji, gıda, sağlık ve biyomedikal gibi çeşitli bilim alanlarda ihtiyaç duyulan birçok yeni özelliğin gerçekleştirilmesinde parçacıkların boyutunun küçülmesi gerekliliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir [2]. Bununla birlikte, nano malzemelerin potansiyel faydalarına olan ilgideki artış, bu malzemelerin daha fazla üretimi ve doğal olarak kullanımlarından veya çevreye kasıtsız olarak salınımlarından kaynaklanan potansiyel toksik etkiler konusunda artan bir endişeye de yol açmıştır. Nano malzemelerin her alanda kullanımı bunların sucul ekosistemlere salınmalarını muhtemel kılmakta ve su ekosistemleri için ciddi riskler oluşturabilmektedirler [3-5]. Birçok farklı nanomateryal türü arasında, nano ölçekli gümüş, benzersiz özellikleri ve farklı nano yapılar oluşturma kabiliyeti nedeniyle en önemli nano malzemelerden biri olarak kabul edilmiş ve bu nedenle tüketici ürünü envanterleri listesine yerleştirilmiştir [6]. Her yıl yaklaşık 63 ton nano gümüşün dünya çapında su kütlelerine girmesi beklenmektedir [7]. Sucul ortamlardaki konsantrasyonun litre başına 0,03 ila 0,32 mikrogram arasında değişeceği tahmin edilmektedir [8]. Bu nedenle, nano gümüşlerin sucul organizmalar üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini anlamak ve belirlemek oldukça önemlidir.

Su ortamında biriken gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin toksikasyon testleri ile ilgili literatürde birçok çalışma olmasına rağmen AgNP'ler üzerinde toksik kanıt hala çok net mevcut değildir. Bununla birlikte AgNP'lerin birikiminin balıklar üzerindeki etkileri hakkında da çok az bilgi bulunmaktadır. Ne yazık ki, bugüne kadar, sucul ortamda nanomalzeme toksisitesi testleri için kabul edilmiş bir risk değerlendirme yöntemi veya test kılavuzu da mevcut değildir [9].

Birçok çalışma AgNP'lerin balık [10], *Daphnia* [11] ve algler [12] gibi çeşitli su organizmalarındaki zehirlilik etkilerini araştırmış olsa da, şu anda AgNP'lerin sudaki

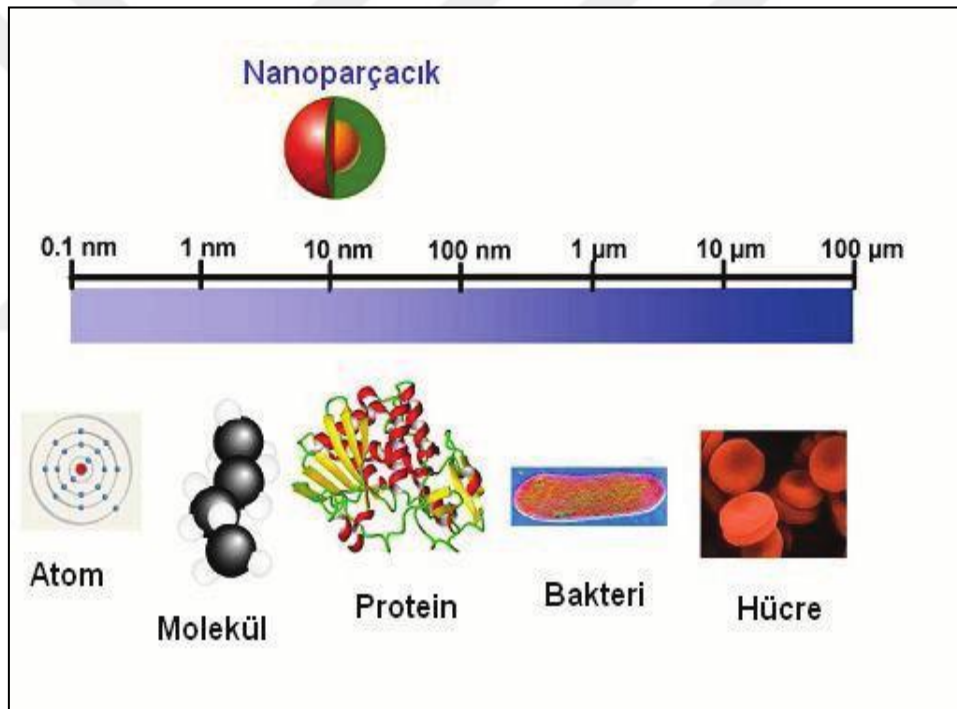
toksikasyonu hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır [13]. Yapılan bazı çalışmalarda, gümüş nano plakalarının daha düşük çözünme ve biyoyararlanım oranlarına rağmen nano kürelere kıyasla, gökkuşuğu alabalığı solungaç epitel hücrelerine ve zebra balığı embriyolarına karşı daha yüksek bir toksik etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca Kim vd., [14], sıçan böbreklerinde AgNP'lerin cinsiyete özgü birikimini, Artal vd., [15] ise AgNP gümüş nanotellerinin akut toksisite durumlarını araştırmışlardır. Scanlan vd. [16] yaptıkları çalışmayla gümüş iyonlarının ve nanotellerin toksisitelerini karşılaştırmışlar ve bazı AgNP'lerin *Daphnia magna* için yüksek derecede toksik, ancak iyonik gümüşten daha az toksik olduğunu bulmuşlardır. Yapılan çalışma sonucunda AgNP'lerin toksik etkilerinin, boyutlarının, kaplamasının ve çözelti kimyasının birer fonksiyonu olarak değiştiği sonuçlarına ulaşılmıştır [16].

Bu çalışmada AgNP'lerin su ortamındaki toksik etkilerinin Sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) balıklarında hematolojik parametrelerle ölçülmesi ve bu etkilerin hümik asit kaplı AgNP'lerin etkileriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarının, AgNP'lerin hümik asitle kaplandığında sucul organizmalar için ekolojik risklerin azalıp azalmayacağını değerlendirmek amacıyla yararlı olabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknoloji ve Tarihçesi

Nanoteknoloji, yaklaşık 100 milyonda bir milimetre (100 nanometre) veya daha az, bir veya daha fazla boyutlarda meydana gelen; malzeme, yapı, cihaz ve sistemlerin tasarımında, karakterizasyonunda, üretiminde ve uygulamasında kullanılan bilim ve mühendislik alanlarına verilen isimdir. Bu nedenle, prensip olarak, bu şekilde spesifikasyonlar olarak mevcut olan veya bunlarla imal edilen bileşikleri kullanan herhangi bir ürün nanoteknolojinin örnekleri olarak kabul edilebilir [1, 2]. Şekil 2.1’de, Nano, mikro ve makro şekillerin karşılaştırması gösterilmektedir.



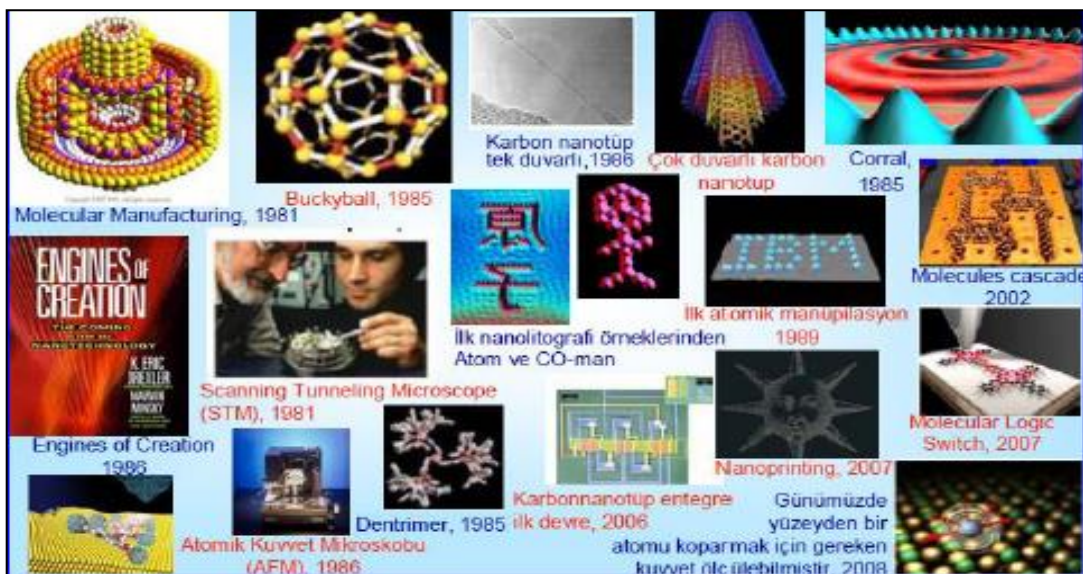
Şekil 2.1. Nano, mikro ve makro şekillerin karşılaştırması [17]

Nanopartiküllere insan maruziyeti insanoğlunun tarihi boyunca ortaya çıkmış, asıl önemliliğini sanayi devriminin başlamasıyla büyük ölçüde kazanmıştır. Nanopartiküllerin araştırılması çok eski zamanlara kadar uzanmaktadır. “Nanometre” kavramı ilk olarak 1925 Nobel Kimya Ödülü sahibi Richard Adolf Zsigmondy tarafından sunulmuştur. Nanometre terimi partikül boyutlarını karakterize etmek için kullanılmıştır. Zsigmondy

aynı zamanda mikroskop kullanarak altın kolloid partiküllerin boyutunu ölçen ilk kişi olarak tarihe adını yazdırmıştır [17].

Modern nanoteknoloji, 1965 Nobel Fizik Ödülü Sahibi Richard Feynman'ın çalışmalarıyla ortaya çıkmıştır. Caltech'teki 1959 Amerikan Fizik Derneği toplantısında, atom seviyesinde manipüle etme kavramını tanıttığı “Altta Çok Oda Var” başlıklı bir konferans sunmuştur. Bu fikir yeni düşünme olanakları ortaya çıkarmış olup Feynman'ın bu hipotezleri o dönemlerden beri kanıtlanarak günümüze kadar ulaşmıştır. Bu nedenlerle modern nanoteknolojinin babası olarak tarihteki yerini almıştır. Feynman'ın konuşmasından neredeyse 15 yıl sonra, bir Japon bilim adamı Norio Taniguchi, nanometre düzeyinde meydana gelen yarı iletken süreçleri tanımlamak için ilk olarak “nanoteknoloji” terimini kullanmıştır. Taniguchi, nanoteknolojinin malzemelerin bir atom veya bir molekül tarafından işlenebilmesi, ayrılması, konsolidasyonu ve deformasyonundan meydana geldiğini savunmuştur [18].

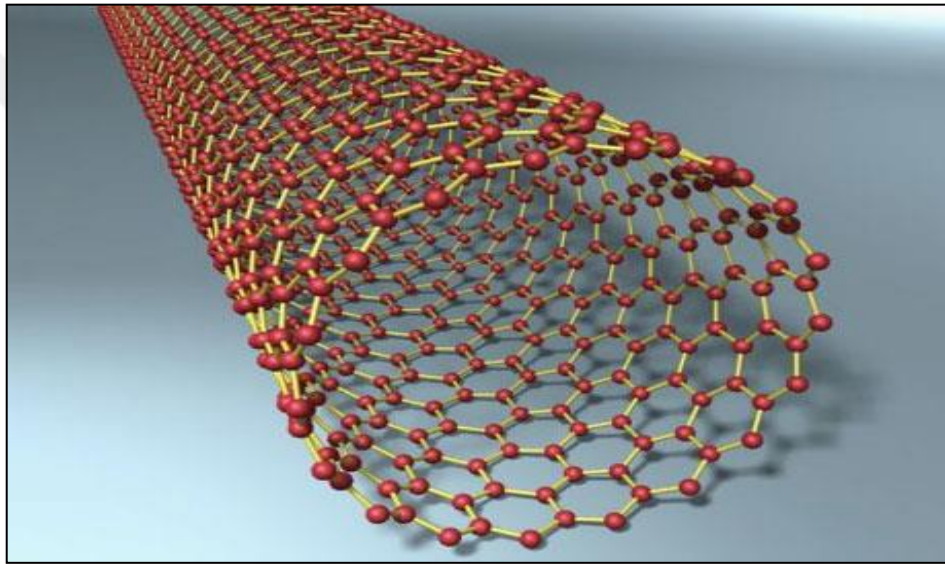
Nanoteknolojinin altın çağı 1980'lerde Kroto, Smalley ve Curl Fullerene'yi keşfettiğinde başlamıştır. Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nden (MIT) Eric Drexler, Feynman'ın “Altta Çok Oda Var” ve Taniguchi'nin “nano teknoloji” teriminden 1986'da yola çıkarak “Yaratılış Motorları: Nano teknolojinin Yaklaşan Dönemi” başlıklı bir kitap literatüre kazandırmıştır. Drexler, kendisinin ve diğer keyfi karmaşıklığın bir kopyasını oluşturabilecek bir nano ölçekli “montajcı” fikrini önermiştir. Drexler'in nano teknoloji vizyonuna genellikle “moleküler nanoteknoloji” adı verilmiştir [19]. Şekil 2.2'de Drexler'lerin nanomakinelerinden seçilmiş bazı örnekler sunulmuştur.



Şekil 2.2. Drexler'lerin nanomakinelerinden seçilmiş bazı örnekler [20]

1981 yıllarında IBM'deki araştırma ekibi tarafından bulunan Scanning Tunneling Microscope (STM) 1986 yılında araştırma yapan ekibe Nobel fizik ödülünü kazandırmıştır. 1980 yıllarında taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (ATM) ve taramalı yakın mikroskobu (NFM) cihazlarını geliştirerek nano boyutta modelleme ve ölçümlerin yapılmasına imkan sağlanmıştır.

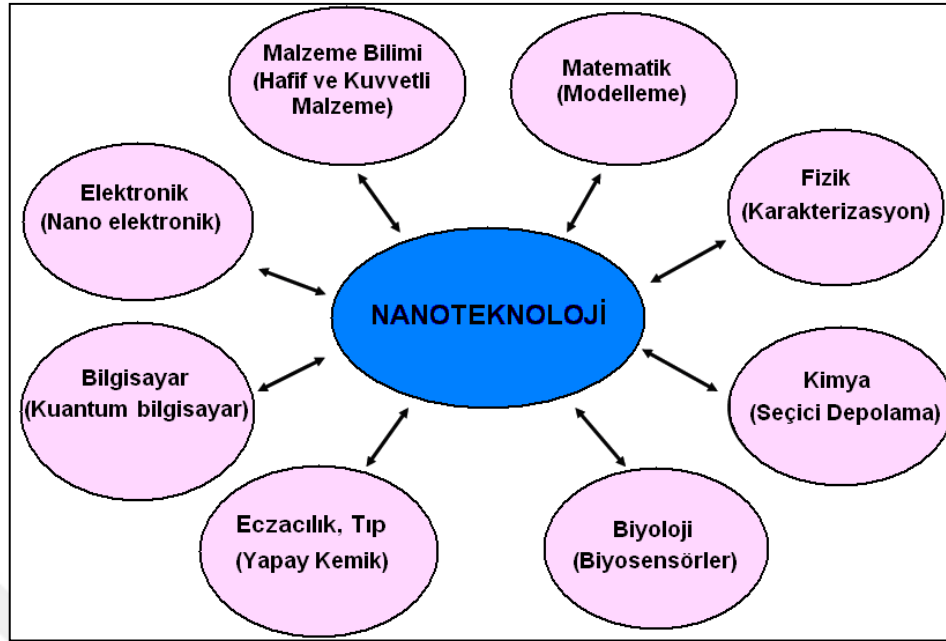
1990 yıllarında Rice Üniversitesinden Richard Smalley'in ekibindeki araştırmacılar, 60 karbon atomun eşit yapıda sıralandığını ve futbol topu şeklinde fullerene moleküllerini oluşturduğunu keşfetmişlerdir. Bu çalışmalardan sonra NEC firması araştırmacılarından Sumio Lijima tarafından karbon nano tüpleri bulunmuştur (Şekil 2.3) [21].



