

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Daphnia magna MODEL ORGANİZMASI ÜZERİNDE ÇİNKO OKSİT
NANOPARTİKÜL (ZnO NP) TOKSİSİTESİNİN MİKROKOZM YAKLAŞIMI
KULLANILARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Özlem YILDIRIM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2021

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Daphnia magna MODEL ORGANİZMASI ÜZERİNDE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜL (ZnO NP) TOKSİSİTESİNİN MİKROKOZM YAKLAŞIMI KULLANILARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Özlem YILDIRIM

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL

Günümüzde nanoteknolojinin önemi ve nanopartiküller kullanılarak yeni malzemelerin üretimi giderek artmaktadır. Günlük yaşantımızda pek çok alanda kullanılan bu maddeler pek çok araştırmaya konu olmuştur. Bunun en temel sebebi; birçok sektörde kullanılması ve ekonomik olmasının yanı sıra, çevre ve insan sağlığına olan toksik etkileridir.

En çok üretilen metal oksit partiküllerden biri olan çinko oksit nanopartikülü, özellikle kozmetik ve hijyen alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu durum; sucul ortamlarda çinko oksit nanopartiküllerin birikiminin artmasına, dolayısıyla önemli bir çevre sorunu haline geldiğine işaret etmektedir. Bu sebeple, nanopartiküllerin doğal ortamlardaki akıbetine ışık tutulması ve sucul ortamlarda bu kirliliğin giderilmesine yönelik çalışmaların artırılması son derece önemlidir.

Mikrokozmu yaklaşımının kullanıldığı bu çalışmada; *Daphnia magna* için laboratuvar ortamında 96 saatlik lethal konsantrasyonun belirlenmesi, belirlenen lethal konsantrasyonun %25, %50 ve %75'i oranında çinko oksit nanopartikülü içeren farklı deney ortamlarındaki mortalite oranlarının saptanması ve *Egeria densa* sucul bitkisinin mortalite oranları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. *Daphnia magna* için belirlenen 96 saatlik lethal konsantrasyon 0.346 mg/L'dir. Yapılan deneyler sonucunda, 96 saatin sonunda en çok mortalite bitkili havuz suyu ortamında gerçekleşmiştir.

Sonuç olarak; ZnO NP'nin toksisitesinin doğal su ortamında musluk suyu ortamından daha az olduğu, bununla birlikte bitkili havuz suyunda mortalitenin arttığı tespit edilmiştir.

Temmuz 2021, 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: Çinko oksit nanopartikülü (ZnO NP), *Daphnia magna*, *Egeria densa*, mikrokozmu, toksisite

ABSTRACT

Master Thesis

ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES (ZnO NP) ON THE MODEL ORGANISM *Daphnia magna* USING A MICROCOSM APPROACH

Özlem YILDIRIM

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL

Nowadays, the importance of nanotechnology and the production of new materials using nanoparticles are increasing. These substances, which are used in many areas in our daily life, have been the subject of many researches. The main reason for this is that it is used in many sectors and is economical, as well as its toxic effects on the environment and human health.

Zinc oxide nanoparticle, which is one of the most produced metal oxide particles, is frequently used especially in the fields of cosmetics and hygiene. This indicates that the pollution of zinc oxide nanoparticles increases in aqua, thus becoming an important environmental problem. For this reason, it is extremely important to shed light on the fate of nanoparticles in natural waters and to increase studies on eliminating this pollution in aqua.

In this study, the microcosm approach was used; the determination of the lethal concentration for *Daphnia magna* for 96-hour in the laboratory, the mortality rates in different experiments containing 25%, 50% and 75% zinc oxide nanoparticle of the determined lethal concentration, and the effect on the mortality rates of *Egeria densa* aquatic plant were evaluated. The 96-hour lethal concentration determined for *Daphnia magna* is 0.346 mg/L. As a result of the experiments, at the end of 96 hours, the highest mortality occurred in the pool water with plant.

As a result; it was determined that the toxicity of ZnO NP was less in natural water than tap water. However, mortality increased in pool water with plant.

July 2021, 48 pages

Key Words: Zinc oxide nanoparticle (ZnO NP), *Daphnia magna*, *Egeria densa* microcosm, toxicity

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyuncaengin bilgisi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, desteklerini esirgemeyen ve danışmanlığımı yürüten kıymetli ve saygıdeğer hocam Doç. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL'e, plankton tayininde yardım ve desteklerini esirgemeyen kıymetli ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ'a, deneylerimde kullandığım toksik madde konusunda yardım ve desteklerini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Fizikokimya Anabilim Dalından kıymetli ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Meltem ÇELİK'e, bu çalışmayı yapmamda bana ışık olan ve desteğini hep yanımda hissettiğim kıymetli ve saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gül Nilhan TUĞ'ya, deneylerimde ve tez yazımda her daim yardımcı ve hep yanımda olan kıymetlilerim Hidrobiyoloji Uzmanı Danial NASSOUHI'ye ve Yüksek Lisans Öğrencisi Duygu SAZLI'ya, eğitimim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşime ve biricik oğluma, kıymetli aileme, bu süreçte beni yalnız bırakmayan, her daim yanımda olan sevgili ve saygıdeğer mesai arkadaşlarım ile birlikte desteklerini esirgemeyen tüm amirlerime en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Özlem YILDIRIM
Ankara, Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Nanoteknoloji ile İlgili Genel Bilgiler	3
1.2 NP'lerin Genel Özellikleri	4
1.3 Metal ve Metal Oksit NP'ler	5
1.4 ZnO NP'lerin Özellikleri	6
1.5 Toksisite ve Nanotoksikoloji	8
1.6 Toksisite ve Sucul Bitkiler	9
1.7 Toksisite Deneylerinde Daphnia magna ve Egeria densa Kullanımı	9
1.8 Toksisite Deneylerinde Mikrokozim Yaklaşımı	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	16
3.1 Kültür Koşulları.....	16
3.2 ZnO NP'nin Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	17
3.3 Daphnia magna ve Egeria densa'nın Deney İçin Hazırlanması	18
3.4 Deneylerin Gerçekleştirildiği Ortamlar	19
3.5 Havuz Suyu Karakterizasyonu	20
3.6 Ön Deneme ile LC50 Değerinin Belirlenmesi.....	20
3.7 Deneylerin Gerçekleştirilmesi	20
3.8 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Analizi	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	22
4.1 ZnO NP Karakterizasyonuna ait Bulgular	22
4.2 Havuz Suyu Karakterizasyonuna ait Bulgular	24
4.3 Ön Deneme (LC50 Değeri) Sonuçları.....	26
4.4 Musluk Suyu + Daphnia magna Deney Sonuçları	28
4.5 Havuz Suyu + Daphnia magna Deney Sonuçları	30
4.6 Havuz Suyu + Daphnia magna + Egeria densa Deney Sonuçları.....	32
4.7 İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	36

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....38
KAYNAKLAR 41
ÖZGEÇMİŞ.....48



SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrad
C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₈	Sodyum feredetat
Ca(NO ₃) ₂	Kalsiyum nitrat
CeO	Seryum oksit
cm	Santimetre
CuO	Bakır oksit
CuSO ₄	Bakır sülfat
EC	Elektriksel iletkenlik
ENP	Endüstriyel nanopartikül
HNO ₃	Nitrik asit
H ₂ O	Su
H ₃ BO ₃	Borik asit
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum hidrojen fosfat
L	Litre
LC ₅₀	Lethal konsantrasyon
M	Molar
m	Metre
µg	Mikrogram
mg	Miligram
µM	Mikromolar
µS	Mikrosiemens
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
MnSO ₄	Mangan sülfat
Na ₂ MoO ₄	Sodyum molibdat
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
ppm	mg/L
SiO ₂	Silisyum dioksit
TiO ₂	Titanyum dioksit
ZnCl ₂	Çinko klorür
ZnO NP	Çinko oksit nanopartikül
ZnO	Çinko oksit

Kısaltmalar

DLS	Dinamik ışık saçılımı
ICP-MS	Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
SEM	Saha Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
SPSS v23.0	SPSS paket analiz programı
XRD	X Işığ Kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Nanoteknolojinin kullanım alanları	4
Şekil 1.2 Nanopartiküllerin sınıflandırılması.....	5
Şekil 1.3 Metal oksit NP	6
Şekil 1.4 ZnO NP'lerin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüleri	7
Şekil 1.5 Toksisite deneylerinde kullanılan yaygın metotlar	8
Şekil 3.1 Deneylerin gerçekleştirildiği ortamlar ve deney grupları	21
Şekil 4.1 Sentezlenen ZnO NP'lerin ortalama boyutunun DLS yöntemiyle ölçüm sonucu Şekil 4.2 Sentezlenen ZnO NP'nin X Işığ Kırınım (X-Ray diffraction=XRD) Modeli	22
Şekil 4.2 ZnO NP'nin XRD kırınım desenleri	23
Şekil 4.3 ZnO NP'nin SEM görüntüsü	23
Şekil 4.4 Havuz suyunda gözlemlenen plankton türleri	24
Şekil 4.5 Lecane luna	24
Şekil 4.6 Lecane bulla	25
Şekil 4.7 Lecane clasterocerca	25
Şekil 4.8 Cephalodella gibba.....	25
Şekil 4.9 Pandorina sp.....	26
Şekil 4.10 96 saatlik ZnO NP probit değerleri ve regresyon grafiği.....	28
Şekil 4.11 Musluk Suyu + Daphnia magna Deneyi % Mortalite Dağılımı.....	30
Şekil 4.12 Havuz Suyu + Daphnia magna Deneyi % Mortalite Dağılımı	31
Şekil 4.13 Havuz suyu + Daphnia magna + Egeria densa Deneyi % Mortalite dağılımı.....	33
Şekil 4.14 %25 ZnO NP İçeren Deney Ortamlarındaki %Mortalite Dağılımı	33
Şekil 4.15 %50 ZnO NP İçeren Deney Ortamlarındaki % Mortalite Dağılımı	34
Şekil 4.16 %75 ZnO NP İçeren Deney Ortamlarındaki % Mortalite Dağılımı	34
Şekil 4.17 %25, %50 %75 ZnO NP İçeren Deney Ortamlarındaki % Mortalite dağılımı.....	35
Şekil 4.18 % Mortalite genel dağılım	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Havuz suyundaki sertlik, nitrat, nitrit ve fosfat seviyeleri	26
Çizelge 4.2 ZnO NP'nin farklı konsantrasyonlarda Daphnia magna bireyleri üzerine etkisi ve 96 saatlik ölüm oranı	27
Çizelge 4.3 ZnO NP Daphnia magna için LC50 değerleri	27
Çizelge 4.4 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun Daphnia magna bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı	29
Çizelge 4.5 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun Daphnia magna bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı	31
Çizelge 4.6 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun Daphnia magna bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı	32
Çizelge 4.7 Kruskal Wallis test sonuçları	36
Çizelge 4.8 Mann-Whitney U test sonuçları	37

1. GİRİŞ

“Nano” kelimesi; herhangi bir fiziksel büyüklüğün milyarda biri anlamına gelmekte olup, ölçü birimi olarak “Nanometre” (nm) 10^{-9} metre (m) olarak ifade edilmektedir. Yaklaşık rakamlarla örnek verilmek istenirse; atomların büyüklüğü 0,1 nm, bir biyolojik hücre çapı büyüklüğü 1000 nm, bir DNA molekülü büyüklüğü 2,5 nm, bir saç teli ise 100.000 nm kalınlıktadır (Perker 2010).

Nanoteknoloji; nano ölçekte uygulanan, her tür teknoloji ve bilim dalına atıfta bulunan kolektif bir tanımdır. Hızla gelişen ve giderek daha geniş bir teknolojik yelpazeye doğru açılan bu teknoloji ile ultra ince materyallerin imalatı ve şimdiye kadar bilinmeyen nanoyapıda yeni ürünlerin üretimi yapılmaktadır (Helland 2004, Ramsden 2005, Runowski 2014).

Nanopartiküller (NP), boyutları 1 ile 100 nm arasında değişen, şekil ve boyutlarına göre fullerener, metal NP’ler, seramik NP’ler ve polimerik NP’ler gibi farklı sınıflara ayrılabilen küçük malzemelerdir (Khan vd. 2017).

NP’ler diğer büyük partiküllerden farklı özellikleri ile tıp, bilgi teknolojileri, enerji üretimi ve depolama, imalat ve çevre uygulamaları gibi geniş bir yelpazede kullanılabilmektedir (Helland 2004). Nanoteknoloji ile üretilen ürünler elektronik, biyomedikal gibi sektörlerde kullanılmasının yanı sıra, günlük hayatımızda da sıklıkla kullandığımız temizlik ürünleri, kozmetik ürünler, mürekkepler, gıda ambalajları, diyet ürünler, ilaç kaplamaları, antibakteriyel kaplamalı kıyafetler, izolasyon malzemeleri iç ve dış cephe boyaları, antibakteriyel ya da hidrofobik kaplamalar da NP’ler bulunmaktadır (Ünşar ve Perendeci 2016).

Nanoteknoloji, çeşitli endüstriyel faaliyetlerde kullanılan ve sürekli artan üretim hacimlerine sahip olmalarıyla önemli bir yenilikçi, bilimsel ve ekonomik büyüme alanı olmakla birlikte, nanopartiküllerin insan sağlığı ve çevre üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabileceği bildirilmektedir (Farre vd, 2008, Bundschuh vd, 2018). Günlük hayatımızın ayrılmaz bir parçası haline gelen ve zaman içerisinde üretimleri kapsamlı

bir şekilde artan NP'ler, insan kullanımı için faydalı kabul edilmekle birlikte, ölümcül birtakım etkiler de taşımaktadır (Bhattacharya ve Das 2019).

Helland'a (2004) göre; nanoteknolojinin insan sağlığı ve çevreye olumsuz birtakım potansiyel etkileri bulunmakta olup, üretilen NP'ler cilt, akciğer ve sindirim sistemine nüfuz etmekte ve beyin gibi organlara ulaşabilmektedir.

Gelişen teknolojinin her alanında uzun dönemde ekosistemi etkileyebilecek potansiyel riskler mevcut olup, üretilen nanomalzemeler ile ilgili olarak bilgi eksikliği bulunmaktadır. Bu malzemelerin güvenliği ve ekolojik anlamda çevreye olan etkileri değerlendirilmeli, hem ulusal hem de uluslararası seviyede dikkatle incelenmelidir (Tüylek 2019).

NP'lerin toksik etkilerinin değerlendirilmesi insan ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle sucul ortamlarda toksik ağır metal konsantrasyonunun giderek arttığı ve bu durumun dünya genelinde büyük bir problem teşkil ettiği göz önünde bulundurulduğunda, NP'lerin toksisitesine yönelik çalışmaların artırılması gerekmektedir. NP'ler dahil birçok çevresel kirleticisi için toksisite çalışmalarında dünyanın en yaygın kullanılan canlısı *Daphnia magna*'dır. Toksik etkileri değerlendirmek için önemli bir biyolojik model olan *Daphnia magna* farklı konsantrasyonlara maruz bırakılıp lethal konsantrasyon (LC₅₀) belirlenebilmekte ve canlılara olan etkileri hakkında fikir yürütülebilmektedir.

(LC₅₀); belli bir zaman periyodunda kimyasala maruz bırakılan deney canlısının %50'sini öldüren dozu ifade etmektedir. LC₅₀ uygulamaları toksikologlar arasında kabul gören ve genellikle kimyasal kirleticilerin sudaki yaşam üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini değerlendirmek için en çok kabul gören testlerdir (Johnson and Finley 1980).

