

Chlorella vulgaris Mikroalginin Oksidatif Stres ve Büyümesi Üzerine Titanyum Dioksit Nanopartikül Dozu ve Fotoperiyotun Etkisi

*Makale Bilgisi / Article Info

Alındı/Received: 10.02.2025

Kabul/Accepted: 20.05.2025

Yaymlandı/Published: 03.12.2025

Effect of Titanium Dioxide Nanoparticle Dose and Photoperiod on Oxidative Stress and Growth of *Chlorella vulgaris* Microalgae

N.Pinar TANATTI^{1*}, Meryem AKSU², Gamze KATIRCIOĞLU SINMAZ², Büşra ERDEN²,
Ahsen AKBULUT ULUDAĞ², Füsun BOYSAN², İ.Ayhan ŞENGİL²

¹ Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Sakarya Meslek Yüksek Okulu, Çevre Koruma Teknolojileri Bölümü, Sakarya, Türkiye² Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

© The Authors | Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 (CC BY-NC) International License

Öz

Bu çalışmada, TiO₂ nanopartikülünün *Chlorella vulgaris* mikroalgindeki çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir. Farklı n.TiO₂ konsantrasyonlarının (2,5, 5, 10, 25, 50, 75 mg/L) ve farklı fotoperiyodun (6A:18K, 12A:12K, 18A:6K ve 24A:0K) SOD ve APOD antioksidan enzim aktiviteleri, MDA ve H₂O₂ miktarları, Chl-a ve Chl-b pigmentleri, AKM ve lipid üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Yüksek n.TiO₂ dozlarında kontrol grubuna SOD ve MDA miktarında artış gözlemlenirken APOD ve H₂O₂ miktarlarında azalma gözlemlenmiştir. Yüksek nanopartikül konsantrasyonlarına maruz kalan *C. vulgaris* mikroalg hücrelerinde oksidatif stres olduğu belirlenmiştir. Chl-a, Chl-b ve AKM parametreleri n.TiO₂ dozuna bağlı olarak değişkenlik göstermekte olup 10 ve 50 mg/L n.TiO₂ dozları aralığında artış göstermiştir. Lipid miktarındaki değişim ise düşük n.TiO₂ dozlarında azalma eğiliminde olduğu bulunmuştur. Farklı fotoperiyotlarda oksidatif stresin arttığı, 12A:12K fotoperiyotta ise toksik etkileri kısmen azaldığı gözlemlenmiştir. MDA ve H₂O₂ miktarlarındaki değişim 12A:12K ve 18A:6K fotoperiyotlarında olduğu belirlenmiştir. Klorofil pigmentleri, AKM ve lipid miktarında kontrol grubuna göre anlamlı değişim 12A:12K ve 24A:0K fotoperiyotta belirgin artış şeklinde olmaktadır. Farklı n.TiO₂ partikül dozlarının ve farklı fotoperiyotların *C. vulgaris*' in metabolik süreçleri arasındaki karmaşık etkileşimlere değerli sonuçlar sunarak, nanopartikül tabanlı ortamlardaki mikroalg tepkilerinin ve sürdürülebilir biyoteknolojideki potansiyel uygulamalarının anlaşılmasına bu çalışma ile katkıda bulunmaktadır.

Abstract

In this study, the effects of TiO₂ nanoparticles on various biochemical and physiological growth of *Chlorella vulgaris* microalgae were investigated. The effects of different n.TiO₂ concentrations (2.5, 5, 10, 25, 50, 75 mg/L) and different photoperiods (6L:1DK, 12L:12D, 18L:6D and 24L:0D) on SOD and APX antioxidant enzyme activities, MDA and H₂O₂ amounts, Chl-a and Chl-b pigments, TSS and lipid were evaluated. While an increase in SOD and MDA amounts was observed in the control group at high n.TiO₂ doses, a decrease in APOD and H₂O₂ amounts was observed. It was determined that oxidative stress occurred in *C. vulgaris* microalgae cells exposed to high nanoparticle concentrations. Chl-a, Chl-b and TSS parameters varied depending on the n.TiO₂ dose and increased between 10 and 50 mg/L n.TiO₂ doses. The change in lipid amount was found to decrease at low n.TiO₂ doses. It was observed that oxidative stress increased at different photoperiods, while toxic effects were partially reduced at 12L:12D photoperiod. Changes in MDA and H₂O₂ amounts were determined at 12L:12D and 18L:6D photoperiods. Significant changes in chlorophyll pigments, TSS and lipid amounts compared to the control group were observed as significant increases at 12L:12D and 24L:0D photoperiods. This study contributes to the understanding of the complex interactions between the metabolic processes of *C. vulgaris* at different n.TiO₂ particle doses and different photoperiods, and to the understanding of microalgae responses in nanoparticle-based environments and their potential applications in sustainable biotechnology.

Anahtar Kelimeler: n.TiO₂, antioksidan enzim aktivitesi, MDA, Klorofil, Lipid

Keywords: n.TiO₂, antioksidant enzym activity, MDA, chlorophyll, Lipid

1. Giriş

Nanoteknoloji, uzun yıllardır araştırılan ve en hızlı gelişen teknoloji alanlarından biridir (Sizochenko vd. 2021, Narayanan vd. 2025). Nanopartiküller, benzersiz yapıları, geniş yüzey alanı, yüzey modifikasyon kabiliyeti, yüksek reaktivite, optik özellikler ve manyetik özellikler gibi

birçok özelliğe sahiptir (Kalitsov vd. 2024, Yahyae vd. 2024). Küresel olarak, tıp, ilaç, kişisel bakım, ev ve bahçe ürünleri, otomotiv, gıda, elektronik, tekstil, su ve atık su arıtımı gibi birçok sektörde nanopartiküller kullanılmaktadır (Aksu vd. 2022, Barbero vd. 2021, Malik vd. 2023). Endüstrilerde Ag, Ti, Cu, Zn, Fe, Ce ve Al

nanopartikülleri en sık kullanılan nanopartikül türlerdir (Canlı ve Canlı 2020).

Üretimlerine ve büyük miktarlarda kullanılmalarına bağlı olarak nanopartiküller hava, su, toprak ve sedimentte salınımına ve birikime neden olmaktadır (Martínez vd. 2020). Nanopartiküller yüzey sularına doğrudan veya dolaylı yollarla salınır. Nanopartiküllerin çeşitli alanlarda kullanımına bağlı olarak yüzey akışı ve yeraltına sızma yoluyla suya ve yeraltı suyuna ulaşırlar (Simeonidis ve Mourdikoudis 2023). Bu nedenle nanopartiküllerin sağlığa ve çevreye olan olası olumsuz etkileri son yıllarda bilim dünyasında endişe verici olarak nitelendirilmektedir (Service 2005). Ayrıca üretimde kullanılan nanopartiküllerin geleneksel arıtma ile uzaklaştırılması zordur. Ancak, bu nanopartiküller için su kirliliği mevzuatında herhangi bir kısıtlama yoktur. Bununla birlikte, birçok çalışma nanopartiküllerin hücrede birikebileceğini ve hücre fonksiyonunu doğrudan etkileyen iyonlar salılabileceğini, bunun da DNA hasarına ve nihayetinde hücre ölümüne yol açtığını kanıtlamıştır (Xiong vd. 2011, Narayanan vd. 2024).

Mikroalgler, ışık ve inorganik besinleri tüketen ototrofik organizmalardır (Markou ve Nerantzis 2013). Sucul ortamlarda birincil üreticiler olarak mikroalgler, büyük miktarda oksijen ve asimile edilmiş ürünler sağlar. Ek olarak, mikroalgler zooplankton, balık ve bazı sucul organizmalar için doğrudan-dolaylı besin sağlar (Liu vd. 2022). Tek hücreli ökaryotik bir mikroalg türü olan *C. vulgaris*, büyük miktarda protein, lipid ve diğer biyoaktif moleküller içerir (Angelini vd. 2024, Van Nerom vd. 2024).

Sucul organizmalarda, nanopartiküllerin yüksek reaktivitesi mutasyon, hücresel bütünlüğün bozulması, oksidatif stres hasarı, fotosentetik mekanizmaların bozulması ve toksik maddelerin salınması gibi birçok zararlı etkiye neden olur (Ahn vd. 2022, Van Nerom vd. 2024).