Şekil 2.3. Karbon nanotüpe ait şematize edilmiş görüntü [22]

2.2. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Nanoteknoloji biliminin gelişmesiyle birlikte günümüzde kimya, malzeme bilimi, fizik, biyoteknoloji, tıp, gıda, elektronik, kozmetik sektörü gibi birçok alanda birbirinden farklı yapılara sahip nanomalzemelerin üretiminde etkili bir şekilde artışın söz konusu olduğu görülmüştür. Bu malzemelerden bazıları günlük yaşantımızda yer alırken, bazıları da araştırma yapanların problemlere çözüm olabilmesi için deneysel çalışmalar aşamasındadır. Nanoteknolojinin başlıca uygulama alanları Şekil 2.4'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Nanoteknolojinin uygulama alanları [22]

2.3. Nanopartiküller

Nanopartiküller (NP'ler) temel olarak bir boyutu 100 nm'nin altındaki partiküller olarak tanımlanır. Bu tanım NP'leri doğal kolloidlerle aynı boyut alanına yerleştirir [23]. Çevrede hem NP'lerin hem de kolloidlerin varlığı birkaç grup tarafından incelenmiştir [24]. NP'ler, toprak kolloidleri gibi doğal olarak kendiliğinden meydana gelebilir [25], veya istemeden oluşturulabilirler. Daha sonra istenilen herhangi bir ortama sokulabilir, bu durumda meydana gelen NP'ler genellikle tesadüfi NP'ler olarak adlandırılırlar. Örneğin, öğütme, yanma, kaynaklama veya öğütme sırasında tesadüfi NP kümeleri oluşturulabilir. Ek olarak, spesifik özelliklere sahip NP'ler spesifik uygulamalar için tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu NP'lere işlenmiş nanoparçacık denir.

NP'ler sanayi, elektronik, tıp alanında ve tüketim ürünleri gibi çeşitli sektörlerde geniş uygulamalar bulmuşlardır [26]. NP'lerin üretimi ve kullanımının 2010 yılında 10 milyar olduğu ve 2015 yılına kadar bir trilyona çıkacağı tahmin edilmektedir [27]. Bu nedenle, önemli miktarda NP'lerin üretim, nakliye ve kullanım sırasında atık veya döküntü olarak ortaya çıkacağı sonucu kaçınılmazdır. NP'lerin geniş uygulaması, yüksek yüzey alanlarından hacim oranına türetilen benzersiz özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Malzemelerin reaktivitesi yüzey alanına bağlıdır. Partikül boyutu azaldıkça bu oran artar. Bu partiküller çeşitli sektörlerde rahatlıkla uygulanabilir. Nanopartiküller doğada yaygın olarak bulunur ve kimya, fizik, jeoloji ve biyoloji gibi birçok bilim dalında çalışma

nesneleridir. Nanopartiküldeki anizotropi, nanopartiküllerin özelliklerinde birçok değişikliğe yol açar. Büyüleyici optik özelliklerinden dolayı altın, gümüş ve platinin küresel olmayan nanopartikülleri, çeşitli uygulama alanlarında kullanılmakta ve araştırma materyalleri olarak büyük ilgi görmektedir. Ayrıca, NP'lerin yüzeyi genellikle biyomembranlar veya diğer çevre bileşenleri gibi diğer bileşenlerle temas eden yüzeylerdir.

Toksisitelerine rağmen, AgNP'ler endüstride ve çeşitli tüketici ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [28]. Bu nedenle, çevreye önemli miktarlarda salınmaları da muhtemeldir [29]. Bu nedenle, doğal oluşumlarını ve çevredeki organizmalar ile etkileşimlerini anlamak oldukça önemlidir. Sudaki organizmalar üzerine olası toksik etkileri; yüzey kaplamalarına adsorbe edilebilen besin maddelerinin [30], ve kirleticilerin [31] biyoyararlanımını etkileme potansiyeli, çevreye geniş ölçüde uygulanabilir olmaları ve çeşitli doğal kaynaklar olmasının büyük bir etkisi vardır [32].

2.4. Nanopartiküllerin Genel Özellikleri

Çeşitli teknolojilerin ve ürünlerin boyutlarını küçültme ile ilgili belirgin faaliyetleri vardır. Bunlar yerden tasarruf etmeyi ve üretim-nakliye gibi işlemlerin maliyetlerini azaltmayı içerir. Örneğin, bilgisayarların ve bileşenlerinin aşamalı olarak minyatürleştirilmesi, oda boyutlu makinelerden geçişi mümkün kılmıştır [33].

Hızlı bir şekilde birden fazla karmaşık görevi aynı anda gerçekleştirebilen cep boyutundaki cihazlarda basit hesaplamalar yapabilme yeteneğine sahiptir. Teknolojiler, kesin özelliklere göre moleküllerin manipülasyonunu ve oluşturulmasını içeren, aynı zamanda daha etkili işlev gören ve yeni roller gerçekleştirebilen yeni malzemelerin oluşturulmasına izin verir. Bunun nedeni, çeşitli fiziksel özelliklerin nanoparçacıkları daha büyük malzemelerden ayırmasıdır. Bunlar potansiyel kullanımlarına olan ilgiyi büyük ölçüde körükleyen özelliklerdir [34]. Küçük boyutları nedeniyle, nanopartiküller çok geniş bir yüzey alanına / hacim oranına sahiptirler. Bu sebeple, aynı kimyasal bileşimin büyük bir parçacığına kıyasla parçacığın yüzeyinde parçacık oluşturan atomların sayısı artar. Bu özellik, çözünme hızının arttığı biyomedikal uygulamalarda kullanım için özellikle tercih edilme sebeplerindedir [35]. Tablo 2.1'de farklı çaplardaki parçacıklarda yüzey moleküllerinin yüzdesi gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Farklı çaplardaki parçacıklarda yüzey moleküllerinin yüzdesi [35]

Partikül Boyutu (nm)	Yüzey Molekülleri %
1	100
10	27,1
100	2.97
1,000	0,3
10,000	0,03

2.5. Nanomateryaller

Nanomateryaller 100 nm altı parçacıklar veya yapılar olup nanopartiküller, fullerenler, karbon nanotüpler, kuantum noktaları, dendrimerler, nanoporöz malzemeler ve biyolojik nanopartiküller gibi diğer karbon bazlı molekülleri içermektedir [36].

2.6. Gümüş Nanopartiküllerin Tarihçesi

Gümüş NP'ler ilk olarak 100 yıldan fazla bir süre önce, özellikle fotoğraf ürünlerinde ve biyositlerde tüketim maddesi olarak eklenmiştir [37]. AgNP'lerin ilk kayda değer sentezi Lea [38] tarafından "allotropik" bir gümüş formunun hazırlanmasında bildirilmiştir. Lea, gümüşün tam biçimini bilmiyordu, ancak Frens vd., [39], Lea'nun el yazmasında belirtilen yöntemlerden sonra gümüş kolloidleri sentezlemişlerdir. AgNP'lerin büyüklüğünün 37-45Å (3,7-4,5nm) olduğu ve küresel şekilde olduğu bu çalışmalarla vurgulanmıştır. Bu ürünlerin antimikrobiyal aktivitesi, 20. yüzyılın başlarında popülaritesini artırmıştır. Collargol, Argyrol ve Protargol gibi marka isimleri tıbbi bir Ag olarak kabul edilmiş ve 50 yıldan fazla bir sürede popüler hale gelmiştir. Bu süre zarfında doktorlar genellikle sifiliz gibi bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için AgNP'leri uygulamışlardır [40]. Halen biyosidal ajanlar ve tıbbi takviyeler olarak sıkça kullanılmaktadır (örn. MesoSilver®). Yapılan araştırmalar AgNP kullanım eğiliminin yakın geçmişte giderek artacağını ortaya koymuştur.

2.7. AgNP'lerin Genel Özellikleri ve Uygulama Alanları

Saf gümüş, yüksek termal elektrik iletkenliğine ve nispeten düşük temas direncine sahiptir, bu da onu elektronikte popüler bir seçenek haline getirmektedir. Gümüş nanopartiküller veya nanoteller [41], baskılı devre kartları için macunlar ve mürekkepler, optoelektronik, veri depolama cihazları ve pil bazlı interkalasyon malzemeleri olarak ince film transistör elektrotları üretmek için kullanılmıştır [42]. Oldukça küçük boyutlarından dolayı AgNP'ler, yüksek yüzey enerjisi ve daha olası reaktif bölgeler sunan geniş yüzey

alanına sahiptir [43]. Bu özellikler AgNP'leri katalizde en umut verici malzemelerden biri olarak nitelendirmiştir. AgNP'ler ve nanokompozitler, eşsiz özelliklerinin bir sonucu olarak, DNA'nın saptanması, sisteinin seçici kolorimetrik algılanması, duyarlı pürin nükleosid fosforilaz aktivitesi ve civanın seçici kolorimetrik algılanması dahil olmak üzere algılama ve görüntüleme uygulamalarında kullanılmaktadır [44].

AgNP'lerin zararlı bakterileri öldürme yeteneği uzun zamandır araştırmacıların dikkatini çekmiş ve bundan dolayı çeşitli ürünlere eklenmeleri giderek popüler hale gelmiştir [45]. AgNP'ler geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu sergiler ve Gram-pozitif ile Gram-negatif bakterilerin (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* dahil) büyümesini inhibe ederler [46]. Farklı antibakteriyel aktiviteleri, çoklu ilaca dirençli klinik öneme sahip dayanıklı patojenler, *P. aeruginosa*, ampisilin dirençli *E. coli* ve eritromisin dirençli *S. pyogenes*, gibi türler için rapor edilmiştir [47]. Başka bir çalışmada ise çeşitli antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesinin AgNP'lerin varlığında arttığı ortaya konulmuştur [48]. Ayrıca nanogümüşlerin etkili bir fungusit olduğunu belirleyen çalışmalar da mevcuttur. AgNP'lerin, *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* dahil olmak üzere bir dizi mantar suşunu öldürebildiği bilinmektedir [48].

Nanogümüşler ayrıca antiviral özelliklere sahiptirler. Herpes tamponunda sentezlenen AgNP'lerin HIV-1 replikasyonunda yaşayabildiği ve anti-HIV aktivitesinin (% 98) altın nanoparçacıklardan (% 6-20) çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir [49]. Ayrıca Hepatit B ve Herpes simpleks virüsünü engellemede etkili oldukları tespit edilmiştir [50].

AgNP'ler tüketici pazarında geniş bir ürün yelpazesine sahiptirler. Piyasada nanomalzeme içeren 1317 ürünün 313'ünün AgNP içerdiği iddia edilmektedir [51]. Ürünler arasında gıda ambalaj malzemeleri, gıda saklama kapları, arıtıcılar, kokuya dayanıklı çoraplar ve iç çamaşırları, oda spreyleri, çamaşır deterjanları, çamaşır makineleri, losyonlar ve sabunlar bulunmaktadır. Ayrıca, AgNP'ler yara sargıları, kadın hijyen ürünleri, cerrahi aletler, kemik çimentoları ve implante edilebilir cihazlar dahil olmak üzere tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [52].

2.8. AgNP'lerin Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

AgNP'lerin günlük yaşamımızda yaygın olarak uygulanması kaçınılmaz olarak insan ve ekosistem maruziyetini de artırmaktadır. Ayrıca, AgNP içeren ürünlerin üretimi, taşınması, erozyonu, yıkanması veya bertarafı sırasında AgNP'ler çevreye salınabilir.

Gümüşün uzun tarihsel kullanımı belirgin olumsuz etkiler göstermese de AgNP 'lerin çevre üzerindeki potansiyel riskleri hakkında endişeler vardır. AgNP'lerin çevreye sızması ve bulaşı hakkında bir dizi literatür raporu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, AgNP 'lerin çevredeki davranışı, biyotik ve abiyotik bileşenlerle etkileşimleri veya canlı organizmalara yol açabilecekleri potansiyel toksik etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir [47].

Yapılan çalışmalar AgNP içeren çorapların çalkalanarak suya daldırılmasıyla kolayca suya geçebileceğini ortaya koymuştur. Bazı çorap markalarının, arka arkaya dört yıkamadan sonra toplam gümüş içeriğinin yaklaşık %100'ünü bile kaybedebilecekleri ortaya konmuştur. Tüketicilerin gümüş nanotekstillere maruziyetini anlamak için yapılan bir çalışmada normal yıkama işlemi sonrası insan derisi terini test etmişlerdir. Bu amaçla AgNP'ler yüzey aktif cisimlerine, oksitleyici maddelere, farklı pH'a, çamaşır makinelerine ve simüle edilmiş terleme sıvılarına maruz bırakılmıştır [53]. Düşük pH, mekanik stres ve ağartma mevcudiyetinin Ag'nin çözünmesini büyük ölçüde artırdığı ve katılma şeklinin Ag salınımının miktarını ve biçimini belirlediği gösterilmiştir [54]. Ag'nin simüle edilmiş terleme sıvılarında önemli ölçüde salınması, AgNP içeren tekstil ürünlerinin kullanımında potansiyel insan riskini ortaya koymuştur [55]. Ayrıca AgNP'lerin çamaşır makinelerinin altından hava koşulları ile ve dış cephelerden salındığı da bildirilmiştir [49]. Bakterileri öldürmek için AgNP ürettiğini iddia eden ticari çamaşır gümüş naneli yıkama makinelerinin, atıklarında ortalama $11\mu\text{L L}^{-1}$ konsantrasyonunda gümüş salgıladıkları bulunmuştur [51].

Cleveland vd. [50] 'nin yaptığı bir çalışmada AgNP tüketim ürünlerinin, 60 günlük deney süresi boyunca büyük miktarda Ag'nin ya östuarin biyotası veya adsorpsiyon tarafından alındığını bulmuşlardır. Araştırmacılar; tortu, kum ve biyofilm ile artan maruziyet ve sert ıstiridye, çim karides, çamur salyangoz ve cordgrass sapları ve yaprakları gibi organizmalarda meydana gelen Ag birikiminin çok önemli miktarda olduğunu tespit etmişler ve insanları AgNP'lerin potansiyel tehlikelerine daha fazla dikkat etmeleri konusunda uyarılmışlardır [50].

Piyasadaki geniş kullanım ve AgNP potansiyel riski göz önüne alındığında, AgNP ürünlerini kullanmak için acele etmeden önce AgNP'lerin çevresel ve toksikolojik kimyası üzerinde sistematik bir çalışmaya ihtiyaç vardır [56]. AgNP'lerin analizi, kaynağı, kaderi, nakliyesi ve AgNP'lerin potansiyel riskleri de dahil olmak üzere AgNP'ler hakkındaki bilgi durumunun eleştirel bir incelemesinin sağlandığı ve bazı açık sorularla tartışıldığı çalışmalar da mevcuttur [57].

2.9. Gelecek Vaat Eden Uygulama Alanları

Nanoteknoloji genellikle farklı disiplinleri bir araya getiren ve bu disiplinlerarası yaklaşımın toplumdaki günümüz sorunlarının çoğunu çözebilecek yeniliklere katkıda bulunan bir bilim dalıdır.

Nanoteknoloji, şeffaflığı artırılmış güneş kremleri ve vücuda daha derin hedefleme yeteneğine sahip nanopartiküller içeren kozmetikler gibi dökme ürünler için ticari uygulamalarda zaten kullanılmaktadır. Kozmetik şirketleri, mevcut ürünlerini geliştirmek için nanoteknolojiyi sıkça kullanmakta olup L'Oreal gibi şirketlerin çok sayıda nanoteknoloji patentine sahip olduğu bilinmektedir [58]. Ayrıca dolgu maddesi olarak nanoparçacıklar muazzam bir pazara sahip kompozit malzemelere dahil edilmiştir. Nanoparçacıklar malzemenin özelliklerini değiştirebilir. Örneğin metal sertleştirme, seramik yumuşatma ve alaşımlar meydana getirme gibi işlemler bunlardan sadece birkaçıdır. Kil nanopartikülleri ekleyerek malzemeleri daha güçlü, daha hafif, daha dayanıklı ve çoğu zaman şeffaf hale getirmek mümkündür. Bunlar özellikle havacılık ve uzay sanayiinde, ambalajlamada ve otomobil endüstrisinde potansiyele sahip nanomateryal özellikleridir [58]. Diğer kullanım alanları arasında güneş enerjisi toplama (fotovoltaikler), tıbbi teşhis araçları ve sensörleri, esnek ekran teknolojileri, tutkallar, boyalar ve yağlayıcılar, çeşitli optik bileşenler ve elektronik devre kartlarını saymak mümkündür [59].

Nanoteknoloji yardımıyla geliştirilen akıllı tekstil ürünleri de vardır ve uzun vadede tekstillerin fiziksel özelliklerini çevre koşullarına göre değiştirmeleri, hatta hayati sinyalleri izlemeleri beklenmektedir [60]. Nanopartiküllerin tekstile sokulması, suya, lekeler ve kırılmaya karşı dirençli çok hafif ve dayanıklı tekstil ürünleri üretmeyi mümkün kılabilir.