Bu çalışmada *Daphnia magna* model organizması kullanılmış ve çinko oksit nanopartikülün (ZnO NP) *Daphnia magna* için LC₅₀ değerinin belirlenmesi ana hedef olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda 96 saatlik LC₅₀ uygulamasının laboratuvar ortamında mikrokozm yaklaşımı kullanılarak değerlendirilmesi, farklı konsantrasyon ve

farklı ortamlara maruz bırakılan *Daphnia magna*'nın 96 saat sonundaki mortalite oranlarının karşılaştırılması, deneylerde kullanılan *Egeria densa* sucul bitkisinin toksisiteye yönelik etkisinin ortaya konması ve NP'lerin doğal ortamlardaki akıbetine ışık tutulması amaçlanmıştır.

1.1 Nanoteknoloji ile İlgili Genel Bilgiler

Nanoteknoloji, 1-100 nm boyutundaki materyaller ile ilgilenen bir bilim dalıdır. Bu materyaller; atomik, moleküler ve supramoleküler ölçekte fiziksel mimarisi değiştirilerek üretilmektedir (Bhattacharya ve Das 2019). Nanoteknoloji, 100 nm büyüklüğe kadar olan malzemelerin imalatını, işlenmesini ve uygulanmasını içeren, fiziksel, kimyasal, biyolojik, mühendislik ve elektronik süreçlerin olduğu geniş bir disiplinlerarası araştırma, geliştirme ve endüstriyel faaliyet alanıdır. Bu faaliyet alanları nanotıp, nanoüretim, nanometroloji ve NP'ler olmak üzere dört grupta toplanmaktadır (Aitken vd. 2006).

Maddelerin minyatürleştirilmesi kavramı, ilk kez ünlü fizikçi Richard P. Feynman (1918-1988) tarafından ortaya atılmıştır. 29 Kasım 1959'da Amerikan Fizikçiler Cemiyeti yıllık toplantısında Feynman tarafından gerçekleştirilen “There's Plenty of Room at the Bottom” konulu konuşma, nanobilim ve nanoteknoloji çağının başlangıç noktası olarak kabul edilmektedir (Anonim 2016).

“Nanoteknoloji” terimi ise ilk kez 1974'de Tokyo Bilim Üniversitesi öğretim üyesi Norio Taniguchi (1974) tarafından yayınlanan bir makalede kullanılmış ve “genel olarak malzemelerin atom-atom ya da molekül-molekül boyutunda işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulması” olarak tanımlanmıştır. Günümüzde nanoteknoloji sayesinde atom ve moleküllerin bir araya getirilmesi ile nanometre ölçeğinde çok çeşitli yapılar oluşturulmaktadır (Perker 2010).

Nanometre ölçeğinde malzemelerin sahip oldukları üstün fiziksel özellikleri kullanarak çeşitli alanlarda (bilişim ve iletişim, elektronik, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp,

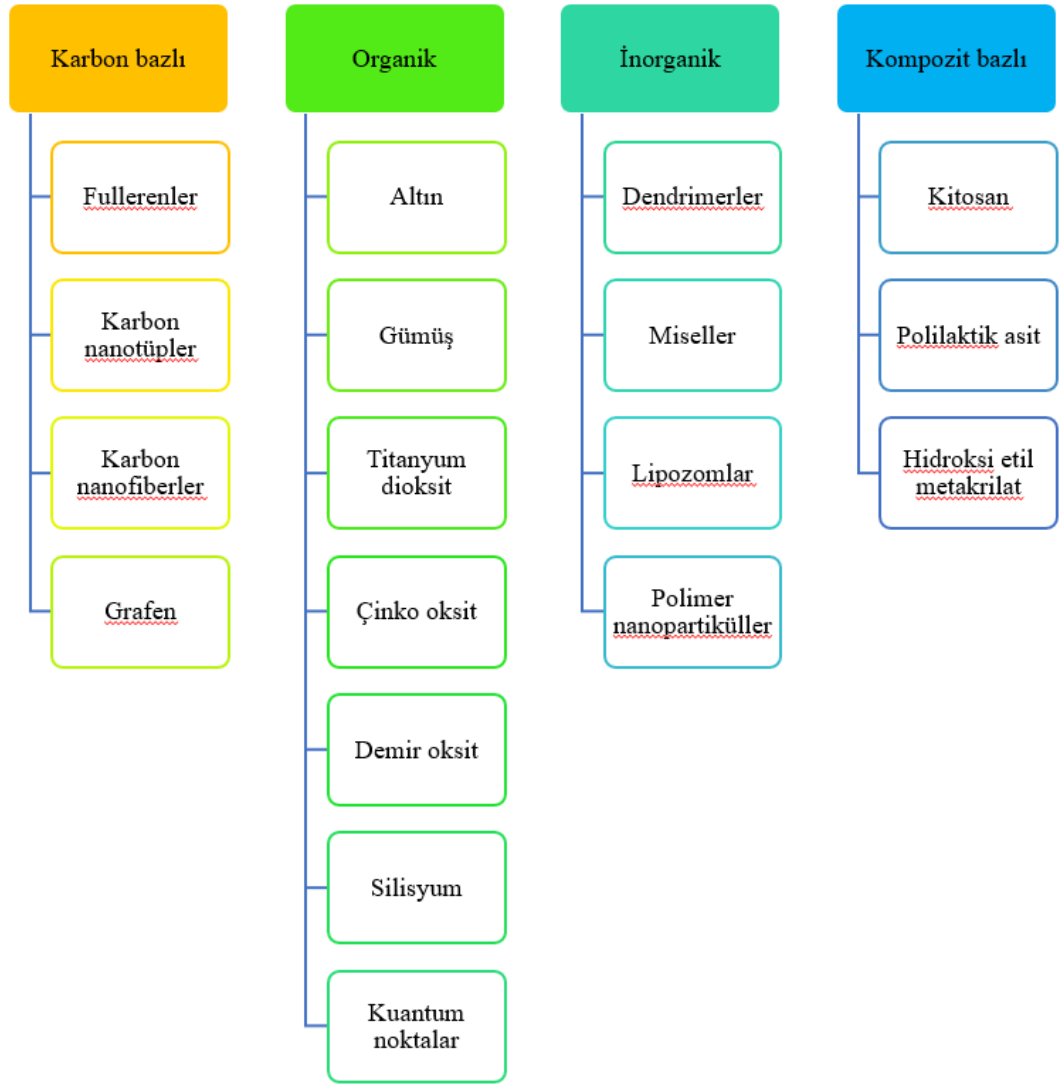
savunma, tekstil, makine ve inşaat sanayileri vb) teknolojik devrim niteliğinde yeni ürünler elde edilebilmekte ve bu ürünlerden ciddi gelir elde edilmektedir (Celep 2007). Nanoteknolojinin kullanım alanları Şekil 1.1’de gösterilmektedir.



Şekil 1.1 Nanoteknolojinin kullanım alanları (Barzinjy vd. 2019’dan değiştirilerek alınmıştır)

1.2 NP’lerin Genel Özellikleri

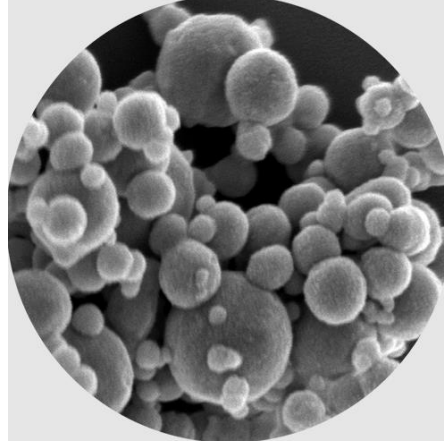
NP’lerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri daha yüksek ölçeklerdeki parçacıklarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. NP’lerin en önemli özelliği yüzey alanını artırması, kuantum etkileri, adsorbe artırım verimliliği, yarı iletkenlik, iletkenlik veya elektrik yalıtımı, artan reaktivite veya kimyasal süreçlerde kararlılık, gelişmiş mekanik ve manyetik özellikleridir (Teleanu vd. 2018). NP’ler ve nano yapılı materyallerin, materyal bazlı kategoriler halinde sınıflandırılmış hali Şekil 1.2’de gösterilmektedir.



Şekil 1.2 Nanopartiküllerin sınıflandırılması (Uyanıkgil ve Salmanoğlu 2020’den değiştirilerek alınmıştır)

1.3 Metal ve Metal Oksit NP’ler

İleri teknoloji malzemelerinin vazgeçilmez hammaddesi olan nano boyutlu metal ve metal oksit NP’lerin (Şekil 1.3) uygulama alanları çok değişik sektörlere yayılmıştır. En önemli uygulama alanları arasında bilişim ve haberleşme, uzay-havacılık, otomotiv, elektrik-elektronik, kimya, çevre, enerji, biyoloji, genetik mühendisliği ve savunma sanayi bulunmaktadır (Arıç 2010).



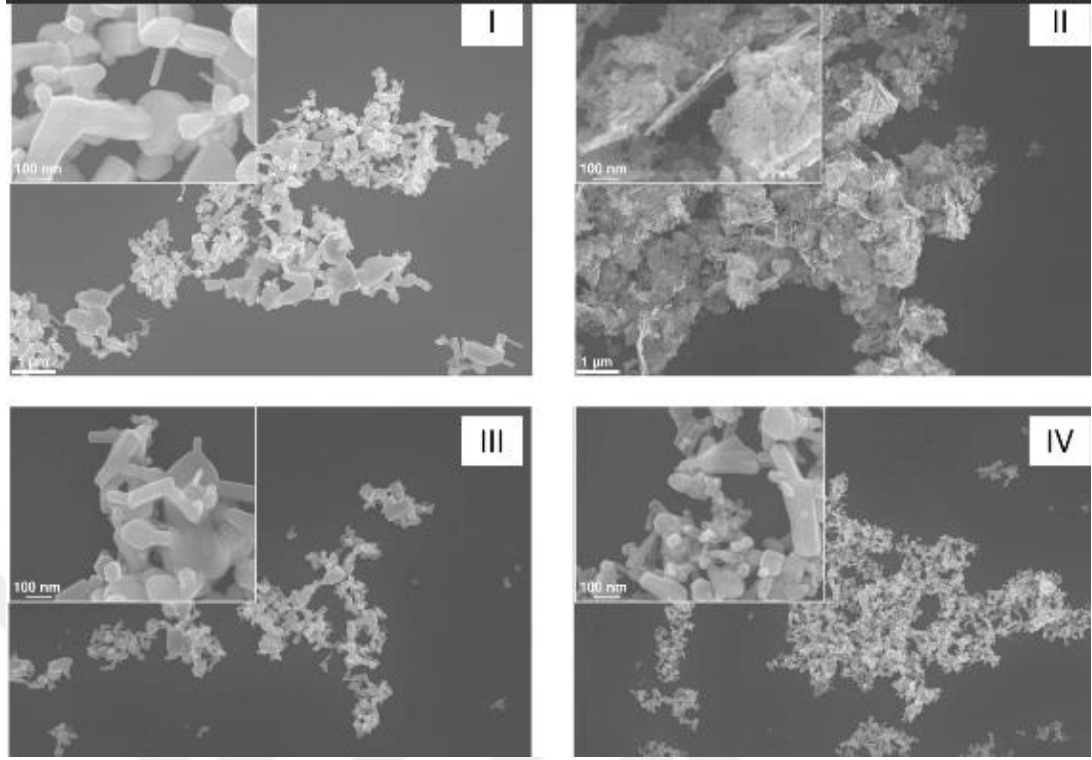
Şekil 1.3 Metal oksit NP (Anonim 2019)

Uyanıkgil ve Salmanoğlu'na (2020) göre, metalik NP'ler radyoterapinin arttırılması ve termal ablasyon gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda oldukça yaygın bir kullanıma sahip, ilaçların etki süresinin uzatılmasına yardımcı ajanlardır.

Gümüş NP'ler tıbbi ve medikal alanda yaygın bir kullanıma sahipken, altın NP'ler ilaç sektörü ve tarım alanında tercih edilmektedir. ZnO NP'ler ise yara tedavisi, kişisel bakım ürünleri, kaplama, fotoğrafçılık gibi alanlarda kullanılmaktadır (Keskin ve Baran 2020). Titanyum dioksit (TiO_2), çinko oksit (ZnO), silikon dioksit, alüminyum oksit, zirkonyum ve demir oksit gibi diğer metal oksit NP'ler ticari açıdan büyük bir öneme sahip olup, cilt bakım ürünlerinin içeriğinde yer almakta ve aynı zamanda optoelektronik malzeme olarak da kullanılabilir (Enderby ve Dowling 2004).

1.4 ZnO NP'lerin Özellikleri

ZnO suda neredeyse hiç çözünmeyen, bununla birlikte yüksek derecede asit ve alkali ortamlarda çözünen bir amfoterik oksittir (Eroğlu 2019). Çinko ve oksijen atomları bulunduran kristal yapıda inorganik ve beyaz renkli bu madde (Şekil 1.4), kovalent bağ yapısı ile kuvvetli yüksek iyonik karakter gösteren, aynı zamanda parçacık radyasyonuna bilinen en dayanıklı malzeme olması sebebi ile üstün kabul edilebilecek bir bileşiktir (Aktürk 2013).



Şekil 1.4 ZnO NP'lerin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüleri (Wilhelmi vd. 2013)

Endüstriyel nanopartiküller (ENP) arasında en önemli ve en çok üretilenler ZnO NP'lerdir. ZnO NP'ler ışık geçirgenliği, yüksek düzeyde kimyasal stabilite ve iyi bir katalizör olma gibi birçok önemli fizikokimyasal özelliği bünyesinde barındırmaktadır (Ünşar ve Perendeci 2016, Eroğlu 2019, Ergönül vd. 2020).

NP'lerin üretimdeki hızları artarken bir yandan da çevreye salınımları ve insan vücuduna temas etme durumları da büyük bir hızla artmaktadır (Ünşar ve Perendeci 2016, Eroğlu 2019). Gottschalk vd. (2009) tarafından ZnO NP'nin çevresel deşarj yönünden diğer NP'ler arasında ikinci sırada olduğu belirtilirken, Fikirdeşici (2017) ise ZnO NP doğrultusundaki görüşlerini “henüz kontamine olmayan doğal suları tehdit eden yeni nesil kirleticilerdendir” şeklinde ifade etmektedir. Avrupa Birliği'nin tehlike sınıflandırmasına göre ekotoksik olarak sınıflandırılan ZnO'nun eser miktarı bile memeliler ve bitkiler için ekotoksiktir. Ancak bu maddenin karsinojenite, genotoksisite ve üreme toksisitesini gösteren herhangi bir kanıt bulunmamaktadır (Siddiqi vd. 2018).

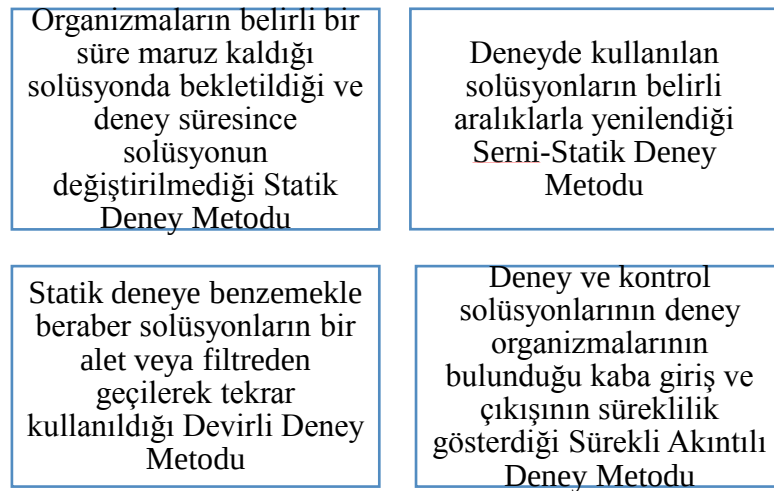
1.5 Toksisite ve Nanotoksikoloji

Toksisite kimyasalların organizmalara verdiği potansiyel zararları inceleyen ve canlı model organizmalar kullanılarak değeri ölçülebilen bir bilim dalıdır. Sucul toksisite deneylerinde önceden balıklar seçilirken şimdilerde omurgasız hayvanlar tercih edilmektedir (Bat ve Öztürk 1998).