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücre zarı, mitokondri ve kloroplasttaki elektron sızıntısı sonucu üretilir (Rezayian vd. 2019). Nanopartiküllerin mikroalglerle teması, mikroalg hücrelerinde ROS (süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri ($\cdot OH$) üretimine neden olur (Iannelli vd. 2022, Noori vd. 2024). Bu durumda mikroalg hücresi, doğal savunma mekanizmasını kullanarak ROS'u detoksifiye etmeye çalışır. Alglerin benzersiz bir özelliği, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APOD) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler aracılığıyla bir ROS temizleme mekanizmasına sahip olmalarıdır (Mahana vd. 2021). Bu sistemdeki denge mekanizmasının bozulması mikroalg hücrelerinde oksidatif

strese yol açar. (Wang vd. 2024). Oksidatif stres, DNA, RNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlerde oksidatif hasara neden olur (Sachdev ve Ahmad 2021).

Titanyum doğada en fazla bulunan dokuzuncu elementtir ve metalik titanyumun okside olmuş hali TiO_2 'dir (Shi vd. 2013). TiO_2 nanopartikülü ile farklı canlılarda çok sayıda toksisite çalışmaları literatürde bulunmaktadır. 10, 30 ve 300 nm çaplarındaki TiO_2 nanopartikülünün tatlı *Pseudokirchneriella subcapitata* üzerindeki ekotoksitesinde farklı boyutlardaki nanopartiküllerin alg büyümesi üzerine engelleyici olduğu gözlenmiştir (Hartmann vd. 2010). $n.TiO_2$ 'ye maruz kalan gökkuşağı alabalıklarında oksidatif stres nedeniyle solungaçlarında hasar meydana gelmiştir (Federici vd. 2007). *Daphnia*'nın ortamına TiO_2 katılarak 48 ve 72 saat sonunda toksisite ölçülmüştür. 48 saatte çok az toksisite belirlenirken, 72 saatte yüksek toksisite belirlenmiştir (Zhu vd. 2010). Yeşil alg *Desmodesmus subspicatus*'un $n.TiO_2$ 'nin maruziyetinde TiO_2 'nin toksisitede önemli bir parametre olduğunu belirtmiştir (Navarro vd. 2008). Ayrıca küçük partiküller büyük partiküllerden çok daha fazla toksisiteye neden olmaktadır (Hund-Rinke ve Simon 2006). Farklı çaplarda (21 nm ve 1 μm) TiO_2 partiküllerinin ratlar üzerinde toksik etkileri 24 saat boyunca incelemişlerdir. Ratlara inhalasyon yoluyla alınan nano partiküllerin ratların omuz kası arterlerinde bozukluklara neden olduğunu tespit edilmiştir (Nurkiewicz vd. 2008). *C. vulgaris* mikroalglerinin 1 mg/L Ag-NP'ye maruz bırakılmasıyla SOD aktivitesinin 2,15 kat arttığı ancak ortama sistein eklendiğinde mikroalglerde SOD ve CAT aktivasyonu arttığı tespit edilmiştir (Mahana vd. 2021). *C. vulgaris* mikroalglerinde farklı konsantrasyonlarda (1-100 mg/L) $n.TiO_2$ (<21 nm) maruziyetinde SOD ve APOD enzim aktiviteleri azalırken, MDA, H_2O_2 ve klorofil pigmentinin arttığını belirlenmiştir (Sezer vd. 2022). *Chlorella elipsoidlerinin* 1,25 μM konsantrasyonda TiO_2 - NP'lere maruz bırakılması SOD, peroksidaz (POD) ve CAT aktivitesini önemli ölçüde artırdığı bulunmuştur (Matouke vd. 2018). < 1 $\mu g/m/L$ Al_2O_3 'e maruz bırakılan *Chlorella elipsoidleri* 13 nm ve < 50 nm büyüklüğündeki NP'ler ROS ve laktat dehidrogenaz (LDH) seviyelerinde artışa neden olmuştur (Dalai vd. 2014).

Bu çalışmada, birçok sektörde yaygın olarak kullanılan, su ve çevre için önemli olan (<25 nm çapındaki) TiO_2 nanopartikülünün *C. vulgaris* mikroalgleri üzerindeki toksik etkileri ve alg büyümesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Nanopartikül konsantrasyonu ve fotoperidyot (aydınlık:karanlık (A:K) parametrelerinin *C. vulgaris* mikroalgine toksik etkilerini belirlemek için SOD, APOD, MDA ve H_2O_2 analizleri yapılmıştır. Ayrıca nanopartiküllerin *C. vulgaris* büyümesi ve fotosentetik

aktivitesi üzerindeki etkisi toplam askıda katı madde (AKM), klorofil (Chl-a ve Chl-b) ve lipid analizleri ile belirlenmiştir. Böylece su ortamındaki $n.TiO_2$ 'nin mikroalglerin büyümesi, antioksidan enzimleri ve fotosentetik aktiviteleri üzerindeki etkisi ortaya konulmuştur. Ayrıca literatürde pek çalışılmayan fotoperiyodun etkisi bu parametreler ile belirlenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. *C. vulgaris* yetiştirme ortamı

C. vulgaris kültürü Sakarya Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarında yetiştirilmiştir. Alg besin ortamı olarak $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (1,6mg/L), $Na_2MoO_4 \cdot 4H_2O$ (6 µg/L), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,05 g/L), K_2HPO_4 (0,04 g/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,03 g/L), $NaNO_3$ (0,17 g/L), $NaHCO_3$ (0,17 g/L), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0,4 mg/L), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,01 mg/L), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,02 mg/L), Na_2EDTA (4,4 mg/L), H_3BO_3 (2,5 mg/L), biotin (0,05 µg/L), tiamin-HCl (0,1 mg/L), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,01 mg/L) maddeleri kullanılmıştır. H_2SeO_3 (1,3 µg/L) ve B12 (0,05 µg/L) maddeleri mikroalg kültürü besiyerine aşıl原因 olarak otoklavlanmış şişelerde (200 ml) büyütülmüştür (Gunawan vd. 2013). Alg hücreleri, alg büyüme odasında 100 µmol foton/m²s ışık yoğunluğunda soğutmalı beyaz floresan lambalar ışık kaynağı altında 25 °C' de 12A:12K fotoperiyot döngüsüyle büyütülmüştür. *C. vulgaris* mikroalg 1-2 günde lag fazını tamamlayarak logaritmik faza geçmektedir. Bu nedenle deneyler logaritmik fazın başlangıcı olan 3. gün başlatılmıştır. Alg kültürünün yetiştirilmesi için kullanılan tüm kimyasallar Merck markasından temin edilmiştir.

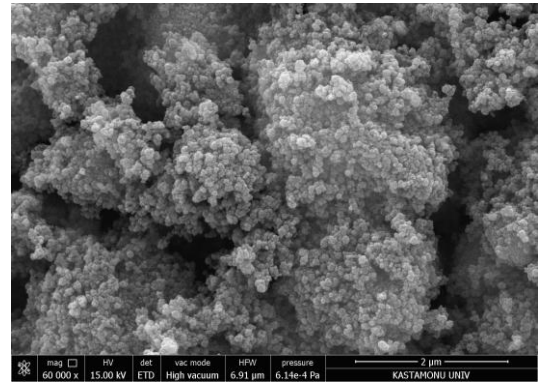
2.2. Deneyel tasarım

Bu çalışmada, *C. vulgaris* mikroalg üzerine <25 nm çapında TiO_2 nanopartikül konsantrasyonu ve fotoperiyodun etkisi araştırılmış olup *C. vulgaris* mikroalginin büyümesi, antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve lipid miktarlarındaki değişimler incelenmiştir. <25 nm çaplı $n.TiO_2$ Sigma Aldrich markasından tedarik edilmiştir. 1 g/L $n.TiO_2$ stok çözeltisi 30 dakika boyunca bir sonikatörle homojenize edilerek hazırlanmıştır. $n.TiO_2$ konsantrasyonunun etkisini araştırmak için 2,5, 5, 10, 25, 50 ve 75 mg/L konsantrasyonlarında deneyler yürütülmüştür. Fotoperiyodun etkisinin belirlenmesi için 6 saat aydınlık:18 saat karanlık (6A:18K), 12 saat aydınlık:12 saat karanlık (12A:12K), 18 saat aydınlık:6 saat karanlık (18A:6K), 24 saat aydınlık: 0 saat karanlık (24L:0K) çalışmaları yürütülmüştür.