Tıbbi uygulamalar insan refahı konusunda en büyük beklentileri olan alanlardan biridir. Yeni materyallerin geliştirilmesi ve nanoteknoloji ile biyoteknolojinin bir kombinasyonu ile hasarlı sinir hücrelerini onarabilen, hasarlı deri, doku veya kemiğin yerini alabilecek hücre büyümesi yoluyla yapay organlar ve implantlar yapmak mümkün olabilir [58]. Ayrıca, bilgi teknolojisi ve tıbbin sinerjisinde; kişisel tıbbi izleme için tanı testlerine son derece hassas ve hızlı yanıt süresi sağlayan cihazların yapılması sağlanacaktır. Tıptaki bir başka uygulama alanı, özellikle nanoparçacıkların ilaç vermek için manipüle etme olasılığı yoğun olduğu için ilaç dağıtımıdır. Çünkü nanoparçacıklar daha büyük partiküllerden daha iyi bir çözünürlük ve emilim potansiyeline sahip olabilmektedir. Nanoparçacıklar ilacı taşıyabilir ve belki de uzun bir süre boyunca

hedeflenmiş bir alana ince ayarlanmış dozlarda bırakabilir ve geleneksel ilaçların yan etkilerini azaltabilir [61].

Nanoteknoloji yardımıyla gelecekteki çevresel uygulamalar da geliştirilecektir. Örneğin, karbon nanotüpleri, hidrojen için bir depolama ortamı olarak yenilenebilir enerji için yeni olanaklar sunmaktadır. Araştırılan diğer uygulama alanlarından birisi de biyoremediasyon veya toprak kirliliğini temizlemek için kullanılan biyolojik organizmalar olarak kullanılacak nanopartiküllerdir. Topraktaki kirleticilerin çoğu geri dönüştürülemez ya da faydalı hale getirilemez, ancak toprak yapısında gözenekler içinde kilitleyip kalırlar. Nanoparçacıklar kullanılarak, kirleticileri kontrollü bir şekilde biyolojik olarak kullanılabilir hale getirilmeleri ve biyoremediasyonda görevli organizmaların hızlı bir salımla öldürülmemelerini sağlamak için kasıtlı olarak mobilize etmek mümkün olabilecektir.

İşleri öncekinden daha küçük, daha hafif ve daha hızlı yapmanın gelişimi uzun yıllardır devam ediyor. Bu gelişmiş hassasiyet, mevcut ürünlerin ve işlemlerin daha etkili olmasını sağlayabilir. Böylelikle daha az hammadde ve enerji gereksinimi ortaya çıkar. Özellikle aşağıda belirtilen alanlarda nanoteknoloji yüksek uygulama potansiyeline sahiptir;

- 1 - Ekranlar için Organik Işık Yayan Diyotlar (OLED'ler)
- 2 - Işığı elektriğe dönüştüren fotovoltaiik film
- 3 - Kendilerini UV ile temizleyen çizilmeye dayanıklı kaplamalı pencereler
- 4 - Lekelere ve kontrol sıcaklığına dayanıklı kumaşlar
- 5 - Akıllı giysiler nabzı ve solunumu ölçer
- 6 - Bucky-tubeframe hafif ama çok güçlü
- 7 - Biyoyumlu malzemelerden yapılmış hipjoint
- 8 - Korozyonu önlemek için nano partikül boya
- 9 - Işığı düzenlemek için termo-kromik cam
- 10- Kompakt veri belleği için manyetik katmanlar
- 11- Elektronik ve araçlara güç sağlamak için karbon nanotüp yakıt hücreleri
- 12- Nano tasarımı koklear implant

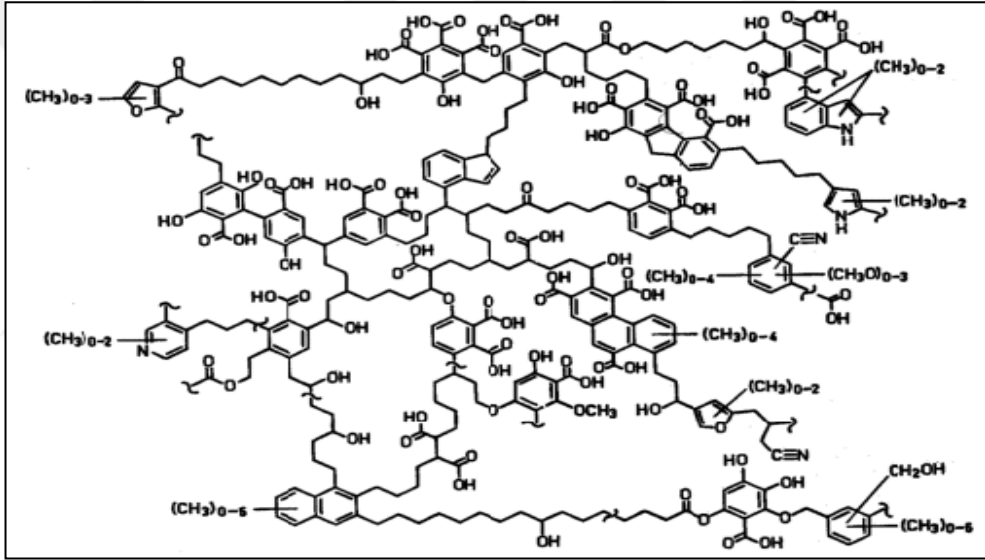
2.10. Hüyük Asit ve Yapısal Özelliği

Humus ilk önce topraklarda bulunan ve değişken çürüme durumlarında bulunan organik maddenin bir bileşeni olarak tanınmıştır [62, 63]. Canlı organizmalar karbon bazı

olduğundan, orada büyüyen bitkilerin üretimi ve ayrışmasıyla ekosistemler aracılığıyla karbon döngüleri gerçekleşir.

Bitkiler öldükten sonra, topraktaki mikrobiyal topluluk, bitkilerin moleküler yapılarını parçalanana, yeni bileşiklere dönüştürülene ve sonunda toprağa organik madde veya humus olarak dahil edilene kadar ayrışmaya başlar [64]. Bitki örtüsünün türüne ve ayrıştığı sürece bağlı olarak farklı humus türleri oluşturulabilir [65].

Bitkiler, toprak mantarları tarafından öldükten sonra yavaş yavaş parçalanan büyük organik moleküllerden oluşan canlılardır. Bu ayrışma süreci gerçekleştikçe, lignin veya selüloz gibi büyük yapılar hümik asitler gibi moleküllere ayrılır [66]. Aşağıda Şekil 2.5’de hümik asitin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Hümik asitin kimyasal yapısı [67]

Yüksek kation değişim kapasitesine sahip toprak parçacıkları, bitki büyümesi için gerekli olan potasyum, kalsiyum veya magnezyum gibi katyonlara tutunmak için bir afiniteye sahiptir. Bu büyük hümik asit molekülleri, katyonlara olan afiniteleri nedeniyle toprak partiküllerine yapışabilir ve bölgenin ortamına bağlı olarak toprakta kalabilir [68]. Daha yüksek ayrışma hızına sahip ekosistemler (sıcak, nemli alanlar), moleküler yapıları parçalamak için daha düşük ayrışma hızlarına sahip alanlara kıyasla daha kısa bir süre için hümik asitleri tutacaktır [69]. Toprak parçacıklarına çekildikten sonra, hümik asitler toprak parçacıklarına benzer şekilde topraktaki ek iyonları tutabilir.

İyonlara tutunan bu afinite, toprağın katyon değişim kapasitesini artırabilir ve topraktan besin kaybını azaltmaya yardımcı olabilir. Hümik asitler bunu topraktaki bağlanma yerlerinin miktarını artırarak ve katyonlarla bağlayarak yapabilir [70]. Toprak parçacıklarına ve hümik asitlere bağlanan katyonlar daha sonra bölgeye farklı bir katyon bağlandığında değiş tokuş edilebilir. Toprak tarafından tutulabilen katyonların miktarı katyon değişim kapasitesi olarak bilinir [62]. Toprakta ve hümik asitlerde bulunan temel katyon elementleri bitkiler tarafından büyüme ve metabolik aktiviteler için kullanılabilir. Hümik asitler zamanla yavaşça parçalandığından, toprağa daha fazla katyon eklenmesinden ziyade katyonların tutulması yoluyla toprak sağlığına katkıda bulunurlar [71, 72].

Hümik asitlerin, katyon değişim kapasitesinin artmasına rağmen toprakta daha fazla iyon tuttuğu gösterilmiştir [62, 73]

2.11. Hümik Madde ve Bileşenleri

Doğal organik madde, karasal, sucul ve kömür alanları da dahil olmak üzere çevre boyunca yaygın olan organik asitleri ifade eder. Doğal organik madde protein, selüloz içeren bitki maddesinin mikrobiyal parçalanmasını takiben çevrede doğal olarak oluşur. HA'lar toprakta çoğunlukla karasal, sucul ve deniz ortamlarında bulunur. Normal olarak turba, gübre, linyit kömüründen çıkarılırlar ortamda lignin, lipitler, kütinler ve kesitler [74]. Doğal organik madde iki ana kategoride sınıflandırılır; hümik olmayan maddeler ve hümik maddeler (HM). HM'ler ana bileşenleri oluşturur ve ilk olarak 1786 yılında Achard tarafından turba alkali ekstraktının asitleştirilmesiyle koyu bir çökeltinin izolasyonu yoluyla keşfedilmiştir [75].

HM'ler en iyi karmaşık olarak tanımlanabilir, çürümüş organik maddenin heterojen ve çoklu dağılmış karışımı [76]. Su çözünürlüğü pH'a bağlı olduğundan, HM'ler ayrıca aşağıdaki gibi üç ana fraksiyona ayrılır: humin, tüm pH değerlerinde suda çözünmez, fulvik asit (FA) tüm pH değerlerinde su ve hümik asit (HA) 2'den yüksek pH değerlerinde çözünür; sonuç olarak, sucul çevreye HA'lerin fulvik ve HM bileşenleri çoğunlukla hakimdir (%50-80) [77].

HA'lar, oluşturuldukları bileşenlerden oluşur. Karasal HA'lar çevrede oluşur ve esas olarak linyinler ve tanenler içeren bitkilerden türetilir [78]. Sucul ortamlarda bulunan HA'lar temel olarak basit sucul bitkilerden ve yosun ve bakteri gibi organizmalardan elde edilir. Genel olarak HA'lar üç ana bileşenden oluşur: alifatik hidrokarbonlar, aromatik

kısımlar; esas olarak linyinler, tanenler ve karbonhidratlardan türetilen fenolik, karboksilik ve metoksil bileşenleridir.

2.12. Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* L., 1758)

Canlılar arasında tür sayısı bakımında en kalabalık balıklar olarak bilinirler. Bilimsel olarak; Şube: Chordata, Altşube: Gnathostomata, Sınıf: Pisces, Alt sınıf: Teleostei, Ordo: Cypriniformes, Familya: Cyprinidae, Cins: *Cyprinus*, Tür: *Cyprinus carpio* L., 1758 şeklinde sınıflandırılmaktadırlar.

Habitat: Sazan genellikle düşük irtifada durgun veya yavaş akan sulara, özellikle bol miktarda su bitkisinin bulunduğu bölgelerde bulunur. Ayrıca bazı nehirlerin ve kıyı göllerinin acı alt kısımlarında da bulunurlar.

Çeşitli çevresel koşullara tolerans gösterebilirler. Düşük oksijen seviyelerine, kirleticilere ve bulanıklığa toleransları çoğu yerli balığa göre daha fazladır ve genellikle durgun sular da dahil olmak üzere bozulmuş habitatlarla ilişkilidir. Son birkaç on yılda su akışındaki değişiklikler, su kalitesindeki düşüş ve nehir habitatlarındaki diğer değişiklikler sazan lehine birçok yerli balığı olumsuz etkilemiştir [79].

Üreme: Uygun koşullar altında, sazan oldukça verimlidir. Erken olgunlaşırlar - erkekler için 1 yıl ve kadınlar için 2 yıl - ve dişiler çok sayıda yapışkan yumurta üretir (6 kg balık için 1,5 milyona kadar). Sazan, üreme mevsiminde, bazen yüzlerce kilometre seyahat ederek üreme alanlarına ve alanlarından göç eder. Çoğu yumurta ve larva yetişkinliğe ulaşmadan ölür, ancak çevresel koşullar uygunsuzsa daha fazla hayatta kalabilir. Taşkınlar, sazan yetiştiriciliği için özellikle elverişli koşullar ve çocuklar için bol miktarda yiyecek sağlıyor gibi görünmektedir. Bu, sazanların neden 1970'lerin büyük selleri sırasında böyle bir nüfus patlaması yaşadıklarını açıklamaya yardımcı olabilir [80].

Beslenme: Sazan omnivordur ve diyetleri mevcut olana bağlı olarak değişir. Yumuşakçalar, kabuklular, böcek larvaları ve tohumlar gibi bir dizi küçük gıda maddesi tüketirler. Bu gıda maddeleri alttan emilir (çamur ve su ile birlikte) ve solungaç tırmıkları kullanılarak süzülür. Ayrıca, özellikle diğer gıda kaynakları olmadığında (örneğin kış aylarında) bitki materyali ve genel organik madde tüketebilirler. Sazan nadiren balık yer, ancak balık yumurtası ve larva tüketebilir ve üreme alanlarını rahatsız edebilir. Yetişkin sazanların doğal yırtıcıları yoktur. Murray morina, altın levrek ve bas gibi büyük yırtıcı yerli balıklar, genç bir sazan tüketebilirler, ancak bunlar tercih edilen bir av ögesi değildir [81].

Bilimsel araştırmalarda model organizma olarak kullanılan ve deneysel çalışmalarda en az maliyetli tür olan Sazan (*Cyprinus carpio*), sazangiller Cyprinidae familyasına ait bir tatlı su balığıdır (Resim 2.1).

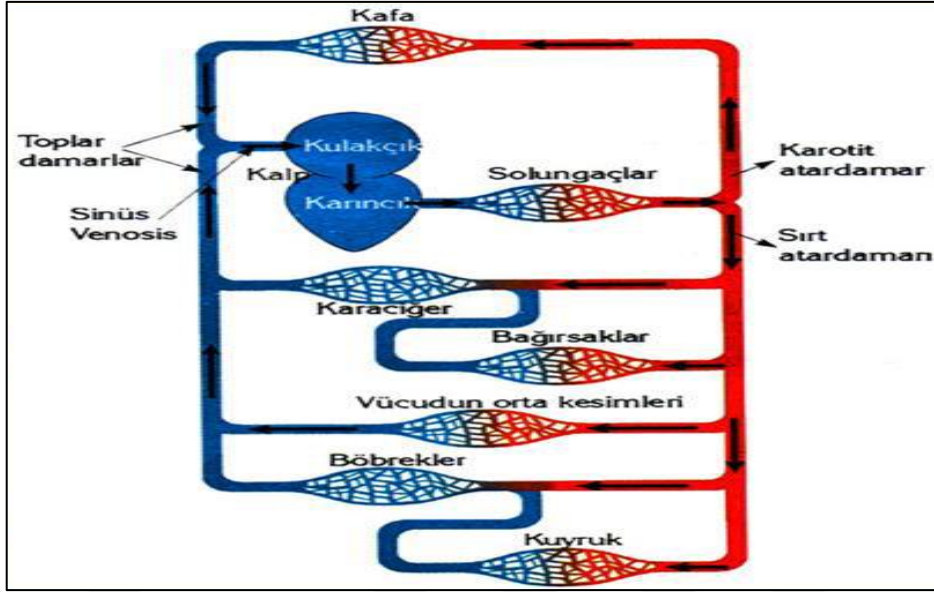


Resim 2.1. Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* L., 1758) [129]

Gl ve debisi yavaş akan derelerde yařamsal faaliyetlerini srdrrlen.

2.13. Balıklarda Hematolojik Parametreler ve Dolaşım Sistemi

Balıklar sucul canlılar olduklarından su ortamlarına gelecek tüm olumlu veya olumsuz etkilere karşı çok hassas olan canlılardır. Bunun nedeni balıkların portal kanallarının, suyun ortamındaki hareketlere göre oluştuğundandır. Bu kanallar boşaltımda ve beslenmede kullanıldıkları için toksik etkilere ve hastalıkların araştırılmasında temel materyal olarak kullanılır. Balık kanlarında eritrositler çekirdekli yapıda olup miktar bakımından az denilebilecek sayıdadır. Akyuvar ile alyuvar kıyaslandığında sayı olarak neredeyse aynıdırlar. Balık kalpleri iki odacıklı olup kalplerinde daima kirli kan taşırlar. Solungaçlar sayesinde temizlenmiş kan dorsal (sırt) aort kanalıyla kuyruk bölgelerine uzayıp hepatik portal ven, renal portal ven ile ventralin alt kısımlarına kadar uzanır [82]. Şekil 2.7’de balıkların dolaşım sistemi gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Balıklarda dolaşım sistemi [130]

Kan analizleri balıklarda hastalıkların tanısında, balıkların fizyolojik durumlarının değerlendirilmesinde, tanısında ve diğer çevre faktörlerinin saptanmasında önemli bir yere sahiptir [83]. Kan hücrelerinden eritrositlerin sayısı, kanın oksijen taşıma kapasitesi ve eritropoietik dokuların işlevlerinin yansıtılmasında önem arz eder [84].

