



**NANOPLASTİKLERİN SUCUL BİR
ORGANİZMA OLAN TETRAHYMENA
THERMOPHILA'DA GENOTOKSİK VE
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI
Yüksek Lisans Tezi**

Ece AKMAN PEHLİVANLI

Eskişehir 2025

**NANOPLASTİKLERİN SUCUL BİR ORGANİZMA OLAN TETRAHYMENA
THERMOPHILA'DA GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ece AKMAN PEHLİVANLI

Yüksek Lisans Tezi

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Handan Açelya KAPKAÇ

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Mayıs 2025

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 24LÖT079 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ece AKMAN PEHLİVANLI'nın NANOPLASTİKLERİN SUCUL BİR ORGANİZMA OLAN TETRAHYMENA THERMOPHILA'DA GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI başlıklı çalışması 27/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, İleri Teknolojiler Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvan Adı Soyadı

İmza

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Handan Açelya
KAPKAÇ

Üye

: Doç. Dr. Volkan KILIÇ

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Öge ARTAGAN

Prof. Dr. Harun BÖCÜK

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

27/05/2025

DANIşMAN ONAYI

Danişmanlığını yürüttüğüm Yüksek Lisans ğrencisi Ece AKMAN PEHLİVANLI, NANOPLASTİKLERİN SUCUL BİR ORGANİZMA OLAN TETRAHYMENA THERMOPHİLA’DA GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAşTIRILMASI başlıklı tez çalışmasını tamamlamıştır. Hazırlamış olduğu tez tarafımda incelenmiş ve öğrencinin tez savunma sınavına alınması bilimsel ve etik açıdan uygun görülmüştür.

Tez Danişmanı

Dr. Öğr. Üyesi Handan Açelya KAPKAÇ

ÖZET

NANOPLASTİKLERİN SUCUL BİR ORGANİZMA OLAN TETRAHYMENA THERMOPHILA'DA GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ece AKMAN PEHLİVANLI

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mayıs 2025

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Handan Açelya KAPKAÇ

Plastik atıklar çevre kirliliği için oldukça önem arz etmektedir. Zaman içerisinde plastiklerin üretimi ve aşınımı ile ortaya çıkan nanoplastiklerin artan çevresel varlığı sebebiyle, canlı organizmalar üzerinde potansiyel etkilerinin araştırılması daha önemli hale gelmektedir. Bu çalışmada, nanoplastiklerin sucul bir organizma olan *Tetrahymena thermophila* üzerindeki genotoksik ve sitotoksik etkileri incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda *Tetrahymena thermophila* üzerinde nanoplastik maruziyeti gerçekleştirilmiştir. MTT testi ile hücre canlılığı değerlendirilmiş ve konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca LD₅₀ değeri 183,71 mg/L bulunmuştur. COMET (alkalin tek hücre jel elektroforezi) testi ile DNA hasarı analiz edilmiş ve nanoplastiklerin genotoksik etkiye yol açtığı belirlenmiştir. Oksidatif stres parametrelerinden katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ölçülmüş, nanoplastiklerin antioksidan savunma sistemini bozarak oksidatif strese neden olduğu gözlemlenmiştir. Lipid peroksidasyon (MDA düzeyleri) analizleri, hücre zarlarında oksidatif hasarın varlığını doğrulamıştır. Bu bulgular, nanoplastik kirliliğinin sucul ekosistemler üzerindeki potansiyel risklerini ortaya koymakta olup, ilerleyen çalışmalar için önemli bir referans oluşturmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Tetrahymena thermophila, Nanoplastik, Genotoksisite, Sitotoksisite, Biyokimyasal aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECT OF NANOPLASTICS ON TETRAHYMENA THERMOPHILA, AN AQUATIC ORGANISM

Ece AKMAN PEHLİVANLI

Department of Advanced Technologies

Programme in Biotechnology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, May 2025

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Handan Açelya KAPKAÇ

Plastic waste is very important for environmental pollution. Due to the increasing environmental presence of nanoplastics that emerge with the production and erosion of plastics over time, it is becoming more important to investigate their potential effects on living organisms. In this study, the genotoxic and cytotoxic effects of nanoplastics on an aquatic organism, *Tetrahymena thermophila*, were investigated. Nanoplastic exposure was performed on *Tetrahymena thermophila* at different concentrations. Cell viability was evaluated with the MTT test, and it was determined that it showed a cytotoxic effect depending on the concentration. Moreover, the LD₅₀ value was determined as 183,71 mg/L. DNA damage was analysed with the COMET (alkaline single cell gel electrophoresis) test and it was determined that nanoplastics caused genotoxic effects. Catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) enzyme activities were measured from oxidative stress parameters, and it was observed that nanoplastics disrupted the antioxidant defense system and caused oxidative stress. Lipid peroxidation (MDA levels) analyses confirmed the presence of oxidative damage in cell membranes. These findings reveal the potential risks of nanoplastic pollution on aquatic ecosystems and constitute an important reference for further studies.

Keywords: *Tetrahymena thermophila*, Nanoplastic, Cytotoxicity, Genotoxicity, Biochemical activity.

TEŞEKKÜR

Bu tezin her satırı, bana emek veren insanların sevgisi ve sabrıyla yazıldı.

Her şeyden önce, danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Handan Açelya KAPKAÇ'a sonsuz minnettarım. Akademik yolculuğumdaki ilk rehberim olarak, bilgisi, sabrı ve inancıyla bu süreci bir "öğrenme serüvenine" dönüştürdü. Kendisinin ilk yüksek lisans öğrencisi olmanın gururu ve sorumluluğu, bana her adımda güç verdi.

Doç. Dr. Volkan KILIÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Öge ARTAGAN'a, değerli bilgilerini ve yapıcı eleştirilerini esirgemedikleri için; Şeyma Duran'a laboratuvardaki ilk adımlarımda gösterdiği dayanışma için yürekten teşekkür ederim.

Fatma Nuray ŞİMŞEK'e, stresli anlarımda sakinliğim olup bana nefes aldırıldığı için; İrem ZAFNAKİ'ye, laboratuvarda sabahlarken yorgunluğumu kahkahaya çevirdiği için; Nurçin KÜÇÜKOĞLU'na, bilgi ve motivasyon paylaşımların için; Buket PARLAKAY'a, dışarıdaki hayatımda "stres savaşım" olduğun için sonsuz teşekkürler – sizler olmasaydınız bu yol çok daha yalnız olurdu.

Aileme gelince... Annem, kardeşim Bilge ve babam, sizler öğrenim hayatımın görünmez kahramanlarısınız. Maddi ve manevi desteğiniz, her zorlukta sırtımı dayadığım bir dağ kadar sağlamdı.

Ve son ama en derin şükranlarım, canım eşim Ahmet PEHLİVANLI'ya. Sabahları kahvemi hazırlayan, geceleri endişelerimi dinleyen, bazen bir cümleyle bana "yapabilirsin" dedirten kişi... Bu tez, senin sevgin ve sabrınla var oldu.

Bilmeyenler için sadece bir akademik çalışma, ama benim için bir "sevdiğimle, sevdiklerimle birlikte aştığım dağ" oldu. Hepinize sonsuz teşekkürler.

Ece AKMAN PEHLİVANLI

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ece AKMAN PEHLİVANLI

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	I
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	II
DANIŞMAN ONAYI	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
TEŞEKKÜR	VI
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanoplastik Tanımı ve Kaynakları	1
1.2. Nanoplastiklerin Çevre ve İnsan Üzerine Etkileri	4
1.3. Sucul Ekosistemde Nanoplastikler	6
1.3.1. Sucul organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar	8
1.4. Amaç.....	9
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
2.1. MTT Testi	11
2.2. COMET Testi	12
2.3. Biyokimyasal Analizler	12
2.3.1. GST enzimatik aktivitesi	13
2.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi.....	13
2.3.3. Lipid peroksidasyon seviyesi.....	14
2.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD).....	14
3. BULGULAR.....	16
3.1. MTT Testi	16

3.2. COMET Testi	17
3.3. Biyokimyasal Analizler	22
3.3.1. GST enzim aktivitesi.....	22
3.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi.....	23
3.3.3. Lipid peroksidasyon seviyesi.....	24
3.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD).....	25
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	27
KAYNAKÇA.....	31
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. Nanoplastiklerin <i>Tetrahymena thermophila</i> üzerindeki genotoksik etkilerinin tablosu.	20
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Nanoplastik analizinde uygulanan temel işlemler. (Cai, vd., 2021'den uyarlanmıştır.)	2
Şekil 1.2. NP'lerin bozunma yolları ve organizmalarca alımı. (Xie, vd., 2023'ten uyarlanmıştır.)	4
Şekil 1.3. Plastiğin döngüsü. (Türkçe diline çevrilmiştir.) (Bianco and Passananti, 2020).....	5
Şekil 1.4. Nanoplastiklerin sucul ortamda organizmalar tarafından alımı ve toksikolojik etkileri.....	7
Şekil 2.1. SOD testi şeması.	15
Şekil 3.1. Tetrahymena thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucu % canlılık grafiği.	16
Şekil 3.2. T. thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucunda kuyruk uzunluğu parametreleri grafiği.	17
Şekil 3.3. T. thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucunda % kuyruk DNA parametreleri grafiği.	18
Şekil 3.4. T. thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucu kuyruk momenti parametreleri grafiği.	19
Şekil 3.5. Tetrahymena thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucu GST enzim aktivitesi grafiği.....	22
Şekil 3.6. Tetrahymena thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucunda katalaz aktivitesi grafiği.....	23
Şekil 3.7. Tetrahymena thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucunda MDA seviyesi.	24
Şekil 3.8. Tetrahymena thermophila'da nanoplastik maruziyeti sonucunda SOD aktivitesi grafiği.....	25

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μm	: Mikrometre
μg	: Mikrogram
μmol	: Mikromol
3D	: 3 Boyutlu
AF4	: Asimetrik akış alan-akış fraksiyonlaması
AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
CAT	: Katalaz
CLS	: Santrifüjlü sıvı sedimentasyon
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
g	: Gram
GST	: Glutasyon S-transferaz
HDPE	: Yüksek yoğunluklu polietilen
IC_{50}	: Yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu
i-Ca	: Hücre içi kalsiyum
L	: Litre
LD_{50}	: Yarı öldürücü doz
LDPE	: Düşük yoğunluklu polietilen
LMP	: Düşük erime noktası
M	: Molar
mA	: Miliamper
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
MTT	: 3- (4,5-dimetil-2-tiazol-2-il)-2,5-difenil-2h-tetrazolium bromür
nm	: Nanometre

NMP	: Normal erime noktası
NP	: Nanoplastik
NTA	: Nanopartikül izleme analizi
OD	: Optik yoğunluk
PA	: Poliamid
PES	: Poliester
PET	: Polietilen tereftalat
pH	: Hidrojen iyonlarının potansiyeli
PP	: Polipropilen
PPY	: Proteose peptone yeast extract
PS	: Polistiren
PS NP	: Polistren nanoplastik
PU	: Poliüretan
PVC	: Polivinil klorür
pyGC-MS	: Piroliz gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPP	: Super proteose peptone
SRS	: Hiperspektral uyarılmış raman saçılması
ss	: Standart sapma
STED	: Stimuled emission depletion
STXM	: Taramalı transmisyon X ışını mikroskobu
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu
TRPS	: Ayarlanabilir dirençli darbe algılama
UV-Vis	: Ultraviyole görünür
V	: Volt
vb	: Ve benzeri

1. GİRİŞ

Plastikler gerek dayanıklılıkları gerekse düşük maliyetleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır ve atık yönetimindeki eksiklikler nedeniyle çevresel bir krize yol açmaktadır. 2000 yılından bu yana her yıl plastiğin çevreye sızması iki kat daha fazla artmakta olup 2040 yılına gelindiğinde ise plastik atıklar ile ilgili yeterli düzeyde önlem alınmazsa plastik üretimi, kullanımı ve atıkların yaygınlaşmasının %70 oranında artacağı öngörülmektedir (OECD, 2024). Bu nedenle çevre kirliliğine neden olan plastik atıklar önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir.

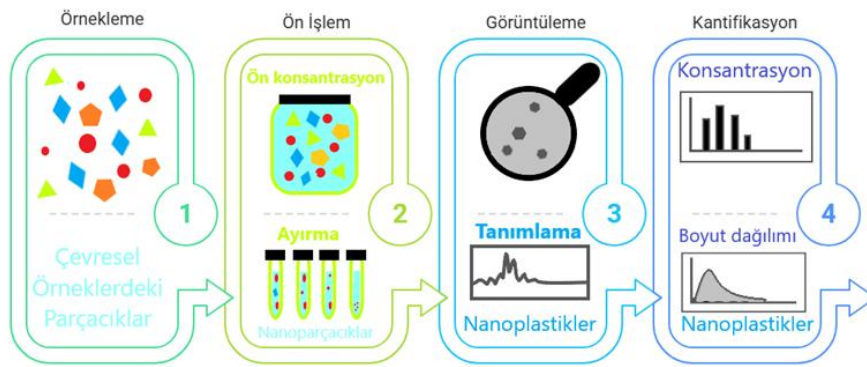
Plastik atıkların makro boyutlarda çevre kirliliğine neden olması gözle görülür bir gerçektir fakat yıllar geçtikçe bu plastik atıklar çeşitli etkenlerle daha küçük boyutlara parçalanmakta ve birikime sebep olmaktadır. Bu durum göz önüne alındığında parçacık boyutları küçüldükçe biyolojik reaktivitenin arttığı gözlemlenmiş olup son yıllarda mikroplastikler ve nanoplastiklerle ilgili yapılan çalışmalar oldukça artmıştır (Mughal, Aylaz, ve Andaç, 2022). Yapılan bu çalışmalarda genellikle mikro ve nanoplastikler bir arada ele alınmış olsa da nanoplastikler boyutuna bağlı olarak analitik zorluklar, taşıma özellikleri, biyoyararlanım, ışık ve diğer doğal kolloidlerle etkileşimleri, sızma süreleri ve toksisitesi gibi farklı özellikler gösterirler ve bu özellikler dolayısıyla da mikroplastiklerden ayrılmaktadırlar (Gigault, vd., 2021). Bu bağlamda, mikroplastiklerden ayrı olarak nanoplastiklerle ilgili yapılan çalışmalarda hiçbir risk değerlendirmesi yayınlanmamış olması bu alanda boşluk yaratmaktadır (Cunningham, Sharpe , Brander , Landis, and Harper, 2023). Bu duruma istinaden plastik kirliliğinin gün geçtikçe artması ve nanoplastiklerin henüz yeterince araştırılmamış olması konunun aciliyetini ortaya koymaktadır.