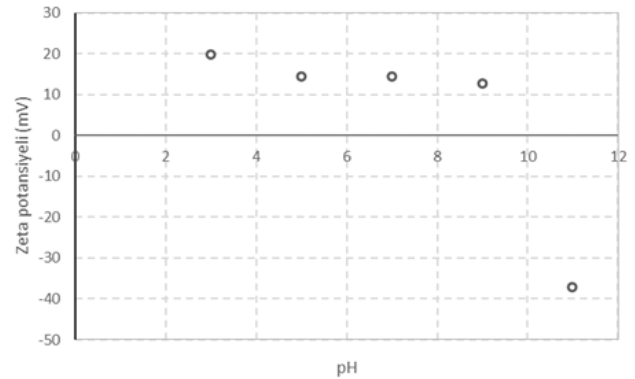
2.3. $n.TiO_2$ 'nin karakterizasyonu

$n.TiO_2$ partikülünün yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. TiO_2

nanopartikülünün 2 µm ölçekli SEM analizi Şekil 1'de verilmiştir. SEM analizinden nanopartikülün homojen çaplarda dağılımı olduğu görülmektedir. Nanopartiküllerin yüzey alanları Brunauer-Emmett-Teller (BET) ile tespit edilmiştir ve $n.TiO_2$ 'nin BET yüzey alanı 134,481 m²/g ve adsorpsiyon yüzey alanı 106,344m²/g olarak ölçülmüştür. Ayrıca nanopartiküllerin zeta potansiyellerinin pH ile değiştiği bilmektedir. Bu nedenle TiO_2 nanopartikülünün pH'a bağlı zeta potansiyelleri ölçülmüş olup Şekil 2'de verilmektedir. Yaklaşık olarak pH 10'da TiO_2 nanopartikülünün Zeta potansiyel değeri sıfır civarındadır. pH 10' un altında zeta potansiyeli pozitif olurken pH 10' un üzerindeki pH değerlerinde Zeta potansiyeli negatif değerlerdedir.



Şekil 1. TiO_2 < 25 nm' nin SEM görüntüsü



Şekil 2. TiO_2 'nin pH' a bağlı Zeta potansiyeli

2.4. Antioksidan Enzim Aktivitesi Analizleri

Toksisite çalışmalarında SOD ve APOD analizleri için 2 ml alg kültürü 4 °C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. SOD aktivitesi ölçümleri Beyer ve Fridovich'in (Beyer ve Fridovich 1987) modifiye edilmiş yöntemine göre uygulanmıştır. Peletler potasyum-fosfat (100 mM), sodyum EDTA (1 mM) ve %2 polivinilpirolidon içeren çözelti ile pH 7' de ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen örnekler 4 °C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenerek analiz için süpernatant kısmı ayrılmıştır. Numunelere sırasıyla %1 triton, potasyum fosfat tamponu (100 mM) (pH 7,8), nitroblue tetrazolyum (5.7×10^{-5} M), metiyonin (9.9×10^{-3} M) ve riboflavin (0.9 µM) eklenerek reaksiyon

başlatılmıştır. Daha sonra 15 dakika boyunca 375 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ ışıktaki bekletilmiştir. Numuneler 560 nm'de spektrofotometrede (Merck Marka, Pharo 300 model) ölçülmüştür (Tekbaba vd. 2021, Sezer vd. 2022). APOD antioksidan enzim aktivitesi, askorbatın oksidasyonunun 290 nm'deki tükenme hızını tahmin ederek Wang vd. (1991) tarafından modifiye edilmiş yönteme uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Peletler 1 mM sodyum EDTA, 50 mM Tris-HCl (pH 7,2), %2 PVP ve askorbat (2 mM) içeren çözelti ile ekstrakte edilip, ekstraktlar 14000 rpm' de 20 dakika boyunca 4 °C' de santrifüj edilmiş ve süpernatant kısım ayrılmıştır. APOD aktivitesi, askorbatın sönüm katsayısı ($E = 2,8 \text{ mM/cm } 290 \text{ nm' de}$) ile başlangıç reaksiyon hızı kullanılarak hesaplandı (Tekbaba vd, 2021, Wang vd. 1991). Bu aşamada kullanılan tüm kimyasallar Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

2.5. Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Analizleri

15 mL'lik mikroalg numunesi 4 °C' de 4.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek elde edilen peletler 5 mL %0,1 triklorik asit (TCA) ile ekstre edilmiş ve tekrar 10 dakika santrifüj edilmiştir. 0,5 mL süpernatant 1 mL trikloro asit - tiyobarbiturik asit (TCA-TBA) çözeltisi ve 0,5 mL 0,1 M Tris-HCl ile karıştırılmıştır. Ardından numuneler 95 °C' de su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Sönüm katsayısı kullanılarak MDA hesaplaması için numunelerin spektroskopik ölçümleri 532 ve 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür ve MDA değeri hesaplanmıştır. (Tekbaba vd. 2021). H_2O_2 miktarı belirlenirken 0,5 mL süpernatantta 0,1 M Tris-HCl ve 1 M KI çözeltilerinden 1 mL ilave edilerek 390 nm'de ölçülmüştür (Tunca vd. 2020). MDA ve H_2O_2 analizlerinde kullanılan tüm kimyasallar Merck markasından temin edilmiştir.

2.6. Klorofil pigmenti analizi ve Askıda katı madde analizi

Klorofil analizi için (Chl-a ve Chl-b) 5 mL mikroalg kültürü 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen peletler 5 mL ultra saf ve metanol (Merck) kullanılarak homojenizasyonu yapılmıştır. Karışım kuvvetlice çalkalandıktan sonra 24 saat boyunca 4 C'de inkübe edilmiştir. Numuneler 5 dakika (10000 rpm) santrifüj edilmiş ve üst fazın 630, 647, 663 ve 664 nm' de UV-Vis spektrofotometresi (Merck Brand, Pharo 300 modeli) absorbans değerleri ölçülmüştür (US EPA, 2024). Absorbansların düzeltilmesi kontrol olarak ultra saf metanol ile yapılmıştır (Porra 2002, Deng vd. 2017).

Denklem (1) ve (2) kullanılarak Klorofil-a (Chl-a) ve Klorofil-b (Chl-b) hesabı yapılmıştır.

$$\text{Chl} - a \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = [11,85 \times (A_{663}) - 1,54 \times (A_{647}) - 0,08(A_{630})] \times \frac{E(F)}{V(L)} \quad (1)$$

$$\text{Chl} - b \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) = [21,03 \times (A_{647}) - 5,43 \times (A_{664}) - 2,66 (A_{630})] \times \frac{E(F)}{V(L)} \quad (2)$$

Burada; F: Seyreltme faktörü, E: Ekstraksiyon için kullanılan aseton miktarı (mL), V: Filtrelenmiş su hacmi (L), L: Kuvars küvet uzunluğu (cm)

Biyokütle değişimini izlemek amacıyla 10 ml mikroalg numunesinde Standart Metodlar 2540 D' ye göre askıda katı madde analizi yapılmıştır (APHA 2017).

2.7. Lipid analizi

Hasat edilen mikroalg kütlesi 60 °C' de kurutulmuş ve hücre yapısının bozulması için hacimce %70 nitrik asit ve %70 sülfürik asit içeren hidrotermal asit uygulamasına maruz bırakılmıştır. Daha sonra parçalanmış numunenin 1 g' ı 10 mL kloroform ve 10 mL metanol ile karıştırılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen numunelere aynı hacimde kloroform eklenip 30 saniye karıştırılmış olup sonrasında çözeltiye 10 ml distile su eklenip 30 saniye daha karıştırılmıştır. Son olarak su banyosunda buharlaştırılarak lipit miktarı gravimetrik olarak belirlenmiştir (Katircioğlu Sınmaz vd. 2023).