Kan biyokimyası, zehirli maddelerin fizyolojik davranışlarının analizinde yardımcı olmakla birlikte hematolojik analizlerin toksikolojik ajanların etki düzeylerini belirlemede oldukça önemli bir kan testi parametresidir. Balığın kan ölçümleri zehirli ajanların etkisini, canlının yapısal ve işlevsel olan özelliklerin tespitinde önemli veriler sunmaktadır [85]. Bu nedenle alyuvar, hemoglobin (Hb) ve akyuvar gibi hematolojik değişkenler; MCHC (eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrisi), MCV (ortalama eritrosit hacimleri) ve MCH (ortalama eritrosit hemoglobin miktarı) benzeri hematolojik, plazma glikoz ile protein benzeri biyokimyasal parametrelerin, balıklarda toksikolojik maddelerin belirlenmesinde kullanılır [86].

Balıklarda bulunan eritrositler (kırmızı kan hücresi, RBC) diğer kan hücreleri ile olan ilişkilerinden dolayı sayıca en çok bulunan kan hücrelerdir [87]. Eritrositler kırmızı renklidir ve bunun nedeninin protein yapılı globulin ile demir yapısını bulunduran hemoglobin pigmentlerinden kaynaklandığı belirtilmektedir [88]. Balıkların türlerine göre eritrositlerin kan içindeki miktarları $0,06 \times 10^3/\mu\text{l}$ - $5,3 \times 10^6/\mu\text{l}$ arasında değişmektedir [89]. Eritrosit değerlerinde görülebilecek değişimler hastalık belirtisinin olduğunun tanısı olarak kullanılmaktadır. Kan parametrelerinin incelenmesi, canlılarda yapılan deneysel

çalışmalarda çok önem taşımaktadır. Bu tür yöntemler canlının fizyolojik yapısı ve araştırmacılar için uygun verilerin sağlanmasında yardımcı olur [90].

Kırmızı kan hücreleri sularda çözülen oksijenin %99 kısmını da taşırlar [91]. Anemi hastalığının tespitinde hemoglobin, eritrosit ve hematokrit değerlerine bakılır. Ayrıca ortalama eritrosit hacimleri (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ile eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) değerleri aneminin belirlenmesinde etkilidir [92]. MCV, oksijeni taşıyan hücrenin ortalama büyüklüğü olarak belirlenir. MCV düşük olduğunda eritrositler küçüktür, fazla ise genişlemiş olarak belirlenir. Kalbin hareketi kanın akışının belirlenmesinde önemli belirteçlerden biri olan MCV, osmoregülasyon durumların belirlenmesinde kullanılır [93]. Solunum fonksiyonların belirlenmesinde, eritrosit oranına düşen ortalama hemoglobin (MCH),eritrositlerde bulunan hemoglobinin miktarı önemli belirteçdir [94]. Hematokrit (Hct), kırmızı kan hücrelerde yüzdelik oranı kabul edilerek aneminin belirlenmesinde kullanılan önemli kriterdir [95]. Ölçümlerinin basit olmasından dolayı çok kullanılan parametrelerden biridir. Ayrıca balıkların düzgün beslenmemesi ya da anemi durumunda Hct miktarı azalır, dehidrasyon durumlarında belirgin artış ortaya çıkar. Farklı tip anemi durumlarında MCHC miktarlarında değişiklikler ortaya çıkabilir [96].

2.14. Nanopartiküllerin Balıklara Etkileri

Balıklar çok çeşitli ksenobiyotik kimyasallara karşı hassas oldukları için çevre sağlığının mükemmel belirteç canlılarındandır. Sudaki besin zincirindeki konumları, balıkların popülasyonlarının değerlendirilmesi aynı zamanda sudaki diğer düşük trofik seviyelerin sağlığına dair bir gösterge olabileceği anlamına da gelmektedir. Bu nedenle NP'lerin balıklar üzerindeki etkilerini belirlemek aynı zamanda NP'lerin sudaki ve çevre üzerindeki etkilerini de bir bütün olarak değerlendirmek anlamı taşımaktadır. Bu nedenle bu değerlendirmeyi yaparken maddeye maruz kalma, içme veya deri yoluyla ilgili unsurlar mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır [4]. Bugüne kadar yapılan az sayıda çalışma çoğunlukla, aşırı toksik etkilere neden olan nanoparçacık tiplerinin tanınması, hedef organların tanımlanması ve nanopartiküllerin balık gövdelerinde biyo-dağılımı ile ilgili olup, literatürde şimdiye kadar verilen yanıtların karşılaştırılmasına ilişkin çok az kanıt bulunmaktadır. Nano boyutlu parçacıklar ve bunların muadilleri veya maruz kalma ortamının özelliklerinin alım veya toksisiteyi nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Yukarıda belirtildiği gibi, NP'lerin sucul ortamlardaki davranışları çok sayıda farklı

fizikokimyasaldan etkilenmektedir. Tüm bu sonuçlar, sucul organizmaların bu faktörlerle kapsamlı bir şekilde ilgilenen NP'lere maruz kalmanın, karasal hayvanlarda eşdeğer inhalasyon veya oral maruziyet yapmaktan daha karmaşık olduğu anlamına gelmektedir.

2.15. Biyodeneyleler

Biyolojik deneylerde kullanılan deneysel tasarımlar, kimyasal ve fiziksel deneylerde kullanılan tipik tasarımlardan farklıdır. Çünkü canlı maddedeki içsel varyasyon, deneyin karmaşıklığını ve veri analizini arttırır. Deneysel tasarım, sadece biyolojik test birimlerindeki içsel değişkenliği hesaba katmakla kalmayıp, aynı zamanda operatörler, gün değişimi, parti değişimi, vb. gibi diğer faktörleri de dikkate almak zorundadır [97].

Bir maddenin belirli bir canlı türü üzerindeki etkisini belirlemek için biyolojik bir tahlil kullanılır. Biyolojik bir test sistemi, örneğin hayvanlar, doku, vb. konsantrasyonu (dozu) genellikle değişen bir maddeye maruz bırakılır. Biyolojik sistemin cevabının büyüklüğü doza bağlıdır. Fiziksel veya kimyasal yöntemlerin aksine, dozun bir fonksiyonu olarak maddenin aktivitesi hakkında ayrıntılı bilgi elde edilir. Biyo-tahlillerin özel bir özelliği, sonuçtaki en büyük varyasyon kaynaklarından birinin test birimleri arasındaki fark olmasıdır ve yanıt canlı maddeye bağlı olduğundan, bu, elde edilen ölçümler arasında büyük değişkenlik sağlar. Genellikle aynı türden deney organizmalarına antijenik madde gıda ve enjeksiyon yoluyla doğrudan verilir veya değişik konsantrasyonlarda maruziyet süresi değiştirilerek test yapılır [98]. Biyodeneyleler, suların kirlenmesinde, suyun kalite düzeylerinin belirlenmesinde etkili olarak kullanılmaktadır [99].

Balık ile yapılan çalışmalarda, akvaryumlarda belli sayıdaki test balıklarına, farklı konsantrasyonlarda antijenli maddeler, 48-96 saat veya 20 gün üzeri süreler boyunca uygulanmaktadır. Deneysel çalışma sonucunda hayatta kalan balıklar tespit edilerek, (subletal, letal, LC₅₀) uygulanan maddelerin doz ayarı yapılabilmektedir [100].

Sucul ortamlarda yapılan toksikolojik çalışmalar, bu ortamlarda oluşan etkilerin belirlenmesinde ilk sırada gelmektedir. Biyodeneylelerde kullanılan balıklar için çalışma sıcaklıkları, soğuk ve sıcak suda yaşayan türlere göre 25±2°C ya da 15±2°C olarak belirlenir. Biyodeneyle çalışmalarında oksijen miktarı 4mg/L'nin daha az olmayacak şekilde ayarlanmalıdır [97]. Bir maddenin, sucul ortamlarda canlının beslenme şekillerine bağlı olarak oluşturabileceği toksik etkinin belirlenmesine yönelik deneysel çalışmalarda;

- Memeli canlılarda akut-oral toksisite araştırması
- Bakterilerde akut-toksisite araştırması
- Balıklarda akut-toksisite araştırması şeklinde 3 farklı biyolojik test yapılabilir [101].

Deneylemizde sazan balıklarının seçilmesinin sebebi ekonomik değerinin olması ve ülkemizde yaygın olarak bulunmasındandır.

Bu tez çalışmasında 150 litrelik akvaryumlarda adaptasyonu sağlanmış sazan balıklarına (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) gümüş nanopartiküller (AgNP) ve hümik asit kaplı gümüş nanopartiküller (AgNP-HA) farklı dozlarda (0,03, 0,3 ve 3,0 ppm) ve sürelerde (4 ve 21gün) uygulanmış olup balıkların hematolojik parametrelerinde meydana gelen değişiklikler değerlendirilmiştir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneyleerde Kullanılan Malzemeler

Gümüş nitrat (Analitik reaktif ayar, %99,9), Trisodyum sitrat dihidrat, Hüyük asit (Teknik ayar), Sodyum bor hidrür, Polivinilpirolidon PVP10 Sigma-Aldrich (St. Louise, MO, USA) şirketinden temin edilmiştir.

3.2. Deneyleerde Kullanılan Balıklar

Deneysel çalışmalarımızda kullandığımız sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıkları Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonunda alınmıştır. Çalışmanın Etik Kurul onayı Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (EK1)(18.04.2018 tarih ve 4 sayılı onay yazısı). Çalışmalar için öncelikle balıkların 150 L'lik akvaryumda 20 gün süresince bulunduğu ortama uyum sağlamaları beklenmiştir. Uyum süresi boyunca balıklar pellet yemle beslenmiştir. Deneysel çalışmalarımızda kullanılan balıklar 1 yaşlarından küçük, yaklaşık 112-120 g ağırlığına sahip, boyları 13-15 cm arasında değişen balıklar arasından seçilmiştir (Resim 3.1).



Resim 3.1. Deneyleerde kullanılan sazan balığı (*Cyprinus carpio* L., 1758)

Sunulan proje kapsamında yaygın nanoteknoloji ürünlerinden olan gümüş partiküllerin yaygın üretim yöntemlerinden olan kimyasal indirgenme yöntemi ve bu yapıların en yaygın stabilizasyon yöntemlerinden olan sitrat ile kaplama yönteminin çevre sularına karıştığında etkileşimleri sonucu ortaya çıkabilecek muhtemel doğal organik

materyallerden hümik asit ile etkileşiminin sucul canlılar üzerine etkisi model organizma olarak seçilen sazan (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) balıklarında incelenmiştir.

Bu sayede hümik asit gibi bir doğal organik maddenin gümüş nano partiküllerinin canlılardaki toksik etkisinin arttırıp arttırmadığı hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

3.3. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Üretimi

Gümüş nanopartiküllerin sentezi Chinnapongse vd. [102]'nin belirttiği yöntemle kimyasal indirgenme yoluyla yapılmıştır [102]. Bunun için aşağıda belirtilen prosedürler uygulanmıştır:

600 rpm'de karıştırılan 400 mL kaynar distile suya, 58,8 mmol/L AgNO_3 çözeltisinden 1,690 mL ve 34 mmol/L tribazik sodyum sitrat dihidrat çözeltisinden 2,920 mL ilave edilmiştir. Sonrasında reaksiyonu hızlandırmak için damla damla 2,000 mL 100 mmol sodyum borohidrit ilave edilmesiyle çözeltinin rengi renksiz halden sarımsı kahverengiye dönmüştür. Reaksiyon 30 dakika bu şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Sonrasında 10 g/L hümik asit çözeltisi hazırlanmış ve elde edilen sitrat ile stabilize edilmiş AgNP karışımına ilave edilerek 18 saat inkübe edilmiştir. Böylelikle hümik asit ile kaplanmış AgNP'ler elde edilmiştir.

AgNP'lerin sentezlenmesinde kimyasal indirgenme yönteminin tercih edilmesinin sebebi, bu yöntemin herhangi bir agregasyon olmaksızın yüksek verim ve düşük maliyetle gerçekleştirilabiliyor olmasındandır [103]. Bu özelliklerinden dolayı kimyasal indirgenme yöntemi çevre sularına karışan nanopartiküllerin sentezi ve tespiti için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri halini almıştır.

3.4. Gümüş Nanopartiküllerin (Ag NP) Karakterizasyonu

Kimyasal indirgeme yöntemi kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis spektrumu, atomik kuvvet mikroskobu, zeta boyut analizi ve elektron mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Zeta boyut analizi

Nanopartiküllerin boy ve boy dağılımlarını incelemek ve AFM'den elde edilen verilerle karşılaştırmak amacıyla Zeta-Sizer (3000 HSA, Malvern, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Zeta Sizer, çözeltide bulunan nanopartiküllerin molekül ağırlıkları, zeta potansiyel ve hidrodinamik boyut ölçümleri için kullanılmaktadır. Cihaz; nanopartiküller,

kolloidler ve biyomoleküllerin çözeltideki partikülün boyut tayinlerinde kullanılmaktadır. Prensipte dinamik ve elektroforetik ışık saçılması yöntemiyle çalışılmaktadır.

Sentezin sonucunda yıkanıp santrifüjlenen nanopartiküller deionize su ile seyreltilmiş ve yaklaşık 2 ml hacimli örnek çözeltisi, polistiren küvet içerisine konulmuştur. Deneyler örnek çözelti içerisinden lazer ışığının geçirilmesi sonucu gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. Atomik kuvvet mikroskobu

Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonunun belirlenmesinde yarı iletken modda atomik kuvvet mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılmıştır. Örnekler 1 µm/sn tarama hızında, 256 x 256 piksel çözünürlükte, 500 x 500 nm'lik alanın görüntüsü olarak alınmıştır.

3.4.3. Elektron mikroskobu

Elektron mikroskopisi ölçümleri 5kV gerilim altında 60000x büyütme ile vakum ortamında yapılmıştır.

3.4.4. UV-Vis spektrumu

Sentezlenen AgNP'lerin UV-görünür spektrumları, 300-700 nm aralığında seyreltilmiş kollodial nanopartikül çözeltileri ile alınmıştır.

3.4.5. FT-IR

Nanopartikül yüzeyindeki modifikasyonların değerlendirilmesi için FTIR-ATR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS10, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır. Fonksiyonel monomer örneği cihazın örnek yuvasına yerleştirilmiş 400-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında yüzeyde gerçekleşen toplam yansıma miktarı ölçülmüştür.

3.5. Gümüş Nanopartiküllerin Sazan (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) Balıkları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Araştırmada kullanılacak balıklar Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonunda hibe yolu ile temin edilmiştir. Deney öncesi balıklar 20 gün boyunca akvaryum ortamına adaptasyonları

sağlanmıştır. Bu süre içerisinde balıklar pelet yem ile beslenmiştir. Deney süresince balıklara 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodu uygulanmıştır. Deneysel çalışmadan önce ve sonrasında akvaryumdaki suyunun kalite kriterleri (Çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, sertlik, elektrik iletkenliği, amonyak ve bulanıklılık) belirlenmiştir. Deneyde kullanılacak balıklar pullu sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) ortalama ağırlıkları 112-120 ve boyları 13-15 cm olarak tasarlanmıştır.

Bu araştırmada, akvaryumda adaptasyonu sağlanmış sazan balıklarına akvaryumdaki son derişimleri 0,03, 0,3 ve 3,0 ppm olacak şekilde gümüş nanopartüküllerin (Ag-NP) ilave edilmesiyle yürütülmüştür.

