



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RHODODENDRON LUTEUM VE RHODOEDRON
PONTICUM KULLANILARAK SENTEZLENEN
L-KARNİTİN YÜKLÜ B-CYCLODEXTRİN
İŞLEVSELLEŞTİRİLMİŞ N KATKILI KARBON DOTLARIN
ARTEMIA SALINA ÜZERİNDE TOKSİSİTESİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ALEYNA YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ORDU 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Aleyna YÜKSEL

ÖZET

RHODODENDRON LUTEUM VE RHODODEDRON PONTICUM KULLANILARAK SENTEZLENEN L-KARNİTİN YÜKLÜ B- β -CYCLODEXTRİN İŞLEVSELLEŞTİRİLMİŞ N KATKILI KARBON DOTLARIN ARTEMIA SALINA ÜZERİNDE TOKSİSİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Aleyna YÜKSEL

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 89 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Yeşim DAĞLIOĞLU)

Bu çalışmada, Ordu ili Turnalık yaylasından toplanan halk dilinde ormangülü olarak bilinen iki farklı *Rhododendron* türünün (*Rhododendron luteum* ve *Rhododendron ponticum*) karbon kaynağı olarak kullanılması ile L-carnitin yüklü β -Cyclodextrin ile işlevselleştirilmiş N katkılı karbon dotlar hidrotermal yöntemiyle sentezlendi. Sentezlenen karbon dotların (LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD) karakterizasyonu SEM, TEM, UV-VIS, EDX ve Elemental Analiz ile yapıldı. Sentezlenen karbon dotlar yaklaşık 3-5 nm boyutlarında küresel yapıda monodispers dağılım gösterir. CD'lerin yapısında C, O, N ve H elementleri ile O-H, C-H, C-O-C, C-O, N-H, C-N ve C-C grupları tespit edildi. Sentezlenen karbon dotların akut toksisitesi zooplankton *A.salina* larvaları üzerinde belirlendi. Bu amaçla, değişen konsantrasyonlarda (5 - 100 mL) ve sürelerde (24 - 96 saat) karbon dotlara maruz bırakıldı. Probit analizi ile LC50 değerleri sırasıyla LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD için 12.858 ve LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD için 21.058 olarak hesaplandı. Akut toksisite sonucu belirlenen öldürücü olmayan konsantrasyonlarda antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler (SOD, KAT), oksidatif stres belirteçleri (ROT, MDA) ve DPPH radikali giderme aktiviteleri araştırıldı. Karbon dotlara maruz kalan larvalarda maruz kalma süresine bağlı olarak SOD, KAT ve MDA aktiviteleri değişkenlik göstermiştir. Floresans mikroskobu ile larvalarda ROT oluşumu gözlemlendi. DPPH radikali giderme tayininden elde edilen sonuçlara göre Rh.l özütünün standart madde (BHT)'e yakın düzeyde DPPH radikali giderme aktivitesi gösterdiği tespit edildi. *Rhododendron* bitkisinden elde edilen özütler ile sentezlenen karbon dotların ve L-carnitin'in mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkileri olduğu belirlendi. Karbon dotlara maruz kalan larvaların floresan mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu analizlerinde, *Artemia* larvalarının da abdomen kısalması, abdomen parçalanması, ekstremite kaybı gibi çeşitli yapısal bozukluklar tespit edildi.

ANAHTAR KELİMELELER: *Artemia salina*, Nanoteknoloji, *Rhododendron*, N-katkılı karbon dot, Yeşil sentez, β -Cyclodextrin, L-carnitin

ABSTRACT

COMPARISON OF THE TOXICITY OF L-CARNITINE LOADED β -CYCLODEXTRIN FUNCTIONALIZED N-DOPED CARBON DOTS FUNCTIONALIZED N-DOPED CARBON DOTS ON ARTEMIA SALINA SYNTHESIZED USING RHODODENDRON LUTEUM AND RHODOEDRON PONTICUM

TITLE OF THE THESIS

Aleyna YÜKSEL

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

MASTER THESIS, 89 PAGES

(SUPERVISOR: Doç. Dr. Yeşim DAĞLIOĞLU)

In this study, two different Rhododendron species (*Rhododendron luteum* ve *Rhododendron ponticum*), colloquially known as Rhododendron, collected from Turnalık plateau in Ordu province, were used. N-doped carbon dots functionalized with L-carnitine-loaded β -Cyclodextrin were synthesized by the hydrothermal method, with plants used as carbon sources. Characterization of the synthesized carbon dots (LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD and LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD) was examined by SEM, TEM, UV-VIS, EDX and Elemental Analysis. The synthesized carbon dots show a monodisperse distribution in a spherical structure with dimensions of approximately 3-5 nm. C, O, N and H elements and O-H, C-H, C-O-C, C-O, N-H, C-N and C-C groups were detected in the structure of CDs. The acute toxicity of the synthesized carbon dots was determined on *A. salina* larvae, which are zooplankton. This aim, Artemia larvae were exposed to carbon dots at concentrations ranging from 5 to 100 mL and at time intervals of 12, 24, 48, 72 and 96 h. By probit analysis, LC50 values were calculated as 12.858 for LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD and 21.058 for LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD, respectively. Antimicrobial and antioxidant activities (SOD, CAT), oxidative stress markers (ROS, MDA) and DPPH radical scavenging activities were investigated at sublethal concentrations determined as a result of acute toxicity. SOD, CAT and MDA activities varied depending on the exposure time in larvae exposed to carbon dots. ROS formation in larvae was observed with fluorescence microscopy. In the DPPH radical scavenging assay, it was determined that the Rh.l extract indicated DPPH radical scavenging activity close to the standard substance (BHT). It was determined that carbon dots and L-carnitine synthesized with extracts obtained from the *Rhododendron* plant had antimicrobial effects on microorganisms. In fluorescence microscopy and scanning electron micrographs of larvae treated with carbon dot, various structural defects such as abdominal shortening, abdominal fragmentation, and limb loss were detected in *Artemia* larvae.

KEY WORDS: *Artemia salina*, Nanotechnology, Rhododendron, N-doped carbon dots, Green synthesis, β -Cyclodextrin, L-carnitine

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimin ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren Danışman hocam Sayın Doç.Dr.Yeşim DAĞLIOĞLU'a, tez çalışmam da desteklerini esirgemeyen sayın hocam Hasan İLHAN'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **B-2318** proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VIII
ÇİZELGE LİSTESİ	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Nanopartiküller ve Kullanım Alanları.....	4
2.2 Serbest Radikaller.....	4
2.3 Reaktif Oksijen Türleri.....	4
2.3.1 Süperoksit Radikali (O_2^-)	5
2.3.2 Hidroksil Radikali.....	5
2.3.3 Hidrojen Peroksit Radikali (H_2O_2)	5
2.3.4 Singlet Oksijen (1O_2)	6
2.4 Serbest Radikallerin Etkileri.....	6
2.4.1 Malondialdehit (MDA)	7
2.5 Oksidatif Stres	8
2.6 Antioksidanlar	8
2.6.1 Süper Oksit Dismutaz (SOD)	9
2.6.2 Katalaz (KAT)	9
2.7 Toksikoloji.....	9
2.7.1 Toksikolojik Testler.....	10
2.7.2 Nanotoksikoloji.....	10
2.7.3 Akuatik Toksikoloji	11
2.8 Nanopartiküllerin Canlılardaki Toksik Etki Mekanizmaları	11
2.9 Toksikolojik Çalışmalarda Model Organizmanın Seçimi	12
2.10 Tuzlu Su Karidesi (<i>Artemia salina</i>).....	12
2.11 Karbon Bazlı Nanomalzemeler	14

2.12 Karbon Dot	14
2.12.1 Karbon Dot'ların Sentez Yöntemleri	15
2.12.2 Karbon Dot'ların Doğal Kaynaklardan Sentezi	17
2.13 N (Üre) Dope Olmuş Karbon Dotlar (N-CD'ler)	18
2.14 L-karnitin	18
2.15 β -Cyclodextrin	19
2.16 <i>Rhododendron</i>	19
2.16.1 <i>Rhododendron luteum</i>	20
2.16.2 <i>Rhododendron ponticum</i>	21
3. LİTERATÜR ÖZETİ	23
4. MATERYAL-METOD	25
4.1 Bitki Numunelerin Elde Edilmesi ve Saklanması	25
4.2 Bitki Özütlерinin Hazırlanması	25
4.3 Kullanılan Kimyasallar	25
4.4 L-karnitin Yüklü β -Cyclodextrin ile İşlevselleştirilmiş N Katkılı Karbon Dotların Sentezi (LCAR/ β -CD@ <i>Rh.l-Rh.p</i> /N-CD)	26
4.4.1 N Katkılı Karbon Dotların Sentezi	26
4.4.2 β -Cyclodextrin Karbon Dot Sentezi	26
4.4.3 L-karnitin Yükleme	26
4.5 Karakterizasyon	27
4.5.1 Altın Kaplama Prosedürü	27
4.5.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	28
4.5.3 Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi	28
4.5.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi	28
4.5.5 Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-VIS) Analizi	29
4.5.6 Elemental Analiz	29
4.6 <i>Artemia salina</i> Larvalarının Hazırlanması	29
4.6.1 Zooplankton Sayımı	30
4.6.2 Toksikite Biyodeneş Düzenegi	30
4.7 Akut Toksikite Deneyi	31
4.8 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	32
4.9 Biyokimyasal Analizler	33
4.9.1 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Aktivitesi	34
4.9.2 Süper Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	34

4.9.3 Katalaz (KAT) Aktivitesi.....	34
4.9.4 Malondialdehit (MDA) Aktivitesi	35
4.10 DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	35
4.11 BHT Tayini İçin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	36
4.12 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	36
4.12.1 Test mikroorganizmaları.....	37
4.12.2 Disk Difüzyon Yöntemi.....	37
4.13 İstatistiksel Analizler	37
5. BULGULAR	38
5.1 Sentez ve Karakterizasyon	38
5.1.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	38
5.1.1.1 CD'lerin SEM Bulguları	38
5.1.1.2 Larvaların Taramalı Elektron Mikroskobu	39
5.1.2 Sentez Karbon Dot'ların Geçirimli Elektron Mikroskobu	39
5.1.3 <i>A.salina</i> Larvalarının Floresan Mikroskobu	40
5.1.4 Ultraviyole Görünür Spektroskopi (UV-VIS)	43
5.1.5 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR).....	44
5.1.6 Elemental Analiz.....	45
5.2 Toksikite Analiz Bulguları.....	45
5.2.1 Akut Toksikite ve Yaşama Oranları.....	45
5.3 Biyokimyasal Analizler	47
5.3.1 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Aktivitesi.....	47
5.3.2 Süper Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi.....	48
5.3.3 Katalaz (KAT) Aktivitesi.....	49
5.3.4 Malondialdehit (MDA) Aktivitesi	49
5.4 DPPH Aktivite Seviyesi	50
5.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayini	50
6. TARTIŞMA	53
7. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	63
8. KAYNAKLAR.....	65
9. ÖZGEÇMİŞ.....	77

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Oksidatif strese maruz kalmış hücre.....	8
Şekil 1.2 Karbon dot'ların Sentez Yöntemleri.	16
Şekil 1.3 Hidrotermal reaksiyon kabı (otoklav) şeması.....	17
Şekil 1.4 Rhododendron luteum'un Türkiye'deki yayılış alanları.....	21
Şekil 1.5 L-karnitin'in kimyasal yapısı	18
Şekil 1.6 β -Cyclodextrin yapısı	19
Şekil 2.1 Altın kaplama cihazı, işlemi, yapılışı	27
Şekil 2.2 Zooplanktonların Sayımı	30
Şekil 2.3 Sonikatör cihazı ve CD eklenmiş numuneler	31
Şekil 2.4 A.salina larvalarının Biyodeneş düzeneği (orijinal).....	33
Şekil 3.1 Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) haritala analizi	38
Şekil 3.2 Maruz kalan larvaların SEM bulguları	39
Şekil 3.3 Sentez karbon dotların TEM bulguları	40
Şekil 3.4 Maruz kalan larvalarda 24 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri	41
Şekil 3.5 Maruz kalan larvalarda 48 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri	41
Şekil 3.6 Maruz kalan larvalarda 72 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri	42
Şekil 3.7 Maruz kalan larvalarda 96 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri	43
Şekil 3.8 Sentez karbon dotların UV-VİS absorpsiyon spektrumları	44
Şekil 3.9 Sentez karbon dotların FTIR spektrumları	45
Şekil 3.10 LCAR/ β -CD@Rh.1/N-CD maruz kalan larvaların 96 saatlik ölüm oranı	46
Şekil 3.11 LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD maruz kalan larvaların 96 saatlik ölüm oranı	46
Şekil 3.12 ROT Aktivitesi Spektrumu	47
Şekil 3.13 Hücre içi ROT'un DCFDA ile değerlendirilmesi.....	48
Şekil 3.14 SOD Aktivitesi Spektrumu	48
Şekil 3.15 KAT Aktivitesi Spektrumu ve Kontrol Kalibrasyon Eğrisi	49
Şekil 3.16 MDA Aktivitesi Spektrumu ve Tetrametoksipropan Kalibrasyon Eğrisi.	49
Şekil 3.17 DPPH Çözeltilisinin UV-vis Spektrumu ve BHT Kalibrasyon Eğrisi	50
Şekil 3.18 DPPH % İnhibisyon – Konsantrasyon Grafiği	50
Şekil 3.19 Antimikrobiyal aktiviteler	52

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	5
Çizelge 1.2 Antioksidanların Sınıflandırılması.....	8
Çizelge 2.1 Kullanılan Kimyasallar	25
Çizelge 2.2 Maruz Bırakılan <i>A. salina</i> larvalarının Biyodeneş Tasarımı.....	31
Çizelge 2.3 250 mL 50 mM potasyum fosfat tamponu için alınan miktarlar	33
Çizelge 2.4 Kullanılan Bakteri ve Mantar Türleri	37
Çizelge 3.1 Sentez Karbon Dotların Elemental Analizi	45
Çizelge 3.2 Sentez Karbon Dotların LC ₅₀ değerleri	46
Çizelge 3.3 Mikroorganizmaların İnhibisyon Zon Çapları.....	52

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

A.salina	: <i>Artemia salina</i>
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
C	: Karbon
CD	: Karbon dot
CNT	: Karbon nanotüp
DCFH-DA	: 2,7-diklorodihidroflorossin diasetat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1, 1-difenil-2,2-pikrilhidrazil
EDC-HCL	: N-(3-Dimetil amino propil)-N
Fe	: Demir
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GP_x	: Glutasyon Peroksidaz
GQD	: Grafen Kuantum dot
H	: Hidrojen
HCl	: Hidroklorik Asit
KAT	: Katalaz
KNM	: Karbon Nanomalzemeler
LCAR	: L-carnitine
MDA	: Malondialdehit
N	: Azot
NBT	: Nitro blue tetrazolyum klorür
N-CD_s	: Amin Dope Olmuş Karbon dot
NHS	: N-Hidroksisüksinimit
NIR	: Yakın Kızılötesi Yansıma
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
O	: Oksijen
OECD	: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PL	: Ayarlanabilir Fotolüminesans
Rh.l	: <i>Rhododendron luteum</i>
Rh.p	: <i>Rhododendron ponticum</i>
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SD	: Siklodekstrin
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SOD	: Süper Oksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskobu
Uv-vis	: Ultraviyole- Görünür Spektroskopisi
β-CD	: β-Cyclodextrin

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, 1-100 nanometre (nm) boyutundaki nesnelere inceleyen biyoloji, kimya, fizik gibi çeşitli mühendislik programlarıyla bu işbirlikçi bir bilimdir (Lehn, 2002). Çok küçük olmaları sayesinde mükemmel optik, manyetik ve kimyasal özellikler sergilemelerinin yanı sıra birçok alanda önemli derece de yer edinmişlerdir.

Nanopartiküllerin (NP) toksik etkileri, aşağıdakiler de dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır: Parçacık özellikleri (çap, şekil, yüzey yükü, kimya vb.), konsantrasyon, maruz kalma süresi, çevresel yapı, parçacık uygulama yöntemi ve hedef türün bağışıklık sistemi. (Khosravi-Katuli ve ark., 2017).

Son yıllarda nanoteknoloji uygulamalarının hızlı büyümesi NP'lerin sağlığa etkileri konusunda dünya genelinde endişe yaratmakta olup toksikolojik araştırmalar da büyük bir artışa neden olmuştur. Bununla birlikte akla nanomalzemelerin kullanımının güvenilirliğine dair iki önemli etken gelmektedir. Bunlardan ilki, nanoölçekli malzemelerin çok geniş bir yelpazede olması ve neredeyse mikroölçekteki tüm NP'lerden üretilmeleridir. İkincisi, nanomateryaller parçacık yapıları sayesinde canlı hücrelere kolaylıkla girebilmektedir. Ürünün fizikokimyasal ve toksikolojik özelliklerinin belirlenmesinde önemli rol oynar. Büyük ölçekte zararsız olan ürünler nano ölçekte reaktif ve toksik olabilir.

Bu nanomateryallerin ve NP'lerin toksisitesi hakkında bilgiler ise günümüzde hala yetersizdir. Ancak yapılan çalışmalar da nanopartiküllerin boyutu, şekli, kimyası, zeta potansiyeli, yüzey özellikleri ve yığılma (küme/agregat oluşturma) durumu toksisiteyi değiştiren kritik parametreler olduğu rapor edilmiştir. NP'lerin toksik özellikleri, onların kimyasal kompozisyon miktarına, çözünürlüğüne, şekline, yüzey alanına ve yüzey yükleri gibi parametrelere bağlıdır.

En umut verici karbon malzemelerden biri olan karbon noktalar (CD) ilk kez Xu ve ark., (2004) yılında yaptıkları çalışma esnasında keşfedilmiştir. Ayrıca, iyi biyouyumlulukları, benzersiz optik özellikleri, ayarlanabilir optoelektronik özellikleri, biyoaktivite, üstün suda çözünürlük, kolay sentezleri, uygun maliyetli, boyut kontrolü yapılabilen belirli kimyasal özelliklere sahip olmaları ve düşük

toksisiteleri sayesinde son zamanlarda kullanım alanları artmıştır (Kavuranpara, 2021). CD'leri sentezlemek için yenilenebilir ham maddelerden (ör. bitkiler) veya yenilenebilir rafine bileşiklerden (ör. sitrik asit, amino asitler) yararlanılabilir. Siklodekstrinler ise, a-1,4 glikosidik bağlarla birleştirilmiş glikoz alt birimlerinin makrosiklik bir halkasından oluşan bir siklik oligosakarit ailesidir. Gıda, ilaç, ilaç dağıtımı vb. alanlarda kullanılmaktadırlar. β -CD'nin, CD tabanlı nanotaşıyıcılara dahil edilmesi, ilaçların maruziyetini azaltmakta ve böylece toksik yan etkiyi ve ilaçların bozulmasını en aza indirmekte bu da ilaçların sürdürülebilir salımını kolaylaştırmaktadır.

Yeşil sentez yöntemi bitkiler veya metabolitler tarafından NP'lerin kombinasyonu için kullanılan ve geleneksel olarak entegre edilmiş NP'lerin neden olduğu toksisiteyi azaltma potansiyeli bulunan bir yöntemdir (Gour ve Jain, 2019). Yeşil sentez yöntemi ile birlikte daha az başarısızlık şansı, düşük maliyet ve karakterizasyon kolaylığı avantajı ile NP'lerin üretilmesi için daha etkili olduğunu kanıtlamıştır (Abdelghany ve ark., 2018). Yeşil sentez, su (hidrotermal) veya etanol gibi iyi huylu organik çözücüler (solvotermal) kullanılmasını şart koşar. Çözücü ayrıca sentezde bir karbon kaynağı olarak hareket ederek ikili bir amaca hizmet eden yenilenebilir bir madde de olabilir.

Karadeniz bölgesinde doğal olarak yetişen ormangülü (*Rhododendron spp.*) türleri bulunmaktadır. Türkiye'de *Rhododendron luteum* (Rh.l) bitkisinin genç yapraklarının ve *Rhododendron ponticum* (Rh.p) saplarının anti-enflamatuar, asetilkolinesteraz inhibisyonu, anti-protozoal aktiviteleri, anti-bakteriyel ve asetilkolinesteraz inhibisyonu yapılan çalışmalar dışında antioksidan, antimikrobiyal, anti-enflamatuar, antidiyabetik, analjezik, immünomodülatör, hepatoprotektif ve sitotoksik etkileri çalışmalarda konu olmuştur (Popescu ve Kopp, 2013; Demir ve ark., 2016).

Sucul ekosistem ise her geçen gün birçok kirlenici yeni kimyasalların çevreye girmesiyle ekosistem üzerinde etkiler oluşturmaktadır. Bu kirleniciler, su ortamına ulaştıklarında hassas türlerde subletal veya letal etkiler ortaya çıkabilmekle birlikte Toleransı yüksek türler çevrede meydana gelebilecek değişikliklere karşı daha dayanıklıdır ve organizmalarda yüksek trofik seviyede birikim göstermektedirler

(Fleeger ve ark., 2003; Shoaib ve ark., 2012). Sucul ekosistemin üyelerinden olan zooplanktonik organizmaların Oluşumları, fizyolojileri ve davranışları ekosistemler için önemlidir ve biyolojik özellikleri onları kirleticilerin etkilerini incelemek için ideal kılar. (Arslan, 2017).

Yürütülen tez çalışmasında deniz suyu ortamında yaşayan birincil tüketici zooplankton türlerinden *Artemia salina* (*A.salina*), Doğu Karadeniz Bölgesinde yaygın olan iki farklı orman gülü, Rh.p ve Rh.l'den elde edilen ekstratlar kullanılarak LCAR yüklü β -CD'in işlevselleştirilmesiyle N katkılı yeni CD'ler sentezlenmiştir. Çalışmada, kullanılan her iki CD'nin karakterizasyonu Transmisyon/Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) ve UV-Görünür Spektroskopisi yöntemleriyle gerçekleştirilerek, toksik etkilerinin ortaya çıkarılarak (floresan mikroskobuyla) mortalite ve oksidatif stres belirteçlerinin (ROT, SOD, KAT ve MDA) ve antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Nanopartiküller ve Kullanım Alanları

20. yüzyılda nanoteknoloji ile tanışılmış ve son yıllarda ise dünya ülkeleri nanoteknoloji alanındaki yatırımlarına oldukça yüksek kaynaklar ayrılmaktadır. İmal edilmiş NP'lerden olan karbon dot (CD)'ler ilk kez 2004 yılında tesadüfen tek duvarlı karbon nanotüplerin saflaştırılması sırasında Xu ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (Xu ve ark., 2004). Çapı 10 nm'den küçük olan ve kuantum noktası benzeri davranış sergileyebilen bir floresan nanomalzemeler sınıfı olup keşfedilmelerinden bu yana çok yönlü optik özellikleri, ışıkla ağartmaya karşı dirençleri, tanı ve görüntüleme alanlarındaki uygulamalarıyla geleneksel floresan boyalara alternatifler olarak görülmektedirler (Li ve ark., 2019). Sonuç olarak, çevreye duyarlı ve düşük toksisitesi NP'lerin geliştirilmesinin önem kazanması son yıllarda karbon bazlı nanomalzemeleri (KNM'leri) karşımıza çıkarmaktadır.

2.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız ve çok etkin moleküllerdir (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Canlı organizmalarda oksijen kullanan mekanizmaların mitokondrilerinde sürekli olarak serbest radikaller üretilir (Karaçay, 2006). Serbest radikaller yapısal olarak, başka bir radikalle veya radikal olmayan ajanlarla birleşerek yeni radikaller üretebilir ve zincir tepkimeleri başlatabilir. Bununla birlikte canlılar için önemli bir role sahip olmasının yanında organizmada moleküler düzeyde lipid, DNA, protein gibi birçok biyolojik etkiye neden olarak biyolojik materyallere zarar vermesiyle hücre hasarı ve ölüme neden olabilir.

2.3 Reaktif Oksijen Türleri

ROT, oksijen radikallerini ve nonradikal ROT'ları kapsamaktadır. ROT, biyomoleküllerin yapısını bozan oksijen ara ürünleri olarak bilinirler (Cnubben ve ark., 2001). Serbest radikallerin başlattığı zincir reaksiyonların bunu durdurmak için yeni oluşan radikalın ya diğer serbest radikallerle reaksiyona girerek eşleşmemiş elektronu uzaklaştırması ya da bir antioksidanla reaksiyona girmesi gerekir (Fridovich, 1999).

Çizelge 1.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Radikaller	Nonradikaller
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil (OH^{\cdot})	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Peroksil (ROO^{\cdot})	Hipobromöz asit ($HOBr$)
Alkoksil (RO^{\cdot})	Singlet oksijen (1O_2)
Hidroperoksil (HO_2^{\cdot})	Ozon (O_3)
Lipid peroksil (LOO^{\cdot})	

2.3.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Enzimatik ve nonenzimatik tepkimeler ile en fazla ve hızlı oluşan radikaldir. Bunun sebebi, oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesidir. Süperoksit radikali yüksek derecede reaktif değildir ve direkt olarak zarar vermez ancak diğer radikallerin oluşmasına sebep olabilir. Bu radikal anyonun asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metali iyonları için indirgeyici bir ajan olmasıdır (Aslankoç ve ark., 2019). Bu radikal, antioksidan enzim süperoksit dismutaz (SOD) tarafından etkisiz hale getirilir (Yonar, 2008).

2.3.2 Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, suyun yüksek enerjili iyonlaşması sırasında radyasyona maruz kalması veya geçiş metallerinin varlığında H_2O_2 'nin indirgenmesiyle oksijen radikalleri arasında en reaktif ve ömrü en kısa olan radikaldir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ ' in birleşmesinden oluşur.

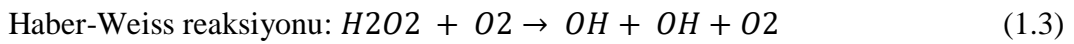
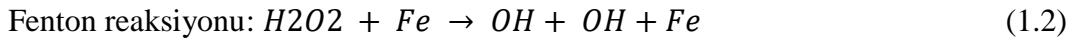


Bundan dolayı toksik bakımdan etkilidir ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olur. Hidroksil radikali, amino asit, nükleik asit ve organik asitler ile reaksiyona girerek bu moleküllere diğer ROT radikallerinden daha çok hasar verebilir.

