

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*Egeria densa*'nın ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLÜ İLE KONTAMİNE  
OLMUŞ SULARDA FİTOREMEDİASYON POTANSİYELİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dilara DİLBAZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2020

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

*Egeria densa*'nın ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLÜ İLE KONTAMİNE OLMUŞ  
SULARDA FİTOREMEDİASYON POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dilara DİLBAZ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL

Nanoteknoloji ve nanopartiküllere olan ilgi günden güne artmaktadır. Boyutlarının kazandırdıkları eşsiz fiziko-kimyasal özellikleri bu ilginin temel sebeplerinden biridir. Çok geniş bir yelpazede kullanım alanına sahip olan ve insan ile çevre sağlığı üzerinde toksik etkileri olduğu bilinen çinko oksit gibi nanopartiküllerin, doğadaki konsantrasyonlarında maalesef artış gözlenmektedir. Çinko oksit nanopartikülünün en çok üretilen metal oksit nanopartikülleri arasında yer aldığı ve sınıfındaki diğer nanopartiküllere kıyasla daha fazla toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Bu sebeple sucul ortamlarda biriken çinko oksit nanopartiküllerin uzaklaştırılması önemli bir çevre sorunu olarak ele alınmaktadır. Biyolojik arıtma yöntemleri içerisinde yer alan fitoremediasyon, günümüzde boya giderimi, ağır metal giderimi (azot, fosfat vb.) ve besleyici element giderimi gibi işlemlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak nanopartiküllerin arıtılmasında, fitoremediasyon tekniğinin kullanılabilirliği ile ilgili literatürde yeterince bilgi bulunmamaktadır.

Yapılan bu çalışmada, nanopartikül giderim kapasitesi hakkında çok az bilgi bulunan *Egeria densa* sucul bitkisinin, farklı konsantrasyonlardaki çinko oksit nanopartikülünü ortamdan uzaklaştırma miktarının belirlenmesi, bünyesinde akümüle edebilme potansiyeli ve bitki üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda *Egeria densa* sucul bitkisi, 7 gün boyunca düşük (1 ppm), orta (10 ppm) ve yüksek (20 ppm) olmak üzere üç farklı konsantrasyonda çinko oksit nanopartikülüne maruz bırakılmıştır. Kirlenmiş bulunan deney ortamından ve deneyde kullanılan bitkilerden, 1. 4. ve 7. günlerde örnek alınarak bitki bünyesinde akümülyasyon miktarı ve ortamda kalan nanopartikül miktarı belirlenmiştir. Yüzde giderim oranları 1 ppm'de %87,44, 10 ppm'de %72,82 ve 20 ppm'de %73,15 şeklinde saptanmıştır. Bitki bünyesinde yapılan ölçümler ise bitki dokularında nanopartikül birikiminin gerçekleştiğini göstermiştir.

Sonuç olarak; *Egeria densa* bitkisinin çinko oksit nanopartikülü ile kirlenmiş suların fitoremediasyonunda kullanılabilir olduğu bulunmuştur.

**Aralık 2020, 64 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** ZnO NP (çinko oksit nanopartikülü) giderimi, fitoremediasyon, dekontaminasyon, toksisite, *Egeria densa*

## ABSTRACT

Master Thesis

### ASSESSING THE POTENTIAL OF *Egeria densa* FOR PHYTOREMEDIATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES CONTAMINATED WATER

Dilara DİLBAZ

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL.

Interest in nanotechnology and nanoparticles is increasing day by day. The unique physico-chemical properties of its dimensions are one of the main reasons for this interest. Unfortunately, there is an increase in the concentrations in nature of nanoparticles such as zinc oxide, which have a wide range of uses and are known to have toxic effects on human and environmental health. It is known that zinc oxide nanoparticles are among the most produced metal oxide nanoparticles and have more toxic effects compared to nanoparticles in their class. For this reason, the removal of zinc oxide nanoparticles accumulated in aquatic environments is considered as an important environmental problem. Phytoremediation, which is one of the biological treatment methods, is frequently used in processes such as dye removal, heavy metal removal (nitrogen, phosphate, etc.) and nutrient removal. However, there is not enough information in the literature about the use of phytoremediation technique in the treatment of nanoparticles.

In this research, the *Egeria densa* aquatic plant, which has very few information about nanoparticle removal capacity, determination of the removal amount of zinc oxide nanoparticles in different concentrations, their accumulation potential and their effect on the plant were evaluated. For this reason, *Egeria densa* aquatic plant was exposed to zinc oxide nanoparticles at three different concentrations as low (1 ppm), medium (10 ppm) and high (20 ppm) for 7 days. The amount of accumulation within the plant and the amount of nanoparticles remaining in the environment were determined by taking samples from the experimental environment with contaminants and the plants used in the research on the 1st, 4th and 7th days. Percentage removal rates were measured as 87.44% at 1 ppm, 72.82% at 10 ppm and 73.15% at 20 ppm. Measurements made within the plant showed that nanoparticle accumulation occurred in plant tissues.

It was concluded that; the *Egeria densa* plant has been found to be useful in phytoremediation of water contaminated with zinc oxide nanoparticles.

**December 2020, 64 pages**

**Key Words:** Removal of ZnO NP (zinc oxide nanoparticle), phytoremediation, decontamination, toxicity, *Egeria densa*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince yakın ilgi, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen hem bilimsel hem de manevi desteği ile yoluma ışık tutan, engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Borga ERGÖNÜL'e (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) en içten şükranlarımı saygılarımla sunarım.

Bu tez çalışması kapsamında "Tübitak 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı" aracılığıyla beni destekleyen TÜBİTAK'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ankara Üniversitesi bünyesinde yüksek lisans doktora yapan, her daim bilgilerinden faydalandığım, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek bana destek olan laboratuvar arkadaşım Uzman Danial NASSOUHI'ye, tez yazım aşamalarında çokça yardımı dokunan ve beni destekleyen Ziraat Yüksek Mühendisi Şevket ÖZLÜ'ye, her daim yanımda, yardımlarına başvurduğum Uzman Nazlıhan TEKİN, Esra ERKOÇ, Aybüke KUT ve Duygu SAZLI'ya teşekkür ederim.

Benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen ve bana sürekli olarak desteklediklerini hissettiren annem Aylın DİLBAZ, babam Sahil DİLBAZ ve kardeşim Deniz DİLBAZ'a, okul dışındaki yakın arkadaşlarım Betül AKSAY, Kübra AKTAŞ, Derya GÜNAYDIN ve Damla BAŞBOZKURT'a manevi desteklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dilara DİLBAZ  
Ankara, Aralık 2020

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAY SAYFASI</b>	
<b>ETİK</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>5</b>
2.1 Nanopartiküller.....	5
2.2 Sucul Ortamlara Karışan Nanopartiküllerin Davranış Şekilleri.....	7
2.3 ZnO NP ve Çevre Sağlığı.....	11
2.4 Fitoremediasyon ile İlgili Genel Bilgiler.....	12
2.5 Çalışmada Kullanılan Egeria densa Sucul Makrofiti Hakkında Genel Bilgiler.....	14
2.6 Fitoremediasyon ve Fitotoksisite ile İlgili Çalışmalar.....	14
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>20</b>
3.1 ZnO NP'nün Sentezi.....	20
3.2 ZnO NP'nin Karakterizasyonu.....	20
3.3 Deneylerde Kullanılacak Olan Bitkilerin Kültürü ve Deneye Hazırlanması.....	21
3.4 Cam Malzemelerin Temizlenmesi.....	22
3.5 Biyodenyeler.....	22
3.6 ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectorofotometer: Endüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometresi).....	25
3.7 Su Örneklerinin Alınması.....	26
3.8 ICP-MS ile Numunelerin Analizi.....	26
3.9 Yüzde Giderim ve Biyokonsantrasyon Faktörü.....	26
3.10 Fotopigment Miktarının Belirlenmesi.....	27
3.11 İstatistiksel Analizler.....	28
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>29</b>
4.1 ZnO NP'nin Karakterizasyonu.....	29
4.2 Deney Ortam ve Koşulları.....	31
4.3 ZnO NP Konsantrasyonunun Zaman İçerisinde Ortamdaki Değişimi.....	32
4.4 ZnO NP'nin Bitki Bünyesinde Birikimi ve Biyokonsantrasyon Faktör.....	35
4.5 Bitki Yaş Ağırlığının Deney Süresi İçerisindeki Değişimi.....	36
4.6 Fotopigment Miktarı.....	37
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>39</b>
<b>6. SONUÇ</b> .....	<b>49</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>50</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>64</b>

## SİMGELER DİZİNİ

$\mu\text{M}$	Mikro Molar
Å	Armstrong
Al	Aluminyum
As	Arsenik
Au	Altın
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Kalsiyum Nitrat
Cd	Kanminyum
$\text{CeO}_2$	Seryum Di Oksit
cm	Santimetre
Cu	Bakır
$\text{CuK}\alpha$	Bakır Kappa Alfa Dalgası
$\text{CuO}$	Bakır Oksit
dH	Alman Sertliği
EC	Elektrisel İletkenlik
eV	Elektro Volt
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	Di Poatsyum Fosfat
kg	Kilo Gram
L	Litre
M	Molar
mg	Mili Gram
$\text{MgSO}_4$	Magnezyum Sülfat
mL	Mili Litre
mM	Mili Molar
Mn	Mangan
Ni	Nikel
nm	Nanometre
°C	Santigrat
Pb	Kurşun
Ppm	Mg/L
$\text{TiO}_2$	Titanyum Di Oksit
Zn	Çinko
$\text{ZnCl}_2$	Çinko Klorür
ZnO	Çinko Oksit

## Kısaltmalar

CAT	Katalaz
Chl a	Klorofil a
Chl b	Klorofil b
$\text{C}_{x+c}$	Karatenoid
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DO	Çözünmüş Oksijen
DOM	Çözünmüş Organik Materyal

ENP	Endüstriyel Olarak Üretilmiş Nanopartiküller
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometresi
MeO	Metal Oksit
NP	Nanopartikül
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SOD	Süper Oksit Dismutaz
XRD	X Işığı Kırınımı
ZPC	Sıfır Yüzey Elektrik Noktası



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Scherrer denklemi.....	21
Şekil 3.2 Deneyin özetlendiği şema.....	24
Şekil 3.3 Deney düzeneği.....	25
Şekil 3.4 % giderim formülü.....	27
Şekil 3.5 Biyokonsantrasyon faktör hesaplama formülü.....	27
Şekil 3.6 Spektrofotometre ile fotopigment ölçümü için hazırlanmış olan klorofil ekstraksiyonu içeren süzüntü örnekleri.....	28
Şekil 3.7 A) Etüvde kurutulduktan sonra kuru bitkinin havanda ezilmesi B) Asit ilave edildikten sonra yakılan materyalin fiksasyonunu.....	28
Şekil 4.1 Sentezlenen ZnO NP'lerin ortalama boyutunun DLS yöntemiyle ölçüm sonucu.....	30
Şekil 4.2 Sentezlenen ZnO NP'nin X Işığı Kırınım (X-Ray diffraction=XRD) Modeli.....	30
Şekil 4.3 ZnO NP'nin SEM görüntüsü.....	31
Şekil 4.4 Deney gruplarında <i>Egeria densa</i> bitkisinin yaş ağırlığının deney süresindeki değişimi.....	37
Şekil 4.5 Uygulama gruplarının klorofil değerlerinin günlere göre değişimleri.....	38
Şekil 5.1 Bitki içermeyen deney gruplarında Zn konsantrasyonunun (ppm) zaman içerisindeki değişimi.....	41
Şekil 5.2 Bitki ihtiva eden deney gruplarında ortamda bulunan konsantrasyonunun zaman içerisindeki değişimi.....	45
Şekil 5.3 Deney süresince bitki dokusunda Zn (mg/kg) birikimi.....	46



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Deneyde kullanılan Egeria densa bitkisinin sistematığı.....	4
Çizelge 2.1 Kaynaklarına göre üç ana nanopartikül sınıfı.....	6
Çizelge 2.2 Çeşitli süreçlerde nanopartiküllerin doğaya salınma şekilleri.....	7
Çizelge 2.3 Sucul ortama karışmış MeO NP'lerin karşılaştığı etkenler ve meydana gelen değişimler.....	8
Çizelge 2.4 En çok üretimi yapılan metal oksit nanopartiküllerinin farklı trofik basamaklardaki sucul organizmalar üzerindeki toksik etkisi.....	10
Çizelge 2.5 Halder ve Ghosh (2014)'a göre fitoremediasyon mekanizmaları.....	13
Çizelge 3.1 Deney grupları.....	23
Çizelge 3.2 Lichtenthaler (1983)'e göre fotopigment konsantrasyon formülü (µg/g).....	27
Çizelge 4.1 Su sertlik değerleri ve deney gruplarının ilk gün ortamının fiziko kimyasal değerleri.....	32
Çizelge 4.2 Ortamda bulunan Zn konsantrasyonunun zaman içerisindeki değişimleri (ppm).....	34
Çizelge 4.3 Bitki bünyesinde birikmiş olan Zn miktarı (µg/g).....	36

## 1. GİRİŞ

Nanopartiküller (NP) doğada milyonlarca yıldır kendiliğinden var oldukları gibi kullanım alanlarının geniş olması ve eşsiz fiziksel özellikleri fark edildiği zamandan itibaren, binlerce yıldır da insanlar tarafından üretilmektedirler (Murr vd. 2004, Nowac ve Buchelli 2007). Bu nano boyuttaki materyallerle çalışılmasına olanak sağlayan nanoteknoloji kimya, fizik ve biyoloji temel bilimlerinin kombinasyonu ile sentezlenen nanoboyuttaki materyallerin manipülasyonu temeline dayanan ve umut vaat eden bir bilim dalı olarak tanımlanmaktadır (Rai ve Biswas 2018). Nanopartiküller nanoteknolojinin temel taşı oluşturmakla beraber çok küçük olmaları, hafif olmaları, daha güçlü olmaları ve daha akıllı olmaları gibi özellikleriyle karakterize edilmektedirler (SCENIHR 2007, Biswas ve Sarkar 2018). Nanopartikül, genel olarak 1000 nm (nanometre) altında özellikle de 1-100 nm çapındaki partiküller için kullanılan bir terimdir (Rai ve Biswas 2018). Bir materyalin boyutu 100 nm'nin altına düştüğü zaman Newton mekaniğinden ziyade kuantum mekaniğine göre davranmaktadır (Bhusman 2007). Nanopartiküller sahip oldukları yüksek yüzey alan/hacim oranı sayesinde tercih edilen materyallerdir (Masciangioli ve Zhang 2003). Aynı materyalin mikro veya bulk boyutlardaki diğer formlarıyla karşılaştırıldığında, daha farklı fizikokimyasal özellik gösterdikleri keşfedildiği zamandan beri endüstriyel amaçlı çok miktarda üretimleri yapılmaktadır. Bu sebeple “**bir sonraki sanayi devrimi**” olarak nitelendirilmektedir (Lane vd. 2002). Nanopartiküllerin tarım, medikal, elektronik, kozmetik gibi farklı alanlarda birden çok kullanımları mevcuttur.

Nanopartiküllere talebin yüksek olması üretimlerinin artmasına neden olmaktadır. Bu üretim/tüketim oranının fazla olması sonucunda bu nanopartiküllerin doğaya karışmaları kaçınılmazdır. Kontrollü veya kontrolsüz şekilde doğaya salınan nanopartiküllerin doğadaki konsantrasyonları artmaktadır (Klaine vd. 2008, Osmond ve McCall 2010; Gottschalk vd. 2013). Doğaya karışan her türlü kirleticinin olduğu gibi nanopartiküllerin de nihai durağı sucul ekosistemlerdir. Nanopartiküllerin sucul ekosistemlere taşınıp o bölgelerde birikmeleri “nano-kirliliğe” sebep olmaktadır (Newman ve Zhao 2008).

Nanopartiküllerin sahip oldukları onlara eşsiz karakteristik özellikler sağlayan fiziko-kimyasal yapıları, aynı materyalin bulk formları ile kıyaslandığında daha farklı davranışlar sergilemesine sebep olduğu belirtilmektedir. Özellikle sucul ekosistemlere karışan nanopartiküllerin karşılaştıkları dinamik çevre şartları karşısında ilk halini kaybederek çeşitli fiziksel ve kimyasal değişikliklere uğradıkları belirtilmektedir. Uğradıkları bu değişimlerin davranış biçimlerini ve toksik özelliklerini de etkilediği belirtilmektedir (Ma vd. 2010).

Ham maddelerine göre sınıflandırılmalara tabi tutulan nanopartiküllerin içerisinde en çok üretilenler metal oksit nanopartikülleridir (MeO NP). Bu MeO NP'ler içerisinde en çok üretilen yapıları nanopartikül Titanyum di Oksit ( $TiO_2$ ), hemen ardından da Çinko Oksit Nanopartikülü (ZnO NP) gelmektedir.

ZnO NP'nin içeriğinde bulunan Zn elementi birçok organizmanın yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için gerekli olan mikro besin elementleri arasında yer almaktadır. Aynı zamanda bitki fizyolojisi için gerekli olan Oksidoredüktaz, Transferaz, Hidrolaz, Liyaz, İzomeraz, Ligaz olmak üzere 6 enzim ailesinin de yapısına katılan tek element olma özelliğini taşımaktadır (Auld 2001). Bitkilerin fizyolojik fonksiyonlarını düzenleyebilmeleri için Zn elementine ihtiyaçları vardır (Fageria vd. 2002). İhtiyaçlarından fazla miktarda Zn elementine maruz kaldıklarında ise toksik etkiye sebep olduğu bilinmektedir. ZnO NP'nin de organizmalar üzerindeki etki mekanizması tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte yapılan çalışmalar birden fazla şekilde etki ettiğini belirtmektedir. Bu çalışmalarda en etkin toksisite mekanizmasının sucul ortamda ZnO NP'nin çözülüp ortama  $Zn^{+2}$  salarak organizma üzerinde oksidatif strese sebep olarak bağlı olan katalaz enzimi gibi enzimlerin miktarında artışa sebep olduğu bilinmektedir (Hu vd. 2013, Hu vd. 2014, Whang vd. 2013a, Ma vd. 2013, Thalmann vd. 2014, Neale vd. 2015, Dale vd. 2015). Sucul canlılar üzerinde ZnO NP'nin toksik etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların toksisite mekanizmasının tam olarak açıklamakta yetersiz kalmakta bu yüzden daha fazla çalışma yapılması ilgili konunun uzmanları tarafından önerilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar bakteri, plankton, bitki, balık vb birçok organizma üzerinde çeşitli toksik etkilerinin

olduğu belirtilmektedir (Ma vd. 2013, Odzak vd. 2014, Adam vd. 2015, Ergen and Tunca 2018).

Canlılar üzerinde olumsuz etkileri olduğu bilinen ancak davranış şekilleri hala net bir şekilde bilinmediği için etkileri de tam olarak açıklanamayan ZnO NP gibi kirleticilerin ekosistem sürdürülebilirliği ve insan sağlığı açısından sulardan arıtılması gerekmektedir. Son yıllarda bu tip kirleticilerin sucul ortamlardan uzaklaştırılması doğrultusunda çeşitli metotlar üzerinde çalışılmıştır (McCarty vd. 2011, Nassouhi vd. 2018)

Fitoremediasyon Yunanca bitki anlamına gelen “phyto” ve Latince temizleme/dengeleme anlamına gelen “remedium” kelimelerinin birleşiminden türetilmiştir. Fitoremediasyon tekniği karasal ve sucul bitkiler tarafından ortamdaki besin maddelerinin, metaller ve metaloidler gibi kontaminantların uzaklaştırılması esasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde bitki kök sisteminin benzersiz seçici absorpsiyon işlerinden faydalanılmaktadır. Ekonomik olması, iş gücü gerektirmemesi, çevre dostu olması gibi sebeplerle diğer yöntemlere kıyasla daha sürdürülebilir bir yöntemdir. Düşük ve orta derecede kirlenmiş suların temizliğinde kullanılması önerilmektedir (Ahluwalia ve Goyal 2007, Dixit vd. 2015). Ağır metal, boya maddesi, ham petrol vb. kirleticilerin uzaklaştırılmasında başvurulan bir uygulamadır (Vasavi vd. 2010).

Suların arıtımında kullanılan fitoremediasyon uygulamasında *Pistia stratiotes* L., *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Azolla pinnata* R. Br, *Lemna* sp. (L), *Phragmites australis* (Cav.), *Ceratophyllum demersum* (Cham), *Myriophyllum aquaticum* (Vell.), *Salvinia natanS* (L.), *Elodea cadensis* (Michx.), *Typha latifolia* (L.), *Egeria densa* (Planch.) gibi sucul makrofitlerin yardımına başvurulmaktadır. Her bitki farklı kirleticilerin arıtılmasında daha verimli iş görebilmektedir (Khellaf ve Zerdaoui 2009, Hu vd. 2014, Hanks vd. 2015).