Elde edilen hümit asit kaplı gümüş nanopartüküllerin farklı dozlarda (0,03, 0,3 ve 3,0 ppm) ve sürede (4 ve 21gün) uygulama sonucunda balıklarda; hematolojik, etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.5.1. Deney ve akvaryum düzeneği

Minimum düzeyde tutularak her grupta 7 balık yer almıştır. Aşağıdaki deney grupları dikkate alındığında hem akut hem de sub-kronik faz gruplarının her birinde 7 balık (N:7 adet) olmak üzere toplam 112 adet sazan balığı kullanılmıştır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Deneylerde kullanılan akvaryum sistemi

Tablo 3.1. Deney grupları

4 gün Akut	Deneyde kullanılan Hayvan Sayısı (N)	21 gün Sub-kronik	Deneyde kullanılan Hayvan Sayısı (N)
1.Grup: Kontrol Grubu	7	1.Grup: Kontrol Grubu	7
2.Grup Hümik Asit (HA)	7	2.Grup Hümik Asit (HA)	7
3.Grup: 0,03ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7	3.Grup: 0,03ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7
4. Grup 0,3ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7	4. Grup 0,3ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7
5. Grup 3ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7	5. Grup 3ppm Gümüş nano partikül (AgNP)	7
6.Grup: 0,03ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7	6.Grup: 0,03ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7
7.Grup: 0,3ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7	7.Grup: 0,3ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7
8.Grup: 3ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7	8.Grup: 3ppm hümik asit kaplı Gümüş nano partikül (AgNP-HA)	7

Deney sonunda balıklardan kan, anestezi madde (fenoksi etanol 0,5ppm) uygulandıktan sonra canlı canlı direk kuyruktan alınmıştır. Kan örneklerinin bir kısmı antikoagülan madde (EDTA) içeren tüplere alınarak, 30 dakika içerisinde hematolojik analizleri yapılmıştır. Alınan kanın bir kısmı ise 10 ml'lik cam biyokimya tüplerine alınarak 5 dakika süreyle 4000 rpm'de soğutmalı santrifüjde serumları elde edilip hormonal analizleri yapılacağı zamana kadar -40°C'ye ayarlı deep-freezer'de muhafaza edilmiştir.

3.6. Analizler

3.6.1. Hematolojik analizler

Balıklarda hematolojik analizlerin tespitinde veteriner çalışmalarda kullanılan Ms4 (Melet Schloesing 4, Fransa) kan sayım cihazı için uygun hazır ticari kitler (Cat. No: WD1153) kullanılmıştır.

3.6.2. İstatistiksel analizler

Deneyisel çalışmaların sonucunda elde edilen istatistiksel verilerin hesaplanmasında SPSS (Versiyon 16) programının Van Whitney U ve Kruskal Wals testleri, varyans analizleri için ise $p < 0,05$ seviyesinde Duncan modeli kullanılmıştır.

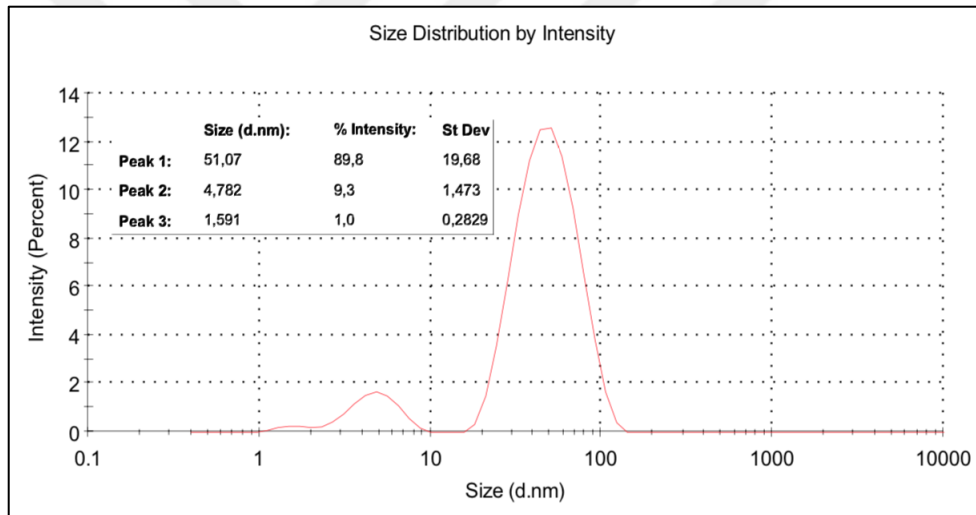


4. BULGULAR

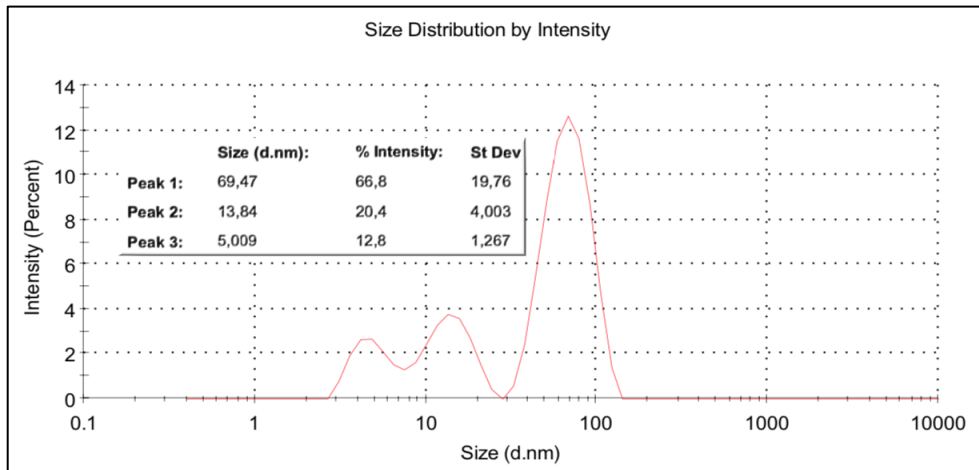
4.1. Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) Üretimi ve Karakterizasyonu

4.1.1. Zeta boyut analizi

Gümüş nanopartiküllerin sulu ortamda 30 dakika sonikatör yardımıyla dağıtılması ile elde edilen zeta boyut analizi sonucunda brownian harekete bağlı olarak nanopartiküllerin hidrodinamik çapları Şekil 4.1.a' da görülen üç yaygın dağılımda elde edilmiştir. Sitrat ve hümik asit kaplı yapılar değerlendirildiğinde hümik asit kaplaması sonrası her bir dağılım bölgesinde ortalama çaplarda artış gözlenmiştir (Şekil 4.1.b). Bu durum hümik asit yapısının sitrat yapısına göre çok daha fazla bir moleküler boyuta sahip olması ile açıklanabilir.



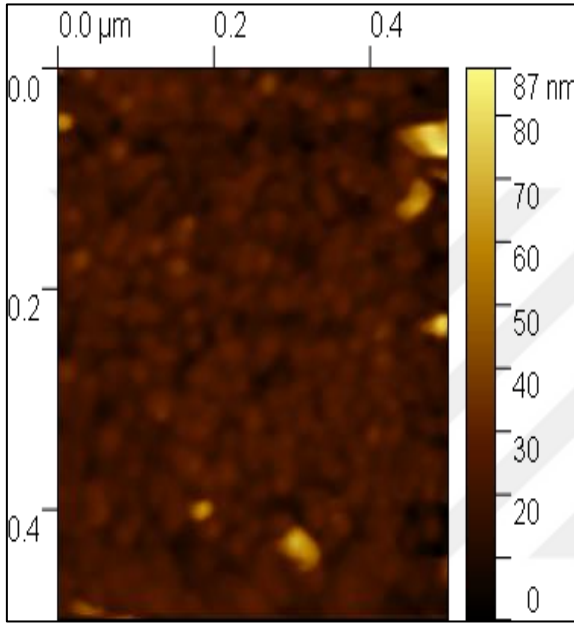
Şekil 4.1.a. Sitrat kaplı gümüş nanopartiküller



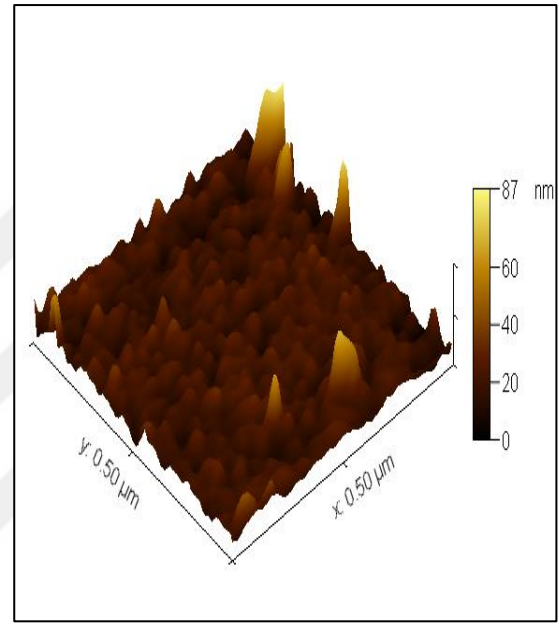
Şekil 4.1.b. Hümik asit kaplı gümüş nanopartiküller

4.1.2. Atomik kuvvet mikroskopisi ölçümleri

Sentez sonrası yıkanarak santrifüjlenen nano partiküller deiyonize su ile seyreltilmiştir. Sulu ortamdaki gümüş nanopartiküllerin mika yüzeyinin üzerinde kurutulması ile elde edilen örneğin 500nmx500nm alanda yarı iletken modda alınan morfolojik ölçümleri Şekil 4.2.a ve 4.2.b’de görülmektedir. Elde edilen sonuçlar zeta boyut analizi sonuçlarını destekler niteliktedir.



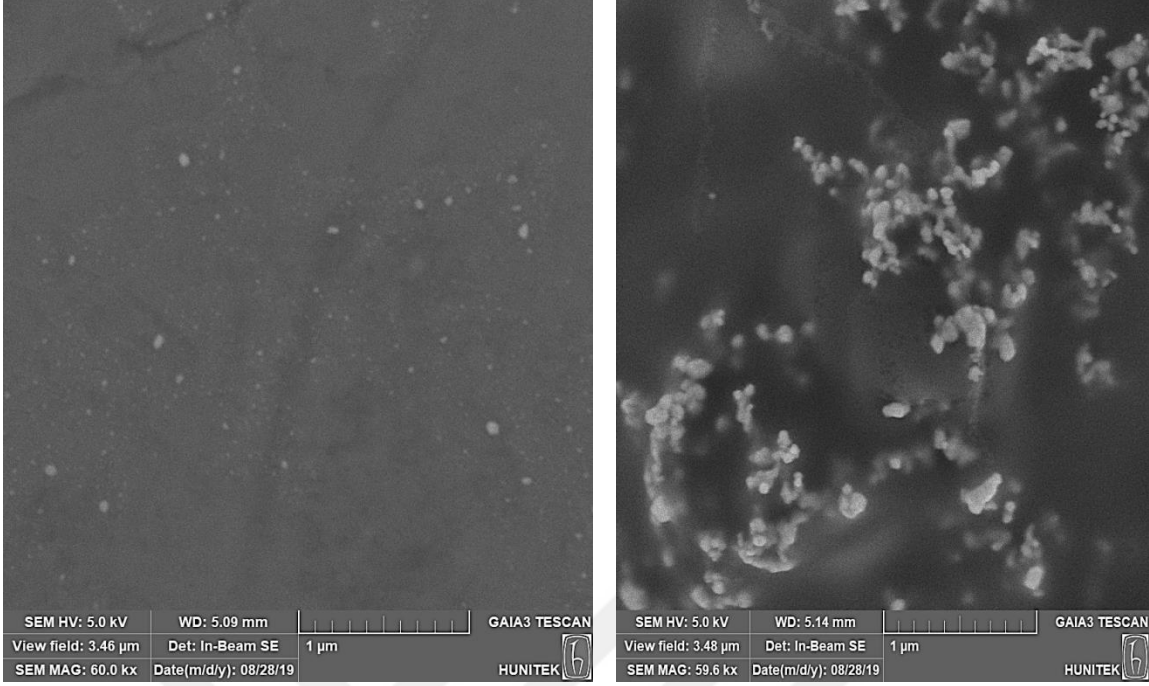
Şekil 4.2.a. NP 2b morfolojik yapısı



Şekil 4.2.b. NP 3b morfolojik yapısı

4.1.3. Elektron mikroskopisi ölçümleri

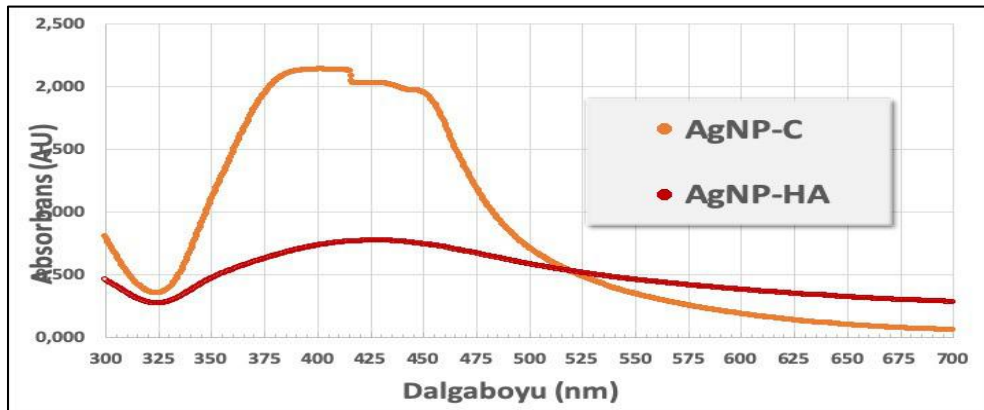
Elektron mikroskopisi sonuçları zeta boyut analizi ve elektron mikroskopisi ölçümlerini destekler niteliktedir. Resim 4.1’den de görülebileceği üzere sentezlenen hümkik asit kaplı nanopartiküller çeşitli biyolojik zarlar ve hücre yapılarından geçebilecek boyuttadır. Ölçümler sentezlenen Hümkik asit kaplı nanopartiküllerin en azından birkaç ay için stabilitesini koruduğunu ve agregasyonun gerçekleşmediğini göstermektedir (Resim 4.1).



Resim 4.1. Hümik asit kaplı nanopartiküllerin elektron mikroskopisi görüntüsü

4.1.4. UV-Görünür bölge spektroskopisi

Gümüş nanopartiküllerin kaplamalarında istendiği gibi sitrat yapılarının hümik asit yapılarıyla yer değiştirip değiştirmediğini incelemek için nanopartiküler yapıların 300-700 nm dalga boylarını kapsayan ultraviyole görünür bölge aralığındaki absorpsiyonları incelenmiştir (Şekil 4.3). 350-475 nm aralığında gümüş nanopartiküllerin yüzey plazmon oluşumu nedeni ile ortaya çıkan şiddetli absorpsiyon gözlenmektedir. Şekil 4.3'den de görüldüğü üzere maksimum absorpsiyon değerlerinde küçük de olsa kayma gerçekleşmiştir. Bu kimyasal yapıdaki yer değişiminin gerçekleştiğini destekler niteliktedir.

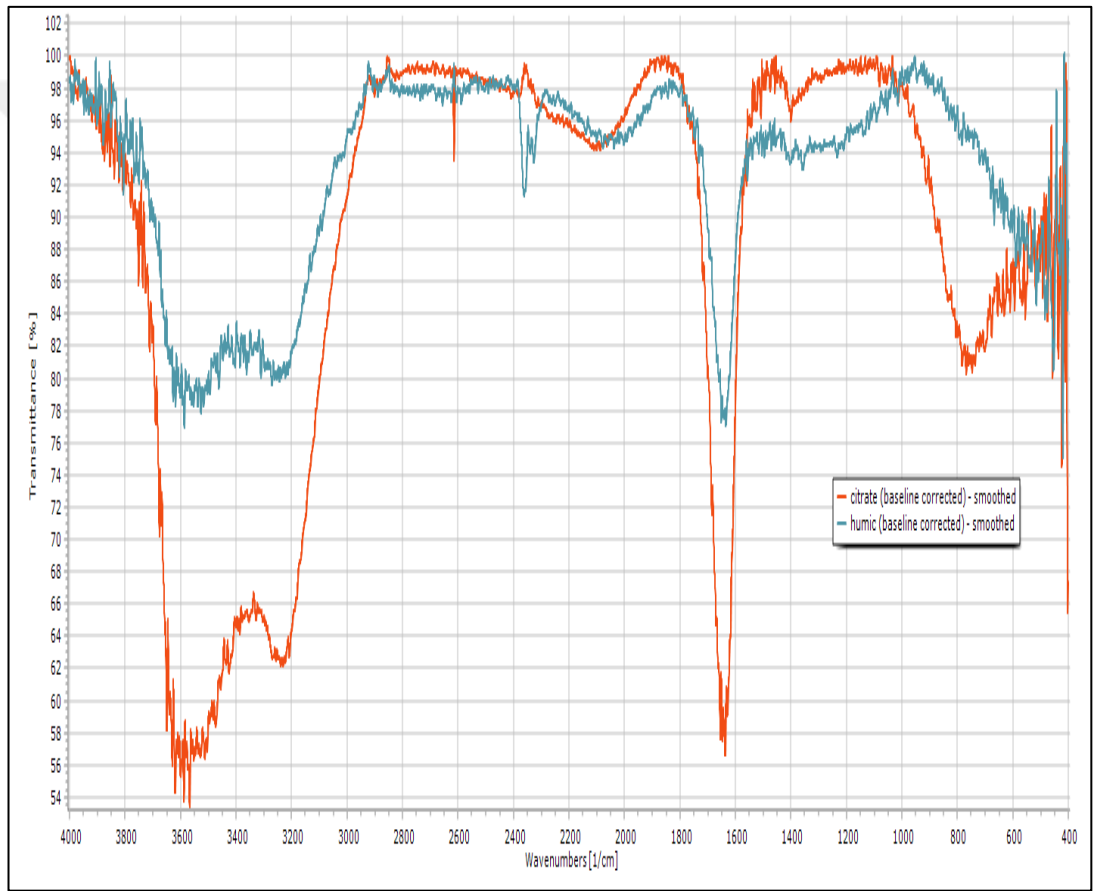


Şekil 4.3. UV görünür bölge spektroskopik ölçüm sonuçları

4.1.5. FT-IR

Kimyasal yapıdaki değişimleri göstermek için Fourier dönüşümlü kızılötesi ile sitrat ve hümik asit kaplı nano partiküllerin toplu ölçümleri yapılmıştır (Şekil 4.4).