2.3.3 Hidrojen Peroksit Radikali (H_2O_2)

Hidrojen peroksiti (H_2O_2), yapısında çiftlenmemiş elektron olmadığından serbest radikal sınıfında sayılmamaktadır. Ancak, biyolojik membranlardan rahatlıkla geçebildiğinden dolayı uzun süre yaşayabilen bir oksidandır (Nordberg ve Arner, 2001). H_2O_2 , serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynamaktadır. Bunun

nedeni hücre içi sinyal molekülü rolünü yerine getirmesidir (Rhee, 1999; Sundaresan ve ark., 1995). Bir diğer önemli fonksiyonu da süperoksit ile veya Fe gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek çok reaktif özelliğe sahip olması ve zararlı etkiler göstererek hasarlara sebep olan hidroksil (OH) radikalinin oluşmasına neden olan ROT moleküllerinin üretilmesinde bir aracı olarak rol oynamasıdır (Robert, 2000). Hidroksil radikalinin oluşturduğu bu reaksiyonlar; Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinir (Southorn ve Powis, 1988).



Hücre içinde H_2O_2 'nin kaynağının O_2 'nin enzimatik bir şekilde iki elektron ile indirgenmesi veya süperoksitlerin "enzimatik/nonenzimatik dismutasyonu" reaksiyonları olarak bilinmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002). Bu reaksiyonlar spontal olarak yada süperoksit dismutaz tarafından katalize edilir (Reiter, 1995). Ortadan kaldırılması ise katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olarak adlandırılan antioksidan enzim sistemleri tarafından sağlanır (Chae ve ark., 1999a-b; Mates ve ark., 1999).

2.3.4 Singlet Oksijen (1O_2)

Çiftlenmemiş elektron bulundurmadığı için reaktif oksijen molekülleri grubunda sayılmaktadır. Singlet oksijen, oksijen elektronlarından bir tanesinin kendi dönüş yönünün tersi yönde yer değiştirmesi sonucu oluşabileceği gibi, süperoksit radikalinin dismutasyonu sonucunda da oluşabilir (Skrzydowska ve ark., 2005).

2.4 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, membran fosfolipidleri, nükleik asitler ve proteinler olmak üzere bütün biyomolekülleri etkileyecek düzeyde doku hasarına neden olabilirler. Canlılar için önemli bir role sahip olmasına rağmen fazla üretildiklerinde doku yaralanması, hücre zehirlenmesi, iltihaplanma ve fonksiyon bozukluğuna yol açabilmektedirler. Son yıllardaki çalışmalar, serbest radikallerin birçok hastalıkla ve yaşlanma süreciyle ilişkisi olduğunu göstermektedir. Lipid peroksidasyonu, hücre zarlarının akışkanlığında ve geçirgenliğinde değişikliklere neden olur. Bu nedenle lipid peroksidasyonunun neden olduğu hasar hücre fonksiyonuna son derece zararlıdır (Radak ve ark., 1999; Sachdev ve Davies, 2008).

Serbest radikaller çeşitli mekanizmalar yoluyla DNA'ya zarar verir. Örneğin, hidroksil radikalleri bazlar ve deoksiriboz ile kolaylıkla etkileşime girerken, hidrojen peroksit membranlara kolayca nüfuz eder ve DNA'yı hızla lokalize ederek işlev bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olur. Serbest radikallerin DNA ile etkileşimi, organizmalarda oksidatif DNA hasarına, mutageneze, karsinojeneze ve yaşlanmaya neden olur.

Yine proteinleri okside ederek protein ve yapısındaki aminoasitlerde (enzim ve yapısal proteinler) oluşan hasardan dolayı pek çok hastalığın başlaması ve ilerlemesinin de önemli rol oynar. Serbest radikaller ile reaksiyon sonucunda proteinlerde; aminoasit modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu, agregasyonu, proteolize duyarlılık ve çapraz bağlanmalar ortaya çıkar (Reznick ve ark., 1992).

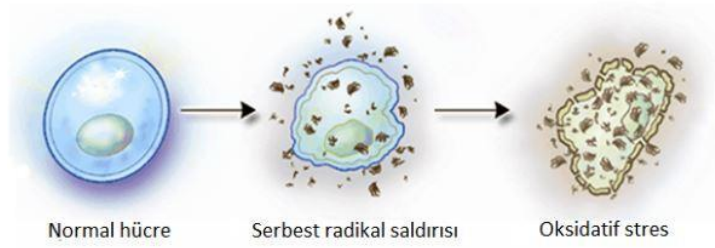
Hidroksil gibi serbest radikaller ise, karbonhidratlar ile reaksiyona girerek karbon atomundan bir hidrojen atomu çıkartmak suretiyle karbon merkezli radikaller üretirler. Bu radikaller hyaluronik asit ile reaksiyona girerek zincir kırılmalarına yol açar (Devasagayam ve ark., 2004).

2.4.1 Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyon sürecinin en önemli ve son ürünü olan çoklu doymamış yağ asitlerinin enzimatik veya nonenzimatik yollarla parçalanması sonucu oluşmaktadır. Oluşan MDA, membran komponentlerinin polimerizasyonuna, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimine, hücre zarında deformasyona, yüzey bileşenlerinin agregasyonuna, iyon transportu ve enzim aktivitesi gibi zar özelliklerinde değişikliklere neden olan toksik bir üründür (Valko ve ark., 2006; Gönenç ve ark., 2001; Cighetti ve ark., 2002). MDA'nın meydana getirdiği bu toksik etkiler genotoksik ve karsinojenik etkiler meydana getirebilir. Kanda ise oksidatif stresin biyomarkeri olarak ifade edilmesinden dolayı lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmakta olup plazmada kolaylıkla çözünebilmesinden dolayı idrarda da görülmektedir (Akkuş, 1996; Oktem ve ark., 2006). MDA tespitinde, Tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonuna dayalı bir yöntem kullanılır. TBA testi, TBA'nın MDA'ya reaktivitesine dayanmaktadır.

2.5 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, antioksidan savunma sistemlerinin yeterli olmaması durumunda ya da ROT üretiminin fazlaşması sonucunda meydana gelir. Normal koşullarda metanolizmada antioksidan savunma sistemleri tarafından serbest radikaller ortamdaki uzaklaştırılır. Ancak, oksidatif stresin artması neticesinde antioksidan savunma sistemleri devre dışı kalarak lipit, protein ve DNA gibi yapılarda meydana gelen hasar sonucunda hücre hasarı veya nekrozu ortaya çıkabilir.



Şekil 1.1 Oksidatif strese maruz kalmış hücre (Kahraman, 2020).

2.6 Antioksidanlar

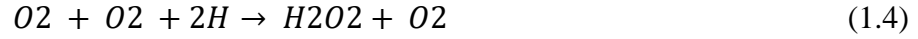
Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları ve ROT'un hedef dokulardaki olumsuz etkilerini önleyen, geciktiren veya meydana gelen hasarın tamirinde rol alan, serbest radikalleri stabilize etme ve yakalama kabiliyetine sahip maddelere denir (Elliot, 1999). Antioksidan maddeler, enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılır ve oksidasyona sebep olan maddelerle hızla reaksiyona girerek oluşan hasarı intrasellüler ve ekstrasellüler savunma sistemi ile etkisiz hale getirir.

Çizelge 1.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

Enzimatik Antioksidanlar	Non-enzimatik Antioksidanlar	
Süper Oksit Dismutaz	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz	Melatonin	Transferrin
Glutasyon Peroksidaz	Ürik Asit	Seruloplazmin
Glutasyon redüktaz	Bilirubin	α -lipoik asit
Glutasyon S Transferaz	Albümin	
Sitokrom Oksidaz	Selenyum	

2.6.1 Süper Oksit Dismutaz (SOD)

SOD, reaktif oksijen türleri ve süperoksit anyon radikallerine karşı ilk etki eden hidrofilik fazda bulunan bir antioksidan savunma sistemidir (Sorg, 2004). Bu enzim, süperoksit anyonunun ($O_2^{\cdot-}$), oksijene ve H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizleyerek bu radikalın etkisini azaltmaktadır. Tepkime sonucunda oluşan H_2O_2 'yi Katalaz (KAT) ve GP_x 'i kullanarak zararsız hale dönüştürür (Subash ve Subramanian, 2009).



SOD'un bir diğer işlevi ise dehidratazları serbest radikal süperoksit tarafından inaktivasyona karşı korumaktır (Benov ve Fridovich, 1998). SOD'un vücutta 3 farklı izoformu bulunmaktadır. Bunlar; Cu-Zn-SOD, Mn-SOD ve Cu-SOD'dur. Cu-Zn-SOD; sitoplazmada, nükleer bölmelerde ve lizozomlarda, Mn-SOD; aerobik hücrelerin mitokondrisinde, Cu-SOD ise plazmada, lenfte ve sinoviyal sıvıda bulunmaktadır.

2.6.2 Katalaz (KAT)

KAT, H_2O_2 'yi suya ve oksijene ayırıştırarak reaktivlik oranını azaltmaktadır. Normal şartlarda hücre tiplerinde gerekli olmamasına rağmen başta karaciğer olmak üzere peroksizom ve mitokondride bulunur oksidatif strese karşı işlev görür (Hunt ve ark., 1998). Yapısında 4 tane HEM grubu barındırmasından dolayı hemoprotein olarak bilinmektedir.



KAT, endoplazmik retikulum ve mitokondride diğer organlara oranla daha az bulunduğundan organellerde oluşan H_2O_2 peroksizomlara difüze olmadığı sürece katalaz tarafından parçalanamaz (Onat ve ark., 2002).

2.7 Toksikoloji

Toksikoloji, kimyasal ve fiziksel etmenlerin canlı organizmalar ve ekosistem üzerinde oluşturduğu zararlı, tahrip edici etkileri inceleyen ve bu etmenlerden kaynaklanan riskleri belirleyerek ortaya koymaktadır. Son yıllarda ise hızla yaşantımıza giren nanoteknolojik ürünler mevcuttur. Bu nanoteknolojik maddeler ve ürünler toksik etki meydana getirebilirler. Bu anlamda zararlı etkenlerden korunmak, zehirlenmelerde yeni tedavi yaklaşımları geliştirmek, olası riskleri belirlemek ve bilgilendirmek toksikolojinin uğraşları arasındadır (Güner, 2008).

2.7.1 Toksikolojik Testler

Toksik maddelerin zararlı etkilerini ve ne derece de zararlı olup olmadıklarını, toksik maddelerin organizmalar üzerindeki etkilerini ve birikimlerini gözlemlemek için kullanılmaktadır. Toksikolojik testlerde kullanılan model organizmalar farklı konsantrasyonlar da toksik maddenin bulunduğu ortamda tutulur ve bu maddelerin organizmaya etkileri incelenir. Bu tür araştırmalarda; ölümler, üreme, gelişme durumları, organ aktiviteleri histolojik ve biyokimyasal değişimler gibi faktörlere bakılır.

Toksisite testleri; süre, ortam ve toksik madde ilavesine göre sınıflandırılır. Süreye göre yapılan testler ikiye ayrılmaktadır. Akut toksikolojik testlerde test süresi 96 saatlik zaman dilimlerini kapsamaktadır. Bu süre araştırmalarda kullanılan model organizma, organizmanın büyüme ve gelişimine göre değişiklik göstermektedir. Kronik toksikolojik testlerde ise, test süresi bir hafta ila bir ay arasında değişiklik gösterebileceği gibi daha uzun da olabilir. Kronik toksikolojik testlerde, genellikle farklı konsantrasyonlardaki toksik maddelerin organizmada üreme ve gelişmesi üzerine etkilerine bakılmaktadır (FAO, 1987; Ünsal, 1998).

Toksikolojik testler, üç gruba ayrılmaktadır. Statik testlerde organizma uygun bir düzene içinde konur ve test süresi boyunca bir değişiklik yapılmaz. Bu deneylerde, oluşacak olumsuzlukları gidermek amacıyla genellikle 96 saatlik süre tercih edilmektedir. Yarı statik testlerde, farklı zaman dilimleri tercih edilmekte birlikte hazırlanmış olan deney ortamı da belli sürelerle değiştirilir ve bu değişiklikler deneyde kullanılan model organizmayı göre farklılık gösterir. Sürekli akış sistemli testlerde ise hazırlanmış olan deney ortamı sürekli olarak değiştirilir ve kısa süreli olup doğal ortam koşullarının en iyi temsil edildiği testlerdir (FAO, 1987; Ünsal, 1998).

2.7.2 Nanotoksikoloji

Nanoteknoloji, maddelerin nano ölçekte bilinmeyen özellikler kazanmasıyla gelişme göstermiş ve nanopartiküllerin bu yeni özelliklerinin yararlı olabileceği gibi aynı zamanda toksisite ve ekotoksikolojileri hakkında da endişe duyulmasına yol açmıştır. Bu bağlamda nanotoksikoloji, nanopartiküllerden kaynaklanan toksisite etkilerini incelemektedir.

NP'ler küçük boyutları sayesinde bariyer oluşturarak ksenobiyotiklerin membran ve hücrelerarası bağlantılardan geçerek organizmayı girişini engellemekte ve yararlı etkiler oluşturmaktadır. Bunun yanında, reaktivitelerinin artmasıyla DNA, protein ve lipit hasarı gibi hücrel etkiler oluşturabilmektedir. NP'lerin bu etkilerinin tam olarak bilinmemesi ise toksikolojik deneylerinde istenmeyen durumlara yol açabilmektedir.

NP'lerin sıra dışı özelliklerinin toksisitesini değerlendirmek için bazı faktörleri mevcuttur. Bu faktörlerden biri olan partikül boyutu küçüldükçe toksisite eğiliminin arttığı kaydedilmiştir.

2.7.3 Akuatik Toksikoloji

Ekotoksikoloji biliminin bir dalı olup akuatik organizmalara karşı toksik etkilerinin nitel ve nicel olarak inceleyen bir bilim dalıdır (Forbes ve Forbes, 1994). Akuatik toksikoloji, sucul ekosistemin parçaları olan su, sediment ve besin maddelerindeki kimyasal maddelerin konsantrasyonlarıyla ilişkilidir.

Akuatik organizmalar toksik maddeye akut ve kronik olarak maruz kalabilir. Akut toksik etkiler 7-9 gün veya daha kısa süreli olup çoğunlukla 96 saat süreyle öldürücü olarak incelenmektedir. Kronik toksik etkiler ise düşük konsantrasyonlardaki kirleticilerin uzun süreli (genellikle 28 gün) etkilerinin incelenmesiyle değerlendirilmektedir. Kronik etkiler öldürücü olabileceği gibi toksik olup öldürücü olmayabilir. Bu toksik etkiler canlıların larval ve embriyonik dönemlerinde veya üreme dönemlerinde incelenmektedir. Toksik olup öldürücü olmayan etkiler ise davranış, biyokimyasal ve histolojik olarak gözlemlenebilmektedir (Rand, 1995).

2.8 Nanopartiküllerin Canlılardaki Toksik Etki Mekanizmaları

NP'ler canlı organizmalarda birkaç farklı mekanizmayla toksik etki oluşturabilirler. NP'lere aşırı miktarda maruz kalma durumunda serbest radikaller; lipid, protein ve DNA'nın oksidasyonuna sebep olarak biyolojik bileşenlerde hasar meydana getirirler. Serbest radikaller, yabancı maddelere karşı fagositik hücre etkisi, antioksidan madde miktarının yetersiz olması, geçiş metallerinin varlığı, çevresel faktörleri ve bazı nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri gibi farklı faktörlerden meydana gelebilir (Lanone ve Boczkowski, 2006). NP maruziyeti, dokularda ve fagositik hücrelerin yaygın olarak bulunduğu böbrek, karaciğer ve dalak gibi

organlarda birikim yapabildiği gibi akciğer ve beyin gibi organları da etkileyebilmektedir.

NP'ler canlı organizma içerisindeki hücrel bileşenlerle tepkimeye girebilir, hücrel fonksiyonların bozabilir veya değiştirebilir. Bunun yanında, dolaşım sistemine girerek hemoliz ve trombozise, mitokondriye yerleşerek apoptozise ya da ROT oluşmasına sebep olabilir.

2.9 Toksikolojik Çalışmalarda Model Organizmanın Seçimi

Toksikolojik çalışmalarda uygun test protokollerinin değil aynı zamanda uygun test organizmanın da seçilmesi gerekmektedir (Rand, 1995). Bu organizmalarda aranan özellikler şu şekildedir; seçilecek organizmanın ekolojik ve ekonomik olarak öneme sahip olması, geniş bir popülasyona sahip olması, yılın tüm zamanlarında bulunabilir olması, kimyasal maddelere karşı duyarlı olması, kullanılan organizmanın parazitten ve herhangi bir hastalıktan etkilenmemiş olması ve fiziksel olarak bir zarar görmemiş olması, seçilen organizmaya yapılacak olan deneyin uygun olup olmaması, kullanılan organizma hakkında yeteli biyolojik ve fizyolojik bilgilere sahip olunması gerekmektedir. Ayrıca, seçilen organizmanın laboratuvar çalışmalarına adaptasyon kabiliyetlerinin yüksek ve kültürlerinin yapılabilir olması gerekmektedir. Yapılacak olan araştırma için uygun organizma seçildikten sonra organizmanın biyolojisinin, tuzluluk, hassas evresi, pH ve sıcaklık isteklerinin belirlenmesiyle birlikte laboratuvar ortamında sağlıklı şartlarda muhafazası sağlanmalıdır. Akuatik toksikolojide genellikle tercih edilen grup balıklardır. Balıkların yanı sıra, bakteriler, algler, vb. organizmalar araştırmalar için tercih edilebilmektedir (Pascoe ve Edwards, 1989).

Bu çalışmada, tuzlu su karidesi (*A. salina*) maruz bırakma çalışmaları yapılmış olup bu türün laboratuvar şartlarına uyum kabiliyetinin yüksek olması, genel fizyolojik ve davranışlarının iyi bilinmesi, kistlerin kolaylıkla temin edilebilmesi ve laboratuvar ortamında kistlerinden kolayca çıkmaları sebebiyle tercih edilmiştir.

2.10 Tuzlu Su Karidesi (*Artemia salina*)

Zooplanktonik bir organizma olan *A.salina*, tropik, subtropik ve ılıman iklimde yaşayan geniş tuzluluk aralığına (%35'lere) dayanıklı, sıcaklığı 6-35°C olan

sularda bulunan bir organizmadır. Akdeniz'e endemik bir türdür, ancak tüm kıtalarda bulunmaktadır. Türkiye'de ise peloidoterapide kullanılan sapropelik çamur oluşumuna katkıda bulunan tuz göllerinde bulunduğu rapor edilmiştir (Munteanu ve Dumitraşcu, 2011). Büyüme sırasında birkaç kabuk değişimi geçirerek yetişkin aşamasına 12-15 günde ulaşmaktadır ve her 4 günde bir 300 yumurta (kist) ya da larva üretir. Hem üreme hem de partenogenik türlere sahiptir (Browne, 1980). Erginleri, 8-10 milimetre (mm) boyunda uzun bir vücut, iki saplı göz, dokusal bir sindirim sistemi, duyuşal antenler ve 11 çift toraks uzantısına sahiptir. Erkekleri abdominal segmentin alt kısmında bir çift üreme organına, dişileri ise 11. segmentin arkasındaki yumurta kesesi sayesinde ayırt edilebilmektedir. Ayrıca dişiler abdominal bölge içerisinde ovaryumlar bulundururlar ve yetiştirme koşullarına ve embriyo gelişimlerine bağılı olarak ovipar ya da ovovivipar olarak yaklaşık her 140 saatte bir yumurtlarlar. Normalde olgunlaşan yumurtalar yumurta kesesine dökülür, burada döllenerek dişiye terkeder (ovovivipar üreme). Ancak olağanüstü durumlarda (örneğin çok yüksek tuzluluk ve çok düşük oksijen seviyesi) embriyo sadece gastrula evresine kadar gelişir ve etrafı uterusu bulunan kahverengi kabuk bezleri tarafından salgılanan kalın bir kabukla çevrelenir, metabolik uyku haline (kış uykusu) geçerler ve sonra dişi tarafından bırakılırlar (ovipar üreme). Kist adı verilen bu dayanıklı yumurtalar, yumurta kesesini terk ederek suya geçerler, yüksek tuzlu sularda çoğunlukla yüzerek biriktikleri ve kurudukları kıyılara sürüklenirler. Bu dehidrasyon işlevi sonucu olarak kış uykusu mekanizması genelde inaktif hale geçer; kistler bu anda hareketsiz bir durumdadır ve en uygun kuluçkalama şartlarında su aldığında daha sonraki embriyonik gelişimlerini yeniden kaldığı yerden başlatabilirler. Olumsuz koşullar altında birkaç yıl yaşayabilir ve tuzlu suda yeniden su ile yıkanarak uykuda bekletilen kistlerden yavrular üretebilirler (Lavens ve Sorgeloos, 2000). Erişkin bir *A.salina*'nın rengi sudaki tuz konsantrasyonuna bağılı olarak yeşilden kırmızıya (yüksek konsantrasyonlarda kırmızı) değişir (Munteanu ve Dumitraşcu, 2011).

Besin partiküllerini filtre ederek beslenirler fakat seçici değillerdir yani uygun büyüklükteki canlı veya cansız organizmaları, inorganik materyalleri (bakteri, mikroalg, detritus) tüketirler. Fakat ilk tercih ettikleri gıda fitoplanktondur. Ayrıca, potansiyel bir besin kaynağı olarak kullanılırlar ve Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma

Örgütü (OECD) tarafından yavru balıkların beslenmesinde kullanımı önerilmektedir (Léger ve ark., 1986; OECD, 1992). Tüm hayatları boyunca planktonik formdadırlar yani su hareketleri ile taşınırlar (MEGEP, 2008). Bir üst tüketici grupta yer alan balık ve kabuklular tarafından beslenimsel (trofik) transfer yoluyla da geçişi olabilmektedir. Yani enerjiyi birincil üreticilerden ikincil tüketicilere aktararak ekolojik süreçlerde çok önemli bir rol oynamaktadır.

2.11 Karbon Bazlı Nanomalzemeler

Karbon bazlı nanomalzelerin elektronik, optik, mekanik, kimyasal özelliklerinden dolayı son yıllarda birçok çalışma yapılmaktadır. Karbon atomları, elektronik kabukları arasında dar bir bant aralığı ile hibridizasyonlar gerçekleştirerek farklı fiziksel özelliklerde çok çeşitli kristal ve düzensiz yapılara sahip allotropların oluşmasına neden olmaktadır (Kour ve ark., 2020; Maiti ve ark., 2019). Keşfedilen karbon nanotüp (CNT), fulleren, grafen kuantum dot (GQD) ve karbon dot gibi çeşitli karbon allotroplarının varlığı KNM'leri son zamanlarda daha da değerli hale getirmiştir. KNM'ler nanoelektronik, gaz depolama, tekstil, güneş pilleri ve biyosensörler gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Kour ve ark., 2020; Maiti ve ark., 2019). KNM'lerin ilgi çekmesinin nedeni kimyasal sensor olarak kullanılabilmesi, hücre sel görüntüleme yapılabilir olması ve biyosensör tekniklerinde birçok uygulama alanı buluyor olmasından kaynaklanmaktadır (Sun ve ark., 2013).

KNM'ler akuatik ortamda çözülmüş organik materyallerle etkileşime girerek organik materyalleri etkiler. Bu nedenle, kolay üretilmesi ve ekonomik olmasına rağmen özellikle akuatik organizmalar üzerinde sınırlı çalışmaları mevcuttur (Oberdörster ve ark., 2006). Akuatik organizmalarda KNM'lerin toksisitesi hakkındaki kaygılar maruz kalma ve toksisite potansiyellerine bağlı olarak oksidatif hasara yol açma potansiyelleri ve biyoelverişliliği değiştirmesi sonucunda doğurabilecek kümeleşme yetenekleridir (Yang ve ark., 2006).

2.12 Karbon Dot

CD'ler, oksijen gruplarınca zengin, çeşitli hacimsel oranlarda karbonun kombinasyonlarında 400-2000 nm arasında spektrumun tüm renklerinde ışık yayan, benzersiz özelliklere sahip, kızılötesi, görünür ışık veya ultraviyole ışıkta ayarlanabilen yarı iletken nanomalzemelerdir. Ayrıca, yetersiz penetrasyona sahip olan bağırsak gibi dokuları görüntülemek için de kullanılabilmesi gibi 700-1000

nm'de çeşitli hayvan modellerinde in vivo lenfatik görüntüleme için de kullanılmaktadır (Kim ve ark., 2004).

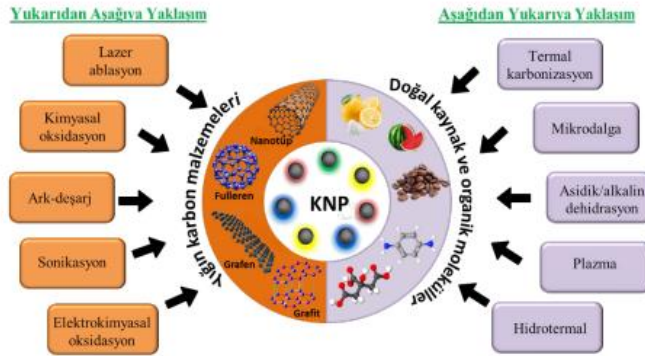
Genel yapıları kadmiyum veya gümüş gibi elemental inorganik bir karbon çekirdekten ve çeşitli yüzey fonksiyonel grupları içeren bir kabuktan oluşmaktadır. Dış taraftaki kabuk CD'leri fotokimyasal zarardan korur ve suda çözünürlüğünü artırır. Yüzeylerinde bol miktarda nitrojen/oksijen temelli gruplar içermekte ve yüzeyleri farklı fonksiyonel gruplar ile kolayca modifiye edilebilmektedir (Feng ve ark., 2020). Bu sayede spesifik dokuları ve organları hedeflemek için antikorlar ile veya nükleik asitlerle konjuge edilebilir ve floresan problemler olarak kullanılabilirler. CD'lerin fotoluminesans özelliği çekirdek veya yüzey kromofor gruplarının konjuge parçalarından kaynaklanmaktadır. CD'ler iyi biyouyumluluk, daha az toksisite, yüksek kimyasal stabilite ve biyolojik özelliklere sahiptir. Bu üstün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı biyomedikal ürünler, sensörler, optoelektronik, fotokataliz, enerji cihazları gibi çeşitli uygulamalarda büyük kullanım potansiyeline sahiptir (Khairol Anuar ve ark., 2021). CD'lerin sentezinde farklı bileşik ve yöntemler kullanılabilir.