Bu alışmada ZnO NP'nin giderim ve toksisitesini çalışmak üzere *Egeria densa* bitkisi seçilmiştir. Su içi makrofit olan *Egeria densa* bitkisi Hydrocharitaceae ailesine ait

monokotil bir bitkidir. 2012 yılına kadar *Elodea densa* olarak bilinmektedir. Doğada 40-100 cm uzunluğunda bulunabilmektedirler. Fitoremediasyon yönteminde kullanılabilir bir bitki olduğu bilinmektedir (Malec vd. 2009, Glenn vd. 2012, Harguinteguy vd. 2015) Bu bitkiye ait sistematik bilgileri aşağıdaki Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Deneyde kullanılan *Egeria densa* bitkisinin sistematigi

<b>Alem:</b>	Plantae (Bitkiler alemi)
<b>Şube:</b>	Magnoliophyta (Tohumlu Bitkiler)
<b>Alt sınıf:</b>	Magnoliidae (Manolya alt sınıfı)
<b>Aile:</b>	Hydrocharitaceae (kurtboğazıgiller)
<b>Cins:</b>	<i>Egeria</i>
<b>Tür:</b>	<i>Egeria densa</i>

Literatürde çeşitli kirleticilerin arıtılmasında kullanımına ilişkin verilerin mevcut olduğu fitoremediasyon yönteminin nanopartikül gideriminde kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda bilgi mevcuttur. Yapılan bu çalışmalar sonucu su içi bitkisinin arsenik (As), alüminyum (Al), kadmilyum (Cd), bakır (Cu) ve bakır oksit NP (CuO NP), altın NP (Au NP), kurşun (Pb), manganaz (Mn), nikel (Ni) ve çinko (Zn) akümülyasyonunda verimli olarak kullanılabilirdiği belirtilmektedir (Malec vd. 2009, Glenn vd. 2012, Maleva vd. 2012, Abu Bakar vd. 2013, Harguinteguy vd. 2015)

Bu çalışma kapsamında;

- Literatüre nanopartiküllerin giderimi konusunda katkı sağlamak,
- Ağır metal fitoremediasyonunda kullanımı uygun bulunan *Egeria densa* su içi makrofitinin nanopartikül giderim ve akümülyasyon potansiyelinin değerlendirilmesi,
- ZnO NP'nin *Egeria densa* su içi makrofitinin fotosentetik pigment miktarı üzerinde toksik etkisinin saptanması hedeflenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETİ

### 2.1 Nanopartiküller

Piyasada kullanılan ürünlerde nanomateryal kullanımı da sürekli artmaktadır. Nanomateryallerin güneş kremi, kozmetik, eczacılık ürünleri ve yakıt katkı maddesi gibi çok çeşitli alanlarda farklı kullanımları mevcuttur (Horie ve Fujita 2011). Dünya genelinde en çok üretilen nanopartiküller titanyum, silikon ve çinko'nun oksitleri ve gümüş nanopartikülleridir (Vance vd. 2015).

Nanomateryallerin üretimi arz talep ilişkisi doğrultusunda küresel markette sürekli büyümektedir. Uzmanlar değerlerinin 2020 yılında 11,3 milyon dolara, 2022 yılında ise 55,0 milyon dolara ulaşacağını öngörmektedirler (Inshakova ve Inshakov 2017).

Tüm çevrelerce kabul gören bir nanopartikül sınıflandırması henüz bulunmamasına rağmen literatürde fiziksel ve kimyasal özellikleri göz önüne alınarak (i) fullerenler, (ii) metalik nanopartikülleri, (iii) metal oksitler, (iv) kompleks bileşikler, (v) kuantum noktacıkları ve (vi) organik polimerler olmak üzere 6 gruba ayrılırlar (Rana ve Kalaichelven 2013). Bunlardan fullerenler, kompleks bileşikler ve organik polimerler organik kökenliken metalik nanopartiküller, metal oksitler ve kuantum noktaları inorganik kökenlidir. Bu nanopartikül tipleri içerisinde en çok üretimi yapılanlar metal oksit nanopartiküllerdir. Bu nanopartikülleri kaynaklarına göre de doğal nanopartiküller, kazayla üretilen nanopartikülleri ve endüstriyel olarak üretilen nanopartiküller olmak üzere üç şekilde sınıflandırılabilirler. Bu nanopartikül sınıflarıyla ilgili ayrıntılı bilgi Çizelge 2.1' de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Kaynaklarına göre üç ana nanopartikül sınıfı

<b>Doğal Nanopartiküller</b>	Doğada kendiliğinden bulunan, doğal sistem çerçevesinde üretilen nanopartiküllerdir. Virüsler (Petrescu ve Blum 2018) başlı başına nanopartikül olmakla birlikte, Kelebek kanadındaki pullar (Wu vd. 2010), örümcek ağının yapısında da doğal olarak nanopartiküller bulunmaktadır.
<b>Kazayla Üretilen Nanopartiküller</b>	Birçok mekanik veya endüstriyel üretim yapılırken yan ürün olarak oluşan nano boyuttaki ürünlerdir. Bu kazayla üretilen nanopartiküllerin bir kısmı da çevresel kirliliğe sebep olabilmektedir (Chattopadhyay 2018).
<b>Endüstriyel Olarak Üretilen Nanopartiküller</b>	Bu nanopartikül sınıfı insanlar tarafından bilinçli bir şekilde kullanım amacına uygun olarak piyasadaki talebi karşılamak amacıyla üretilen nanopartiküller tarafından oluşturulmaktadır (Rai ve Biswas 2018).

Arzın çok olması üretilen nanopartikül miktarının hızlı artmasına sebep olmaktadır. Bu üretim/tüketimin sonucunda bu materyallerin doğaya karışmasının kaçınılmaz olduğu bilinmektedir. Nanopartiküllerin doğaya salınmaları istemli veya istemsiz olarak, noktasal veya hareketli kaynaklardan, çeşitli şekillerde gerçekleşmektedir (Peralte Videva vd. 2011). Nanopartiküllerin doğaya karışma şekilleri aşağıdaki Çizelge 2.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2 Çeşitli süreçlerde nanopartiküllerin doğaya salınma şekilleri

<b>Nanopartikül içeren ürünlerin üretim aşamasında doğaya karışması:</b>	Nanopartikül ve nanopartikül içeren ürünlerin üretimi sırasında açığa çıkan toz formundaki nanopartikülleri direkt veya indirekt olarak doğaya karışması şeklindeki senaryodur. Toz formundaki bu nanopartiküller hava yoluyla doğaya karışırlar.
<b>Nanopartiküllerin üretim aşamasında doğaya karışması:</b>	Farklı NP üretim tesislerinde yapılan ölçümler, kuru tozların üretim ve işlenmesi sırasında bu materyale maruz kalmış işçiler aracılığıyla doğaya karıştığını savunan senaryodur. İşçiler aracılığıyla doğaya ne kadarının taşındığı bilinmemekle birlikte bir ortama bulaşan nm'nin mutlaka doğaya karışacağı bilinmektedir.
<b>Nanopartikül içeren ürünlerin kullanımı sırasında doğaya karışması:</b>	Üretilen NP'lerin doğaya karışması senaryoları içerisinde en muhtemel olandır. Nanopartikülü içeren ürünün kullanımı, geri dönüşümü ve atıklarından salınan nanopartiküllerin doğaya karışması şeklindedir.
<b>Nanopartiküllerin teknik kompartımanlar sayesinde doğaya karışması:</b>	Nanopartiküllerin sahip olduğu fiziksel özellikler adsorpsiyon yeteneklerinin yüksek olmasını sağlar. Bu özellikleri sayesinde bulk formdaki kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılmasında, remediasyon amacıyla sıkça kullanılmaktadırlar. Ancak remediasyonda kullanılan nanopartiküllerden sadece organik kökenli olanlar remediasyondan sonra ortamdaki tamamen uzaklaştırılabilmektedirler. Metal ve metal oksit nanopartiküller kirleticiye tutunurlar ancak ortamdaki kalmaya devam ederler. Doğada bulunan nanopartiküllerin çoğunluğu atıksu arıtım tesisleri ve yakma tesislerinden yayılmaktadırlar.

## 2.2 Sucul Ortamlara Karışan Nanopartiküllerin Davranış Şekilleri

Her türlü kirleticinin olduğu gibi doğaya karışan nanopartiküllerin de nihai durağı sucul ekosistemlerdir. Sucul ortama giren nanopartiküller dinamik fizikokimyasal çevreyle karşılaşacak ve bu ortamda çeşitli değişimlere uğrayacaktır. Bu değişimlerle ilgili mevcut çalışmalar davranışlarını tam açıklayamamış olmakla ilgili konuyla ilgili yapılan çalışmalarda varılan genel reaksiyonlar aşağıdaki Çizelge 2.3'te özetlenmiştir.



Çizelge 2.3 Sucul ortama karışmış MeO NP'lerin karşılaştığı etkenler ve meydana gelen değişimler (Klaine vd 2008)

<b>Kimyasal değişimler</b>	<b>Fiziksel değişimler</b>	<b>Biyolojik değişimler</b>	<b>Makromoleküler ile etkileşimler:</b>
Çözünme	Agregasyon (Kümlenme)	Organizmalardaki dağılım	Hidrofobik/ elektrostatik etkileşimler
Surfaktanların değişimi	Adsorpsiyon	Biyokarıştırma	Ligand değişimi
Redox reaksiyonları	Depozisyon	Organizmalar tarafından tüketilmesi, metabolik atıklarla dışarı verilmesi	Agregasyon/Agglomerasyon
Diğer inorganik maddeler ile etkileşim	-	-	Hidrojen bağı kurma

Nanopartikülün sulardaki akıbeti ve davranışı biyolojik materyallerle ilişkisini, canlı bünyesinde birikimini ve toksisitesini etkilemektedir ki bu davranış şekli nanopartikülün boyutu, yüzey alanı, parçacık kompozisyonu, oksidasyon derecesi, dış kaplaması ve ortamın pH, elektriksel iletkenliği (EC), sertliği, humik ve fulvik asit gibi organik materyallerin varlığı gibi özelliklerle ilişkilidir (Dunphy Guzman vd. 2006, Klaine vd. 2008, Hou vd. 2016, Pu vd. 2016).

Nanopartiküllerin kaderi ve davranışını etkileyerek yeni bir katı forma dönüşmesini sağlayan, biyolojik organizmalar üzerindeki etkisini belirleyen işlemler adsorpsiyon, yüzey kaplama, çözünme, yüzey transformasyonları ve stabilizasyon/agregasyondur (Wang vd. 2016). Wang vd. (2016)'a göre bu değişimler ile ilgili açıklamalar aşağıda verilmiştir.

Adsorpsiyon/Yüzey kaplama, işlemi endüstriyel amaçlı üretilmiş nanopartiküllerin (ENP), sucul ekosisteme salındıktan sonra akıbetinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. ZPC (Zero Point Of Charge) yani yüzey elektrik noktasının sıfır olması, ENP'nin doğal organik materyallerle (DOM) adsorpsiyonunda önemli bir faktördür. Nanopartiküllerin yüzey yükü doğal ortamlardaki akıbetini etkiler. Çözünme; Wang vd. (2016)'nın yayınladığı derlemeye göre NP'ler çözünebilir ve çözünememe durumlarına göre ikiye ayrılırlar. Bu ayırım doğrultusunda Ag, Cu, ZnO, CuO, CeO<sub>2</sub> ve Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ENP'ler çözünebilir NP'ler arasındayken TiO<sub>2</sub> çözünmeyen grupta yer almaktadır. Yüzey Değişimi, birçok ENP ham maddesinin aynı olduğu daha büyük formlarına kıyasla daha fazla yüzey reaktivitesine sahip olduğundan, kimyasal değişime uğramaya da daha çok meyillidirler. Çözünmeye ek olarak gerçekleşen bu iki yüzey transformasyonu "oksidasyon" ve "sülfidasyon" adı verilen yöntemlerdir. Bu kimyasal değişimlerin teknik detayları henüz tam olarak bilinmemektedir. Stabilizasyon/Aggregasyon, ENP'nin yüzey yükü, adsorpsiyon ile ENP'nin kolloidal stabilitesi arasındaki anahtar ilişkidir. Genel olarak doğal sularda ENP'nin pH<sub>ZPC</sub> değeri 8,0'a yakın veya daha fazla ise başlangıçta yüzey yükü nötralizasyonundan kaynaklı düşer ancak sonrasında DOM miktarının fazla olması, elektrostatik geri tepme ve/veya sterik engellemeden dolayı dağılımı artacaktır (Ghosh vd. 2011. Loosli vd. 2013, Omar vd. 2015 ve Wang vd. 2016). Eğer ortamdaki ENP'nin pH<sub>ZPC</sub> değeri doğal sulara yakın ise (CeO<sub>2</sub> ve Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gibi) genellikle aggregasyon/agglomerasyon gözlemlenir ancak bu durumdayken ortama DOM girişi olduğunda aggregasyon/agglomerasyon oluşumu engellenir ve/veya disaggregasyon (çözünme) gerçekleşir. Aggregasyon ve agglomerasyon oluşumu ilk haldeki nanopartikülün çeşitli faktörlerin etkisiyle güçlü (kovalent bağ) veya zayıf (van der Waals bağ) bağ kurmasıyla oluşmaktadır. Agregat formu güçlü bağ ile kurulurken agglomerasyon oluşumu zayıf bağlardan oluşan ve geri dönüşümü sağlanabilen (ultrasonik yöntemlerle veya çalkalama yoluyla) NP formlarıdır. ENP'nin pH<sub>ZPC</sub>'si, solüsyonun pH'ından büyük olduğunda (Ag, Silisyum Di Oksit (SiO<sub>2</sub>)) elektrostatik tepme ve sterik engelleme'nin dağılım üzerindeki etkisi düşer. İyonik sertlik gibi çevresel faktörlerde ENP'nin yüzey yükünü etkileyerek stabilizasyon/agregasyonu sağlanabilir.

Organizmalar, antropojenik kaynaklardan salınan nanopartiküllere alışık olmadıklarından onlarla başa çıkmak için gerekli yeteneklere sahip olmayabilirler. Sınırlı sayıda dahi olsa yapılan çalışmalar nanopartiküllerin sucul ekosistem ve nihayetinde insanlar üzerinde toksik etkileri olduğu belirtilmiştir (Horie and Fujita 2011). ENP'lerin farklı trofik basamaklar üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmı Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.4 En çok üretimi yapılan metal oksit nanopartiküllerinin farklı trofik basamaklardaki sucul organizmalar üzerindeki toksik etkisi.

	<b>Organizma</b>	<b>Toksosite</b>	<b>Mekanizma</b>	<b>Referans</b>
<b>CuO NP (Bakır Oksit Nanopartikülü)</b>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (Dangeard)	Oksidatif stres	Penetrasyon	Perreault vd. 2012
	<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kutzing) Lemmermann	Genotoksosite	Endositoz İyon salınımı	Lee vd. 2011
	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck)	Oksidatif stres	Endositoz	Gomes vd. 2011
	<i>Cprinus carpio</i> (Linnaeus)	Nörotoksosite	İyon salınımı	
<b>ZnO NP (Çinko Oksit Nanopartikülü)</b>	<i>Chlorella sp.</i>	Büyüme inhibasyonu, Hücre yüzey hasarı	İyon salınımı	
	<i>Daphnia magna</i> (Straus)	Kabuk değiştirme inhibasyonu, Oksidatif stres	İyon salınımı endositoz	Paynton vd. 2011
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum)	Oksidatif stres, Membran hasarı	İyon salınımı	Vevers ve Jha 2008
<b>TiO<sub>2</sub> NP (Titanyum di Oksit Nanopartikülü)</b>	<i>Anabaena variabilis</i>	Oksidatif stres, membran hasarı		Cherchi vd. 2011
	<i>Daphnia magna</i> (Straus)			Dabrunz vd. 2011
	<i>Danio rerio (larval)</i> ((Hamilton)	Histopatolojik yaralanma(solungaçlarda birikime dayalı yaralanma), oksidatif stres	Akümülayon	Chen vd. 2011

### 2.3 ZnO NP ve Çevre Sağlığı

Çinko Oksit NP oda sıcaklığında 3,3 eV band genişliğinde yarı iletken formdadır. Yüze kimyasının stabil oluşu, fotoreaktif olması ve antibakteriyel özellikleri sayesinde elektronik, sağlık, medikal, kozmetik vb. alanlarda sıkça kullanılmaktadırlar (Hong vd. 2006, Mayrinck vd. 2014, Shah vd. 2015, Basnet vd. 2018). Ancak yapılan çalışmalar ZnO NP'nin diğer metal oksit NP'lere oranla daha toksik olduğunu belirtmektedir. Toksikite mekanizmaları ile ilgili net bir ifade olmamakla beraber çoğunlukla ZnO NP'nin çözülerek ortama  $Zn^{2+}$  salması ve bu iyonların canlı metabolizmasında reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species= ROS) üretimine sebep oldukları belirtilmektedir (Hernandez-Viezcas vd. 2011, Narendhran vd. 2016, Singh vd. 2018).

Çinko (Zn) yaşayan organizmalar için gerekli mikro besinleyici elementler arasında yer almaktadır (Prasad vd. 2001, Brun vd. 2014). Bitki ve hayvanların metabolik reaksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bitkilerde Zn oksidoredüktaz, liyaz, izomeraz, transferaz, hidrolaz ve ligand olmak üzere 6 enzim ailesinin yapısında bulunur (Brown vd. 1993, Fageria vd. 2002). Çinko bitkilerde belirli bir konsantrasyona kadar klorofil ve karotenoid sentezinde önemli rol oynamaktadır.

Sucul ortamlara karışmış olan nanopartiküller de diğer kirleticiler (deterjan, boya maddeleri, ağır metal, vb.) gibi su kalitesini ve dolayısıyla kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Organik kirleticilerin aksine nanopartikül, ağır metal gibi inorganik kirleticiler yok olmadıklarından ortamda kalıcı kirliliğe sebep olmaktadır (Klaine vd; 2008). Dolayısıyla ekosistem ve nihayetinde insan sağlığı açısından ZnO NP'lerin de sulak alanlardan uzaklaştırılması ekosistemin sağlığı ve sürdürülebilirliği açısından önemlidir (Hu vd. 2013, Hu vd. 2014, Ma vd. 2014, Neale vd. 2015).

Su canlılığın devamı ve sürdürülebilirliği açısından koşulsuz gereklidir. Ancak dünya üzerindeki su kaynakları sabittir ve arttırılamamaktadır. Bu sebeple atık suların geri dönüştürülerek kullanıma kazandırılmaları sürdürülebilirlik açısından gereklidir. Sulak alanların bu tip kirleticilerden arındırılması önemli bir sorun olarak ele alınmaktadır (Nasouhi vd, 2018).

## 2.4 Fitoremediasyon ile İlgili Genel Bilgiler

Toprak ve sulak alanlardaki ağır metal, iz element, nanopartikül gibi kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılmaları ekosistem sürdürülebilirliği ve insan sağlığı açısından önemlidir. Bunun sağlanması için farklı fizikokimyasal ve biyolojik yöntemler mevcuttur (McCarty vd. 2011, Wang vd. 2015, Wang vd. 2018). Ağır metal gibi kirleticileri kimyasal çöktürme, oksidasyon/redüksiyon, filtrasyon, iyon değişimi, ters ozmos, membran teknolojisi, buharlaştırma ve elektrokimyasal yöntemler ile gidermek mümkündür. Bu yöntemler iş gücünün fazla olması, ekonomik olmaması, yeterli alan bulunmaması, gibi faktörler sebebiyle kullanılabilirlikleri ve sürdürülebilirlikleri sınırlıdır. Aynı zamanda bu yöntemlerin birçoğu ortamdaki kirletici miktarı 100 ppm'in altına düştüğünde istenilen verimle çalışmamaktadır (Nourbakhsh vd. 1994, Ahluwalia ve Goyal, 2005, Dixit vd. 2015).

Fitoremediasyon adı verilen biyolojik temellere dayalı yöntemde ise düşük ve orta derecede kirlenmiş alanlardaki kirleticilerin uygun bitkiler kullanılarak içeriğindeki kirleticilerden arındırılabilir (Vijayaraghavan ve Balasubramanian 2015). Bu amaçla kullanılan bitkiler kirleticileri bünyesinde taşıma, biriktirme ve parçalama özelliğine sahiptir (Hinchman vd. 1995). Halder ve Ghosh (2014) farklı fitoremediasyon tekniklerini bitkilerin fizyolojik süreçlerine göre "fitofiltrasyon, fitostabilizasyon, fitoekstraksiyon, fitovolatilizasyon ve fitotransformasyon" olmak üzere 5 sınıfa ayırmıştır. Bu prosesler Çizelge 2.5'te açıklanmıştır.