1.1. Nanoplastik Tanımı ve Kaynakları

Nanoplastikler (NP) ile ilgili yapılan çalışmalara genel olarak bakıldığında boyut aralığı konusunda çeşitli görüşler ortaya çıkmıştır. Bu farklı fikirlerin ortaya çıkmasının altında yatan nedenlere bakıldığında zaman genellikle çalışma yapılan laboratuvar şartları ve teknikleri olduğu gözlenmiştir. Genel olarak bir tanım yapılacak olursa nanoplastik; plastik nesnelerin bozunması ve imalatından dolayı istem dışı üretilen 1 nm ile 1 µm boyut aralığında kolloidal davranışa sahip olan parçacıklar olarak tanımlanmaktadır (Gigault , vd., 2018).

NP'ler farklı şekillerde olabilir ve boyutları ise doğrudan yüzey alanı-kütle oranlarıyla ilgilidir. Bu durum onların büyük yüzey alan-kütle oranına sahip olmasının yanı sıra biyolojik olarak temas veya kimyasal olarak absorpsiyon için daha büyük bir yüzeye sahip olmalarını sağlamaktadır (Stapleton, 2019). Bu özellikleri NP'lerin mikroorganizmaları ve kirleticileri taşıyarak Truva Atı gibi davranabilmelerine olanak verebilmektedir (Trevisan, Uzochukwu, and Di Giulio, 2020). En yaygın kimyasal bileşimleri ise; polistiren (PS), polietilen tereftalat (PET), polivinil klorür (PVC), polyester (PES), polipropilen (PP), poliüretan (PU), poliamid (PA), düşük yoğunluklu ve yüksek yoğunluklu polietilen (LDPE ve HDPE) olmakla birlikte farklı kaynaklardan çevreye yayılabilmektedir (Dube and Okuthe, 2023).

NP'lerin genel olarak kaynağı büyük plastiklerin parçalanmasının yanı sıra atıklar, kozmetik ürünler, endüstriyel faaliyetler hatta 3D baskı gibi teknolojiler gösterilebilmektedir (da Costa, Santos, Duarte, and Rocha-Santos, 2016). Bununla beraber özel olarak NP'ler birincil malzemeler olarak doğrudan ve ikincil malzemeler olarak dolaylı şekilde çevreye yayılmaktadır. Birincil kaynaklar arasında üretilen elektronikler, boyalar, yapıştırıcılar, kaplamalar, bakım ürünleri (diş macunu, el ve yüz temizleyicileri gibi), sentetik tekstil ürünleri, tek kullanımlık polistiren bardak kapakları, tarımda kullanılan ürünler (sera ekipmanları, plastik filmler vb.) ve mikroplastiklerin fotodegradasyonu sayılırken; ikincil kaynaklar arasında ise plastiğin parçalanması, arıtılmış sular, araba lastiklerinin aşınması, sentetik polimerler ve gemi boyaları gibi kaynaklar gösterilmektedir (Arif, Mir, Zieliński, Hayat, and Bajguz, 2024).



Şekil 1.1. Nanoplastik analizinde uygulanan temel işlemler. (Cai, vd., 2021'den uyarlanmıştır.)

Boyutları nedeniyle nanoplastiklerin çevreden elde edilen örneklerden ayrılarak tespiti ve karakterizasyonu oldukça zor olmaktadır. Şekil 1.1'de özetlendiği gibi çevreden toplanan plastik örnekler, ön işlemler (ön konsantrasyon ve ayırma işlemleri) sonucunda

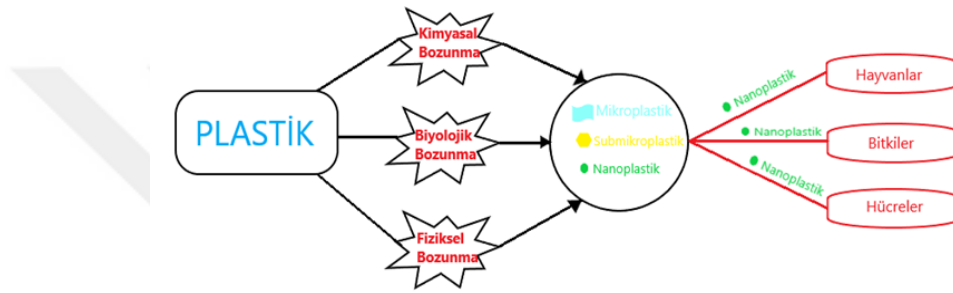
nanoparçacıklar halinde ayrılır, görüntüleme ve kantifikasyon aşamalarından sonra NP'ler analiz edilebilmektedir.

Çevreden toplanan örneklerin matrislerinin sayısı ve farklılığı doğrudan analiz için bir engeldir ve bu nedenle NP analiz ve karakterizasyonlarında ön işlem süreci hem orijinal özelliklerin hem de sayısının korunmasında oldukça önemli olmaktadır (da Costa, vd., 2019). Ultrafiltrasyon, ultra santrifüjasyon gibi yöntemler uygulanarak hazırlanan ön konsantrasyonlarda bulunan NP'leri ayırma işlemlerinde ise membran filtrasyonu uygun gözenek boyutuna sahip filtreler seçildiğinde popüler bir ayırma yöntemidir (Cai, vd., 2021). Bunun yanı sıra nano boyuttaki partiküllerin ayrımının kimyasal karakterizasyonla birleştirilmesiyle analitik bir araç olan Raman spektroskopisiyle birlikte optik cımbızlar kullanılarak NP'lerin yakalanması ve ayrılması analiz yöntemi olarak kullanılmış ve gelecek vadetmiştir (Gillibert, vd., 2019; Schwaferts, vd., 2020).

Işık mikroskobu ve gözle tespit edilemeyecek kadar küçük boyutlarda olan NP'ler çeşitli araçlarla görüntülenebilmektedir. Elektron mikroskopi yöntemleri olan SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve TEM (Transmisyon Elektron Mikroskobu) NP'lerin karakterizasyonu için kullanışlı, nispeten hızlı ve erişilebilir araçlar olmaktadır (Mandemaker ve Meirer, 2022). Ayrıca AFM'nin (Atomik Kuvvet Mikroskobu) bu yöntemlerle birlikte kombine olarak kullanılması, karakterizasyon için umut verici bir araç olarak sayılmaktadır (Mariano, Tacconi, Fidaleo, Rossi, and Dini, 2021). Yapılan bir çalışmaya göre ise STED (Stimulated Emission Depletion) mikroskobu ile nanoplastiklerin floresanla etiketlenerek görüntülenmesi sağlanmıştır (Nguyen and Tufenkji, 2022). Foetisch ve ark., STXM (Taramalı Transmisyon X-ışını Mikroskobu) kullanarak farklı kimyasal yapıdaki, yaklaşık 100 nm'ye kadar minimum boyutta olan NP'lerin görüntülenmesini ve kimyasal karakterizasyonunu sağlamışlardır. Tüm bu yöntemlere ek olarak FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) ve Raman spektroskopisi yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında bulunmaktadır (da Costa, vd., 2019). Son olarak nanoplastiklerin görüntülenmesi için kullanılan SRS (hiperspektral uyarılmış raman saçılması) mikroskobunun Raman görüntülemesinden daha hızlı olduğu bildirilmiştir (Qian , vd., 2024).

NP'lerin kantifikasyonu için farklı yöntemler mevcuttur. UV-Vis (Ultraviyole-görünür) spektrofotometri ile polistiren NP'lerin konsantrasyonu ucuz ve kolay bir şekilde belirlenebilmektedir (Hong, Lee, Park, and Kim, 2022). Aynı zamanda nanoplastiklerin parçacık konsantrasyonları, TRPS (Ayarlanabilir Dirençli Darbe

Algılama) ve NTA (Nanopartikül İzleme Analizi) gibi yöntemlerle parçacıkları sayarak sayıya dayalı parçacık boyut dağılımlarını doğrudan elde edebilirken; CLS (Santrifüjlü Sıvı Sedimentasyon) ile de konsantrasyon ölçümleri teknik ışık yoğunluğuna bağlı olarak parçacık dağılımları elde edilebilmektedir (Huber, vd., 2023). Ayrıca NP'lerin daha kapsamlı araştırılması için fizikokimyasal karakterizasyon ve kantifikasyon için uygulanan araçların birlikte kullanılmasını öneren Huber ve ark. tarafından, yöntemin doğrulanması için iki farklı laboratuvar da yapılan çalışmalarda NP'lerin kantifikasyonu için AF4 (Asimetrik akış alan-akış fraksiyonlaması) ve pyGC-MS (Pirroliz Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) yöntemi birlikte kullanılmıştır.

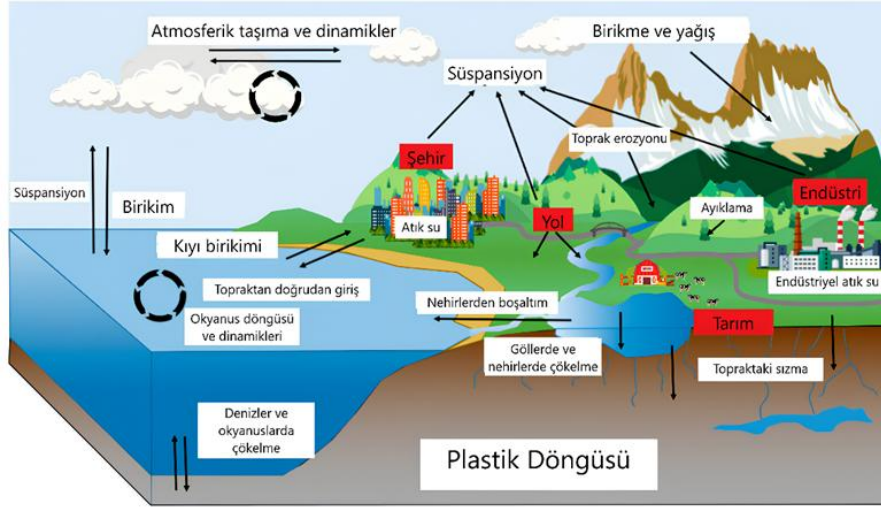


Şekil 1.2. NP'lerin bozunma yolları ve organizmalarca alımı. (Xie, vd., 2023'ten uyarlanmıştır.)

NP'ler Görsel 1.2. de özetlendiği şekilde çeşitli plastik materyallerin üretiminde açığa çıkabildiği gibi büyük boyutlardaki plastiklerin kimyasal, biyolojik ve fiziksel olarak bozunmaları sonucunda daha küçük parçacıklar olarak çevreye salınır ve boyutları dolayısıyla yayılmaları da oldukça kolaydır. Bu sayede ekosistemde yayılan nanoplastikler çevrede bulunan diğer organizmalar tarafından alınabilirler (Xie, vd., 2023).

1.2. Nanoplastiklerin Çevre ve İnsan Üzerine Etkileri

Plastiğin döngüsü Şekil 1.3.'da özetlenmiş olup kırmızı kutucuklar kaynakları, beyaz kutucuklar taşıma faktörü ve mekanizmaları, oklar taşıma yollarını ifade etmektedir. Bu döngü esnasında ortaya çıkan NP'ler ise günden güne çevrede birikmekte ve taşınmaktadır. Karada, havada ve suda bulanarak çevresel olarak etkilere sahip olabildiği gibi insan vücudunda da bulunarak insan sağlığına etki ettiğine dair birtakım çalışmalarda mevcuttur.



Şekil 1.3. *Plastiğin döngüsü. (Türkçe diline çevrilmiştir.) (Bianco and Passananti, 2020)*

Nano boyutlarda plastik parçalarla ilgili çalışmalar her ne kadar sucul ortamlarda yoğunlukta olsa da NP'lerin karasal ortamda da bulunduğu ve taşındığı göz önüne alınmış ve çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Toprakta NP'lerin hareketini etkileyen çeşitli faktörler mevcuttur. Toprakta bulunan çeşitli biyotaların (solucan, bakteri ve mantar gibi) yanı sıra bitki köklerinin, çeşitli tarımsal faaliyetlerin (sürme, gübreleme, sulama, hasat vb.) NP'lerin taşınmasında görev almakta ve sulama ile birlikte toprağın alt katmanlarına taşınarak yer altı sularına karışmaktadır (Han, vd., 2024). Ayrıca toprakta bulunan NP'lerin taşınmasında ve birikmesinde toprağın tipi ve pH'nın etkili olabileceği hakkında da bulgular elde edilmiştir (Tsuchida, Imoto, Saito, Hara, and Kawabe, 2025).