Toksikolojinin yeni bir dalı olarak gelişmekte olan nanotoksikoloji, NP'lerin neden olduğu zararlı etkileri belirlemek için çevre ve insan sağlığına yönelik risklerin değerlendirilmesinde kullanılan yeni bir bilim dalıdır. NP'lerin geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeni ile enerjilerinin çoğu serbest yüzey enerjisi olarak depolanmakta, bu durum da NP'lerin daha fazla toksik etki göstermesine sebep olmaktadır (Parlak 2013, Ateş ve Çakıroğulları 2017).

NP'lere maruz kalma sonucu potansiyel zararlı etkilerin neler olacağına dair yapılacak araştırmalarda, farklı ekotoksikolojik etkiler gösterebilmesi sebebi ile NP doz/konsantrasyonlarının belirlenmesi ve buna göre deney ortamlarının hazırlanması gerekmektedir (Dağlıoğlu ve Yılmaz 2018).

Bat ve Öztürk (1998)' e göre toksisite deneylerinde kullanılan metotlar Şekil 1.5'de verilmektedir.



Şekil 1.5 Toksisite deneylerinde kullanılan yaygın metotlar (Bat ve Öztürk 1998'den değiştirilerek alınmıştır).

1.6 Toksisite ve Sucul bitkiler

Çevre ve insan sağlığını tehdit eden toksik maddelerin uzaklaştırılması için kullanılan fitoremediasyon tekniğinde kullanılan hiperakümülatör bitkiler gövdelerinde metal iyonlarını biriktirebilmekte, detoksifiye edebilmekte ve metal stresi altında canlılıklarını sürdürebilmektedir. Su kaynaklarında doğal olarak yetişen sucul makrofitler bulundukları ortamdaki metalleri kök, gövde ve yaprakları ile bünyelerine alabilme yeteneğine sahip olup, metal biriktirme seviyeleri karasal bitkilere göre daha fazladır. Bu durum, kirlenmiş sucul ekosistemlerde ağır metallerin uzaklaştırılması için sucul makrofitlerin kullanılmasını daha cazip hale getirmektedir (Terzi ve Yıldız 2011, Kaya 2019).

1.7 Toksisite Deneylerinde *Daphnia magna* ve *Egeria densa* Kullanımı

Daphniidae familyasının en önemli üyesi olan *Daphnia* sp., pire gibi zıplama hareketinden ötürü halk arasında su piresi olarak adlandırılmaktadır. Tatlı su balıklarının en önemli besin kaynağını oluşturan ve besleyici özelliklerinden dolayı balıklar için canlı yem olarak da kullanılan *Daphnia* sp., protein ve yağ asitleri bakımından zengin bir zooplanktonik organizmadır (Sarı 2011).

Toksik kimyasallara karşı en hassas gruptan biri olan zooplankton, lentik (durgun su) besin zincirinde merkezi bir konumda olduğu için ekotoksikolojik testlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Cladocera takımına ait özellikle *Daphnia*, *Ceriodaphnia* ve *Moina* türleri; küçük vücutları, kısa hayat döngüleri, laboratuvarlarda kolaylıkla çoğaltılabilmeleri ve ekolojik önemleri gibi karakteristik özellikleri sebebiyle uzun zamandır toksisite testlerinde tercih edilmektedir (Hanazato 2001, Dodson vd. 2010). OECD Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatı tarafından kronik ve akut toksisite deneylerinde *Daphnia magna*'nın kullanılması tavsiye edilirken (Anonymous 1984, 2008), Çelikel (2011) tarafından “*Daphnia* türlerinin toksikolojik çalışmaların indikatör canlısı olduğu” belirtilmiştir.

Egeria densa, (syn. *Elodea densa*) Hydrocharitaceae familyasına ait, Güney Amerika kökenli özellikle Brezilya, Uruguay ve Arjantin’de görülen, tatlı sularda yaygın olan sucul bir makrofittir (Bernas 2016, Shamsi ve Hosni 2020).

Egeria densa, ağır metal izleme ve toksisite çalışmalarında su kalitesi için iyi bir bitki modelidir. Arsenik, alüminyum, kadmiyum, krom bakır, bakır oksit (CuO) NP, altın NP, kurşun, manganez, nikel ve çinko gibi çok çeşitli ve birbirinden farklı metalleri akümüle edebilen bu bitki; kök, gövde ve yaprak sistemlerinin emilim gücünden dolayı ağır metaller ve fitoremediasyon çalışmaları için cazip bir seçenektir (Bernas 2016).

Bu tez çalışmasında; yüksek üreme potansiyeli, hızlı büyüme özellikleri ve laboratuvar koşullarına iyi uyum sağlaması nedeniyle, *Daphnia magna* model organizması kullanılarak ZnO NP’nin toksisitesinin belirlenmesi ve *Egeria densa* sucul bitkisinin kullanılmasıyla toksisitede herhangi bir değişim olup olmayacağının ortaya konması amaçlanmıştır.

1.8 Toksisite Deneylerinde Mikrokozmlar Yaklaşımı

Ekosistem çalışmalarında kullanılmak üzere geliştirilen ve ekolojide yeni bir teknik olan mikrokozmlar yaklaşımı, ekosistemlerin çoğaltılarak üretilmesi şeklinde uygulanır. Çoğaltmayı sağlamak için, doğal bir ekosistemden biyotik ve biyotik olmayan malzemeler laboratuvar ortamında ekosistemde yaygın olan benzer koşullara uyarak tutulur. Karasal sistemlerden ziyade akuatik sistemlerde daha çok tercih edilen mikrokozmlar yaklaşımında amaç; doğal ekosistem haline yaklaşmak olup, kullanılan materyal metal ya da cam akvaryumlardır (Beyers 1964).

Odum ve Hoskin (1957) tarafından; “mikro ve makro ekosistemler arasında benzerlikler olmakla birlikte, minyatür sistemin doğal sistemi tam olarak kopyalayacağı” ifade edilmektedir.

Hommen vd. (2016) tarafından, “mikrokozmlar çalışmalarının, kimyasal maddelerin popülasyona olan etkilerinin daha fazla araştırılmasına izin verdiği” belirtilmektedir.

Mikrokozmlar çalışmaları, olası toksik etkilerin ne olabileceğini anlamak ve araştırmak için dizayn edilmiş ve toksik maddelerin dolaylı etkilerinin gözlemlenebildiği sistemlerdir (Fettweis vd. 2018).

ZnO NP'nin toksisitesi doğal ortamlarda birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişkene bağlı olarak değişebilmekte; sıcaklık, ışık, pH, organik ve inorganik maddeler gibi birtakım çevresel unsurlar ENP'lerin toksisitesini etkileyebilmektedir (Ergönül vd. 2020).

ZnO NP'lerin büyüklüğü, konsantrasyon miktarı, iyon gücü, organik maddeler gibi fiziksel özelliklerinin tamamı sudaki çözünürlüğü ile ilişkilidir. ZnO NP'ler küçüldükçe yüzey alanının genişlemesi sebebiyle suya daha fazla Zn^{+2} iyonu yaymaktadır. Ayrıca, pH 8-12 arasında çözünürlük daha düşük iken; asidite ve alkalinite ile, ZnO NP'lerin sudaki çözünürlüğü artmaktadır (Peng vd. 2017).

Ag, CuO ve ZnO NP'lerin sudaki çözünürlüğü, test ortamında protein, aminoasit, humik maddeler gibi doğal organik maddeler ile etkileşimlerine bağlı olarak değişmektedir. Örneğin; doğal sularda gümüş NP'ye maruz bırakılan Crustacean'larda çözünmüş organik karbon içeriği ve NP'lerin çözünürlüğüne bağlı olarak toksisitenin değiştiğine (Blinova vd. 2010) ve doğal nehir sularında çözünmüş organik karbon konsantrasyonu arttıkça gümüş ve CuO NP toksisitesinin artma eğilimi gösterdiğine (Gao vd. 2009) dair çalışmalar literatürde yer almaktadır (Bondarenko vd. 2013).

Ergönül vd. (2020) tarafından, musluk suyu ve havuz suyu gibi farklı ortamlarda gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen bulguların farklılık gösterdiği, havuz suyundaki Zn^{+2} iyonu konsantrasyonunun daha yüksek tespit edildiği ve doğal sularda bulunan NP'lerin sucul bitkiler kullanılarak uzaklaştırılmasına yönelik araştırmalara odaklanılması gerektiği belirtilmiştir.

Havuz suyu; içeriğinde bulunan anyonlar, katyonlar, gazlar vb. maddeler ile içerisinde bulunan canlı organizmalar açısından büyük bir zenginliğe sahiptir. Canlılar için gerekli olan fiziksel olayların gerçekleştiği doğal bir ortam olan havuz suyu, sucul

ekosistemdeki fiziksel ve kimyasal parametrelerin incelenmesi ile çevre ve insan sağığına yönelik bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Örneğın; kontamine sularda *Myriophyllum spicatum* sucul bitkisinin ZnO NP'yi uzaklaştırma potansiyeline yönelik yapılan bir çalışmada; ZnO NP'yi uzaklaştırma potansiyelinin havuz suyundaki elektriksel iletkenlik, nitrat, sülfat seviyesi, su sertliğı, çözünmüş Zn^{+2} iyon konsantrasyonu vb. parametrelerin daha yüksek olması sebebi ile musluk suyundan farklı olduğı ortaya konmuştur. Musluk suyu ve havuz suyu farklı fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Dolayısıyla fitoplanktonların hakim olduğı havuz suyundaki biyolojik toplulukların kompleks doğası, doğal su birikintilerinde ZnO NP'lerin sudan uzaklaştırılmasında kısmen de olsa rol oynayabileceğini göstermektedir (Ergönül vd. 2020).

Bu tez çalışmasında *Daphnia magna* için belirlenen LC_{50} değeri ile musluk suyu, havuz suyu ve havuz suyu + *Egeria densa* içeren yarı-kontrollü ortamlarda mikrokozmoz yaklaşımının kullanılması ve deney sonuçlarının bu yaklaşım çerçevesinde değerlendirilmesi ve farklı ortamlar yaratılarak ZnO NP'lerin doğal sulardaki toksisite etkisinin ve bu etkinin sulardan uzaklaştırılmasına dair mekanizmaların daha iyi anlaşılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Brayner vd. (2006), Lin ve Xing (2007), Reddy vd. (2007), Wang vd. (2008), Zhu vd. (2009), Premanathan vd. (2011); ZnO NP'nin mikroorganizmalar, hücreler, bitkiler, sucul biyota ve kemirgenler üzerinde toksik etkisinin bulunduğunu saptamışlardır.

Karlsson vd. (2008) yaptığı çalışmada; sitotoksosite ve DNA hasarına ve oksidatif strese neden olma kabiliyetine ilişkin farklı metal oksit NP'leri incelemiş, araştırma sonucuna göre de CuO NP'lerin sitotoksosite ve DNA hasarı açısından en güçlüsü olduğunu, ZnO NP'nin hücre canlılığı ve DNA hasarı üzerinde etki gösterdiğini, TiO₂ NP'lerin ise sadece DNA hasarına neden olduğunu saptamıştır.

Barrena vd. (2009) yaptığı çalışmada, çinko ve ZnO NP'lerin tohum çimlenmesi ve kök uzamasına önemli ölçüde olumsuz etki ettiğini saptamıştır.

Qu vd. (2011) ZnO NP'lerin birikimine yönelik *Physalis alkekengi* bitkisi üzerine yaptığı çalışmada, bu bitkinin ZnO NP ile kirlenmiş toprakların ıslahında kullanılabileceğini saptamıştır.

Ateş vd. (2013), sucul ortamlarda insan yapımı NP'lerin salınımının artmasının ekosistem açısından günümüzde ve gelecekte endişe verici olduğunu belirtmişlerdir.

Yanamala vd. (2013); 2011 yılında dünya çapında üretilen NP miktarının 270.000 ton olduğunu, bu miktarın 2016 yılında 350.000 tona ulaşacağını belirtmişlerdir.

Sarıgül (2014) yaptığı çalışmada; Ag, FeO, ZnO, CeO₂ ve SiO₂ NP'lerin farklı iki hücre türü üzerindeki toksisitesini incelemiş ve ZnO ve Ag NP'lerin her iki hücre grubu örneğinde de önemli miktarda DNA hasarına yol açtığını saptamış, oluşan DNA hasarının hücrenin ölümüne neden olmasa da kanser, mutasyon ve doğuştan gelen gelişim problemleri gibi sorunlara sebep olabileceğini belirtmiştir.

Hu vd. (2014), ZnO NP'ye maruz kalan *Salvinia natans* bitkisinde ZnO NP'nin bu bitkinin köklerinde birikime neden olup oksidatif strese neden olduğunu, bununla birlikte bitkinin büyümesine önemli ölçüde etki etmediğini belirtmişlerdir.

Yung vd. (2014), ZnO NP'lerin denizel organizmalar üzerine yapmış olduğu toksisite çalışmasında, türe bağlı olarak toksisitenin farklılık gösterdiğini, örneğin ZnO NP'lere maruz kalan Kopepodlar ve Amfipodların, tuzlu su karideslerinden daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Dumont vd. (2015), yaptıkları modelleme çalışmasında ZnO NP konsantrasyonunun Avrupa ve Amerika'daki yüzey sularında sırasıyla 0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ yi aşmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Ünşar ve Perendeci (2016); Avrupa Komisyonu Bilimsel Komitesi (SCENIHR) tarafından hazırlanan “Nanoteknoloji Ürünleri Risk Değerlendirmesi” (2009) raporunda NP'lerin embriyolara geçme, birikme ve besin zincirine karışma potansiyellerinin bulunduğunu ve NP içeren ürünlerin duş, bulaşık, çamaşır ve yağmur suları ile atıksu arıtma tesislerine ulaştığını, aynı zamanda hijyen ve kozmetik alanlarında çok sık kullanılan NP'lerin bu yollar ile su ile temasının arttığını belirtmişlerdir.

Dağlıoğlu vd. (2016) yaptığı çalışmada; ZnO ve TiO₂ NP'lerin sucul stabilitesi ve *Artemia salina* üzerindeki toksik etkilerini araştırmış, probit analizine göre LC₅₀ değerinin 24, 48, 72 ve 96. saat için sırasıyla 5.11, 0.29, 0.14 ve 0.12 mg/L olarak belirtmişlerdir.

Fikirdeşici (2017); ZnO NP, çinko klorür (ZnCl₂) ve karışımlarının, farklı konsantrasyonlarda (0,75, 1,5, 3, 6 ve 12 ppm) *Daphnia magna* üzerine akut toksisitesini araştırmış ve probit analizine göre ortaya çıkan LC₅₀ değerlerini 24, 48 ve 72 saat için değerlendirmiş, sonuç olarak en yüksek toksisitenin ZnO NP + ZnCl₂ karışımı için 72 saatte 0.345 ppm, en düşük toksisitenin ise ZnCl₂ için 24 saatte 6.46 ppm olduğunu saptamıştır.