Çizelge 2.5 Halder ve Ghosh'a (2014) göre fitoremediasyon mekanizmaları

<b>Fitofiltrasyon</b>	Yüzey suları, atık sular ve yeraltı sularındaki kirleticilerin absorbe veya adsorbe edilerek ortamdan uzaklaştırılmasıdır. Rizofiltrasyon (kirletici bitki kökleri ile alınır), blastofiltrasyon (kirletici fideler ile alınır) ve caulofiltrasyon (kirletici bitki sürgünleri ile alınır) olmak üzere 3 farklı şekilde gerçekleşir.
<b>Fitotransformasyon</b>	Hem bitki kökünde hemde sürgünlerinde gerçekleşen fitoremediasyon tekniğidir, <b>fitodegradasyon</b> olarak da bilinmektedir. Toprak, sediment veya sularda bulunan besleyici elementleri ve kirleticilerin ortamdan alınıp bitki tarafından üretilen enzimler sayesinde direk metabolik yöntemler ile inaktivasyonu, bozulması veya immobilizasyonu şeklinde gerçekleşir. Kısaca bitkinin kendi ürettiği enzimleri kullanarak bünyesine aldığı toksik kontaminantı daha az toksik formuna çevirmesi şeklinde özetlenebilir.
<b>Fitovolatilizasyon</b>	Genellikle arsenik, selenyum gibi uçucu kirleticilerin toprak, sediment veya sulardan bitki kökleri ile alınıp stomalar aracılığı ile terleme işlemiyle atmosfere verilmesi şeklinde gerçekleşir.
<b>Fitostabilizasyon</b>	Genelde toprak, sediment ve sudaki kirleticilerin sabit tutulmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bitki köklerinin etkin olarak kullanıldığı bu yöntem ile ayrıca toprak ve su erozyonu da engellenmektedir. Asıl amaç toprak ve sulardaki kirleticilerin yeraltı sularına ve besin zincirine karışmasını önlemektir. Bitkiler bazı kirleticiler için daha iyi fitostabilizatör özellik göstermektedir. Örneğin <i>Typha domingensis</i> ve <i>Phragmites australis</i> makrofitleri civa ve arsenik için iyi birer stabilizatörken diğer kirleticiler üzerinde böyle bir etkileri mevcut değildir. Ancak bu yöntem metal kirleticilerin arıtımı için yeterince iyi bir yöntem değildir.
<b>Rizofiltrasyon</b>	Hidroponik ortamlarda, su içerisindeki kirleticilerin bitki bünyesinde biriktirilmesi şeklinde bir yöntemdir.

## 2.5 Çalışmada Kullanılan *Egeria densa* Sucul Makrofiti Hakkında Genel Bilgiler

*Egeria densa* sucul bitkisinin 35 °C gibi bir sıcaklık aralığında optimum gelişim göstermektedir (Yarrow vd. 2009). pH'ın 5-8 arasında olduğu sularda hızlı gelişim gösterir (Mony vd. 2007). Tuzluluk toleransı da yüksek olup 5 g/L'ye kadar olan tuzluluk değerlerini tolere edebildiği belirtilmiştir (Hauenstein ve Ramirez 1996). Sertlik toleransı ile ilgili rakamsal bir veriye rastlanmamış olmakla birlikte alkali sularda da yaşayabildiği kaydedilmektedir (Curt vd. 2010). *Egeria densa* su kirliliğinin izlenmesinde biyoindikatör organizma olarak kullanılmaktadır ve sulardaki antropojenik kaynaklı çeşitli kirleticileri (ağır metal vb.) uzaklaştırmada kullanılabileceği kaydedilmektedir (Ngayila vd. 2007, Pietrobelli vd. 2009, Harguinteguy vd. 2013, Schreiber vd. 2013)

## 2.6 Fitoremediasyon ve Fitotoksisite ile İlgili Çalışmalar

Prasad vd. (2001) yaptıkları çalışmada *Lemna trisulca* bitkisini 100, 500 M, 1, 2, 5 ve 10 mM Cd'a ve 1, 2, 5, 10, 25 ve 50 M Cu'a maruz bırakmışlardır. Çeşitli konsantrasyonlarda Cu ve Cd kirleticilerine maruz bırakılan bitkinin klorofil a miktarında belirgin bir düşüş olmadığı ancak klorofil b konsantrasyonunun belirgin bir şekilde düştüğünü belirtmişlerdir.

Khellaf ve Zerdaoui (2009) yaptıkları çalışma ile *Lemna gibba* bitkisinin 6, 10, 14 ve 18 ppm Zn konsantrasyonlarında Zn kirleticisine maruz bırakarak fitoakümülyasyon potansiyelini ölçmüşlerdir. *Lemna gibba* bitkisinin küçükten büyüğe maruz bırakıldığı konsantrasyonlarda bünyesinde sırasıyla 4,23, 15,62, 23,88 ve 25,81 mg/g Zn biriktirdiği ölçülmüştür. Zn'nun ortamdan uzaklaştırılmasında bitki köklerinden salınan biyolojik materyallerin Zn'yi çöktürmesine sebep olarak giderimin %48-51 arasındaki miktarının çöktürme ile meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Khellaf ve Zerdaoui (2009) yaptıkları çalışma ile *Lemna minor* sucul bitkisini Cu, Ni, Cd ve Zn olmak üzere 4 farklı kirleticiye maruz bırakarak bu kirleticilerin bitki

üzerindeki toksisitesini incelemiştir. Cd ve Zn kullanılan tüm deney gruplarında büyümenin inhibe olduğunu, bu 4 kirletici içerisinde görülür etkisinin en az olan kirletici ise Zn'de ve 18 ppm ve üzeri konsantrasyonlarda olduğu vurgulanmıştır.

Mishra ve Tripathi (2009) yaptıkları çalışmada 1, 5, 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarda Cr ve Zn kirleticilerinin *Eichhornia crassipes* bitkisi tarafından akümüasyonlarını incelemiştir. Bitki içeren gruplara paralel olarak bitkisiz gruplarda deneye sokarak giderimin çökme ile olup olmadığı incelenmiş ve bitkisiz gruplarda %2,1-5,7 oranında giderim olduğunu belirterek bu durumu ağır metalin çökmesi, organik madde veya diğer partiküller ile adsorbe olarak çökmesi şeklinde açıklamışlardır.

Malec vd. (2010) *Lemna trisulca* bitkisini kullanarak Cd'ü giderme ve tolere etme potansiyelini ölçmek amacıyla 1, 10, 50 ve 100 µM Cd kirleticisine maruz bırakmışlar ve 7 gün süren bu deneyin ardından bitkinin dokularında ölüm (nekroz) gözlemlemiş, klorofil a miktarının düşerken klorofil a miktarının arttığını raporlamışlardır.

Bakar vd. (2013) yaptıkları çalışma ile *Cabomba piauhyensis*, *Egeria densa* ve *Hydrilla verticillata* olmak üzere üç farklı su içi makrofitin doğal sularda mevcut olan As, Al ve Zn ağır metallerini fitoremediasyon potansiyellerini incelemiş, *Egeria densa* ve *H. verticillata* bitkilerinin As (%95,2) ve Zn'yi (%93,7) yüksek oranda giderdiğini belirtmişlerdir.

Lu vd. (2018) yaptığı çalışmada *Juncus effusus*, *Acorus calamus*, *Eichhornia crassipes*, *Sagittifolia sagittifolia*, *Arundina graminifolia*, *Eichodorus major*, *Nymphaea tetragona*, ve *Pistia stratiotes* olmak üzere 8 farklı makrofitin Cu ile kontamine olmuş sulardaki fitoremediasyon potansiyelini incelemişler ve sonuç olarak bu makrofitlerin her birinin bakırı biriktirme potansiyelinin farklı olduğu her birinin farklı pH derecelerinde daha iyi çalıştığını ve bakır kirliliği fitoremediasyonunda bu bitkiler içerisinde en verimli giderimin *Eichhornia crassipes* ve *Pistia stratiotes* bitkilerinin yaptığını belirtmişlerdir.



Sricoth vd. (2018) yaptıkları çalışma ile *Typhia angustifolia* ve *Eichhornia crassipes* makrofitlerinin 21 gün boyunca gölden alınan doğal su içerisindeki Zn, Pb ve Cd kirleticilerinin giderimini incelemişler ve iki bitkininde paralel olarak en çok Zn'yu en az ise Pb'ü giderdiklerini belirtmişlerdir.

Shi vd. (2011), CuO NP ile bulk formdaki Cu'nun *Landoltia punctata* bitkisi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bulk formdaki Cu'un en yüksek konsantrasyonunda klorofil içeriği %75 oranında düşerken CuO NP klorofil miktarını yaklaşık olarak %60 oranında düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Glenn vd. (2012) nanopartikül boyutu ve bitki bünyesindeki birikim ilişkisini incelemek amacıyla 4 ve 18 nm olmak üzere iki farklı boyuttaki sitrat kaplı Au (altın) nanopartikülünü kullanarak *Myriophyllum simulans*, *Egeria densa*, *Azolla carolinina* bitkilerindeki Au'yu adsorbe, absorbe edişini ve biyo konsantrasyon faktör (BCF)'lerini hesaplamışlardır. Sonuç olarak *Egeria densa* bitkisinin Au nanopartikülünün iki boyutunda biriktirmezken, *A. carolinina* ve *M. simulans* bitkilerinin 4 nm boyundaki Au'yu 18 nm boyutundaki Au'dan daha iyi biriktirdiğini belirtmişlerdir.

Zhang vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Schoenoplectus tabernamontani* bitkisini aynı konsantrasyonlarda (1, 100 ve 1000 ppm) ZnO NP ve Zn<sup>+2</sup> kirleticilerine maruz bırakmış ve ZnO NP'ye maruz kalan bitkinin Zn<sup>+2</sup>'ye maruz kalan gruba göre düşükten yüksek konsantrasyona doğru sırasıyla 2,5, 2,7 ve 3,9 kat daha fazla biriktirdiğini ve ZnO NP'nin bitki bünyesinde taşınmasından ziyade kökte birikim yaptığı gözlemlenmiştir.

Hu vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Salvinia natans* bitkisini 1, 10, 20 ve 50 ppm ZnO NP ve 44 ppm ZnSO<sub>4</sub>'e maruz bırakarak bulk formdaki Zn ile nanopartikül formundaki Zn'nın bu bitki üzerindeki etkisini ve birikimini incelemişlerdir. Bu maruz bırakarak bu süre boyunca bitki büyümesinde belirgin bir fark görülmezken, klorofil a ve klorofil b miktarlarının düştüğünü belirtmişlerdir. Aynı zamanda bitkinin antioksidan enzimlerini incelemiş 50 ppm ZnO NP'ye maruz kalan bitkide ROS miktarının artmasına paralel

olarak Süper Oksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) aktivitelerinde hızla artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Oukarroum vd. (2014) yaptıkları çalışma ile bulk boyuttaki Ni ile nanopartikül formdaki Ni metalinin *Lemna gibba* L. üzerindeki toksik etkisini incelemiş ve 24 saat boyunca bitkileri 0, 1, 10, 100 ve 1000 ppm olmak üzere 5 farklı konsantrasyona maruz bırakarak ROS ve klorofil a miktarlarını ölçmüşler sonuç olarak her iki formunda bitki üzerinde ROS artışına sebebiyet verdiğini ancak nano-Ni'nin, bitkinin fotosentezi için gerekli olan fotosistem elemanlarından fotosistem II'nin (PS II) etkinliğini inhibe ettiğini bunu ise en yoğun 1000 ppm uygulamasında gözlemlediklerini vurgulamışlardır.

Pereault vd. (2014) yaptıkları çalışma ile kapsız ve polimer kaplı CuO NP'nin *Lemna gibba* bitkisi üzerindeki toksisite mekanizmalarını incelemişlerdir. Kapsız olan CuO NP'nin kaplı olan CS-CuO NP'ye göre daha az toksik olduğu CuO NP'nin büyümeyi %50 oranında inhibe ederken CS-CuO NP'nin %54 oranında büyümeyi inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Regier vd. (2015) yaptıkları çalışmada bulk Cu ve CuO NP'nin *Elodea nutalli* sucul bitkisi üzerindeki birikme ve toksisite oluşturma potansiyeli üzerinde çalışılmış ve bu süreç 24 saat sürerek UV ışık varlığında sürdürmüşlerdir. Sonuç olarak bulk formdaki Cu'nun nanopartikül formuna göre daha fazla oranda artıldığı ve bitkide POD ve SOD gibi antioksidant ajanların artmasına sebebiyet verdiğini vurgulamışlardır.

Hanks vd. (2015) yaptıkları çalışma ile *Pistia stratiotes* bitkisini Ag NP ve Ag (I) metaline aynı konsantrasyonlarda (0,02, 0,2 ve 2 ppm) maruz bırakmış ve deneye başlamadan önce ve deney süresi sonunda ortamda kalan Ag miktarlarını ölçmüşler ve sonuç olarak Ag ile kontamine olmuş olan sularda *Pistia stratiotes* bitkisinin fitoremediasyon yapabileceğini belirtmişlerdir.

Adam vd. (2015) ZnO NP'nin, bulk ZnO'nun ve ZnCl<sub>2</sub>'nin sucul ortamda benzer dağılıma sahip olduğunu ve benzer konsantrasyonlarda toksisite oluşturduğunu belirtmiştir.

Chen vd. (2016) yaptıkları çalışmada 0, 0,03, 0,3, 1, 10 ve 30 ppm konsantrasyonlarda ZnO NP'nin *Lemna minor* sucul makrofiti üzerindeki toksik etkisinin zaman ile ilişkisini incelemiştirlerdir. Konsantrasyon ve süre arttıkça PS II'nin aktivasyonun belirgin bir şekilde azaldığını belirtmişlerdir.

Chen vd. (2016) ZnO NP kirleticisinin *Lemna minor* L. üzerindeki toksisitesini belirlemek amacıyla yaptıkları bu çalışmada farklı pH derecelerinde (2,5, 4,5, 6,5, 8 ve 10) farklı konsantrasyonlarda (0, 1, 10 ppm) ZnO NP'ye maruz bırakmışlardır. ZnO NP'nin en hızlı çözünmesinin 4,5 pH'da olduğunu ZnO NP'ye maruz kalan bitkinin ise büyüme oranının %70 oranında azaldığını belirtmişlerdir.

Song ve Lee (2016) yaptıkları çalışma ile *Hydrilla verticillata* ve *Phragmites australis* bitkilerini düşük (0, 0,01, 0.1 ppm) ve yüksek (10, 100, 1000 ppm) olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda ZnO NP'ye maruz bırakmışlar. Kullanılan ZnO NP'nin bitkiler üzerindeki etkisini incelemişler ve 0,1 ppm ve altındaki konsantrasyonlarda ZnO NP'nin herhangi bir etkiye sebep olmadığını, yüksek konsantrasyonlardaki NP'nin düşük konsantrasyona oranla daha kolay biriktiğini belirtmişlerdir.

Torbati vd. (2017) Eridyum ile kaplı ve kapsız ZnO NP'nin *Lemna minor* bitkisi üzerindeki toksisitesini incelemeyi amaçlayarak 0, 1, 10ve 50 ppm Zn<sup>+2</sup>, ZnO NP, EZnO NP ve bulk ZnO'ya maruz bırakarak bitki büyümesi ve SOD miktarını incelemiştirlerdir. Çalışmanın sonucunda, *L. minor*'ün büyümesinde negatif etkisi olan kirleticiler sırasıyla Zn<sup>2+</sup>>ZnO NP>EZnO NP>bulk ZnO şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettikleri sonuçların, Zn<sup>+2</sup>'nin fotosentezin azalmasına veya inhibasyonuna, birçok enzim aktivitesinin düşmesine ve metabolik bozuklar ile büyümenin yavaşlamasına neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Ergen ve Tunca (2018) *Lemna minor* ve *Daphnia magna* organizmalarını 0.3, 3.0 ve 30.0 ppm ZnO NP'ye 7 gün boyunca maruz bırakarak bu kirleticinin etkisini incelemişlerdir. *Lemna minor* tarafından en düşük giderim oranının en düşük konsantrasyon olan 0.3 ppm uygulama grubunda (%0-20) oranında en yüksek giderim oranının ise en yüksek konsantrasyon olan 30,0 ppm uygulama gruplarında gözlemlediklerini belirtmişlerdir.

Ergönül vd. (2020) *Myriophyllum spicatum* bitkisinin iki farklı ortamdaki (musluk suyu ve havuz suyu) iki farklı konsantrasyonda (0,8 ve 2 ppm) ZnO NP'yi giderme potansiyellerini incelemişlerdir ve 7 gün süren deney sonucunda musluk suyunun kullanıldığı deney grubunda giderimin %29,5 ve %70,3 olduğunu gözlemlemişlerdir. Musluk suyundaki giderimin havuz suyundakinden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 ZnO NP'nün Sentezi

ZnO NP Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında Rajesh vd. (2012) sentez protokolü takip edilerek hazırlanmıştır. ZnO NP'nin sentezinde kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup harici bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. ZnO NP'nin sentezi için 0,05 M çinko asetat ve 0,01 M okzalik asit solüsyonları ayrı ayrı 1'er L'lik distile su içerisinde, oda sıcaklığında ve sürekli karıştırılarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan okzalik asit solüsyonu içerisine 1:1 oranına denk gelecek şekilde oda sıcaklığında çinko asetat solüsyonu damlatılarak karışım oluşturulmuştur. Sonrasında karışım 3 boyunlu şişe içerisine aktarılmıştır. Son olarak karışım 8 saat boyunca 70 °C'de ısıtılmıştır. Prosedür tamamlandıktan sonra oluşan beyaz toz son olarak birkaç defa metanol ve distile su ile yıkanmıştır ve elde edilen ürün 80 °C'de vakumlu ortamda kurutularak sentez tamamlanmıştır.

#### 3.2 ZnO NP'nin Karakterizasyonu

ZnO NP'nin karakterizasyonu için Dinamik Işık Saçılımı, parçacıkların XRD kırınımı ve saha emisyon taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak yapılmıştır. ZnO NP'nin dağılımını ve boyutunu ölçmek için Dinamik Işık Saçılımı (Dynamic Light Scattering= DLS) kullanılmıştır (Carvalho vd. 2018). Sentezlenen ZnO NP'nin X Işığı Kırınım (X-Ray diffraction=XRD) modelini ve saflığını saptamak amacıyla 2.00°/dk tarama hızında 2 – 110° aralığında CuK $\alpha$  radyasyonu ( $\lambda$ = 1.5418 Å) ile birlikte XRD tekniği (Rigaku D/MAX 2200) kullanılmıştır (Whitfield ve Mitchell 2004). XRD görüntülerinde maksimum pikin elde edildiği bölge kullanılarak, kristal formdaki partiküllerin boyutları hesaplanabilmektedir. Bu hesaplama da Scherrer denklemi kullanılmaktadır. İlgili denklem aşağıda (Şekil 3.1'de) belirtilmiştir.

$$\beta = \frac{(k * \lambda)}{t * \cos\theta}$$

Şekil 3.1 Scherrer denklemi

$\beta$ : X ışını kırınımı sonucu elde edilen pikin yarı yükseklikteki genişliği, t: Kristalin büyüklüğü,  $\lambda$ : kullanılan X ışınımı dalga boyu,  $\theta$ : düzlemin gözlemlendiği Bragg açısı, k (1'den farklı olmayan) düzeltme faktörü olup ZnO NP için bu katsayı değeri yaklaşık 0,9 gibi sabit bir sayıdır (Barcos, 2006)

SEM görüntüleri JXA-8230 elektron prob mikroanalizer ile QUANTA 400 F saha emisyon SEM (çözünürlük=1.2 nm) kullanılarak elde edildi. 0,01 g ZnO NP tozu 5 mL etanol (%95, Merck) süspansiyonu hazırlandı ve süspansiyonun tam karışabilmesi ve ZnO NP'lerin iyi çözünebilmesi için ultrasonikatör kullanılarak 5 dk karıştırılmıştır. Hazırlanan süspansiyon bakır zemin üzerinde farklı büyütmelerle incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

Ankara Üniversitesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında sentezlenen ZnO NP kullanılarak stok solüsyon hazırlamak için 1,21 g ZnO NP hassas terazi'de tartılarak 1 L distile su içerisine konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında karıştırılarak süspansiyon haline gelmesi sağlanmıştır. Hazırlanan stoğun konsantrasyonu 1000 ppm olup deneyde kullanılana kadar hava almayacak şekilde kapatılarak +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### 3.3 Deneylerde Kullanılacak Olan Bitkilerin Kültürü ve Deneye Hazırlanması

Deneyde kullanılacak olan su içi makrofit *Egeria densa* bitkisinin Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji laboratuvarlarında, 150 L'lik akvaryumlar içerisinde 14:10 aydınlık:karanlık periyodunda, 2960±130,5 lüks ışık şiddetinde (Lux Meter Application adı verilen Android uygulaması ile ölçülmüştür.), ortalama 23 °C'de, 6,5 pH'da ve %59 ± 3,5 (Benetech GM 1362) nem oranında yetiştirilmişlerdir. Deneyden 3 gün önce deneyde kullanılmak üzere yaprak sayıları birbirine yakın sağlıklı görünen bitkiler seçilmiştir. Seçilen bitkiler distile su ile yıkandıktan sonra ortalama uzunlukları 10 cm olacak şekilde kesilmişlerdir.