Toprağa karışan nanoplastikler toprak yapısını ve besin döngüsünde değişikliklere neden olduğundan doğrudan toprak verimliliğini etkileyebildiği gibi bitki büyümesinde rol alan mikrobiyal toplulukların büyümesini de azalttığı için elde edilen mahsullerin verimini ve kalitesini de etkileyebilmektedir (Pathan, vd., 2020; Allouzi, vd., 2021). Bunun yanı sıra bitkilerin kökleri tarafından emilen nanoplastikler, bitkilerin gövde ve yapraklarına kadar ulaşabilirler ve bu durum çevrede bulunan hayvanlar ve insanlar tarafından besin zinciri yoluyla alınmasına neden olabilmektedir (Yu, Xu, Guo, Jin, and Lu, 2024).

Toprakta 31 farklı plastik polimerin mevcut olduğu ve yalnızca 6 polimerin sağlık açısından etkilerinin incelendiği ve genel olarak polistiren üzerinde in vivo deneylerin gerçekleştirildiği gözlenmiştir (Mills, Savanagoudar, de Almeida Monteiro Melo Ferraz, and Noonan, 2023). Toprakta bulunan bu NP kirliliğinin günde güne artmasına rağmen bir takım bilgi eksiklikleri mevcuttur. Kısaca özetlemek gerekirse, gelecek çalışmalarda;

zengin tarımsal alanlarda toplanan örneklerden NP analizi için belirli yöntemlerin standartlaştırılması, NP'lerin toprak organizmaları ve bitkilerle etkileşimini yöneten uzun süreli etki mekanizmaların araştırılması ve bu araştırmaların içinde bulunduğu bir veri tabanı oluşturulması gibi adımlar bu bilgi eksikliklerinin giderilmesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Okeke, vd., 2023).

Karasal ve sucul ortamlar üzerinde yapılan NP çalışmaları ile karşılaştırıldığında, özellikle havadaki NP parçacıkları hakkındaki araştırmalar oldukça azdır. Oysaki atmosferde bulunan NP'ler, uzun menzilli bir taşınma potansiyeline sahiptir ve bu durumda atmosferde bulunan plastiklerin çoğunluğunu oluşturarak bulut oluşum süreçlerinde de önemli bir rol oynamaktadır (Aeschlimann, Li, Kanji, and Mitrano, 2022). Atmosferde bulunan nanoplastiklerin kaynağı olarak endüstriyel atıklar, kentsel yapı, trafik, inşaat ve geri dönüşüm fabrikalarından açığa çıkan küller sayılabilmektedir. Bu kaynaklardan ortaya çıkan bu nano boyutlu plastikler havada toz olarak asılı kalmakta olup rüzgâr ve yağış gibi faktörlerle de çevreye yayılabilmektedir (Bhat, Gedik, and Gaga, 2022). Akciğer dokusunda bulunan mikroplastiklerin, havada ve tozda bulunanlarla örtüşmesiyle birlikte solunum yoluyla alınabildikleri fikri desteklenmektedir (Vasse and Melgert, 2024). Fakat nanoplastiklerin solunum yolu ile alınmasıyla ilgili kapsamlı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çevresel nanoplastikler çeşitli yollarla insan sağlığı üzerine etki etmektedir. İnsanlar nanoplastiklere; temas (deri), solunum ve yutma yoluyla maruz kalmaktadır (Mughal, Aylaz, ve Andaç, 2022). Başta yutma yoluyla olmak üzere plastik borulardan sağlanan içme suları, plastik çay poşetleri, sofraya tuzu, deniz ürünleri gibi tüketim malzemelerinden vücuda alınan NP'lerin yanı sıra havada bulunan NP'leri soluma ve kişisel eşyalar ve kirli sularda yüzme ile de maruz kalma söz konusu olmaktadır (Alqahtani, Alqahtani, Saquib, and Mohiddin, 2023). Nanoplastik maruziyetinin artan dozuyla birlikte insanlarda gastrointestinal, kardiyovasküler, solunum ve üreme sistemlerinde etkileri vardır (Preda, vd., 2024).

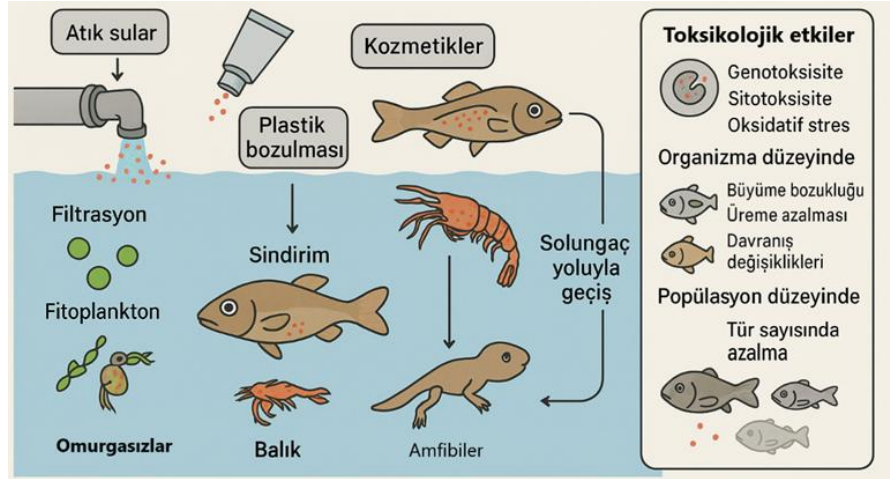
1.3. Sucul Ekosistemde Nanoplastikler

Sucul ekosistemde NP'ler oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Her yıl tahmini 8 milyon tona yakın plastik atık okyanuslara taşınmakta ve çeşitli etkenlerle nano boyutlu parçacıklara dönüşmektedir (Trevisan, Ranasinghe, Jayasundara, and Di Giulio, 2022).

Her ne kadar nanoplastiklerin sucul sistemde varlığı rakamsal olarak belirtilmemiş olsa da litre başına şişelenmiş su içerisinde yaklaşık olarak 240.000 mikro-nanoplastik parçacık keşfedilmiş olup bunların %90 kadarının nanoplastik olduğu tahmin edilmiştir (Qian , vd., 2024). Buna durum göz önüne alındığında nanoplastiğin, sucul ortamlarda yoğun miktarlarda bulunabileceği sonucuna varılmaktadır.

NP'ler daha önce de belirtildiği üzere birincil ve ikincil kaynaklardan sucul ortama girerler. Tatlı su ortamları, atık su arıtma tesislerinin ve çöplüklerin yakınlığı nedeniyle küçük plastik kirliliğine maruz kalmaktadır (Bulannga and Schmidt, 2024). Sucul ortamda bulunan nanoplastikler karasal ortamdan okyanuslara girebilmektedirler. Rüzgâr, yağış, gelgit olayları, insan faaliyetleri, denizcilik faaliyetleri gibi farklı yollarla nehirlere, denizlere ve okyanuslara karışabilmektedir (Peng, vd., 2020). Farklı yollardan sucul ortama giren NP'lerin bu denli yayılması sucul ekosistemler üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir.

Küçük boyutları nedeniyle oldukça yaygın bulunan NP'ler aynı zamanda sucul ekosistemde kalıcıdır. Bunun yanı sıra küçük boyutlarından dolayı geniş yüzey alanına sahip olması bazı metal, biyosit, pestisit, antibiyotikler, çeşitli organik bileşikler ve çevresel kimyasal bileşikler de beraberinde taşınmasına neden olmaktadır (Trevisan, Ranasinghe, Jayasundara, and Di Giulio, 2022).



Şekil 1.4. Nanoplastiklerin sucul ortamda organizmalar tarafından alımı ve toksikolojik etkileri.

NP'ler farklı seviyelerdeki su organizmalarına doğrudan ya da besin zinciri yoluyla girmektedir ve farklı seviyelerde etki gösterebilmektedir (Gong, vd., 2023). Bu etkileri gözlemlemek amacıyla farklı organizmalar üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış olup NP'lerin etki mekanizmalarına dair daha ayrıntılı olarak anlaşılabilir olması için çalışmalar devam etmektedir. Görsel 1.4.'te özetlendiği gibi NP'ler sucul ekosisteme

girdikten sonra organizmalar üzerinde çeşitli toksikolojik etkiler (genotoksik, sitotoksik ve oksidatif stres) gösterdiği gibi organizma düzeyinde (büyüme, üreme ve davranış değişiklikleri) ve popülasyon düzeyinde de (tür sayısında azalma) etkiler göstermektedir. Daha önce de belirtildiği üzere NP'lerin sucul ortamda yayılımı ve sucul organizmalar üzerindeki etkilerini göstermek amacıyla çalışmalar güncel olarak halen devam etmektedir.

1.3.1. Sucul organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar

NP'ler üzerinde yapılan geçmiş çalışmalara genel olarak bakıldığında kullanılan farklı sucul organizmalarda fizyolojik ve biyokimyasal değişimler, DNA hasarı ve düzensizliği tespit edilmiştir (Gong, vd., 2023). Deneysel koşullar altında laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışmalarda çeşitli organizmaların plastik parçacıkları biriktirdikleri, fizyolojik değişiklikler gösterdiği, oksidatif stres ve inflamatuvar reaksiyonlar gibi olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (Schröter and Ventura, 2022).

NP'lerin, *Daphnia pulex* üzerinde yapılan çalışmalarda süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon S-Transferaz (GST), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx), HSP90 ve HSP70 dahil olmak üzere anahtar enzimleri ve proteinleri kodlayan stres savunma genlerinin ekspresyonu üzerinde de etki gösterdiği, bu sonuçlar neticesinde nanoplastikten kaynaklanan kirliliğe karşı duyarlılık, hücresel enerji homeostazisi ve oksidasyon gibi hayati fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerdeki değişiklikler yoluyla etkilendiği bildirilmiştir (Liu, vd., 2018).

Tetrahymena thermophila, tek hücreli, tatlı sularda serbest yaşayan ökaryotik bir silli protozodur (Orias, Cervantes, and Hamilton, 2011). Laboratuvar şartlarında kolay kültüre edilebilirliği nedeniyle toksikolojik çalışmalarda tercih edilen bir model organizmadır. *Tetrahymena thermophila* üzerinde daha önce yapılan bir çalışmada polistren nanoplastiklerin kalsiyumun endoplazmik retikulumdan serbest bırakılmasına müdahale ettiğini ve dolayısıyla hücre içi kalsiyum (i-Ca) homeostazisini bozarak depolarizasyona, mitokondriyal membranın geçirgenliğinin artmasına, ROS üretimine ve sonuçta büyüme inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Wu, Guo, Liu, Yang, and Miao, 2021). Bununla birlikte *Tetrahymena thermophila* tarafından yutulan NP'lerin lizozomal enzimler yardımıyla kısmen de olsa biyolojik olarak parçalanabilmesine dair birtakım bulgular elde edilmiş ve farklı mikroorganizmalarla beraber NP'lerin fiziksel ve kimyasal

özelliklerini değiştirerek biyoremediasyonun da önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır (Li, vd., 2025).

Günümüze kadar yapılmış olan araştırmalara bakıldığında en yaygın kullanılan malzeme, farklı parça boyutları ve yüzey modifikasyonlarına sahip olabilmesinin yanı sıra floresan etiketleme yapılabilir olması nedeniyle polistirenlerdir (Stock, vd., 2022). Bu tez çalışmasında ise yaygın olarak kullanılan polistiren nanoplastikler tercih edilmiştir; ilerleyen çalışmalarda benzer materyallerin kullanılması gerek karşılaştırmalı analizler gerekse geniş kapsamlı değerlendirmeler açısından önemlidir.

Nanoplastikler genel olarak suda yaşayan türlerin sağlığını ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu durum yalnızca sucul organizmalar için değil insan sağlığı için de büyüyen ve ilerleyen dönemlerde de tehlike arz eden bir sorundur. Plastiklerin çevreye ve canlılara verdiği zararı azaltmak için daha verimli biçimde geri dönüşümü mümkün kılan teknolojilere, atık plastiklerin zararsız maddelere dönüşümünü sağlayan kimyasal ve biyolojik çözümlere ihtiyaç vardır.

1.4. Amaç

Bu tezin temel amacı, çevrede bulunan atık plastiklerin yıllar boyu aşınımı ve üretimi esnasında ortaya çıkan nanoplastiklerin sucul ekosistemler üzerindeki etkilerini, sucul bir model organizma olan *Tetrahymena thermophila* üzerinde incelenerek bu kirleticilerin canlı organizmalar üzerindeki toksikolojik mekanizmalarını ortaya koymaktır. Bu tez çalışması, nanoplastiklerin hücresel düzeyde yol açtığı oksidatif stres, membran bütünlüğünün bozulması, enzimatik aktivite değişimleri ve genotoksik etkileri gibi biyolojik süreçleri kapsamlı bir şekilde analiz etmeyi hedeflemektedir. Elde edilen sonuçların ise konu ile ilgili çevre politikalarının geliştirilmesinde ve atık yönetimi stratejilerinin iyileştirilmesinde bilimsel bir temel oluşturması beklenmektedir.

Tez çalışması daha kapsamlı olarak nanoplastik kirliliğinin mikroorganizma düzeyindeki etkileşimlerini anlamak amacıyla sucul ekosistemlerdeki çok boyutlu tehditleri disiplinler arası bir yaklaşımla ele almayı hedeflemektedir. *Tetrahymena thermophila* gibi tek hücreli ökaryotik bir sucul organizmanın model olarak kullanılması, NP'lerin gerek temel hücresel işlevler üzerindeki etkileri gerekse bu etkilerin ekosistem üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi olanağını sağlamaktadır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, plastik kirliliğinin çevresel etkilerini minimum düzeye indirmeye yönelik yenilikçi çözüm nerileri geliştirilmesine öncülük ederek biyoçeşitliliğin korunmasına katkı sağlayarak gelecekte yapılacak olan bilimsel çalışmalara yol göstermeyi amaçlamaktadır.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışmasında kullanılan *Tetrahymena thermophila* SB210 hücreleri Cornell Üniversitesi Tetrahymena Stok Merkezi'nden (Tetrahymena Stock Center Cornell University, <https://tetrahymena.vet.cornell.edu/index.php>) tedarik edilmiştir. Hücrelerin çoğaltılmasında zengin bir besiyeri olan SPP (Super proteose peptone) (%2 proteose peptone, %0,1 yeast extract, %0,2 glucose, 33 μ M FeCl₃) kullanılmıştır. Kontaminasyonun önlenmesi amacıyla besiyerine Penisilin-streptomisin ve Amphoterasin B antibiyotikleri eklenmiştir. Hücreler bu besiyerinin bulunduğu geniş tabanlı flasklarda 30±1°C'de 120 RPM'de çalkalamalı etüvde çoğaltılmıştır.