Eroğlu (2019), ZnO ile kirlenmiş alanların *Plantago major* ve *Plantago lanceolata* bitki türleri ile fitoremedasyon potansiyeline yönelik olarak yaptığı çalışmada; ZnO NP birikiminin köklerde daha yüksek olduğunu, *Plantago major* türünün, *Plantago lanceolata* türüne göre yaklaşık %17,71 oranında daha fazla çinko biriktirdiğini saptamıştır.

Ergönül vd. (2020); *Myriophyllum spicatum* sucul makrofitinin ZnO NP'yi uzaklaştırma ve fitoremediasyon potansiyelini mikrokozmu yaklaşımı ile iki farklı ortamda araştırmış, sonuç olarak musluk suyundaki ZnO gideriminin % 29,5 ile % 70,3 arasında değişirken, havuz suyunda bu oranın biraz daha yüksek olduğunu saptamıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.1 Kültür Koşulları

Daphnia magna için kültür koşulları ISO-6341 prosedürüne göre hazırlanmıştır. (Anonim 1999). Kültüre alınacak olan test organizması *Daphnia magna* akvaryum mağazasından temin edilmiş ve laboratuvarında herhangi bir ısıtıcı ya da filtre düzeneği olmayan sadece hava taşı ile havalandırılan 50 litrelik akvaryumlara alıştırılmıştır. Akvaryumlarda bekletilerek kloru uçurulmuş musluk suyu kullanılmıştır. Kültür tanklarında iki günde bir dipten suyun 1/3'lük kısmı çekilerek uzaklaştırılmış ve aynı miktar taze su eklenmiştir. Akvaryumlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak biçimde aydınlatılmıştır.

Sudaki çözünmüş oksijen ve sıcaklık değerleri için YSI 51 B tip oksijenmetre; pH ölçümü için WTW (Wissenschaftlich-Technische Werkstater) 340-A/SET 1 marka pH metre; elektriksel iletkenlik (EC) için WTW LF 92 EC-meter kullanılmıştır. Çalışma boyunca kültür tanklarında çözünmüş oksijen seviyesi 6 mg/L, sıcaklık $20,2 \pm 1,3$ °C ve elektriksel iletkenlik 250 µS/cm olarak ölçülmüştür.

Deneyde kullanılacak olan *Egeria densa* bitkisi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji laboratuvarında muhafaza edilmekte olan stok kültürden elde edilmiştir. Stok kültür 150 L'lik akvaryumlar içerisinde 14:10 aydınlık:karanlık periyodunda, $2960 \pm 130,5$ lüks ışık şiddetinde, ortalama $21,3 \pm 2,1$ °C'de, $7,1 \pm 1,21$ pH'da ve $59 \pm 3,5$ (Benetech GM 1362) nem oranında saklanmaktadır. Bitki stok kültürlerinin bulunduğu akvaryumlardaki suyun yaklaşık %25'i iki günde bir dipten çekim yapılarak kloru uçurulmuş musluk suyu ile yenilenmiştir.

3.2 ZnO NP'nin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Çalışmada toksik madde olarak kullanılan ZnO NP, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalından temin edilmiştir. ZnO NP'nin sentezinde kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup harici bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. ZnO NP'nin sentezi için ayrı ayrı 1'er L'lik distile su içerisine 0.05 M çinko asetat ve 0.01 M okzalik asit solüsyonu ilave edilmiş, sürekli karıştırma yöntemi ile oda sıcaklığında çözünmesi sağlanmıştır. Ardından oda sıcaklığında okzalik asit solüsyonu içerisine 1:1 oranında çinko asetat solüsyonu damlatılmış, hazırlanan bu nihai karışım 3 boyunlu şişe içerisine aktarılıp 8 saat boyunca 70 °C'de ısıtılmıştır. Son olarak oluşan beyaz toz birkaç defa metanol ve distile su ile yıkanmış ve elde edilen ürün 80 °C'de vakumlu ortamda kurutularak ZnO NP sentezi tamamlanmıştır (Rajesh vd. 2012).

Ankara Üniversitesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında sentezlenen ZnO NP stok solüsyonu hazırlamak için 1.21 g ZnO NP, hassas terazide tartılmış, ardından 1 L distile su içerisine konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında karıştırılarak süspansiyon edilmiştir. 1000 ppm'lik hazırlanan stok hava almayacak şekilde kapatılarak deneyde kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Deneylerde kullanılan ZnO NP'nin özellikleri sentez yöntemine, ortamın fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklerine göre farklılık gösterebilmektedir. Bu çalışmada, gelecekteki çalışmalarda karşılaştırma yapılabilmesi için ZnO NP'lerin karakterizasyonu saptanmıştır. Bunun için; Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında, Dinamik Işık Saçılımı (Dynamic Light Scattering= DLS) , X Işığı Kırınımı (XRay diffraction=XRD) ve Saha Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan ZnO NP konsantrasyonunun belirlenmesi için sıfır anında suyun yüzeyinden alınan örnekler etekli falkon tüplerine konmuş ve ICP-MS cihazı ile okutma işlemi yapılarak kadarki süreçte herhangi bir reaksiyonun gerçekleşmesini önlemek amacıyla üzerine %0.5'lik nitrik asit (HNO₃) ilave edilmiştir. Tüpler analize kadar +4 °C'de karanlık ortamda saklanmıştır. Alınan örneklerdeki çinko miktarı Çınar Çevre

Laboratuvarı A.Ş.'de ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer-Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi) ile analiz edilmiştir.

3.3 *Daphnia magna* ve *Egeria densa*'nın Deney İçin Hazırlanması

Deneyde kullanılan cam malzemeler kral suyu (1:3 Nitrik asit (%65, Riedel-de Haen): Hidroklorik asit (%37, Merck) kullanılarak yıkanmış ve ardından distile su ile en az 3 kere durulandıktan sonra kullanılmıştır.

Toksisite çalışmaları için seçilecek *Daphnia magna* bireylerinin en az üçüncü nesil ve yaşının 24 saatten küçük olmasına özen gösterilmiştir. Deney süresince hayvanların beslenmesine ara verilmiştir (Anonim 1999). Hazırlanan *Daphnia magna* kültüründen, toksisite testlerinin yürütüleceği farklı ZnO NP konsantrasyonu bulunan beherlere, her behere rastgele seçilmiş 10 tane yavru birey olacak şekilde yerleştirilmiştir. Deneyler 12:12 aydınlık:karanlık fotoperiyodunda saklanmıştır. Buharlaşmayı azaltmak için beherlerin ağzına bir petri kabı kapatılmış ama kısmen de olsa kabın hava alması sağlanmıştır.

Probit analiz yöntemi ile LC₅₀ değerinin belirlenmesi için 96 saat boyunca her 12 saatte bir sayılan *Daphnia magna*'lardan hareket edenler canlı kabul edilmiş, beher sallandığında hareket etmeyen bireyler ise ölü kabul edilmiştir. Mortalite oranları 12 saatte bir kontrol edilip kayıt altına alınmıştır.

Egeria densa stok kültürünün beslenmesi için tanklara 3-4 günde bir olacak şekilde, bu bitkinin yaşaması için gerekli olan mikro ve makro elementleri içeren %25'lik 100 ml Hoagland besin solüsyonu [600 μ M Ca(NO₃)₂, 300 μ M MgSO₄, 300 μ M K₂HPO₄, 13.8 μ M H₃BO₃, 217 μ M MnSO₄, 0.3 μ M Na₂MoO₄, 0.5 μ M CuSO₄, 44.78 μ M ve C₁₀H₁₂FeN₂NaO₈*3H₂O μ M] eklenmiştir (Hoagland ve Arnon 1938). Makro besin elementlerinden her biri ve demir sitrat ayrı ayrı 1'er L'lik distile su içerisinde çözdürülmüş, mikro besin elementlerinden ise demir hariç hepsi tartılarak 1 L distile su içerisinde çözdürülüp iz element solüsyonu hazırlanmıştır. Kirletici konsantrasyonun belirlenmesinde kullanılan ICP-MS cihazının, bulk form ile nano form arasında ayırım

yapamamasından dolayı, normalde iz element solüsyonunda bulunması gereken çinko bu iz element solüsyonuna eklenmemiştir. Benzer bir yaklaşım, Song ve Lee (2016) tarafından da kullanılmıştır.

Deney için seçilen sucul makrofit *Egeria densa* örneklerinin yaprak sayılarının birbirine yakın olması tercih edilmiş ve seçilen sağlıklı bitkiler distile su ile yıkandıktan sonra ortalama uzunlukları 10 cm ve 3'er adet numune halinde kesilmişlerdir. Benzeri bir yaklaşım, Dilbaz (2020) tarafından da kullanılmıştır.

Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve biyodeneylere paralel olarak bir de kontrol grubu yürütülmüştür. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. LC₅₀ değerleri SPSS paket analiz programı (SPSS v23.0) kullanılarak hesaplanmış ve tüm değerlendirmeler için önem sınırı $P < 0,05$ olarak alınmıştır.

3.4 Deneylerin Gerçekleştirildiği Ortamlar

Biyodeneylere statik deney yöntemi kullanılarak 2 farklı ortamda (musluk suyu ve havuz suyu) gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 96 saatlik LC₅₀ değerinin belirlenmesi amacıyla; *Daphnia magna* farklı ZnO NP konsantrasyonlarına maruz bırakılmış, daha sonra belirlenen LC₅₀ değerinin %25, 50 ve 75'ini içeren musluk suyu, havuz suyu ve havuz suyu + *Egeria densa* sucul bitkisi içeren farklı ortamlara maruz bırakılan *Daphnia magna*'nın 96 saat sonundaki mortalite oranları karşılaştırılmıştır.

Deneylerde kullanılan havuz suyu, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi yerleşkesi içerisinde yer alan süs havuzlarından temin edilmiş ve 2 mm çapındaki çelik eleklerle süzülerek olası iri partiküller uzaklaştırılmıştır. Havuz suyu laboratuvara getirilip sıcaklığı ortam sıcaklığına ulaştıktan sonra deneylerde kullanılmıştır.

Bu çalışmada mikrokozmu yaklaşımının izlenmesi amacıyla havuz suyu ve havuz suyu + *Egeria densa* içeren yarı kontrollü ortamlar deneylerde kullanılmış ve deney sonuçlarının aynı yaklaşımla değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, havuz suyu

ortamındaki mikrobiyal komünite ile *Egeria densa* sucul bitkisinin ZnO NP toksisitesi üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

3.5 Havuz Suyu Karakterizasyonu

Havuz suyunun karakterize edilmesi için havuz suyundan plankton kepçesi ile ayrıca örnek alınmış ve formaldehitte (%4) fikse edilerek mikroskop altında içerisindeki plankton türleri ile spektrofotometrik olarak sertlik (Hach-8213), nitrat (Hach-8039), nitrit (Hach-8507) ve fosfat (Hach-8190) seviyeleri tayin edilmiştir.

3.6 Ön Deneme ile LC₅₀ Değerinin Belirlenmesi

Biyodeneye başlamadan önce 96 saatlik LC₅₀ değerinin belirlenmesi amacıyla kullanılacak olan ZnO NP konsantrasyonları ile ilgili literatür bulguları taranmış ve ön denemeler yapılarak konsantrasyonlar seçilmiştir. Buna göre seçilen ZnO NP konsantrasyonları 0.015, 0.03, 0.06, 0.12, 0.24, 0.48, 0.96, 1.92 mg/L'dir. Tüm deneyler kloru uçurulmuş musluk suyunda 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Beherlerin her birine 10 adet yaşı 24 saatten küçük olan *Daphnia magna* bireyleri konulmuştur. 96 saatlik ön deneme periyodu içerisinde her gün 12 saatlik dilimler halinde sayım yapılmış, her bir kaptaki hareketli *Daphnia magna*'lar sayılmış ve ortamın hafifçe karıştırılmasından sonra hareketsiz bireyler ölü olarak kabul edilmiştir.

Ön deneme sonuçları Anonim (1999) tarafından belirtilen ölüm oranı formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Ölüm Oranı (P) = Ölen birey sayısı × 100 / Kullanılan toplam canlı sayısı

3.7 Deneylerin Gerçekleştirilmesi

96 saatlik LC₅₀ değerinin %25, 50 ve 75'ini içeren musluk suyu, havuz suyu ve havuz suyu + *Egeria densa* ortamında 3 tekrarlı ve 1'er kontrol grubu dahil olmak her bir deney başına toplam 36 adet 250 ml'lik beher kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiştir.

Beherlerin her birine 10 adet yaşı 24 saatten küçük olan *Daphnia magna* bireyleri konulmuştur. 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar halinde her bir kaptaki hareketli *Daphnia magna*'lar sayılmış ve ortamın hafifçe karıştırılmasından sonra hareketsiz bireyler ölü olarak kabul edilmiştir.

Havuz suyu + *Egeria densa* ile yapılan deney için sağlıklı ve yeşil görümlü *Egeria densa* bitkisinden her behere 10 cm'lik 3 adet fragmentler ilave edilmiştir.

Deney ortamları ve deney gruplarına ilişkin anlatım Şekil 3.1'de gösterilmektedir. .Ön deneme dahil olmak üzere her bir deney sonrası elde edilen sonuçlara “Araştırma Bulguları” başlığı altında yer verilmiştir.

Deney Grupları ve Konsantrasyonlar	%25	%50	%75	Kontrol
Muşluk suyu + <i>Daphnia magna</i>	 I	 II	 III	 X
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i>	 IV	 V	 VI	 XI
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i> + <i>Egeria densa</i>	 VII	 VIII	 IX	 XII

Şekil 3.1 Deneylerin gerçekleştirildiği ortamlar ve deney grupları

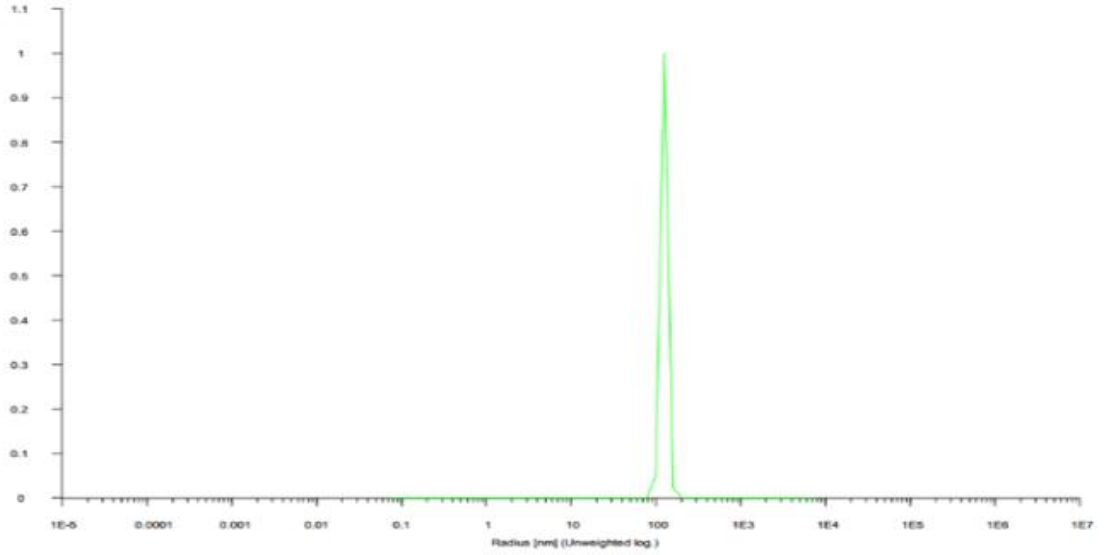
3.8 Deney Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Deneylerden elde edilen sonuçların istatistiksel analizi için SPSS V 23.0 paket programı kullanılmıştır. Deney sonuçları normal dağılım göstermediğinden dolayı non-parametrik testlere tabi tutulmuştur. Deney ortamlarını her konsantrasyon için birbiriyle istatistiksel olarak karşılaştırmak üzere Mann Whitney U testi uygulanmış, her deney ortamını kendi içinde farklı konsantrasyondaki deney grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları hesaplamak için de Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Tüm değerlendirmeler için önem sınırı $P < 0,05$ olarak alınmıştır.