Bitkilerin deney ortamında yaşaması için gerekli olan mikro ve makro elementleri içeren Hoagland besin solüsyonu [ $600 \mu\text{M Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $300 \mu\text{M MgSO}_4$ ,  $300 \mu\text{M K}_2\text{HPO}_4$ ,  $13.8 \mu\text{M H}_3\text{BO}_3$ ,  $217 \mu\text{M MnSO}_4$ ,  $0.3 \mu\text{M Na}_2\text{MoO}_4$ ,  $0.5 \mu\text{M CuSO}_4$ ,  $44,78 \mu\text{M}$  ve  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{NaO}_8 \cdot 3\text{H}_2\text{O} \mu\text{M}$ ] kullanılmıştır. Makro besin elementlerinin her biri ve demir sitrat ayrı ayrı 1'er L'lik distile su içerisinde çözdürülmüşlerdir. Mikro besin elementleri, demir hariç, hepsi tartılmış ve beraber 1'L distile su içerisinde çözdürülerek iz element solüsyonu hazırlanmıştır. İz element solüsyonunda normalde bulunması gereken çinko bu iz element karışımına eklenmemiştir. Hazırlanan bitkiler %25'lik çinko içermeyen Hoagland Solüsyonuna aktarılmışlardır. Bunun sebebi kirletici konsantrasyonun belirlenmesinde kullanılan ICP-MS cihazının bulk form ile nano form arasında ayırım yapamamasından kaynaklanmaktadır. Literatürde de benzer çalışmalara rastlanmaktadır (Song ve Lee 2016).

### 3.4 Cam Malzemelerin Temizlenmesi

Deneyde kullanılan cam malzemeler kral suyu (1:3 Nitrik asit (%65, Riedel-de Haen): Hidroklorik asit (%37, Merck) kullanılarak yıkanmıştır. Ardından en az 3 kere distile su ile durulanmıştır.

### 3.5 Biyodeneyleler

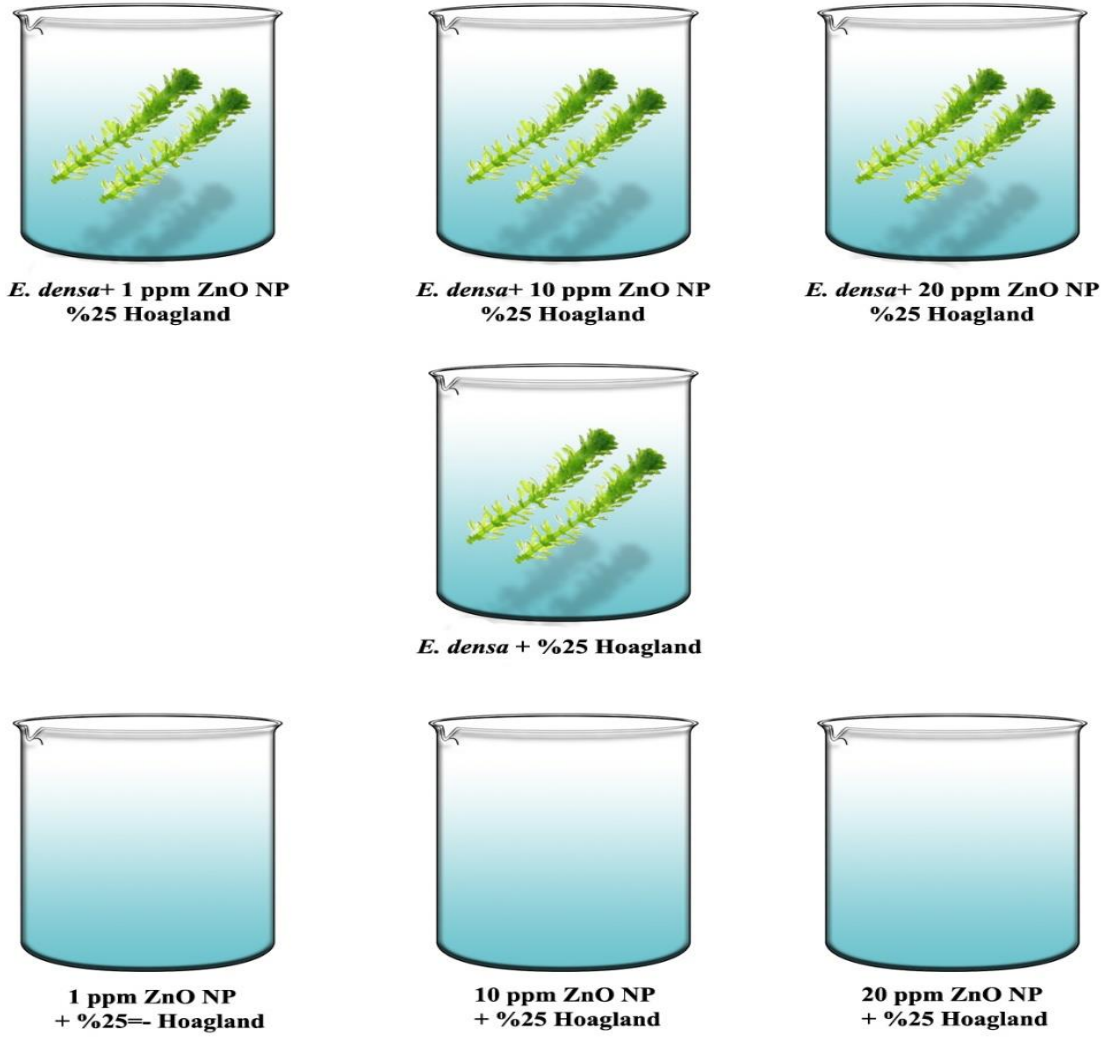
Deneyde kullanılmak üzere kültürü yapılan *Egeria densa* sucul bitkisi eşit boylarda 10 cm olacak şekilde kesilmiş, sağlıklı görünen birbirine yakın yaprak sayısına sahip olan bitkiler kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak ZnO NP'nin konsantrasyonları literatür bilgilerine dayanarak konsantrasyonlar 1 ppm (düşük), 10 ppm (orta) ve 20 ppm (yüksek) olarak belirlenmiştir (Hu vd. 2013). Deneyin yürütüleceği beherlerin her birine 2'şer adet 10 cm'lik bitki konulmuştur. Deney sırasında ortamda %25'lik çinkosuz Hoagland kullanılmış, deneyin yürütüldüğü beherlerin ağzı su kaybını engelleyecek şekilde kapatılmıştır. Deneyler oda sıcaklığında 14:10 karanlık:aydınlık fotoperiyodunda yürütülmüştür.

Bu çalışma kapsamında 3 farklı deney grubu kurulmuştur. I. Grupta seçilen su içi bitkisi olan *Egeria densa* %25'lik Hoagland besin solüsyonu içeren ortamda belirtilmiş olan üç farklı konsantrasyonda (1,10 ve 20) ZnO NP'ye maruz bırakılmıştır. II. Grupta %25'lik Hoagland besin solüsyonu içeren ortam içerisine belirtilen miktarlarda kirletici eklenmiş ancak bu gruptaki beherlerin içerisine bitki konulmamıştır. III. Grupta ise *Egeria densa* su içi bitkisi kirletici olmadan sadece %25'lik Hoagland besin solüsyonuna maruz bırakılmıştır. Bitki içeren deney gruplarında her behere 2'şer adet 10 cm'lik *Egeria densa* su içi bitkisi konulmuştur. Bu deney grupları Çizelge 3.1'de özetlenmiş, Şekil 3.2'de şematize edilmiştir.

Çizelge 3.1 Deney grupları

	<b>Bitki (<i>Egeria densa</i>)</b>	<b>%25'lik Zn'suz Hoagland besin solüsyonu</b>	<b>ZnO NP (1, 10 ve 20 ppm)</b>
<b>I. GRUP</b>	+	+	+
<b>II. GRUP</b>		+	+
<b>III. GRUP</b>	+	+	





Şekil 3.2 Deneyin özetlendiği şema

Biyodenyeler 7 gün sürmüş olup yukarıda da anlatıldığı şekilde 3 farklı grupta paralel olarak 3'er tekrarlı yürütülmüştür. Sıfır anında, 1. 4. ve 7. günlerde deney solüsyonunun içerisinde dalgalanma olmamasına dikkat ederek ortamdan örnekler alınıp 50 mL'lik falkonlar içerisine aktarılmış üzerine nitrik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Bu süreçte 1. 4 ve 7. günlerde deney gruplarındaki bitki örnekleri de alınmıştır. Her beherde bulunan bir bitki fotopigment analizi için kullanılırken diğer bitki üzerinde tutunmuş olan ağır metal (besin solüsyonundaki) ve ZnO NP'lerden arındırılmak amacıyla distile su ile yıkayıp kurutma kağıdı ile fazla suyu uzaklaştırıldıktan sonra ileride ICP-MS analizine hazırlamak amacıyla 115 °C'de etüvde 48 saat boyunca kurutulmuştur.

Alınan bitki örneklerinden klorofil miktarlarına ve biriktirdikleri inorganik materyal konsantrasyonlarına bakılırken ortamdan ise elektriksel iletkenlik (EC), pH, çözülmüş oksijen (DO) ve sıcaklık değerleri ölçülmüştür. Bu ölçümler WTW 3310 marka multimetre cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve kaydedilmiştir. Deneyin sıfırcı anında ortamdan alınan örnekler HACH marka su analiz cihazı ve HACH kit TNT870 kullanılarak ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  ve dH değerleri) ölçülmüştür.



Şekil 3.3 Deney düzeneği

### **3.6 ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy: Endüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrofotometresi)**

Belirlenen günlerde deney ortamından alınan bitkilerin yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra 115 °C’de 48 saat etüvde kurutulmuşlardır. Bunun için kuru bitki materyalleri porselen havanda ezilmiştir bu işlemin amacı organik materyalin yakılarak uzaklaştırılmasını hızlandırmaktır. Toz haline getirilen bitki materyali 3 mL’lik porselen krozeler içerisine aktarılmış üzerine 15 mL hacminde önceden hazırlanmış 3:1 oranında HCl:HNO<sub>3</sub> karışımı ilave edilmiştir. Elde edilen deney materyali çeker ocak altında hot plate üzerinde (Isolab) 180 °C’de karışımdan çıkan buharın rengi beyaz olana kadar (ortamdaki organik madde uzaklaşana kadar) 7-9 saat yakılmıştır. Ardından bu örnekler 25 mL’lik balon jöjeler içerisine whatmann kâğıdından (GF/C<sup>TM</sup>) süzülerek süpernatant

kısının uzaklaştırılması sağlanmıştır (Şekil 3.7). Süzütünün son hacmi bidistile su ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Örnekler 50 mL'lik falkonlar içerisinde alınarak analize kadar ışık görmeyecek şekilde saklanmıştır.

### **3.7 Su Örneklerinin Alınması**

Bitkili ve bitkisiz gruplardan örnekler alınırken dibe çökmesi muhtemel olan ZnO NP'lerin suya karışmasını önlemek amacıyla suyu mümkün olduğunca dalgalandırmadan pastör pipeti kullanarak örnekler alınmış, 50 mL'lik etiketli falkon tüpleri içerisine konulmuştur. Örnekler alındığı andan itibaren ICP-MS cihazı ile okutmaya kadar olan süreçte herhangi bir reaksiyonun gerçekleşmesini önlemek amacıyla %0,5'lik nitrik asit (HNO<sub>3</sub>) ilave edilmiş ve uygun koşullarda (buzdolabında +4 °C'de) saklanmıştır.

### **3.8 ICP-MS ile Numunelerin Analizi**

Deney sonucunda %0,5'lik nitrik asit çözeltisi ile seyreltilmiş suda ve bitki bünyesindeki Zn konsantrasyonunu ölçmek için Agilent 7700 serisi ICP-MS cihazı ve ona uyumlu Agilent Asx-500 serisi otomatik örnekleyici aksesuarlar kullanılmıştır. High Purity Standards marka SM-137-888 serisi 26 elementi standart olarak kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Örneklerin analiz süresi tüp uzunluklarına bağlı olarak 1 dakika olarak belirlenmiştir.

### **3.9 Yüzde Giderim ve Biyokonsantrasyon Faktörü**

ICP-MS cihazı ile ortamdaki Zn'nin aktüel (gerçek) konsantrasyonunu belirlendikten sonra aşağıdaki Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te belirtilen formüller kullanılarak % giderim (Tanhan vd. 2007) ve biyokonsantrasyon faktörü (BCF) (Subhashini vd. 2013) hesaplanmıştır.

$$\% \text{ giderim} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} * 100$$

C0: başlangıç konsantrasyonu, C1 ölçümün yapıldığı güne ait konsantrasyon

Şekil 3.4 % giderim formülü

$$\text{biyokonsantrasyon faktörü} = \frac{\text{bitkideki metal konsantrasyonu} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right)}{\text{sudaki metal konsantrasyonu} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}$$

Şekil 3.5 Biyokonsantrasyon faktör hesaplama formülü

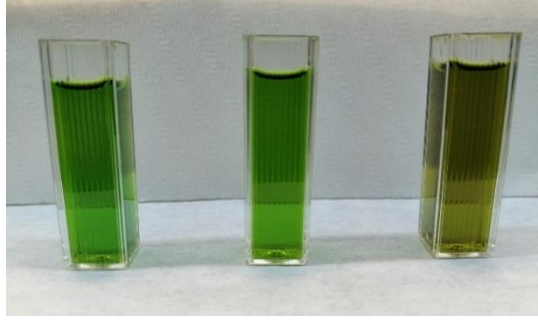
### 3.10 Fotopigment Miktarının Belirlenmesi

Ortamda bulunan farklı konsantrasyonlardaki ZnO NP'lerin *Egeria densa*'nın fotopigment miktarı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla fotopigment analizi yapılmıştır. Bunun için gövdeden ayrılıp tartıldıktan sonra taze yapraklar porselen havanda ezilmiştir. Ezilen örneklerin üzerine 10 mL analitik saflıkta %96'lık metanol eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım 15 mL'lik falkonlar içerisine aktarılarak 10000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Fazlarına ayrılmış olan çözelti Whatmann filtre kağıdından (GF/C™) süzülerek pelet kısmı uzaklaştırılmıştır. Süzüntü 2 mL'lik plastik küvetler içerisine alınmış (Şekil 3.6) ve HACH marka analiz cihazıyla Lichtenthaler (1983) 'ün formülü kullanarak hesaplanmıştır. Cihaz değerleri mg/L cinsinden vermiştir

Çizelge 3.2 Lichtenthaler (1983)'e göre fotopigment konsantrasyon formülü (µg/g).

Chl a	$13,95 * A_{665} - 6,88 * A_{649}$
Chl b:	$24,96 * A_{649} - 7,32 * A_{665}$
$C_{x+c}$	$(1000 * A_{470} - 2,13 * \text{Chl a} - 97,63 * \text{Chl b}) / 209$

Chl a: Klorofil a, Chl b: Klorofil b,  $C_{x+c}$ : Karotenoid,  $A_n$ : n nanometre değerindeki absorpsiyon değeri.



Şekil 3.6 Spektrofotometre ile ftopigment ölçümü için hazırlanmış olan klorofil ekstraksiyonu içeren süzüntü örnekleri



(A)



(B)

Şekil 3.7 A)Etüvde kurutulduktan sonra kuru bitkinin havanda ezilmesi B) Asit ilave edildikten sonra yakılan materyalin fiksasyonunu

### 3.11 İstatistiksel Analizler

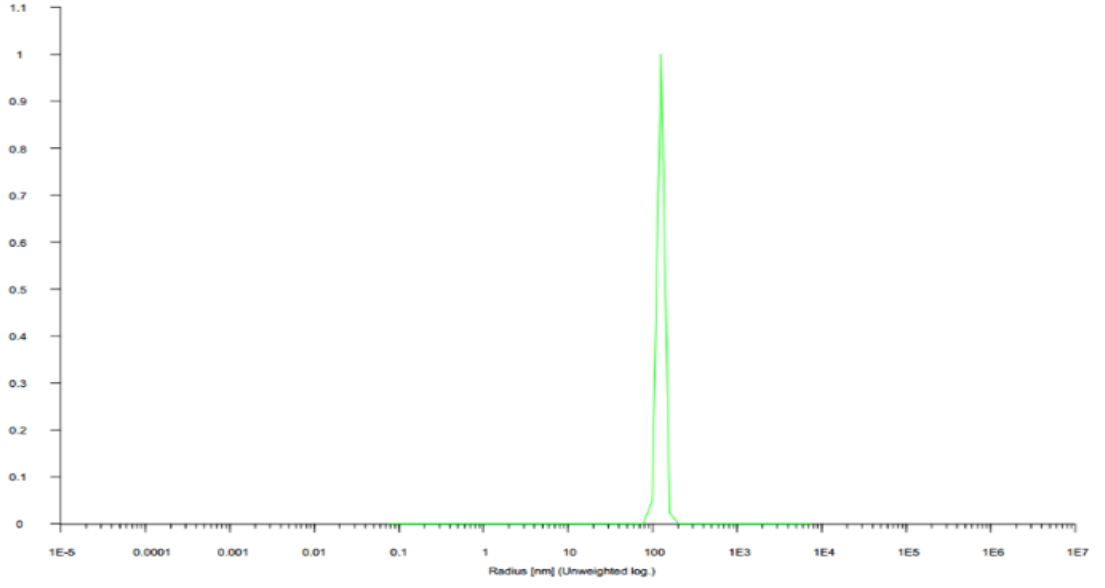
Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS V 25 paket programı kullanılmıştır. Bu verilere “Shapiro Wilki” testi uygulanmış  $H_0 > 0,05$  bulunmuş yani dağılımın normal olmadığı görülmüştür. Verilerin sayısı az ve normal dağılıma sahip olmamasından dolayı non-parametrik testler uygulanmıştır. Çünkü normal dağılıma sahip olmayan küçük örneklerde non parametrik testler daha büyük istatistiksel güç sağlamaktadır. Gruplar arası istatistiksel değerleri hesaplamak için Mann Whitney U testi uygulanırken grup içi (günler arası değerlerin) farklılıklarını hesaplamak için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

#### **4. ARAŞTIRMA BULGULARI**

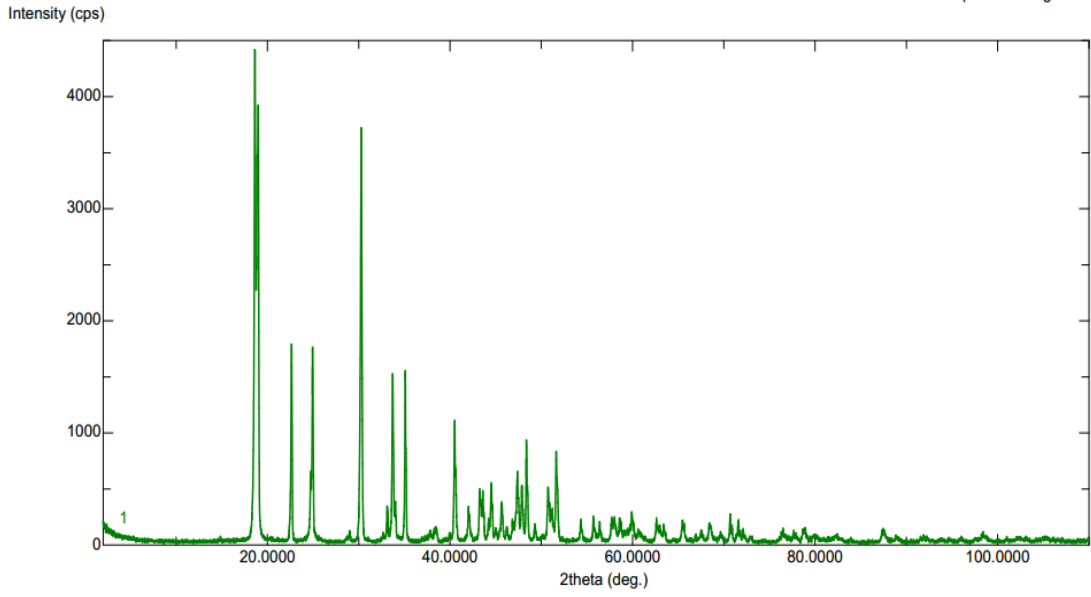
Bu alıŐma kapsamında yürütülen deney gruplarından bitkisiz gruplar çökelme ve çözünmenin takibi açısından önem arz etmektedir. Ancak paralelinde yürütülen bitkili deney gruplarında hem ortamda kalan ZnO NP miktarına bakarak hem de bitki içi birikime bakarak bitkinin bünyesindeki akümülasyon miktarına ve bitkinin çökelme üzerindeki etkisinin araŐtırılması sağlanmıştır.