Nanoplastik ana stoğu Sigma-Aldrich'ten ticari olarak temin edilen polistren nanoplastik (0.1 μ m, turuncu floresans etiketli, λ_{ex} ~ 475 nm; λ_{em} ~ 540 nm, L9904-1 mL) kullanılarak final konsantrasyon 1000 mg/L olarak hazırlanmıştır. Daha sonrasında hazırlanan konsantrasyonlar bu stoktan alınarak distile su ile dilüe edilerek kullanılmıştır.

2.1. MTT Testi

Metabolik olarak aktif olan (canlı) hücrelerde sarı renkli tetrazolium tuzunun mor renkli formozan kristallerine mitokondride redüksiyonu ile renk değişimine bağlı (kolorimetrik) canlılık tayinin yapıldığı MTT (3- (4,5-dimetil-2-tiazol-2-il)-2,5-difenil-2h-tetrazolium bromür) testi özellikle toksikolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tez kapsamında sitotoksikite testi daha önce *Tetrahymena* için yayınlanan MTT protokolünde birkaç değişiklik yapılarak kullanılmıştır (Zilberg and Sinai, 2006).

Daha önce SPP besiyerinde bulunan *Tetrahymena thermophila* hücreleri 3 kere açlık tamponuyla (0.6 g KH₂PO₄, 0.15 g K₂HPO₄ ve 0.25 g MgSO₄ 1 L'de çözölmüş pH 7.5'a NaOH ile ayarlanmıştır) yıkanmıştır. Her bir yıkama işlemi 1000 g'de 4 dakika olacak şekilde yapılmıştır. Hücreler 1.2 x10⁶ hücre/ml konsantrasyona getirilerek Proteose Peptone Yeast Extract (%2 proteaz pepton, %0,1 maya ekstratı 33 μ M FeCl₂.6H₂O) besiyeri içeren steril petrilere 5'er ml eklenmiştir. Hücreler 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L ve 250 mg/L final konsantrasyonlarda 24 saat nem çemberinde 30 °C'de hibridizasyon fırınında çalkalama olmaksızın inkübasyona bırakılmıştır. 3, 6, 9, 12 ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda her bir dozdan 110 μ L hücre alınarak 96 kuyucuklu Elisa petrisine aktarılmıştır. Hücre örnekleri üzerine MTT stoğundan (10 mg/mL, Sigma M2003) 10 μ L eklenmiş, tabağın üzeri folyo ile kaplanıp ve

4 saat boyunca hibridizasyon fırınında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan formozan kristallerini çözmek amacıyla DMSO solüsyonundan kuyulara 120 µl eklenmiş ve 30 dakika karanlık ortamda bekletilmiştir. Elisa petri tabakları, bu süre sonunda 570 nm’de Elisa Reader (SpectraMax Plus384 Absorbance Microplate Reader) cihazında okutulmuştur.

2.2. COMET Testi

Temel prensibi; elektroforez sırasında hücre içerisindeki çekirdeklerden çıkan denatüre olmuş DNA parçalarının miktarının ölçümüne dayanan COMET testi için daha önce oluşturulmuş alkali COMET testi protokolünden yararlanıldı (Vidic, Lah, Berden-Zrimec, and Marinsek-Logar, 2009).

Lamlar etiketlenerek deney sürecinden bir gün öncesinde düzgün bir zemin oluşturmak amacıyla %1 NMP agar ile kaplanmış kuruduktan sonra ise %0,6 NMP agar ile kaplanarak buz üzerinde kurutulmuştur. Hücreler 24 saat PS-NP ile inkübasyon sonucunda 3 kez PBS ile yıkanarak hücre yoğunluğu $\sim 10^6$ hücre/ml olarak ayarlandı. Her bir yıkama işlemi 300 g’de 3 dakika gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin üzerine 1:2 hücre/agar oranında %0,8 LMP agar karıştırılarak lamaların üzerine aktarılmıştır ve son olarak üzeri %0,5 LMP agar ile kaplanmıştır. Lamalar yatay şaleye alınarak lizis tamponu (1.2 M NaCl, 0.0015 M NaOH, %10 DMSO, %0.05 Triton X 100, %0,1 N-laurylsarcosine, pH:12.4) ile 4°C’de bir gece boyunca hücrelerin lizise uğraması sağlanmıştır. Süreç sonunda elektroforez tankına karşılıklı olarak dizilen lamaların üzerine elektroforez tamponu (0.03 M NaOH, 2 mM EDTA, pH:12.7) eklenmiş ve 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika yürütülmüştür (18 V, 180 mA). Elektroforez tankından alınan lamalar nötralizasyon tamponuyla (0.4 M Tris-HCl, pH:7.5) 15 dakika 4°C de bekletildikten sonra steril distile su ile lamalar yıkanmıştır. Hücrelerdeki DNA hasarının tespiti için lamalar kurutulduktan sonra floresan mikroskop aracılığıyla lamlara etidyum bromür (2 µg/mL) eklenerek incelenmiştir.

2.3. Biyokimyasal Analizler

Bu tez kapsamında PS-NP’lerin *Tetrahymena thermophila* üzerindeki biyokimyasal etkilerini gözlemlemek ve olası toksisitesi için antioksidant belirteçlerden

süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), GST enzimatik aktiviteleri ve lipid peroksidasyon seviyesi ölçülmüştür.

Öncelikle aktivite deneyleri için toplam çözünür protein izolasyonu gerçekleştirilmiştir. *Tetrahymena thermophila* hücreleri doz muamelesinden sonra 2000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek hücreler peletlenir ve besiyeri uzaklaştırılmıştır. Daha sonra ~25 milyon hücre için 3 mL T-100B liziz tamponu (300 mM NaCl, 25 mM Tris H-Cl pH 7.5, %1 Triton X-100, 2 mM PMSF, 1 X Proteaz İnhibitör Kokteyli) eklenmiştir. Buzda 10 dakika bekletilir. Bekleme aşamasında hücreler aralıklarla ters düz edilir. Daha sonra 14.000 rpm'de ya da 20.000 g'de 20 dk santrifüje edilir, süpernatant temiz tüpe aktarılır (Kapakç and Arslanyolu, 2021). Protein izolatlarının miktar analizi Bradford yöntemiyle tespit edilmiştir.

2.3.1. GST enzimatik aktivitesi

PS NP'ler ile muamele edilmiş hücrelerden elde edilen proteinlerin GST aktivite testi daha önce yayınlanan protokolde küçük değişikliklerle spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir (Habig, Pabst, and Jakoby, 1974). Kısaca GST enzim aktivitesi testi 96 kuyucuklu Elisa petrilere 20 µl protein örneği ve 180 µl test tamponu (PBS pH 6.5, 10 mM CDNB, ve 10 mM reduced Glutathione) eklenip enzim aktivitesi için BioTek The Synergy™ HT Elisa Reader- Epoch 2 cihazının kinetik programı ile 1'er dk. aralıklarla 20 dk. boyunca 340 nm'de O.D'ler okunmuştur. $\Delta A_{340}/\text{dakika}$ 'yı hesaplamak için zamana bağlı absorbans değişimi grafiği çizilip eğim hesaplanıp bu eğimin formülü kullanılmıştır. Aktivitenin ünite cinsinden değeri, 25°C'de 1 µmol substratı kataliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

2.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi

Katalaz aktivitesi, 100mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.3) ve 20mM H₂O₂ içeren bir reaksiyon karışımı içinde 30°C'de gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivitesi ünitesi, 20 mM H₂O₂ başlangıç konsantrasyonunda dakikada 1 mmol H₂O₂'nin parçalanmasını katalize eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır (Goldberg and Hochman, 1989).

2.3.3. Lipid peroksidasyon seviyesi

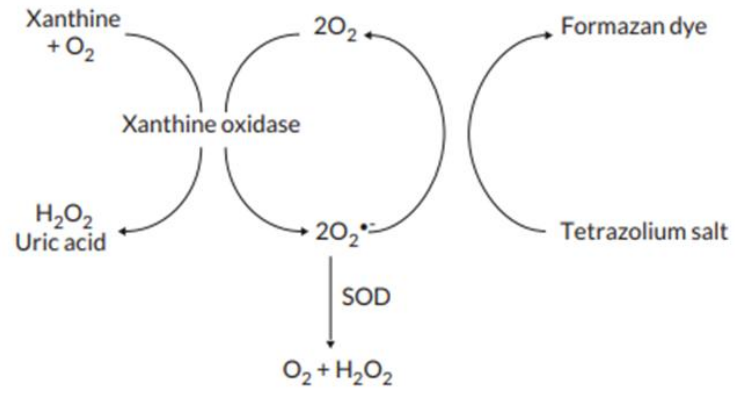
Lipid peroksidasyon seviyesi, malondialdehit (MDA) içeriğinin ölçülmesiyle TBARS oluşumunun belirlenmesi yoluyla ölçüldü (Mortimer, Kasemets, Vodovnik, Marinsek-Logar, and Kahru, 2011). Ependorf tüplerindeki 100 µL hücre kültürüne %2'lik sodyum dodesil sülfat (SDS) eklendi ve hücreler oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyonla lize edildi. Bu süre sonunda 250 µL %7,5 asetik asit ve %1 NaOH (pH 3,5) içinde %0,52 TBA eklendi ve tüpler 95 °C'de 45 dakika ısıtıldı ve ardından tüpler 5 dakika buz üzerine yerleştirilerek reaksiyon durduruldu. Tüpler oda sıcaklığında 15 dakika boyunca 700 g'de santrifüj edildikten sonra, her tüpten 200 µL üst sıvı, 532 nm'de florometrik okuma için 96-kuyulu bir mikro plakaya iki kez aktarıldı. Lipid peroksidasyon seviyesi, NP'lere maruz bırakılan hücrelerin O.D.'sinin kontrol ile karşılaştırılmasıyla belirlendi (Okhawa, Ohishi, and Yagi, 1979).

2.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD enzim aktivitesinin belirlenmesinde Sun vd. (1988) metoduna dayalı ticari kit kullanılmıştır. Süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), üç SOD tipini de (Cu/Zn, Mn ve Fe-SOD) ölçen ticari kit (Cayman Chemical Company Ann Arbor, MI. ABD) Ürün No. 706002 kullanılarak ölçülmüştür.

Cayman's Superoxide Dismutase Assay, ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikallerinin saptanması için bir tetrazolyum tuzu kullanılması prensibine dayanmaktadır. Bir birim SOD; süperoksit radikalının %50 dismutasyonunu sergilemek için gereken enzim miktarı olarak tanımlanır. Bu test; plazma, serum, eritrosit lizatları, doku homojenatları ve hücre lizatlarında SOD aktivitesini test etmek için basit, tekrarlanabilir ve hızlı bir araçtır.

1 ünite enzim: 37°C sıcaklıkta ve pH 8.8'de 1 mikromol 5,6,6a,11btetrahidro3,9,10,-trihidroksibenzo [c] floren'in (BXT-01050) 1 dakikadaki otooksidasyonunu sağlayan enzim aktivitesidir.

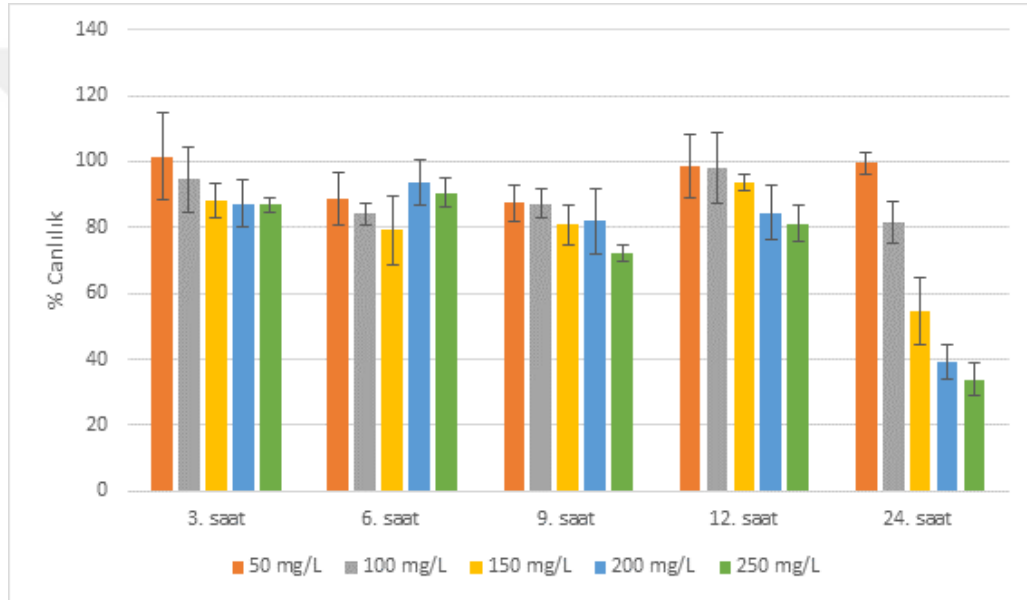


Şekil 2.1. SOD testi şeması.