2.12.1 Karbon Dot'ların Sentez Yöntemleri

Sentez ve karakterizasyon tekniklerinin geliştirilmesiyle birlikte birçok araştırmacı nanoteknoloji alanında çok fazla ilerleme sağlamış ve CD'lerin sentez yöntemlerini bir şekilde araştırmıştır. Son birkaç yılda, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip CD'leri elde etmek için birçok sentetik strateji geliştirilmiş olup genellikle aşağıdan yukarıya (Bottom up) ve yukarıdan aşağıya (Top down) olmak üzere iki yaklaşım kullanılmaktadır (Şekil 1.1). Literatürdeki çalışmalar, sentez sırasında kullanılan karbon kaynağı, sentez yöntemi ve yüzey pasivasyon ajanı gibi parametrelerin CD'lerin yüzey özelliklerinin değiştirilerek yapısal ve fizikokimyasal özelliklerini değiştirdiğini göstermiştir. Ancak hiçbir yöntem CD'lerin fizikokimyasal özelliklerini tam olarak bilinmemektedir. Ancak, yine de araştırmacılar, CD'lerin özelliklerini etkileyen bazı faktörleri belirleyebilmişlerdir. Örneğin; CD'lerin parçacık büyüklüğü, reaksiyon durumu ve süresi kontrol edilerek düzenlenebilmekte olup pasivasyon ajanları kullanılarak istenilen fonksiyonel gruplar ile CD'lerin yüzeyleri işlevselleştirilebilmektedir (De ve Karak, 2017; Alaş ve ark., 2020).

“Yukarıdan aşağıya” yaklaşımda, grafit tozu veya tek ve çok duvarlı karbon nanotüpler gibi malzemelerin ark deşarjı, lazer ablasyon, elektrokimyasal oksidasyon yöntemleriyle birlikte fiziksel veya kimyasal koşullar altında sentezlenme gerçekleştirilmektedir (Alaş, 2020).

“Aşağıdan yukarıya” yaklaşımda ise hidrotermal/solvotermal yöntemleri gibi kimyasal reaksiyonlar ile inorganik ve organik yapıları partiküller oluşturulmaktadır (Mukherjee ve ark., 2001). Bu yöntem de nano yapılarıdaki malzemelerin birleşimiyle birlikte doğadaki kuvvetlerden, yüzey pasifleştirme veya doğal, ucuz ve sürdürülebilir organik karbon kaynakları gibi öncülerden sentezlenmektedir. Son yıllarda “yukarıdan aşağıya” yaklaşım “aşağıdan yukarıya” yaklaşımına göre mikrodalga, termal ve hidrotermal sentez yöntemleri, sentez reaksiyonunun daha kısa sürede gerçekleşmesi, sentezlenen partikül büyüklüğünün daha küçük ve daha yüksek kuantum verimine sahip olması, çevre dostu ve ekonomik olarak ucuz olması gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir (De ve Karak, 2017; Alaş ve ark., 2020).



Şekil 1.2 Karbon dot'ların Sentez Yöntemleri (Alaş, 2020).

Hidrotermal yöntem, karbon kaynağı ve çözücünün (su) karıştırılması sonrası otoklav yapılmasıyla kullanılan yöntemdir. Hidrotermal yöntem de CD'ın optik özelliklerini ve kuantum verimini doğrudan etkileyen önemli iki parametre bulunur. Bunlardan ilki, reaksiyon sıcaklığı ikincisi ise reaksiyon süresidir. Avantajları arasında hammadde kaynağının çok geniş olması, reaksiyon ekipmanının basit olması ve reaksiyon koşullarının kontrol edilmesinin kolay olması gelmektedir. Reaksiyon kapalı bir reaktörde gerçekleştirildiğinden, havadaki safsızlıkların etkisi önlenmiş olmaktadır. Hidrotermal yöntemi ile hazırlanan CD üniformdur ve sentezlenen CD'lerin çoğu suda iyi çözünmektedir. Dezavantajları arasında ise,

hidrotermal su ısıtıcısının sınırlı hacminden kaynaklı tek seferde hazırlanacak olan CD miktarının sınırlı olması ve hazırlanan CD'ın daha fazla safsızlık üretmesidir. Bu durum da CD'ın ayrılmasını ve saflaştırılmasını zorlaştırmaktadır.



Şekil 1.3 Hidrotermal reaksiyon kabı (otoklav) şeması (Kamacı ve ark., 2019).

2.12.2 Karbon Dot'ların Doğal Kaynaklardan Sentezi

Benzersiz özelliklere sahip CD'lerin sentezinde, uygun maliyetli, kolay uygulanabilir, çevreye duyarlı ve toksik olmayan yöntemlerle elde edilebilen yeşil öncüler ilgi odağı haline gelmiştir. Yeşil öncüler, yenilenebilir doğal ürünlerin kimyasal materyallerle ve canlı organizmalarla yapılan prosedürler sonucunda elde edilmesine dayanmaktadır. CD sentezinde yeşil öncülerin kullanılmaktadır. Bunun dışında, fizikokimyasal sentezde NP'lerin aktive edilebilmesi için yüzeylerine kimi fonksiyonel grupların eklenmesi gerekirken biyolojik sentezlerde bu zorunluluğun olmaması da önemli bir avantajdır. Ayrıca, antikanser ve antimikrobiyal çalışmalar dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde de kullanılmaktadır (Hammamchi, 2019).

Yeşil öncülerden CD sentezi, kimyasal maruziyeti ve çevresel atıkları azaltma, uygun maliyet ve bol miktarda bulunabilme gibi avantajlara sahip olmasından dolayı gelecek için umut vaat etmektedir. Çoğunlukla karbon kaynağı içeren inorganik malzeme ve polimerler, bitki özütleri gibi organik maddelerden ve meyveler, sebzeler, yiyecek/içecekler, atıklar, bitkiler, hayvansal ve insansal malzemelerden sentezlenmektedirler.

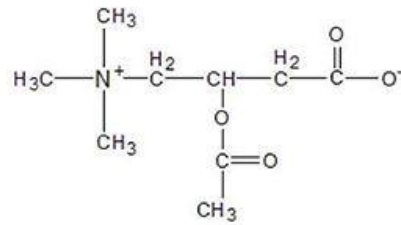
Yapılan literatür araştırmasına bakıldığında zaman CD'lerin kuantum veriminin, sentez sırasında kullanılacak yeşil öncülerin karbon ve elemental içeriklerine, pasivasyon ajanlarının türüne ve kullanılan sentez yöntemi ve parameterelerine bağlı olduğu görülmektedir.

2.13 N (Üre) Dope Olmuş Karbon Dotlar (N-CD'ler)

KNM'lerden olan CD'lerin sentezi ve uygulamaları son yıllarda birçok çalışmaya konu olmaktadır. Bu çalışmalarda özellikle amin grubu katkısı araştırılmaktadır. Suda çözünür amin katkılı CD sentezi, oksijen indirgeme reaksiyonu, hücre görüntüleme, sensörler ve ilaç dağıtımındaki geniş uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Amin katkılı CD'ler yukarıdan aşağıya bir yöntemle sentezlenmek için en çok tercih edilen kaynaklardır. Amin içeren CD'lerin, ayarlanabilir fotoluminesansı (PL) önemli ölçüde geliştirebileceğini göstermiştir. Ayrıca, amino gruplarının CD'lere sokulmasının, hidrotermal süreci önemli ölçüde hızlandıran polimerleşmeye ve karbonizasyona neden olabileceği görülmüştür (Du ve ark., 2014). Sonuçta, elde edilen N-CD'ler, parlak mavi lüminesansa, pH duyarlılığına ve yüksek tuz konsantrasyonlarında stabiliteye sahip hale gelir. N-katkılı CD'ler, karbon açısından zengin, yüksek oranda fotoluminesan özelliğe sahip, suda iyi bir çözünürlüğe, tuz etkisinde uygun iyonik güçlere ve pH'a bağlı lüminesans gibi benzersiz PL özelliklerine sahiptir. N-CD'lerin bu özellikleri onların pH sensörleri, hücre görüntüleme, güneş pilleri ve fotokataliz için kullanım potansiyeline sahip hale getirmektedir.

2.14 L-karnitin

1905 yılında hayvan kas dokusundan izole edilen L-karnitin (3-hidroksi-4-N-trimetilazonumilbütanoat), $C_7H_{15}NO_3$ kapalı yapısal formülüne sahip, lizin, metiyonin içeren bir bileşiktir ve sentezlenen beyaz bir maddedir. Yapısal olarak amino asitlere benzeyen, suda çözünebilen küçük bir moleküldür.



Şekil 1.4 L-karnitin'in kimyasal yapısı

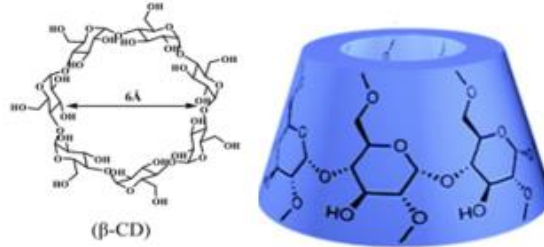
L-karnitin'in vücuttaki işlevi karaciğerde depolanan uzun zincirli yağ asitlerini mitokondriye taşıyarak, hücrelere alınan ve oksidasyona uğrayan yağ moleküllerinin sayısını artırarak, yağ yakma verimliliğini artırarak vücuda enerji sağlamaktır (Rebouche, 2010). Bunun yanı sıra fosfolipidlerin sentezini artırır ve

membran hasarının onarımında önemli rol oynar (Vicari ve Calogero 2001). Serbest radikallere karşı membranı stabilize eder ve mitokondriyal hasarı engeller. Ayrıca, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile ROT'un oluşumunu önleyici etkiye de sahiptir (Kocer ve ark., 2007; Guitton ve ark., 1999).

A.salina gibi canlı yem organizmalarında da bulunan endojen L-karnitin miktarı organizmanın fizyolojik durumuna, sıcaklık, ışık yoğunluğu ve fotoperiyod gibi çevresel faktörlerine bağlı olarak değişmektedir.

2.15 β -Cyclodextrin

Siklodekstrinler (SD'ler), glikosiltransferaz enziminin etkisi altında birçok mikroorganizma tarafından üretilen α (1-4) glikosidik bağlı indirgeyici olmayan siklik oligosakkaritlerdir (Avcı, 2010). İç kısmı hidrofobik, dış kısmı ise hidrofiliktir. SD'lerin dış yapısında bulunan hidroksil grupları bu bileşiğin sudaki çözünürlüğünden sorumludur. Bu yapı katılar, sıvılar ve gazlarla kompleksler oluşturmasına olanak tanımaktadır (Açıkbaş 2021).



Şekil 1.5 β -Cyclodextrin yapısı

SD'ler, moleküller ile inklüzyon kompleksi oluşturarak molekülün birçok özelliğini değiştirmesi nedeni ile birçok alan da kullanılmaktadır. SD'ler; biyoyararlanımı arttırmak, çözünürlüğü arttırmak, organik çözücülerden kaçınmak, kristallenmeyi azaltmak, uçuculuğu azaltmak, bileşen etkilerini azaltmak, aktiviteyi daha kararlı hale getirmek için kullanılmaktadırlar.

2.16 *Rhododendron*

Doğadaki birçok bitki türünün en önemlilerinden biri Ericaceae familyasıdır. Ericaceae familyasının en büyük cinsi kabul edilen ormangülleri ise geniş bir yayılış göstermekte olan bir çok yıllık bitkidir (Neary ve ark., 1980; Clinton ve Vose, 1996; Çolak, 1997). Dünya'da oldukça yaygın olan ormangülleri, Türkiye'nin kuzey kıyıları boyunca önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye'deki yayılış alanları batıda

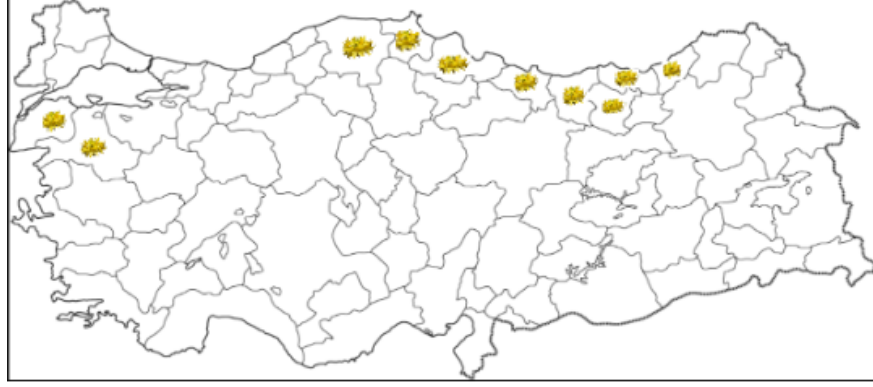
Istıranca Dağlarının kuzey yamaçlarından doğuda Hopa'ya kadar devam etmektedir. Doğu Karadeniz Bölümünde farklı renkte çiçek açarak buradaki orman topluluklarına karışan farklı türlerde ormangülleri bulunmaktadır.

Ormangülleri genel olarak istenmeyen istilacı bir türdür. Bunun sebebi deniz seviyesine yakın veya 5000 m yükseltilere kadar da erişebilmeleri ve buldukları alanlar içerisinde sadece tohumun toprağa ulaşmasını engellemekle kalmayıp aynı zamanda toprağın üst katmanında ayrışmanın yavaşlamasına ve asidik humus oluşmasına sebep olarak, diğer türlerin gelişmelerine engel olmasıdır (Nadezhdina ve ark., 2004; Tabbush ve Williamson, 1987). Ancak yıl içerisinde yaprak dökmediğinden, budamaya gereksinimlerinin olmamasından ve büyük çiçekli yapısından dolayı önemli bir süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır (Avcı, 2004).

Ormangüllerinin çoğunluğu daima yeşil yapraklı, kışın yapraklarını döken ve yaprakları deri gibi sert, genellikle oval olan odunsu bir bitkidir. Yapraklarını döken türler soğuğa dayanıklı olup genellikle asitli (4,5-5,5 pH) ve rutubetli toprak severler. Ormangüllerinin çevresel ve kimyasal strese karşı dayanıklılığı farklı olmakla birlikte sığ köklere sahip olmaları ise onların kuraklığa karşı hassas olmalarının önemli bir nedenidir (Şentürk 2010). Yılda sadece bir kez açan ormangülleri sonbahar ve ilkbahar aylarının sonlarında tür ve buldukları yere göre genelde Ekim-Haziran arasındaki farklı aylarda çiçeklenmektedir. *Rhododendron* türlerinin bazılarının antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, antidiyabetik, analjezik, immünomodülatör, hepatoprotektif ve sitotoksik etkileri çalışmalarda gösterilmiştir (Popescu ve Kopp, 2013; Demir ve ark., 2016).

2.16.1 *Rhododendron luteum*

Orta ve Doğu Avrupa (Polonya ve Balkanlar), Türkiye ve Kafkasya'da yayılış gösteren bir türdür. Türkiye'de Orta ve Doğu Karadenizde bulunmakta olup deniz seviyesinin 110 ile 2230 m yüksekliğinde doğal olarak yayılış göstermektedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.6 *Rhododendron luteum*'un Türkiye'deki yayılış alanları (Canbolat, 2020).

Halk arasında sarı ağu, zifin, çifin ve eğriçiçeği olarak bilinmektedir (Özdemir, 2021). Boyu 3 ila 4 metre arasında olup kışın yapraklarını döken 5-10 cm uzunluğunda, 2-4 cm genişliğinde mızrak şeklinde yaprakları ve her iki yüzeyinde sert glandüler tüyler ile birlikte sarı renkte huni şeklinde çiçekler bulunmaktadır (Alan ve ark., 2010). Çiçekleri 3-4 cm çapında olup parlak sarı renkte ve kuvvetli kokuya sahiptir. Kuvvetli kokularından kaynaklı hermafrodit ve entomofillerdir.

Rhododendron luteum yaprak ve çiçeklerinde grayanotoksin maddesi içerir. Bu madde zehirli olup genç sürgün veya çiçekler ile beslenen hayvanları zehirlemektedir. Ancak yörede çiçeklerinden yapılan ve içerisinde grayanotoksin maddesi nedeniyle deli bal olarak bilinen ayrıca tansiyon düşürücü etkisi bulunan bal yapımında da kullanılmaktadır. Ayrıca geleneksel tıpta idrar söktürücü, romatizmal ağrılara karşı analjezik ve mantar ayak enfeksiyonu olarak kullanımları mevcut olmakla birlikte güçlü antioksidan ve antikanser etkileri de bulunmaktadır (Popescu ve Kopp, 2013).

2.16.2 *Rhododendron ponticum*

Öksin kuşağına ait bir tür olup Türkiye, İrlanda, İngiltere, Kafkaslar, Bulgaristan, Lübnan gibi birçok ülkede yayılış göstermektedir. Türkiye'de özellikle Karadeniz Bölgesi'nin serin ve ılıman bölgelerinde, bol yağış alan nemli dağlık kesimlerde endemik olarak bulunan ve yoğun yayılış gösteren mor çiçekli ormangülleri gölgeye dayanıklıdır ve toprak neminin yetersiz bulunduğu yerlerden kaçmaktadır (Cross, 1981). Ağaç altlarında uzun ve geniş bir alan gösterirken, açık alanlarda kısa ve sık olarak bulunmaktadır. Ayrıca belirgin bir ana gövdesi olmayan, karmaşık bir dallanma yapısına sahiptir. Bulduğu bölgenin iklim koşullarına göre

boyu 7-8 m'ye eni ise 35-40 cm'ye ulaşabilmektedir. Yaprakları 6-18 cm uzunluğunda, sert olup 2-5 cm genişliğinde, çiçekleri ise 3-5 cm çapında, hafif zigomorf olup çoğunlukla terminal olup birleşik salkım halindedir. Ayrıca sığ kök sistemi vardır. *Rhododendron ponticum* çiçeklerinde Ericolin ve grayanotoksin glikozitleri bulunan alelopatik etkisi olan bir türdür. Bu nedenle balına deli bal (ağrı veya komar) da denilmektedir ve bulunduğu bölgedeki toprağın elementlerini önemli derecede etkilemekte ve toprağın pH değerini düşürmektedir. Ayrıca generatif yolla gerçekleşen hızlı istila ve vejetatif yolla gerçekleşen yavaş istila olmak üzere 2 çeşit istila stratejisine sahiptir (Kulaç, 2004).

3. LİTERATÜR ÖZETİ

Yapılan çalışmalar da çevreye salınan NP'lerin birikim veya atık-su yoluyla agregat olarak veya stabil olarak suda kalarak ya da su ile taşınarak su ekosistemine karıştığını göstermektedir ve bu durum da organizmaları etkilemektedir (Koelmans ve ark., 2009). İmal edilmiş nanomalzemelerin çevreye karşı oluşturduğu risklerin daha iyi belirlenebilmesi için daha fazla bilgiye gereksinim duyulmaktadır. Bu bağlamda yapılan araştırmalarda, özellikle fullerenler ve karbon nanofiberler önemli bir faktör olmaktadır. Son yıllarda ise toksisite çalışmaları omurgasız canlılar ve zooplanktonlar da kullanılmaya başlanmıştır.

Tajbakhsh ve Naimi-Jamal 2022 yılında Suda 1, 2, 3-triazollerin sentezi için etkili bir yeşil nanokatalizör olarak bakır katkılı işlevselleştirilmiş β -siklodekstrin adlı çalışmada FTIR ve SEM gibi karakterizasyonlar yaparak sentezlenen maddenin morfolojisi ve yapısal karakterizasyonu hakkında bilgi edinmişlerdir.

Behrooz ve ark., 2023 yılında Yeni bir nano-biyosorbent olarak *Ferulago angulata* ekstresi ile yüklenmiş polilaktik asit/ Fe_3O_4 @ β -Siklodekstrin nanolifli nanokompozitin yeşil sentezi: diazinon giderimi ve antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi adlı çalışmada *Ferulago angulata* metanol ekstraktı kullanılarak Fe_3O_4 @ β -Siklodekstrin (Fe_3O_4 @ β -CD) NP'lerinin yeşil sentezinin değerlendirilmesi için polilaktik asit (PLA) nanofibröz nanokompozit üzerine yüklenmiş ve çeşitli balık ve insan bakteriyel patojenlerine karşı antibakteriyel aktivite çalışması yapılmıştır.

Awalludin ve ark., 2022 yılında Sulu numunedeki cıva (II) atomlarını tespit etmek için bir floresan prob olarak nitrojen katkılı grafen kuantum noktalarının hidrotermal sentezi adlı çalışmada yüksek kuantum verimine sahip N katkılı grafen kuantum noktaları (N-GQD'ler), sırasıyla karbon ve nitrojen öncüleri olarak sitrik asit monohidrat ve etilendiamin kullanılarak kolay bir hidrotermal yöntemle sentezlenmiş ve morfolojisi ve yüzey fonksiyonel grubu, FTIR spektroskopisi kullanılarak analiz edilirken, optik özellikler UV-Vis spektroskopisi ile gözlemlenmiştir.

Karaçetin ve ark., 2023 yılında X-ışınlamasına bağlı uterus hasarında L-karnitin antioksidan ve anti-inflamatuar yolaklar aracılığıyla koruyucu etkileri adlı

çalışmada sıçanların uterusendometriyum tabakasındaki hasarlara karşı L-karnitin'in antioksidan ve antienflamatuar etkilerini incelemiştir.

Li ve ark., 2007 yılında Kadmiyum iyonları için ışıldayan probolar olarak karnitin başlıklı kuantum noktaları'adlı çalışmada kadmiyum iyonlarının belirlenebilmesi için seçici floresan probolar olarak yanıt verebilen L-karnitine başlıklı CdSe/ZnS çekirdek/kabuk kuantum noktaları (QD'ler) hazırlamışlardır.

Hamilton ve Breslin 2014 yılında 'Polipirol kullanılarak yeni bir üre sensörünün geliştirilmesi' adlı çalışmada ürenin tespit edilebilmesi için üreaz enzimiyle birlikte polipirol matrisine anyonik bir edilmiş ve bir sensör geliştirilmiştir.

Mahomoodally ve ark., 2020 yılında yaptıkları *Rhododendron luteum* tatlı biyoaktif bileşiklerin değerli enzim inhibitörleri, antioksidan ve antikanser ajanları kaynağı olarak kullanılması adlı çalışmada *R. luteum* ekstraktlarının A549 akciğer kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksitesini in vitro antioksidan, enzim inhibisyonu araştırmıştır.

Dönmez 2021 yılında *Rhododendron ponticum* yaprak ekstresi kullanılarak çinko oksit nanoparçacıkların yeşil sentezi ve karakterizasyonu adlı çalışmasında *Rhododendron ponticum* yaprak ekstresi kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO NP'ler) sentezi gerçekleştirmiş ve yeşil biyosentezlenmiş ZnO NP'lerin karakterizasyonu yapılmıştır.

Arslan 2017 yılında Atrazinin *Artemia salina* üzerine toksik etkilerinin belirlenmesi adlı çalışmada *Artemia* larvaları üzerine atrazinin toksik etkilerinin belirlenmiş ve atrazinin yüksek konsantrasyonlarında *Artemia* larvaları üzerinde toksik etkiler ve anormaliler meydana getirdiği gözlenmiştir.

Shory ve ark., 2021 yılında *Cypridopsis vidua* ve *Artemia salina*'da polianilin/Ag nanopartikülleri/grafen oksit kuantum noktalarının akut toksisite değerlendirmesi adlı çalışmada polianilin (PANI)/2-akrilamido-2-metilpropan sülfonik asit (AMPSA) başlıklı gümüş nanopartiküller (NP'ler)/grafen oksit (GO) kuantum noktaları (QDs) nanokompozit (PANI/Ag (AMPSA)/GO QDs NC) sentezlenmiş ve 24 ve 48 saat süreyle akut toksisite deneyi yapılarak EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

4. MATERYAL-METOD

4.1 Bitki Numunelerin Elde Edilmesi ve Saklanması

Rhododendron luteum (sarı ormangülü) ve *Rhododendron ponticum* (mor ormangülü) Ordu ili Turnalık yaylasından toplandı. Elde edilen *Rhododendron* türleri temizlenerek yaprak ve çiçekleri ayrıldı, steril suyla yıkandı ve iklim şartları da göz önünde bulundurularak rutubetsiz ortamda kurutuldu. Kurutulan örnekler blender yardımıyla toz haline getirildi ve laboratuvar çalışmalarına kadar kavanozlara konarak +4 °C’de ve karanlıkta muhafaza edildi.

4.2 Bitki Özütlelerinin Hazırlanması

Analiz öncesinde +4 °C’de saklanan örneklerden erlenmeyerlere 12’şer g alındı ve 120 mL etanol ile karıştırıldı. Daha sonra bu karışım vorteksledi ve 50 °C’de 150 rpm’de 36 saat süreyle çözünmesi için ısıtmalı karıştırma cihazında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnekler 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımları filtre kağıdı ile süzüldü. İnkübasyondan sonra örneklerdeki etanol evaporatörde uzaklaştırıldı. Elde edilen bitki ekstratlarına 12 mL dH₂O eklenerek çözdürüldü. Çözülen ekstraktlar etiketlenen ependorflarda ağzı açık bir şekilde 37 °C’ de inkübe edildi. Elde edilen özüt, deneylerde kullanılmak üzere karanlıkta -20°C’de saklandı.