##### **4.1 ZnO NP'nin Karakterizasyonu**

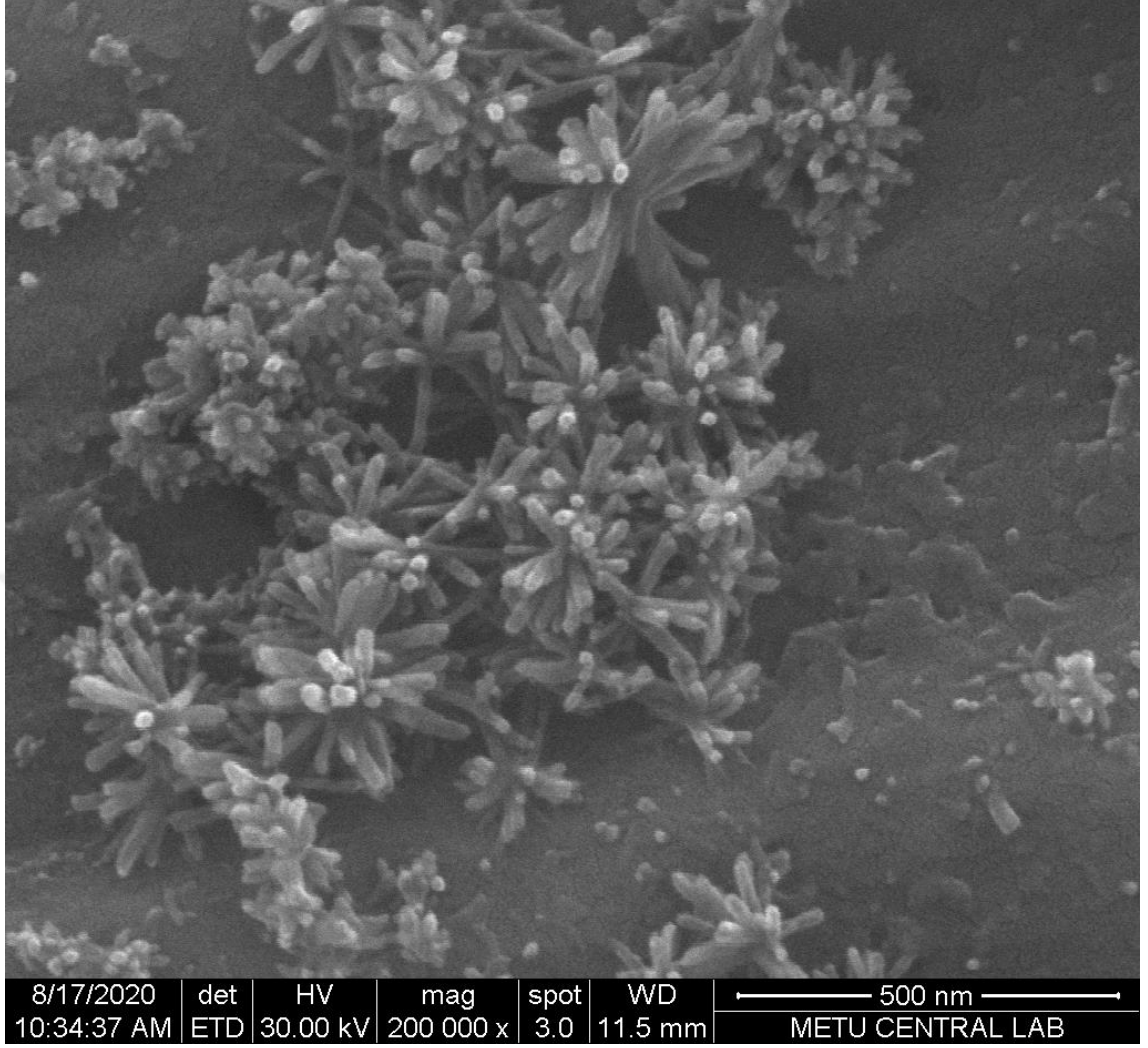
Rajesh vd'nin (2012) prosedürüne göre sentezlenen ZnO NP'nin DLS yöntemi kullanılarak hidrodinamik boyutu ölçülmüş ve 136,8 nm olduğu kaydedilmiştir (Şekil 4.1). XRD kırınımı yöntemi kullanılarak toz formunun boyutları ölçülmüş ve ZnO NP'nin çinko oksit'e has olan tipik geniş pikli polikristalin yapıda olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). Bu yöntem kullanılarak yapılan lmde ZnO NP'nin boyutunun  $90.5 \pm 3.8$  nm olduğu belirlenmiştir. SEM mikroskopuyla farklı büyütmelerde görüntülenen ZnO NP'nin agregat oluşturduğu ve bu agregatların 5-10  $\mu$ m boyutuna kadar ulaŐtıėı grlmŐtir. ZnO NP'nin nanorod formda ve iek Şeklinde göründüğü gözlemlenmiştir. (Şekil 4.3).



Şekil 4.1 Sentezlenen ZnO NP'lerin ortalama boyutunun DLS yöntemiyle ölçüm sonucu



Şekil 4.2 Sentezlenen ZnO NP'nin X IşığI Kırınım (X-Ray diffraction=XRD) modeli



Şekil 4.3 ZnO NP'nin SEM görüntüsü

#### 4.2 Deney Ortam ve Koşulları

Deneyleer sırasında ortamın su sertliği ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  ve dH) ve fizikokimyasal parametreleri (DO, pH, EC ve  $^{\circ}\text{C}$ ) ölçölerek takip edilmiştir. Bu değerler Çizelge 4.1'de belirtilmiştir.



Çizelge 4.1 Su sertlik değerleri ve deney gruplarının ilk gün ortamının fiziko kimyasal değerleri

	Mg <sup>+2</sup>	Ca <sup>2+</sup>	dH	DO	EC	pH	°C
<b>1 ppm ZnO NP</b>	11,4	62,3	11,4	5,78±0,1	660±1,6	6,43±0,5	21,4±0,4
<b>10 ppm ZnO NP</b>	14,7	53,9	10,9	5,93±0,3	643,8±1,9	6,84±0,04	21,1±0,5
<b>20 ppm ZnO NP</b>	13,9	49,1	10,1	6,43±0,05	545±1,9	6,47±0,05	20,82±0,3

ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü, dH: Alman sertliği, DO: Çözünmüş oksijen, EC: Elektriksel iletkenlik

Bu su sertlik verilerine göre deney ortamının sert- çok sert arasında olduğu bulunmuştur.

### 4.3 ZnO NP Konsantrasyonun Zaman İçerisinde Ortamdaki Değişimi

Ortam içerisinde bulunan ZnO NP miktarlarının zaman içerisindeki değişimleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. ZnO NP’nin, deney için 1000 ppm’lik stok çözelti kullanılarak oluşturulan 1, 10 ve 20 ppm’lik %25’lik Hoagland besin ortamı içeren bu karışımlar içerisinde çözünmeleri %100’lük bir verimle gerçekleşemediği belirlenmiştir. Bitkisiz kontrol gruplarında solüsyon içerisindeki ZnO NP’nin başlangıçta ölçülen konsantrasyonu ilerleyen günlerde (4 ve 7. günde) ölçülen konsantrasyonlardan daha az olduğu saptandığı için çözünmelerin zamanla paralel olarak arttığı ve tam verimle çözünmediği gözlemlenmiştir. Yani zaman içerisinde ölçülen Zn miktarı artmakta bu da çözünmelerin zamanla paralel olarak arttığını göstermektedir.

Bitkili gruplarda 1 ppm ZnO NP içeren deney grubunda başlangıçta (0 anında) ölçülen 0,69 ppm’lik değeri ilk günde (1. gün)  $0,78 \pm 0,04$  olarak ölçülmüştür. Bitkisiz grupta bakıldığında ilk gün ZnO NP miktarının 1 ppm olarak ölçülmüştür.

1 ppm ZnO NP içeren bitkili grupta 7. günün sonunda %87,44 oranında konsantrasyon düşmesi gözlemlenirken bitkisiz grupta konsantrasyonda azalma olmadığı gibi miktarın

arttığı gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak bitkili ve bitkisiz grupları karşılaştırmak için Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Bu test sonucunda 1 ppm ZnO NP uygulaması yapılan test gruplarında bitkili ve bitkisiz gruplar arasında (1. 4. ve 7. günde de) anlamlı fark olduğu ( $P<0.05$ ) görülmüştür. Grup içi karşılaştırmaların yapılması için Kruskal Wallis testi uygulanmış bitki içeren grupta 1. günde 4 ve 7. günden farklıyken, 4. ve 7. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ( $P>0.05$ ) gözlemlenmiştir. Yine benzer şekilde bitkisiz grupta da 1. günde anlamlı fark olduğu ancak 4. ve 7. günler arasındaki farkın anlamsız olduğu ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

*Egeria densa* içeren 10 ppm'lik deney grubunda başlangıç değeri (aktüel) 9,75 ppm olarak ölçülmüştür. Bitkili deney grubunda ilk günde %36,17 oranında, 4. günde %65,06 ve 7. günde ise %72,82 oranında konsantrasyon düşmesi saptanmıştır.

Bitki içermeyen 10 ppm'lik kontrol grubunda maksimum 4. günde %33,88 oranında bir azalmanın olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak Mann Whitney U testi uygulanarak yapılan karşılaştırmada bitkili ve bitkisiz deney grupları arasında 1. 4. ve 7. günlerde anlamlı bir fark olduğu görülmüştür.

Grup içi (günler arası) verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Bu test sonucunda bitki ihtiva eden 10 ppm'lik deney grubunda 1-4 ve 1-7 günleri arasındaki farkın anlamlı olduğu ancak 4-7. günler arası farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Bitki içermeyen kontrol grubunda ise sadece 1-4 günleri arasında anlamlı fark mevcuttur.

Çizelge 4.2 Ortamda bulunan Zn konsantrasyonunun zaman içerisindeki değişimleri (ppm)

	1.gün	4. gün	7.gün
1 ppm ZnO NP	0,78 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,087 ± 0,06 <sup>b,c</sup>
1 ppm ZnO NP (KONTROL)	0,9 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,8 <sup>b</sup>	0,8 <sup>b,c</sup>
10 ppm ZnO NP	6,22 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,65 ± 0,2 <sup>b,c</sup>
10 ppm ZnO NP (KONTROL)	8,2 ± 1,3 <sup>a</sup>	6,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	9,96 ± 3,33 <sup>a,b</sup>
20 ppm ZnO NP	10,06 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,34 ± 0,5 <sup>b</sup>	3,53 ± 0,6 <sup>c</sup>
20 ppm ZnO NP (KONTROL)	11,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	11,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	13,81 ± 6,41 <sup>a</sup>

a-c: Aynı satırda, ilgili faktöre ait, ilgili işareti taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir ( $P < 0.05$ ), ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

Bitki içeren 20 ppm ZnO NP'li deney grubunda maksimum giderimin 7. günde %73,15 oranında olduğu belirlenmiştir. Paralelinde yürütülen bitkisiz kontrol grubunda yapılan konsantrasyon ölçümleri sonucunda ortamdaki Zn'nin 1. günde %15,91 oranında, 4. günde %12,21 ve 7. günde ise %4,94 oranında azaldığı görülmüştür.

Mann Whitney U testi uygulanarak istatistiksel olarak bakıldığında bitkili ve bitkisiz gruplar arasında 1. 4. ve 7. günde de anlamlı fark mevcuttur.

Kruskal Wallis testi uygulanarak 20 ppm ZnO NP uygulamasının grup içi (günler arası) istatistiksel analizler yapılmış bu test sonucunda bitkili deney grubunda tüm deney günleri arasında (1-4, 1-7 ve 4-7) anlamlı fark mevcutken bitkisiz kontrol grubunda günler arası istatistiksel farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Yani *Egeria densa*'nın 20 ppm'lik ZnO NP'yi ortamdaki uzaklaştırılmasında verimli olduğu bulunmuştur.

Farklı konsantrasyonların kullanıldığı deney gruplarını karşılaştırmak için Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Bu test sonucunda bitki içeren 1 ppm ZnO NP + *Egeria densa* deney grubunun diğer deney gruplarıyla karşılaştırıldığında 10 ppm ZnO NP + *Egeria densa* ve 20 ppm ZnO NP + *Egeria densa* uygulamalarının 1. ve 4. günleriyle

arasındaki fark anlamlıyken, bu diğer uygulamaların 7. günleriyle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. 10 ppm ZnO NP + *Egeria densa* ve 20 ppm ZnO NP + *Egeria densa* uygulamasında sadece 1. gün verileri arasındaki fark anlamlıyken 4. ve 7. günlerde anlamlı fark yoktur.

#### **4.4 ZnO NP'nin Bitki Bünyesinde Birikimi ve Biyokonsantrasyon Faktör**

ZnO NP'nin düşük, orta ve yüksek (1, 10 ve 20 ppm) konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Egeria densa* bitkisinin bünyesindeki biyokonsantrasyonları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Düşük (1 ppm) ve orta (10 ppm) konsantrasyonda maksimum akümülyasyon 4. günde görülürken 20 ppm uygulama grubunda en yüksek akümülyasyon oranı 7. günde görülmüştür.

İstatistiksel olarak bakıldığında akümülyasyon miktarları grup içi karşılaştırmalarda (Kruskall Wallis) 1 ppm ZnO NP uygulamasında bitki bünyesindeki Zn birikim miktarı 1-4 günler arasında anlamlı farka sahipken 1-7 ve 4-7 günlerindeki akümülyasyon miktarının anlamlı olmadığı bulunmuştur. 10 ppm ZnO NP uygulamasının yapıldığı gruplarda 1-4 ve 1-7 günleri arasındaki akümülyasyon miktarı anlamlıyken 4-7 günleri arasındaki farkın anlamsız olduğu belirlenmiştir. 20 ppm uygulamasında da ise 10 ppm uygulamasında olduğu gibi 1-4 ve 1-7 günleri arasındaki farkın anlamlı 4-7 günleri arasındaki farkın ise anlamsız olduğu bulunmuştur.

Her konsantrasyon uygulamasındaki bitkili ve bitkisiz gruplar kendi arasında karşılaştırıldığında (Mann Whitney U) 1 ppm ZnO NP + *Egeria densa* ve 10 ppm ZnO NP + *Egeria densa* uygulamasında 1. ve 4. günlerdeki fark anlamlıyken 7. gündeki fark anlamsız bulunmuştur. 1 ppm ZnO NP + *Egeria densa* ve 20 ppm ZnO NP + *Egeria densa* içeren gruplar arasında 1. ve 4. günlerdeki fark anlamlıyken 7. gündeki farkın anlamsız olduğu belirlenmiştir. 10 ppm ZnO NP + *Egeria densa* ve 20 ppm ZnO NP + *Egeria densa* içeren gruplar arasında ise günler arasındaki istatistiksel farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur.

Çizelge 4.3 Biyokonsantrasyon miktarı (µg/g).

	1.GÜN	4. GÜN	7. GÜN
<b>1 ppm ZnO NP</b>	44,82 ± 11,47 <sup>a</sup>	78,71 ± 7,4 <sup>b</sup>	69,15 ± 13,41 <sup>a,b</sup>
<b>10 ppm ZnO NP</b>	128,2 ± 32,13 <sup>a</sup>	498,24 ± 67,44 <sup>b</sup>	413 ± 147,4 <sup>b,c</sup>
<b>20 ppm ZnO NP</b>	122,86 ± 10,4 <sup>a</sup>	493,8 ± 39,9 <sup>b</sup>	757,54 ± 278,10 <sup>b</sup>

a-c: Aynı satırda, ilgili faktöre ait, ilgili işareti taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05), ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

1 ppm ZnO NP içeren uygulama grubunda BCF değeri 1-4 günleri arasında anlamlıyken, 1-7 ve 4-7 günleri arasında anlamsız bulunmuştur. 10 ppm ZnO NP uygulamasında 1-4 ve 1-7 günleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı, 4-7 günleri arasındaki farkın ise anlamsız olduğu belirlenmiştir. 20 ppm ZnO NP uygulamasında yine 10 ppm ZnO NP uygulamasında olduğu gibi 1-4 ve 1-7 günleri arasındaki farklar anlamlıyken, 4-7 günleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür.

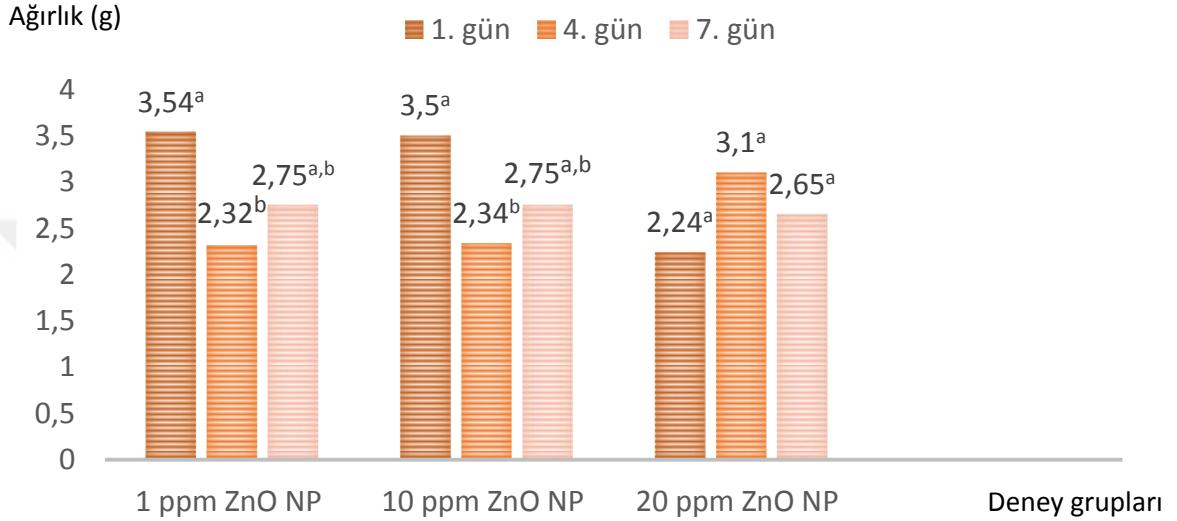
Farklı konsantrasyonlardaki uygulama grupları arasında yapılan karşılaştırmada 1 ppm ZnO NP – 10 ppm ZnO NP uygulamasında 1. 4. ve 7. günlerdeki farkların anlamlı olduğu bulunmuştur. 1 ppm ZnO NP – 20 ppm ZnO NP uygulamasında 1. ve 4. günlerdeki fark anlamlıyken 10 ppm ZnO NP – 20 ppm ZnO NP kullanılan uygulama gruplarında, 4. ve 7. günlerdeki farkın anlamlı olduğu gözlemlenmiştir.

Kontrol grubu olarak tasarlanan *Egeria densa* ve %25'lik Zn'siz Hoagland besin solüsyonu içerip ZnO NP içermeyen gruptaki bitkilerin bünyesinde biriken Zn miktarı ICP-MS cihazının ölçüm aralığının altında kaldığından belirlenememiştir.

#### 4.5 Bitki Yaş Ağırlığının Deney Süresi İçerisindeki Değişimi

Deney süresince *Egeria densa* bitkisinin yaş ağırlığının değişimi Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Deney gruplarını karşılaştırmak amacıyla Mann Whitney U testi uygulanmış (1-10, 1-20 ve 10-20 ppm) ve bu istatistiksel karşılaştırma sonucunda 1-20 ppm 1. gün uygulamalarında ve 10-20 ppm ZnO NP grupları arasında ise yine 1. günlerde istatistiksel olarak anlamlı (P<0.05) fark olduğu bulunmuştur.

Grup içi verilerin istatistiksel analizlerini yapabilmek için Kruskal Wallis testi uygulanmış ve 1 ppm ZnO NP uygulamasında 1. ve 4. günde, 10 ppm ZnO NP uygulamasında yine sadece 1. ve 4. günde anlamlı fark olduğu, 20 ppm ZnO NP deney grubunda ise gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4 Deney gruplarında *Egeria densa* bitkisinin yaş ağırlığının deney süresindeki değişimi

Önemli farkların gözlemlendiği ilgili deney grupları harflerle gösterilmiştir. ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

#### 4.6 Fotopigment Miktarı

*Egeria densa* bitkisinin farklı konsantrasyonlar ve farklı sürelerde ZnO NP'ne maruziyetinin klorofil a ve klorofil b değerleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Karatenoid miktarınında ölçülmesi amaçlanmış ancak karatenoid miktarının belirlenmesi için gerekli olan 470 nm absorbans değeri ile ölçüm yapıldığında çıkan değerler 3'ten büyük olduğu için cihaz tarafından ölçülememiştir. İlgili değerler Şekil 4.5'de özetlenmiştir.

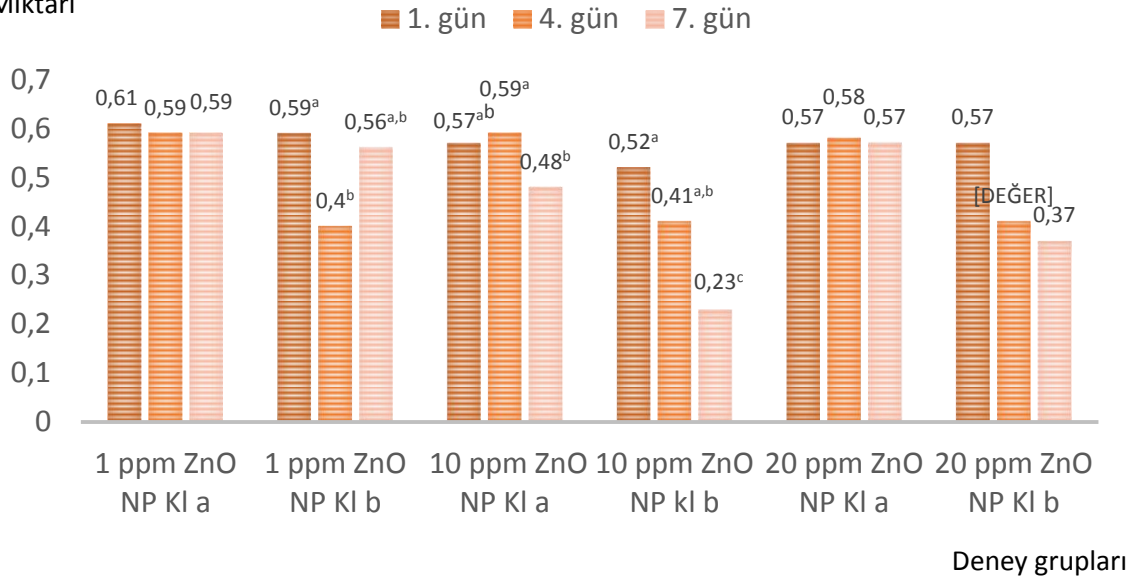
Grup içi istatistiksel karşılaştırmayı yapabilmek için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Bu teste göre sadece klorofil a için 10 ppm ZnO NP uygulamasının 4. ve 7. günleri

arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu görülmüştür. Klorofil b için ise 1 ppm ZnO NP uygulamasının 1.-4. günleri arasında anlamlı fark olduğu bulunurken, 10 ppm ZnO NP uygulamasının ise 1-7 ve 4-7 günleri hariç ( $P<0.05$ ) anlamlı bir farkı gözlemlenmemiştir ( $P>0.05$ ).