3. BULGULAR

3.1. MTT Testi

Nanoplastiklerin, *Tetrahymena thermophila* üzerinde farklı konsantrasyona (50 mg/L ile 250 mg/L aralığında) ve zamana bağlı (3, 6, 9, 12 ve 24 saat) maruziyeti sonucunda hücre canlılığının tespiti için MTT testi kullanılmıştır ve sonuçlar Şekil 3.1’de grafiksel olarak gösterilmiştir. Nanoplastik ile muamele edilmeyen hücrelerden elde edilen aynı zaman dilimindeki O.D. değerleri %100 olarak kabul edilmiş olup, nanoplastikle muamele edilen hücrelerin O.D. değerleri kontrol yüzdesine oranlanarak hesaplanmıştır.

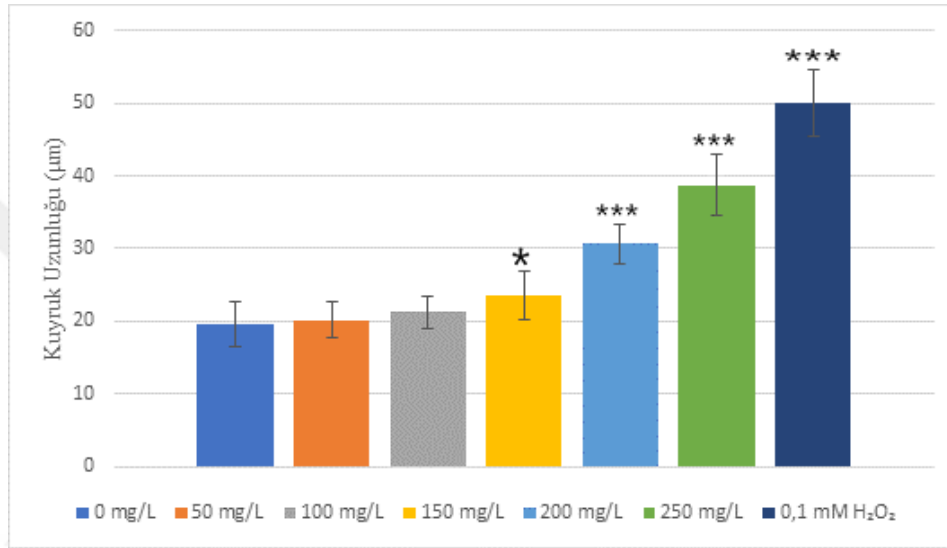


Şekil 3.1. *Tetrahymena thermophila*’da nanoplastik maruziyeti sonucu % canlılık grafiği.

Laboratuvarımızda gerçekleştirilen önceki deneylerde *Tetrahymena thermophila* hücreleri senkronize edildikten sonra her 4,5 saatte bir bölündüğü gözlemlenmiştir. 3, 6, 9 ve 12 saatlik NP maruziyetinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. İlk 3 saatlik zaman diliminde NP maruziyetinde doza bağlı azalma görülmüştür. 6. saate bakıldığında 50 mg/L – 150 mg/L konsantrasyonlarında doza bağlı azalma mevcuttur. Buna rağmen 150 mg/L’de yaklaşık olarak %20’lik bir azalma mevcutken 200 mg/L – 250 mg/L NP konsantrasyonlarında hücre canlılığında artış gözlenmiştir. NP maruziyetinin 9. saatinde ise doza bağlı azalmada en yüksek doz olan 250 mg/L konsantrasyonda %30’luk bir azalma görülmektedir. Son olarak maruziyetin 12. saatinde doza bağlı azalma gözlenmekle birlikte 250 mg/L konsantrasyonla maruziyette yaklaşık olarak %20’lik bir azalma görülmüştür.

Kontrole göre hücre canlılığı üzerindeki değişikliğin en fazla görüldüğü ve %50 altına düştüğü zaman dilimi 24. saat olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle LD₅₀ dozu 24 saat baz alınarak Miller and Tainter (1944)'e göre hesaplanmıştır. *Tetrahymena thermophila*'da 24 saatlik NP maruziyeti sonucu LD₅₀ değeri 183,71 mg/L olarak bulunmuş olup zamana ve doza bağlı olarak hücre canlılığında azalma görülmüştür.

3.2. COMET Testi

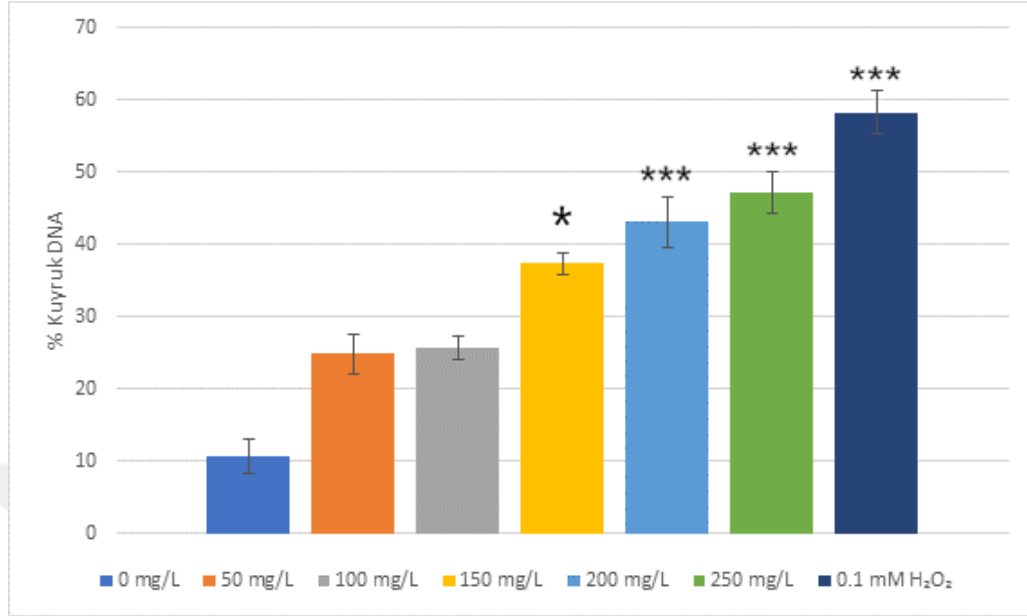


Şekil 3.2. *T. thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucunda kuyruk uzunluğu parametreleri grafiği.

Tetrahymena thermophila üzerinde 24 saat NP maruziyeti sonucunda DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametreleri grafiği Şekil 3.2.'de grafiksel olarak gösterilmiştir. Gruplar üçten fazla ve birbirinden bağımsız olduğu için One-Way Anova testi ile ortalama değerler (mean $\pm$ SS), istatistiksel anlamlılık için Dunnett Post-hoc testi ile gruplar arası anlamlılık değerleri (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$) hesaplanmıştır. Her bir grafik değerleri 50 hücre örneği üzerinden hesaplanmıştır. (Kuyruk uzunluğuna göre düşük hasar $\leq 20 \mu\text{m}$, orta şiddetli hasar $20-40 \mu\text{m}$, yüksek şiddetli hasar $40-60 \mu\text{m}$, çok şiddetli hasar $>60 \mu\text{m}$). Farklı konsantrasyonlarda NP'lerin, kontrol grubuna (0 mg/L) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ ile gösterilmiştir.

Kuyruk uzunluğu 150 mg/L konsantrasyonun altında kontrol grubuna göre gözle görülür bir artış göstermemektedir. Fakat bu konsantrasyon ve üzeri konsantrasyonlarda artış görülmektedir. İstatistiksel olarak hem kontrol grubuna hem de birbirleri arasında

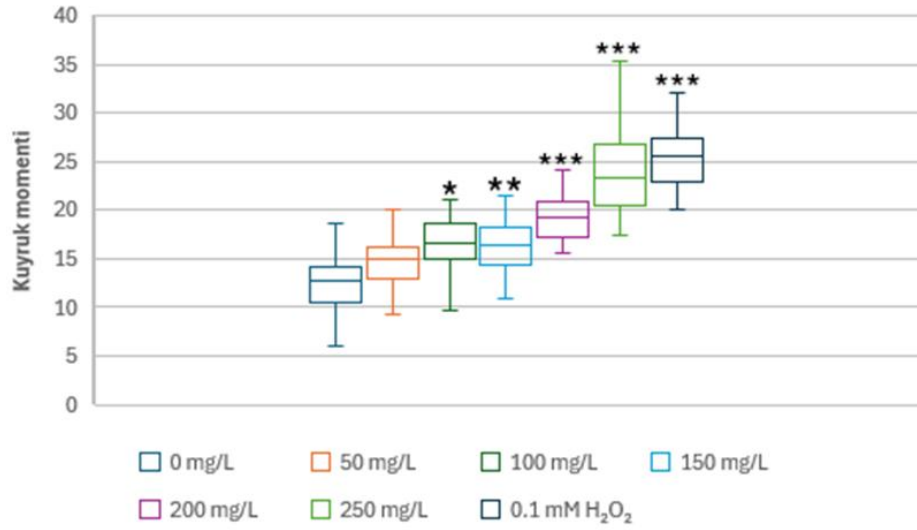
anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$). İstatistiksel olarak en belirgin fark ise 200 mg/L ve 250 mg/L konsantrasyonlarda bulunmaktadır ($p<0.001$).



Şekil 3.3. *T. thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucunda % kuyruk DNA parametreleri grafiği.

NP'lerin 24 saatlik maruziyeti sonucunda % kuyruk DNA parametreleri Şekil 3.3.'te grafik olarak gösterilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda NP'lerin, kontrol grubuna (0 mg/L) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $p\leq 0,05$, ** $p\leq 0,01$, *** $p\leq 0,001$ ile gösterilmiştir.

NP'lerin artan konsantrasyonlarında artan kuyruk uzunlukları gibi % kuyruk DNA'da da artış görülmektedir. 50 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonlarda yaklaşık 2 kat artış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 150 mg/L konsantrasyon ve üzeri konsantrasyonlarda belirgin olarak artış görülmekle birlikte negatif kontrole en yakın % kuyruk DNA parametresi 250 mg/L konsantrasyonla maruziyet sonucunda gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı fark 150 mg/L ($p<0.05$), 200 mg/L ($p\leq 0.001$) ve 250 mg/L ($p<0.001$) NP konsantrasyonlarında ve negatif kontrol grubunda gözlenmiştir ($p<0.001$).

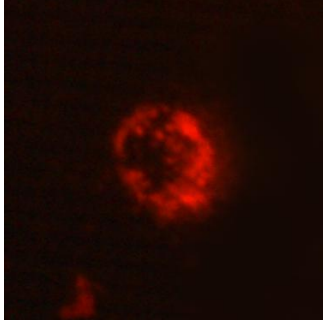
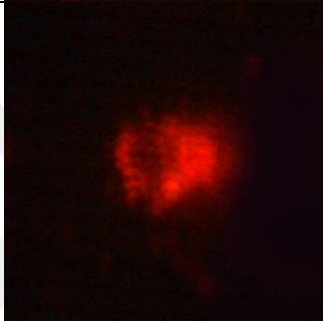
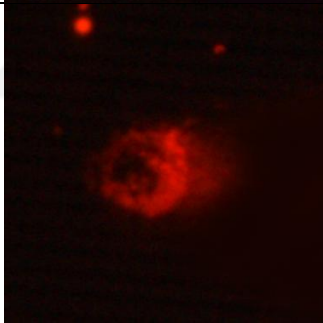
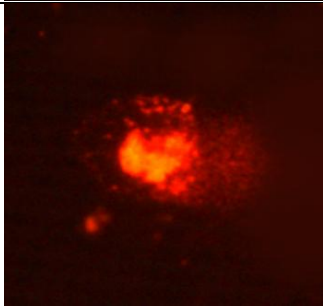


Şekil 3.4. *T. thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucu kuyruk momenti parametreleri grafiği.

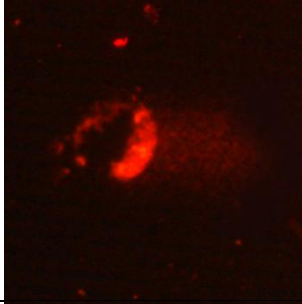
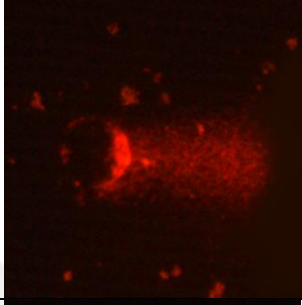
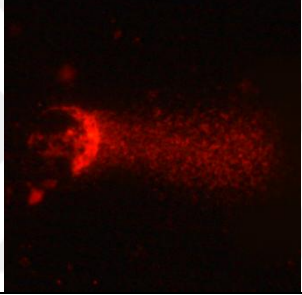
NP'lerin 24 saatlik maruziyeti sonucunda DNA hasarının kuyruk momenti parametreleri Şekil 3.4.'te grafik olarak gösterilmiştir. Olive tail moment (OTM), OpenCOMET v.1.3.1 yazılımı ile hesaplanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda NP'lerin, kontrol grubuna (0 mg/L) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ ile gösterilmiştir.

NP maruziyeti sonucunda DNA hasarı derecelerine bakıldığında kontrol grubu (0 mg/L) ile artan NP konsantrasyonlarına bakıldığında parametrelerde artış görünmekle birlikte bu değerler arasında anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Nanoplastiğin 50 mg/L konsantrasyonunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$) fakat kuyruk momenti yükselmiştir. En yüksek kuyruk momenti pozitif kontrol grubunda (0.1 mM H₂O₂) gözlenmiştir. En yakın yüksek değer ise en yüksek konsantrasyonda (250 mg/L) gözlenmiştir.