4.3 Kullanılan Kimyasallar

Çizelge 2.1 Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Satın Alınan Firma
L-carnitin	TCI/541-15-1
β-Cyclodextrin	Sigma Aldrich/7585-39-9
DCFH-DA	Sigma Aldrich/76-54-0
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	Tekkim/497-19-8
Triton X-100	Tekkim/9036-19-5
Hidroksilamin hidroklorür	Sigma Aldrich/5470-11-1
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Tekkim/7722-84-1
Bütil Hidroksitoluen (BHT)	Tekkim/128-37-0
Fosforik Asit	Tekkim/7664-38-2
1, 1, 3, 3 Tetrametoksipropan	Sigma Aldrich/102-52-3

4.4 L-karnitin Yüklü β -Cyclodextrin ile İşlevselleştirilmiş N Katkılı Karbon Dotların Sentezi (LCAR/ β -CD@*Rh.l-Rh.p*/N-CD)

4.4.1 N Katkılı Karbon Dotların Sentezi

Toksik olmayan ve çevre dostu karbon dotlar (CD), doğal biyomateryal *Rhododendron luteum* ve *Rhododendron ponticum* ile "yukarıdan aşağıya" tek adımlı hidrotermal işlemi ile sentezlendi. Burada, modifikasyonları olan bir hidrotermal yöntem kullanıldı. Biyomateryaller kurutulup toz haline getirildikten sonra 12,5 g bitki ekstratı ve bir amin grubu (üre) ultrason altında 80 mL ultra saf su ile karıştırıldı. Çözelti, politetrafloretillen ile astarlanmış 100 mL'lik bir paslanmaz çelik otoklava aktarıldı ve ardından 200°C'de 4 saat hidrotermal olarak sentezlendi. Nihai kahverengi dispersiyon doğal olarak soğutuldu ve 3000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendi. Kahverengi dispersiyon içindeki süpernatant, bir diyaliz torbasında toplandı (moleküler ağırlık kesme = 3500 Da) ve 2 gün boyunca ultra saf su içerisinde diyaliz yoluyla saflaştırıldı. Nihai CD solüsyonu, 0.22 μ m'lik bir zardan süzüldü ve daha sonra 50 °C'de bir döner buhar ölçerde kahverengi kalın bir bulamaç halinde konsantre edildi, daha sonra 50 °C'de bir vakumlu fırında kurutuldu. Deney, oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

4.4.2 β -Cyclodextrin Karbon Dot Sentezi

β -CD-CD'ler nanoprobaları, modifikasyonlarla mevcut bir yöntemle hazırlandı (Luo ve ark., 2017). Spesifik olarak, CD'lerin yüzey karboksil gruplarını aktive etmek için 1 saat karıştırma altında 51 mg NHS (N-Hidroksisüksinimit) ve 43 mg EDC HCl (*N*-(3-Dimetilaminopropil)-*N'*-etilkarbodiimid hidroklorür) ile 0.5 mg·mL⁻¹ CD solüsyonu (30 mL) ilave edildi. Daha sonra, 12 saatlik reaksiyon için 200 mg mono (6-amino-6-deoksi)- β -CD ile karışık CD çözeltisi eklendi. Oluşan çözelti, bir diyaliz torbasına alındı (moleküler ağırlık sınırı = 3500 Da) ve fazla EDC HCl, NHS, reaksiyona girmemiş β -CD ve diğer yan ürünleri uzaklaştırmak için 24 saat süreyle diyaliz edildi. Son olarak saflaştırılmış β -CD-CD çözeltisi, 0.22 μ m'lik bir zarla filtrelendi ve ardından 50 °C'de vakumla kurutuldu.

4.4.3 L-karnitin Yükleme

0.155 g β -CD/CDots, bir dizi konsantrasyonla (100, 200, 300, 400, 500, 600 μ g/mL⁻¹) 0.06 g karnitin içine eklendi. Karışım 25°C'de (150 rpm) 12 saat çalkalandı. Oluşan L-karnitin- β -CD/CDot'lar, serbest karnitin'i uzaklaştırmak için belirli bir

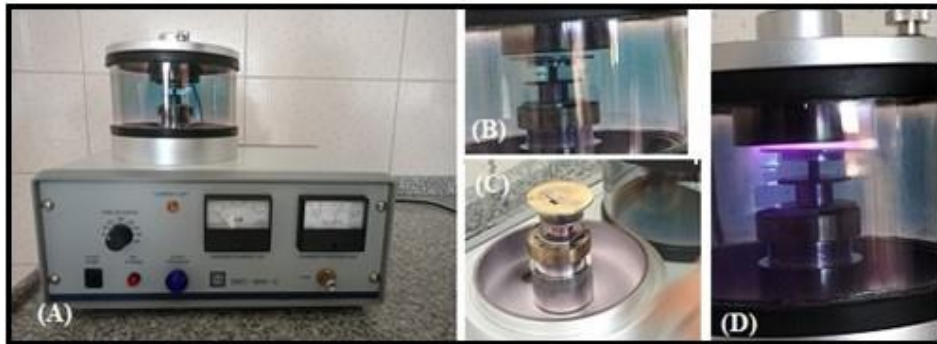
zaman aralığı (12 veya 24 saat) boyunca diyalize tabi tutuldu (MWCO:1000). Saflaştırılan L-carnitin- β -CD/CDot'lar daha sonra liyofilize edilerek 20°C'de saklandı.

4.5 Karakterizasyon

Nanoyapılı malzemelerin nanotoksik etkilerinde, kullanılan malzemelerin yüklerini, boyutunu, boyut dağılımını, yüzeyini, yapısını, şeklini (Madden ve Hochella, 2005; Pal ve ark., 2007) toplanma durumlarını (Chau ve ark., 2007) ve konsantrasyon oranları gibi birçok faktörün büyük etkisi vardır. *İn-vivo* veya *in-vitro* koşullar altında yapılan tüm nanotoksikolojik çalışmalarda bu faktörlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu tez çalışmasındaki tüm ayırt edici özellikleri saptamak için; Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ((Edx, Maphing)), FT-IR, UV-Görünür Spektroskopisi ve CD'lerin elemental analizleri yapıldı.

4.5.1 Altın Kaplama Prosedürü

SEM ile görüntülemeye geçmeden önce CD'lerin yüzey morfolojisini incelemek için örnekler iletken ince bir tabaka altın ile kaplandı. Bunun için hazırlanan CD koloidal solüsyondan 8-10 μ L alınan bir damla karbon kaplı bakır ızgaraya damlatıldı ve kuruması için oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra SBC-900-C Mini kaplama aleti kullanılarak 25 mil amper (mA), 10^{-2} milibar basınç (mbar), 10 nm bir çalışma mesafesinde 1 dakika boyunca numuneler altınla kaplandıktan sonra görüntüleme yapıldı (Şekil 3.15).



Şekil 2.1 Altın kaplama cihazı (A), Kaplama işlemi (B), Kaplama yapılmış örnekler (C), Kaplama yapıışı (D)

4.5.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), yüksek çözünürlükte görüntüler yakalamak için numune yüzeyini yüksek vakumda odaklanmış elektron ışınıyla tarayan bir tür elektron mikroskobudur. Elektronlar numune içindeki atomlarla etkileşime girerek numune yüzeyinin topografyası ve bileşimi hakkında bilgi içeren çeşitli sinyaller üretir. Bu sayede elektron ışını ile yakalanan sinyal karşılaştırılarak bir görüntü oluşturulur. SEM, 1 nanometreden daha büyük çözünürlüklere ulaşabilir. Larva morfolojisi, 25 kV'de bir analiz cihazı (Hitachi marka model SU 1510) kullanılarak ölçüldü ve elde edilen görüntüler, partikül boyutu ve partikül düzeni hakkında ayrıntılı bilgi sağladı.

4.5.3 Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM), çok ince bir numuneden geçen yüksek enerjili elektronların görüntülenmesi prensibine dayanmaktadır. Milyon kat büyütme özelliği sayesinde numunenin kristal yapısı ve morfolojisi hakkında bilgi verir. CD'lerin parçacık boyutu 40-100 kV'luk hızlanma gerilimleri altında şekli 50-106x büyütmede 0.2 nm çözünürlük sağlayan analiz enstrümanı (JOEL Marka, JEM-1011 Model) ile görüntülendi. CD'lerin TEM görüntüleri elde etmek için hazırlanan CD solüsyonundan bir damla (8-10 µL) 50 Å kalınlığında ve 3 mm çapındaki numune üzerine yerleştirildi ve bir bakır ızgara muhafaza edildi. Her bir CD'un morfolojik yapıyı, çapı ve boyut dağılımını gösteren görseller TEM cihazından elde edildi.

4.5.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR) Analizi

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi (FTIR), kızılötesi ışığın dipol momente sahip bir malzeme ile etkileşime girdiğinde yapısındaki bağların titreşim hareketinin incelenen numune tarafından absorbe edilmesi prensibine dayanmaktadır. FTIR, kızılötesi ışığın absorpsiyonu nedeniyle kimyasal bağların esneme, bükülme gibi titreşimlerini ölçerek bir molekül veya bileşiğin yapısındaki bağlar hakkında tanımlayıcı bilgiler sağlar. CD'lerin ve bitki ekstratlarının ölçümü FTIR analizi (Shimadzu Marka IRAFFİNİTY 1S Model) ile ortaya kondu. Bunun için CD ve bitki ekstratları yaklaşık 2-4 mg numune alınarak karbon-kaplanmış bakır ızgara üzerine damlatıldı ve kuruması için oda sıcaklığında bir süre bekledikten sonra spektrumlar oluşturuldu.

4.5.5 Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi (UV-VIS) Analizi

Ultraviyole ve görünür ışık (UV-VIS) spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun ultraviyole ve görünür aralıkları boyunca gelen ışığın numune tarafından emilmesi, yayılması ve iletilmesi ile birlikte ışık emilimini ölçmek için kullanılan bir metottür. UV-VIS, radyasyonun soğurulması, moleküllerin düşük enerjili bir temel durumdan uyarılmış bir duruma geçişini ifade eden atomik uyarılmaya neden olur. CD'lerin her biri 200-800 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri UV-VIS spektroskopisinde (Shimadzu Marka, UVmini -1240 Model) ölçüldü.

4.5.6 Elemental Analiz

Elementel Analiz katı, sıvı veya gaz örneklerdeki Karbon (C), Hidrojen (H), Azot (N) ve Kükürt (S)'ün tayinine yönelik bir cihazdır. 1200-1800 °C sıcaklıkta katı veya sıvı numunenin yakarak element yüzdelerini tayin etmektedir. Taşıyıcı gaz olarak Helyum gazı (He), yakıcı gaz olarak ise Oksijen gazı (O₂) kullanılmaktadır. Ölçüm ELEMENTAR marka vario MICRO CUBE Elemental Analiz Cihazı ile ortaya kondu.

Elemental analiz öncesi sıvı halde olan bulunan LCAR/ β -CD@Rh.I/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.I/N-CD liyofilize edildi. Yaklaşık 2 mg aralığında tartılan numunler kalay kapsüllerde 1200 °C sıcaklıklarda yakılarak yükseltgendi. Burada gaz haline gelen numuneler taşıyıcı gaz ile kromatografi kolonuna gönderilerek oksijen gazı ile yakıldı. Yanma işleminin tam olarak yapılması için gaz karışımı katalizör (CuO) bölgesine gönderildi ve bakırın bulunduğu bir indirgenme bölgesinde karbon CO₂'ye, hidrojen H₂O'ye, azot N₂'ye ve kükürt SO₂ gazlarına dönüştürüldü. Oluşan ve ayrılan gazlar ayrı ayrı kolonlarda tutulduktan sonra her birinin numunedeki miktarı termokondüktif dedektör ile belirlendi.

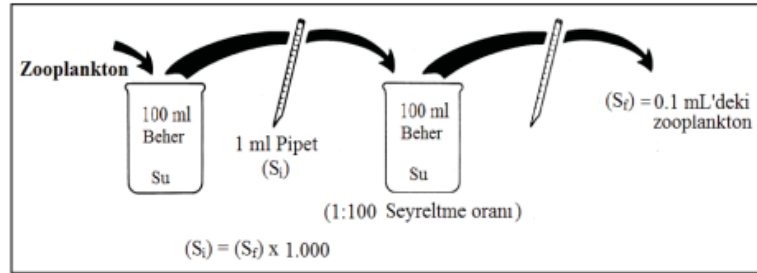
4.6 *Artemia salina* Larvalarının Hazırlanması

Biyodeny için yapay deniz suyu ortamında yaşayan birincil tüketici zooplankton türlerinden olan *A. salina* kistleri ticari firmadan (Netakvaryum) temin edildi. Laboratuvar ortamında filtrelenmiş ve sterilize edilmiş 1 L yapay doğal deniz suyuna 4 g *A. salina* kistleri eklenerek 28°C sıcaklıkta 24 saat boyunca devamlı havalandırma altında inkübasyona bırakılarak larvalar çıkarıldı. *A. salina* kistleri

bazik ortamda çıktıkları için pH 7.6 olarak ayarlandı. Kistlerden çıkan *A. salina* larvaları (instar I) toksisite çalışmalarında kullanıldı.

4.6.1 Zooplankton Sayımı

A. salina larvalarının kistlerinden çıkma oranı değişkenlik gösterir. Bu nedenle deney öncesi kuluçkadan çıkan *A. salina* larvalarının sayısı hassas bir biçimde sayılması gerekmektedir. Zooplanktonların sayımı seyreltme metodu ile toplam birey sayısı yaklaşık olarak hesaplandı. Bunun için öncelikle kistlerinden çıkmış zooplanktonları içeren şişeden çıkmayan kistler çözeltiden temizlendi. 24 saat sonunda şişelerdeki larvalar bir kaba boşaltıldı. Bu karışımda çıkmayan kistlerin üstte larvaların altta kalması için bir süre çökmesi beklendi. Sonrasında, üstte ince bir tabaka halinde görülen kistler kepçe ve spatul yardımıyla toplandı. Elde edilen bu karışımdan 100 mL'lik bir çözelti alınıp steril bir cam behere kondu. Sürekli karıştırma ile homojenleştirilen ortamdan 1 mL zooplankton alınıp 100 mL'lik steril bir cam behere aktarıldı ve dH₂O ile 100 mL'ye seyreltildi. Bu seyreltik çözeltiden 0.1 mL örnek alınarak sayıldı.



Şekil 2.2 Zooplanktonların Sayımı (Çimen ve ark., 2020).

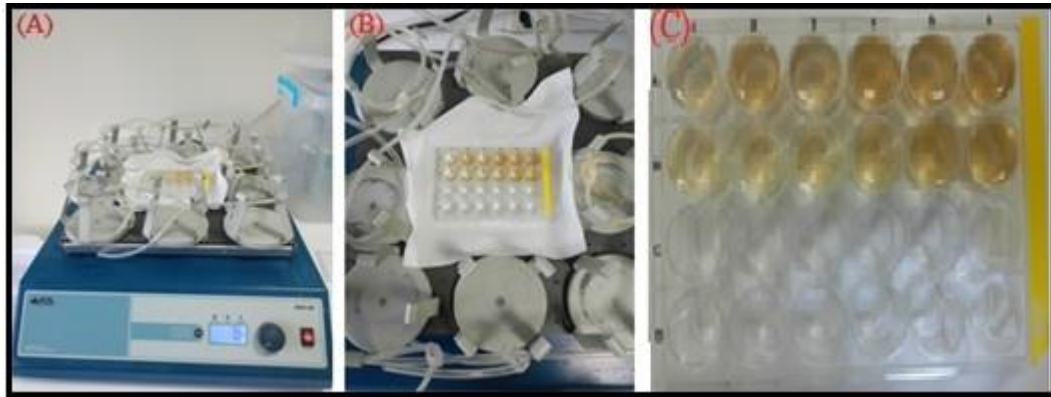
4.6.2 Toksikite Biyodeneý Düzenegi

Toksikite çalışmalarında uygulanan karbon dot (CD) konsantrasyonları çevreye salınım oranları ve *A. salina* larvaları üzerinde etkisi ile ilgili yapılan literatür araştırmaları ve ön toksisite deneyleri ile belirlendi. *A. salina* larvaları için kullanılan uygulama dozları Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 Maruz Bırakılan *A.salina* larvalarının Biyodenyey Tasarımı

Gruplar	Kontrol	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4	Grup5	Grup6
CD (µl)	0	5	10	20	40	80	100
<i>A.salina</i> sayısı	10	10	10	10	10	10	10
Tekerrür sayısı	3	3	3	3	3	3	3

Zooplankton deney çalışmaları 24'lü plate kullanılarak yapıldı. Kuyucukların her birine 10 adet larva konuldu. Daha sonra kuyucuklara sırasıyla Çizelge 2.2'de belirtilen konsantrasyonda sentezlenen karbon dotlar (LCAR/β-CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/β-CD@*Rh.p*/N-CD) ilave edilerek hacim 3 ml'e tamamlandı. CD'ler konulmadan önce agregasyonun önlenmesi amacıyla sonike edildi (SHO-2D) (Şekil 2.2). Ortam sıcaklığı 24±2°C'lık olacak şekilde termostatlı klimalarla ayarlandı. Deneme ortamının pH değeri ise 7.9-8.3 aralığında tutuldu. *A. salina*'da toksikolojik çalışmanın sağlıklı yürütülebilmesi için, tüm gruptaki ölü bireyler deneme süresince her gün sayılarak ortamdaki uzaklaştırıldı ve deneme süresi boyunca larvalar beslenmemiştir.



Şekil 2.3 Sonikatör cihazı (A), CD eklenmiş numuneler (B-C)

4.7 Akut Toksikite Deneyi

A.salina instar I larvaları, instar II'ye göre kromik aside önemli ölçüde daha dirençlidirler ve bu nedenle biyodenyelerin kısa süreli toksisite testleri olarak instar II-III evreleri ile yapılması önerilmiştir (Sorgeloos ve ark., 1978). Maruziyet sırasında, test edilen larvalar beslenmez ve oda sıcaklığında tutuldu. Araştırmada kullanılan LCAR/β-CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/β-CD@*Rh.p*/N-CD'lerin EC₅₀ ve

LC₅₀ değerlerinin belirlenebilmesi için farklı konsantrasyonlarda (5-600 µL) ön çalışmalar yapıldıktan sonra çalışılacak olan konsantrasyon aralığına (5-10-20-40-80-100 µL) karar verildi. Kontrol gruplarına ise CD eklenmedi. Çalışmalar 24'lü hücre kültür kaplarındaki her bir kuyuya 10 birey olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak gerçekteşirildi. Deney sırasında devamlı havalandırma ile hem larvaların oksijeni hemde karbon dotların çökmesi önlendi. 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saat zaman dilimlerinde tutuldu. 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saat zaman dilimlerinde binoküler mikroskop altında ölen ve yaşayan canlıların sayımı yapıldı ve sayıların aritmetik ortalaması alındı. 96 saatlik deney sonucunda her konsantrasyon için ölen bireylerin sayıları ve ölüm yüzdeleri saptandı. Saptanan sayı SPSS 26.0 istatistik programı Probit Analizi kullanılarak LC₅₀ değerleri hesaplandı.

4.8 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1 mM DPPH Stok Çözeltisi

0.0986 g DPPH tartıldı ve etanol ile çözdürülerek 250 mL'ye tamamlandı.

0.1 mM DPPH Stok Çözeltisi

Hazırlanan 1 mM DPPH çözeltisinden 10 mL alınarak etanol ile 100 mL'ye tamamlanarak 1mM'lik DPPH çözeltisi elde edildi.

BHT Stok Çözeltisi

0.01 g BHT tartıldı ve 100 mL'ye metanol ile tamamlandı (100 µg/ml).

Tetrametoksipropan (1, 1, 3, 3 –Tetraethoxypropane) 1 mM Stok Çözeltisi

25 µL Tiyobarbitürik asit (TBA) 100 mL dH₂O içerisinde çözdürülerek hazırlandı. Toplam MDA tahminine yönelik standart eğriyi elde etmek için belirlenen oranlarda seyreltilir.

50 mM Fosfat Tamponu Stok Çözeltisi

pH 7-7.2-7.4 ve 7.5 olmak üzere 4 farklı tampon çözelti hazırlandı. Öncelikle fosfat tamponunu oluşturacak çözeltilerin stokları hazırlandı.

Monobazik potasyum fosfat (potasyum dihidrojen fosfat) (KH₂PO₄)'dan 68.045 g tartıldı ve ddH₂O ile 0.5 mL'ye tamamlandı.

Dibazik potasyum fosfat (dipotasyum hidrojen ortofosfat) (K_2HPO_4)’dan 87.09g tartıldı ve ddH₂O ile 0.5 mL’ye tamamlandı.

Çizelge 2.3 250 mL 50 mM potasyum fosfat tamponu için alınan miktarlar

pH	KH_2PO_4	K_2HPO_4
7	5.3 mL	7.22 mL
7.2	4.2 mL	8.55 mL
7.4	2.8 mL	9.7 mL
7.5	2.35 mL	10.15 mL

Çözeltiler hazırlandıktan sonra pH ayarı hidroklorik asit (HCl) ile pH metre yardımıyla yapıldı.

4.9 Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler öncesinde, 2.9’da belirtilen yöntemle göre *A.salina* larvalarının kistlerden çıkması sağlandı. Sonrasında 2.9.1’de belirtilen yöntemle larvaların sayımı yapıldı ve birey sayısının yaklaşık toplam 16.000 olduğu hesaplandı. Biyokimyasal analizlerin ve kontrol gruplarının her biri için yaklaşık 1.000 birey konularak subletal konsantrasyonda (1000 μ L) LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD CD’lerine sürekli havalandırma ve aydınlatma sağlanarak 24 saat maruz bırakıldı (Şekil 2.3).



Şekil 2.4 *A.salina* larvalarının Biyodeney düzeneği (orijinal)

4.9.1 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Aktivitesi

ROT aktivitesi Ulm ve arkadaşları (2015) tarafından tarif edilen protokole göre yapıldı. Aktivite floresan olmayan bir boya 2', 7'-dikloro dihidrofloresin diasetat (DCFH-DA) kullanılarak belirlendi. LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ile muamele edilen yaklaşık 1000 larva toplandı ve iki kez deiyonize su ile yıkandı. Yıkanan larvalar 10 μ M DCFH-DA boyası eklendi ve karanlıkta 30 dakika 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 2 mL 0.5 M fosfat tamponunda (pH 7.4) 2 kez yıkandı ve bir cam homojenleştiricisi (ILDAM, Turkey) kullanılarak homojenize edildi. Homojenize edilen numuneler 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendi ve süpernatant toplandı. DCFH-DA'nın floresan yoğunluğunu görmek için bir UV-VİS spektrofotometre (Shimadzu Marka, UVmini -1240 Model) kullanılarak sırasıyla 485 ve 530 nm'lik bir eksitasyon ve emisyon dalga boyunda ölçüm yapıldı. ROT üretimi, floresan mikroskopu kullanılarak DCFH-DA boyası ile inkübe edilmiş kontrol ve CD uygulanmış larvaların görselleştirilmesiyle doğrulandı.

4.9.2 Süper Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

SOD aktivitesi Ateş ve ark., 2013 tarafından tarif edilen protokole göre yapıldı. LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ile muamele edilen yaklaşık 1000 larva toplandı ve deiyonize su ile yıkandı. Durulamadan sonra 1 mL 0.5 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.5) içinde bir cam homojenleştiricisi (ILDAM, Turkey) kullanılarak homojenize edildi. Homojenize numuneler 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi ve süpernatant toplandı. Daha sonra süpernatantın 70 μ L'sine 50 mM (1.3 mL) Na₂CO₃ tamponu (pH 10), 96 mM (500 μ L) NBT, 100 μ L Triton X-100 ve reaksiyonu başlatmak için 20 mM (100 μ L) hidroksilamin hidroklorür ilave edildi. Elde edilen reaksiyon karışımı 20 dakika boyunca 37 °C'de ışık varlığında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra UV-VIS spektroskopisinde 540 nm'de absorbans değerleri kaydedilerek ölçüldü. 540 nm absorbanstaki azalma, SOD enzimi tarafından nitro blue tetrazolium chloride (NBT) azaltımının bir ölçüsüdür (Sugantharaj David ve ark., 2017).

4.9.3 Katalaz (KAT) Aktivitesi

KAT aktivitesi Yilancıoğlu ve ark., (2014) tarafından tarif edilen protokole göre yapıldı. KAT enzimi, hidrojen ve su üretimi nedeniyle sarı renk üretmek için

amonyum molibdat ile birleştirilmiş hidrojen peroksit ile reaksiyona girer (Jeyavani ve ark., 2022). KAT analizi için LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ile muamele edilen yaklaşık 1000 larva toplandı ve deiyonize su ile yıkandı. Durulamadan sonra 2 mL 0.5 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.5) içinde bir cam homojenleştiricide (ILDAM, Turkey) homojenize edildi. Homojenize edilen numuneler 12.000 rpm'de 4°C'de 30 dakika santrifüjlendi ve süpernatant toplandı. Daha sonra süpernatantın 100 μ L'sine 2 mL hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonu (10.8 mM) ve 200 μ L 50 mM PBS (pH 7.0) eklendi. Elde edilen reaksiyon karışımı UV-VIS spektroskopisinde 240 nm'de 3 dakika aralıklarla ölçüldü. Referans olarak H₂O₂ içermeyen aynı reaksiyon karışımı dikkate alındı ve UV-VIS kullanılarak 240 nm'de ölçüldü.

4.9.4 Malondialdehit (MDA) Aktivitesi

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA aktivitesi, tiyobarbütirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyona girerek kırmızı renkli bir bileşik oluşturmasına dayanır. Ortaya çıkan kırmızı-pembemsi pigment, 532-535 nm'de spektrofotometrede ölçülür. Tetrametoksipropan standart olarak kullanıldı. MDA aktivitesi Ates ve ark., (2013) tarafından tarif edilen protokole göre yapıldı. Bunun için LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ile muamele edilen yaklaşık 1000 larva toplandı ve deiyonize su ile yıkandı. Durulamadan sonra 2 mL 0.5 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.2) içinde bir cam homojenleştirici (ILDAM, Turkey) ile homojenize edildi. Homojenize edilen numuneler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi ve süpernatant toplandı. Daha sonra süpernatantın 0.25 mL'ine 10 μ L bütillenmiş hidroksitoluen reaktifleri (BHT), 0.25 mL fosforik asit reaktifi ve 0.25 mL TBA reaktifi steril bir şişeye eklendi. Elde edilen reaksiyon karışımı 90°C'de 1 saat inkübe edildi ve süspansiyon halindeki dokuyu çökeltmek için 13.000 rpm'de 10 dakika soğutulduktan sonra santrifüjlendi. Elde edilen reaksiyon karışımı UV-VIS spektroskopisinde 532 nm'de ölçüldü.

4.10 DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

Yöntem, antioksidan madde tarafından yakalanan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin mor renginin açılarak spektrofotometrik ölçümüne dayanır (Blois, 1958). Bitki ekstratları (*Rh.l* ve *Rh.p*), bunlardan sentezlenen karbon dot'lar (LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD, LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD) ve L-carnitin çözeltilerinin

antioksidan aktivitesini belirlemek için her birinden 100, 150, 200, 250 ve 300 µL alını ve üzerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden de 4 mL eklendi. Karışımlar vortekslendikten sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu Marka, UVmini-1240 Model) ile 517 nm absorbansta değerleri okundu. Pozitif kontrol olarak ise BHT kullanıldı.

% DPPH radikali giderme aktivitesi bu formülle hesaplanarak belirlendi;

$$\% \text{ DPPH Radikali Giderme Aktivitesi} = \frac{\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Numenelerin Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100$$

Aktiviteler hesaplandıktan sonra % inhibisyon – konsantrasyon grafiği çizildi. BHT de kontrol absorbansı olarak kör numunesinin absorbansı kabul edildi.

4.11 BHT Tayini İçin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), yağlarda iyi çözünebilir ancak suda çözünmeyen, beyaz renkli ve kristal yapıda bir madde olup koruyucu bir antioksidan maddedir (Eken, 2017). Bu nedenden dolayı DPPH radikali giderme aktivitesi tayininde pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. BHT'ye ait ölçü eğrisinin hazırlanması için hazırlanmış olan 100 µg/ml konsantrasyondaki stok BHT çözeltisinden 25, 50, 75, 100, 150 ve 200 µL alınarak üzerine 0.1 mM DPPH çözeltisinden 4 mL konuldu. Karışım vortekslendikten sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu Marka, UVmini-1240 Model) ile 295 nm ve 517 nm absorbansta değerleri okundu.