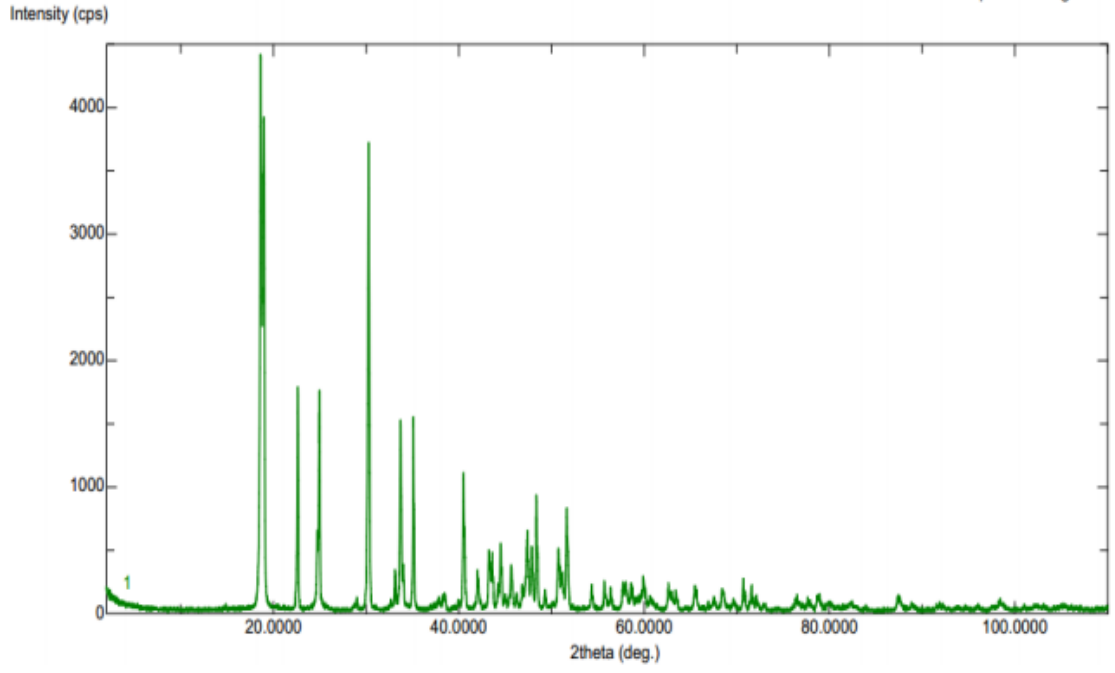
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 ZnO NP Karakterizasyonuna ait Bulgular

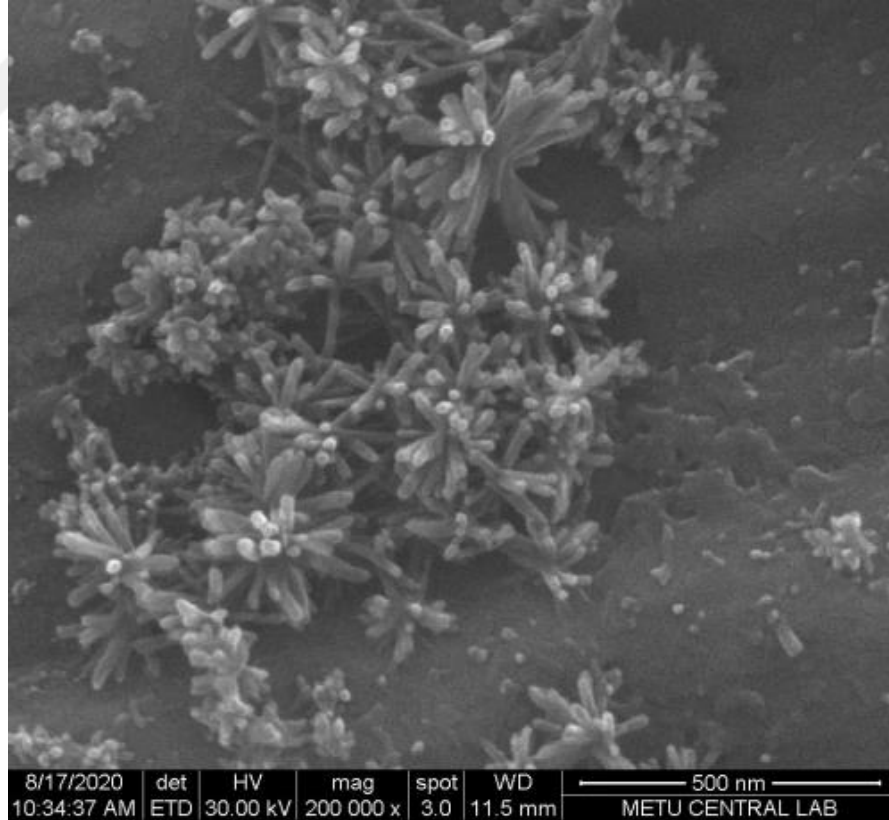
Rajesh vd'nin (2012) prosedürüne göre sentezlenen ZnO NP'nin hidrodinamik boyutu DLS yöntemi (Şekil 4.1) ile ölçülerek 136,8 nm şeklinde saptanmıştır. Toz formunun boyutları XRD yöntemi (Şekil 4.2) kullanılarak ölçülmüş, geniş pikli polikristal bir yapıda olduğu ve boyutunun 90.5 ± 3.8 nm olduğu belirlenmiştir. SEM mikroskobu (Şekil 4.3) kullanılarak yapılan gözlemlerde nanorod formda ve çiçek şeklinde gözlemlenen ZnO NP'nin agregat oluşturduğu ve bu agregatların 5-10 μ m boyutuna kadar ulaştığı görülmüştür.



Şekil 4.1 ZnO NP'nin DLS yöntemiyle ölçülen hidrodinamik boyutu



Şekil 4.2 ZnO NP'nin XRD kırınım desenleri



Şekil 4.3 ZnO NP'nin SEM görüntüsü

4.2 Havuz Suyu Karakterizasyonuna ait Bulgular

Örnekler Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Laboratuvarında ters ışık mikroskobu (Leica DM-IL) altında incelenmiş, organizmalar çeşitli teşhis anahtarları kullanılarak (Ward ve Whipple (1945), Edmonson (1959), Harding ve Smith (1974), Kolisko (1974), Koste (1978), Nogrady ve Pourriot (1995), Segers (1995), De Smet (1996), Simirnov (1996), Wallace vd. 2006, Perumal vd. 2018) tür veya cins seviyesinde Şekil 4.4’de tanımlanmış ve sayıca fazladan aza doğru yoğunluklarına göre sıralanmıştır. Gözlemlenen türlerden *Lecane luna*, *Lecane bulla*, *Lecane clasterocerca*, *Cephalodella gibba* ve *Pandorina* sp.’nin mikroskobik görüntülerine sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da yer verilmiştir.

Zooplankton (Rotifera)	Fitoplankton
• <i>Lecane bulla</i> • <i>Lecane luna</i> • <i>Lecane lunaris</i> • <i>Polarthra vulgaris</i> • <i>Lepadella patella</i> • <i>Cephalodella gibba</i> • <i>Rotaria rotatoria</i> • <i>Lecane clasterocerca</i> • <i>Asplanchna priodonta</i> • <i>Cephalodella gibba</i>	• <i>Pediastrum</i> • <i>Pandorina</i> sp. • <i>Cymbella</i> sp. • <i>Cyclotella</i> sp. • <i>Fragilaria</i> • <i>Synedra</i> • <i>Nitzschia</i>

Şekil 4.4 Havuz suyunda gözlemlenen plankton türleri



Şekil 4.5 *Lecane luna*



Şekil 4.6 *Lecane bulla*



Şekil 4.7 *Lecane clasterocerca*



Şekil 4.8 *Cephalodella gibba*



Şekil 4.9 *Pandorina* sp.

Havuz suyunda ayrıca sertlik (CaCO_3) (Hach-8213), nitrat (Hach-8039), nitrit (Hach 8507) ve fosfat (Hach-8190) seviyesi spektrofotometrik (Hach DR-6000) olarak tayin edilmiş ve ortaya çıkan seviyeler Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Havuz suyundaki sertlik, nitrat, nitrit ve fosfat seviyeleri

Sertlik (CaCO_3) ppm	Nitrat ppm	Nitrit ppm	Fosfat ppm
16.3	0.179	< 0.002	< 0.08

4.3 Ön Deneme (LC_{50} Değeri) Sonuçları

Ön deneme çalışması sonunda kontrol grubunda herhangi bir ölüm meydana gelmediği, bununla birlikte deneme gruplarında konsantrasyon miktarı arttıkça mortalitenin de arttığı tespit edilmiştir. 96 saat sonundaki mortalite oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

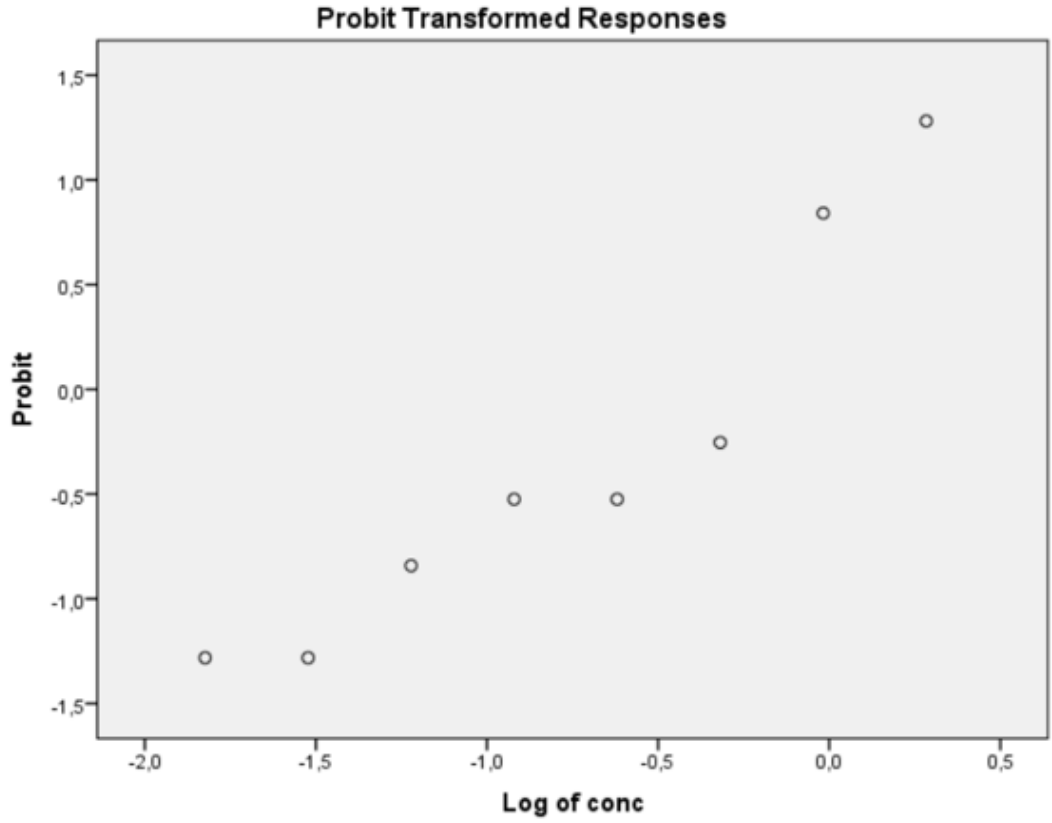
Çizelge 4.2 ZnO NP'nin farklı konsantrasyonlarda *Daphnia magna* bireyleri üzerine etkisi ve 96 saatlik ölüm oranı

Konsantrasyon (mg/L)	Canlı Sayısı	Ölü Sayısı	%Ölüm Oranı (P)
Kontrol	10	0	0
0.015	10	1	10
0.03	10	1	10
0.06	10	2	20
0.12	10	3	30
0.24	10	3	30
0.48	10	4	40
0.96	10	8	80
1.92	10	9	90

Bu verilerden yararlanarak probit analiz yöntemi ile 96 saatlik LC₅₀ değerleri (Çizelge 4.3) hesaplanmış ve regresyon grafiği (konsantrasyon-ölüm eğrisi) Şekil 4.10'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.3 ZnO NP *Daphnia magna* için LC₅₀ değerleri

%95 güven aralığında ZnO NP için LC ₅₀ değerleri (mg/L)			
Nokta	LC ₅₀ Değeri	Alt Sınır	Üst Sınır
10	0.030	0.06	0.65
20	0.069	0.22	0.131
30	0.127	0.55	0.231
40	0.213	0.109	0.411
50	0.346	0.189	0.773
60	0.562	0.303	1.570
70	0.945	0.476	3.542
80	1.735	0.776	9.547
90	4.032	1.475	39.118



Şekil 4.10 96 saatlik ZnO NP probit değerleri ve regresyon grafiği

Sonuç olarak, *Daphnia magna* için ZnO NP'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri probit analiz yöntemi ile 0.346 mg/L olarak belirlenmiştir.