2.8. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için veriler SPSS 20.0 paket programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiş ve değişkenler arasındaki farkı belirlemek için LSD testi yapılmıştır. Her bağımsız değişken için uygulama ve çeşitler arasındaki farkın anlamlılık kontrolü %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

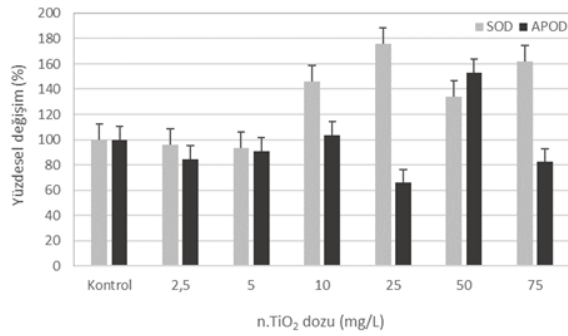
3. Deneysel Bulgular ve Tartışma

3.1. n.TiO₂ dozunun C. vulgaris mikroalgi üzerine etkisi

C. vulgaris mikroalginin bulunduğu ortama farklı dozlarda (2,5, 5, 10, 25, 50 ve 75 mg/L) n.TiO₂ sağlanması için 1 g/L n.TiO₂ stok çözeltisi kullanılmıştır. Mikroalgler üzerine dozun etkisi belirlenirken C. vulgaris çözeltileri 24 saat boyunca 100 $\mu\text{mol foton/m}^2\text{s}$ ışık yoğunluğunda soğutucu beyaz floresan lambalar altında tutulmuş ve sürekli çalkalanmıştır. Çalışmada yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak 25 °C'de gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3' de n.TiO₂ dozunun C.vulgaris mikroalgindeki SOD ve APOD antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkisi gösterilmektedir. SOD antioksidan enzim aktivitesi kontrol grubuna göre 10, 25, 50 ve 75 mg/L n.TiO₂ dozunda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$). APOD antioksidant enzim aktivitesi ise 25 mg/L n.TiO₂ dozunda anlamlı azalış gösterirken 50 mg/L n. TiO₂ dozunda anlamlı artış göstermektedir ($p<0,05$). SOD miktarındaki kontrol grubuna göre yüzdesel değişim 2,5

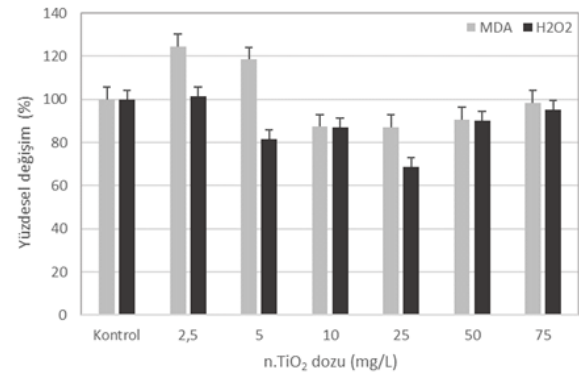
ve 5 mg/L n.TiO₂ dozunda yaklaşık %4 azalma eğilimindeyken 5 mg/L n.TiO₂ dozundan sonra ortalama %50 artış eğilimindedir. APOD antioksidant enzim aktivitesinde ise 2,5, 5, 25 ve 75 mg/L n.TiO₂ dozlarında kontrol grubuna göre yüzdesel azalış sırasıyla %15,45, %8,9, % 33,9 ve %17,67 olarak bulunmuşken 10 ve 50 mg/L'deki yüzdesel artış ise sırasıyla %3,65 ve %53,14 olarak belirlenmiştir. Mikroalg hücrelerindeki aşırı ROS, mikroalg biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerine zarar verebilir. Bu durumda, mikroalg hücrelerinin antioksidan sistemi, aşırı ROS' u temizlemek ve oksidatif hasarı önlemek için aktive olur (Gauthier vd. 2020). SOD, algler için reaktif oksijen türlerinin (ROS) toksik etkilerini azaltmaktan ve oksidatif stresi önlemekten sorumlu önemli bir enzimdir (Li vd. 2024). SOD, antioksidan sistemindeki ilk savunma hattıdır ve hücrelerdeki serbest radikalleri giderebilir ve H₂O₂ üretmek için ROS ile reaksiyona girebilir (Vazquez-Muñoz vd. 2019). Bununla birlikte SOD hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Barari vd. 2024). Oksidatif stres SOD tarafından tamamen ortadan kaldırılamaz ve buna eşlik eden hücre yapısı hasarındaki artış kaçınılmazdır (Türkmen vd. 2024). He vd. (2013)'e göre hücrenin ortamdaki n.TiO₂ dozuna bağlı olarak lipid yıkım etkisine karşı savunma yaptığını gösterir (He vd. 2015). Bu nedenle, n.TiO₂ dozlarına bağlı olarak SOD ve APX enzim aktivitesinde dalgalanmalar meydana gelir (Sezer vd. 2022).



Şekil 3. n.TiO₂ dozunun SOD ve APOD üzerine etkisi (fotoperiyot: 24A:0K, maruziyet süresi: 24 saat)

n.TiO₂ bulunan ortamda *C. vulgaris* mikroalginde MDA ve H₂O₂ miktarındaki değişim Şekil 4' de verilmektedir. Kontrol grubuna göre MDA miktarında 2,5 mg/L n.TiO₂ dozunda istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken H₂O₂ miktarındaki değişim ise 25 mg/L n.TiO₂ dozunda anlamlı azalış göstermektedir (p<0,05). 2,5 mg/L n.TiO₂ dozunda kontrol grubuna göre MDA miktarındaki yüzdesel değişim %24,59 iken 25 mg/L n.TiO₂ dozunda H₂O₂ miktarındaki yüzdesel değişim %31,24 olarak meydana gelmiştir. Hücreler kirlenmeler tarafından strese sokulduğunda bir dizi reaktif oksijen türü (ROS) üretilir (Zhang vd. 2023). Buna ek olarak dış stres koşulları altında da mikroalg hücrelerindeki moleküler oksijen, ROS oluşturmak üzere

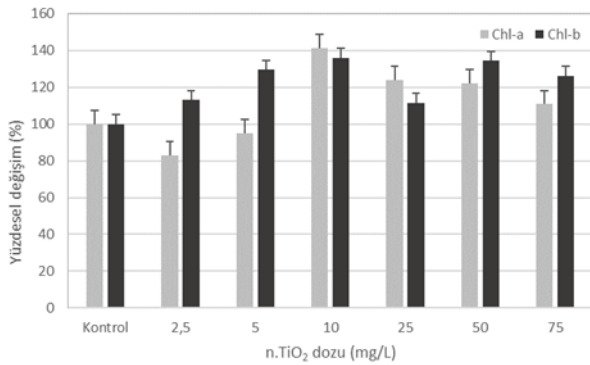
uyarılabilir (Hasanuzzaman vd. 2020). Genellikle aşırı ROS, doymamış yağ asitleriyle peroksidasyona neden olarak MDA üretir. MDA lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve varlığı stres altında lipid hasarının derecesini açıklayabilir (Chen vd. 2023). Ayrıca, SOD ve APOD' ta azalma/artış olduğunda, MDA ve H₂O₂' de de artış/azalma olmaktadır. Enzim aktiviteleri ile lipid peroksidasyon parametreleri arasında ters bir ilişki vardı. Bunun nedeni, mikroalg hücrelerindeki enzimatik savunma yeterli olmadığında, lipid peroksidasyonunda artış meydana gelmesidir. *C. vulgaris* hücrelerinin hücre içi MDA içeriği kontrol grubundakilerden daha yüksek olması, *C. vulgaris* hücrelerinin lipid peroksidasyonuna yol açtığını ve bunun da membran akışkanlığına, geçirgenliğine ve hücre membran bütünlüğüne zarar verdiğini göstermektedir. (Yang vd. 2024). TiO₂ NP'lerinin varlığı alg hücrelerinde ROS ve MDA'yı artırdığı ve SOD ve CAT aktivitelerini özellikle UW'de değişen derecelerde artışı belirlenmiştir. Alg hücrelerinde ROS üretiminin neden olduğu oksidatif stres tepkisine bağlı olduğu ve bu tepki antioksidan enzimlerin seviyesini değiştirdiğini ve oksidasyon ile redüksiyon arasındaki dengeyi bozduğu belirlenmiştir (Li vd. 2015).