3500 cm^{-1} O-H gerilme titreşimi, 3200 cm^{-1} civarında alifatik C-H gerilme, 1630 cm^{-1} civarında karboksil ve ketonik gruplarda görülen C=O gerilme titreşimleri gözlenmektedir. 500 cm^{-1} civarında gözlenen Ag-O gerilme titreşimi tüm her iki spektrumda ortaktır. 2614 cm^{-1} 2362 cm^{-1} 768 cm^{-1} 'de gözlenen farklılıklar kimyasal yapıdaki değişimi doğrular niteliktedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. FT-IR spektroskopik ölçüm sonuçları

4.2. Nanopartiküllerin Sazan (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) Balıkları üzerine Hematolojik Etkileri

4.2.1. Lenfosit oranları (L)

Analiz sonucunda, LWBC oranlarında kontrol grubuna göre; 0,03Ag-NP, 0,3Ag-NP, 3Ag-NP ve 3Ag-NP+HA gruplarında azalışlar gözlenmiştir. Akut ve sub-kronik sürelerde doz düzeyleri bakımından istatistiksel olarak sonuçlar anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.1) Sürelerin kıyaslanmasında 0,03Ag-NP+HA ve 0,3Ag-NP+HA doz gruplarında ve sub-kronik sürede Lenfosit oranları istatistiksel baktığımızda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$). Hümik Asit uygulanmış doz grupları arasındaki ilişki istatistiksel anlamda benzer çıkmıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.1. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Lenfosit (%) Oranlarına Etkisi

Gruplar	Lenfosit Oranları (L) %	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	75,1±2,64 ^a	76,0±2,44 ^c
Hümik Asit (HA)	74,9±2,42 ^a	75,1±2,37 ^b
0,03Ag-NP	68,2±2,14 ^b	66,1±2,20 ^{b*}
0,3Ag-NP	66,2±2,47 ^b	64,0±2,25 ^{b*}
3Ag-NP	60,3±1,74 ^{c*}	54,3±2,24 ^a
0,03Ag-NP+HA	73,7±2,52 ^a	68,1±2,11 ^c
0,3Ag-NP+HA	73,1±2,59 ^a	70,1±2,44 ^{b*}
3Ag-NP+HA	61,7±2,38 ^c	58,1±2,42 ^a

Renk matrisi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)

■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a,b,c,d]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.2. Monosit oranları (M)

Analiz sonucunda, M oranlarında kontrol grubuna göre; Hümik asit dışındaki bütün doz gruplarında görülen artışlar akut ve sub-kronik sürelerde doz düzeyleri bakımında istatistiksel olarak sonuçlar anlamlı elde edilmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.2) Süreler arası kıyaslamada istatistiksel bakımdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p>0,05$). Hümik Asit uygulanmış doz grupları arasındaki ilişki istatistiksel anlamda benzer çıkmıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Monosit (%) Oranlarına Etkisi

Gruplar	Monosit Oranları (M) %	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	2,4±0,10 ^e	2,3±0,14 ^e
Hümik Asit (HA)	2,3±0,22 ^e	2,4±0,12 ^e
0,03Ag-NP	4,2±0,40 ^d	4,8±0,52 ^d
0,3Ag-NP	5,7±0,34 ^c	6,1±0,51 ^c
3Ag-NP	8,9±0,78 ^a	9,8±0,82 ^a
0,03Ag-NP+HA	5,1±0,32 ^c	5,1±0,56 ^c
0,3Ag-NP+HA	5,5±0,44 ^c	5,0±0,41 ^c
3Ag-NP+HA	7,7±0,65 ^b	7,4±0,45 ^b

Renk matrisi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)

■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a,b,c,d]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımdan birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.3. Total Lökosit sayıları (WBC)

Analiz sonucunda, WBC sayılarında kontrol grubuna göre; 0,3Ag-NP, 3Ag-NP ve 3Ag-NP+HA doz gruplarında görülen artmalar akut ve sub-kronik sürelerde doz düzeyleri bakımında istatistiksel olarak sonuçlar anlamlı elde edilmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.3) Süreler arası karşılaştırmada ise 0,03Ag-NP, 0,3Ag-NP ve 0,3Ag-NP+HA doz gruplarında ve sub-kronik sürede kan WBC sayılarında azalışlar istatistiksel olarak baktığımızda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$). Hümik Asit uygulanmış doz grupları arasındaki ilişki istatistiksel anlamda benzer çıkmıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Total Lökosit sayılarına (WBC) Etkisi

Gruplar	Total Lökosit (WBC) $\text{mm}^3/10^3$	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	9,4±0,32 ^c	9,3±0,50 ^c
Hümik Asit (HA)	9,5±0,44 ^c	9,6±0,34 ^c
0,03Ag-NP	10,2±0,42 ^c	12,4±0,46 ^{b*}
0,3Ag-NP	12,5±0,45 ^b	13,8±0,52 ^{b*}
3Ag-NP	15,1±0,41 ^a	15,7±0,48 ^a
0,03Ag-NP+HA	9,5±0,33 ^c	10,1±0,36 ^c
0,3Ag-NP+HA	9,7±0,34 ^c	12,0±0,51 ^{b*}
3Ag-NP+HA	14,8±0,25 ^a	14,3±0,41 ^a

Renk matriksi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)

■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a.b.c.d.]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.4. Eritrosit sayıları (Rbc)

Analiz sonucunda, Eritrosit sayıları akut süre ve sub-kronik sürede kontrol grubuna göre; tüm gruplarda görülen azalmalar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$). Hümik asit doz grubu ise her iki sürede de benzerdir ($p>0,05$) (Tablo 4.4) Farklı sürelerde kıyaslandığında ise 3Ag-NP, 0,03Ag-NP+HA, 0,3Ag-NP+HA ve 3Ag-NP-HA doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 4.4. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Eritrosit Sayılarına (Rbc) $\text{mm}^3/10^6$ Etkisi

Gruplar	Eritrosit Sayıları (Rbc) $\text{mm}^3/10^6$	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	1,85±0,03 ^a	1,80±0,06 ^a
Hümik Asit (HA)	1,84±0,04 ^a	1,81±0,04 ^a
0,03Ag-NP	1,70±0,04 ^b	1,60±0,05 ^b
0,3Ag-NP	1,65±0,06 ^b	1,55±0,03 ^b
3Ag-NP	1,40±0,06 ^c	1,23±0,03 ^{c*}
0,03Ag-NP+HA	1,60±0,05 ^b	1,52±0,06 ^{b*}
0,3Ag-NP+HA	1,48±0,05 ^b	1,53±0,05 ^{b*}
3Ag-NP+HA	1,30±0,04 ^d	1,12±0,04 ^{d*}

Renk matrisi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)
■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a.b.c.d.]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.5. Granulosit oranları (Gran)

Analiz sonucunda, Granulosit oranlarında akut sürede kontrol grubu ile hümik asit, 0,03Ag-NP+HA, 0,3Ag-NP+HA doz grupları benzer çıkmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.5) Sub-kronik sürede ise hümik asit uygulanmış doz grubun dışındaki bütün doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,05$). Sürelerin karşılaştırmasında 3Ag-NP, 0,03Ag-NP+HA, 0,3Ag-NP+HA ve 3Ag-NP+HA doz grupları arasındaki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.5. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Granulosit (%) Oranlarına Etkisi

Gruplar	Granulosit Oranları (L) %	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	22,5±1,68 ^c	21,7±1,55 ^d
Hümik Asit (HA)	22,8±1,55 ^c	22,5±0,96 ^d
0,03Ag-NP	27,6±1,14 ^b	29,1±1,12 ^b
0,3Ag-NP	28,1±0,96 ^b	29,9±1,24 ^b
3Ag-NP	30,8±0,81 ^a	35,9±1,32 ^{a*}
0,03Ag-NP+HA	21,2±1,07 ^c	26,8±1,52 ^{c*}
0,3Ag-NP+HA	21,4±1,52 ^c	24,9±1,43 ^{c*}
3Ag-NP+HA	30,6±1,84 ^a	34,5±1,25 ^{a*}

Renk matriksi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)

■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a.b.c.d.]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.6. Hemoglobin miktarları (Hb)

Analiz sonucunda, Hemoglobin Miktarları akut süre ve sub-kronik sürede kontrol grubuna göre; tüm gruplarda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar görülmüş ($p<0,05$). Hümik asit doz grubu ise her iki sürede de benzerdir ($p>0,05$) (Tablo 4.6) Sürelerin karşılaştırmasında 3Ag-NP, 0,03Ag-NP+HA, 0,3Ag-NP+HA ve 3Ag-NP-HA doz grupları arasındaki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ($p<0,05$).

Tablo 4.6. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Hemoglobin Miktarına (Hb) g/dL Etkisi

Gruplar	Hemoglobin Miktarında (Hb) g/dL	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	12,7±0,66 ^a	12,6±0,60 ^a
Hümik Asit (HA)	12,6±0,54 ^a	12,3±0,40 ^a
0,03Ag-NP	10,8±0,33 ^b	10,2±0,35 ^b
0,3Ag-NP	10,2±0,45 ^b	10,0±0,30 ^b
3Ag-NP	9,1±0,22 ^c	8,2±0,33 ^{c*}
0,03Ag-NP+HA	10,6±0,57 ^b	9,1±0,26 ^{b*}
0,3Ag-NP+HA	10,4±0,41 ^b	9,0±0,35 ^{b*}
3Ag-NP+HA	8,4±0,24 ^d	7,8±0,24 ^{d*}

Renk matrisi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)
■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a.b.c.d.]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

4.2.7. Hematokrit değerleri (Hct)

Analiz sonucunda, Hematokrit değerlerinde akut süre ve sub-kronik sürede kontrol grubuna göre; tüm gruplarda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar görülmüş ($p<0,05$). Hümik asit doz grubu ise her iki sürede de benzerdir ($p>0,05$) (Tablo 4.7) Sürelerin karşılaştırmasında 3Ag-NP, 0,03Ag-NP+HA, 0,3Ag-NP+HA ve 3Ag-NP-HA doz grupları arasındaki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.7. Hümik Asit Kaplı (HA) Gümüş Nano Partiküllerin (Ag-NP) Balıklardaki Hematokrit Değerlerinde (Hct) % Etkisi

Gruplar	Hematokrit Değerlerinde (Hct) %	
	Akut Süre (4 gün)	Sub-kronik Süre (21 gün)
Kontrol	37,1±1,16 ^a	36,9±0,96 ^a
Hümik Asit (HA)	36,9±1,24 ^a	37,2±0,84 ^a
0,03Ag-NP	33,2±1,27 ^b	32,5±1,21 ^b
0,3Ag-NP	33,1±1,42 ^b	32,1±0,91 ^b
3Ag-NP	29,1±0,94 ^c	27,2±0,73 ^{c*}
0,03Ag-NP+HA	32,9±1,12 ^b	31,8±1,10 ^{b*}
0,3Ag-NP+HA	32,5±1,41 ^b	31,1±1,23 ^{b*}
3Ag-NP+HA	27,1±0,42 ^d	25,2±0,64 ^{d*}

Renk matrisi ve istatistiksel açıdan benzerlik ($p<0,05$)
■ Güvenli ■ Tehlikeli ■ Çok Tehlikeli

[a.b.c.d.]: Sütunlarda değişik harf ile belirtilen ortalamalar istatistiksel bakımından birbirlerinden farklı (n:7),

*: Satırlardaki ortalamalar süreye bağlı değişikliği belirtmektedir ($p<0,05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İlerleyen yıllarda nanoteknolojinin çevre sağlığı açısından ne kadar büyük bir sorun olacağı kesin olarak bilinmemektedir. Bilimin giderek daha fazla veri ve teknoloji açısından zenginleşmesine rağmen, kesin bilgi açısından hala bir bilgi eksikliği vardır. Bilimi ileriye taşımak için çok disiplinli yaklaşımlarla çalışmaların daha bütüncül hale gelmesi zorunludur. Küresel olarak, hem çok disiplinli hem de çok uluslu işbirliği çabalarını teşvik eden finansman girişimleriyle bunu başarmak için adımlar atılmaktadır.

Gümüş nano malzemelerin optik, nanofotonik, katalizör uygulamaları, güneş enerjisi sistemleri, sensör uygulamaları ayrıca antimikrobiyal ve antifungal özellikleri sebebi ile çeşitli medikal ürünlerde, çeşitli alanlardaki Ar-Ge çalışmalarında ve endüstriyel uygulamalar ile pek çok son tüketici ürünüde kullanılmaktadır [104, 105].

Gümüş nano malzemelerin yaygın kullanımı sonucu giderek artan çevreye salınımları ve sonucundaki ekosisteme ve canlı sağlığına potansiyel etkileri hakkındaki bilinmeyenler gümüş nanopartiküllerin ekosistemdeki akıbetleri ve canlılar üzerine etkilerinin incelenmesi için artan bir ilgiye neden olmaktadır [106].

Nanoparçacıklar şu anda tıbbi görüntüleme, ilaç ve ilaç dağıtımı gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere geliştirilmekte olup, özellikle hücrelere nüfuz edebilmek ve biyolojik etkilerin indüklenmesi için gelecekteki önemli bir sorun olması muhtemeldir

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar çevresel koşullarda gümüş nanopartiküllerin oluşabileceği ve çevresel koşullarda nanopartiküller yapıların modifikasyonlara uğrayabileceğini göstermiştir [107, 108]. Sucul ortamlardaki değişikliklere tepki gösterdiği için balıklar su kirliliğinin izlenmesinde biyoindikatör türler arasında gösterilirler [109]. Nanopartiküller yapıların organizmalara geçişi ve birikimi, partikül boyutuna, şekline, kimyasal bileşimine, yüküne, yüzey yapısına ve alanına, çözünürlük ve toplanma durumuna bağlıdır [57]. Nanopartiküllerden kaynaklanan tehlike ve riskler incelenirken hem maruz kalma süresi hem de maruziyet sonrası gözlenen etkiler beraber değerlendirilmelidir [110]. Bu nedenle, bu tür sucul toksisite testlerinin yürütülmesi için güvenilir ve uygulanabilir bir çerçevenin uygulanması zorunludur, böylece bu sorunlar ortaya çıktığında uygun testler yapılabilir.

Kimyasal stres altında kalan canlıların karmaşık yapılarında oluşan değişikliklerin en önemli göstergelerinden biri olan hematolojik parametrelerdir. Çevresel ve biyolojik etkilerine maruz kalan bir canlıda görülebilecek değişikliklerin etkileri sonucunda, görülen stres hematolojik değerlerde görülebilecek değişim ile belirlenebilmektedir [82]. Kan dokusunda fiziksel ve kimyasal olarak yapısında canlıda görülecek farklılıklar doğrudan etkisini göstermektedir [111].

Balıkların kan değerlerindeki monositlerin miktarı normal şartlarda azdır. Fakat yabancı bir madde vücut ile temasında monosit miktarlarında artışlar görülebilmektedir [112]. Lenfositler edinilmiş vücut savunmasında etkilidir. Kazanılmış bağışıklık antijeni özel olarak tanıır ve lenfositlerin uyarılmasında, hareketli olması sonucu meydana gelirler [113]. Organizmanın sağlıklı görülebilmesi lökosit miktarlarının çok olması ile belirlenebilmektedir [114]. Balıkların bağışıklık sisteminin çökmesi sonucunda lökosit miktarlarındaki azalışlar belirlemektedir [115, 116].