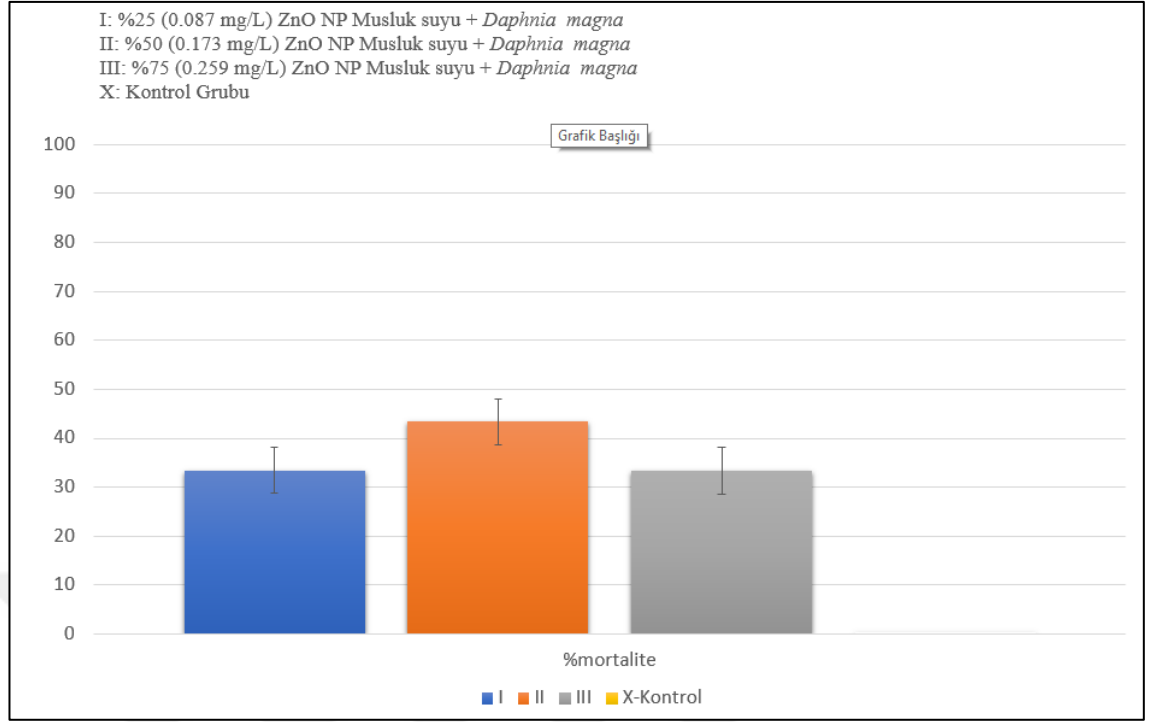
4.4 Musluk Suyu + *Daphnia magna* Deney Sonuçları

96 saatlik LC₅₀ değerinin %25'ini (0.087 mg/L), %50'sini (0.173 mg/L) ve %75'ini (0.259 mg/L) içeren musluk suyu deneyi için 96 saat sonundaki deney sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun *Daphnia magna* bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı

Grup Adı	Deney ortamı	% Mortalite	Ortalama Mortalite	Standart Sapma
I	%25	30	33.33	4.71
		40		
		30		
II	%50	50	43.33	4.71
		40		
		40		
III	%75	40	33.33	4.71
		30		
		30		
X	Kontrol	0	0	0
		0		
		0		

Deney boyunca, kontrol grubunda (X) herhangi bir ölüm meydana gelmemiştir. Bununla birlikte standart sapma verileri dikkate alındığında 96 saat sonunda I grubunda ortalama mortalite değeri %33.33, II grubunda ortalama mortalite değeri %43.33, III grubunda ise ortalama mortalite değeri % 33.33 olarak saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Musluk suyu + *Daphnia magna* deneyi % mortalite dağılımı

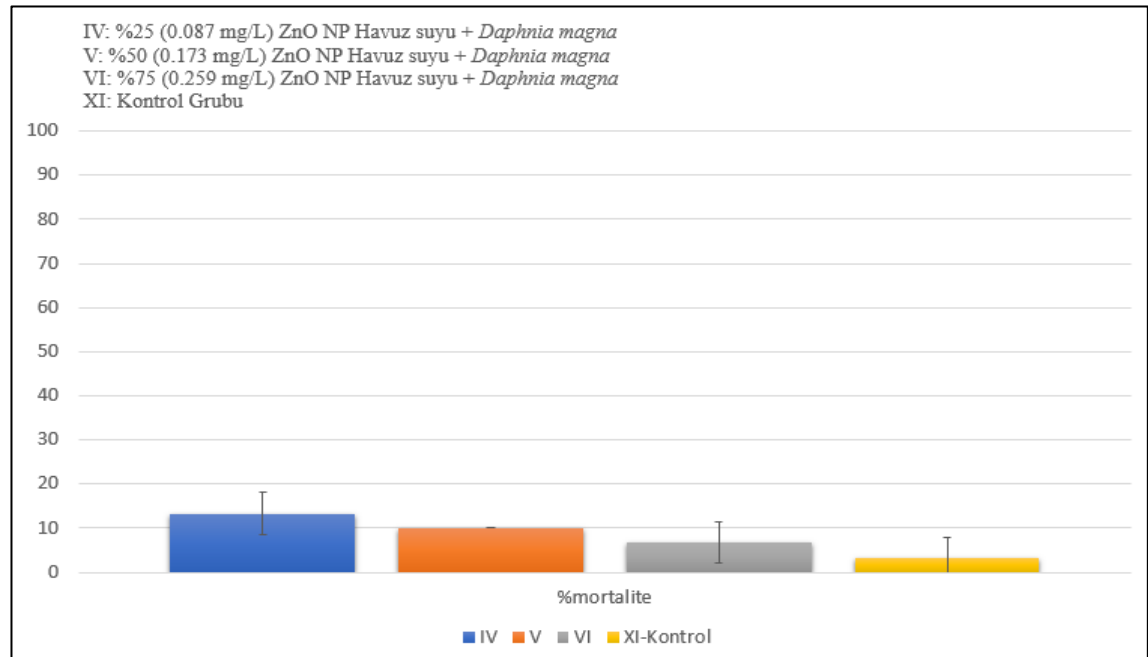
4.5 Havuz Suyu + *Daphnia magna* Deney Sonuçları

96 saatlik LC₅₀ değerinin %25'ini (0.087 mg/L), %50'sini (0.173 mg/L) ve %75'ini (0.259 mg/L) içeren havuz suyu deneyi için 96 saat sonundaki deney sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun *Daphnia magna* bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı

Grup Adı	Deney ortamı	% Mortalite	Ortalama Mortalite	Standart Sapma
IV	%25	20	13.33	4.71
		10		
		10		
V	%50	10	10	0
		10		
		10		
VI	%75	10	6.67	4.71
		0		
		10		
XI	Kontrol	0	3.33	4.71
		0		
		10		

Deney boyunca standart sapma verileri dikkate alındığında 96 saat sonunda kontrol grubunda (XI) ortalama mortalite %3.33, IV grubunda ortalama mortalite değeri %13.33, V grubunda ortalama mortalite değeri %10, VI grubunda ise ortalama mortalite değeri % 6.67 olarak saptanmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Havuz suyu + *Daphnia magna* deneyi % mortalite dağılımı

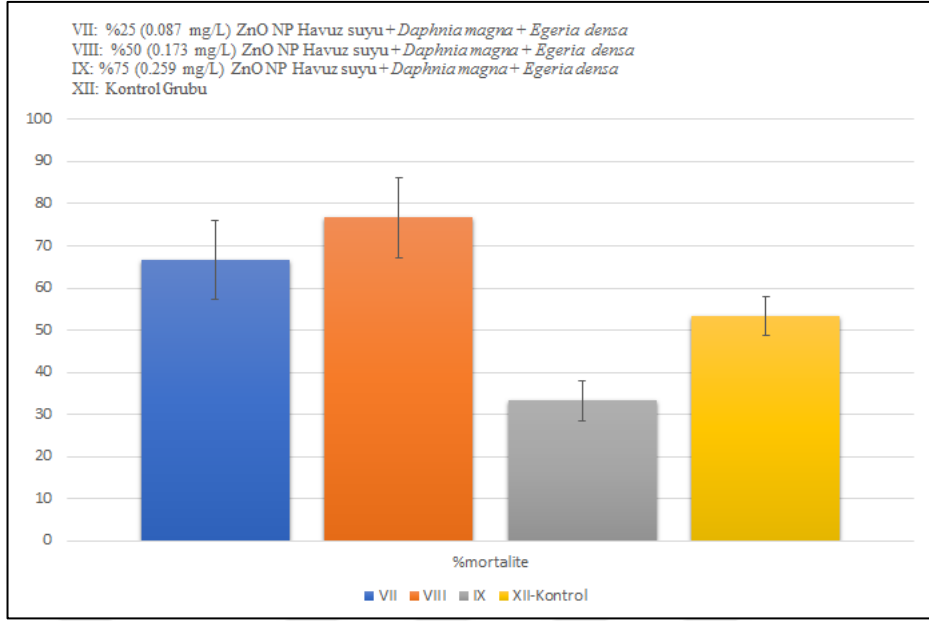
4.6 Havuz Suyu + *Daphnia magna* + *Egeria densa* Deney Sonuçları

96 saatlik LC₅₀ değerinin %25'ini (0.087 mg/L), %50'sini (0.173 mg/L) ve %75'ini (0.259 mg/L) içeren havuz suyu + *Egeria densa* deneyi için 96 saat sonundaki deney sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 %25, 50 ve 75 'lik konsantrasyonun *Daphnia magna* bireyleri üzerine etkisi ve standart sapma verisi ile birlikte ortalama 96 saatlik ölüm oranı

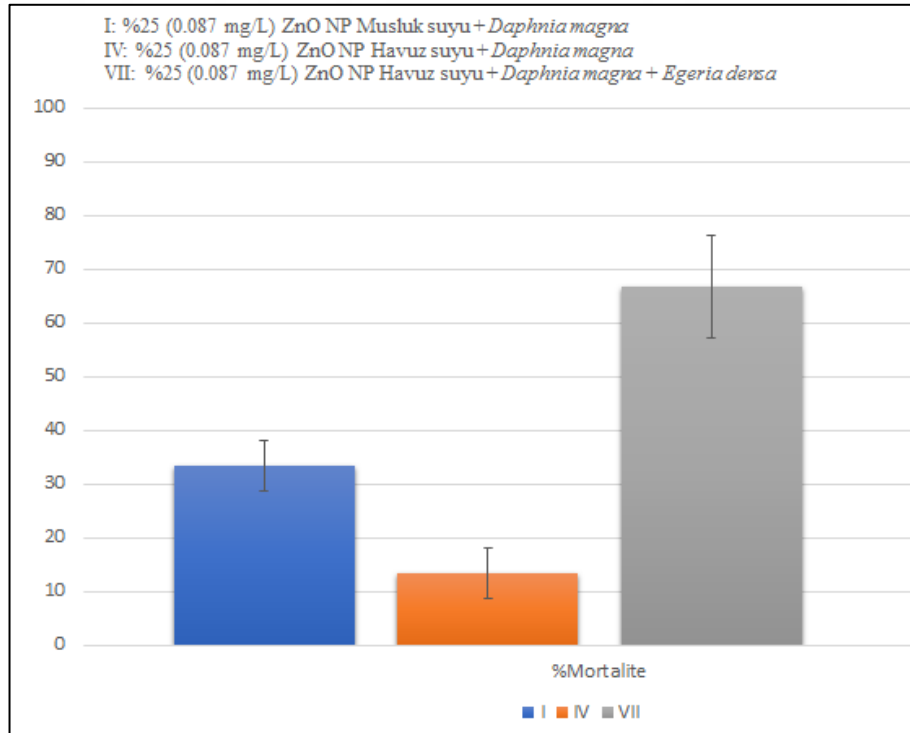
Grup Adı	Deney ortamı	% Mortalite	Ortalama Mortalite	Standart Sapma
VII	%25	80	66.67	9.43
		60		
		60		
VIII	%50	70	76.67	9.43
		90		
		70		
IX	%75	40	33.33	4.71
		30		
		30		
XII	Kontrol	50	53.33	4.71
		60		
		50		

Deney boyunca standart sapma verileri dikkate alındığında 96 saat sonunda kontrol grubunda (XII) ortalama mortalite %53.33, VII grubunda ortalama mortalite değeri %66.67, VIII grubunda ortalama mortalite değeri %76.67, IX grubunda ise ortalama mortalite değeri % 33.33 olarak saptanmıştır (Şekil 4.13).

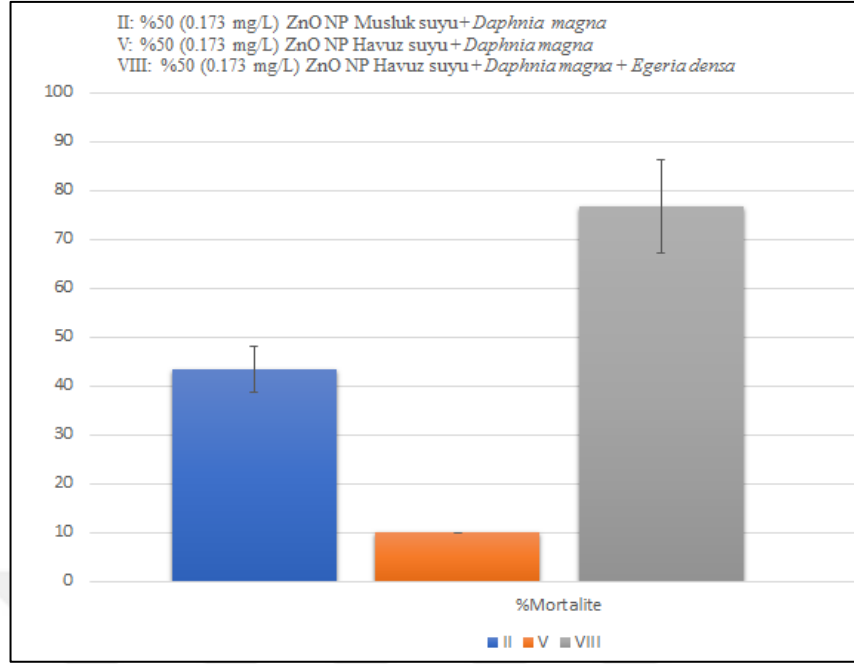


Şekil 4.13 Havuz suyu + *Daphnia magna* + *Egeria densa* deneyi % mortalite dağılımı

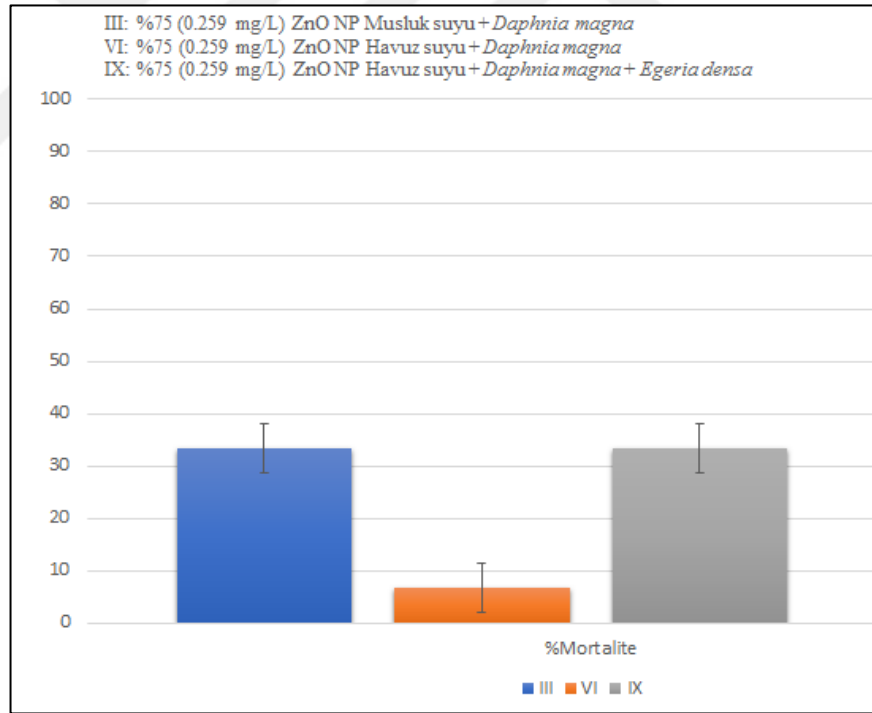
Ayrıca, belirlenen LC_{50} değerinin %25, %50 ve %75'i oranında ZnO NP içeren deney grupları her bir konsantrasyon için kendi içinde karşılaştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.14 %25 ZnO NP içeren deney ortamlarındaki % mortalite dağılımı