Şekil 4. n.TiO₂ dozunun MDA ve H₂O₂ üzerine etkisi (fotoperiyot: 24A:0K, maruziyet süresi: 24 saat)

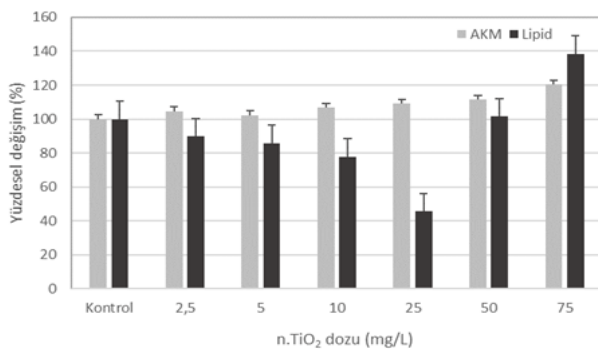
Chlorella vulgaris'in 24 saat boyunca 24A:0K fotoperiyotta TiO₂ nanopartiküllerine maruz bırakılması sonucunda, farklı dozlarda Chl-a ve Chl-b pigmentlerinde kontrol grubuna göre değişimler Şekil 5'de yüzdesel değişim olarak verilmiştir. 2,5 ve 5 mg/L n.TiO₂ dozunda kontrol grubuna göre Chl-a miktarında azalma gözlemlenirken 5 mg/L n.TiO₂ dozundan sonra Chl-a miktarında artma gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim 10 ve 25 mg/L n. TiO₂ dozlarında olup anlamlı artış şeklindedir (p<0,05). Chl-b miktarlarında ise kontrol grubuna göre artış eğilimi olup istatistiksel olarak anlamlı artışlar 5,10 ve 50 mg/L n.TiO₂ dozlarında elde edilmiştir (p<0,05). 10 ve 25 mg/L n. TiO₂ dozundaki Chl-a miktarındaki yüzdesel artış sırasıyla %41,18 ve %24,02 olarak bulunmuştur. Chl- b miktarındaki yüzdesel artış ise 5 mg/L n.TiO₂ dozunda %29,51, 10 mg/L n.TiO₂ dozunda

%36,07 ve 50 mg/L n.TiO₂ dozunda %34,43 olarak elde edilmiştir. Sezer vd. (2022)' ye göre n.TiO₂ dozunun artmasıyla birlikte *C. vulgaris* mikroalglerindeki Chl-a miktarı da artmıştır. Özellikle 50 ve 100 mg/L'lik yüksek konsantrasyonlarda Chl-a miktarı daha fazla arttığını rapor etmişlerdir (Sezer vd. 2022). Deng vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada *Phaeodactylum tricornutum* diatomunda n.TiO₂ çalışmasında Chl-a miktarının özellikle yüksek dozlarda (10, 20 ve 40 mg/L) arttığını bildirmiştir (Deng vd. 2017). *C. reinhardtii* algleri üzerine n.TiO₂'nin toksik etkisi incelendiğinde ve Chl-a konsantrasyonunda zamanın artmasına bağlı olarak artışlar meydana geldiğini belirlenmiştir (Chen vd. 2012).



Şekil 5. n.TiO₂ dozunun Chl-a ve Chl-b üzerine etkisi (fotoperiyot: 24A:0K, maruziyet süresi: 24 saat)

n.TiO₂'nin dozunun artırılmasının *C. vulgaris* mikroalglerinin biyokütlesi ve lipid miktarı üzerine etkilerini Şekil 6' da verilmektedir. Mikroalgler artan dozlarda n.TiO₂'ye maruz bırakıldığında, kontrol grubuna göre kıyasla biyokütlede maksimum %20' lik artış meydana gelmiştir. *C. vulgaris* mikroalginde 2,5 mg/L n.TiO₂ dozundan 25 mg/L n.TiO₂ dozuna kadar lipid oluşumunda azalma gözlemlenirken 75 mg/L n. TiO₂ dozunda lipid miktarında artış meydana geldiği gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna göre 10 ve 25 mg/L n. TiO₂ dozunda istatistiksel olarak anlamlı azalış olurken 75 mg/L n.TiO₂ dozunda anlamlı artış olmaktadır (p<0,05). 75 mg/L n.TiO₂ dozunda 135 mg/L lipid miktarında artış olduğu tespit edilmiştir.

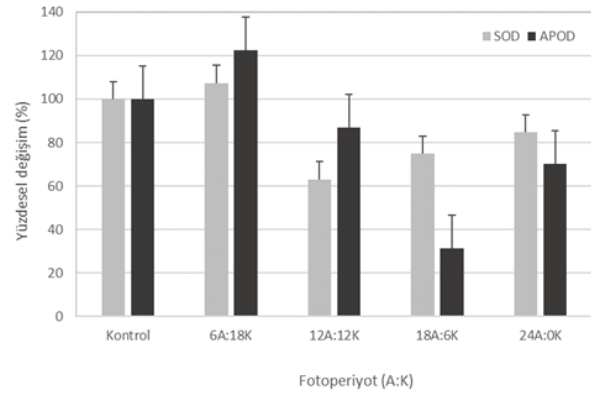


Şekil 6. n.TiO₂ dozunun AKM ve lipid üzerine etkisi (fotoperiyot: 24A:0K, maruziyet süresi: 24 saat)

3.2. Fotoperiyodun *C. vulgaris* mikroalgi üzerine etkisi

25 mg/L n.TiO₂ içeren bir alg çözeltisi, 1 g/L n.TiO₂ stok çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu alg çözeltilerinin aydınlık ortamını 100 µmol foton/m²s ışık yoğunluğunda soğutulmuş beyaz floresan lambalar ile sağlamış olup deneyler 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. *C. vulgaris* mikroalginin 24 saat maruziyet süresinde 6A:18K, 12A:12K, 18A:6K ve 24A:0K fotoperiyotlar için SOD, APOD enzim aktivitesi, MDA, H₂O₂, Chl-a, Chl-b ve lipid miktarları ölçülmüştür. Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

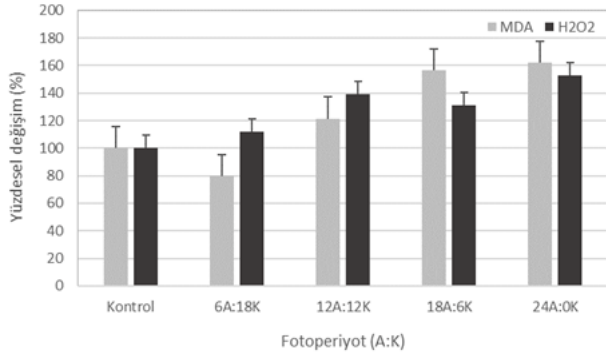
Fotoperiyot mikroalglerin gelişimi için önemli bir parametredir. Daha uzun veya daha kısa aydınlatma sürelerinin mikroalg hücreleri üzerindeki stres etkisini artıracağını bilinmektedir. *C. vulgaris* mikroalgine uygulanan farklı fotoperiyotların SOD ve APOD antioksidan enzim aktivitesi üzerine olan etkisi Şekil 7'de verilmiştir. Şekil 7 incelendiğinde, 18A: 6K fotoperiyodunda SOD ve APOD antioksidan enzim aktiviteleri kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir (p<0,05). SOD antioksidan enzim aktivitesinin APOD antioksidan enzim aktivitesi ile ters orantılı olmasının nedeni azalmasının nedeni n.TiO₂ tarafından O₂ ve diğer serbest radikallerin üretilmesidir.



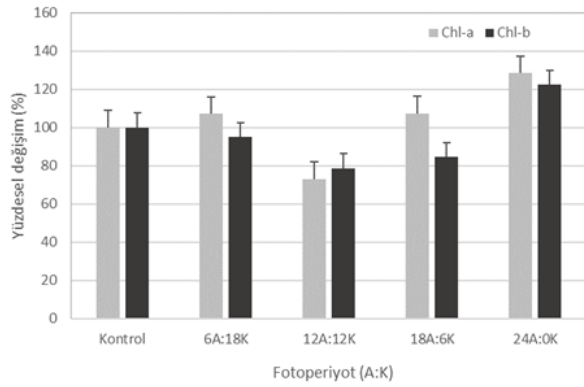
Şekil 7. Fotoperiyodun SOD ve APOD üzerine etkisi (n.TiO₂ dozu: 25 mg/L, maruziyet süresi: 24 saat)

Fotoperiyodun *C. vulgaris* mikroalginin kontrol grubuna göre MDA ve H₂O₂ miktarlarındaki değişimi Şekil 8' de verilmektedir. 18A:6K ve 24A:0K fotoperiyotlarda kontrol grubuna göre MDA ve H₂O₂ de istatistiksel olarak anlamlı artışlar görülmektedir (p<0,05). *C. vulgaris* mikroalginde MDA miktarındaki artış stres koşulları nedeniyle antioksidan enzimlerin aktivitesinin yavaşlaması nedeniyle de gözlemlenmiş olabilir. Bu da MDA miktarında artışa neden olur. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde aydınlık:karanlık sürelerinin mikroalg hücreleri üzerine stres oluşturacağı bunun da mikroalg hücrelerinde aşırı ROS birikimi ve lipid

oksidasyonuna yol açacağını göstermiştir. 20L:4D fotoperiyodundaki ROS ve MDA içeriği, 8L:16D fotoperiyodundakinden daha yüksek olarak bulunmuş ve bu da daha uzun aydınlatma süresinin mikroalg hücrelerinde daha belirgin oksidatif hasara neden olduğunu göstermiştir (Chen vd. 2023).