Subletal bir doza maruz kalma Hb düzeylerinde belirgin azalmalar meydana getirir ve bu da çeşitli dokulardaki oksijen arzını düşürebilir, bu nedenle yavaş bir metabolik hız ve düşük enerji üretimi ile sonuçlanır [117]. Hb konsantrasyonundaki belirgin düşüş ya Hb'nin yıkım hızının arttığına ya da Hb sentezinin hızında bir azalmaya bağlı olabilir [118]. Benzer şekilde, tatlısu yayın balığı (*H. fossilis*)'in 30 gün deltametrine maruz bırakılması Hb oranında azalmaya neden olmuştur [119]. Fenvalerate 48 saat maruz bırakılan sonra *C. idella*'da MCH anlamlı olarak azaldı [120]. Azalan MCH ve MCV seviyeleri hipokromik mikrositik aneminin belirtisi olabilir [121]. Saravanan vd.[122] neem yaprağındaki özütün 1.035g/L 'sinin 24 saat süresince *Cirrhinus mrigala*'ya uygulanması sonucu Hb, Hct, RBC, MCV, MCH ve MCHC miktarları kontrol grubuna göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görüldüğü ve WBC sayılarında artış tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin sazan balıkları üzerine etkisi incelendiğinde hematolojik parametreleri ve bağışıklık tepkilerini değiştirdiği gözlenmiştir. Literatürdeki bazı çalışmalar gümüş nanopartiküllerin fagositik aktiviteyi azalttığı; kırmızı kan hücrelerinin ve beyaz kan hücrelerinin sayısını; hematokrit yüzdesini maruziyetin 1. haftası sonrasında düşürmeye başladığını belirtmiştir [123]. Gökkuşluğu alabalıklarında farklı doz (0,1, 0,2, 0,4 mg/L) ve sürelerde (4-8 gün) gümüş nanopartikül uygulamasının RBC, Hb, HCT, WBC sayılarında kontrol grubu ile kıyaslamada meydana gelen artma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) [126]. Gümüş sazanlarında gümüş nanopartiküllerin 96-h LC₅₀ konsantrasyonu olan 0,202 mg/L olan dozunun % 10 ve

%20 oranlarını 3, 7 ve 14 gün sürelerde uygulanması sonucunda RBC, Hb, HCT değerlerinde azalma WBC sayılarında artma kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirtilmektedir [124]. Priya [125]'e göre SiO₂ nanopartiküllerinin (1, 5, 25 mg/L) dozlarda ve 24, 48, 72 ve 96 saatlik sürelerde *Labeo rohita* balıklarında RBC, Hb, HCT değerlerinde azalma, WBC sayılarında artma kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur. Yine aynı alabalık türünde demir oksit nanopartikülünün RBC, Hb, HCT değerlerinde kontrol grubuna göre artış olduğu rapor edilmiştir [125].

Sunulan proje kapsamında sazan balıklarına (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) akut ve subkronik süreler için farklı dozlarda (0,03, 0,3 ve 3,0 ppm) uygulanmış olan standart ve hümitik asit kaplı gümüş nanopartiküllerinin hematolojik etkileri belirlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz RBC, Hb, Hct ve lenfosit oranlarında meydana gelen azalmalar ve WBC, monosit ile granülosit oranlarındaki azalışlar literatür bulgularıyla örtüşmektedir. AgNP'lerin üretiminin değişkenliği ve çevreye giriş yolları göz önüne alındığında, AgNP'lerin yerli balıklardaki etkisi üzerindeki bulgularımız nanopartiküllerin toksikolojik etkisi hakkında bilimsel bilgiye önemli bir katkı sağlamaktadır.

Doğal ortama herhangi bir sanayiden, evden veya endüstri kuruluşundan deşarj edilen gümüş nanopartiküllerin balıklarda hematolojik parametre bakımından kısa zamanda toksik etki gösterirken bazı doz grublarında hümitik asit ile kaplanmış gümüş nanopartiküller toksik etkinin kaybolduğu görülmüştür. Ayrıca belli bir doz grubuna karşı hümitik asitin gümüş nanopartiküllerde toksik etkiyi giderici bir özellik göstermiştir. Dolayısıyla sucül ortamlarda, hümitik asit üretimi ve kullanımı arttırılırsa ilerde sucül ortamlara deşarj edilen toksik maddenin etkisi azaltılabilir.

Nano partiküllerin yüzey kaplamasının, NP hücreler ile olan etkileşimini değıştirdiğı ve toksisiteyi etkilediğini istatistiksel sonuçlarla bulunmuştur. Genel olarak organik bileşikler ile kaplanmış nano partiküller hücre içine geçişi arttırdığı ve toksisiteyi etkilediğı bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Cha, E. and Myung, H. (2007). Cytotoxic Effects of Nanoparticles Evaluated *in vitro* and *in vivo*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 1573-1578.
2. Nel, A. (2006). Toxic Potential of Materials in the Nanolay. *Science*, 311 (5761), 622-627.
3. Moore, M. N. (2006). Do Nanoparticles Present Ecotoxicological Risks to the Health of the Aquatic Environment? *Environ. Int.*, 32, 96-976.
4. Handy, R. D., Kammer, F. V. D., Lead, J. R., Hasselov, M., Owen, R. and Crane, M. (2008a). The Ecotoxicology and Chemistry of Manufactured Nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17, 287-314.
5. Farre, M., Gajda Schrantz, K., Kantiani, L. and Barcelo, D. (2009). Ecotoxicity and Analysis of Aquatic Nanomaterials. *Anal. Bioanal. Chem.*, 393, 81-95.
6. Keller, A. A., McFerran, S., Lazareva, A., and Suh, S. (2013). Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of nanoparticle research*, 15(6), 1692.
7. İnternet: Woodrow Wilson Veritabanı. (Julay, 2011). Nanotechnology Consumer ProductsInventory.URL:http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/. 18.07.2020
8. Batley, G. E., Kirby, J. K. and McLaughlin, M. J. (2013). The Fate and Risks of Nanomaterials in Aquatic and Terrestrial Environments. *Accounts of Chemical Research*, 46(3), 854-862.
9. Handy, R. D., Owen, R. and Valsami-Jones, E. (2008). Ecotoxicology of Nanoparticles and Nanomaterials: Current State, Knowledge Gaps, Challenges and Future Needs. *Ecotoxicology*, 17, 353-325.
10. Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Soltani, M. and Yu, I. J. (2013). Toxicity Comparison of Colloidal Silver Nanoparticles in Various Life Stages of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Science*, 12(1), 76-95.
11. Asghari, S. A. and Johari, J. H. (2012). Toxicity of Various Silver Nanoparticles Compared to Silver İons in *Daphnia Magna*. *Journal of Nanobiotechnology*, 10(14), 108-119.
12. Ribeiro, F., Gallego-Urrea, J. A. and Jurkschat, K. (2014). Silver Nanoparticles and Silver Nitrate Cause High Toxicity to *Pseudokirchneriella Subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Total Environment*, 4(3), 232-241.

13. George, S., Lin, S. and Ji, Z. (2012). Surface Defects on the Plate-Shaped Silver Nanoparticles Contribute to a Potential Danger in a Fish Gill Cell Line and Zebrafish Embryos. *ACS Nano*, 6(5), 3745-3759.
14. Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C. Y., Kim, Y. K., Lee, Y. S., Jeong, D. H. and Cho, M. H. (2007). Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*, 3(1), 95-101.
15. Artal, M. C., Holtz, R. D. and Kummrow, F. (2013). OL Alves ve GDA Umbuzeiro, The role of silver and vanadium release in the toxicity of silver vanadate nanowires to *Daphnia similis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(4), 908–912.
16. Scanlan, L. D., Reed, R. B., Loguinov, A. V., Antczak, P., Tagmount, A., Aloni, S., and Pham, D. (2013). Silver nanowire exposure results in internalization and toxicity to *Daphnia magna*. *Acs Nano*, 7(12), 10681-10694.
17. Nie, S., Xing, Y. and Kim, G. J. (2007). Nanotechnology Applications in Cancer. *Annu Rev Biomed Eng*, 9, 257-288.
18. Mencilođlu, Y. Z., ve Mencilođlu, Y. Z. (2008). *Uluslararası rekabet stratejileri: nanoteknoloji ve Türkiye*. TÜSIAD Yayınları. TÜSIAD.
19. Ward, G. S. and Parrish, P. R. (1982). Manuel of Methods in Aquatic Environment Research, *FAO Fisheries Technical*, 185.
20. Bat, L., Erdem, Y., Ustaogđlu, Tırıl, S. ve Yardım, Ö. (2008). *Balık Sistematiđi Kitabı*. I. Basım. Nobel Yayınları. Ankara.
21. Özdođan, E., Demir, A. ve Seventekin, N. (2006). Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları. *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi*, 3, 159-168.
22. İnternet. Bor Hakkında Her Şey http://www.ido-forum.org/doga-vecevre/_154676-bor-hakkında-her-şey.html. (2007)
23. SCENIHR. (2005). Request for a Scientific Opinion on the Appropriateness of Existing Methodologies to Assess the Potential Risks Associated with Engineered and Adventitious Nanotechnologies: SCENIHR/002/05.
24. Wigginton, N. S., Haus, K. L. and Hochella, M. F. (2007). Aquatic Environmental Nanoparticles. *Journal of Environmental Monitoring*, 9 (12), 1306-1316.
25. Yin, H., Too, H. P., & Chow, G. M. (2005). The Effects of Particle Size and Surface Coating on the Cytotoxicity of Nickel Ferrite. *Biomaterials*, 26(29), 5818-5826.
26. Sharma, V. K., Yngard, R. A. and Lin, Y. (2009). Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Their Antimicrobial Activities. *Adv. Colloid Interface Sci.* 145 (1-2), 83-96.

27. Roco, M. C. and Bainbridge, W. S. (2002). Converging Technologies for Improving Human Performance: Integrating from the Nanoscale. *J. Nanopart. Res*, 4(4), 281-295.
28. Eckelman, M. J. and Graedel, T. E.(2007). Silver Emissions and their Environmental Impacts: Amultilevel Assessment. *Environ. Sci. Technol*, 41(17), 6283-6289.
29. Buffle, J. (2006). The Key Role of Environmental Colloids/Nanoparticles for the Sustainability of Life. *Environmental Chemistry*. 3(3), 155-158.
30. Huang, P. M., Wang, M. K. and Chiu, C. Y. (2008) Soil mineral-organic matter-microbe interactions: Impacts on biogeochemical processes and biodiversity in soils. *Pedobiologia*, 49(6), 609-635.
31. Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence*, 3rd ed. Springer Science+Business Media, LLC: NewYork. 5.
32. Lyven, B., Hasselov, M., Turner, D. R., Haraldsson, C. and Andersson, K. (2003). Competition Between Iron and Carbon-Based Colloidal Carriers for Trace Metals in a Freshwater Assessed Using Flow field-flow Fractionation Coupled to ICPMS. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 67(20), 3791-3802.
33. Kim, J. S., Yoon, T-J., Yu, K. N., Kim, B. G., Park, S. J., Kim, H. W., Lee, K. H., Park, S. B., Lee, J-K. and Cho, M. H. (2006). Toxicity and Tissue Distribution of Magnetic Nanoparticles in Mice. *Toxicological Sciences*, 89(1), 338-347.
34. European Inland Fisheries Advisory Commission. Working Party on Toxicity Testing Procedures. (1983). *Revised Report on Fish Toxicity Testing Procedures* (Vol. 24). Food & Agriculture Org.
35. Gupta, R. B. and Kompella, U. B. (2006). *Nanoparticle Technology for Drug Delivery* Lustrated ed. New York Taylor & Francis Group.
36. Handy, R. D., Owen, R. and Valsami-Jones, E. (2008b). The Ecotoxicology of Nanoparticles and Nanomaterials: Current Status, Knowledge Gaps, Challenges, and Future Needs. *Ecotoxicology*, 17(5), 315-325.
37. Nowack, B., Krug, H. F. and Height, M. (2011). 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. *Environmental Science and Technology*, 45, 1177-1183.
38. Lea, C. M. (1889). On Allotropic Forms of Silver. *American Journal of Science*, 37, 476-491.
39. Frens, G. and Overbeek, J. T. G. (1969). Carey Lea's Colloidal Silver. *Kolloid-Zeitschrift And Zeitschrift für Polymere*, 233, 1-2.
40. Fung, M. C. and Bowen D. L. (1996). Silver Products for Medical Indications: Risk-Benefit Assesment. *Clinical Toxicology*, 34, 119-126.

41. Tate, J. A., Rogers, C. D. W., Jones, B., Vyas, D. W., Murphy, W. J., Li, Z. A., Bao, R. E., Slusher, A., Dodabalapur and H. E, Katz. (2000). *Langmuir*, 16, 6054-6060.
42. Manesh, K. M., Gopalan A. I., Lee, K. P. and Komathi S. (2010). *Catal. Commun*, 11, 913-918.
43. Tolaymat, T. M., Badawy A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P. and Suidan, M. (2010). *Total Environment*, 408, 999-1006.
44. Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Turrent, L. D. C. I., and Padilla, C. R. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 615-621.
45. Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R., and Minaian, S. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(2), 168-171.
46. Sun, R. W. Y., Chen, R., Chung, N. P. Y., Ho, C. M., Lin, C. L. S., and Che, C. M. (2005). Silver nanoparticles fabricated in Hepes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells. *Chemical communications*, (40), 5059-5061.
47. Benn, T. M., and Westerhoff, P. (2008). Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environmental science & technology*, 42(11), 4133-4139.
48. Lorenz, C., Windler, L., von Goetz, N., Lehmann, R. P., Schuppler, M., Hungerbühler, K., and Nowack, B. (2012). Characterization of silver release from commercially available functional (nano) textiles. *Chemosphere*, 89(7), 817-824.
49. Kaegi, R., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Mueller, E., Vonbank, R., and Burkhardt, M. (2010). Release of silver nanoparticles from outdoor facades. *Environmental pollution*, 158(9), 2900-2905.
50. Cleveland, D., Long, S. E., Pennington, P. L., Cooper, E., Fulton, M. H., Scott, G. I., and Wood, L. (2012). Pilot estuarine mesocosm study on the environmental fate of silver nanomaterials leached from consumer products. *Science of the Total Environment*, 421, 267-272.
51. Farkas, J., Peter, H., Christian, P., Urrea, J. A. G., Hassellöv, M., Tuoriniemi, J., and Thomas, K. V. (2011). Characterization of the effluent from a nanosilver producing washing machine. *Environment international*, 37(6), 1057-1062.
52. Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management*. Cambridge university press.
53. Geranio, L., Heuberger, M., & Nowack, B. (2009). The behavior of silver nanotextiles during washing. *Environmental Science & Technology*, 43(21), 8113-8118.

54. Kulthong, K., Srisung, S., Boonpavanitchakul, K., Kangwansupamonkon, W., & Maniratanachote, R. (2010). Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat. *Particle and fibre toxicology*, 7(1), 8.
55. Yan, J., Wang, G., Wang, H., Zhang, Z., Ruan, X., Zhao, W., and Xu, M. (2015). Preparation and electrochemical performance of bramble-like ZnO array as anode materials for lithium-ion batteries. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(1), 52.
56. Tan, H., Ma, C., Song, Y., Xu, F., Chen, S., and Wang, L. (2013). Determination of tetracycline in milk by using nucleotide/lanthanide coordination polymer-based ternary complex. *Biosensors and Bioelectronics*, 50, 447-452.
57. Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L. and Behra R. (2008). Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Technology*, 42(23), 8959-8964.
58. Wood, S., Jones, R. and Geldart, A. (2003). *The Social and Economic Challenges of Nanotechnology* (No.0-86226-294-1). Swindon, UK: The Economic and Social Research Council.
59. Internet: Twist, J. (August, 2004). *Myths and Realities of Nano Futures*. BBC News Online UK edition (Online). Available: <http://news.bbc.co.uk/1/hi/sci/tech/3920685.stm>. (7.8.2004).
60. Internet: Holister, P. (June,2002). *Nanotech-theTiny Revolution*.CMP Cientifica (Online).Available:http://www.cientifica.com/html/Whitepapers/wpfiles/nanotech_WP.pdf. (4.06.2004).
61. Kreuter, J. (2001). Nanoparticulate Systems for Brain Delivery of Drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47(1), 65-81.
62. Calvo, P., Nelson, L. and Kloepper, J. V. (2014). Agricultural Uses of Biostimulants. *Plant and Soil*, 383, 3-41.
63. Chistyakov, I. V., Trofimov, S. Ya. Lysak, L. V. and Stepanov, A. A. (2013). Changes in the Composition and Properties of Humic Acids Under the Influence of Microorganisms. *Moscow University Soil Science Bulletin*, 68, 48-52.
64. MacCarthy, P. (2001). The Principles of Humic Substances. *Soil Science*, 166, 738-751.
65. Tan, K. H. (2003). *Humic Matter in Soil and the Environment: Principles and Controversies*. New York, NY. Marcel Decker, Inc.
66. Asli, S. and Neumann, P. M. (2010). Rhizosphere Humic Acid Interacts With Root Cell Walls to Reduce Hydraulic Conductivity and Plant Development. *Plant and Soil*, 336, 313-322.