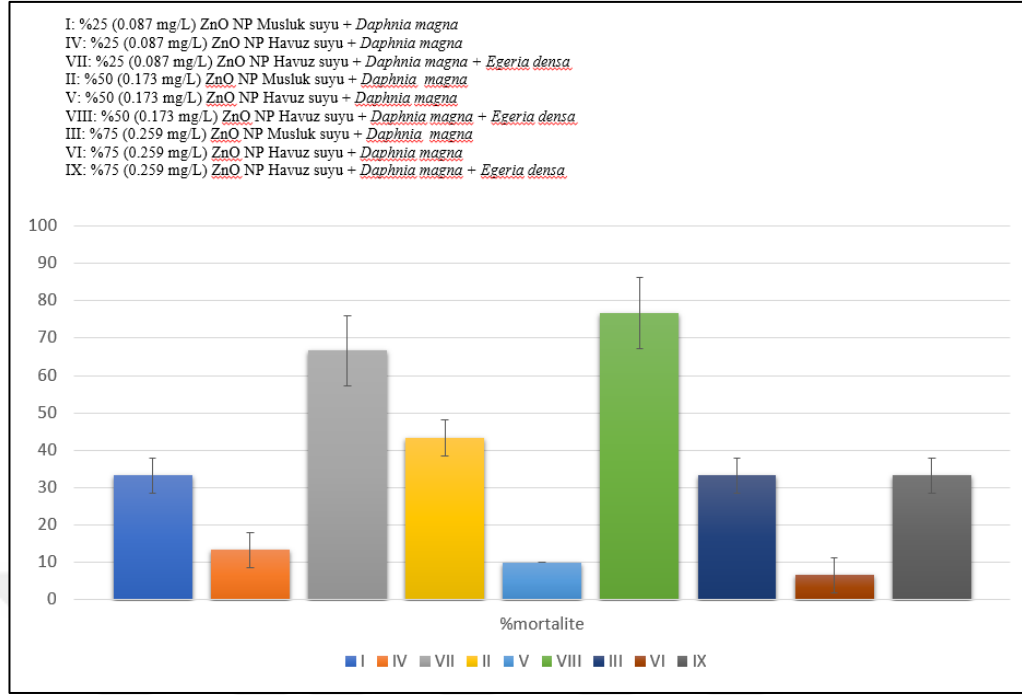


Şekil 4.15 %50 ZnO NP içeren deney ortamlarındaki % mortalite dağılımı

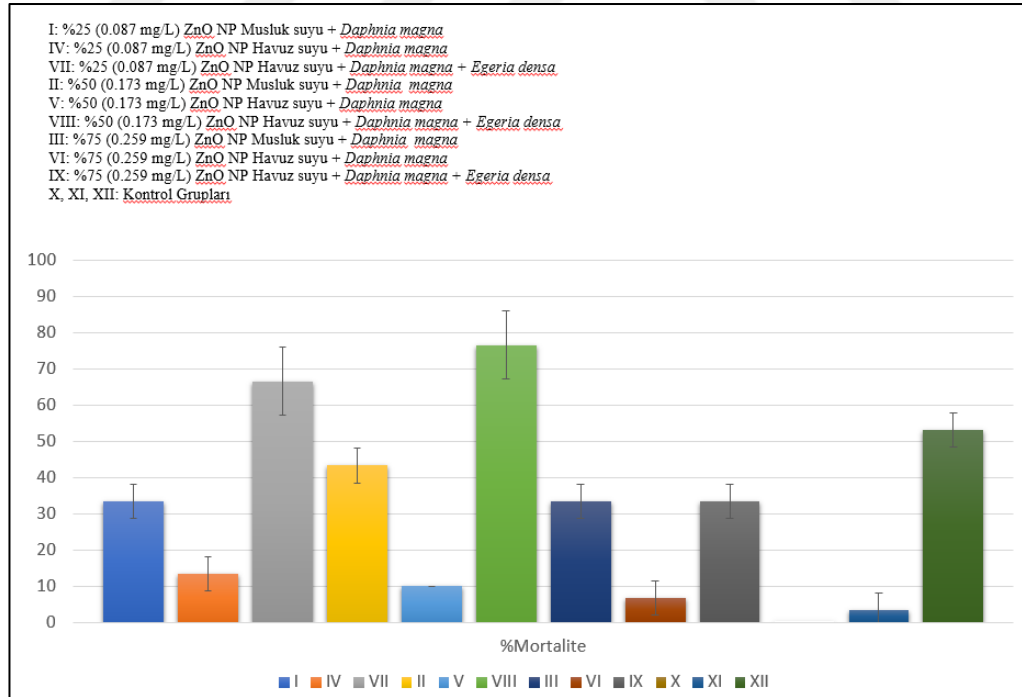


Şekil 4.16 %75 ZnO NP içeren deney ortamlarındaki % mortalite dağılımı

% Mortalite sonuçlarını içeren deney gruplarının tamamının grafiksel gösterimi Şekil 4.17 (kontrol grupları dâhil olmayan) ve Şekil 4.18'de (kontrol grupları dâhil) verilmiştir.



Şekil 4.17 %25, %50 %75 ZnO NP içeren deney ortamlarındaki % mortalite dağılımı



Şekil 4.18 % Mortalite genel dağılım

4.7 İstatistiksel Analiz Sonuçları

Normal dağılım göstermediği için deney grupları arasındaki istatistiksel anlam farklılıklarını ortaya koymak üzere deney gruplarına, non-parametrik testlerden Kruskal Wallis testi (Çizelge 4.7) ve Mann Whitney U testi (Çizelge 4.8) uygulanmıştır.

Kruskal Wallis testinin uygulandığı deney gruplarından I-III, I-X, II-X, III-X, VII-IX ve VIII-IX gruplarındaki mortalite farkı $P < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.7 Kruskal Wallis test sonuçları

Deney Ortamı	ZnO NP konsantrasyonu	Deney Grubu	Chi-Square	df	Sig.
Musluk suyu + <i>Daphnia magna</i>	%25-%50	I-II	8.859	3	$P > 0,05$
	%25-%75	I-III			$P < 0,05$
	%50-%75	II-III			$P > 0,05$
	%25-kontrol	I-X			$P < 0,05$
	%50- kontrol	II-X			$P < 0,05$
	%75- kontrol	III-X			$P < 0,05$
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i>	%25-%50	IV-V	5.019	3	$P > 0,05$
	%25-%75	IV-VI			$P > 0,05$
	%50-%75	V-VI			$P > 0,05$
	%25- kontrol	IV-XI			$P > 0,05$
	%50- kontrol	V-XI			$P > 0,05$
	%75- kontrol	VI-XI			$P > 0,05$
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i> + <i>Egeria densa</i>	%25-%50	VII-VIII	9.384	3	$P > 0,05$
	%25-%75	VII-IX			$P < 0,05$
	%50-%75	VIII-IX			$P < 0,05$
	%25- kontrol	VII-XII			$P > 0,05$
	%50- kontrol	VIII-XII			$P > 0,05$
	%75- kontrol	IX-XII			$P > 0,05$

Mann Whitney U testinin uygulandığı deney gruplarından I-IV, II-V, III-VI, IV-VII, V-VIII, VI-IX, IX-XII, I-VII, II-VIII ve X-XII grupları arasındaki mortalite farkı $P < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.8 Mann-Whitney U test sonuçları

Deney Ortamı	ZnO NP konsantrasyonu	Deney Grubu	Mann-Whitney-U	Z	Sig.
Musluk suyu + <i>Daphnia magna</i> –	%25	I-IV	0.00	-2.023	P < 0,05
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i>	%50	II-V	0.00	-2.121	P < 0,05
	%75	III-VI	0.00	-2.023	P < 0,05
	Kontrol	X-XI	3.00	-1.000	P > 0,05
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i> –	%25	IV-VII	0.00	-2.023	P < 0,05
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i> +	%50	V-VIII	0.00	-2.121	P < 0,05
<i>Egeria densa</i>	%75	VI-IX	0.00	-2.023	P < 0,05
	Kontrol	XI-XII	0.00	-2.023	P < 0,05
Musluk suyu + <i>Daphnia magna</i> –	%25	I-VII	0.00	-2.023	P < 0,05
Havuz suyu + <i>Daphnia magna</i> +	%50	II-VIII	0.00	-2.023	P < 0,05
<i>Egeria densa</i>	%75	III-IX	4.50	0.00	P > 0,05
	Kontrol	X-XII	0.00	-2.121	P < 0,05

5. TARTISMA VE SONUÇ

NP üretim tesislerinin ve günlük hayatımızda kullandığımız NP içeren ürünlerin hızla artmasıyla birlikte NP'lerin çevreye salınımı da hızla artmaktadır. Bu salınım NP'lerin çeşitli prosesler ile hava, su ve/veya toprak ortamına girmeleri ile sonuçlanmaktadır. Üretimin yanı sıra; taşıma, depolama ve kullanım aşamalarında ürünlerden ayrılarak deşarj ve sızıntılar ile çevreye salınan NP'ler ekosisteme dahil olurken, aynı zamanda ekosistemin birer parçası olan hava, su ve besinler yoluyla da insanlarla temasa geçmektedir.

NP-çevre etkileşimi ve NP'lerin toksik etkileri günümüzde önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Nano boyuttaki maddelerin canlılar için toksik olmasının yanı sıra besin zincirinde de önemli etkileri olduğu düşünüldüğünde, NP'lerin canlılar üzerindeki etkileri ve alıcı ortamdan uzaklaştırılmasına yönelik çalışmaların artırılması gerekmektedir. Bunun için yapılan araştırmalarda en sık kullanılan canlı *Daphnia magna*'dır.

NP'lerin eşsiz özelliklerinin sucul ortamlardaki ekosistemi nasıl etkilediğine dair yapılan çalışmalar mevcut olsa da NP'lerin sahip oldukları fiziksel ve kimyasal özellikler, çevresel faktörlerin etkisiyle davranışlarının da değişmesine sebep olmaktadır. Dolayısıyla NP'lerin toksisitesine yönelik çalışmalar yapılırken mikrokozmm yaklaşımının uygulanması son derece önemlidir. Buna ilaveten; toksik olduğu bilinen NP'lerin bulunduğu ortamdan uzaklaştırılmasına yönelik çalışmalar yapılması, NP'lerin alıcı ortamdaki toksik etkilerinin önlenmesi ya da azaltılmasına yönelik olarak neler yapılabileceğine dair yol gösterici olacaktır. Günümüzde pek çok kirleticinin alıcı ortamdan uzaklaştırılmasına dair çevre dostu yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden birisi de, sucul makrofit türü bitkilerin kullanılmasıyla bitkinin kirleticiyi kendi bünyesinde biriktirdiği yöntemdir.

Bu tez çalışması kapsamında mikrokozmm yaklaşımı kullanılarak dünyada en çok üretilen metal oksit NP'lerden olan ZnO NP'nin, iki farklı deney ortamında (musluk suyu ve havuz suyu) 0.087, 0.123 ve 0.259 mg/L ZnO NP içeren 3 farklı konsantrasyonda 96

saat maruz bırakılan *Daphnia magna*'ların mortalite oranları araştırılmıştır. Aynı zamanda *Egeria densa* sucul makrofitinin mortaliteye olan katkısını ölçmeye yönelik olarak deneyler gerçekleştirilmiştir.

Biyodeney sonuçları ve yapılan karşılaştırmalı istatistikler göz önüne alındığında; deney için belirlenen her konsantrasyonda, havuz suyundaki % mortalite oranı musluk suyundan daha az olmakla birlikte, bitkili havuz suyunda bu durum farklılık göstermiş ve en yüksek % mortalite oranına bitkili havuz suyunda rastlanmıştır.

Genel olarak; %25, %50 ve %75'lik ZnO NP içeren her deney ortamı ayrı ayrı incelendiğinde, her bir konsantrasyon için musluk suyundaki mortalitenin havuz suyundan daha yüksek olduğu görülmektedir.

Musluk suyu ortamındaki konsantrasyonlar arası karşılaştırma verilerine bakıldığında en yüksek mortalite oranının %50'lik ZnO NP içeren ortamda mevcut olduğu tespit edilmiştir.

Havuz suyu ile musluk suyu ortamı karşılaştırıldığında % mortalite oranının her konsantrasyon değeri için havuz suyunda azaldığı belirlenmiştir. Buna karşılık, bitkili havuz suyundaki %mortalite oranı %25 ve %50'lik ZnO NP içeren ortamlarda bitkisiz havuz suyu ve musluk suyundan daha yüksek iken %75'lik ZnO NP içeren musluk suyu ortamına eşit olmuştur. Ayrıca bitkili havuz suyu ortamında % mortalite oranının en yüksek seviyede olduğu duruma %50'lik ZnO NP konsantrasyondaki ortamda rastlanmıştır.

Tüm deney verileri toplandığında; en fazla toksik etkinin görüldüğü ortam %50'lik ZnO NP içeren bitkili havuz suyu grubunda gözlemlenmiştir. En az mortalitenin görüldüğü ortam ise bitkisiz havuz suyu olmuştur. Bu durum bize, havuz suyundaki mikrobiyal komünite varlığı sebebiyle mortalitenin musluk suyuna kıyasla daha az olduğunu göstermiştir. Ergönül vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada benzer bir şekilde havuz suyundaki planktonik komünitenin ZnO NP'lerin kaderinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiş olup bu sonucu desteklemektedir.

En fazla mortalitenin bitkili havuz suyunda görülmesi beklenmedik bir durum olsa da, *Egeria densa* sucul makrofitinin allelokimyasal madde ürettiğine dair yapılmış çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Espinosa-Rodriguez vd. (2016) tarafından *Egeria densa* sucul makrofitinin bazı fitoplankton türlerini olumsuz etkileyen allelokimyasal maddeler ürettiği belirtilmiştir. *Egeria densa* sucul bitkisinin ZnO NP konsantrasyonu arttıkça %50'lik konsantrasyonda toksik etkiye direnç göstermek için daha fazla allelokimyasal madde salgılamasından ötürü mortalitenin en yüksek seviyede olması beklenebilir. Sonucu desteklemek adına kontrol grupları karşılaştırıldığında da, bitkili havuz suyu kontrol grubundaki (XII) mortalite oranının en yüksek seviyede olduğu görülmektedir.

Bitkili havuz suyu ortamının bitkisiz havuz suyu ortamına kıyasla *Egeria densa* bitkisinin salgıladığı allelokimyasal maddeler sebebiyle doğal havuz suyu ortamı içeriğine ait parametreleri değiştirdiğini ve bu durumun ZnO NP'nin toksisitesini artırdığını da öngörmek mümkündür. Ergönül vd. (2020), doğal ortamlarda çevresel pek çok unsurun ENP'lerin toksisitesini etkileyebildiğini ifade etmişlerdir.

ZnO nanopartikülüne maruz bırakılan *Egeria densa* bitkisinin bünyesinde çinkoyu akümüle edebildiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Dilbaz 2020). ZnO NP'leri küçüldükçe yüzey alanının genişlemesi sebebiyle suya daha fazla Zn^{+2} iyonu yaydığına dair de araştırmalar mevcuttur (Peng vd. 2017). Dolayısıyla ZnO NP'nin bitkili havuz suyu ortamında daha fazla çözündüğünü, bu durumun havuz suyundaki Zn^{+2} iyonunu artırdığını, *Egeria densa* tarafından emilim olsa bile gerek yayılan allelokimyasal maddeler gerekse ortama yayılan Zn^{+2} iyonları sebebi ile, deney ortamının sahip olduğu kimyasal özelliklerinin değişmesinden ötürü bu iki durumun birleştiği noktada mortalitenin maksimum seviyeye ulaştığı söylenebilir.