Şekil 8. Fotoperiyodun MDA ve H₂O₂ üzerine etkisi (n.TiO₂ dozu: 25 mg/L, maruziyet süresi: 24 saat)

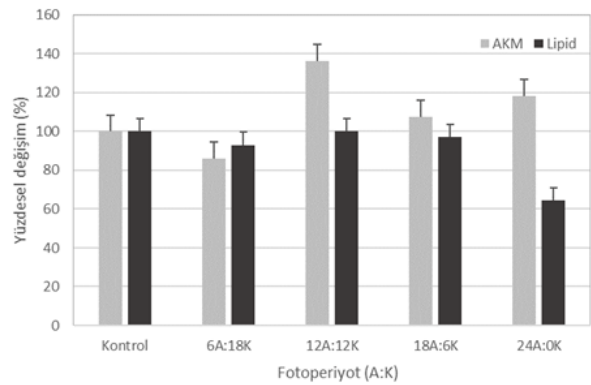


Şekil 9. Fotoperiyodun Chl-a ve Chl-b üzerine etkisi (n.TiO₂ dozu: 25 mg/L, maruziyet süresi: 24 saat)

Farklı fotoperiyotlara maruz bırakılan *C. vulgaris* mikroalglerinde Chl-a ve Chl-b miktarlarındaki yüzdesel değişim Şekil 9'da verilmiştir. 24A:0K fotoperiyodunda Chl-a ve Chl-b pigmentlerinde kontrol grubuna göre artış varken 12A:12K ve 18A:6K fotoperiyotlarında Chl-b pigmentinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Nikel oksit nanopartiküllerinin *Chlorella vulgaris* üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada nanopartiküllerin alg gelişimini inhibe ettiği ve klorofil-a miktarını azalttığı sonucuna varılmıştır (Gong vd. 20219). Başka bir çalışmada ise benzer şekilde diatom *Phaeodactylum tricornutum* üzerinde n.TiO₂ maruziyeti ile klorofil miktarının azalttığı belirtilmiştir (Wang vd. 2016). Alg büyümesinde belirli bir süre ışık enerji dönüşümüne ve biyokütle üretimine katkı sağlamaktadır. Sürekli ışık maruziyeti sonucunda mikroalg hücresinde fotoinhibisyon meydana gelmektedir. Buda Chl-a miktarında azalmaya sebep olmaktadır. Ayrıca aydınlatma süresinin azaltılmasında fotosentez sırasında alg tarafından yakalanabilen elektron miktarını azaltarak

fotosistemde elektron transferinin engellemektedir ve Chl-a miktarında değişime sebep olmaktadır. Farklı fotoperiyotlar migroalglerin biyokimyasal ve pigment yapısında farklılıklara sebep olması Chl-a ve Chl-b miktarındaki değişimi etkilemektedir (Gao vd. 2022).

Şekil 10' da n.TiO₂' nin *C. vulgaris* mikroalginin biyokütlesi ve lipid miktarına üzerine farklı fotoperiyotlarda etkisini göstermektedir. 6A:18K fotoperiyotta AKM miktarı kontrol grubuna göre azalmışken diğer fotoperiyotlarda artmıştır. Kontrol grubuna göre biyokütledaki en anlamlı artış 12A:12K fotoperiyotta elde edilmiştir (p<0,05). *C. vulgaris* mikroalginin lipid miktarı kontrol grubuna göre azalma eğilimde iken en fazla azalma %35,72 ile 24A:0K fotoperiyodunda belirlenmiştir. Nanopartiküllerin suya salınımı, bu nanopartiküllerin alglerle daha fazla etkileşime girmesine ve bir kompleks oluşturmaya yol açarak büyüme ve fotosentezdeki farkları oluşturmaktadır Alg Hücre boyutlarındaki farklılıklarda biyokütle artış ve azalışlarında etkili olduğu bilinmektedir (Liu vd. 2024).



Şekil 10. Fotoperiyodun Chl-a ve Chl-b üzerine etkisi (n.TiO₂ dozu: 25 mg/L, maruziyet süresi: 24 saat)

4. Sonuçlar

n.TiO₂ nanopartikül dozunun ve fotoperiyodun *Chlorella vulgaris* mikroalgindeki biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerini sistematik bir şekilde incelenmiş olması bu çalışmanın yenilikçi yönüdür. Özellikle, n.TiO₂ dozlarının, mikroalglerin antioksidan enzim aktiviteleri, pigment içeriği, biyokütle ve lipid üretimi gibi farklı metabolik süreçler üzerindeki etkilerini detaylı bir şekilde ortaya koyması, alandaki literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır. Ayrıca, çalışmanın fotoperiyot değişkenine de yer vererek, farklı ışık koşullarının mikroalg gelişimi ve metabolizması üzerindeki etkilerini incelemesi, bu alandaki diğer araştırmalardan farklı olarak çok boyutlu bir yaklaşım sergilemektedir. Mikroalg gelişiminde farklı çevresel koşulların (nanopartikül varlığı ve fotoperiyot) bu mikroalglerin biyokimyasal ve fizyolojik tepkilerine nasıl etki ettiğini ortaya koyan kapsamlı bir araştırma olarak yenilikçi bir değer taşımaktadır.

Farklı konsantrasyonlarda n.TiO₂' ye maruz bırakılan *C. vulgaris*' te, SOD aktivitesinde dozun miktarında bağlı bir tepkiye neden olduğunu ve daha yüksek nanopartikül konsantrasyonlarında (75 mg/L) önemli bir artış gözlemlendiğini ortaya koymuştur. SOD miktarındaki artış n.TiO₂' nin oksidatif stres indükleyicisi olarak hareket ettiğini ve gelişmiş antioksidan savunma mekanizmalarını tetiklediğini göstermektedir. APOD aktivitesi 25 ve 50 mg/L n.TiO₂ konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre azalma göstermiş olup bu dozlarda antioksidan dengesinde bir bozulma olduğunu göstermektedir. Ayrıca *C. vulgaris* mikroalginde n.TiO₂ tarafından indüklenen oksidatif stresi olduğu MDA ve H₂O₂ seviyelerindeki önemli değişiklikler olması da desteklemekmiştir. Düşük n.TiO₂ dozlarında MDA miktarlarındaki değişim bir artış gösterirken, H₂O₂ miktarlarındaki değişim daha yüksek n.TiO₂ dozlarında bir azalma göstermiştir. MDA miktarındaki artış/azalma ve H₂O₂ miktarındaki azalma/artış şeklindeki ters orantılı değişimler n.TiO₂'nin orta dozlarda belirli koruyucu mekanizmaları güçlendirebileceğini, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda oksidatif hasara da neden olduğunu göstermektedir. Düşük n.TiO₂ konsantrasyonlarında (2,5 ve 5 mg/L) Chl-a miktarında azalma gösterirken daha yüksek konsantrasyonlarda artma göstermektedir. Buna ek olarak Chl-b miktarında n.TiO₂ dozunun artışı ile artış meydana gelmiştir.

Bu çalışmanın diğer önemli bir yönü ise farklı fotoperiyotların *C. vulgaris*' in biyokimyasal ve fizyolojik tepkilerinin incelenmiş olmasıdır. Farklı fotoperiyotlarda (6A:18K, 12A:12K, 18A:6K ve 24A:0K) mikroalgin enzim aktivitelerini, pigment miktarını ve biyokütle üretimini önemli ölçüde değiştirdiği gösterilmiştir. 18A:6K fotoperiyodu SOD ve APOD antioksidan enzim aktivitelerinde önemli bir azalmaya neden oldu ve bu da uzun süreli ışık maruziyetinin alglerde stres tepkisine katkıda bulunabileceğini gösterdi. Buna karşılık, en olumlu etkileri gösterdi ve hem Chl-a hem de Chl-b konsantrasyonlarında ve biyokütle üretiminde artış 24A:0K fotoperiyodu belirlenmiş olup *C.vulgaris* mikroalginde olumlu etkilere sebep olduğu ortaya konmuştur. Fotoperiyot parametresinin alg metabolizmasını ve genel büyümeyi düzenlemede önemli bir rol oynaması nedeniyle mikroalg yetiştiriciliğinde aydınlık:karanlık oranlarının optimize edilmesinin önemi bu çalışma ile ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak, n.TiO₂ dozu ve fotoperiyot parametrelerinin *Chlorella vulgaris*'in biyokimyasal süreçleri arasındaki karmaşık ilişki bu çalışmada vurgulanmaktadır. Farklı n.TiO₂ dozunun hem antioksidan savunma mekanizmalarının uyarıcıları hem de oksidatif stres indükleyicileri olarak

hizmet edebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte fotoperiyot döngüleri mikroalg gelişimini düzenleyerek pigment üretimi, biyokütle birikimi ve lipit oluşumu gibi temel metabolik süreçleri etkilemektedir. Çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda gelecekte farklı partiküller veya farklı fotoperiyot döngülerinde çalışmalara destek sağlayacaktır.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar tüm etik standartlara uyduklarını beyan ederler.