4.12 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktiviteler agar petri kabında disk difüzyon işlemi kullanılarak değerlendirildi.

4.12.1 Test mikroorganizmaları

Çizelge 2.4 Kullanılan Bakteri ve Mantar Türleri

Mikroorganizmalar	
Basillus subtilis B209	Klebsiella pneumoniae ATCC®13883
Staphylococcus aureus ATCC®6538	Aspergillus niger ATCC®9642
Listeria monocytogenes ATCC®7677	Candida albicans ATCC®10231
Escherichia coli ATCC®25922	Saccharomyces cerevisiae ATCC®976
Pseudomonas aeruginosa ATCC®13883	

4.12.2 Disk Difüzyon Yöntemi

Besiyeri steril bir cam şişeye 11.5 g Nutrient Agar (NA) tartılıp üzerine 500 ml distile su konularak 121 °C’de 30 dk boyunca sterilize edilerek hazırlandı. Otoklavdan alınan besiyeri 45-50°C’ye soğuması beklendikten sonra steril petri kaplarına homojen bir şekilde döküldü. Katılaştıran agar üzerine swap yöntemi ile her bakteri ve mantar türünden 3 tekrerrül olacak şekilde 100 µL mikroorganizma 3 farklı yöne yayma plaka ile ekim yapıldıktan sonra steril boş antibiyotik blank diskleri penset yardımıyla yerleştirildi. Daha sonra Rh.l ve Rh.p extratı, LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD, LCAR, negatif kontrol olarak steril distile su ve pozitif kontrol olarak nitroimidazol türevi antibiyotik olan Flagyl çözeltilisinden 20 µL alınarak disklerin üzerine eklendi. Zon çaplarının etkilenmemesi için petriler bir süre yerinden oynatılmadı. Ardından petriler organizmanın optimum geliştiği sıcaklıkta (Bakteriler için 37 °C, funguslar için 25 °C) bakteriler için 24 saat, funguslar için 48 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Sonrasında disk etrafındaki inhibisyon çap bölgesi temel alınarak zon çapları kumpas ile ölçüldü ve zon çaplarının aritmetik ortalaması alınarak standart antibiyotiklerle (inhibisyon zon çapları) karşılaştırıldı.

4.13 İstatistiksel Analizler

Deneyler bağımsız olarak 3 tekrerrürlü olarak gerçekleştirildi ve veriler standart sapmalı ortalamalar olarak kaydedildi. Bütün veri analizlerinde anlamlı farklılıkları bulmak amacıyla p-değeri, 0.05 olarak alınmıştır. Denemelerde; LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD CD’lerin etkisini bulmak amacıyla istatistiksel programlarından SPSS/26.0 kullanılarak probit analizi yapıldı ve LC₅₀ değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

5. BULGULAR

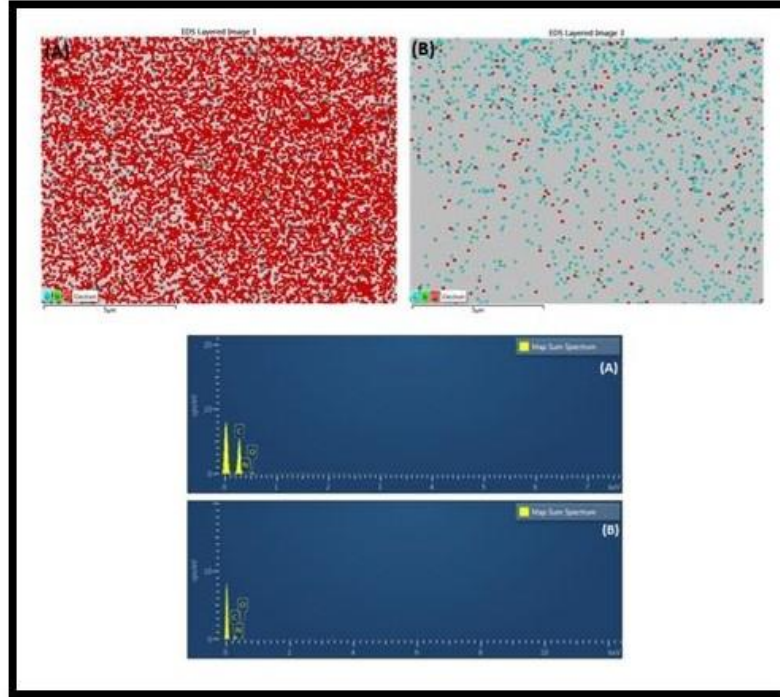
5.1 Sentez ve Karakterizasyon

Rhododendron luteum ve *Rhododendron ponticum* kullanılarak sentezlenen L-carnitin (LCAR) yüklü β -Cyclodextrin (β -CD) ile işlevselleştirilmiş N katkı karbon dotların sentezi (LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD, LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD) Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarları'nda başarılı bir şekilde sentezlendi.

5.1.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

5.1.1.1 CD'lerin SEM Bulguları

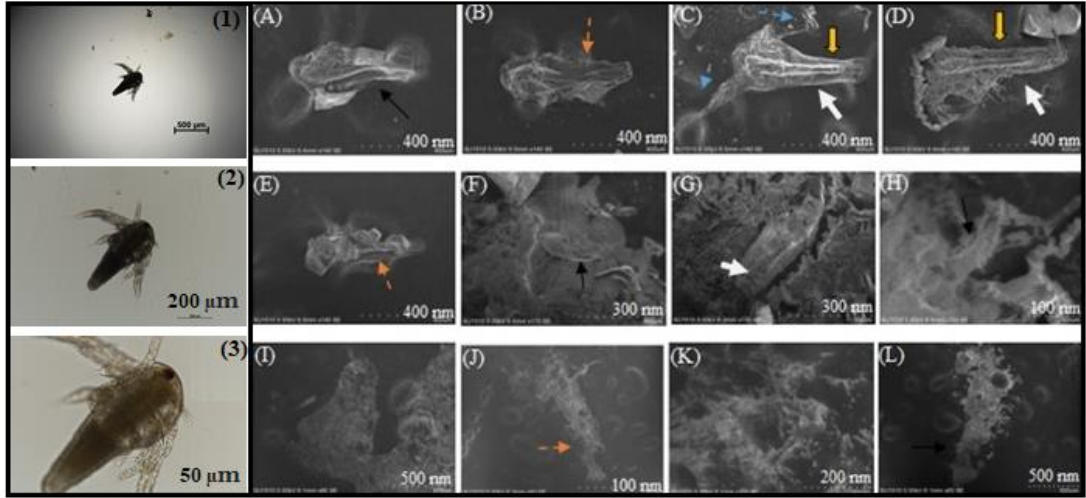
EDX, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerin karbon (C), oksijen (O) ve azot (N) için bağlanma enerjisini göstermiştir. LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'nin atomik yüzdeleri karbon için %90.84, oksijen için %9.16'dır. LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD için ise atomik yüzdeler karbon için %71.11, oksijen için %28.89'dur. N miktarı nanomalzeme yüzeylerinin karbon ve siklodekstrin ile kaplı olması ayrıca LCAR siklodekstrin içine yüklü olmasından dolayı N miktarı ölçülemediği.



Şekil 3.1 Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) haritaları analizi, LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD (A) ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD (B)

5.1.1.2 Larvaların Taramalı Elektron Mikroskobu

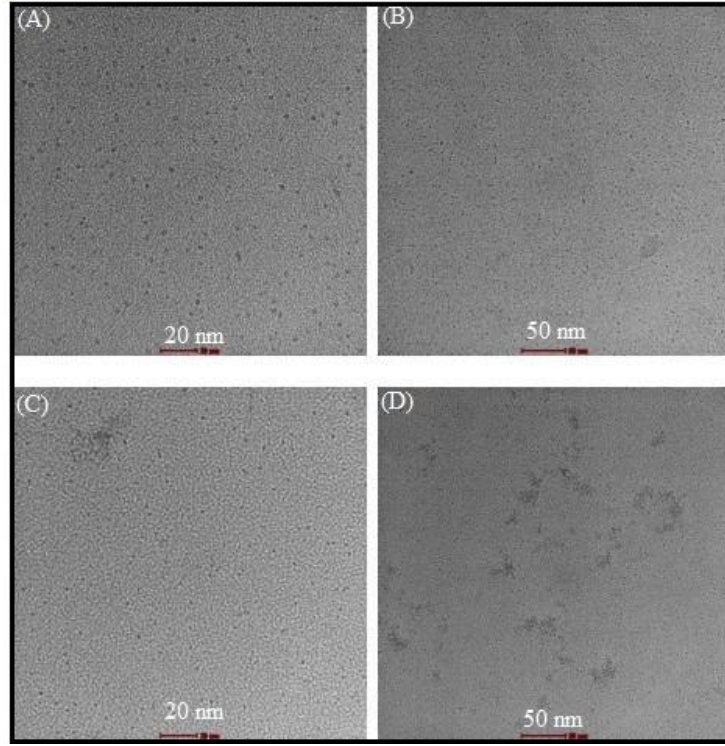
LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD maruz kalan larvaların yapısal bozuklukları Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Buna göre, larvaların abdomen kıvrılması anomalisi A, F, H ve L, abdomen kalınlaşması C, D ve G, abdomen parçalanması B, E ve J’de gösterilmiştir. Ayrıca C’de mavi oklarla gösterilen antenler konsantrasyon artışıyla birlikte kaybolmuştur. Şekil C ve D’de turuncu oklar vücut boylarında artışı göstermektedir. Şekil I, J, K ve L’de konsantrasyon artışına bağlı olarak larvaların üzerinde yoğun şekilde agregat oluşturan CD’ler bulunmaktadır. Bulunan sonuçlar doğrultusunda LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD’lerin larvalar üzerinde toksik etkili olduğu ve yapısal bozukluklara sebep olduğu görülmüştür.



Şekil 3.2 Maruz kalan larvaların SEM bulguları; kontrol grubu (1-3), LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD’lere maruz kalan larvalar 5 μ L 24 saat (A), 100 μ L 24 saat (B), 5 μ L 48 saat (E), 100 μ L 48 saat (F), 5 μ L 72 saat (I), 100 μ L 72 saat (J) ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD’lere maruz kalan larvalar 5 μ L 24 saat (C), 100 μ L 24 saat (D), 5 μ L 48 saat (G), 100 μ L 48 saat (H), 5 μ L 72 saat (K), 100 μ L 72 saat (L)

5.1.2 Sentez Karbon Dot’ların Geçirimli Elektron Mikroskobu

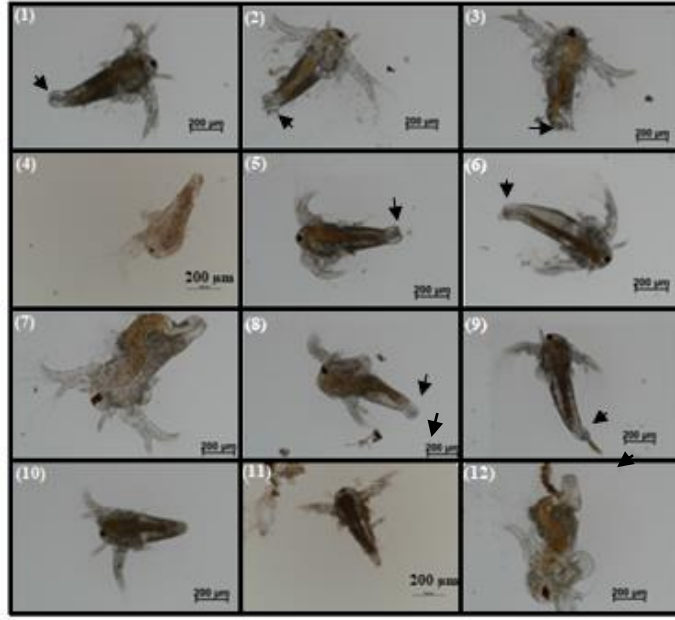
LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD’lerden elde edilen TEM görüntülerinde sentezlenen CD’ler farklı karakteristik özellik göstermesine rağmen ikisinde koloidal (akuatik ortamda) yapıda kurutulan CD süspansiyonlarının toplar şeklinde küresel ve parçacıklar halinde monodispers dağılım göstermiştir. CD’lerin boyutu, yaklaşık olarak 3-5 nm dir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Sentez karbon dotların TEM bulguları (A-C) 20 nm ve (B-D) 50 nm

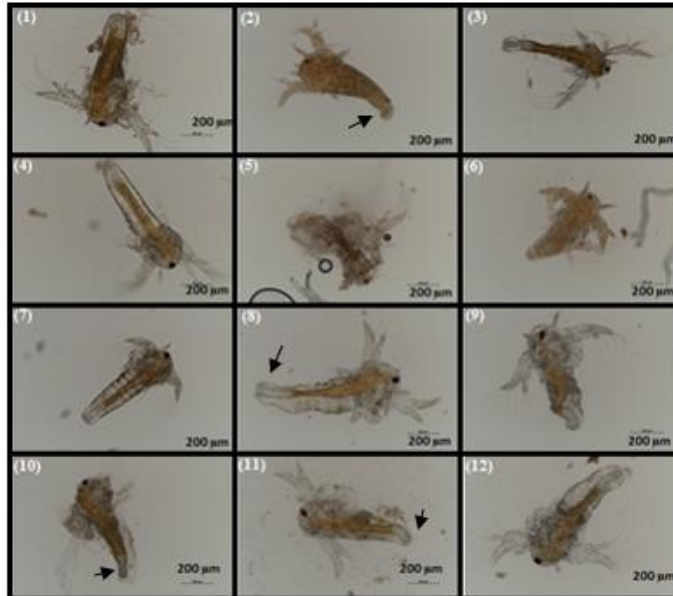
5.1.3 *A.salina* Larvalarının Floresan Mikroskobu

Larvaların CD konsantrasyon artışına bağlı olarak yapısal bozukluklar göstermiştir. Bu bozukluklar abdomen kıvrılması, abdomenin parçalanması, anten kaybolması ve deformasyonu ile abdomenin karın duvarından dışarıya taşması şeklindedir (Şekil 3.4-7). Yine, konsantrasyon artışıyla birlikte larvaların üzerinde yoğun şekilde CD agregat oluşumları görülür.



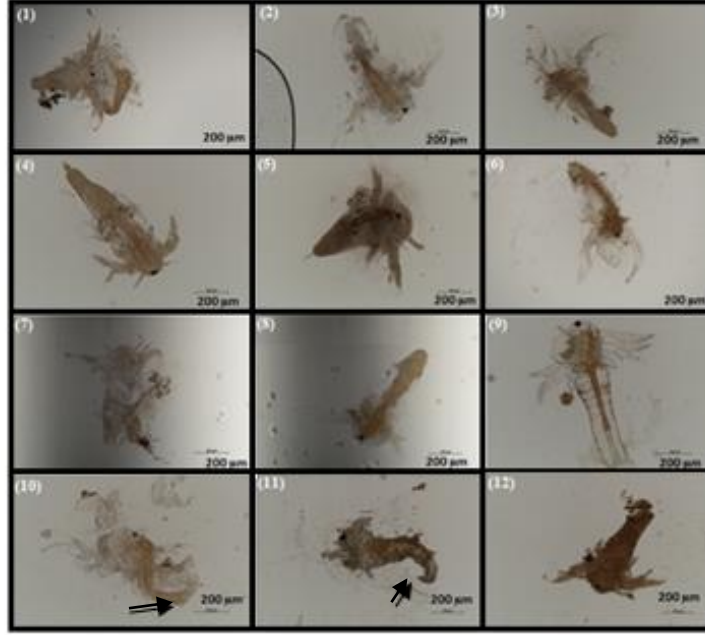
Şekil 3.4 Maruz kalan larvalarda 24 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri (200 μm); LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD 5 μL (1), 10 μL (2), 20 μL (3), 40 μL (4), 80 μL (5), 100 μL (6) LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD 5 μL (7), 10 μL (8), 20 μL (9), 40 μL (10), 80 μL (11), 100 μL (12)

24 saat CD'lere maruz kalan larvalarda abdomen kıvrılması (1-3, 5-6, 8-9), abdomen kısalması (8) ve abdomenin karın duvarından dışarıya taşması (7, 12) görülmektedir.



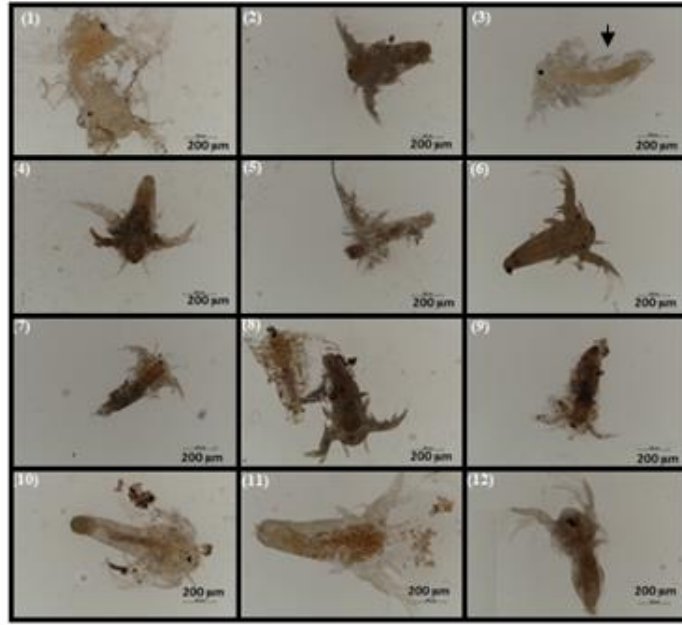
Şekil 3.5 Maruz kalan larvalarda 48 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri (200 μm); LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD 5 μL (1), 10 μL (2), 20 μL (3), 40 μL (4), 80 μL (5), 100 μL (6) LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD 5 μL (7), 10 μL (8), 20 μL (9), 40 μL (10), 80 μL (11), 100 μL (12)

48 saat CD'lere maruz kalan larvalarda abdomen kıvrılması (2, 8, 10 ve 11), abdomen kısalması (1, 3, 7-12) ve abdomenin karın duvarından dışarıya taşması (5, 10) görülmektedir.



Şekil 3.6 Maruz kalan larvalarda 72 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri (200 μm); LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD 5 μL (1), 10 μL (2), 20 μL (3), 40 μL (4), 80 μL (5), 100 μL (6) LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD 5 μL (7), 10 μL (8), 20 μL (9), 40 μL (10), 80 μL (11), 100 μL (12)

72 saat CD'lere maruz kalan larvalarda görülen yapısal değişikliklerden abdomen kıvrılması (10, 11), abdomen kısalması (2, 9) ve abdomenin karın duvarından dışarıya taşması durumu (2, 8, 10-11) görülmektedir.

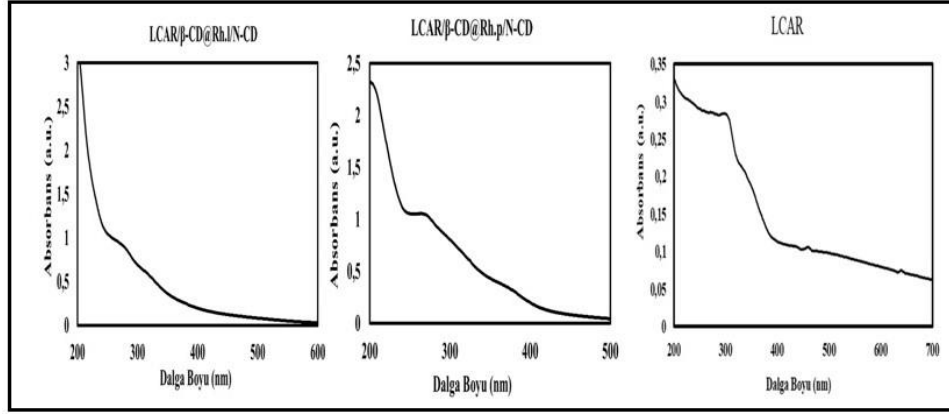


Şekil 3.7 Maruz kalan larvalarda 96 Saatlik Floresan Mikroskop Görüntüleri (200 μm); LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD 5 μL (1), 10 μL (2), 20 μL (3), 40 μL (4), 80 μL (5), 100 μL (6) LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD 5 μL (7), 10 μL (8), 20 μL (9), 40 μL (10), 80 μL (11), 100 μL (12)

96 saat CD'lere maruz kalan larvalarda görülen yapısal değişikliklerden abdomen kıvrılması (3), abdomen kısalması (10) ve abdomenin karın duvarından dışarıya taşması (1, 3, 5) görülmektedir.

5.1.4 Ultraviyole Görünür Spektroskopi (UV-VIS)

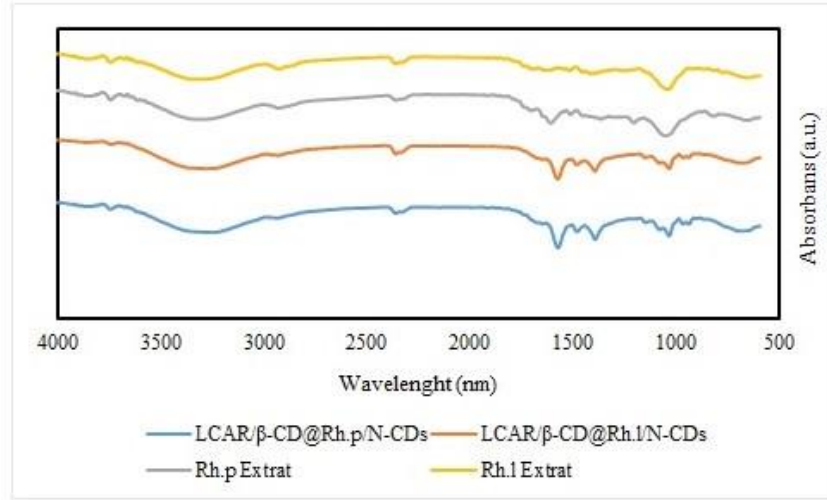
Hidrotermal yöntem ile sentezlenen karbon dot komplekslerinin UV-Vis spektrumlarına bakıldığında 272 ve 375 (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD) nm'deki ve 271 ve 327 nm deki (LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) absorbanların yüzeydeki fonksiyonel gruplar ile karşılaştırıldığında teorik olarak β -CD absorbanının 244 nm (Hogenbom ve ark., 2021) olduğu ve LCAR'ın deneysel olarak UV-VIS spektrumları sırasıyla 304, 354 ve 462 ve 643 nm olan temel piklerinin kaydıği görülmüştür. Bu da sentezlenen karbon dot yüzeyinin siklodektrin ve karnitin ile kaplı olduğunu göstermektedir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Sentez karbon dotların UV absorpsiyon spektrumları

5.1.5 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Şekil 3.9'da gösterilen FTIR analizde β -CD'nin karakteristik pikleri C-H alifatik gerilme nedeniyle 2924 cm^{-1} 'de ve -OH gerilme titreşimi nedeniyle 3294 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 964 cm^{-1} dalga sayısındaki absorpsiyon bandı, β -CD'lerden a-piran'ın karakteristik absorpsiyon pikidir. 1134 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı C-O-C köprüsünün simetrik gerilmesine karşılık gelirken, 1080 cm^{-1} ve 1033 cm^{-1} C-O gerilmesini içeren C-O-C'nin iskelet titreşimidir (Bashari ve ark., 2013; Canbolat ve ark., 2014). LCAR ile yüklü olan β -CD kaplı karbon nano dotların içerdiği siklodekstrinin benzen halkasının karakterize edilmiş absorpsiyon pikleri N-H titreşimine bağlı amid I bandı (1651 cm^{-1}) ve amid II bandı (1573 cm^{-1}) da ortaya çıkmıştır. 3294 cm^{-1} aralığındaki geniş pik NH ve OH titreşimine aittir. Ayrıca, fonksiyonelleştirilmiş karbon nano dotların 1573 , 1473 ve 1388 cm^{-1} 'lik karakterize absorpsiyon pikleri bitki özütlerinde çıkmamıştır. Bu durum, C-N, C-C ve C-O gerilmesinin ilgili titreşiminden kaynaklanır. Böylece FTIR spektrumlarında nanomalzemenin başarılı sentzlendiğini doğrulamıştır.



Şekil 3.9 Sentez karbon dotların FTIR spektrumları

5.1.6 Elemental Analiz

LCAR/β-CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/β-CD@*Rh.l*/N-CD'lerinin elemental analizinde sentezlenen CD'lerin karbon, azot ve hidrojen içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sentez Karbon Dotların Elemental Analizi

CD'ler	N (%)	C (%)	H (%)
LCAR/β-CD@ <i>Rh.p</i> /N-CD	6.090	41.279	8.363
LCAR/β-CD@ <i>Rh.l</i> /N-CD	6.251	45.152	8.121

5.2 Toksikite Analiz Bulguları

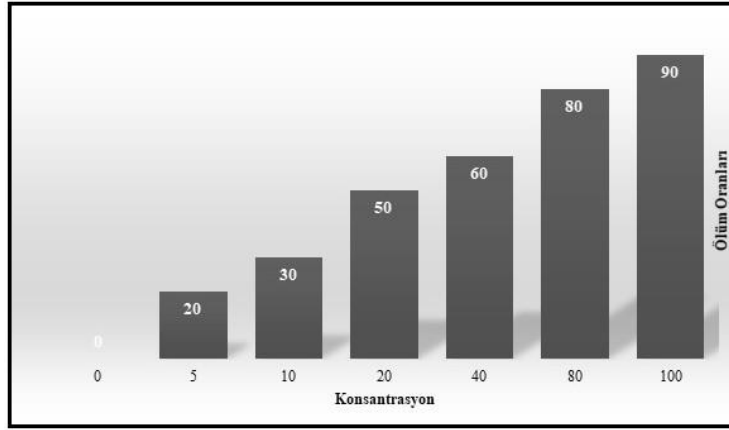
5.2.1 Akut Toksikite ve Yaşama Oranları

Çalışmada LCAR/β-CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/β-CD@*Rh.p*/N-CD'in 6 farklı konsantrasyonda (5, 10, 20, 40, 80, 100 µg/l) larvaların toksik etkisi 96 saat sonunda probit analizi yapılarak LC50 değerleri belirlendi (Çizelge 3.2). Bu sonuçlara göre CD'ler farklı toksik etki göstermekle birlikte LCAR/β-CD@*Rh.l*/N-CD, LCAR/β-CD@*Rh.p*/N-CD'lerinden daha toksik olduğu görülmüştür.