Sonuç olarak; bu çalışma ile havuz suyu doğal ortamının ZnO NP toksisitesini azalttığı, bununla beraber *Egeria densa* sucul bitkisinin bu çalışma ile belirlenmiş olan LC₅₀ değeri dikkate alındığında, mortaliteye yönelik olumlu bir katkısının olmadığı ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- Aitken, R.J., Chaudhry, M.Q., Boxall, A.B.A., Hull, M. 2006. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends, *Occupational Medicine*, 56 (5), 300–306. doi:10.1093/occmed/kql051.
- Aktürk, C. 2013. ZnO Nano Sistemlerinin Sentezlenmesi ve Manyetik Özelliklerinin Elektron Paramanyetik Rezonans (Epr) Spektroskopisi ile İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fizik Mühendisliği Bölümü, 8-9.
- Anonim. 1999. TS 6050 EN ISO 6341. Su Kalitesi. *Daphnia magna* (Cladocera, Crustacea) hareketliliğinin engellemesinin (inhibisyonu) tayini, akut zehirlilik deneyi.
- Anonim. 2016. Web Sitesi: <https://nano.aku.edu.tr/2016/05/12/nano-4/>, Erişim Tarihi: 01/04/2021.
- Anonim. 2019. Web Sitesi: https://nanoteknoloji.org/metal-oksit-nanopartikulleri/cun_product_page/ Erişim tarihi: 01/04/2021.
- Anonymous. 1984. OECD Guideline for Testing of Chemicals. *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test and Reproduction Test. No:202.
- Anonymous. 2008. OECD Guideline for Testing of Chemicals. *Daphnia magna* Reproduction Test. No:211.
- Arıç, E. 2010. Nanoyapıda Çinko Oksit Partiküllerinin Üretimi ve Karakterizasyonu. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı, 1.
- Ateş, M., Demir, V., İmamoğlu, H. 2013. Nanoparçacıkların özellikleri ve akuatik çevreye etkisi, *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, 360, 58.
- Ateş M. ve Çakıroğulları G.Ç., 2017. Akuatik Nanotoksikoloji. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, 364: 47-53.
- Barrena R, Casals E, Colon J, Font X, Sanchez A. Puentes V. 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles”, *Chemosphere*, 75(7), 851.
- Barzinjy A.A., Hamad S.M., Arkawazie A.F. 2019. Ionic Liquids: Sustainable Media for Nanoparticles, *Jordan Journal of Physics*, 12(4), 45-62.
- Bat L. ve Öztürk M. 1998. Akuatik Toksikoloji. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 6: 148-165.

- Bernas, L.J. 2016. Phytotoxicity of silver species to *Egeria densa* and applications to phytoremediation. Master Science Thesis, Bachelor of Science, Biochemistry & STEM Education, Florida Institute of Technology, Florida.
- Beyers R. J. 1964. The Microcosm Approach to Ecosystem Biology, The American Biology Teacher, 26 (7): 491–498. <https://doi.org/10.2307/4440732>.
- Bhattacharya S.S. and Das, S. 2019. Nanomaterials in Soil Environment: A Review, NASS Journal of Agricultural Sciences, 1(2), 1-12.
- Blinova I, Ivask A, Heinlaan M, Mortimer M, Kahru A. 2010. Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. Environ Pollut 158(1):41–47, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.08.017>.
- Bondarenko, O., Juganson, K., Ivask, A., Kasemets, K., Mortimer, M., Kahru, A. 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. Arch Toxicol 87(7):1181–1200.
- Brayner, R., Ferrari-iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti M. F., Fievet F. 2006. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. 6(4), 866–870.
- Bundschuh M., Filser J., Lüderwald S., McKee M.S., Metreveli G., Schaumann G.E., Schulz R., Wagner S. 2018. Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to?, Environmental Science Europe, 30:6 <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>.
- Celep, Ş. 2007. Nanoteknoloji ve Tekstilde Uygulama Alanları. Çukurova Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, 32.
- Çelikel Y. 2011. Alpha-Cypermethrin'in *Daphnia magna* (Straus 1820) (Cladocera, Crustacea) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Araştırılması, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Dağlıoğlu, Y., Altınok, İ., İlhan, H., Sökmen, M. 2016. Determination of the acute toxic effect of ZnO-TiO₂ nanoparticles in brine shrimp (*Artemia salina*). Acta Biologica Turcica, 29(1), 6-13.
- Dağlıoğlu, Y. ve Yılmaz, H.Ö. 2018. Nanopartikül Karakterizasyon Yöntemleri ve Ekotoksikite Deneylerindeki Önemi, Marmara Fen Bilimleri Dergisi 1: 1-17.
- De Smet, W.H. 1996. Proalidae(Monogonontha). State university of Gent, Belgium, Volume; 4.
- Dilbaz, D. 2020. *Egeria densa*'nın Çinko Oksit Nanopartikülü İle Kontamine Olmuş Sularda Fitoremediasyon Potansiyelinin Değerlendirilmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

- Dodson, S. L., Cáceres, C. E., & Rogers, D. C. 2010. Cladocera and Other Branchiopoda. In Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates Elsevier Inc: 773-827, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374855-3.00020-0>.
- Dumont, E., Johnson, A.C., Keller, V.D.J., Williams, R.J. 2015. Nano silver and nano zinc-oxide in surface waters—exposure estimation for Europe at high spatial and temporal resolution. Environmental Pollution, 196, 341–349.
- Edmondson, W.T. 1959. Fresh water biology 2nd. Edition. Johnviley and Sons Inc. London Chapman and Hall Limited. New York, USA. 1284 p.
- Enderby, J. and Dowling, A., 2004. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties, The Royal academy of Engineering Report, London.
- Ergönül, M.B., Nassouhi, D., Çelik, M., Atasagun, S. 2020. A comparison of the removal efficiencies of *Myriophyllum spicatum* L. for zinc oxide nanoparticles (ZnO NP) in different media: a microcosm approach. Environmental Science and Pollution Research International.
- Eroğlu H. 2019. Ağır Metal Nanopartiküllerinin Sinirli Ot (*Plantago*) Bitkileriyle Fitoremediasyonu, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Espinosa-Rodriguez C.A., Rivera-De La Parra L., Martínez-Téllez A., Gómez-Cabral G. C., Sarma S.S.S., Nandini S. 2016. Allelopathic interactions between the macrophyte *Egeria densa* and plankton (alga, *Scenedesmus acutus* and cladocerans, *Simocephalus* spp.): a laboratory study, Journal of Limnology. 75(s1): 151-160 DOI: 10.4081/jlimnol.2016.1397.
- Farre, M., Gajda-Schrantz, K., Kantiani, L., Barceló, D., 2008. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 393 (1), 81-95. doi:10.1007/s00216-008-2458-1.
- Fettweis, A., Schamphelaere, K., Smoldersa E. 2018. Zinc Toxicity to *Daphnia magna* in a Two-Species Microcosm Can Be Predicted from Single-Species Test Data: The Effects of Phosphorus Supply and pH. Environmental Toxicology and Chemistry, 37(8), 2153-2164. DOI: 10.1002/etc.4171.
- Fikirdeşici, Ş. 2017. Çinko Oksit nanopartikülü ile Çinko Klorür'ün *Daphnia magna* (Straus) üzerine akut toksik etkileri. Trakya Üniversitesi Journal of Natural Sciences, 18(2), 149-152.
- Gao, J., Youn, S., Hovsepyan, A., Llaneza, V.L., Wang, Y., Bitton, G., Bonzongo, J.C. 2009. Dispersion and toxicity of selected manufactured nanomaterials in natural river water samples: effects of water chemical composition, Environ. Sci .Technol. 43(9):3322–3328.

- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B. 2009. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions, *Environment Science Technology*, 43, 9216–9222.
- Hanazato, T. 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution* 112 (1): 1-10.
- Harding, J.P. Smith W.A. 1974. A key to the british fresh water cyclopoid and calanoid copepods. 2nd. ed., Sci. Publ. Vol. 218, Freshwater Biological Association, The Ferry House, Ambleside, Westmorland, 54 p.
- Helland, A. 2004. Nanoparticles: A Closer Look at the Risks to Human Health and the Environment, Master's Thesis, Lund University The International Institute for Industrial Environmental Economics, 5, 6, Sweden.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1938. The water culture method for growing plants without soil. California University, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station Circulation, 347, 32.
- Hommen, U., Knopf, B., Rudel, H., Schafers, C., Schamphelaere, K., Schlekat, C., Garman, R. E. 2016. Microcosm Study To Support Aquatic Risk Assessment Of Nickel: Community-Level Effects and Comparison With Bioavailability-Normalized Species Sensitivity Distributions, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 35, No. 5, pp. 1172–1182.
- Hu, C., Liu, X., Zhao, Y. 2014. Evaluation of growth and biochemical indicators of *Salvinia natans* exposed to zinc oxide nanoparticles and zinc accumulation in plants. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21, 732–739.
- Johnson, W.W. and Finley M.T. 1980. Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates: Summaries of toxicity tests conducted at Columbia National Fisheries Research Laboratory, 1965-78, US Fish and Wildlife Service.
- Karlsson, H.L., Cronholm, P., Gustafsson, J., Möller, L. 2008. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chemical Research in Toxicology*. 21(9), 1726-32.
- Kaya, Y. 2019. Sincan Organize Sanayi Bölgesi Çevresinde Ağır Metaller İle Kontamine Olmuş Ekosistemlerin Fitoremediasyonunda Doğal Bitkilerin Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.
- Keskin, C. ve Baran, M.F. 2020. Metalik Nanopartiküllerin Çevre Dostu Sentezi ve Karakterizasyonu. *Nanomalzeme Sentezi ve Güncel Kullanım Alanları Kitabı*, 47-70.

- Khan, I., Saeed, K., Khan, I. 2017. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7): 908-931.
- Kolisko, R. A. 1974. Plankton rotifers, biology and taxonomy. Science Publishers, Stuttgart, 146 p.
- Koste, W. 1978. Die Radertiere Mitteleuropas, Ein Bestimmungswerk, begründet von Max Voigt, Überordnung Monogononta, II. Tafelband, Gebrüder Borntraeger. Berlin, Stuttgart.
- Lin, D.H. and Xing, B.S. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2), 243-250.
- Nogrady, T. And Pourriot, R. 1995. The Notommatidae. Queen's University, Kingston, Ont. Canada, and Universite 6, Paris, France.
- Odum, H.T, and Hoskin C. M. 1957. Metabolism of a laboratory stream microcosm. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Tex.* 4: 115-133.
- Parlak, E.B. 2013. Gümüş (AgO) ve Aluminyum (AlO) Nanoparçacıklarının Aktif Çamurdaki Mikrobiyal Yapıya Olan Nanotoksikolojik Etkilerinin Belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü NanoBilim ve NanoMühendislik Programı.
- Peng Y.H., Tsai Y.C., Hsiung, C.E., Lin, Y.H., Shih, Y.H. 2017. Influence of water chemistry on the environmental behaviors of commercial ZnO nanoparticles in various water and wastewater samples, *J Hazard Mater* 322:348–356.
- Perker, Z.S. 2010. Nanoteknoloji ve yapı malzemesi alanına etkileri. *Engineering Sciences*, 5(4), 639, 648.
- Perumal, S., Ajima, B., Pachiyappan, P. 2018. Basic and applied phytoplankton biolog, Springer Nature.
- Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., Manivannan, G., 2011. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(2), 184-192
- Qu, J., Yuan, X., Wang X., Shao, P. 2011. Zinc accumulation and synthesis of ZnO nanoparticles using *Physalis alkekengi* L. *Environ Pollut.* Jul;159(7):1783-8. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.04.016.
- Rajesh, D., Lakshmi, B.V., Sunandana, C.S. 2012. Two-step synthesis and characterization of ZnO nanoparticles, *Physica B*.407(2012): 4537–4539.
- Ramsden, J.J. 2005. Chapter 1. What is Nanotechnology? *Nanotechnology Perceptions*, 1(1):3-17 DOI: 10.4024/N03RA05/01.01.

- Reddy, K.M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D.G., Hanley, C., Punnoose, A., 2007. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied Physics Letter*, 90(213902):2139021-2139023.
- Runowski, M. 2014. Nanotechnology – nanomaterials, nanoparticles and multifunctional core/shell type nanostructures Department of Rare Earths, Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland Please cite as: *CHEMIK* 2014, 68, 9, 766–775.
- Sarı, E. 2011. Nikelin *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Crustacea: Cladocera) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Sarıgül, T. 2014. Nanoparçacık Kirliliği. *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, 35.
- Segers, H. 1995. The Lecanidae(Monogononta), University of Gent, Belgium.
- Shamso, E.M. and Hosni A.H. 2020. First record of *Egeria densa* Planch. (Hydrocharitaceae) for the aquatic Flora of Egypt. *Taeckholmia* 40 (2020): 57-63. <https://orcid.org/0000-0002-0068-0224>.
- Siddiqi, K.S., Rahman, A., Husen T.A. 2018. Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes, *Nanoscale Res Lett.* 13: 141. doi: 10.1186/s11671-018-2532-3.
- Smirnov, N. N. 1996. The Chydorinae and Syaciiene (Chydoridae) of the world, SPB Academic Publishing bv, P.O. Box 11188, 1001 GD Amsterdam, The Netherlands.
- Song, U. and Lee, S. 2016. Phytotoxicity and accumulation of zinc oxide nanoparticles on the aquatic plants *Hydrilla verticillata* and *Phragmites australis*: leaf-type-dependent responses. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(9); 8539-8545.
- Taniguchi N. 1974. On the basic concept of ‘nano-technology’. *Proc Intl Conf Prod Eng Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering*, pp. 5-10.
- Teleanu, D.M., Chircov, C., Grumezescu, A. , Volceanov, A., Teleanu, R.I. 2018. Impact of Nanoparticles on Brain Health: An Up to Date Overview. *Journal of Clinical Medicine*, 7(490), 1-14, doi:10.3390/jcm7120490.
- Terzi, H. ve Yıldız, M. 2011. Ağır Metaller ve Fitoremediasyon: Fizyolojik ve Moleküler Mekanizmalar, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, AKÜ-FEBİD* 11 (2011) 011001 (1-22).
- Tüylek, Z. 2019. Nanotıp alanında kullanılan sistemler. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(12), 120-121.

- Uyanıkgil, E.Ö.Ç. ve Salmanoğlu D.S. 2020. Metalik nanopartiküllerin hedeflendirilmesi, Ege Tıp Dergisi 59 (1).
- Ünşar, E. ve Perendeci, N. 2016. Nanopartiküllerin çevresel akıbetleri ve anaerobik parçalanma prosesine etkileri, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 22(6), 503-505.
- Wallace, R.L., Snell, T.W., Ricci, C. 2006. Rotifera: biology, ecology, and systematics, 1st edn. Backhuys, Leiden.
- Wilhelmi, V., Fischer, U., Weighardt, H., Schulze-Osthoff, K., Nickel, C., Stahlmecke, B. et al. 2013. Zinc Oxide Nanoparticles Induce Necrosis and Apoptosis in Macrophages in a p47phox- and Nrf2-Independent Manner. PLoS ONE 8(6): e65704. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065704>.
- Yanamala, N., Kagan, V., Shvedona, A. 2013. Molecular modeling in structural nanotoxicology: Interactions of nano-particles with nano-machinery of cells. Advanced Drug Delivery Reviews, 65(15), 2.
- Yung, M., Mouneyra C., Leung K., 2014. Ecotoxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in the Marine Environment. Encyclopedia of Nanotechnology, DOI 10.1007/978-94-007-6178-0_100970-1.
- Wang, B., Feng, W., Wang, M., Wang, T., Gu, Y., Zhu, M., Ouyang, H., Shi, J., Zhang, F., Zhao, Y., Chai, Z., Wang, H., Wang, J. 2008. Acute toxicological impact of nano and submicro scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. Journal of Nanoparticle Research, 10, 263–276.
- Ward, H. B. And Whipple, G. C. 1945. Freshwater biology, 2nd. edition, John Wiley&Sons: New York, USA, 1111 p.
- Zhu, X., Zhu L., Chen Y., Tian S. 2009. Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*. Journal of Nanoparticle Research, 11, 67-75.