Gruplar arası verileri karşılaştırabilmek için değerler Mann Whitney U testine tâbi tutulmuştur. Bu analiz sonucunda klorofil a için gruplar arası değişkenlere bakıldığında 1 ppm ZnO NP- 10 ppm ZnO NP, 1 ppm ZnO NP – 20 ppm ZnO NP ve 10 ppm ZnO NP- 20 ppm ZnO NP grupları arasındaki (7. gün verileri hariç ( $P<0.05$ )) fark önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

Klorofil b için gruplar arası verilere istatistiksel açıdan bakıldığında da klorofil a da olduğu gibi grupların 7. günleri hariç 1 ve 4. günler arasındaki verilerin farkı önemsiz bulunmuştur. Sonuçlara bakarak klorofil a ve klorofil b miktarlarının uygulanan konsantrasyonlardaki ZnO NP tarafından etkilenmediği görülmüştür.

Klorofil Miktarı



Şekil 4.5 Uygulama gruplarının klorofil değerlerinin günlere göre değişimleri

a-c: Önemli farkların gözlemlendiği ilgili deneysel grupları, ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü, Kl a: Klorofil a, Kl b: Klorofil b

## 5. TARTIŞMA

Nanopartiküllerin eşsiz özelliklerinin keşfedilmesinin ve laboratuvar ortamında da üretiliyor olmasının keşfinin ardından bol miktarda üretilmeye başlanması, çevreye yayılmaları ve nihai olarak da sulak alanlara ulaşmasıyla sonuçlanmaktadır. Sahip oldukları eşsiz özellikler sulak ortam içerisindeki davranışlarını da etkilemektedir. Henüz tam anlamıyla davranış şekilleri belli olmamakla beraber yapılan çalışmalar sucul ortama giren nanopartiküllerin sahip olduğu fiziksel ve kimyasal faktörlerin yanı sıra çevresel uyaranların da etkisiyle farklı davranışlar sergileyebildiği ve bu davranışların ekosistem elemanları üzerinde toksik etkileri olabileceğini göstermiştir. Bu sebeple nanopartiküllerin ortamdaki uzaklaştırılması ciddi bir konu olarak ele alınmaktadır. Fitoremediasyon yöntemi ağır metal, boya maddesi, vb birçok kirleticinin karasal veya sulak alandan uzaklaştırılmasında etkin bir şekilde görev alan çevre dostu oluşu, ekonomik oluşu, az iş gücü gerektirmesi vb sebeplerle düşük ve orta derecede kirlenmiş alanların kirleticiden arındırılmasında kullanılması tavsiye edilen bir yöntemdir. Bu yöntemde sucul makrofitler kullanılarak sulak alanlardaki çeşitli kirleticiler bitki bünyesinde adsorbe veya absorbe edilerek biriktirilmekte, akümülyasyon sürecinin ardından makrofit hasat edilerek kirletici ile birlikte ortamdaki uzaklaştırılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında endüstriyel olarak en çok üretilen 2. metal oksit nanopartikülü olan ZnO NP'nin 1 ppm (düşük), 10 ppm (orta) ve 20 ppm (yüksek) olmak üzere 3 farklı konsantrasyonuna ortamda 1, 4 ve 7 gün süre ile maruz bırakılan *Egeria densa* bitkisinin ZnO NP giderim kapasitesi araştırılmıştır. Ayrıca ZnO NP'nin bitki üzerindeki toksisitesini belirlemek amacıyla klorofil a ve klorofil b değerleri ölçülmüştür. Olası NP çökeltme miktarını ve/veya bitkinin bu çökeltme üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yukarıda bahsedilen deney düzeneğinin paralelinde benzer şartlarda ancak bitki (*Egeria densa*) ihtiva etmeyen deneyler de yürütülmüştür.

Deney için kullanılan kirleticinin ölçüm sonucunda nominal değerleri ve aktüel değerleri arasında farkın mevcut olduğu, aynı zamanda bitkisiz gruplar incelendiğinde zaman geçtikçe ortamdaki ZnO NP konsantrasyonunun arttığı gözlemlenmiştir. Bu

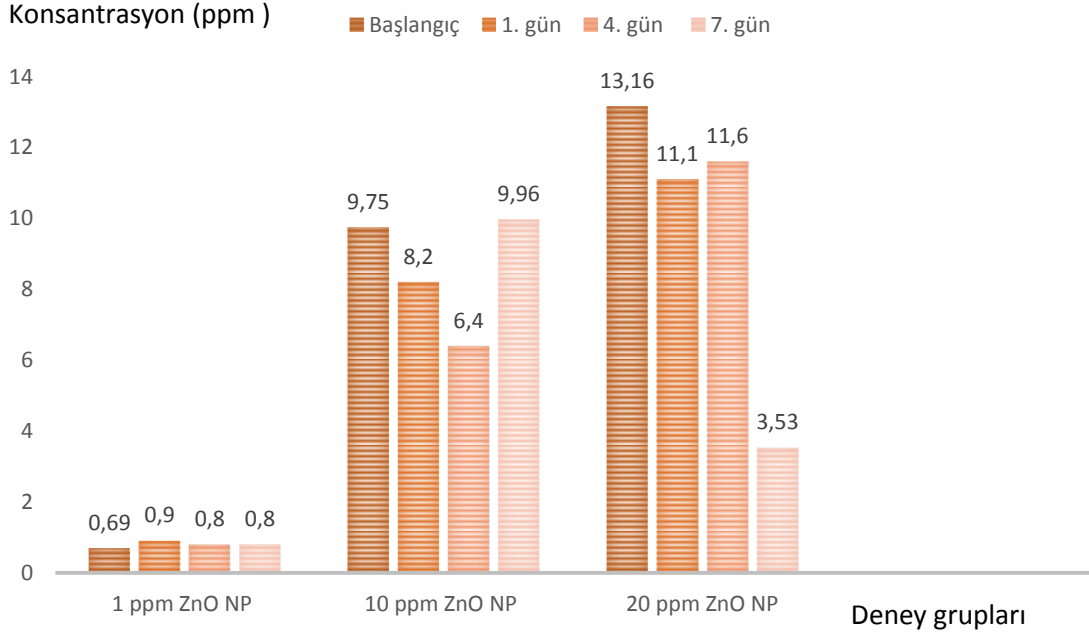


durum çözünmenin tam gerçekleşmemesi, sulara karışan nanopartiküllerin agregasyon veya agregat oluşturma eğilimleri ve bu oluşan kümelenmiş yapıların suyun pH'sı gibi çevresel birçok faktör tarafından etkilenmesine bağlanabilir.

Nanopartiküllerin hidrodinamik boyutu bulunduğu ortamın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine ve ayrıca kendi sahip olduğu boyut, yüzey yükü, nanopartikülün şekli, kimyasal kompozisyonu ve yüzey kimyası gibi özelliklere bağlı olarak değişmektedir (Oberdorster vd. 2005 a b, Powers vd. 2006). Nanopartikülün hidrodinamik boyutu her ne kadar ilk haline göre değişiklik gösterse de aglomerat (partiküller arası zayıf bağ oluşumu) mı yoksa agregat (partiküller arası kuvvetli bağ oluşması) mı oluşturduğu önemli bir faktördür ki bu iki yapının oluşturacağı biyolojik etkiler birbirinden farklıdır. Nanopartiküllerin dispersiyonlarının stabilitesi ve aglomerat oluşturma eğilimi Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) teorisi kullanılarak parçacıklar arasında elektrostatik, sterik van der Waals bağlarının oluşması şeklinde açıklanabilir (Derjaguin ve Landau 1941, Verwey ve Overbeek 1948). Rajesh vd. (2012)'nin prosedürüne göre sentezlenen ZnO NP'nin boyutunun 30 ila 50 nm arasında olması beklenirken DLS methodu kullanılarak yapılan ölçümde sentezlenen ZnO NP'nin yaklaşık 136,8 nm olarak bulunmuştur. Bu durum nanopartiküllerin hidrodinamik boyutunun su molekülünü ile interaksiyona girmesi sonucu oluşan çeşitli fiziksel ve kimyasal değişikliklerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Carvalho vd. 2018). Sentezlenen ZnO NP'nin toz formu XRD kırınımı yöntemi kullanılarak ölçülmüş bu ölçüm sonucunda boyutunun  $90,5 \pm 3,5$  nm olduğu bulunmuştur. Şeklinin çinko oksit'e has olan geniş pikli polikristalin yapıda olduğu bulunmuş oluşan agregatlar çiçek şeklinde görülmüştür. Bhushan vd (2019)'da yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar elde etmiştir.

Yapılan bu çalışmada bitkili ve bitkisiz gruplar arası ortamdaki ZnO NP konsantrasyonları karşılaştırıldığında bitkisiz gruplarda zaman içerisindeki ZnO NP konsantrasyonunun artması (başlangıç konsantrasyonuna göre) ortamda sıfır anında agregat oluşturduğu ve zaman içerisinde bu zayıf bağların kopması şeklinde açıklanabilir. (Şekil 5.1). Ancak bitkisiz deney gruplarında ilerleyen günlerde gözlemlenen konsantrasyon azalması ise, çökme (sedimentasyon), agregat oluşumu ve

ilgili kirleticinin (ZnO NP'nin) deneyin yürütüldüğü kabın (beher) duvarlarına yapışması ile ilişkilendirilebilir.



Şekil 5.1 Bitki içermeyen deney gruplarında Zn konsantrasyonunun (ppm) zaman içerisindeki değişimi

ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

Odzak vd. (2014) doğal sulara benzer bir yapay ortam oluşturularak Ag, ZnO, CuO ve karbon kaplı Cu NP'lerin 19 gün boyunca çözümleri üzerine çalışma yapmışlardır. Deney ortamında bulunan bu kirleticilerin konsantrasyonlarında %20 – 30'luk bir kaybın olduğunu bunun sebebinin ise agglomerat oluşumuna, sedimentasyona ve nanopartikülün deney ortamının duvarına yapıştığı için ölçümde çıkmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışma sonucunda ZnO NP'nin su ortamında çözünmesi ortamın pH'ı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmalar nanopartikül gibi kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılmasında bitki yapılarının yüzeyine tutunma (adsorpsiyon) veya bitki bünyesinde çeşitli bölgelerde akümüle olmasına (absorpsiyon) bağlı olduğunu göstermektedir. Nanopartiküllerin bitki bünyesine alınması sırasında bitkiden kaynaklı fizyolojik ve kimyasal bariyerleri

aşmaları gerektiği vurgulanmaktadır. Bu engeller i) Selüloz; kristalin bir mikrofibril yapı oluşturmak için hidrojen bağlarıyla birbirleriyle etkileşime geçen  $\beta$  1,4 bağlı glukoz zincirlerinden oluşan bir yapı, ii) pektik polisakkaritler ve hemiselülozik polisakkaritler olarak gruplandırılan polisakkaritler ve iii) çeşitli enzimler ve yapısal proteinler dahil proteinler ve glikoproteinlerdir (Keegstra vd. 2010). Nanopartiküllerin bitki bünyesine alınımındaki en önemli faktör boyutudur. İlgili nanopartikülün hücre duvarından geçebilmesi, bitkinin hücre duvarlarında bulunan por boyutu ile doğrudan ilişkilidir (Thwala vd. 2016). Boyutunun geniş olması, bitki hücre duvarından alınmasını ve plazma membranı boyunca taşınmasını engelleyecektir (Singh vd. 2018). Bazı araştırmacılar bitkilerin hücre duvarındaki por boyutunun 5 – 20 nm arasında olduğunu belirtirken, diğer uzmanlarda bu por boyutunun yaklaşık olarak 50 nm olduğunu belirtmektedirler ve bu yüzden 50 nm'nin üzerindeki parçacıkların hücre içine giremeyeceğini savunmaktadırlar (Judy vd. 2015). Ancak bazı araştırmacılar bu por boyutundan daha büyük formdaki parçacıkların hücre içine girmek için daha büyük porların oluşumunu indüklediklerini belirtmişlerdir (Rastogi vd. 2017). Yapılan çalışmalar sucul ortamda nanopartiküllerin agglomerasyon veya agregasyon oluşturma eğiliminde olduğunu dolayısıyla suda normal boyutundan daha büyük olduğunu göstermektedir. Bu çalışma kapsamında da kullanılan kirleticinin (ZnO NP) toz formunun boyutu yaklaşık 90 nm olarak bulunmuşken hidrodinamik boyutu 138 nm olarak ölçülmüştür.

ZnO NP sucul ortama girdiğinde kısmen çözünerek iyon formuna ( $Zn^{+2}$ ) geçebilme eğiliminde olan bir nanopartiküldür. İyonlar ve su molekülleri boyutları sebebiyle iyon kanalları ve porlardan rahatlıkla geçebilmektedirler. İyonların ve su moleküllerinin boyutu yaklaşık 0,28 nm'dir ki bitki hücrelerinin iç porlarının boyutu 2-20 nm arasında değişiklik göstermektedir (Singh vd. 2018). Thwala vd (2016) Zn'nun akümülyasyon konsantrasyonunu nano Zn ve nano ZnO'dan daha fazla olduğunu söylemektedir. ZnO NP'nin ise akümülyasyonunun agglomer olmasından dolayı inhibe olduğunu söylemektedir. Bernas (2016) gümüş nanopartikülünün 20 nm'den büyük olduğu durumda bitki hücresinin içerisine giremediğini belirtmiştir. Glenn vd. (2012) 40 nm'den büyük MeO NP'lerin bitki bünyesine alınmasının mümkün olmadığını

bildirmişlerdir. Androetti vd. (2015) 50 nm'den küçük bakır nanopartiküllerinin bitki kökleri tarafından absorblandığını belirtmektedir.

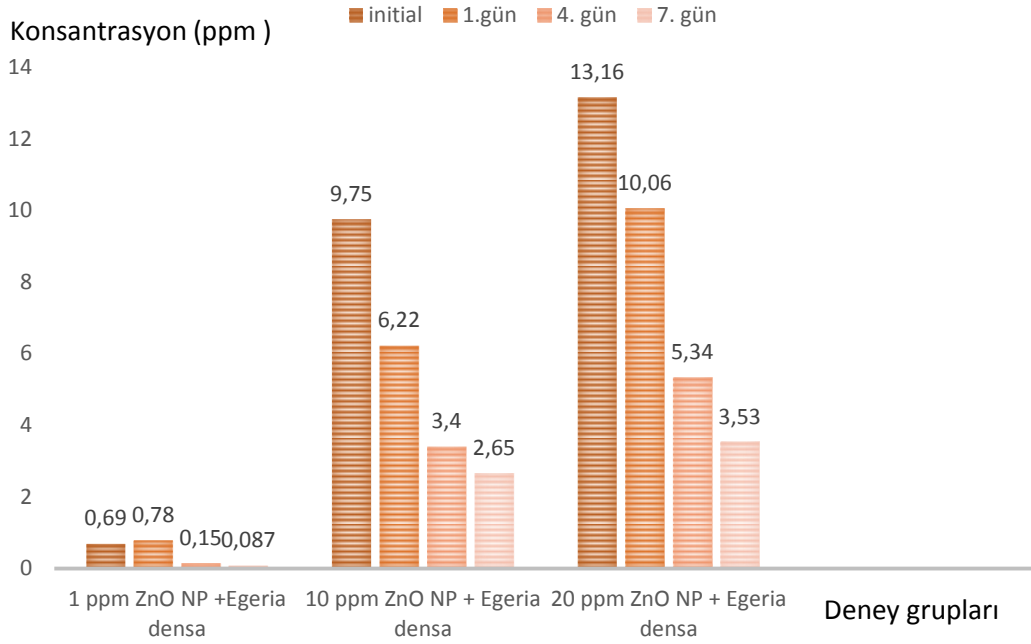
Hoagland ve Arnon (1950)'in tarifinin modifiye edilerek mikro besin elementi olarak bulunan Zn (bulk boyutta) elementi'nin çıkarılmasının sebebi ICP-MS cihazının analiz yaparken parçacık boyutu ayrımı yapmamasından kaynaklanmaktadır. Besin solüsyonu içerisinde Zn elementinin eklenmesi durumunda bitki bünyesinde birikmiş olan Zn'nun kaynağının kirletici olarak kullanılan ZnO NP'den mi yoksa solüsyon içerisindeki bulk formdaki Zn elementi mi olduğunun belirlenmesi mümkün olmadığından bu modifikasyona ihtiyaç duyulmuştur. Literatürde de benzer yaklaşımlar bulunmaktadır (Hu vd. 2014).

Bitki bünyesinde zaman içerisinde Zn biriktiği gözlemlenmiştir. Daha önce de bahsedildiği gibi uzmanlar belirli boyutun üzerindeki materyallerin hücre duvarındaki porlardan direk geçemeyeceğini vurgulamaktadırlar (Judy vd. 2012, Singh vd. 2016, Rastogi vd. 2017). Thwala vd. (2016) nanopartiküllerin hücre içerisine alınmasını sağlayan bir diğer yolun endositoz olduğunu söylemektedir. Bu işlem hücre içerisine giremeyecek boyuttaki materyallerin alınmasında kullanılan bir yöntemdir. Bu nedenle endositozun, partikül özelliklerine ve yönelimine bağlı olarak hücre duvarın gözeneklerinden daha büyük NP'lerin hücre içerisine alınmasını sağlamaktadır (Thwala vd. 2016).

Bitki köklerinin salgıladığı müsilajın, organik asitlerin, şekerlerin ve diğer küçük organik materyallerin genel olarak negatif yüklü oldukları bilinmektedir. MeO NP'lerin ise yüzey yükünün genellikle negatif yüklü olmasından dolayı bu kirleticilerin bitki yüzeyine tutunmaları yani adsorblanmaları sağlanmaktadır. MeO NP'lerin bitki bünyesinde akümüle olması için kirleticinin doğrudan hücre yüzeyi ile temas etmedi gerekmektedir ve bu durumda bu kirleticiler bitki yüzeyinde adsorbe olabilmektedir. Thwala vd (2016), yüksek bitkilerin kirleticiyi akümüle edebilmesi için adsorbsiyonun gerekli olduğunu vurgulamaktadır. Glenn vd (2012) ve Zhang vd (2014) de yaptığı çalışmalar sonucunda NP'nin hem bitki bünyesinde biriktiği hemde bitki yüzeyinde adsorblandığını belirtmişlerdir ve adsorbsiyonun akümüleasyon için gerekli olduğunu

vurgulamışlardır. Bu çalışma kapsamında yürütülen deneyde, bünyesinden kirletici konsantrasyonu analizi yapılacak olan bitkiler, kirletici içeren ortamdan alındıktan sonra distile su ile yıkanarak yüzeyinde tutunmuş (adsorblanmış) kirleticilerin uzaklaştırılmasını sağlamak amaçlanmıştır. Hu vd. (2014) *Salvinia natans* yüzücü bitkisini laboratuvar ortamında çeşitli konsantrasyonlarda ZnO NP'ye maruz bırakmış belirli bir sürenin sonunda bir grup bitkiyi distile su ile yıkarken diğer grup bitkiyi yıkamadan ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi) cihazında analizini yapmışlardır. Sonuç olarak yıkanan bitki grubunda yıkanmayan gruba kıyasla Zn konsantrasyonunun düşük olduğu bulunmuş, bu kaybı yıkanma ile yüzeydeki Zn'nun uzaklaşması şeklinde yorumlamışlardır. Dolayısıyla bu çalışma sonucunda bitki materyali üzerinde yapılan analiz sonucunda elde edilen Zn miktarının bitki bünyesinde birikim yapan Zn'ye ait olduğu şeklinde yorum yapılabilir. Lopez Moreno ve da Rosa (2010) yaptığı çalışma sonucunda ZnO NP'ne maruz bıraktığı *Glycine max* tohumunda X-ray spektrofotometre kullanarak (XAS) birikimin  $Zn^{+2}$  şeklinde olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde İngiliz çimi olarak bilinen *Lolium perenne* bitkisi üzerinde yapılan ZnO NP çalışmalarında da ZnO NP'nin bünyede iyon formunda biriktiği saptanmıştır. Chenn vd. (2017) *Lemna minor* bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada ZnO NP'nin iyon formda birikim yaptığı gösterilmiştir.

Bitki ihtiva eden ve etmeyen gruplar arası konsantrasyon ölçümlerine bakıldığında, bitki içeren ortamda Zn konsantrasyonunun belirgin bir şekilde düştüğü gözlemlenmiş bu da *Egeria densa* bitkisinin kirleticiyi uzaklaştırmada etkin bir rol oynadığını göstermiştir.