Çizelge 3.2 Sentez Karbon Dotların LC₅₀ değerleri

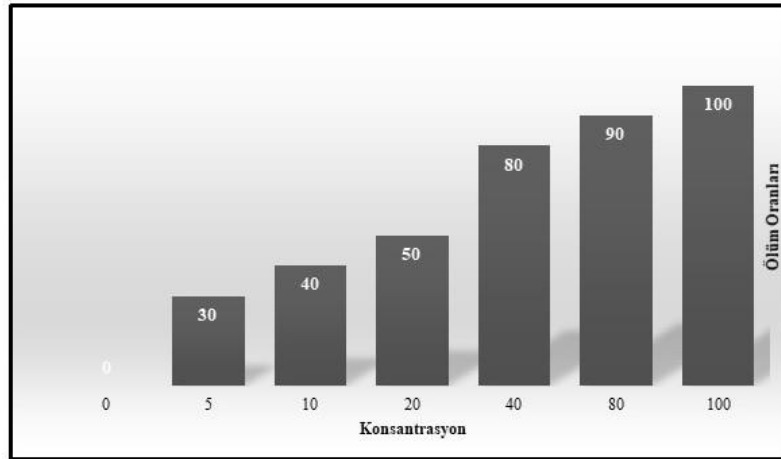
CD'ler	LC ₅₀ (µg/l)	LC ₅₀ Değerleri	
		Alt Seviye	Üst Seviye
LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD	21.058	12.067	35.076
LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD	12.858	6.762	21.531

LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD'lere maruz kalan larvaların uygulama konsantrasyonlarına göre ölüm oranları Şekil 3.10 ve Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



Şekil 3.10 LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD maruz kalan larvaların 96 saatlik ölüm oranları

LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD çeşitli konsantrasyonlarına maruz kalan larvaların konsantrasyon artışı ile ölüm oranlarının arttığı ve yaşam yüzdeleri azalmıştır.



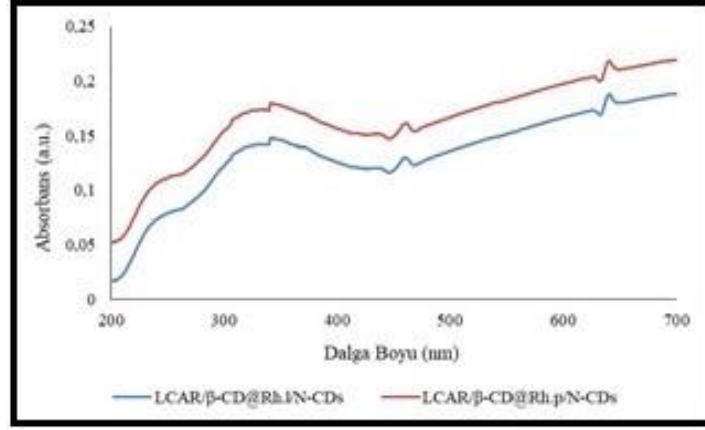
Şekil 3.11 LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD maruz kalan larvaların 96 saatlik ölüm oranları

LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD çeşitli konsantrasyonlarına maruz kalan larvaların konsantrasyon artışı ile ölüm oranlarının arttığı ve yaşam yüzdelerinin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 3.11).

5.3 Biyokimyasal Analizler

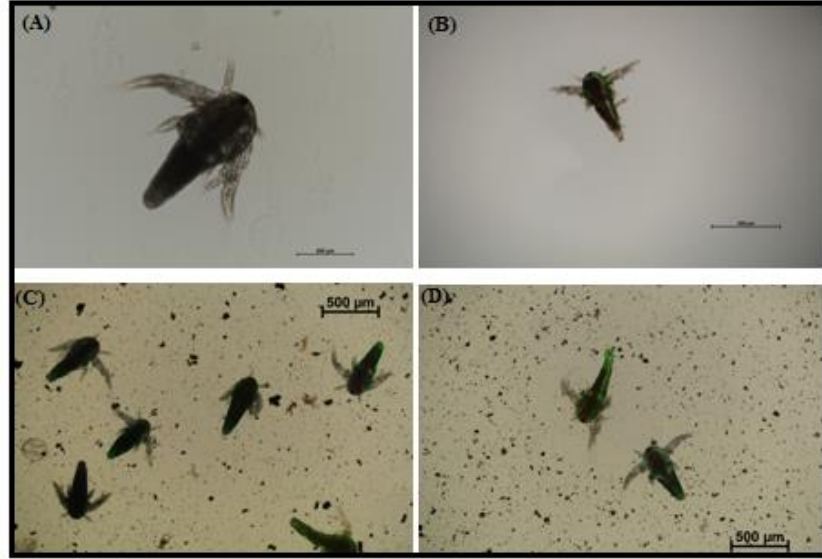
5.3.1 Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Aktivitesi

24 saat boyunca LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD maruz kalan larvalarda ROT üretimi Şekil 3.12’de, bodurlaşma Şekil 3.13’de, gösterilmiştir. LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD daha yüksek ROT üretimi göstermiştir.



Şekil 3.12 ROT Aktivitesi Spektrumu

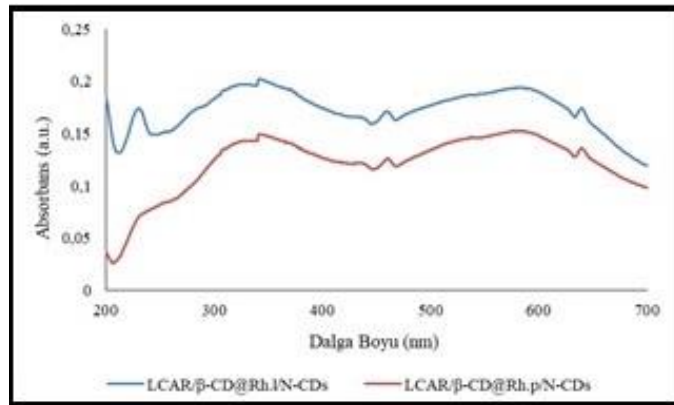
Şekil 3.13’de LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD’lere 24 saat maruz kalan larvaların bağırsağında CD birikmiştir (Şekil 3.13 (C)). LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD’lere maruz kalan larvaların DCFDA ile boyanması hücre içi stresi gösterir (1-3). LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CDs’lerine maruz kalan larvaların LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD’e göre daha yüksek lekelenme ve deformasyon göstermiştir.



Şekil 3.13 Hücre içi ROT'un DCFDA ile değerlendirilmesi (DCFDA uygulanmamış kontrol grubu (A), DCFDA uygulanmış kontrol grubu (B), LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD DCFDA boyalı larvalar (C), LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD DCFDA boyalı larvalar (D))

5.3.2 Süper Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

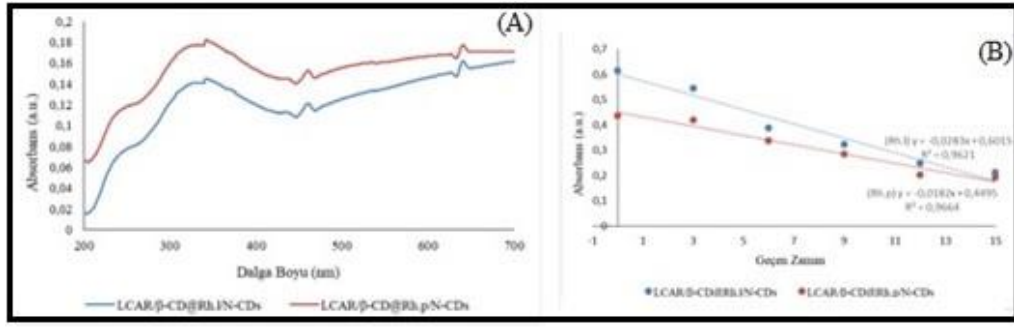
Şekil 3.14'de LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD ile karşılaştırıldığında daha yüksek SOD üretmiştir. Ek olarak 232 ve 340 nm'deki iki absorbans zirvesinin varlığı ile karakterize edilirken 450-470 nm ve 630-650 nm görünür aralıkta karakterize edildi. 282 nm'de belirgin olmayan geniş bir protein bandı, 463 nm'de ve 600 nm'ye yakın bir geniş bir omuza sahip emme bandı olduğu görüldü.



Şekil 3.14 SOD Aktivitesi Spektrumu

5.3.3 Katalaz (KAT) Aktivitesi

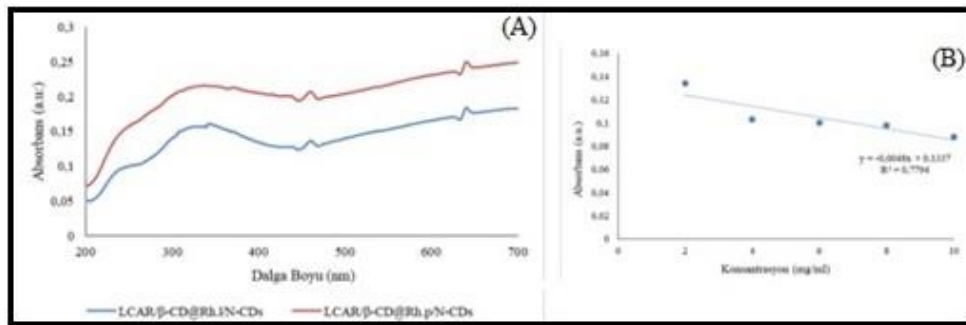
Şekil 3.15’de 240 nm’de belirgin olmayan bir absorbans piki gözlemlenmiştir. Bu KAT içeriğini göstermektedir. Ancak sentezlenen LCAR yüklü, N katkılı β -CD’lerden kaynaklı absorbans pikinin 340 nm’ye kaydığı görülmektedir. Bu durumda, LCAR yüklü, N katkılı β -CD’lerin KAT konformasyonunu dönüştürme potansiyelini KAT mikro ortamının hidrofiliğe kaydırılmasıyla desteklediğini gösterir. Yine Şekil 3.15’de LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD karşılaştırıldığında daha yüksek KAT üretimiştir. Ayrıca, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, CD’lere maruz kalan larvaların zaman artışıyla KAT seviyesinde bir düşüş gözlenmiştir.



Şekil 3.15 KAT Aktivitesi Spektrumu (A), H₂O₂ içermeyen Kontrol Kalibrasyon Eğrisi 240 nm (B)

5.3.4 Malondialdehit (MDA) Aktivitesi

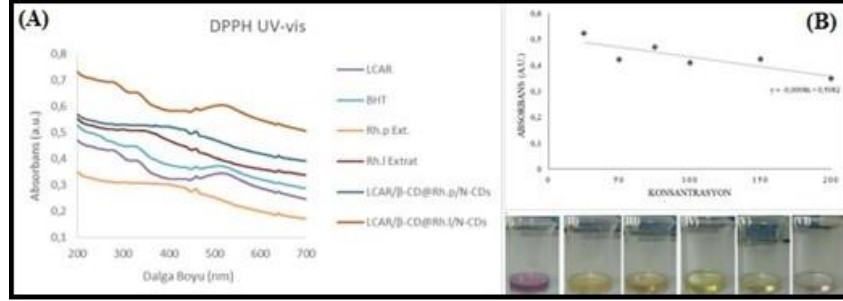
Şekil 3.8’de LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD’e maruz kalan larvaların MDA aktivitesi ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ile karşılaştırıldığında daha yüksek MDA üretimiştir. 535 nm’de tetrametrotoksipropan (MDA standartı) grubu grafiği ile karşılaştırıldığında LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD maruz kalan larvaların konsantrasyon artışıyla MDA seviyesinde bir düşüş gözlenmiştir.



Şekil 3.16 MDA Aktivitesi Spektrumu (A), Tetrametoksipropan Kalibrasyon Eğrisi (B)

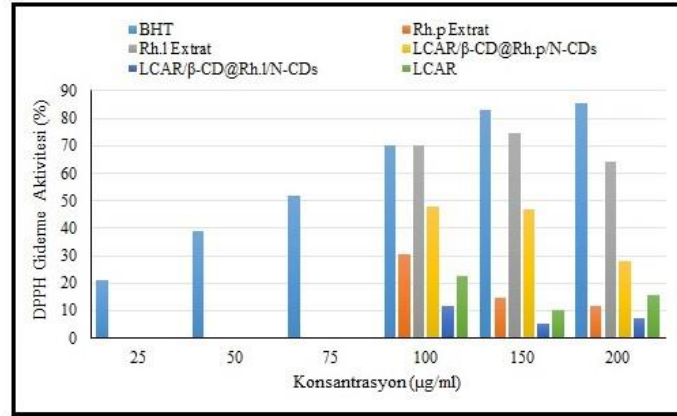
5.4 DPPH Aktivite Seviyesi

Rh.l ve Rh.p özütləri, sentez CD'ler (LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD, LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD) ve LCAR'ın DPPH radikal giderme aktiviteleri farklıdır. Rh.l özütlü standartla kıyaslanabilecek yaklaşık %95 civarında aktivite göstermiştir.



Şekil 3.17 DPPH Çözeltilisinin UV-vis Spektrumu (A), BHT Kalibrasyon Eğrisi (B), DPPH Çözeltilerinin Aktivitesi (I,II,III,IV, V, VI)*

*I: Rh.p Ekstrat, II: Rh.l Ekstrat, III: LCAR, IV: BHT, V: LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD, VI: LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD



Şekil 3.18 DPPH % İnhibisyon – Konsantrasyon Grafiği

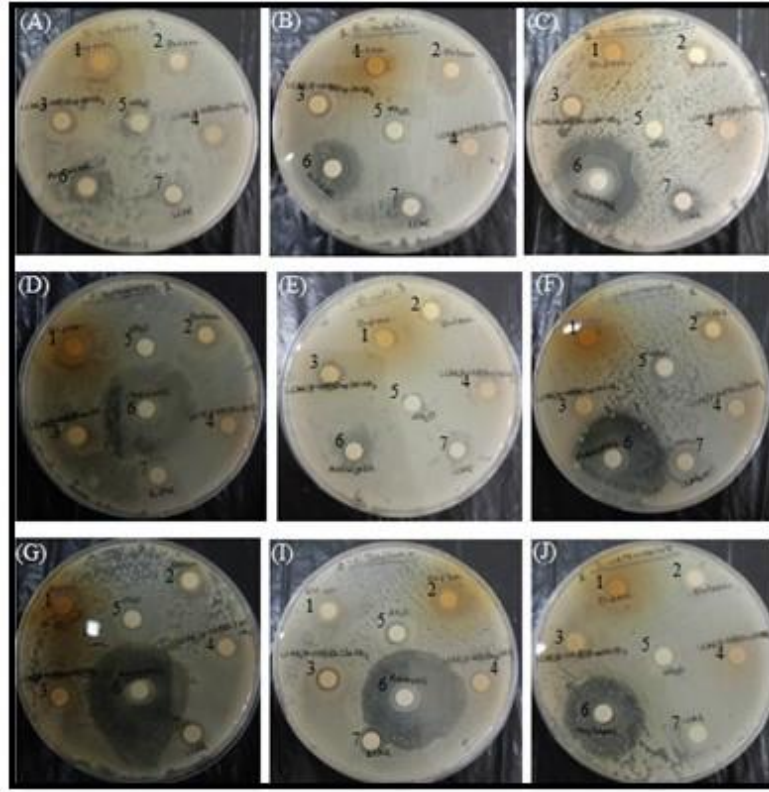
Çalışmada Rh.l ve Rh.p özütlerin ve sentez CD'lerin düşük konsantrasyonlarda DPPH radikalini giderme aktivitesi yüksek, yüksek konsantrasyonlarda DPPH radikalini giderme aktivitesi düşüktür. Çalışılan tüm maddelerde, konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında düşüş gözlemlendi (Şekil 3.18).

5.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çizelge 3.3'de test bakterilerine ait zon çapları incelendiğinde çoğunlukla Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğu görülmüştür. Bitki özütlерinin ve sentez karbon dotların oluşturduğu inhibisyon

zonlara ait görseller Şekil 3.19'da verilmiştir. Gram pozitif olan *S.aureus* ve *B.subtilis*'in diğer maddelere oranla LCAR'a daha duyarlı olduğu ancak bu etkinin kontrol antibiyotiği olan Flagyl göre daha düşük olduğu görülmektedir (A-B). *L.monocytogenes* bakterisine karşı tüm maddeler farklı derecelerde etki göstermekle birlikte Rh.p özütü diğer maddelere oranla daha fazla etki vermiştir. Ancak bu etki Flagyl ile kıyaslandığında daha düşüktür (C). *P.aeruginosa*'nın Rh.p ve LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'sine aynı derecede duyarlı olduğu, Rh.l ekstrasına karşı daha fazla duyarlı olduğu ama bu etkinin Flagyl'e göre daha düşük olduğu görülmektedir (D). *E.coli* bakterisinin Rh.p ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'sine aynı derecede duyarlı olduğu, Rh.l ekstrasına karşı daha fazla duyarlı olduğu ancak Flagyl ile kıyaslanabilecek etki verdiği de görülmüştür (E). *K.pneumoniae* Rh.l ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'sine aynı derecede duyarlı olduğu, Rh.p ekstrasının aynı türe karşı daha fazla duyarlı olduğu fakat bu etkinin Flagyl'e göre daha düşük olduğu görülmektedir (F). Bir mantar türü olan *A.niger*'in LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerine aynı etkide duyarlı olduğu görülmekle birlikte en fazla etkiyi de verdikleri görülmektedir. Ancak bu etkinin Flagyl'e göre daha düşük olduğu da görülmektedir (G). *C.albicans* Rh.l ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerinde birbirine yakın inhibisyon zon çapları vererek antibakteriyel etki göstermiştir fakat bu inhibisyon zon çapının kontrol antibiyotiği olan Flagyl'e e kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir (I). *S.cerevisiae* bakterisinin ise Rh.p ve LCAR/ CD@Rh.l/N-CD'lerinde aynı duyarlılıkta olduğu fakat antibakteriyel aktivite gösteren örneklerin tümüne bakıldığında en yüksek antibakteriyel aktivitenin Rh.l ve LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerinin sahip olduğu görülmekle birlikte bu aktivitenin kontrol antibiyotiği ile kıyaslandığında düşük olduğu görülmüştür (J).

Kontrol antibiyotiği olan Flagyl dışında disk difüzyon testinden elde edilen inhibisyon zon çapı sonuçları dikkate alındığında Rh.l ekstrasına en duyarlı bakteri *P.aeruginosa*, Rh.p ekstrasına en duyarlı bakteri *B.subtilis* ve *K.pneumoniae*, LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD's'a en duyarlı *C.albicans*, LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'e en duyarlı bakterinin *A.niger* ve *S.cerevisiae*, LCAR'a en duyarlı *S.aureus* ve *B.subtilis*'in olduğu görülmüştür (Çizelge 3.3).



Şekil 3.19 Antimikrobiyal aktiviteler *S.aureus* (A), *B.subtilis* (B), *L.monocytogenes* (C), *P.aureginosa* (D), *E.coli* (E), *K.pneumoniae* (F), *A.niger* (G), *C.albicans* (I), *S.cerevisiae* (J) ;Rh.p ekstrası (1), Rh.l ekstrası (2), LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD (3), LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD (4), dH₂O (5), Flagyl (6), LCAR (7)

Çizelge 3.3 Mikroorganizmaların İnhibisyon Zon Çapları

Mikroorganizmalar	İNHİBİSYON ZON ÇAPLARI (mm)						
	Rh.l Özütü	Rh.p Özütü	LCAR/β- CD@Rh.l/ N-CD	LCAR/β- CD@Rh.p/ N-CD	LCAR	dH ₂ O	Flagyl
<i>S.aureus</i>	13	13	11	10	16	-	19
<i>B.subtilis</i>	10	15	10	8	16	-	21
<i>L.monocytogenes</i>	10	14	8	11	10	-	41
<i>P.aureginosa</i>	15	11	10	11	14	-	38.50
<i>E.coli</i>	14.20	10	10	11	13.30	-	14.25
<i>K.pneumoniae</i>	11	15	11	11.30	13	-	36.50
<i>A.niger</i>	9	10.20	14	14	11	-	45
<i>C.albicans</i>	13	10	15	9	12	-	40
<i>S.cerevisiae</i>	14	10	10	14	13	-	28.50

6. TARTIŞMA

Karbon dotlar, <10 nm küçük olup benzersiz yapı ve boyutlarda kimyasal, fiziksel, optik ve elektronik özellikler sergilemektedir. Bu durum da karbon dotlara düşük toksisite, benzersiz lüminesans özellikleri ve işlevselleştirme kolaylığı sağlamaktadır (Zheng ve ark., 2015). Çalışmamızda karbon dotları seçmemizin amacı, bu özelliklerin yanı sıra organik ve inorganik maddelerin karbon kaynağı olarak kullanılması ve daha yeşil karbon öncüllerin birleştirilebilmesi ile sentezlenebilmesidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, birçok bitki özütünün antioksidan aktivitesi vurgulanmıştır. Bu bitkilerden olan Rh.p ve Rh.l'un da antioksidan ve antimikrobiyal gibi çeşitli etkilerin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. *Rhododendron*ların bu etkilerinin yanı sıra kolaylıkla bulunabilmesi ve sentezlenebilmesi nedeniyle tercih edilmiştir.

Silindirik bir yapıya sahip olan β -Cylodextrin (β -CD), yapısında -OH gruplarının bolca bulundurması sebebiyle iç kısmı hidrofobik dış kısmı ise hidrofilik özelliktedir. Bu özel yapısı sayesinde iç kısımlarında moleküller ile kompleksler oluşturabilmektedirler. β -CD'ler kolay üretilebilir ve birçok molekülü iç boşluğunun boyutu sayesinde tutabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı çalışmamızda tercih edilmiştir.

L-karnitin (LCAR), suda çözünür, antioksidan özellikli, hücre zarını ve DNA'yı serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hasara karşı korur (Zhou ve ark., 2007). Çalışmamızda LCAR'ın bu sebeplerden dolayı tercih edilmiştir.

N-katkılı CD'ler, karbon açısından zengin ve moleküller arası H-bağı oluşturabilmelerinden dolayı suda iyi bir çözünürlüğe sahiptirler. Bu özelliklerinin yanında çalışmamızda stabiliteyi arttırmak ve β -CD içerisinde girmemiş olan LCAR'ın ile bağ yapabilmesi için tercih edilmiştir.

Bitkiler, yeşil sentezde indirgeme ajanı ve organik madde kaynağı olarak tercih edilir. Bu nedenle, bu çalışmada orman gülü olarak da bilinen Rh.p ve Rh.l özütleri kullanılmıştır. Rh.p ve Rh.l özütleri hidrotermal sentez yöntemi ile LCAR yüklü β -CD ile işlevleştirilmiş N (amin grubu-üre) katkılı karbon dot (CD) yapıların (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) biyolojik olarak

indirgenmesinde kullanılmıştır. Karbon dotların kolloidal nanopartiküllere (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) indirgenmesinin ilk tespiti görsel renk değişimidir (Khatami ve ark., 2019). Sentez sonucunda bitki özütlerinde mor ve sarı renkten kahverengiye doğru bir renk değişimi görülmüştür. Bu renk değişiminin sebebi, bitki özütlerinde bulunan aktif moleküllerin karbon dotları kararlı LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD'lere indirgemesinden kaynaklanmaktadır.

Karbon dotların başarılı bir şekilde sentezlendiği farklı teknikler kullanılarak doğrulanmış ve karakterize edilmiştir. Sentez CD'lerin morfolojisi, boyutları ve yüzey yükleri geçirimli elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) tekniği ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen karbon dotların elementel bileşimi enerji dağılımlı x-ışını spektrometresi (EDX) ve elemental analizle belirlenmiştir. Optiksel özelliklerinin belirlenmesi için ise UV-VIS spektral analizi 200-700 nm aralığında gerçekleştirilmiştir.

Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) inorganik ve organik malzemelerin (biyolojik ve nano yapıları malzemeler) eş zamanlı olarak kristal yapısının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Çalışmamızda TEM analizini sentez CD'lerin yapısı hakkında bilgi edinmek için kullandık. TEM analiz verilerine göre, LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD 'ler yaklaşık 3-5 nm boyutlarında monodispers dağılımlı ve küresel yapıda olduğu belirlendi. Çalışmada sentezlediğimiz her iki CD'nin ayrı karakteristik özellik göstermesine rağmen LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD'lerin koloidal yapıda genellikle agregat oluşturmaya meyilli olduğu görüldü. Kurdekar ve arkadaşları (2016) sentezlediği karbon dotlarının boyutunun 4-5 nm ve küresel yapıda olduğunu rapor etmiştir.

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR), moleküler yapı içindeki fonksiyonel grupların incelenmesi ve yapıdaki bağların tanımlanması amacıyla çalışmamızda kullanılmıştır. FTIR sonuçları ise yapıda O-H, C-H, C-O-C, C-O, N-H, C-N ve C-C gruplarının bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca, *R. luteum* ve *R. ponticum* bitkileri karbon kaynağı olarak kullanılmasıyla sentezlenen LCAR yüklü β -Cyclodextrin ile

işlevleştirilmiş N (amin grubu-üre) dope karbon dot yapıların FTIR spektrumlarını değiştirdiği görülmüştür. LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD spektrumlarının β -CD'den gelen belirgin bantlar ve karakteristik bantlarında değişiklikler göstermiştir. Bu gözlemler, hidrojen bağı ve diğer moleküller arası kuvvetlerin varlığının oluşumunu gösterdiği önceki çalışmalarla desteklenmiştir (Hogenbom ve ark., 2021; Lin ve ark., 2018; Luo ve ark., 2017; Silva ve ark., 2024). FTIR spektrumunda görülen 2924 ve 3294 cm^{-1} aralığındaki piklerin C-H ve -OH, 964 cm^{-1} piki, β -CD'nin karakteristik absorpsiyon pikleri olup daha önceki çalışmalarda bu pikler gözlenmiştir. (Gao ve ark., 2017; Tajbakhsh ve Naimi-Jamal, 2022; Yuan ve ark., 2015; Li ve ark., 2019). Ayrıca, C-N, C-C ve C-O pikleri bitki ekstratlarında görülmemektedir. Bu durumda karbon dot sentezinin başarılı olduğunu göstermiştir.