Tablo 3.1. Nanoplastiklerin *Tetrahymena thermophila* üzerindeki genotoksik etkilerinin tablosu.

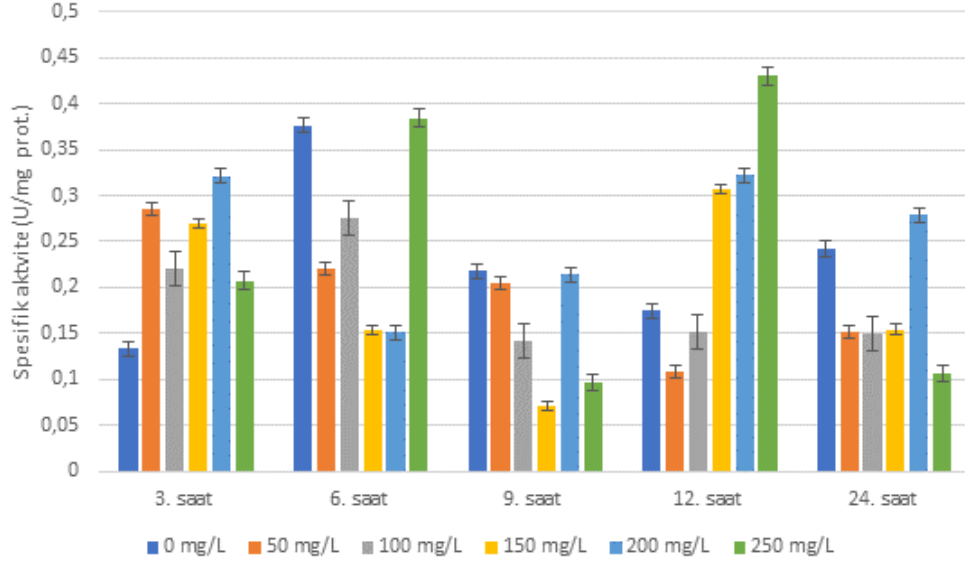
Konsantrasyon (mg/L)	COMET Görüntüsü	Kuyruk Uzunluğu (µm) Mean±ss	% Kuyruk DNA Mean±ss	Bulgu
0 mg/L (Kontrol grubu)		19,6±3,18	10,66±2,35	Düşük Hasar
50 mg/L		20,14±2,42	24,89±2,72	Düşük Hasar
100 mg/L		21,19±2,18	25,76±1,68	Düşük Hasar
150 mg/L		23,53±3,36	37,37±1,46	Orta Şiddetli hasar

Tablo 3.1. (Devam) Nanoplastiklerin *Tetrahymena thermophila* üzerindeki genotoksik etkilerinin tablosu.

200 mg/L			30,65±2,74	43,08±3,56	Yüksek Şiddetli Hasar
250 mg/L			38,66±4,21	47,13±2,95	Yüksek Şiddetli Hasar
0.1 mM H ₂ O ₂			49,98±4,49	58,23±3,02	Yüksek Şiddetli Hasar

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. GST enzim aktivitesi



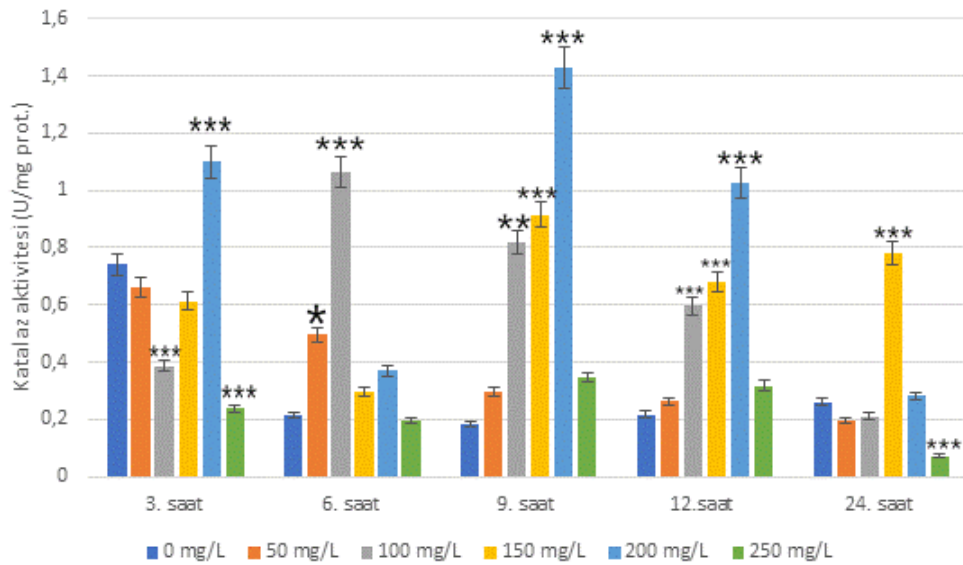
Şekil 3.5. *Tetrahymena thermophila*’da nanoplastik maruziyeti sonucu GST enzim aktivitesi grafiği.

Tetrahymena thermophila üzerinde 3, 6, 9, 12 ve 24 saatlik NP maruziyeti sonucunda GST enzim aktivitesinin grafik üzerinde gösterimi Şekil 3.5.’te belirtildiği gibidir. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan SPSS Tek Yönlü ANOVA-Tukey Testi, muamele edilmemiş kontrol hücre grubu (0 mg/L) aktivite verileri ile deney gruplarının karşılaştırılması için kullanılmıştır.

İlk 3 saatlik maruziyet sonucunda GST enzim aktivitesi her bir konsantrasyonda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. İstatiksel olarak tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır ($p < 0.05$). Kontrol grubuyla en büyük farkın olduğu ($p < 0.001$) ve en yüksek aktivite 200 mg/L konsantrasyonda gözlenmiştir. 250 mg/L konsantrasyonda ise diğer konsantrasyonlara nazaran daha az bir aktivite gözlenmiştir. 6. saate bakıldığında ise kontrol grubuna göre yüksek aktivite yalnızca 250 mg/L de görülmüş olup istatistiksel olarak kontrol grubuyla anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$) fakat diğer konsantrasyonlarla arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0.05$). En yüksek dozda aktivite 3. saate göre 6. Saatte yaklaşık olarak 2 kat artmıştır. 9. saatte GST aktivitesi kontrol grubuna oranla 50 mg/L-150 mg/L konsantrasyon aralığında düşmüş olup en yüksek aktivite kontrol grubuna yakın olarak 200 mg/L konsantrasyonda görülmüştür. Kontrol grubuna göre bakıldığında ise 200 mg/L konsantrasyon arasında

anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 12 saatlik sürede ise doza bağlı olarak bir artış gözlenmiştir fakat 150 mg/L-250 mg/L aralığındaki konsantrasyonlarda kontrol grubuna nazaran 2-3 kat artış gözlenmiştir fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). 24 saatin sonunda GST enzim aktivitesi yalnızca 200 mg/L NP konsantrasyonunda bir artış gözlenmiş olup diğer konsantrasyonlarda azalma gözlenmiştir buna rağmen kontrol grubu ile anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). Zaman ve konsantrasyon etkileşimine bakıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

3.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi



Şekil 3.6. *Tetrahymena thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucunda katalaz aktivitesi grafiği.

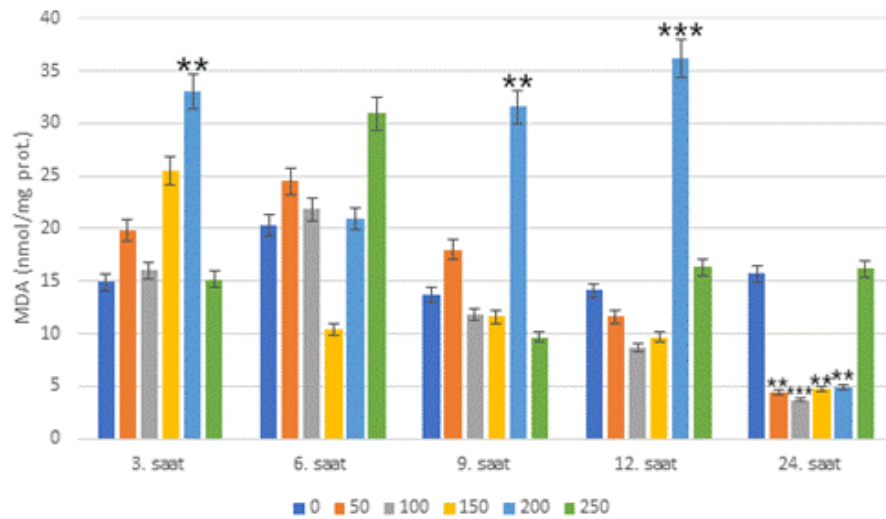
Artan konsantrasyonlara göre 3, 6, 9, 12 ve 24 saatlik NP maruziyeti sonucunda katalaz aktivitesi Şekil 3.6.'te grafik olarak verilmiştir. Aynı zaman içerisinde farklı konsantrasyonlarda NP'lerin, kontrol grubuna (0 mg/L) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ ile gösterilmiştir. İstatistiksel olarak konsantrasyon ve zamana bağlı olarak gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$).

Çeşitli NP konsantrasyonlarında 3 saatlik maruziyet sonucunda kontrol grubuna kıyasla CAT aktivitesinde 50 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalma gözlemlenmişken 150 mg/L ve 200 mg/L konsantrasyonlarda artış başlamış 250 mg/L konsantrasyondaki NP maruziyetinde en düşük seviyede aktivite gözlenmiştir.

Kontrol grubu ile 200 mg/L konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). 6. saatte en yüksek aktivite 100 mg/L konsantrasyonda gözlenmiş olup kontrole kıyasla 250 mg/L konsantrasyon hariç CAT aktivitesi artmıştır. 50-150 mg/L arasındaki konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.05$). 9. Saatte tüm konsantrasyonlarda CAT aktivitesi artmıştır ve en yüksek aktivite 200 mg/L konsantrasyonda gözlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0.001$). Aynı şekilde 12. saate bakıldığında artan konsantrasyonlarda CAT aktivitesi artmıştır fakat 50 mg/L ve 250 mg/L konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 24. Saatte ise en yüksek aktivite 150 mg/L de olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken ($p<0.001$), kontrole kıyasla 150 mg/L-200 mg/L konsantrasyonlar haricinde CAT aktivitesinde azalma gözlenmiştir.

3.3.3. Lipid peroksidasyon seviyesi

Nanoplastik maruziyeti sonucunda *Tetrahymena thermophila*'da MDA seviyesinin grafiği Şekil 3.7.'de verilmiştir. Aynı zaman içinde farklı konsantrasyonlarda NP'lerin, kontrol grubuna (0 mg/L) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $p\leq 0,05$, ** $p\leq 0,01$, *** $p\leq 0,001$ ile gösterilmiştir.

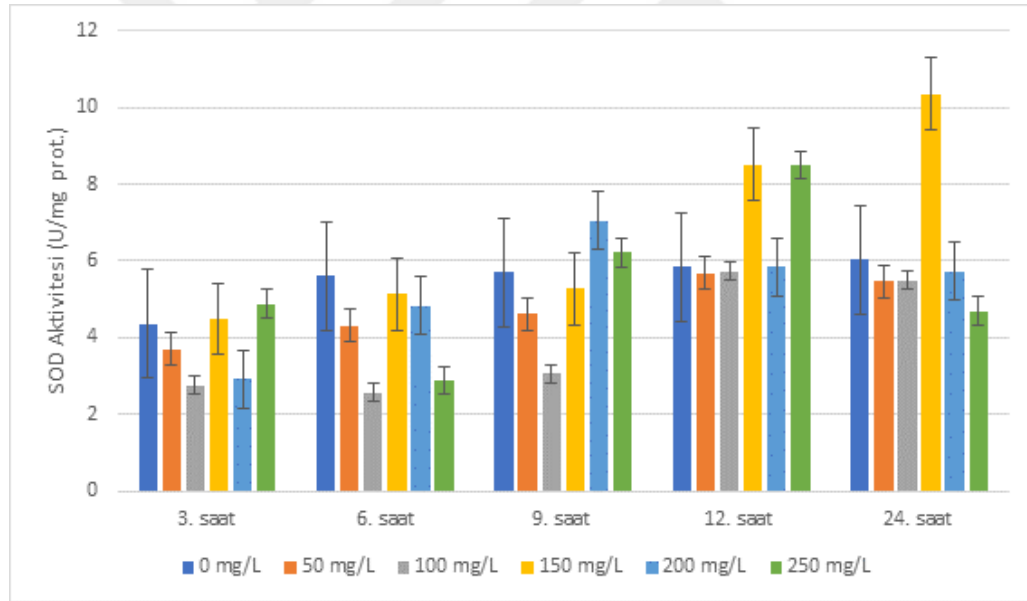


Şekil 3.7. *Tetrahymena thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucunda MDA seviyesi.

NP maruziyeti sonucunda MDA düzeylerine bakıldığında 3. saatte kontrol grubuna kıyasla en çok artış yaklaşık 2 kat kadar artış ile 200 mg/L konsantrasyonda görülmektedir ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0.05$). 50 mg/L ve 150 mg/L

konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla artış gözlenirken 100 mg/L ve 250 mg/L konsantrasyonlarda ise MDA düzeyi kontrol grubuna yakın çıktığı gözlenmiştir. 6. saatte kontrol grubuna kıyasla en düşük aktivite 150 mg/L konsantrasyonda gözlenmiş olup diğer konsantrasyonlarda artış gözlenmiştir ve en yüksek artış 250 mg/L konsantrasyonda görülmüştür. Buna nazaran konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). 9 ve 12 saat sonunda MDA düzeylerinde en yüksek artışın gözlemlendiği NP konsantrasyonu 200 mg/L olup, 9. saatte 50 mg/L ve 12. saatte 250 mg/L konsantrasyonda kontrol grubuna nazaran bir artış görülmektedir. 24 saat sonunda tüm dozlarda MDA seviyesinde düşüş gözlenirken 250 mg/L konsantrasyondaki MDA seviyesi kontrol grubuna yakın bir değer göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

3.3.4. Süperoksit dismutaz (SOD)



Şekil 3.8. *Tetrahymena thermophila*'da nanoplastik maruziyeti sonucunda SOD aktivitesi grafiği.