67. Schulten, H.R. and Schnitzer, M. (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, 80(1), 29-30.
68. Buyukkeskin, T., S. Akinci, and A. E. Eroglu. (2015). Effects of Humic Acid on Root Development and Nutrient Uptake of *Vicia faba* L. (Broad bean) Seedlings Grown Under Aluminum Toxicity. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46, 277-292.
69. Guimarães, D. V., Gonzaga, M. I. S., da Silva, T. O., da Silva, T. L., da Silva Dias, N., and Matias, M. I. S. (2013). Soil organic matter pools and carbon fractions in soil under different land uses. *Soil and Tillage Research*, 126, 177-182.
70. Shoba, V. N. and Chudnenko, K. V. (2014). Ion Exchange Properties of Humic Acids. *Eurasian Soil Science*, 47, 761-771.
71. Azcona, I., Pascual, I., Aguirreolea, J., Fuentes, M., García-Mina, J. M., and Sánchez-Díaz, M. (2011). Growth and development of pepper are affected by humic substances derived from composted sludge. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(6), 916-924.
72. Billard, V., Etienne, P., Jannin, L., Garnica, M., Cruz, F., Garcia-Mina, J., Yvin, J. and Ourry, A. (2014). Two Biostimulants Derived from Algae or Humic Acid Induce Similar Responses in the Mineral Content and Gene Expression of Winter Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 305-316.
73. Manna, M. C., Swarup, A., Wanjari, R. H., Mishra, B. and Shahi, D. K. (2007). Long-Term Fertilization, Manure, and Liming Effect on Soil Organic Matter and Crop Yields. *Soil & Tillage Research*, 94, 397-409.
74. Nakashima, K., Xing, S. Y., Gong, Y. K. and Miyajima, T. (2008). Characterization of Humic Acids by Two-Dimensional Correlation Fluorescence Spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 883, 155-159.
75. Frimmel, F. H. (2005). *Aquatic humic substances*. Biopolymers Online: Biology• Chemistry• Biotechnology• Applications, 1.
76. Buffle, J. (1998). *Complexation Reactions in Aquatic Systems: an Analytical Approach*. Ellis Harwood, Chester, UK.
77. Vigneault, B., Percot, A., Lafleur, M. And Campbell, P. G. C. (2000). Permeability Changes in Model and Phytoplankton Membranes in the Presence of Aquatic Humic Substances. *Environ. Sci. Technol*, 34(18), 3907-3913.
78. Stevenson, F. J. (1994). *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley and Sons, Stillerman, 32.
79. Gilligan, D., Gehrke, P., & Schiller, C. (2005). *Testing methods and ecological consequences of large-scale removal of common carp*. NSW Department of Primary Industries.

80. Barus, V. (2002). *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *The freshwater fishes of Europe*, 5, 85-179.
81. Graham, K., Lowry, M. B. and Walford, T. R. (2005). *Carp in NSW: Evaluation of Distribution, Fisheries and Fishing Methods*, 72, NSW Major Industries Division, Cronulla.
82. Örün, İ. (2000). *Karakaya Baraj Gölü'nde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Balıkların [Acanthobrama marmid (Heckel 1843), Leuciscus cephalus orientalis (Nordmann 1840), Chondrostoma regium (Heckel 1843), Capoeta trutta (Heckel 1843) ve Capoeta capoeta umbla (Heckel 1843)] Hematolojik Yönden İncelenmesi*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
83. Erdemli, A. Ü. (1999). Karakaya Baraj Gölünde Bulunan *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Leuciscus cephalus orientalis* (Nordmann, 1840)'ın Bazı Serum Bileşenlerinin Karşılaştırılması, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2), 1-5.
84. Witeska, M. (2005). Stress in Fish Hematological and Immunological Effects of Heavy Metals, *Electronic Journal of Ichthyology*, 1, 35-41.
85. Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C. T., and Ayyappan, S. (2004). Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental safety*, 58(2), 220-226.
86. Özmen, M., Güngördü, A., Küçükbay, F. Z. and Güler, R. E. (2006). Monitoring the Effects of Water Pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey, *Ecotoxicology*, 15, 157-169.
87. Başusta, G. A. (2005). *Fish hematology and hematological techniques*, In: Karatas M. (Editor), *Research Techniques in Fish Biology*, Nobel Publications, Ankara, 275-300.
88. Timur, M. (2006). *Balık Fizyolojisi*, 1. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, 192, Ankara.
89. Hrubec, T. C., Cardinale, J. L. and Smith, S. A. (2000). Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, 29(1), 7-12.
90. Chen, C. Y., Wooster, G. A. and Bowser, P. R. (2004). Comparative Blood Chemistry and Histopathology of Tilapia Infected With *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or copper tetrachloride, gentamicin or copper sulphate. *Aquaculture*, 239(1-4), 421-443.
91. Karataş, M. (2005). *Balık biyolojisi araştırma yöntemleri*. İstanbul: Nobel Akademik Yayıncılık, (772), 498.
92. Stoskopf, M. (1993). *Fish Medicine*, 1st Edition, Saunders Company, Philadelphia, USA, 882.

93. Heath, A. G. (1987). *Water Pollution and Fish Physiology*, CRC Press Inc. Florida, USA, 198-205.
94. Atamanalp, M. (2000). *Bir Sentetik Piretroit İnsektisitini (Cypermethrin) Subletal Dozlarının Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss)'na Makroskopik, Histopatolojik, Hematolojik ve Biyokimyasal Etkileri*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
95. Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K. ve Rodwel, V. W. (1993). *Harper'in Biyokimyası*, (çev). Menteş, D. ve Ersöz, B. İstanbul: Barış Kitabevi, 26-115.
96. Mayer, S. (1998). *A review of the Scientific Justification for Maintaining Cetaceans in Captivity*, (edited by Frances Clarke), A Report for the Whale and Dolphin Conservation Society (WDCS), 35.
97. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, & Water Environment Federation. (1915). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 2). American Public Health Association.
98. TSE (1998). *Su Kirliliği Kontrolü, Metod ve Kuralları, Zehirlilik Denemeleri*, 5676, Ankara.
99. Orhan, D. (1977). *Düşük Trofik Kademe Zehirliliğinin Haliç Bölgesinde Tanımlanması ve Değerlendirilmesi*, Doçentlik Tezi, İTÜ, İnşaat Fakültesi, İstanbul.
100. Orhan, D. (1973). *Haliç Sularında Zehirliliğin Düşük Trofik Kademeli Biyodeneylele Araştırılması*, TÜBİTAK Mühendislik Araştırma Grubu, Proje No: Mag 314.
101. Ardalı, Y. (1990). *Endüstriyel Atık Sulardan Ağır Metallerin Absorbsiyonik Uzaklaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
102. Chinnapongse, S. L., MacCuspie, R. I. and Hackley, V. A. (2011). Persistence of Singly Dispersed Silver Nanoparticles in Natural Freshwaters, Synthetic Seawater, and Simulated Estuarine Waters. *Sci. Total Environ*, 409, 2443–2450.
103. Kim, W. Y., Kim, J., Park, J. D., Ryu, H. Y., & Yu, I. J. (2009). Histological Study of Gender Differences in Accumulation of Silver Nanoparticles in Kidneys of Fischer 344 Rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(21-22), 1279-1284.
104. Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K. and Ambaye, T. G. (2017). Synthesis Paradigm and Applications of Silver Nanoparticles (AgNPs), a Review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13, 18-23.
105. Kandemir, S., Dogru, M. I., Örün, I., Dogru, A., Altas, L., Erdogan, K., and Polat, N. (2010). Determination of heavy metal levels, oxidative status, biochemical and

- hematological parameters in *Cyprinus carpio* L., 1758 from Bafra (Samsun) fish lakes. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(3), 617-622.
106. Du, J., Tang, J., Xu, S., Ge, J. and Jin, M. (2018). A review on silver nanoparticles-induced ecotoxicity and the underlying toxicity mechanisms. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 98, 231-239.
107. Akaiğhe, N., MacCuspie, R. I., Navarro, D. A., Aga, D. S., Banerjee, S., Sohn, M. and Sharma, V. K. (2011). Humic acid-induced silver nanoparticle formation under environmentally relevant conditions. *Environmental science & technology*, 45(9), 3895-3901.
108. Rajkumar, K.S., Kanipandian, N. and Thirumurugan, N. (2016). Toxicity Assessment on Hematology, Biochemical and Histopathological Changes in Freshwater Fish Exposed to Silver Nanoparticles. *Labeo rohita* Baş. *Nanosci*, 6, 19–29.
109. Srivastava, A. K., Mishra, D., Shrivastava, S., Srivastav, S. K. and Srivastav, A. K. (2010). Acute Toxicity and Behavioural Responses of Heteropneustes Fossilis to an Organophosphate Insecticide, Dimethoate. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(4), 359-363.
110. Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J. and Miao, A. J. (2008a). Environmental Behavior and Ecotoxicity of Engineered Nanoparticles to Algae, Plants, and Fungi. *Ecotoxicology*, 17, 372–86.
111. Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L. and Dudzik, M. (2006). Effects of Cypermethrin on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Vet. Med. (Praha)*, 51(10), 469-476.
112. McCarthy, J. F. and Zachara, J. M. (1989). Subsurface Transport of Contaminants-Mobile Colloids in the Subsurface Environment May Alter the Transport of Contaminants. *Environ. Sci. Technol*, 23(5), 496-502.
113. Diker, K. S. (2005). *İmmunoloji*. Ankara: Medisan, 2, 304.
114. Morgan, J. D. and Iwama, G. K. (1997). *Measurements of Stressed States in the Field. Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge, 247-270.
115. Zhiteneva, L. D., Poltavceva, T. G. and Rudnickaja, O. A. (1989). *Atlas of Normal and Pathological Cells in the Blood of Fish*. Rostou-on Don, Rio de Janeiro, Brazil, 112.
116. Palm, A., Tuvikene, A. and Krause, T. (1992). Changes in Haematological Characteristics of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) Reared in the Mixture of Natural and Oil-Shale Mine Drainage Water. *Proc. Estonian Acad. Sci. Biol*, 41(4), 183-188.

117. Ahmad, F., Ali, A. A. and Shakoori, A. (1995). Sublethal Effects of Danitol (Fenpropathrin), a Synthetic Pyrethroid, on Freshwater Chinese Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Folia Biol. (Krakow)*, 43, 151-159.
118. Reddy, P. M., Bashamohideen, M. (1989). Fenvalerate and Cypermethrin Induced Changes in the Haematological Parameters of *Cyprinus Carpio*. *Acta. Hydrochim. Hydrobiol*, 17, 101-107.
119. Kumar, S., Lata, S. and Gopal, K. (1999). Deltamethrin Induced Physiological Changes in Freshwater Catfish *Heteropneustes fossilis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 62, 254-258.
120. Mughal, A. L., Iqbal, M. J. and Shakoori, A. R. (1993). Toxicity of Short Term Exposure of Sublethal Doses of Synthetic Pyrethroid, Fenvalerate, on the Chinese Grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Proc. Sem. Aqua. Dev. Pak*, 49-74.
121. Shakoori, A. R., Mughal, A.L. and Iqbal, M. J. (1996). Effects of Sublethal Doses of Fenvalerate (a synthetic pyrethroid) Administered Continuously for Four Weeks on the Blood, Liver and Muscles of a Freshwater Fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 57, 487-494.
122. Saravanan, M., Ramesh, M., Malarvizhi, A., & Petkam, R. (2011). Toxicity of neem leaf extracts (*Azadirachta indica* A. Juss) on some haematological, ionoregulatory, biochemical and enzymological parameters of Indian major carp, *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Tropical Forestry and Environment*, 1(1).
123. SCENIHR working group. (2007). The appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the technical guidance documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials. *Brussels, Belgium: European Commission*. http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_010.pdf.
124. Shalvei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Kolangi, H., and Fotovat, M. (2013). Effect of Subacute Exposure to Silver Nanoparticle on Some Hematological and Plasma Biochemical Indices in Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Human & experimental Toxicology*, 32(12), 1270-1277.
125. Priya, K. K., Ramesh, M., Saravanan, M., and Ponpandian, N. (2015). Ecological Risk Assessment of Silicon Dioxide Nanoparticles in a Freshwater Fish *Labeo rohita*: Hematology, Ionoregulation and gill Na⁺/K⁺ ATPase activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120, 295-302.
126. Imani, M., Halimi, M., and Khara, H. (2015). Effects of Silver Nanoparticles (AgNPs) on Hematological Parameters of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Clinical Pathology*, 24(3), 491-495.

127. İnternet:(June, 2020). Nanopartiküllerin Uygulama Alanları. URL-4 < [https:// docplayer.biz.tr/docs-images/92/108291469/images/370.jpg](https://docplayer.biz.tr/docs-images/92/108291469/images/370.jpg). Son Erişim Tarihi: 8.06.2020.
128. İnternet:(June, 2020). Nano, mikro ve makro şekillerinin karşılaştırması. Url-1< [http:// www. foresight.org/nano/applications.html](http://www.foresight.org/nano/applications.html)>. Son Erişim Tarihi 08.06.2020.
129. İnternet:(June, 2020). Sazan Balığı (Cyprinus carpio L., 1758). URL-2 < <https://tr.wikipedia.org/wiki/Sazan>>. Son Erişim Tarihi: 10.06.2020.
130. İnternet:(June, 2020). Balıklarda Dolaşım Sistemi. URL-3 < [http:// www. biyolojisesitesi. net /20uniteler/dolasim/ omurgalihakayvanlarda tasima ve dolasim. Html](http://www.biyolojisesitesi.net/20uniteler/dolasim/omurgalihakayvanlarda_tasima_ve_dolasim.html) >, Son Erişim Tarihi: 11.06.2020.





EKLER

EK-1. Etik Kurul İzni

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

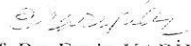
Sayı : 68429034/ 03
Tarih: Onay belgesi

18.04.2018

Sayın: Prof. Dr. Şevket KANDEMİR

Sorumlu yürütücü olarak planladığınız “*Hümk Asit Kaplı Gümüş Nanopartiküllerin (Ag-NP) Sazan (Cyprinus carpio, 1758 L.) Balıklarında Hematolojik, Hormonal, Histopatolojik Etkileri*” başlıklı araştırmanıza ait Etik Kurulu kararı ekte olup;

Gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ
Yerel Etik Kurulu Başkanı

Ek: 1 Adet Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

EK-1. Devam

T.C. AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI			
Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
18 / 04 / 2018	7	14 : 00	4

Prof. Dr. Ergin KARIPTAŞ başkanlığında yapılan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

KARAR NO – 4: Araştırma yürütücüsü Prof. Dr. Şevket KANDEMİR Liderliğinde 56 Adet Balık (Sazan/ Cyprinus carpio, 1758 L.) üzerinde yapılması planlanan “*Hümitli Ağız Kaplı Gümüş Nanopartiküllerin (Ag-NP) Sazan (Cyprinus carpio, 1758 L.) Balıklarında Hematolojik, Hormonal, Histopatolojik Etkileri*” adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine ve konunun ilgiliye tebliğine oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Ergin KARIPTAŞ

(Başkan)

(Araştırma Yürütücüsü
olduğundan kabul edildi.)

Dr. Öğr. Üyesi Z. Abidin ERBESLER

Üye

Prof. Dr. Ufuk KARADAYUT

Üye

Doç. Dr. H. Mutlu Kart GÜL

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Atilla TAŞKIN

Üye

Dr. Zikri GÜREL

Üye

Ecz. Suat YAĞMUR

Üye

Veteriner Hekim Demirel ERGÜN

Üye

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mehmet Ali AKILLI
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi : 05.03.1991
Doğum Yeri : Şanlıurfa

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Gümüşhane Üniversitesi
Yüksek Lisans : Amasya Üniversitesi
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce, Farsça

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Bildiriler : Akıllı, M., Kandemir, Ş., (2019). 6th International Conference Computational Experimental Science and Engineering, November 1-3, Şanlıurfa, Turkey.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurum ve Yıl : 1- Amasya Üniversitesi (Kısmi zamanlı) 2018-2019
2- Dollvet Veteriner Aşı Üretim Fabrikası 2016-2017
3- Harran Üniversitesi Kanser araştırma Labaratuvarı 2015-2016

İLETİŞİM

E-posta Adresi : mali.akilli571@gmail.com