EDX, numune yapısında bulunan elementlerin ve bu elementlerin kimyasal oranlarının belirlendiği hem nicel hem de nitel analizler yapmak için kullanılan bir tekniktir. Çalışmamızda sentez CD'lerin içeriğinin belirlenmesi ve fikir sahibi olunması için kullanılmıştır. Buna dayanarak EDX ölçümlerinden CD'lerin yapısında C, O ve N elementleri sırasıyla %90.84-71.11, %9.16-28.89 ve %0 oranlarında tespit edilmiştir. Yapıda tespit edilen bu elementler karbon dot sentezinin başarılı yapıldığını göstermiştir. Literatürde β -siklodekstrin ve karbon dot ile ilgili çalışmalarda bakıldığında karbon dotlarda C, O ve N elementlerinin daha yoğunlukta olduğu görülmüştür. Sangubotla ve Kim (2023), β -siklodekstrin ile stabilize edilmiş melamin türevi karbon dotlar ile ilgili yaptığı çalışmada EDX ölçümlerinden C, O, N ve B'un varlığı tespit edilmiştir. Shirke ve arkadaları (2022), manyetit-karbon dot hibrit nanopartiküller ile sülfatlanmış β -siklodekstrin/glutaraldehit bazlı nanokompozitlerin EDX ölçümlerinden C, O, N ve Fe elementlerinin mevcut olduğunu göstermiştir. EDX ölçümleri sonucunda CD'lerin yapısındaki N miktarının görülmemesinin sebebi nanomalzeme yüzeyinin CD'lerden dolayı karbon ve siklodekstrin ile kaplı olması ayrıca LCAR'ın siklodekstrin içine yüklü olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. LCAR'ın başarılı bir şekilde β -CD içine yüklendiğini doğrulamak için elemental analiz yapıldı. CD'lerin yapısındaki C, H ve N miktarının element yüzdeleri sırasıyla %41,279-45,152 aralığında karbon, %6,090-6,251 aralığında azot ve %8,363-8,121 aralığında hidrojen içermektedir. Karbonun

yüksek içeriği β -CD'den kaynaklanırken, azotun düşük içeriği, azot içeren grupların daha az olmasından dolayıdır (Xiao ve ark., 2016; Xu ve ark., 2021).

UV-VIS spektroskopisi, morötesi ve görünür ışık bölgelerini kapsayan, organik moleküllerin, iyon veya komplekslerin tanımlanmasında kullanılan bir tekniktir. UV-VIS absorpsiyon ölçümleri 275-375 (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD) ve 271-327 (LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) nm'deki piklerin CD'lerin yapısındaki β -CD'nin varlığından kaynaklandığı önceki çalışmalar ile desteklenmektedir (Hogenbom ve ark., 2021; Kurdekar ve ark., 2016). Bununla birlikte, UV-Vis absorpsiyon spektrumunda 270 nm yakınlarındaki pik noktalarında sentez CD'lerin β -CD tarafından iyi stabilize edildiğini göstermiştir (Sangubotla ve Kim, 2023). CD'lerin yapısındaki LCAR'ın ise 462-643 nm aralığındaki temel piklerinin CD yüzeyinin β -CD ile kaplı olmasından dolayı 304-354 nm'ye kaymıştır.

Bu çalışmada model organizma olan *A. salina* larvaları çevre koşullarına ve basit bir sindirim sistemine sahip olmalarından dolayı indikatör organizma olarak kullanılmıştır. *A.salina* larvalarının sentezlenen CD'lere verdiği hücrel cevabı görmek için yapılan floresan mikroskop ve SEM analizi sonucunda elde edilen görsellerde larvaların CD'leri aldıkları görülmüştür. LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD'lerine maruz kalan larvaların 96 saatlik birikim sonuçları incelendiğinde; maruz kalma süresi uzadığında konsantrasyon artışına paralel olarak birikimin gerçekleştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, larvalarda karbon dotların konsantrasyon oranı arttıkça birikimi ve stresin artması ile birlikte meydana gelen hasarın arttığı ve fiziksel değişikliklerin daha belirgin olduğu gözlenmiştir. *A. salina* larvaları bir filtre besleyicisi olduğundan CD'leri yutarak veya bağırsak yoluyla alabilmektedir. Bu sebeple gözlemlenen ölümlerin nedeninin larvalar tarafından yutulan CD'lerden kaynaklı olabileceği gibi CD alımına bağlı olarak larvaların bağırsaklarının tıkanmasına da bağlı olabilir. Çünkü CD'lerin varlığında *A.salina* larvalarının çoğu sindirim sisteminde parçacıkların varlığını ve ekstremitte kaybına, malformasyona ve çeşitli yapısal bozukluklara sebep olduğunu görülmüştür. Bu durum Özkan (2014) yılında *A.salina*'da TiO₂, AgTiO₂ ve ZnOTiO₂ NP'leri ile yaptığı çalışmada zaman ve konsantrasyon artışıyla değişikliklerin meydana geldiği, Arslan (2017) yılında yaptığı atrazinin *A. salina* üzerindeki toksisite çalışmasında

konsantrasyon artışıyla değişikliklerin meydana geldiğinin görülmesi çalışmamızdaki verilerle benzerlik göstermektedir.

Akut toksisite çalışmamızda, <10 nm ve küresel Őekilli LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD 96 saat süreyle maruz bırakılan *Artemia* larvaları ölümlerine yönelik toksisite testinde LC50 değerlerinin sırasıyla 21.058 ve 12.858 dir. *Artemia* larvalarının maruz kalma süreleri ayrı ayrı incelendiğinde LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD'sine maruz kalma süresi uzadıkça yüzme hızının azaldığı ve ölümlerin arttığı gözlenmiştir. LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD maruz kalan *Artemia* larvalarında en düşük oranın %20 ile 5 µg/l konsantrasyonda, en yüksek oranın ise %90 ile 100 µg/l konsantrasyonda olduğu gözlenirken LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD maruz kalan *Artemia* larvalarında en düşük oranın %30 ile 5 µg/l konsantrasyonda, en yüksek oranın ise %100 ile 100 µg/l konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir. Bu durum, LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD, LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD'e göre *A.salina* larvaları üzerinde daha toksik olduğu gösterir.

Düşük karbon dot konsantrasyonlarında bile larvalarda yapısal anomaliler saptanmıştır. *Artemia* larvaları 1 – 50 µm boyutundaki parçacıklarla beslenmektedir (Van Stappen 1996; Han ve ark., 2021). Bu sebeple, boyutu 3-5 nm olan sentez CD'leri (LCAR/β-CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD) *Artemia* larvaları tarafından kolaylıkla yutulmuştur. Sonuçlarımız daha önceki farklı yapılarıdaki karbon dotlara maruz kalan sucul organizmalarda benzer sonuçlar göstermiştir. Örneğin; Balaji ve arkadaşları (2015), Cisplatin ve Cisplatin/HP-β-CD kompleksleri ile yüklenen jelatin nanopartiküllerinin *A. salina* zerindeki LC₅₀ değerlerini 76.53 µg/mL- 270.96 µg/mL olarak rapor etmiştir. imen ve ark., 2020, Cu ve CuO NP'lerine maruz kalan *A. salina* da LC₅₀ değerlerini Cu (60-80 nm) NP'lerin 52.37 mg/L; CuO (40 nm) LC₅₀ değeri 55.39 mg/L olarak rapor etmiştir. Literatürdeki bu çalışmalarda bakıldığında *Artemia* larvalarının farklı-boyuttaki karbon dotları aldığı doğrulanmıştır.

Oksidatif stres, serbest radikallerdeki artış yada antioksidanlardaki azalma sebebiyle hücrelerde bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkmaktadır. Radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik dokulara zarar vererek proteinler, lipitler ve

DNA da dahil olmak suretiyle hücrenin bütün bileşenlerine zarar vererek toksik etkilere neden olabilir. Çalışmamızda, *Artemia* larvalarında oksidatif stres markerleri olan ROT, SOD, KAT ve MDA'a bakılmıştır.

DCFH-DA floresans olmayan bir boyadır ve hücre içi ROS tarafından oksitlendikten sonra floresans özellik gösterir. *In vivo* ROT üretimine bakıldığında, maruz kalan larvalarda DCFH-DA ile boyanması ile birlikte stres belirtileri gösterirken sentez CD'lerin hücre içi ROT üretimine bağlı olarak yeşil floresans göstermesi önceki çalışmalar ile (Yan ve ark., 2023; Rekulapally ve ark., 2019; Ghosal ve ark., 2020; Gao ve ark., 2021) ile doğrulanmıştır. Sonuçlara bakıldığında LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerine maruz kalan larvaların LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'e göre daha fazla lekelenme ve deformasyon gösterdiği görülmüştür. Dolayısıyla LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerin LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'e göre daha toksik olduğu düşünülmektedir.

Süperoksit dismutaz (SOD) gibi birincil enzimler ise hücreleri oksidatif strese karşı korumak için savunma bariyeri görevi görür ve karakteristiği olan kırmızımsı-mor bir renkte proteindir. Sonuçlara bakıldığında LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerine maruz kalan larvaların LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'e göre daha fazla aktivite gösterdiği görülmüştür. Hakamada ve arkadaşlarının (1997) ile Mesa-Herrera ve arkadaşlarının (2019) yaptıkları çalışmalarda SOD aktivitesinde görülen karakteristik piklerin ve protein bandlarının varlığı görülmüştür. Literatür çalışmalarında görülen bu durumun çalışmamızdaki protein ve emme bandları ile benzerlik göstermektedir.

Katalaz (KAT), oksijene maruz kalan canlı organizmalarda H₂O₂'i su ve O₂'ye ayrışmasını katalize eden bir enzimdir. KAT, hücreyi reaktif oksijen türlerinin (ROT) oksidatif hasarından korumada oldukça önemlidir. KAT aktivitesi incelendiğinde 240 nm'de olması gereken karakteristik pikin 340 nm'ye kaydığı gözlenmiştir. Bu durumun nedeni sentez CD'lerin LCAR yüklü ve N katkılı β -CD'lerden kaynaklanmasıdır. KAT aktivitesi ile ilgili literatür çalışmalarına bakıldığında sentez CD'lere eklenen farklı maddelerin 240 nm'de meydana gelen karakteristik pikini kaydırdığı doğrulanmıştır (Ahmad ve ark., 2020; Zhu ve ark., 2013). Ek olarak, LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerine göre maruz kalan larvaların LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'e göre daha fazla aktivite göstermiştir. Dolayısıyla

LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerin LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'e göre göre daha toksik olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sentez CD'lerin maruz kalma süresinin uzamasıyla birlikte KAT aktivitelerinde düşüş gözlenmiştir. Sugantharaj David ve arkadaşlarının (2017) yılında *A. salina*'da nano ve agrega olmuş seryum oksit parçacıklarının toksisitesi, alımı ve birikmesi adlı çalışmasına göre nano ve agrega CeO₂ muamele edilmiş *A. salina* larvalarında KAT aktivisinde meydana gelen düşüş çalışmamız ile benzerdir.

Malondialdehit (MDA) lipit peroksidasyonunun doğal bir yan ürünü olup oksidatif stresi değerlendirmede birincil biyobelirteçlerden birisidir. Sonuçlar incelendiğinde LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerine göre maruz kalan larvaların LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'e göre göre daha fazla aktivite göstermiştir. Dolayısıyla LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerin LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'e göre göre daha toksik olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, bu durumda LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'lerin varlığında lipit peroksidasyon seviyesinin daha fazla artmasıyla birlikte hücrel hasara daha fazla yol açtığı da görülmüştür. 24 saat süreyle sentez CD'lere maruz kalan larvalar üzerinde MDA aktivitesinin konsantrasyon artışı ile birlikte bir düşüş göstermiştir. Ateş ve arkadaşlarının (2013) çalışmalarında, TiO₂ NP'lerinin 24 saat süreyle *Artemia* larvalarına karşı tamamen zararsız olduğunu ancak 96 saat süreyle maruz bırakılan larvaların MDA aktivitesini arttığını gözlemlemişlerdir. Sentezlediğimiz karbon dotların Ates ve arkadaşlarının (2013) yılında TiO₂ NP'leri ile ilgili çalışmasına göre daha toksik olduğu görülmektedir. Bu durum da maruz kalmanın *Artemia* larvaları üzerinde oksidatif strese neden olduğunu doğrulamıştır.

Ek olarak, oksidatif stres değerlendirmesi için bakılan aktiviteler de ölüm oranlarının maruz kalan larvalar ile orantılı olduğu görülmüş olup bu da gerçekleşen ölümlerin oksidatif stres kaynaklı olabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra, lipid peroksidasyon seviyesi gıda yoksunluğu ile birlikte artış gösterir (Pascual ve ark. 2003). Bu durumda oksidatif stres, maruz kalan larvaların stres belirtileri göstererek lekelenme, deformasyon ve larvaların bağırsaklarında görülen sentez CD agregatlarının sonucu gıda alımının bozulması ve öldürücü etkilerin sentez CD'lerin toksisitesinden ziyade larvaların gıda yoksunluğu sonucuda olabilir.

Antioksidan aktivite, antioksidan maddelerin metanol içerisinde DPPH radikaline karşı aktivitesine dayanarak ölçülür. DPPH radikali indirgendiğinde mordan (517 nm'de DPPH absorpsiyonu) sarıya doğru bir renk değişimi gözlenir (Murru ve ark., 2020). Bu çalışmada, 25 - 300 µg/mL konsantrasyondaki sentez CD'lerin, LCAR'ın ve bitki özütlerinin DPPH radikalinin konsantrasyona bağlı olarak aktivitesi incelenmiştir. Konsantrasyonların aşamalı olarak artması ile DPPH radikalinin aktivitelerinde azalma gözlenmiş ve en yüksek DPPH aktivitesine 100 µg/mL'lik konsantrasyonda gözlenmiştir. DPPH radikal giderme metodunda, en çok DPPH radikali giderme aktivitesini Rh.l özütü göstermiştir. Ayrıca, Rh.l özütünün 100 µg/mL'lik konsantrasyonda standartlarla kıyaslanabilecek seviyede (%85-90) DPPH radikal giderme aktivitesi göstermiştir. Bunun yanı sıra, Rh.p özütü ise LCAR ve LCAR/β-CD@Rh.l/N-CD'e göre daha yüksek oranda aktivite göstermiştir. Standart madde olarak kullanılan BHT ise en fazla DPPH radikali giderme aktivitesini 200 µg/mL'lik konsantrasyonda göstermiştir. Güdücü (2014), *Pyrus elaeagrifolia* meyvesinden elde edilen bitki özütlerinde DPPH radikal giderilmesinde en çok etkiyi aseton özütlerinin gösterdiğini ve metanol özütlerinin %20 oranında aktivite gösterdiğini rapor etmiştir. Zhao ve arkadaşları (2015), azot ve kükürt katkılı sarımsak özütlerinden sentezlenen karbon dotların konsantrasyonunun kademeli olarak artması üzerine, DPPH'nin absorbansının azaldığını ve 160 µg/mL'ye doymuş hale geldiği rapor etmiştir. Literatürdeki bu çalışmalara göre çalışmamızın farklılık göstermesinin sebebi kullanılan karbon dotların *Rhododendron* özütlerinden ve LCAR yüklü β-Cyclodextrin ile işlevleştirilmiş N (amin grubu-üre) katkılı olmasından kaynaklanmaktadır. Genel olarak incelendiğinde ise çoğu bileşiklerin kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarının aktivite göstermediği fakat artan konsantrasyon oranlarıyla aktivitelerin de arttığı görülmüştür

Aynı türün alt türlerinden olan iki farklı bitki türü enzim aktivitelerinde farklılıklar görülmüştür. Bu farklılığın temel nedenlerinden biri bitkilerin fenolik içeriğinden kaynaklanmaktadır. Bu fenolik maddeler antioksidanların önemli kısmını oluşturmakta ve bitkilerin hemen hemen tüm kısımlarında bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan fenolik maddelerin içeriği iklim şartları, ışık gibi birçok sebepten değişiklik gösterebildiği gibi çözücü ve ekstraksiyon sırasında kullanılan yöntemler de bitki özütlerindeki fenolik madde miktarlarını değiştirebilmektedir (Heimler ve ark.,

2006). Çalışmamızda kullandığımız *Rhododendron ponticum* (Rh.p) ve *Rhododendron luteum* (Rh.l) türlerinin yüksek antioksidan kapasitesi fenolik bileşik içeriğinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Literatür çalışmalarına bakıldığında Rh.p'nin fenolik içeriğinde mirisetin'in yüksek konsantrasyonda bulunduğu görülmüştür. Mirisetin'den sonra yüksek içerikli fenolikler ise sırasıyla epikateşin, kateşin, tirozol ve kafeik asit'dir. Fiorani ve arkadaşlarının (2002), mirisetinin alyuvarlarda biriktiği ve oksidatif strese faydalı etkiler gösterdiğini rapor etmiştir. Buna dayanarak mirisetin içeriğinin yüksek olması Rh.p'nin antioksidan aktivitesinin bir göstergesi olabilir. Rh.l'nin fenolik içeriği ise Rh.p ile benzerlik göstermekte olduğundan antioksidan aktivitesi fenolik içeriğinden kaynaklanmaktadır.

Antimikrobiyal aktivite, bakteri ve fungusların üremesinin engellenmesiyle belirlenen bir metod olup antimikrobiyal ajanın bakteri türüne karşı *in-vitro* etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir. Antimikrobiyal aktivite, altı farklı bakteri (üç gram pozitif –*S.aureus*, *B.subtilis*, *L.monocytogenes*- ve üç gram negatif –*P.aeruginosa*, *E.coli*, *K.pneumoniae*-) ve üç mantar –*A.niger*, *C.albicans*, *S.cerevisiae*- kullanılarak bakıldı ve test bakterileri üzerinde oluşturdukları inhibisyon çapları kaydedildi. Sonuçlara dayanarak LCAR'nin bitki özütlerine ve sentez CD'lere göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği, bitki özütlerinin ise sentezlenen CD'lere (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği görülmüştür. Büyüme inhibisyonu, CD'lerin yüzeyindeki pozitif yüklerin bakteri ve mantarların hücre zarlarındaki negatif yükler ile etkileşimi ile oluşan membran lizisi sonucu oluşmaktadır. Bakteri/mantar zarında fiziksel ve mekanik yırtılmanın tetiklenmesiyle birlikte sentez CD'lerin, bitki özütlerinin ve LCAR'ın iç zarlara geçmesi yoluyla bu etki meydana gelir. Bu durum, Varghese ve Balachandran (2020) ve Gedda ve arkadaşları (2023), CD'lerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteler sonucunda inhibisyon gösterdiğini ve bu etkinin bakteri ve mantarların hücre zarı ile etkileşimi ile birlikte membran lizisi sonucu olabileceğini doğrulamaktadır. Bakterilerin zon çaplarına bakıldığında *S.aureus* ve *B.subtilis*'in en çok etkiyi LCAR'da, *L.monocytogenes* ve *K.pneumoniae*'nin Rh.p özütünde, *P.aeruginosa* ve *E.coli*'in Rh.l özütünde gösterdiği görülmüştür. Mantarların zon çaplarına bakıldığında ise

A.niger'in en çok etkiyi sentez CD'lerde, *C.albicans*'ın LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD, *S.cerevisiae* Rh.l özütünde ve LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD gösterdiği görülmüştür. Kısaca, sentez CD'ler mantarlar üzerinde bakterilerden çok daha fazla etkilidir. Sentez CD'lere kıyasla ise bitki özütleri mantarlardan ziyade bakterilerile daha çok antimikrobiyal etki göstermiştir. Kadyan ve arkadaşlarının (2024), sentezledikleri GQD'lerin antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor etmişlerdir.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında ülkemizin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde doğal olarak yetişen *Rhododendron luteum* ve *Rhododendron ponticum* bitkileri karbon kaynağı olarak kullanıldı. Bu bitkilerden elde edilen özütler kullanılarak ilk kez hidrotermal sentez yöntemi ile LCAR yüklü β -Cyclodextrin ile işlevleştirilerek N (amin grubu-üre) katkılı karbon dot yapıları (LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD) başarılı bir şekilde sentezlendi. *Rhododendron* bitkisinin birçok karbon kaynağına kıyasla ekonomik olması, antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri olması açısından oldukça önem taşımaktadır (Popescu ve Kopp, 2013; Demir ve ark., 2016). Sentezlediğimiz karbon dotların LC50 değeri toksisite çalışmalarında sıklıkla model organizma olarak kullanılan zooplankton olan *Artemia salina* da belirlenmiştir.

Sentezlenen karbon dotların yaklaşık boyutlarının 3-5 nm arasında olduğu TEM ile belirlendi. FT-IR Spektrofotometresi yapısal karakterizasyonu sonucunda yapıda O-H, C-H, C-O-C, C-O, N-H, C-N ve C-C gruplarının bulunduğunu ve karbon dot sentezinin başarılı olduğunu gösterdi. Sentez karbon dotların kimyasal içeriğinin belirlenebilmesi için yapılan EDX ve elemental analizlerinde karbon dotların yapılarında C, H, O ve N elementlerinin bulunduğu tespit edildi. *A.salina* larvaları üzerinde yapılan görüntüleme ise karbon dotların larvalar üzerinde biriktiği ve yapısal değişikliklere sebep olduğu tespit edilmiştir. Optiksel özelliklerinin belirlenmesi için yapılan UV-VIS absorpsiyon ölçümlerinde görülen piklerin sentez karbon dotların yapısında bulunan β -CD ve LCAR'inden kaynaklı olduğu görüldü. Sentezlenen karbon dotların karakterizasyon verileri sonucunda elde edilen yapısal, optiksel ve morfolojik çalışmaların sentezin başarılı bir şekilde yapıldığını doğrulamaktadır.

LCAR/ β -CD@*Rh.p*/N-CD ve LCAR/ β -CD@*Rh.l*/N-CD maruz bırakılan *A.salina* larvalarında 96 saatlik LC₅₀ değeri belirlenmiş ve subletal konsantrasyonlarının meydana getirdiği biyokimyasal aktiviteler ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteler incelenmiştir.

Sentezlenen karbon dotların (LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD) akut toksik etkisinin belirlenebilmesi için 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırasıyla 21,058 ve 12,858 olarak hesaplandı.

Sentezlenen karbon dotlara 96 saat süreyle maruz kalan *A.salina* larvaların floresan mikroskop incelemelerinde larvaların vücut şeklinde bozulmalar ve ekstremite kayıpları görülmüştür.

ROT ve SOD aktivilerinde LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'lerin, LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'sine göre daha fazla stres göstererek daha etkili olduğu görülürken KAT ve MDA aktivilerinde ise LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD'nin, LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD'ye göre daha fazla stres göstererek daha etkili olduğu görüldü.

DPPH radikali giderme aktivitesi sonucunda en fazla antioksidan etkiyi Rh.l özütünün gösterdiği görülürken Rh.p özütü, LCAR ve sentez CD'ler ise Rh.l özütüne kıyasla çok daha düşük oranda DPPH radikali giderme aktivitesi göstermiştir.

Antimikrobiyal aktivite sonuçlarında LCAR'inin bakteri ve fungusları engellemede diğer maddelere göre daha fazla etki gösterdiği görülürken *Rhododendron* özütlerinin ise sentez karbon dotlara (LCAR/ β -CD@Rh.p/N-CD ve LCAR/ β -CD@Rh.l/N-CD) göre daha fazla etki gösterdiği görüldü. Bu sonuçlara dayanarak deneylerde kullanılan sentez karbon dotların zamana bağlı olarak toksik etkili olduğu ve vücutta birikme özelliğine sahip olduğu görülmüştür.

Karbon dotlar ve sucul organizmalar ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen halen nano yapıların organizmalar tarafından vücuda alınması ve organizmalar üzerindeki toksik etkileri hakkındaki bilgiler yeterli değildir. Bu sebeple bu çalışma, karbon dotların çevremizde ve sucul ekosistemdeki risklerinin Belirlenmesi kolaylaşacak ve gelecekteki araştırmalara yön verebilecektir.

8. KAYNAKLAR

- Abdelghany, TM., Al-Rajhi, AMH., Al Abboud, MA., Alawlaqi, MM., Magdah, AG., Helmy, EAM & Mabrouk, AS. (2018).Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: about future directions. A review. *Bionanoscience*. 8, 5–16
- Açıkbaş, B. (2021). Atıktan geri dönüşüm yolu ile elde edilen FeO₄@AC manyetik nanoparçacıkların β-siklodekstrin ile inklüzyon komplekslerinin hazırlanması, karakterizasyonu, kumaşa aplike edilmesi ve güç tutuşurluk, UV geçirgenlik ve elektromanyetik kalkanlama özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Ahmad, F., Muhmood, T., & Mahmood, A. (2020). Deciphering the mechanism of hafnium oxide nanoparticles perturbation in the bio-physiological microenvironment of catalase. *Nano Express*, 1(3), 030006.
- Akkuş İ. (1996). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, No: 1, Konya, 157.
- Alan, S., Kürkçüoğlu, M., Göger, F., & BAŞER, KHC. (2010). Morphological, chemical and indumentum characteristics of *Rhododendron luteum* sweet (Ericaceae). *Pakistan Journal of Botany*. 42(6), 3729-3737.
- Alaş, MÖ., Alkaş, FB., Sukuroglu, AA., Alturk, RG & Battal, D. (2020). Fluorescent carbon dots are the new quantum dots: an overview of their potential in emerging technologies and nanosafety. *Journal of Materials Science*. 55, 15074–15105.
- Arslan, N. (2017). Atrazinin *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) Üzerine toksik Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, EŞ & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü – süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., & Farah, IO. (2013). Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemia salina*: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. *Environmental monitoring and assessment*, 185, 3339-3348.
- Avcı, A. (2010). Bazı Thermoanaerobacter suşları ile siklodekstrin glikoliztransferaz (SGTaz) enzimi üretimi, karakterizasyonu ve siklodekstrin üretiminin optimizasyonu. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Entitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Avcı, M. (2004). Rhododendrons and Their Natural Occurrences in Turkey. *İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü Coğrafya Dergisi*, 3, 13-29.
- Awalludin, AS., Ramachandran, P., Jarujamrus, P., & Lee, HL. (2022). Hydrothermal synthesis of nitrogen-doped graphene quantum dots as a

- fluorescent probe to detect mercury (II) ions in an aqueous sample. *Emergent Materials*, 5(1), 133-143.
- Balaji, A., Pandey, VP., Manavalan, R., & Srinath, MS. (2015). Cytotoxic evaluation of cisplatin, cisplatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexes and their nanoparticles drug delivery systems. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 1(2), 341-348.
- Bashari, A., Hemmatinejad, N., & Pourjavadi, A. (2013). Hydrophobic nanocarriers embedded in a novel dual-responsive poly (N-isopropylacrylamide)/chitosan/(β -cyclodextrin) nanohydrogel. *Journal of Polymer Research*, 20, 1-10.
- Baydar, H. (2009). Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, No: 51, Isparta, 122-123s.
- Behrooz, R., Ghazanfari, D., Rastakhiz, N., & Sheikhhosseini, E. (2023). Green synthesis of polylactic acid/Fe₃O₄@ β -Cyclodextrin nanofibrous nanocomposite loaded with ferulago angulata extract as a novel nano-biosorbent: Evaluation of diazinon removal and antibacterial activity. *Iranian Journal of Biotechnology*, 21(4), 84-94.
- Benov, L & Fridovich, I. (1998). Growth in iron-enriched medium partially compensates Escherichia coli for the lack of manganese and iron superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*. 273(17), 10313-10316.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 1199-1200.
- Browne, RA. (1980). Competition experiments between parthenogenetic and sexual strains of the brine shrimp, A. salina. *Ecology*, 61, 471-474.
- Canbolat, D. (2020). Ratlarda cisplatinin neden olduğu DNA hasarı, nefrotoksisite ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine *Rhododendron luteum* ekstraktının koruyucu etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Gümüşhane, 99s.
- Canbolat, MF., Çelebioğlu, A & Uyar, T. (2014). Drug delivery system based on cyclodextrin-naproxen inclusion complex incorporated in electrospun polycaprolactone nanofibers. *Kolloidler ve Yüzeyler B: Biyoarayüzler*, 115, 15-21.
- Chae, HZ., Kang, SW & Rhee, SG. (1999a). Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods Enzymol.* 300, 219-226.
- Chae, HZ., Kim, HJ., Kang, SW & Rhee, SG. (1999b). Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 45(2-3), 101-112.
- Chau, CF., Wu, SH & Yen, GC. (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends in Food Science and Technology*, 18:269-280.