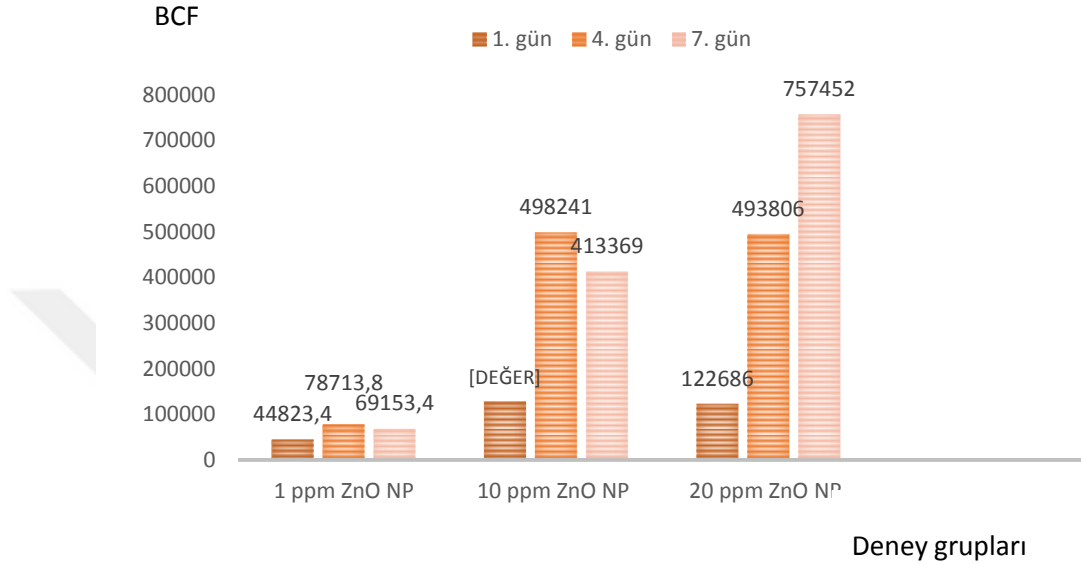


Şekil 5.2 Bitki ihtiva eden deney gruplarında ortamda bulunan Zn konsantrasyonunun zaman içerisindeki değişimi

ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

Şekil 5.2’de de görüldüğü üzere 3 konsantrasyonda da zaman içerisinde ortamdaki konsantrasyonun azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada genel anlamda ortamdaki Zn’nun uzaklaştırılması ile zaman arasında paralel bir ilişkinin olduğu zaman arttıkça giderimin azaldığı gözlemlenmiştir. Ancak % olarak gruplar arası giderim yüzdeleri göz önüne alındığında düşük konsantrasyon uygulamalarında daha yüksek oranda giderim olduğu gözlemlenirken yüksek konsantrasyon uygulamalarında giderim yüzdelerinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Konsantrasyon artışı ile % giderim arasında ters orantının olduğu düşük konsantrasyonda (1 ppm)’de % giderimin en yüksek olduğu, yüksek konsantrasyonda ise en düşük % giderim gözlemlenmiştir. Chaudhuri (2014) ve Zhang (2015)’ in bulguları bu çalışmanın paterniyle uyuşarak konsantrasyon ve % giderim arasında ters ilişki olduğunu vurgularken, Üçüncü vd. (2014), Hanks vd. (2015), Song ve Lee, (2016) ve Ergönül vd. (2020) bu çalışmanın % giderim cinsinden bulgularının aksine sonuç elde etmişlerdir.

Bünyesinde 1000 mg/kg'dan fazla miktarda kirletici biriktirebilen bitkiler hiperakümülatör bitkiler olarak adlandırılmaktadır (Brooks 1998). Massa vd. (2010) Zn'nun bitkiler için birikim düzeylerini toksik olmayan 27-150 mg/kg, 100-400 mg/kg toksik düzey ve 10.000 mg/kg birikimi ise hiperakümülatör olarak belirlemişlerdir.



Şekil 5.3 Deney süresince bitki dokusunda Zn (mg/kg) birikimi (BCF)

ZnO NP: Çinko oksit nanopartikülü

Ağır metaller bitkiler üzerinde çeşitli temel metabolik etkilerin bozulmasına sebep olmaktadır (Das vd. 1997, Shanker vd. 2005). Fotosentez de ağır metallere etkilenen en önemli fizyolojik proseslerin başında yer almaktadır. Fotosentetik pigmentlerin ağır metaller tarafından hasar görmesi fotosentetik elektron taşıma sisteminde ve karbon fiksasyon kapasitesinde olumsuz değişikliğe sebep olmaktadır (Clijsters ve Van Assche 1985, Krupa ve Baszynsky 1995, Siedlecka vd. 1997, Shahanker vd. 2005, Dhir vd. 2008). Thwala vd (2016)'nın yayınında nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki toksisitesini; i) subselüler seviyede (oksidatif stres ve hasar), ii) fotosentetik (klorofil pigmentleri ve fotosentetik aktivite) ve iii) büyüme (biyokütle ve büyüme oranı) üzerinde olmak üzere üç farklı sınıf olarak sınıflandırmaktadır. Bu çalışma kapsamında ZnONP'nin *Egeria densa* üzerindeki toksisitesini belirlemek amacıyla fotosentetik (klorofil) pigment miktarına ve yaş ağırlık takibi yapılarak büyümeleri incelenmiştir.

*Egeria densa* bitkisinin yaş ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde büyümenin ZnO NP uygulamalarından etkilenmediği gözlemlenmiştir. ZnO NP'nin içerdiği Zn elementi her ne kadar bitki yapısı ve fizyolojisi için gerekli iz element olsada, özellikle yüksek konsantrasyonlarda olumsuz etki gösterdiği de belirtilmiştir. (Prasad vd. 2012, Singh vd. 2013, Raliya ve Tarafdar 2013, Ramesh ve Meenakshisundaram 2014) ve yaptıkları çalışmada Zn'nun klorofil miktarını ve dolayısıyla fotosentezi arttırıcı etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ancak bunun aksini bildiren çalışmalarda mevcuttur. Wang vd. (2016) ZnO NP'nin *Arabidopsis* bitkisi üzerinde birikim ve fotosentezini nasıl etkilediğini çalışmış ve yüksek konsantrasyonda ZnO NP ye maruz kalan bitkinin Klorofil a Oksijenaz (CAO), Klorofil Sentaz (CHLG), Copper Response Defect 1 (CRD1), Magnezyum Protopotfirin IX Metiltransferaz (CHLM) ve Mg Şeletaz Altünite D (CHLD) dahil klorofil sentezinden sorumlu genlerin ve Fotosistem 1 Altünitesi D-2 (PSAD2), Fotosistem Altünitesi D E-2 (PSAE2), Fotosistem 1 Altünitesi D K (PSAK) ve Fotosistem 1 Altünitesi D N (PSAN) fotosentez genlerinin ekspresyonlarını baskıladığını belirterek ZnO NP'ye maruz kalan bitkinin fotosentetik aktivitesinin düştüğünü belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında yapılan ölçümlerde düşük konsantrasyon hariç diğer konsantrasyonlarda klorofil a miktarında belirgin bir değişiklik gözlemlenmezken klorofil b konsantrasyonunun maruziyet süresi ile birlikte 1. güne kıyasla düşüş gösterdiği görülmektedir. 10 ppm ZnO NP uygulamasının yapıldığı grupta belirgin bir şekilde klorofil a miktarında düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Hu vd. (2013) *Spirodela polyrhiza* bitkisini 96 sat boyunca 1-50 ppm arasında ZnO NP'ye ve 3,5 ppm ZnSO<sub>4</sub>'e maruz bırakarak bu kirleticilerin bitki üzerindeki toksik etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Uygulama sonucunda sadece 50 ppm kirleticiye maruz bırakılan bitkilerin klorofil a/feofitin oranının azaldığını, bulk formdaki Zn uygulamasında ise nano boyuttaki türevine göre daha fazla toksik etkinin gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu farkın sebebinin ise ZnO NP'nin toksik etki göstermesinin çözünmesine bağlı olduğu ile ilişkilendirmişlerdir. Hu vd. (2014) *Salvinia natans* bitkisini 1-50 ppm arasında ZnO NP'ye maruz bırakırken paralelinde ise 44 ppm ZnSO<sub>4</sub>'ün toksik etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak ZnSO<sub>4</sub> uygulamasında bulk formdaki Zn'nin klorofil a, b ve karatenoid konsantrasyonunun düştüğünü raporlamışlardır. Ancak ZnO



NP uygulamalarında en yüksek konsantrasyonda (50 ppm) klorofil a, b ve karotenoid miktarlarının düştüğü belirtilmiştir. Bu iki çalışmada da bulk formdaki Zn'nin nano formdaki ZnO NP'den daha fazla toksik etki gösterdiği görülmektedir. ZnO NP'nin bulk forma göre daha az toksik etkiye sebep olmasının sebebi nanopartikül toksisitesinin çözünmesiyle doğrudan ilişkili olması şeklinde yorumlanabilmektedir (Hu vd. 2013, Hu vd. 2014). Prasad vd. (2001) 'nin *Lemna trisulca* bitkisi üzerinde yaptığı toksisite çalışmasında da bulk formdaki Cu ve Cd'un birikiminin klorofil a miktarı üzerinde belirgin bir değişiklik yapmazken klorofil b konsantrasyonunu belirgin şekilde düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında *Egeria densa* su içi bitkisinin belirlenen konsantrasyonlarda belirgin bir toksik etki göstermemesi, ilgili kirleticiyi akümüle etmesi ZnO NP ile kontamine olmuş suların fitoremediasyonunda kullanılabilirliği hakkında umut vaat etmektedir.

## 6. SONUÇ

Nanoteknolojinin artmasıyla birlikte artan nanopartikül üretimi sonucu doğaya ulaşması kaçınılmaz olan ağır metal nanopartiküllerinin ortam üzerindeki etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak öğrenilmemiş olmakla beraber yapılan çalışmalar doğrultusunda görüldüğü kadarıyla çevre, ekosistem ve insan sağlığı açısından olumsuz etkileri olabileceği öngörülebilmektedir. Bu sebeple bu tarz kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılması ekosistem sürdürülebilirliği açısından da gereklidir.

Sulak alanlardaki kirleticilerin uzaklaştırılmasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik temelli olmak üzere farklı yaklaşımlar olmakla beraber biyolojik yöntemler içerisinde yer alan, sucul makrofitlerin akümülyasyon yeteneğinden faydalanılarak kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılmasını hedefleyen fitoremediasyon yöntemi ucuz olması, iş gücü gereksiniminin az olması, çevre dostu olması gibi özelliklerle ön plana çıkmaktadır. Ağır metal, boya maddesi, ham petrol vb. kirleticilerin temizlenmesinde kullanılabilen bu yöntemin son yıllarda nanopartikül gideriminde de kullanılabilirliği üzerinde çalışmalar yapılmakla birlikte hala birçok soruya kesin cevap verilmiş durumda değildir. Bu sebeple bu konuyla alakalı daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Bu çalışma kapsamında farklı konsantrasyonlarda ZnO nanopartikülüne maruz bırakılan *Egeria densa* bitkisinin bünyesinde Zn akümüle edebildiği, ortamdaki ZnO nanopartikül konsantrasyonunu azaltabildiği görülmüştür. Özellikle düşük konsantrasyon denemelerinde daha iyi performans göstermiştir. Bu konsantrasyon doğal sucul ortamlarda bulunması muhtemel olan miktara daha yakın bir değer olduğu için ZnO NP ile kontamine olmuş doğal suların fitoremediasyonu için *Egeria densa* bitkisinin kullanılabilir olduğu söylenebilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abu Bakar, A.F., Yusoff, I., Fatt, N.T., Othman, F., and Ashraf, M.A. 2013. Arsenic, zinc, and aluminium removal from gold mine wastewater effluents and accumulation by submerged aquatic plants (*Cabomba piauhyensis*, *Egeria densa*, and *Hydrilla verticillata*). BioMed Research International. 1-7.
- Adam, N., Schmitt, C., Galceran, J., Companys, E., Vakurov, A., Wallace, R., Knapen, D. and Blust, R. 2014. The chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl<sub>2</sub> to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution. Nanotoxicology, 8(7); 709-717.
- Ahluwalia, S.S. and Goyal, D. 2007. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. Bioresource Technology, 98; 2243-2257.
- Ahmadpour, P., Ahmadpour, F., Mahmud, T.M.M., Abdu, A., Soleimani, M. and Tayefeh, F.H. 2012. Phytoremediation of heavy metals: A green technology. African Journal of Biotechnology, 11(76); 14036-14043.
- Amde, M., Liu, J.F., Tan, Z.Q., and Bekana, D. 2017. Transformation and bioavailability of metal oxide nanoparticles in aquatic and terrestrial environments. A review. Environmental pollution, 230; 250-267.
- Andreotti, F., Mucha, A.P., Caetano, C., Rodrigues, P., Gomes, C.R. and Almeida, C.M.R. 2015. Interactions between salt marsh plants and Cu nanoparticles—effects on metal uptake and phytoremediation processes. Ecotoxicology and Environmental safety, 120; 303-309.
- Andreotti, F., Mucha, A.P., Caetano, C., Rodrigues, P., Gomes, C.R., and Almeida, C.M.R. 2015. Interactions between salt marsh plants and Cu nanoparticles—effects on metal uptake and phytoremediation processes. Ecotoxicology and Environmental Safety. 120; 303-309.
- Auld, D.S. 2001. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. Zinc Biochemistry, Physiology, and Homeostasis; 85-127.
- Bakar, A., Farid, A., Yusoff, I., Fatt, N.T., Othman, F. and Ashraf, M.A. 2013. Arsenic, zinc, and aluminium removal from gold mine wastewater effluents and accumulation by submerged aquatic plants (*Cabomba piauhyensis*, *Egeria densa*, and *Hydrilla verticillata*). BioMed Research International, 2013.
- Barton, L.E., Auffan, M., Durenkamp, M., McGrath, S., Bottero, J.Y., and Wiesner, M.R. 2015. Monte Carlo simulations of the transformation and removal of Ag, TiO<sub>2</sub>, and ZnO nanoparticles in wastewater treatment and land application of biosolids. Science of the Total Environment, 511; 535-543.

- Basnet, P, Chanu, T.I., Samanta, D. and Chatterjee, S. 2018. A review on bio-synthesized zinc oxide nanoparticles using plant extracts as reductants and stabilizing agents. *J Photochem Photobiol B* 183; 201-221.
- Bernas, L.J. 2016. Phytotoxicity of silver species to *Egeria densa* and applications to phytoremediation. *Yüksek Lisans Tezi*. Florida Institute of Technology, Florida, USA.
- Bhushan, B., Murty B.S, Mondal, K. 2019 A new approach for synthesis of ZnO nanorod flowerets and subsequent pure free-standing ZnO nanorods. *Adv Powder Technology*. 30(1); 30-41.
- Biswas, J.K. and Sarkar, D. 2019. Nanopollution in the aquatic environment and ecotoxicity: no nano issue!. *Current Pollution Reports*, 5(1); 4-7.
- Brooks, R.R. 1998. Phytoremediation by volitalisation. In *Plants that hyperaccumulate heavy metals: Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*. CAB International. Oxon, UK. 289-312.
- Brooks, R.R. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals, their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining*. CAB International, Wallingford, UK. 380.
- Brouwer, D.H., Gijsbers, J.H.J. and Lurvink, M.W.M. 2004. Personal exposure to ultrafine particles in the workplace: exploring sampling techniques and strategies. *Annals of Occupational Hygiene*, 48; 439-453.
- Brown, P. H., Cakmak, I. and Zhang, Q. 1993. Form and function of zinc plants. *Zinc In Soils and Plants*, 55; 93-106.
- Brun, N.R., Lenz, M., Wehrli, B. and Fent, K. 2014. Comparative effects of zinc oxide nanoparticles and dissolved zinc on zebrafish embryos and eleuthero-embryos: importance of zinc ions. *Science of the Total Environment*, 476; 657-666.
- Bushman, J., Vaughan, A., Sheihet, L., Zhang, Z., Costache, M., and Kohn, J. 2013. Functionalized nanospheres for targeted delivery of paclitaxel. *Journal of Controlled Release*, 171(3); 315-321.
- Cabada, J.C., Rees, S., Takahama, S., Khlystov, A., Pandis, S.N., Davidson, C.I., and Robinson, A.L. 2004. Mass size distributions and size resolved chemical composition of fine particulate matter at the Pittsburgh supersite. *Atmospheric Environment*, 38(20); 3127-3141.
- Carvalho, P.M., Felício, M.R., Santos, N.C., Gonçalves, S., and Domingues, M.M. 2018. Application of light scattering techniques to nanoparticle characterization and development. *Frontiers in chemistry*, 6; 237.

- Chaudhuri, D., Majumder, A., Misra, A.K. and Bandyopadhyay, K. 2014. Cadmium removal by *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*. *International Journal Of Phytoremediation*, 16(11); 1119-1132.
- Chen, X., O'Halloran, J. and Jansen, M.A. 2016. The toxicity of zinc oxide nanoparticles to *Lemna minor* (L.) is predominantly caused by dissolved Zn. *Aquatic Toxicology*, 174; 46-53.
- Cherchi, C., Chernenko, T., Diem, M. and Gu, A.Z. 2011. Impact of nano titanium dioxide exposure on cellular structure of *Anabaena variabilis* and evidence of internalization. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(4); 861-869.
- Clijsters, H. and Van Assche, F. 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosynthesis Research*. 7(1); 31-40.
- Curt, M.D., Curt, G., Aguado, P.L. and Fernandez, J. 2010. Proposal for the biological control of *Egeria densa* in small reservoirs: a Spanish case study. *Journal of Aquatic Plant Management*, 48; 124.
- Dabrunz, A., Duester, L., Prasse, C., Seitz, F., Rosenfeldt, R., Schilde, C. & Schulz, R. 2011. Biological surface coating and molting inhibition as mechanisms of TiO<sub>2</sub> nanoparticle toxicity in *Daphnia magna*. *PloS One*, 6(5).
- Dale, A.L., Casman, E.A., Lowry, G.V., Lead, J.R., Viparelli, E., and Baalousha, M. 2015. Modeling nanomaterial environmental fate in aquatic systems. *Environmental Science & Technology*. 49; 2587-2593.
- Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 98; 29–36.
- Davis, P.H. 1970. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 3; 645.
- De Abreu Pietrobelli, J.M.T., Módenes, A.N., Espinoza-Quiñones, F.R., Fagundes-Klen, M.R., and Kroumov, A. 2009. Removal of copper ions by non-living aquatic macrophytes *Egeria densa*. *International Journal Bioautomation*, 12(1); 21-32.
- Derjaguin, B., and Landau, L. 1941. The theory of stability of highly charged lyophobic sols and coalescence of highly charged particles in electrolyte solutions. *Acta Physicochim. URSS*, 14(633-52); 58.
- Derjaguin, B.V. and Landau, L. 1993. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress in Surface Science*, 43(1-4); 30-59.
- Dhir, B., Sharmila, P. and Saradhi, P.P. 2009. Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(9); 754-781.

- Dixit, R., Wasiullah, Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U.B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B.P., Rai, J.P., Sharma, P.K., Lade, H. and Paul, D. 2015. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, 7; 2189-2212.
- Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J., and Guo, H. 2011. TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(4); 822-828.
- Dunphy Guzman K.A, Finnegan M.P. and Banfield J.F. 2006 Influence of surface potential on aggregation and transport of titania nanoparticles. *Environmental Science & Technology*, 40(24); 7688-7693.
- Ebrahimbabaie, P., Meeinkuirt, W., and Pichtel, J. 2020. Phytoremediation of engineered nanoparticles using aquatic plants: Mechanisms and practical feasibility. *Journal of Environmental Sciences*, 93; 151-163.
- Elmachliy, S., Chefetz, B., Tel-Or, E., Vidal, L., Canals, A. and Gedanken, A. 2011. Removal of silver and lead ions from water wastes using *Azolla filiculoides*, an aquatic plant, which adsorbs and reduces the ions into the corresponding metallic nanoparticles under microwave radiation in 5 min. *Water, Air, & Soil Pollution*, 218(1-4); 365-370.
- Ergönül, M. B., Nassouhi, D., Çelik, M., and 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*, 1-13.
- Fageria, N.K., Baligar, V.C. and Clark, R.B. 2002. Micronutrients in crop production. In *Advances in Agronomy*, 77; 185-268.
- Fikirdeşici, Ş., Tunca, E., Kaya, M., and Tunca, E. 2018. Bioremediation of heavy metal contaminated medium using *Lemna minor*, *Daphnia magna* and their consortium. *Chemistry and Ecology*, 34(1); 43-55.
- Fine, P.M., Chakrabarti, B., Krudysz, M., Schauer, J.J., and Sioutas, C. 2004. Diurnal variations of individual organic compound constituents of ultrafine and accumulation mode particulate matter in the Los Angeles basin. *Environmental Science & Technology*, 38(5); 1296-1304.
- Ghosh, R., Pradhan, L., Devi, Y.P., Meena, S.S., Tewari, R., Kumar, A., and Ningthoujam, R.S. 2011. Induction heating studies of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles capped with oleic acid and polyethylene glycol for hyperthermia. *Journal of Materials Chemistry*, 21(35); 13388-13398.
- Giese, B., Klaessig, F., Park, B., Kaegi, R., Steinfeldt, M., Wigger, H. and Gottschalk, F. 2018. Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. *Scientific reports*, 8(1); 1-18.