Yazarlık Katkı Beyanı

Author-1:Proje Yöneticisi, Fikir Sahibi, Deney tasarımı, Kaynaklar, Araştırma, Deney, Metodoloji, Yazma – orijinal taslak
Görselleştirme, Yazma – orijinal taslak

Author-2: Kaynaklar, Araştırma, Deney

Author-3: Araştırma, Deney

Author-4: Araştırma, Deney

Author-5: Deney

Author-6: Kaynaklar

Author-7: Danışmanlık

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak beyan edecekleri hiçbir çıkar çatışması yoktur.

Verilerin Kullanılabilirliği

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, yayınlanan bu makaleye dahil edilmiştir.

Teşekkür

Bu araştırma Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: SUBÜ BAPK- 019-2020)

5. Kaynaklar

Ahn, H.J., Ahn, Y., Kurade, M.B., Patil, S.M., Ha, G.S., Bankole, P.O., Khan, M.A., Chang, S.W., Abdellattif, M.H., Yadav, K.K. ve Jeon, B.H., 2022. The comprehensive effects of aluminum oxide nanoparticles on the physiology of freshwater microalga *Scenedesmus obliquus* and its phycoremediation performance for the removal of sulfacetamide. *Environmental Research*, 215, 114314.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2022.114314>

Aksu, M., Has, M., Tanattı, N.P., Erden, B., Sınmaz, G. K., Boysan, F. ve Şengil, A., 2022. Assessment of photocatalytic n-TiO₂ /UV and n-TiO₂ /H₂ O₂ /UV methods to treat DB 86, RY 145 and AV 90 dye mix containing wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 266, 226–235.
<https://doi.org/10.5004/DWT.2022.28656>

Angelini, F., Bellini, E., Marchetti, A., Salvatori, G., Villano, M., Pontiggia, D. ve Ferrari, S., 2024. Efficient utilization of monosaccharides from agri-food byproducts supports *Chlorella vulgaris* biomass

- production under mixotrophic conditions. *Algal Research*, 77, 103358.
<https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2023.103358>
- APHA, 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *Standard Methods*, 541.
<https://doi.org/ISBN 9780875532356>
- Barari, F., Gabrabad, M.E. ve Bonyadi, Z., 2024. Recent progress on the toxic effects of microplastics on *Chlorella* sp. in aquatic environments, *Heliyon*, 10,32881.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32881>
- Barbero, F., Mayall, C., Drobne, D., Saiz-Poseu, J., Bastús, N. G. ve Puentes, V., 2021. Formation and evolution of the nanoparticle environmental corona: The case of Au and humic acid. *Science of The Total Environment*, 768, 144792.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.144792>
- Beyer, W.F. ve Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161(2), 559–566.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)
- Canli, E. G. ve Canli, M., 2020. Effects of aluminum, copper and titanium nanoparticles on the liver antioxidant enzymes of the Nile fish (*Oreochromis niloticus*). *Energy Reports*, 6, 62–67.
<https://doi.org/10.1016/J.EGYR.2020.10.047>
- Chen, L., Zhou, L., Liu, Y., Deng, S., Wu, H. ve Wang, G., 2012. Toxicological effects of nanometer titanium dioxide (nano-TiO₂) on *Chlamydomonas reinhardtii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 155–162.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.07.019>
- Chen, W., Liu, J., Chu, G., Wang, Q., Zhang, Y., Gao, C. ve Gao, M., 2023. Comparative evaluation of four *Chlorella* species treating mariculture wastewater under different photoperiods: Nitrogen removal performance, enzyme activity, and antioxidant response. *Bioresource Technology*, 386 (2023) 129511.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129511>
- Dalai, S., Pakrashi, S., Bhuvaneshwari, M., Iswarya, V., Chandrasekaran, N. ve Mukherjee, A., 2014. Toxic effect of Cr(VI) in presence of n-TiO₂ and n-Al₂O₃ particles towards freshwater microalgae. *Aquatic Toxicology*, 146, 28–37.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.029>
- Deng, X.Y., Cheng, J., Hu, X.L., Wang, L., Li, D. ve Gao, K., 2017. Biological effects of TiO₂ and CeO₂ nanoparticles on the growth, photosynthetic activity, and cellular components of a marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Science of the Total Environment*, 575, 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.003>
- Federici, G., Shaw, B. J. ve Handy, R.D., 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, 84 (4), 415–430.
- Gao, K., Xue, C., Yang, M., Li, L., Qian, P., Gao, Z., Gao, Z. ve Deng, X., Optimization of light intensity and photoperiod for growing *Chlorella sorokiniana* on cooking cocoon wastewater in a bubble-column bioreactor. *Algal Research*, 62,102612.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102612>
- Gauthier, M.R., Senhorinho, G.N.A. ve Scott, J.A., 2020. Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research*, 52, 102104.
- Gong, N., Shao, K., Che, C. ve Sun, Y., 2019. Stability of nickel oxide nanoparticles and its influence on toxicity to marine algae *Chlorella vulgaris*. *Marine Pollution Bulletin*, 149,110532.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110532>
- Gunawan, C., Sirimanoonphan, A., Teoh, W.Y., Marquis, C.P. ve Amal, R., 2013. Submicron and nano formulations of titanium dioxide and zinc oxide stimulate unique cellular toxicological responses in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 984–992.
<https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2013.06.067>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Parvin, K., Bhuiyan, T.F., Anee, T.I., Nahar, K., Hossen, M.S., Zulfikar, F., Alam, M.M. ve Fujita, M., 2020. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: a review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Science*, 21 (22), 8695.
- Hartmann, N.B., Von der Kammer, F., Hofmann, T., Baalousha, M., Ottofuelling, S. ve Baun, A. 2010. Algal testing of titanium dioxide nanoparticles – testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability. *Toxicology*, 269 (2–3), 190–197.
- He, Q., Yang, H., Wu, L. ve Hu, C., 2015. Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. *Bioresource Technology*, 191, 219–228.
- Hund-Rinke, K. ve Simon, M., 2006. Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids. *Environmental Science and Pollution Research*, 13 (4), 225–232.
- Iannelli, M.A., Bellini, A., Venditti, I., Casentini, B., Battocchio, C., Scalici, M.ve Ceschin, S., 2022. Differential phytotoxic effect of silver nitrate (AgNO₃) and bifunctionalized silver nanoparticles (AgNPs-Cit-L-Cys) on *Lemna* plants (duckweeds). *Aquatic Toxicology*, 250, 106260.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106260>