- Cighetti, G., Duca, L., Bortone, L., Sala, S., Nava, I., Fiorelli, G & Cappellini MD. (2002). Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. *Eurasian Journal of Medicinal Investigation*, 32, 55-60.
- Çimen, ICC., Danabas, D & Ateş, M. (2020). *Artemia salina*'da Cu (60–80 nm) ve CuO (40 nm) nanoparçacıklarının karşılaştırmalı etkileri: Birikme, eliminasyon ve oksidatif stres. *Toplam Çevre Bilimi*, 717, 137230.
- Clinton, BD & Vose, JM. (1996). Effects of *Rhododendron maximum* L. on *Acer rubrum* L. seedling establishment. *Castanea*, 61, 38-45.
- Cnubben, NHP., Rietjens, IMCM., Wortelboer, H., VanZanden, J & VanBladeren PJ. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 141-152.
- Çolak, A.H. (1997). *Rhododendron ponticum* L. (Mor Çiçekli Ormangülü)'un silvikültürel özellikleri üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği, İstanbul.
- CROGHAN, C. (1957). The osmotic and ionic regulation of *Artemia salina* (L.). *Journal of Experimental Biology*, 35 (1), 219–233.
- Cross, JR. (1981). The establishment of *Rhododendron ponticum* in the Killaney Oakwoods S.W. Ireland. *Journal of Ecology*, 69, 807-824.
- De, B & Karak, N. (2017). Recent progress in carbon dot–metal based nanohybrids for photochemical and electrochemical applications. *Journal of Materials Chemistry*, 5, 1826–1859.
- Delibaş, N & Özcankaya, R. (1995). Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2(3), 11-17.
- Demir, S., Turan I & Aliyazicioglu, Y. (2016). Selective cytotoxic effect of *Rhododendron luteum* extract on human colon and liver cancer cells, *Journal of Balkan Union of Oncology*, 21(4), 883-888.
- Devasagayam, TPA., Tilak, JC., Bolor, KK., Sane KS., Ghaskadbi SS & Lele, RD. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 52, 794-804.
- DÖNMEZ, S. (2021). Green Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles by using *Rhododendron ponticum* L.leaf extract. *Turkish Journal of Health Science and Life*, 4(1), 54-57.
- Du, F., Jin, X., Chen, J., Hua, Y., Cao, M., Zhang, L & Gong, A. (2014). Nitrogen doped carbon dots as multifunctional fluorescent probes. *Journal of nanoparticle research*, 16(11), 2720.
- Eken, A. (2017). Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 1, 69-73.
- Eken, S. (2007). Bazı materyallerde antioksidan tayinleri. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- Elliot, JG. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53, 46-48.

- Erel, OA. (2004). Novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*, 37(2), 112–119.
- FAO. (1987). Manual of methods in aquatic environment, Parth 10, Shortterm Static Bioassays, *Fisheries Technical Paper*, 247, Roma.
- Feng, T., Tao, S., Yue, D., Zeng, Q., Chen, W & Yang, B. (2020). Recent advances in energy conversion applications of carbon dots: from optoelectronic devices to electrocatalysis. *Small*, 16(31), 2001295.
- Fiorani, M., De Sanctis, R., De Bellis, R & Dachà, M. (2002). Intracellular flavonoids as electron donors for extracellular ferricyanide reduction in human erythrocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(1), 64-72.
- Fleeger, JW., Carman, KR & Nisbet, RM. (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *The Science of the Total Environment*, 317, 207–233.
- Forbes, VE., & Forbes, TL. (1994). Ecotoxicology in theory and practice. Springer *Science & Business Media*, London.
- Fridovich, I. (1999). Fundamental aspects of reactive oxygen species or what's the matter with oxygen. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 893(1), 13-18.
- Gao, P., Chen, S., Liu, S., Liu, H., Xie, Z., & Zheng, M. (2021). Chiral carbon dots-enzyme nanoreactors with enhanced catalytic activity for cancer therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(47), 56456-56464.
- Gao, Y., Li, G., Zhou, Z., Guo, L & Liu, X. (2017). Supramolecular assembly of poly (β -cyclodextrin) block copolymer and benzimidazole-poly(ϵ -caprolactone) based on host-guest recognition for drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160, 364-371.
- Gedda, G., Sankaranarayanan, SA., Putta, CL., Gudimella, KK., Rengan, AK & Girma, WM. (2023). Green synthesis of multi-functional carbon dots from medicinal plant leaves for antimicrobial, antioxidant, and bioimaging applications. *Scientific Reports*, 13(1), 6371.
- Ghosal, K., Ghosh, S., Ghosh, D. & Sarkar, K. (2020). Natural polysaccharide derived carbon dot based in situ facile green synthesis of silver nanoparticles: Synergistic effect on breast cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1605-1615.
- Gönenç, A., Özkan, Y & Torun, M. (2001). Plazma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *Journal of Clinical Pharmacol and Therapeutics* 26, 141-144.
- Gour, A., & Jain, NK. (2019). Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artificial cells, nanomedicine and biotechnology*, 47(1), 844-851.
- Güdücü, F. (2014). *Pyrus elaeagrifolia* bitkisi ekstraktlarının fenolik madde içerikleri, DPPH radikali giderme aktiviteleri ve in vitro antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne.

- Guitton, N., Brouazin-Jousseau, V., Dupaix, A., Jégou, B & Chenal, C. (1999). Radiation effect on rat sertoli cell function in vitro and in vivo. *International Journal of Radiation Biology*, 75, 327-333.
- Güner, U. (2008). Toksikoloji. Trakya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Toksikoloji Ders Notları, Edirne.
- Hakamada, Y., Koike, K., Kobayashi, T & Ito, S. (1997). Purification and properties of mangano-superoxide dismutase from a strain of alkaliphilic Bacillus. *Extremophiles*, 1, 74-78.
- Hamilton, A & Breslin, CB. (2014). The development of a novel urea sensor using polypyrrole. *Electrochimica Acta*, 145, 19-26.
- Hammamchi, H. (2019). Biyolojik Yollar ile Sentezlenen Organik/İnorganik Nanopartiküllerin Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi ve Tedavi Amaçlı Kullanımları. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 166s.
- Han, X., Zheng, Y., Dai, C., Duan, H., Gao, M., Ali, MR & Sui, L. (2021). Effect of polystyrene microplastics and temperature on growth, intestinal histology and immune responses of brine shrimp *Artemia franciscana*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 39(3), 979-988.
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, MG., Vincieri, FF & Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food chemistry*, 99(3), 464-469.
- Hogenbom, J., Jones, A., Wang, HV., Pickett, LJ & Faraone, N. (2021). Synthesis and characterization of β -Cyclodextrin-essential oil inclusion complexes for tick repellent development. *Polymers*, 13, 1892.
- Hunt, C., Sim, JE., Sullivan, SJ., Featherstone, T., Golden, W., Kapp-Herr, CV., Hock, RA., Gomez, RA., Parsian AJ & Spitz DR. (1998). Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress. *Cancer Research*, 58(17), 3986-3992.
- Kadyan, P., Thillai Arasu, P & Kataria, SK. (2024). Graphene quantum dots: green synthesis, characterization, and antioxidant and antimicrobial potential. *International Journal of Biomaterials*.
- Kahraman, MZ. (2020). Kadın futbolcularda yoğun interval antrenman programının lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan aktiviteler üzerine etkisi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Kış Sporları ve Spor Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Erzurum.
- Kamacı, Y. (2019). Etkili yanma yöntemiyle metal oksit nanopartiküllerin sentezi. Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, Bartın.
- Karaçay Ö. (2006). 24-36. Gebelik haftaları arasındaki preeklampsi ve gestasyonel diabetes hastalarında total antioksidan status ve oksidatif stres belirteçlerinin kantitatif ölçümü. Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi, Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, Ankara.

- Karacetin, S., Akpolat, M., Oz, SZ & Hamamcioglu, AC. (2023). Protective effects of L-carnitine on X irradiation-induced uterus injury via antioxidant and anti-inflammatory pathways. *International Journal of Radiation Biology*, 99(8), 1217-1227.
- Kavuranpara, T. (2021). Biyolojik görüntüleme için floresan karbon noktaların geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İzmir.
- Khairol Anuar, NK., Tan, HL., Lim, YP., So'aib, MS & Abu Bakar, NF. (2021). A review on multifunctional carbon-dots synthesized from biomass waste: design/ fabrication, characterization and applications. *Frontiers in Energy Research*, 9, 626549.
- Khatami, M., Iravani, S., Varma, RS., Mosazade, F., Darroudi, M & Borhani, F. (2019). Cockroach wings-promoted safe and greener synthesis of silver nanoparticles and their insecticidal activity. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(12), 2007–2014.
- Khosravi-Katuli, K., Prato, E., Lofrano, G., Guida, M., Vale, G & Libralato, G. (2017). Effects of nanoparticles in species of aquaculture interest. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17326-17346.
- Kılınç, K., Kılınç, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 33(2), 110-118.
- Kim, S., Lim, YT., Soltesz, EG., De Grand, AM., Lee, J., Nakayama, A., Parker, JA., Mihaljevic, T., Laurence, RG., Dor, DM., Cohn, LH., Bawendi, MG & Frangioni, JV. (2004). Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. *Nature Biotechnology*, 22, 93-97.
- Kocer, I., Taysi, S., Ertekin, MV., Karşlioglu, I., Gepdiremen, A., Sezen, O & Şerifoğlu, K. (2007). The effect of L-carnitine in the prevention of ionizing radiation-induced cataracts: a rat model. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 245, 588-594.
- Koelmans, AA., Nowack, B & Wiesner, MR. (2009). Comparison of manufactured and black carbon nanoparticle concentrations in aquatic sediments. *Environmental Pollution*, 157, 1110–6.
- Kono, Y. (1978). Hidroksilaminin otoksidasyonu sırasında süperoksit radikalinin üretilmesi ve süperoksit dismutaz için bir deney. *Biyokimya ve biyofizik arşivleri*, 186 (1), 189-195.
- Kour, R., Arya, S., Young, SJ., Gupta, V., Bandhoria, P & Khosla, A. (2020). Review, Recent Advances in Carbon Nanomaterials as Electrochemical Biosensors. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037555.
- KULAÇ, Ş. (2004). Karadeniz bölgesi kayın ekosisteminde uygulanan farklı diri örtü (*Rhododendron Spp.*) mücadele yöntemlerinin beşinci yılında toprak altı ve toprak üstü yetiştirme ortamı faktörleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Bolu.

- Kurdekar, A., Chunduri, LAA., Bulagonda, EP., Haleyurgirisetty, MK., Kamisetti, V & Hewlett, IK. (2016). Comparative performance evaluation of carbon dot-based paper immunoassay on whatman filter paper and nitrocellulose paper in the detection of HIV infection. *Microfluidics and Nanofluidics*, 20, 1-13.
- Lanone, S & Boczkowski, J. (2006). Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine*, 6, 651-663.
- Lavens, P & Sorgeloos, P. (2000). The history, present status and prospects of the availability of *A. salina* cysts for aquaculture. *Aquaculture*, 181, 397-403.
- Léger, P., Bengtson, D., Simpson, K & Sorgeloos, P. (1986). The use and nutritional value of *A. salina* as a food source. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 24, 521-623.
- Lehn, JM. (2002). Toward self-organization and complex matter. *Science*, 295, 2400-2403.
- Li, H., Ye, S., Guo, J., Wang, H., Yan, W., Song, J & Qu, J. (2019). Biocompatible carbon dots with low-saturation-intensity and high-photobleaching-resistance for STED nanoscopy imaging of the nucleolus and tunneling nanotubes in living cells. *Nano Research*, 12, 3075-3084.
- Li, H., Zhang, Y & Wang, X. (2007). L-Carnitine capped quantum dots as luminescent probes for cadmium ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 127(2), 593-597.
- Li, Z., Liu, H., Qi, C., Yang, A & Deng, S. (2019). Preparation, characterization and molecular modelling of inclusion complex between α -naphthylacetic acid with ethylenediamine- β -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 93, 289-299.
- Lin, ZY., Kuo, YC., Chang, J., Lin, YS., Chiu, TC & Hu, CC. (2018). Highly sensitive sensing of hydroquinone and catechol based on β -cyclodextrin-modified carbon dots. *RSC advances*, 8(35), 19381-19388.
- Luo, M., Hua, Y., Liang, Y., Han, J., Liu, D., Zhao, W & Wang, P. (2017). Synthesis of novel β -cyclodextrin functionalized S, N codoped carbon dots for selective detection of testosterone. *Biosensors and Bioelectronics*, 98, 195-201.
- Madden, AS & Hochella, J. (2005). A test of geochemical reactivity as a function of mineral size: Manganese oxidation by hematite nanoparticles promoted. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69, 389-398.
- Mahomoodally, MF., Sieniawska, E., Sinan, KI., Picot-Allain, MCN., Yerlikaya, S., Baloglu, MC & Zengin, G. (2020). Utilisation of *Rhododendron luteum* Sweet bioactive compounds as valuable source of enzymes inhibitors, antioxidant, and anticancer agents. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 111052.
- Maiti, D., Tong, X., Mou, X & Yang, K. (2019). Carbon-Based Nanomaterials for Biomedical Applications: A Recent Study. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1401.

- Mates JM, Perez-Gomez C & Nunez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595-603.
- MEGEP (2008). Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, *Artemia Kültürü*, Ankara.
- Mesa-Herrera, F., Quinto-Aleman, D & Díaz, M. (2019). A sensitive, accurate, and versatile method for the quantification of superoxide dismutase activities in biological preparations. *Reactive Oxygen Species*, 7(19), 10-20.
- Miao, S., Liang, K., Zhu, J., Yang, B., Zhao, D & Kong, B. (2020). Hetero-atom-doped carbon dots: Doping strategies, properties and applications, *Nano Today*, 33, 100879.
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, SR., Khan, MI., Parishcha, R., Ajaykumar, P., Alam, M & Kumar, R. (2001). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letters*, 1, 515-519.
- Munteanu, C., Dumitraşcu, M & SC, B. (2011). *Artemia salina*. *Balneo-Research Journal*, 2, 4.
- Murru, C., Badía-Laiño, R., & Díaz-García, ME. (2020). Synthesis and characterization of green carbon dots for scavenging radical oxygen species in aqueous and oil samples. *Antioxidants*, 9(11), 1147.
- Nadezhdina, N., Tatarinov, F & Ceulemans R. (2004). Leaf area and biomass of *Rhododendron* understory in a stand of Scots pine. *Forest Ecology and Management*. 187, 235-246.
- Neary, DG., Douglas, JE., Ruelle JL & W, Fox. (1980). Converting *rhododendron* laurel thickets to white pine with Picloram and mycorrhizae inoculated seedlings. *Southern Journal of Applied Forestry*, 8(3), 163-168.
- Nordberg, J & Arner, ESJ. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Oberdörster, E., Zhu, S., Blickey, TM., Clellan-Green, P & Haasch, ML. (2006). Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerene (C60) on aquatic organisms. *Carbon*, 44(6), 1112-1120.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (1992). Guideline No. 210. Fish, Early-Life Stage Toxicity Test (original Guideline, Adopted 17th July 1992). OECD, Paris, France.
- Oktem, F., Yilmaz, HR., Ozguner, F., Olgar, S., Ayata, A., Uzar, E & Uz E. (2006). Methotrexate-induced renal oxidative stress in rats: the role of a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Toxicol Ind Health*, 22 (6), 241-7.
- Onat, T., Emerk, K & Sözmen EY. (2002). İnsan Biyokimyası. *Palme Yayıncılık*, Ankara.
- Özdemir, B. (2021). *Rhododendron luteum* ve *Rhododendron caucasicum* bitki ekstratlarının antidiyabetik ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması.

Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Gümüşhane.

- Özkan, Y. (2014). *Artemia salina*'da TiO₂, Ag TiO₂ ve ZnOTiO₂ nanopartiküllerinin sulu süspansiyonlarının toksisitesi, birikimi ve agregasyonun belirlenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Trabzon.
- Pal, S., Tak, YK & Song, JM. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticles a study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 1712–1720.
- Pascoe, D & Edwards, RW. (1989). Aquatic Eco. Fundamental Concepts and Methodologies. Volume II. *CRC Press, Inc., Boca Raton Florida*, 203, 93-126.
- Pascual, P., Pedrajas, JR., Toribio, F., López-Barea, J & Peinado, J. (2003). Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-biological interactions*, 145(2), 191-199.
- Popescu, R & Kopp, B. (2013). The genus *Rhododendron*: An ethnopharmacological and toxicological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(1), 42–62.
- Radak, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasvari, M., Nyakas, C & Goto, S. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA inratskeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med*, 1-29, 69- 74.
- Rand, GM. (1995). Fundamentals of aquatic toxicology. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. Taylor and Francis Publ. Washington.
- Rebouche, C. (2010). L-carnitine, acetyl-l-carnitine, and propionyl-l-carnitine. *Encyclopedia of Dietary Supplements, 2nd Edition. 2nd ed. New York: Informa Healthcare*, 107-14.
- Reiter, R.J. (1995). Oxidative process and antioxidative defence mechanism in the aging brain. *The Faseb Journal*, 9, 526-533.
- Rekulapally, R., Chavali, LNM., Idris, MM & Singh, S. (2019). Toxicity of TiO₂, SiO₂, ZnO, CuO, Au and Ag engineered nanoparticles on hatching and early nauplii of *Artemia* sp. *PeerJ*, 6, 6138.
- Reznick, AZ., Cross, CE., Hu, ML., Suzuki, YJ., Khwaja, S & Safadi A. (1992). Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Journal of Biochemistry*, 286, 607-611,1992
- Rhee, SG. (1999). Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Experimental Molecular Medicine*, 31(2), 53-59
- Robert, WS. (2000). Manual of Nephrology. *Nephrology Handbook*, 231-264.
- Sachdev, S & Davies, KJ. (2008). Production, detection and adapative responses to free radicals in exercise. *Free Radic Biol Med.*,44(2), 215-223.

- Sangubotla, R., & Kim, J. (2023). Ultra-sensitive turn-on fluorescent sensor based on β -cyclodextrin-stabilized melamine-derived carbon dots for the highly selective dual-detection of dopamine. *Ceramics International*, 49(10), 16272-16282.
- Şentürk, N. (2010). *Rhododendron luteum* bitkisinin çiçeklerindeki uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi ve ekstrenin antioksidan etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tokat.
- Shirke, YM., Abou-Elanwar, AM., Kwon, SJ., Choi, WK., Hong, SU., Lee, HK & Jeon, JD. (2022). Development of nanocomposite membranes based on sulfated β -cyclodextrin/glutaraldehyde with magnetically recoverable magnetite-carbon dot hybrid nanoparticles for water vapor dehumidification. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(1), 107042.
- Shoaib, N., Siddiqui, PJA., Khalid, H. (2012). Acute Toxic Effect of Pesticides on Brine Shrimp and Opossum Shrimp. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(6), 1753-1757.
- Shokry, A., Khalil, M., Ibrahim, H., Soliman, M., & Ebrahim, S. (2021). Acute toxicity assessment of polyaniline/Ag nanoparticles/graphene oxide quantum dots on *Cypridopsis vidua* and *Artemia salina*. *Scientific Reports*, 11(1), 5336.
- Silva, EC., Gomes, CG., Pina, J., Pereira, RF., Murinho, D., Fajardo, AR & Valente, AJ. (2024). Carbon quantum dots-containing poly (β -cyclodextrin) for simultaneous removal and detection of metal ions from water. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121464.
- Skrzydłowska, E., Sulkowski, S., Koda, M., Zalewski, B., Kanczuga-Koda, L & Sulkowska M. (2005). Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer, *World journal of gastroenterology: WJG*, 11, 403-406.
- Sorg, O., (2004). Oxidative stres: a theoretical model or biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, 327, 649- 662.
- Sorgeloos, P., Rémiche-Van Der Wielen, C & Persoone, G. (1978). Te use of *Artemia nauplii* for toxicity tests A critical analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2, 249–255.
- Southorn, PA., Powis, G. (1988). Free Padicals in medicine. *Chemical nature and biologicreactions. Mayo Clin Proc*, 63: 381–389.
- Subash, S & Subramanian, P. (2009). Morin a flavonoid exerts antioxidant potential in chronic hyperammonemic rats: A biochemical and histopathological study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 327, 153-161.
- Sugantharaj David, EMD., Madurantakam Royam, M., Rajamani Sekar, SK., Manivannan, B., Jalaja Soman, S., Mukherjee, A & Natarajan, C. (2017). Toxicity, uptake and accumulation of nano- and bulk cerium oxide particles in *Artemia salina*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 24187-24200.

- Sun, YP., Luo PG., Sahu S, Yang ST., Sonkar SK., Wang J., Wang H., LeCroy GE., & Cao L. (2013). Carbon ‘Quantum’ dots for optical bioimaging. *Journal of Materials Chemistry B*, 1, 2116–27.
- Sundaresan, M., Yu, ZX., Ferrans, VJ., Irani, K & Finkel, T. (1995). Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*. 270, 296-299.
- Tabbush, PM., Williamson, D., R. (1987). *Rhododendron ponticum* as a Forest Weed. *Forest Commission Bulletin*, 73, 1-7.
- Tajbakhsh, M & Naimi-Jamal, MR. (2022). Copper-doped functionalized β -cyclodextrin as an efficient green nanocatalyst for synthesis of 1, 2, 3-triazoles in water. *Scientific Reports*, 12(1), 4948.
- TÜBİTAK, 2004. Nanoteknoloji Strateji Grubu, Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri. *Vizyon 2023 Projesi*, Ankara, Türkiye.
- Ulm, L., Krivohlavek, A., Jurašin, D., Ljubojević, M., Šinko, G., Crnković, T., Žuntar, I., Šikić, S & Vrček, IV. (2015) Response of biochemical biomarkers in the aquatic crustacean *Daphnia magna* exposed to silver nanoparticles. *Environ Sci Pollut Res* 22, 19990–19999
- Ünsal, M. (1998). Kirlilik DeneYleri-Yöntemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi. T.C. Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 11, 168s.
- Valko, M., Rhodes, CJ., Mancol, J., Izakovic, M & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Van Stappen, G. (1996). Introduction, biology and ecology of *Artemia*. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *Lavens P & P Sorgeloos*, 107-136.
- Varghese, M & Balachandran, M. (2021). Antibacterial activity of carbon dots against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A review. *J. Environment. Chemical Eng.* 9, 106821.
- Vicari, E & Calogero, AE. (2001). Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatic-vesiculo-epididymitis. *Hum Reprod*, 16, 2338-2342.
- Xiao, Q., Lu, S., Huang, C., Su, W & Huang, S. (2016). Novel N-doped carbon dots/ β -cyclodextrin nanocomposites for enantioselective recognition of tryptophan enantiomers. *Sensors*, 16(11), 1874.
- Xu, J., Zang, Y., Yan, F., Sun, J., Zhang, Y & Yi, C. (2021). Cyclodextrin functionalized carbon dots using IFE and FRET dual mechanism for sequential detection of morin and Al³⁺. *Particle & Particle Systems Characterization*, 38(11), 2100201.
- Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn, HJ., Gearheart, L., Raker, K & Scrivens, WA. (2004). Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40), 12736-12737.

- Yan, H., Li, P., Wen, F., Xu, Q., Guo, Q & Su, W. (2023). Green synthesis of carbon quantum dots from plant turmeric holds promise as novel photosensitizer for in vitro photodynamic antimicrobial activity. *Journal of Materials Research and Technology*, 22, 17-34.
- Yang, K., Zhu, L & Xing, B. (2006). Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Carbon Nanomaterials. *Environmental Science Technology*, 40, 1855–1861.
- Yilancioglu, K., Cokol, M., Pastirmaci, I., Erman, B & Cetiner, S. (2014). Oxidative stress is a mediator for increased lipid accumulation in a newly isolated *Dunaliella salina* strain. *PloS one*, 9(3), 91957.
- Yonar, ME. (2008). Yersinia Ruckeri ile Enfekte Edilen Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*)’nin Tedavisinde Propolisin Kullanılması. Doktora Tezi, Elazığ Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ.
- Yuan, C., Liu, B & Liu, H. (2015). Characterization of hydroxypropyl- β -cyclodextrins with different substitution patterns via FTIR, GC–MS, and TG–DTA. *Carbohydrate Polymers*, 118, 36-40.
- Zhao, S., Lan, M., Zhu, X., Xue, H., Ng, TW., Meng, X & Zhang, W. (2015). Green synthesis of bifunctional fluorescent carbon dots from garlic for cellular imaging and free radical scavenging. *ACS applied materials & interfaces*, 7(31), 17054-17060.
- Zheng, XT., Ananthanarayanan, A., Luo, K. Q & Chen, P. (2015). Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications. *small*, 11(14), 1620-1636.
- Zhou, X., Liu, F., Zhai, S. (2007). Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16, 383-390.
- Zhu, X., Lu, Y., Wang, J & Xu, Q. (2013). Investigation of the interactions between indole-3-acetic acid and catalase: A spectroscopic study in combination with second-order calibration and molecular docking methods. *Analytical Methods*, 5(21), 6037-6044.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Aleyna YÜKSEL
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fakülte	Fen Bilimleri Enstitüsü
Bölümü	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Yılı	28.06.2024
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yayınlar	
DAĞLIOĞLU, Y., & Yüksel, A. (2023). Kanser Tedavisi İçin MikroRNA'ların Çok İşlevli Nano-taşıyıcılar İle Dağıtımını. <i>Arşiv Kaynak Tarama Dergisi</i> , 32(1), 52-60.	