SOD aktivitesi, NP maruziyeti sonucunda ilk üç saatte artan dozlarda dalgalı bir grafik göstermiştir. Kontrol grubuna kıyasla 150 mg/L ve 250 mg/L konsantrasyonlar haricinde SOD aktivitesinde düşüş meydana geldiği gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). 6. saatte kontrol grubuna kıyasla farklı konsantrasyonlarda azalma gözlenmiştir fakat diğer konsantrasyonlara nazaran 150 mg/L ve 200 mg/L de artış söz konusudur. 9. saate bakıldığında kontrol grubu ile 200 mg/L ve 250 mg/L konsantrasyonlarda maruziyette

SOD aktivitesinde artış söz konusudur fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 24 saat maruziyet sonucunda ise 150 mg/L konsantrasyonda artış gözlenmekte olup istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$).

Genel olarak düşük konsantrasyonlarda (50-100 mg/L) SOD aktivitesinde zamana bağlı olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında herhangi bir artış olmamakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). 150 mg/L NP konsantrasyonunda zamana bağlı olarak SOD aktivitesinde artış görülmektedir. 12 ve 24 saatte kontrol grubuna nazaran aktivite artmış olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmektedir ($p<0.05$). 200 mg/L konsantrasyona bakıldığında ilk 9 saatlik maruziyet sonucunda SOD aktivitesinde artış gözlenmiş 12 ve 24. saatlerde aktivite düşmüştür. En yüksek konsantrasyonda (250 mg/L) ise 6 saat maruziyet sonucunda SOD aktivitesi azalmış olsa da 9 ve 12 saatlik maruziyette kontrol grubuna kıyasla aktivite artışı gözlenmiştir. 24 saatlik maruziyet sonunda SOD aktivitesi 12 saatlik maruziyetten sonra ölçülen aktiviteden yaklaşık olarak yarı yarıya bir azalma göstermiştir.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Nanoplastiklerin sucul organizmalar tarafından doğrudan veya dolaylı olarak alınması sonucunda geniş bir biyolojik, kimyasal ve fiziksel etkileri vardır ve sucul organizmaları etkileyerek artan morbidite ve mortaliteye yol açabilirler (Benson, vd., 2022). Nanoplastiklerin sucul ekosistemde biyolojik etkilerini anlamak üzere laboratuvar ortamında kolay kültüre edilen ve çevresel etkilere duyarlılığı nedeniyle tercih edilen sucul bir organizma olan *Tetrahymena thermophila* üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, sitotoksik etkiyi belirlemek için MTT testi yapılmıştır. NP maruziyetinin artan konsantrasyonlar ve zaman bağlı olarak hücre canlılığını etkilediği gözlenmiş olup 24 saatlik NP maruziyeti sonucunda LD₅₀ değeri 183,71 olarak belirlenmiştir. Wu ve ark. (2021), 20 nm boyutunda PS-NP'lerin *Tetrahymena thermophila* üzerindeki IC₅₀ değerini 24 saat maruziyet sonucunda 9,5 mg/L olarak ifade etmişlerdir. Li ve ark. (2025) tarafından PS-NP'ler ile yapılan bir çalışmada ise 50 nm boyutlardaki nanoplastiğin 100 mg/L den yüksek konsantrasyonlarda 24 saat sonucunda vücut uzunluğu ve alanını önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır. Bu tez çalışmasında kullanılan nanoplastiğin boyutu (100 nm) göz önüne alındığında benzer etkiler 24 saat maruziyet sonucunda görülmektedir.

Tetrahymena thermophila'da daha önce yapılan çalışmalarda değişen LD₅₀ değerinin; NP türü, boyutu ve laboratuvar koşulları gibi etkenlerden ileri geldiği düşünülmektedir. Diğer iki çalışmada da NP türleri benzer olmasına karşın NP parçacık boyutları birbirinden farklıdır. Ayrıca laboratuvar ortamında büyütülen ve maruziyet boyunca kullanılan besi yerleri farklılık göstermektedir. Bu çalışma da kullanılan besi yeri (PPY), hücrelerin daha yavaş ve dengeli büyümesine neden olduğundan toksisite deneyleri için daha ideal olduğu düşünülmektedir. Li ve ark. (2025) tarafından gerçekleştirilen deneylerde maruziyet boyunca besi yeri olarak kullanılan SPP ise daha zengin bir besiyeridir ve hücrelerin hızlı bir şekilde çoğalmasını sağlar. Bu nedenle toksisite çalışmalarında ayrı bir stres yaratabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Gelecek çalışmalarda benzer türde NP'lerin sucul organizmalardaki etkilerinin araştırılması, çalışmalarda kullanılan NP'lerin benzer boyutlarda ve öncelikli olarak doğal kaynaklardan sağlanarak bir veri tabanı oluşturulması ile bu farklılıkların en aza indirilmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

NP'lerin çeşitli organizmalar üzerinde de etkileri araştırılmıştır. Örneğin *Daphnia magna* yenidoğanları üzerinde 100 nm boyutlu nanoplastiklerin toksik etkisi 24 saat

maruziyet sonucunda LD₅₀ değeri 86,31 mg/L olarak bulunmuştur (Reynolds, Giltrap, and Chambers, 2019). Bir diğer çalışmaya göre ise, *Hydra attenuata* üzerinde 24 saatlik 100 nm PS-NP'lerin LD₅₀ değeri >80 mg/L, EC₅₀ değeri ise 18,4 mg/L olarak ifade edilmiştir. Aynı zamanda parçacık boyutuyla ilgili 100 nm boyuttaki nanoplastiğin 50 nm boyuttaki nanoplastiğe oranla daha toksik olduğu bildirilmiştir (Auclair, Quinn, Peyrot, Wilkinson, and Gagné, 2020). Toksikolojik çalışmalarda sıklıkla model organizma olarak kullanılan *Danio rerio* (zebra balığı) üzerinde yapılan 50 nm boyutundaki PS-NP'lerin öldürücü etkisi fazla olmamakla birlikte *Caenorhabditis elegans* üzerinde 1 µm boyuttaki nanoplastiklerin 0.5 – 10 mg/L konsantrasyonlarında güçlü bir öldürücülüğe sahip olduğu bildirilmiştir (Lei, vd., 2018). Karşılaştırmalı çalışmalara bakıldığında genel olarak uzun süreli maruziyette NP'lerin parçacık boyutunun küçüldükçe büyüme ve öldürücü etkisinin arttığı göz önünde bulundurulmalı ve gelecek çalışmalarda NP'lerin uzaklaştırılması ve biyoarıtımı üzerinde daha fazla durulması gerektiği düşünülmektedir.

Tetrahymena thermophila üzerinde farklı konsantrasyonlarda NP'lerin 24 saat maruziyeti sonucunda herhangi bir DNA hasarı oluşturup oluşturmadığını gözlemlemek amacıyla COMET testi uygulanmıştır. Bu deney kapsamında DNA hasarını kuyruk uzunluğu, % kuyruk DNA'sı ve kuyruk momenti parametreleri gözlemlenmiştir. Tüm parametreler değerlendirildiğinde 150 mg/L konsantrasyonun altındaki konsantrasyonlarda önemli bir değişiklik gözlenmemekle beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0.05). Sonuç olarak hücrelerde düşük konsantrasyonlarda DNA hasarı gözlenmemekte olup genotoksik bir etki gözlenmemiştir. Daha önce çeşitli sucul organizmalar üzerinde yapılan çalışmalarda NP'lerin, DNA hasarı ve düzensizliğine neden olduğundan genotoksik etkisinin varlığı bildirilmiştir (Gong, vd., 2023). Örneğin; 1 µm boyuttaki polistren plastik parçacıklarının 8,5 µg/L konsantrasyonundaki konsantrasyonlarda su piresinde (*Ceriodaphnia dubia*) COMET testi sonucunda genotoksik etkisi bulunmuştur (Nugnes, Lavorgna, Orlo, Russo, and Isidori, 2022). Literatürde NP'lerin genotoksik etkileri halen araştırılmaktadır ve bu tez kapsamında *Tetrahymena thermophila* üzerinde NP'lerin genotoksik etkisinin varlığı 150 mg/L konsantrasyonundaki konsantrasyonlarda tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında; farklı konsantrasyon (0-250 mg/L) ve zaman noktalarında (3-24 saat) NP'lerin oksidatif stres parametreleri ve hücre canlılığı üzerindeki etkileri kapsamlı olarak analiz edilmiştir. NP'lerin *Tetrahymena thermophila* üzerindeki biyokimyasal etkilerini gözlemlemek ve olası toksisitesi için antioksidant

etkilerin gözlemlenmek için yapılan analizler sonucunda hücre canlılığı da göz önüne alınarak oksidatif strese neden olduğu gözlenmiştir.

Biyokimyasal analizler sonucunda düşük dozlarda (50-100 mg/L) başlangıçta GST ve CAT aktivitelerinde geçici artışlara neden olarak *Tetrahymena thermophila*'nın detoksifikasyon mekanizmalarını harekete geçirdiğini göstermiştir. Ancak 150 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarda, özellikle 24 saatlik maruziyet sonucunda GST aktivitesinde neredeyse yarı yarıya olan azalma, SOD ve CAT aktivitelerinde tamamen baskılanma gözlenmiştir. Bu enzimatik çöküşe paralel olarak MDA düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla artış tespit edilmiş, bu da lipid peroksidasyonunun şiddetlendiğini ve hücre zarı bütünlüğünün bozulduğunu göstermiştir. MTT testi sonuçları, bu biyokimyasal değişimlerle uyumlu şekilde, 250 mg/L'de 24. saatte canlılığın %40'ın altına düştüğünü ortaya koymuştur.

NP'lerin önce antioksidan savunma sistemlerini (özellikle SOD ve CAT) baskılayarak reaktif oksijen türlerinin birikimine yol açtığı, bunun sonucunda artan oksidatif stresin lipid peroksidasyonunu tetiklediği ve nihayetinde hücre ölümüne neden olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle 6-9. saatler arasında SOD aktivitesindeki geçici artışlar, hücrenin oksidatif strese karşı verdiği savunma yanıtını yansıtmaktadır. Ancak uzun süreli maruziyet ve yüksek dozlarda bu savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı görülmüştür.

Elde edilen verilerde düşük konsantrasyon aralığında (50-100 mg/L), 3-6 saatlik dönemde GST enzim aktivitesinde gözlenen artışlar, hücrelerin detoksifikasyon mekanizmalarını hızla aktive ettiğini göstermektedir. Bu dönemde paralel olarak CAT ve SOD aktivitelerindeki artışlar ile MDA düzeylerindeki kontrollü yükseliş, oksidatif dengenin korunduğuna işaret etmektedir. MTT sonuçlarına göre bu doz ve saat aralıklarında %80-85 canlılık göstermesi, bu konsantrasyon aralığının hücre homeostazını sürdürdüğünü kanıtlamaktadır.

Bu bulgular sonucunda, NP'lerin 100 mg/L altındaki konsantrasyonlarda gözle görülür bir etki göstermediği, 150 mg/L üzerindeki konsantrasyonlarda ise belirgin toksik etki gösterdiği söylenebilir. Deneysel bulgular, nanoplastiğin özellikle uzun süreli maruziyetlerde oksidatif stres yoluyla hücre hasara neden olabileceğini ortaya koymaktadır.

Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda bakteriler, kabuklular, balıklar vb. sucul organizmalarda NP'lerin reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerini yükselttiği, hücresel

oksidatif hasarın birikmesine neden olduğu ve antioksidan biyomoleküllerin seviyelerini, aktivitesini etkilediği bildirilmiştir. Aşırı ROS seviyeleri ise, mitokondriyal ve lizozomal bozulmaya, lipid peroksidasyonuna, antioksidan yanıtların aktivasyonuna ve inflamasyona yol açabilmektedir (Trevisan, Ranasinghe, Jayasundara, and Di Giulio, 2022).