- Kalitsov, A., Zermatten, P.J., Bonell, F., Mitra, A., Mohapatra, J. ve Aslam, M., 2024. Magnetic and electronic properties of anisotropic magnetite nanoparticles. *Materials Research Express*, 11(2), 022002.
<https://doi.org/10.1088/2053-1591/AD2A84>
- Katircioğlu Sınmaz, G., Erden, B. Ve Şengil, İ.A., 2023. Cultivation of Chlorella vulgaris in alkaline condition for biodiesel feedstock after biological treatment of poultry slaughterhouse wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(3), 3237–3246.
<https://doi.org/10.1007/s13762-022-04137-4>
- Li, F., Liang, Z., Zheng, X., Zhao, W., Wu, M. ve Wang, Z., 2015. Toxicity of nano-TiO₂ on algae and the site of reactive oxygen species production. *Aquatic Toxicology*, 158, 1–13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.10.014>
- Li, J., a, Sun, Z.Z., Chen, Y.P. ve Jing Wang, J., 2024. Behavior and toxicity of silver nanoparticles to *Chlorella vulgaris*: A new perspective based on surface charges. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12, 111673.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111673>
- Liu, S., Han, J., Ma, X., Zhu, X., Qu, H., Xin, G. ve Huang, X., 2024. Repeated release of cerium oxide nanoparticles altered algal responses: Growth, photosynthesis, and photosynthetic gene expression. *Eco-Environment & Health*, 3, 290-299.
<https://doi.org/10.1016/j.eehl.2024.04.002>
- Liu, X., Wang, X., Zhang, F., Yao, X., Qiao, Z., Deng, J., Jiao, Q., Gong, L. ve Jiang, X., 2022. Toxic effects of fludioxonil on the growth, photosynthetic activity, oxidative stress, cell morphology, apoptosis, and metabolism of Chlorella vulgaris. *Science of The Total Environment*, 838, 156069.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.156069>
- Mahana, A., Guliy, O.I. ve Mehta, S.K., 2021. Accumulation and cellular toxicity of engineered metallic nanoparticle in freshwater microalgae: Current status and future challenges. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111662,
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111662>
- Malik, S., Muhammad, K. ve Waheed, Y., 2023. Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. *Molecules* 2023, Vol. 28, Page 661, 28(2), 661.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES28020661>
- Markou, G. ve Nerantzis, E., 2013. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1532–1542.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>
- Matouke, M.M., Elewa, D.T. ve Abdullahi, K., 2018. Binary effect of titanium dioxide nanoparticles (nTiO₂) and phosphorus on microalgae (Chlorella 'Ellipsoidea Gerneck, 1907). *Aquatic Toxicology*, 198, 40–48.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.009>
- Narayanan, M., Srinivasan, S., Gnanasekaran, C., Ramachandran, G., Chelliah, C.K., Rajivgandhi, G., Maruthupandy, M., Quero, F., Li W.J., Hayder, G., Khaled, J.M., Arunachalam, A. Ve Manoharan, N., 2024. Synthesis and characterization of marine seagrass (*Cymodocea serrulata*) mediated titanium dioxide nanoparticles for antibacterial, antibiofilm and antioxidant properties. *Microbial Pathogenesis*, 189, 106595,
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106595>
- Narayanan, M., Rajagopal, D.B., Krishnamoorthi, V. Gnanasekaran, C., Palanisamy, B., Manoharan, N., Ramachandran, G., Rajivgandhi, G., Bhaviripudi, V.R. ve Quero, F., 2025. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using endophytic *Streptomyces zaomyceticus* MNDV: Characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant, antidiabetic and photocatalytic properties. *Inorganic Chemistry Communications*, 171, 113560.
<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.113560>
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N.B., Filser, J., Miao, A.J., Quigg, A., Santschi, P.H. ve Sigg, L., 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17 (5), 372–386.
- Noori, A., Hasanuzzaman, M., Roychowdhury, R., Sarraf, M., Afzal, S., Das, S. ve Rastogi, A., 2024. Silver nanoparticles in plant health: Physiological response to phytotoxicity and oxidative stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 209, 108538.
<https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2024.108538>
- Nurkiewicz, T.R., Porter, D.W., Hubbs, A.F., Cumpston, J.L., Chen, B.T., Frazer, D.G. ve Castranova, V., 2008. Nanoparticle inhalation augments particle-dependent systemic microvascular dysfunction. *Particle and Fibre Toxicology*, 5, 1–12.
<https://doi.org/10.1186/1743-8977-5-1>
- Porra, R.J., 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73(1), 149–156.
<https://doi.org/10.1023/A:1020470224740>
- Rezayian, M., Niknam, V. ve Ebrahimzadeh, H., 2019. Oxidative damage and antioxidative system in algae. *Toxicology Reports*, 6, 1309–1313.
<https://doi.org/10.1016/J.TOXREP.2019.10.001>
- Sachdev, S. ve Ahmad, S., 2021. Role of nanomaterials in regulating oxidative stress in plants. In *Nanobiotechnology: Mitigation of Abiotic Stress in Plants* (pp. 305–326). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-73606-4_13

- Service, R.F., 2005. Calls rise for more research on toxicology of nanomaterials. *Science*, 310 (5754), 1609.
<https://doi.org/10.1126/science.310.5754.1609>
- Sezer, M., Tanattı, N.P. ve İ.A.,c, Interaction of TiO2 nanoparticles with the C. vulgaris: oxidative stress, lipid peroxidation and lipid amount. *Water Science & Technology*, 86 - 8, 2020
<https://doi.org/10.2166/wst.2022.335>
- Shi, H., Magaye, R., Castranova, V. ve Zhao, J. 2013. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology*, 10 (1), 15.
- Simeonidis, K. ve Mourdikoudis, S., 2023. Nanoparticles as Sustainable Environmental Remediation Agents. In *Nanoparticles as Sustainable Environmental Remediation Agents*.
<https://doi.org/10.1039/9781837670215>
- Sizochenko, N., Mikolajczyk, A., Syzochenko, M., Puzyn, T. ve Leszczynski, J., 2021. Zeta potentials (ζ) of metal oxide nanoparticles: A meta-analysis of experimental data and a predictive neural networks modeling. *NanoImpact*, 22, 100317.
<https://doi.org/10.1016/J.IMPACT.2021.100317>
- Tekbaba, A., Özpinar, S.Ç., Tunca, H., Sevindik, T.O., Doğru, A., Günsel, A., Bilgiçli, A.T. ve Yarasir, M.N., 2021. Synthesis, characterization and investigation of algal oxidative effects of water-soluble copper phthalocyanine containing sulfonate groups. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 26(2–3), 355–365.
<https://doi.org/10.1007/s00775-021-01860-0>
- Tunca, H., Dogru, A., Kockar, F., Onem, B. ve Sevindik, T.O., 2020. Evaluation of Azadirachtin on Arthrospira plantensis Gomont growth parameters and antioxidant enzymes. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 56, 8.
<https://doi.org/10.1051/LIMN/2020008>
- Türkmen, E.U., Arslan, P., Erkoç, F., Günal, A. Ç. ve Duran, H., 2024. The cerium oxide nanoparticles toxicity induced physiological, histological and biochemical alterations in freshwater mussels, Unio crassus. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 83, 127371.
<https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2023.127371>
- Van Nerom, S., Buyse, K., Van Immerseel, F., Robbens, J. ve Delezie, E., 2024. Pulsed electric field (PEF) processing of microalga Chlorella vulgaris and its digestibility in broiler feed. *Poultry Science*, 103(6), 103721.
<https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2024.103721>
- Vazquez-Muñoz, R., Meza-Villezcás, A., Fournier, P.G.J., Soria-Castro, E., Juárez-Moreno, K., Gallego-Hernandez, A.L., Bogdanchikova, N., Vazquez-Duhalt, R. ve Huerta-Saquero, A., 2019. Enhancement of antibiotics antimicrobial activity due to the silver nanoparticles impact on the cell membrane, *Plos One*, 8,
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224904>
- Wang, S.Y., Jiao, H.J. ve Faust, M., 1991. Changes in ascorbate, glutathione, and related enzyme activities during thidiazuron-induced bud break of apple. *Physiologia Plantarum*, 82(2), 231–236.
<https://doi.org/10.1111/J.1399-3054.1991.TB00086.X>
- Wang, Y.L., Lee, Y.H., Chou, C.L., Chang, Y.S., Liu, W.C. ve Chiu, H.W., 2024. Oxidative stress and potential effects of metal nanoparticles: A review of biocompatibility and toxicity concerns. *Environmental Pollution*, 346, 123617.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2024.123617>
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X. ve Zhu, W. 2011 Effects of nano-scale TiO2, ZnO and their bulk counter parts on zebrafish: acutetoxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of the Total Environment*, 409, 1444–1452.
- Yahyaee, A., Vatankhah, P. ve Sørensen, H., 2024. Effects of nanoparticle size on surface dynamics and thermal performance in film boiling of Al2O3 water-based nanofluids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 134267.
<https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2024.134267>
- Yang, W., Zhang, H., Yang, S., Xiao, Y., Ye, K., He, R., Liu, Y., Hu, Z., Guo, W., Zhang, Q., Qu, H. ve Mao, Y., 2024. Combined effects of microplastics and pharmaceutical and personal care products on algae: A critical review. *Environmental Pollution*, 358, 124478.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124478>
- Zhang, J., Xie, X., Li, Q., Wang, J. ve Zhang, S., 2023. Combined toxic effects of TiO2 nanoparticles and organochlorines on Chlorella pyrenoidosa in karst area natural waters, *Aquatic Toxicology*, 257, 106442.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106442>
- Zhu, X., Chang, Y. ve Chen, Y., 2010. Toxicity and bioaccumulation of TiO2 nanoparticle aggregates in Daphnia magna. *Chemosphere*, 78 (3), 209–215