Bu alışma ile NP'lerin sucul bir organizma olan *Tetrahymena thermophila*  zerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri gösterilmiştir. Bu alışma sonucunda elde edilen veriler ise, ilerleyen dönemlerde yapılacak olan çalışmalar da NP'lerin hücreler tarafından biriktirilme veya metabolize edilebilme potansiyellerinin araştırılmasının  n n  açarak biyolojik arıtım süreçlerinde kullanımı konusunda rehber olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Aeschlimann, M., Li, G., Kanji, Z. A., and Mitrano, D. M. (2022). Potential impacts of atmospheric microplastics and nanoplastics on cloud formation processes. *Nature Geoscience*, 15, 967-975.
- Allouzi, M. M., Tang, D. Y., Chew, K. W., Rinklebe, J., Bolan, N., Allouzi, S. M., and Show, P. L. (2021). Micro (nano) plastic pollution: The ecological influence on soil-plant system and human health. *Science of The Total Environment*.
- Alqahtani, S., Alqahtani, S., Saquib, Q., and Mohiddin, F. (2023). Toxicological impact of microplastics and nanoplastics on humans: understanding the mechanistic aspect of the interaction. *Frontiers in Toxicology*.
- Arif, Y., Mir, A. R., Zieliński, P., Hayat, S., and Bajguz, A. (2024). Microplastics and nanoplastics: Source, behavior, remediation, and multi-level environmental impact. *Journal of Environmental Management*, 356.
- Auclair, J., Quinn, B., Peyrot, C., Wilkinson, K. J., and Gagné, F. (2020). Detection, biophysical effects, and toxicity of polystyrene nanoparticles to the cnidarian *Hydra attenuata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 11772-11781.
- Benson, N. U., Agboola, O. D., Fred-Ahmadu, O. H., De-la-Torre, G. E., Oluwalana, A., and Williams, A. B. (2022). Micro(nano)plastics Prevalence, Food Web Interactions, and Toxicity Assessment in Aquatic Organisms: A Review. *Frontiers in Marine Science*, 9.
- Bhat, M. A., Gedik, K., and Gaga, E. O. (2022). Atmospheric micro (nano) plastics: future growing concerns for human health. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 16(2), 233-262.
- Bianco, A., and Passananti, M. (2020). Atmospheric Micro and Nanoplastics: An Enormous Microscopic Problem. *Sustainability*, 12(18), 7327.
- Boutaina, A., Sitel, H., El Khalf, B., Derdak, R., Sakoui, S., Elmakssoudi, A., and Soukri, A. (2022). Cryoprotective Effect of Pyrano-[2,3-C]-Pyrazoles on H₂O₂ Induced Damage in *Tetrahymena thermophila*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*.
- Bulannga, R. B., and Schmidt, S. (2024). Micro- and nanoplastics in freshwater ecosystems—interaction with and impact upon bacterivorous ciliates. *Frontiers in Earth Science*, 12.
- Cai, H., Xu, E. G., Du, F., Li, R., Liu, J., and Shi, H. (2021). Analysis of environmental nanoplastics: Progress and challenges. *Chemical Engineering Journal*, 410.
- Cunningham, B. E., Sharpe, E. E., Brander, S. M., Landis, W. G., and Harper, S. L. (2023). Critical gaps in nanoplastics research and their connection to risk assessment. *Frontiers in Toxicology*.
- da Costa, J. P., Reis, V., Paço, A., Costa, M., Duarte, A. C., and Rocha-Santos, T. (2019). Micro(nano)plastics – Analytical challenges towards risk evaluation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 111, 173-184.

- da Costa, J. P., Santos, P. S., Duarte, A. C., and Rocha-Santos, T. (2016). (Nano)plastics in the environment – Sources, fates and effects. *Science of The Total Environment*, 566-567, 15-26.
- Dube, E., and Okuthe, G. E. (2023). Plastics and Micro/Nano-Plastics (MNPs) in the Environment: Occurrence, Impact, and Toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(17).
- Foetisch, A., Filella, M., Watts, B., Vinot, L.-H., and Bigalke, M. (2022). Identification and characterisation of individual nanoplastics by scanning transmission X-ray microscopy (STXM). *Journal of Hazardous Materials*, 426.
- Gigault, J., Halle, A., Baudrimont, M., Pascal, P.-Y., Gauffre, F., Phi, T.-L., . . . Reynaud, S. (2018). Current opinion: What is a nanoplastic? *Environmental Pollution*, 1030-1034.
- Gigault, J., Hadri, H., Grassl, B., Rowenczyk, L., Tufenkji, N., Feng, S., and Wiesner, M. (2021). Nanoplastics are neither microplastics nor engineered nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, , 501-507.
- Gillibert, R., Balakrishnan, G., Deshoules, Q., Tardivel, M., Magazzù, A., Donato, M. G., . . . Gucciardi, P. G. (2019). Raman Tweezers for Small Microplastics and Nanoplastics Identification in Seawater. *Environmental Science and Technology*, 53(15), 9003-9013.
- Goldberg, I., and Hochman, A. (1989). Purification and characterization of a novel type of catalase from the bacterium *Klebsiella pneumoniae*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 330-336.
- Gong, H., Li, R., Li, F., Guo, X., Xu, L., Gan, L., . . . Wang, J. (2023). Toxicity of nanoplastics to aquatic organisms: Genotoxicity, cytotoxicity, individual level and beyond individual level. *Journal of Hazardous Materials*.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., and Jakoby, W. B. (1974). Glutathione-S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 7130-7139.
- Han, M., Liu, H., Zhu, T., Tang, S., Li, Y., Zhu, C., . . . Jiang, Q. (2024). Toxic effects of micro(nano)-plastics on terrestrial ecosystems and human health. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.
- Hong, J., Lee, B., Park, C., and Kim, Y. (2022). Novel measurement method of determining PS nanoplastic concentration via AuNPs aggregation with NaCl. *The Korean Journal of Chemical Engineering*, 39(10), 2842-2848.
- Huber, M. J., Ivleva, N. P., Booth, A. M., Beer, I., Bianchi, I., Drexel, R., . . . Caputo, F. (2023). Physicochemical characterization and quantification of nanoplastics: applicability, limitations and complementarity of batch and fractionation methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(15), 3007-3031.
- Kapkaç, H. A., and Arslanyolu, M. (2021). Identification of glutathione-S-transferase m19 and m34 among responsive GST genes against 1-chloro-2,4-dinitrobenzene treatment of *Tetrahymena thermophila*. *European Journal of Protistology*.
- Lei, L., Wu, S., Lu, S., Liu, M., Song, Y., Fu, Z., . . . He, D. (2018). Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and

- nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science of The Total Environment*, 619-620, 1-8.
- Li, A., Yuan, F., Li, L., Gu, J., Zhang, Y., Li, F., . . . Liu, F. (2025). Interactions between nanoplastics and *Tetrahymena thermophila*: Low toxicity vs. potential biodegradation. *Chemosphere*.
- Liu, Z., Cai, M., Yu, P., Chen, M., Wu, D., Zhang, M., and Zhao, Y. (2018). Age-dependent survival, stress defense, and AMPK in *Daphnia pulex* after short-term exposure to a polystyrene nanoplastic. *Aquatic Toxicology*, 1-8.
- Mandemaker, L. D., and Meirer, F. (2022). Spectro-Microscopic Techniques for Studying Nanoplastics in the Environment and in Organisms. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 62(2).
- Mariano, S., Tacconi, S., Fidaleo, M., Rossi, M., and Dini, L. (2021). Micro and Nanoplastics Identification: Classic Methods and Innovative Detection Techniques. *Frontiers in Toxicology*, 3.
- Miller, L. C., and Tainter, M. L. (1944). Estimation of the ED50 and Its Error by Means of Logarithmic-Probit Graph Paper. *Experimental Biology and Medicine*, 57(2), 261.
- Mills, C. L., Savanagoudar, J., de Almeida Monteiro Melo Ferraz, M., and Noonan, M. J. (2023). The need for environmentally realistic studies on the health effects of terrestrial microplastics. *Microplastics and Nanoplastics*, 3.
- Mortimer, M., Kasemets, K., Vodovnik, M., Marinsek-Logar, R., and Kahru, A. (2011). Exposure to CuO Nanoparticles Changes the Fatty Acid Composition of Protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Environmental Science and Technology*, 6617-6624.
- Mughal, Z. u., Aylaz, G., ve Andaç, M. (2022). Nanoplastiklerin toksik etkileri. *Artıbilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 51-59.
- Nguyen, B., and Tufenkji, N. (2022). Single-Particle Resolution Fluorescence Microscopy of Nanoplastics. *Environmental Science Technology*, 56(10), 6426-6435.
- Nugnes, R., Lavorgna, M., Orlo, E., Russo, C., and Isidori, M. (2022). Toxic impact of polystyrene microplastic particles in freshwater organisms. *Chemosphere*, 299, 134373.
- OECD. (2024). *Policy Scenarios for Eliminating Plastic Pollution by 2040*. Paris: OECD Publishing.
- Okeke, E. S., Chukwudozie, K. I., Addey, C. I., Okoro, J. O., Ezeorba, T. P., Atakpa, E. O., . . . Nwuche, C. O. (2023). Micro and nanoplastics ravaging our agroecosystem: A review of occurrence, fate, ecological impacts, detection, remediation, and prospects. *Heliyon*, 9(2).
- Okhawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 351-358.
- Orias, E., Cervantes, M. D., and Hamilton, E. P. (2011). *Tetrahymena Thermophila*, a Unicellular Eukaryote with Separate Germline and Somatic Genomes. *Research in Microbiology*, 162(6), 578-586.

- Pathan, S., Arfaioi, P., Bardelli, T., Ceccherini, M., Nannipieri, P., and Piatramellara, G. (2020). Soil Pollution from Micro- and Nanoplastic Debris: A Hidden and Unknown Biohazard. *Sustainability*.
- Peng, L., Fu, D., Qi, H., Lan, C., Yu, H., and Ge, C. (2020). Micro- and nano-plastics in marine environment: Source, distribution and threats — A review. *Science of The Total Environment*, 698.
- Preda, O.-T., Vlasceanu, A.-M., Andreescu, C. V., Tsatsakis, A., Mezhuev, Y., Negrei, C., and Baconi, D. L. (2024). Health Implications of Widespread Micro- and Nanoplastic Exposure: Environmental Prevalence, Mechanisms, and Biological Impact on Humans. *Toxics*, 12(10).
- Qian, N., Gao, X., Lang, X., Deng, H., Bratu, T. M., Chen, Q., . . . Min, W. (2024). Rapid single-particle chemical imaging of nanoplastics by SRS microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(3).
- Qian, N., Gao, X., Lang, X., Denq, H., Bratu, T. M., Chen, Q., . . . Min, W. (2024). Rapid single-particle chemical imaging of nanoplastics by SRS microscopy. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(3).
- Reynolds, A., Giltrap, M., and Chambers, G. (2019). Evaluation of non-invasive toxicological analysis of nano-polystyrene in relative in vivo conditions to D. magna. *Environmental Science:Nano*, 6, 2832-2849.
- Schröter, L., and Ventura, N. (2022). Nanoplastic Toxicity: Insights and Challenges from Experimental Model Systems. *Nano-Micro Small*.
- Schwaferts, C., Sogne, V., Welz, R., Meier, F., Klein, T., Niessner, R., . . . Ivleva, N. P. (2020). Nanoplastic Analysis by Online Coupling of Raman Microscopy and Field-Flow Fractionation Enabled by Optical Tweezers. *Analytical Chemistry*, 92(8), 5813-5820.
- Stapleton, P. (2019). Toxicological considerations of nano-sized plastics. *AIMS Environmental Science*, 6(5), 367-378.
- Stock, V., Böhmert, L., Coban, G., Tyra, G., Vollbrecht, M.-L., Voss, L., . . . Sieg, H. (2022). Microplastics and nanoplastics: Size, surface and dispersant – What causes the effect? *Toxicology in Vitro*.
- Sun, Y., Oberley, L., and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
- Trevisan, R., Ranasinghe, P., Jayasundara, N., and Di Giulio, R. T. (2022). Nanoplastics in Aquatic Environments: Impacts on Aquatic Species and Interactions with Environmental Factors and Pollutants. *Toxics*, 10(6), 326.
- Trevisan, R., Uzochukwu, D., and Di Giulio, R. T. (2020). PAH Sorption to Nanoplastics and the Trojan Horse Effect as Drivers of Mitochondrial Toxicity and PAH Localization in Zebrafish. *Frontiers in Environmental Science*, 8.
- Tsuchida, K., Imoto, Y., Saito, T., Hara, J., and Kawabe, Y. (2025). Effect of solution pH on nanoplastic adsorption onto soil particle surface and the aggregation of soil particles. *Science of The Total Environment*, 975.

- Vasse, G. F., and Melgert, B. N. (2024). Microplastic and plastic pollution: impact on respiratory disease and health. *European Respiratory Review*, 33(172).
- Vidic, T., Lah, B., Berden-Zrimec, M., and Marinsek-Logar, R. (2009). Bioassays for Evaluating the Water-Extractable Genotoxic and Toxic Potential of Soils Polluted by Metal Smelters. *Environmental Toxicology*, 472-483.
- Wu, C., Guo, W.-B., Liu, Y.-Y., Yang, L., and Miao, A.-J. (2021). Perturbation of calcium homeostasis and multixenobiotic resistance by nanoplastics in the ciliate *Tetrahymena thermophila*. *Journal of Hazardous Materials*.
- Xie, H., Tian, X., Lin, X., Chen, R., Hameed, S., Wang, L., . . . Li, Y.-F. (2023). Nanoplastic-Induced Biological Effects In Vivo and In Vitro: An Overview. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*.
- Yu, Z., Xu, X., Guo, L., Jin, R., and Lu, Y. (2024). Uptake and transport of micro/nanoplastics in terrestrial plants: Detection, mechanisms, and influencing factors. *Science of The Total Environment*, 907.
- Zilberg, D., and Sinai, T. (2006). Optimization and validation of a colorimetric assay for *Tetrahymena* sp. survival. *Research in Microbiology*, 355-359.

ÖZGEÇMİŞ

ORCID NO: 0000-0003-3592-8864

Ad Soyad : Ece AKMAN PEHLİVANLI

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2025, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Biyoteknoloji Bilim Dalı (YL)
- 2024, Gönüllü Veteriner Hekim, Odunpazarı Belediyesi Sahipsiz Sokak Hayvanları Bakım ve Rehabilitasyon Merkezi
- 2021, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Bölümü
- 2017, Stajyer Veteriner Hekim, T.C. Kırşehir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Yayınları ve/veya Bilimsel/Sanatsal Faaliyetleri:

- Saltan, FZ., Akman, E., Ahmad, M. (2024). Aromatic and medicinal plants for the treatment of lice and scabies and impact as post-disaster. *Plants as Medicine and aromatics*. 34-46.
- 2024, Poster sunumu, Medicinal and Aromatic Plants for the Control of Lice and Scabies Following the Turkish Earthquake, 71st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), İRLANDA