- Glenn, J.B., White, S.A. and Klaine, S.J. 2012. Interactions of gold nanoparticles with freshwater aquatic macrophytes are size and species dependent. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 31(1); 194-201.
- Gomes, T., Pinheiro, J.P., Cancio, I., Pereira, C.G., Cardoso, C. and Bebianno, M.J. 2011. Effects of copper nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Science & Technology*, 45(21); 9356-9362.
- Gottschalk, F., Sun, T., and Nowack, B. 2013. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environmental pollution*, 181; 287-300.
- Halder, S. and Ghosh, S. 2014. Wetland macrophytes in purification of water. *International Journal of Environmental Sciences*, 5(2); 432-437.
- Hanks, N.A., Caruso, J.A. and Zhang, P. 2015. Assessing *Pistia stratiotes* for phytoremediation of silver nanoparticles and Ag (I) contaminated waters. *Journal of environmental management*, 164; 41-45.
- Harguinteguy, C.A., Pignata, M.L. and Fernández-Cirelli, A. 2015. Nickel, lead and zinc accumulation and performance in relation to their use in phytoremediation of macrophytes *Myriophyllum aquaticum* and *Egeria densa*. *Ecological Engineering*, 82; 512-516.
- Hauenstein, B.E. and Ramírez, C. 1986. The influence of salinity on the distribution of *Egeria densa* in the Valdivia River basin, Chile. *Archiv fur Hydrobiologie. Stuttgart*. 107(4); 511-519.
- Hernandez-Viezcas, J.A., Castillo-Michel, H., Servin, A.D., Peralta-Videa, J.R., and Gardea-Torresdey, J.L. 2011. Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 170(2-3); 346-352.
- Hildemann, L.M., Markowski, G.R., Jones, M.C. and Cass, G.R. 1991. Submicrometer aerosol mass distributions of emissions from boilers, fireplaces, automobiles, diesel trucks, and meat-cooking operations. *Aerosol Science and Technology*, 14(1); 138-152.
- Hinchman, R.R., Negri, M.C. and Gatliff, E.G. 1995. Phytoremediation: using green plants to clean up contaminated soil, groundwater, and wastewater. Argonne National Laboratory Hinchman, Applied Natural Sciences.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station 2nd edit. 347; 32.
- Hong, R, Pan, T, Qian, J. and Li, H. 2006 Synthesis and surface modification of ZnO nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 119; 71-81.

- Horie, M., and Fujita, K. 2011. Toxicity of metal oxides nanoparticles. In *Advances in Molecular Toxicology*, 5; 145-178.
- Hou, J., Wang, X., Hayat, T. and Wang, X. 2017. Ecotoxicological effects and mechanism of CuO nanoparticles to individual organisms. *Environmental pollution*, 221, 209-217.
- Hu, C., Liu, X., Li, X. and 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*, 21(1); 732-739.
- Inshakova, E. and Inshakov, O. 2017. World market for nanomaterials: structure and trends. *MATEC Web of Conferences*, 129.
- Jacob, D.L., Borchardt, J.D., Navaratnam, L., Otte, M.L., and Bezbaruah, A.N. 2013. Uptake and translocation of Ti from nanoparticles in crops and wetland plants. *International Journal of Phytoremediation*, 15(2); 142-153.
- Judy, J.D., Unrine, J.M., Rao, W., Wirick, S., and Bertsch, P.M. 2012. Bioavailability of gold nanomaterials to plants: importance of particle size and surface coating. *Environmental Science & Technology*, 46(15); 8467-8474.
- Juliana, M.D.A., Módenes, A.N., Fagundes-Klen, M.R., and Espinoza-Quiñones, F.R. 2009. Cadmium, copper and zinc biosorption study by non-living *Egeria densa* biomass. *Water, Air, and Soil Pollution*, 202(1-4); 385-392.
- Kahru, A. and Dubourguier, H.C. 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*, 269(2-3); 105-119.
- Keegstra, K. 2010. Plant cell walls. *Plant physiology*, 154(2); 483-486.
- Keller, A.A. and Lazareva, A. 2014. Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local. *Environmental Science & Technology Letters*, 1(1); 65-70.
- Keller, A.A., Wang, H., Zhou, D., Lenihan, H.S., Cherr, G., Cardinale, B.J., and Ji, Z. 2010. Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices. *Environmental Science & Technology*, 44(6); 1962-1967.
- Khellaf, N. and Zerdaoui, M. 2009. Growth response of the duckweed *Lemna minor* to heavy metal pollution. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 6(3); 161-166.
- Khellaf, N. and Zerdaoui, M. 2009. Phytoaccumulation of zinc by the aquatic plant, *Lemna gibba* L. *Bioresource Technology*, 100(23); 6137-6140.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J., Batley, G.E., Fernandes, T F., Handy, R.D., Lyon, D.Y. and Lead, J.R. 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate,



- bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 27(9); 1825-1851.
- Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F. and Smalley, R.E. 1985. C60: Buckminster fullerene. *Nature*, 318; 162-163.
- Krupa, Z. and Baszynski, T. 1995. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus-direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2(17); 177-190.
- Lane, N. 2002. Nanotechnologies meet market realities. *Chemical & Engineering News*, 17.
- Lee, S., Kim, K., Shon, H.K., Kim, S.D. and Cho, J. 2011. Biototoxicity of nanoparticles: effect of natural organic matter. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(7); 3051-3061.
- Li, L., Sillanpää, M., Tuominen, M., Lounatmaa, K., and Schultz, E. 2013. Behavior of titanium dioxide nanoparticles in *Lemna minor* growth test conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88; 89-94.
- Li, S., Ma, H., Wallis, L.K., Etterson, M.A., Riley, B., Hoff, D.J., and Diamond, S.A. 2016. Impact of natural organic matter on particle behavior and phototoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Science of The Total Environment*, 542; 324-333.
- Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*. 1(1); F4-3.
- Lin, D. and Xing, B. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental science & technology*, 42(15); 5580-5585.
- Loosli, F., Le Coustumer, P., and Stoll, S. 2013. TiO<sub>2</sub> nanoparticles aggregation and disaggregation in presence of alginate and Suwannee River humic acids. pH and concentration effects on nanoparticle stability. *Water Research*, 47(16); 6052-6063.
- López-Moreno, M.L., Rosa, G., Hernández-Viezcas, J.Á., Castillo-Michel, H., Botez, C. E., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO<sub>2</sub> nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental Science & Technology*, 44(19); 7315-7320.
- Lu, D., Huang, Q., Deng, C., and Zheng, Y. 2018. Phytoremediation of Copper Pollution by Eight Aquatic Plants. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(1); 175-181.
- Lu, K., Dong, S., Petersen, E.J., Niu, J., Chang, X., Wang, P., and Mao, L. 2017. Biological uptake, distribution, and depuration of radio-labeled graphene in

- adult zebrafish: effects of graphene size and natural organic matter. *ACS nano*, 11(3); 2872-2885.
- Lv, J., Christie, P., and Zhang, S. 2019. Uptake, translocation, and transformation of metal-based nanoparticles in plants: recent advances and methodological challenges. *Environmental Science: Nano*, 6(1); 41-59.
- Ma, H., Williams, P.L., and Diamond, S.A. 2013. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles—a review. *Environmental Pollution*, 172; 76-85.
- Ma, R., Levard, C., Judy, J.D., Unrine, J.M., Durenkamp, M., Martin, B., and Lowry, G.V. 2014. Fate of zinc oxide and silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant and in processed biosolids. *Environmental Science & Technology*, 48(1); 104-112.
- Ma, S., and Lin, D. 2013. The biophysicochemical interactions at the interfaces between nanoparticles and aquatic organisms: adsorption and internalization. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(1); 145-160.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the total environment*, 408(16); 3053-3061.
- Malec, P., Maleva, M.G., Prasad, M.N.V. and Strzałka, K. 2010. Responses of *Lemna trisulca* L. (Duckweed) exposed to low doses of cadmium: thiols, metal binding complexes, and photosynthetic pigments as sensitive biomarkers of ecotoxicity. *Protoplasma*, 240(1-4); 69-74.
- Masciangioli, T. and Zhang, W.X. 2003. Peer reviewed: environmental technologies at the nanoscale. *Environmental Science and Technology*, 37; 102A-108A.
- Massa, N., Andreucci, F., Poli, M., Aceto, M., Barbato, R. and Berta, G., 2010, Screening for heavy metal accumulators amongst autochthonous plants in a polluted site in Italy, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (8); 1988-1997.
- Mayrinck, C, Raphael, E, Ferrari, J.L. and Schiavon, M.A. 2014 Síntese, propriedades e aplicações de óxido de zinco nanoestruturado. *Revista Virtual de Química*, 6; 1185-1204
- McCarty, P.L., Bae, J., and Kim, J. 2011. Domestic wastewater treatment as a net energy producer—can this be achieved?. *Environmental Science & Technology*. 45; 7100-7106.
- Mishra, V.K. and Tripathi, B.D. 2009. Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3); 1059-1063.
- Mony, C., Koschnick, T.J., Haller, W.T. and Muller, S. 2007. Competition between two invasive Hydrocharitaceae (*Hydrilla verticillata* (Lf)(Royle) and *Egeria*

*densa* (Planch)) as influenced by sediment fertility and season. *Aquatic Botany*, 86(3); 236-242.

- Murr, L.E., Bang, J.J., Esquivel, E.V., Guerrero, P.A., and Lopez, D.A. 2004. Carbon nanotubes, nanocrystal forms, and complex nanoparticle aggregates in common fuel-gas combustion sources and the ambient air. *Journal of Nanoparticle Research*, 6(2); 241-251.
- Narendhran, S., Rajiv, P. and Sivaraj, R. 2016. Toxicity of ZnO nanoparticles on germinating *Sesamum indicum* (Co-1) and their antibacterial activity. *Bulletin of Materials Science*, 39(2); 415-421.
- Nassouhi, D., Ergönül, M.B., Fikirdeşici, Ş., Karacakaya, P. and Atasağun, S. 2018. Ağır metal kirliliğinin biyoremediasyonunda sucul makrofitlerin kullanımı. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. 14(2); 148-165.
- Neale, P.A., Jämting, Å.K., O'Malley, E., Herrmann, J., and Escher, B I. 2015. Behaviour of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in the presence of wastewater-derived organic matter and implications for algal toxicity. *Environmental Science: Nano*, 2(1); 86-93.
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L. and Li, N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761); 622-627
- Newman, M., and Zhao, Y. 2008. The process of enterprise resource planning implementation and business process re- engineering: tales from two Chinese small and medium- sized enterprises. *Information Systems Journal*, 18(4); 405-426.
- Ngayila, N., Basly, J.P., Lejeune, A.H., Botineau, M. and Baudu, M. 2007. *Myriophyllum alterniflorum* DC., biomonitor of metal pollution and water quality. Sorption/accumulation capacities and photosynthetic pigments composition changes after copper and cadmium exposure. *Science of the Total Environment*, 373(2-3); 564-571.
- Nourbakhsh, M., Sag, Y., Ozer, D., Aksu, Z., Katsal, T., Calgar, A. 1994. A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(vi) ions from industrial waste water. *Process Biochemistry*, 29; 1-5.
- Nowack, B., and Bucheli, T.D. 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*, 150(1); 5-22.
- Oberdorster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castronova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K. and Olin, S. (2005a). ILSI Research Foundation: Principles for characterising the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol*, 2(8).

- Oberdörster, G., Oberdörster, E. and Oberdörster, J. (2005b). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental health perspectives*, 113(7); 823-839.
- Odzak, N., Kistler, D., Behra, R. and Sigg, L. 2014. Dissolution of metal and metal oxide nanoparticles in aqueous media. *Environmental Pollution*, 191; 132-138.
- Omar Zaki, S.S., Ibrahim, M.N., and Katas, H. 2015. Particle size affects concentration-dependent cytotoxicity of chitosan nanoparticles towards mouse hematopoietic stem cells. *Journal of Nanotechnology*, 1-5.
- Osmond, M.J., and McCall, M.J. 2010. Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. *Nanotoxicology*, 4(1); 15-41.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Samadani, M. and Dewez, D. 2015. Toxic effects of nickel oxide bulk and nanoparticles on the aquatic plant *Lemna gibba* L. *BioMed Research International*.
- Paynton, H.C., Lazorchak, J.M., Impellitteri, C.A., Smith, M.E., Rogers, K., Patra, M., Hammer, K.A., Allen, H.J., Vulpe, C.D. 2011. Differential gene expression in *Daphnia magna* suggests distinct models of action and bioavailability for ZnO nanoparticles and Zn ions. *Environmental Science Technology* 45F;762-768.
- Peralta-Videa, J.R., Zhao, L., Lopez-Moreno, M.L., de la Rosa, G., Hong, J., and Gardea-Torresdey, J.L. 2011. Nanomaterials and the environment: a review for the biennium. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1); 1-15.
- Perreault, F., Oukarroum, A., Melegari, S.P., Matias, W.G., & Popovic, R. 2012. Polymer coating of copper oxide nanoparticles increases nanoparticles uptake and toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Chemosphere*, 87(11); 1388-1394.
- Perreault, F., Popovic, R. and Dewez, D. 2014. Different toxicity mechanisms between bare and polymer-coated copper oxide nanoparticles in *Lemna gibba*. *Environmental Pollution*, 185; 219-227.
- Petrescu, D.S., and Blum, A.S. 2018. Viral- based nanomaterials for plasmonic and photonic materials and devices. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 10(4); 1508.
- Powers, K.W., Brown, S.C., Krishna, V.B., Wasdo, S.C., Moudgil, B.M. and Roberts, S.M. 2006. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicological Sciences*, 90(2); 296-303.
- Poynton, H.C., Lazorchak, J.M., Impellitteri, C.A., Smith, M.E., Rogers, K., Patra, M., and Vulpe, C.D. 2011. Differential gene expression in *Daphnia magna*

suggests distinct modes of action and bioavailability for ZnO nanoparticles and Zn ions. *Environmental Science & Technology*, 45(2); 762-768.

- Prasad, A.S., Bao, B., Beck, F.W. and Sarkar, F.H. 2001. Zinc activates NF- $\kappa$ B in HUT-78 cells. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 138(4); 250-256.
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*, 35(6); 905-927.
- Pu, Y., Tang, F., Adam, P.M., Laratte, B. and Ionescu, R.E. 2016. Fate and characterization factors of nanoparticles in seventeen subcontinental freshwaters: a case study on copper nanoparticles. *Environmental science & technology*, 50(17); 9370-9379.
- Rai, M. and Biswas, J.K. 2018. *Nanomaterials: ecotoxicity, safety, and public perception*. Springer International Publishing.
- Rai, M., and Biswas, J.K. 2018. *Nanomaterials: ecotoxicity, safety, and public perception*. Springer International Publishing.
- Raliya, R. and Tarafdar, J.C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research*, 2(1); 48-57.
- Ramesh, P., Rajendran, A. and Meenakshisundaram, M. 2014. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract *Cassia auriculata*. *Journal of NanoScience and NanoTechnology*, 2(1); 41-45.
- Rana, S., and Kalaichelvan, P.T. 2013. Ecotoxicity of nanoparticles. *ISRN Toxicology*. 1-11.
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H.M., He, X., Mbarki, S., and Brestic, M. 2017. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in chemistry*, 5; 78-92.
- Regier, N., Cosio, C., Von Moos, N. and Slaveykova, V.I. 2015. Effects of copper-oxide nanoparticles, dissolved copper and ultraviolet radiation on copper bioaccumulation, photosynthesis and oxidative stress in the aquatic macrophyte *Elodea nuttallii*. *Chemosphere*, 128; 56-61.
- SCENHIR 2007 Opinion on: the scientific aspects of the existing and proposed definition relating to products of nanoscience and nanotechnologies. In: Brussels: European commission health and consumer protection directorate general.
- Schreiber, R., Harguinteguy, C.A. and Manetti, M.D. 2013. Dynamics of organochlorine contaminants in surface water and in *Myriophyllum aquaticum* plants of the River Xanaes in Central Argentina during the

- annual dry season. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 65(3); 466-473.
- Selck, H., Handy, R.D., Fernandes, T.F., Klaine, S.J. and Petersen, E.J. 2016. Nanomaterials in the aquatic environment: A European Union–United States perspective on the status of ecotoxicity testing, research priorities, and challenges ahead. Environmental Toxicology and Chemistry, 35(5); 1055-1067.
- Šeršeň, F., Král'ová, K. and Bumbalova, A. 1998. Action of mercury on the photosynthetic apparatus of spinach chloroplasts. Photosynthetica, 35(4); 551-559.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S.K. and Poinern, G.E.J. 2015. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. Materials, 8(11); 7278-7308.
- Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera H., and Avudainayagam, S. 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International, 31; 739-753.
- Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. 2005. Chromium toxicity in plants. Environment International, 31(5); 739-753.
- Sheoran, V., Sheoran, A.S. and Poonia, P. 2010. Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 41(2); 168-214.
- Shi, J., Abid, A.D., Kennedy, I.M., Hristova, K.R. and Silk, W.K. 2011. To duckweeds (*Landoltia punctata*), nanoparticulate copper oxide is more inhibitory than the soluble copper in the bulk solution. Environmental Pollution, 159(5); 1277-1282.
- Siedlecka, A., Krupa, Z., Samuelsson, G., Oquist, G. and Gardeström, P. 1997. Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fe interaction. Plant Physiology And Biochemistry, 35(12); 951-957.
- Singh, A., Singh, N.Á., Afzal, S., Singh, T., and Hussain, I. 2018. Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. Journal of Materials Science, 53(1); 185-201.
- Singh, A.K., Meena, M.K., Bharati, R.C. and Gade, R.M. 2013. Effect of sulphur and zinc management on yield, nutrient uptake, changes in soil fertility and economics in rice (*Oryza sativa*) lentil (*Lens culinaris*) cropping system. Indian Journal of Agricultural Sciences, 83(3); 344-348.
- 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.

- Sricoth, T., Meeinkuirt, W., Pichtel, J., Taeprayoon, P. and Saengwilai, P. 2018. Synergistic phytoremediation of wastewater by two aquatic plants (*Typha angustifolia* and *Eichhornia crassipes*) and potential as biomass fuel. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(6); 5344-5358.
- Subhashini, V., Swamy, A.V.V.S., Hema, K.R., 2013. Phytoremediation: Emerging and green technology for the uptake of cadmium from the contaminated soil by plant species. *International Journal of Environmental Sciences*, 4(2); 193-204.
- Tanhan, P., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P. and Chaiyarat, R. (2007). Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson]. *Chemosphere*, 68(2); 323-329.
- The Nanodatabase (2018). <http://nanodb.dk>
- Thwala, M., Klaine, S.J., and Musee, N. 2016. Interactions of metal- based engineered nanoparticles with aquatic higher plants: A review of the state of current knowledge. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(7); 1677-1694.
- Torbati, S., Khataee, A. and Saadi, S. 2017. Comparative phytotoxicity of undoped and Er-doped ZnO nanoparticles on *Lemna minor* L.: changes in plant physiological responses. *Turkish Journal of Biology*, 41(4); 575-586.
- Uikey, P. and Vishwakarma, K. 2016. Review of zinc oxide (ZnO) nanoparticles applications and properties. *International Journal of Emerging Technology in Computer Science & Electronics*, 21(2); 239-281.
- Üçüncü, E., Özkan, A.D., Kurşungöz, C., Ülger, Z.E., Ölmez, T.T., Tekinay, T. and Tunca, E. 2014. Effects of laser ablated silver nanoparticles on *Lemna minor*. *Chemosphere*, 108; 251-257.
- Vance, M.E., and Marr, L.C. 2015. Exposure to airborne engineered nanoparticles in the indoor environment. *Atmospheric Environment*. 106; 503-509.
- Vance, M.E., Kuiken, T., Vejerano, E.P., McGinnis, S.P., Hochella Jr, M.F., Rejeski, D. and Hull, M.S. 2015. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6(1); 1769-1780.
- Vasavi, A., Usha, R., and Swamy, P. M. 2010. Phytoremediation an overview review. *Journal of Industrial Pollution Control*, 26(1); 83-88.
- Verwey, E.J.W. 1947. Theory of the stability of lyophobic colloids. *The Journal of Physical Chemistry*, 51(3); 631-636.
- Verwey, E.J.W., and Overbeek, J.T.G. 1955. Theory of the stability of lyophobic colloids. *Journal of Colloid Science*, 10(2); 224-225.

- Vevers, W.F. and Jha, A.N. 2008. Genotoxic and cytotoxic potential of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles on fish cells in vitro. *Ecotoxicology*, 17(5); 410-420.
- Vijayaraghavan, K., and Balasubramanian, R. 2015. Is biosorption suitable for decontamination of metal bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption processes and future directions. *Journal of environmental management*, 160, 283-296.
- Wang, C.B. and Zhang, W.X. 1997. Synthesizing nanoscale iron particles for rapid and complete dechlorination of TCE and PCBs. *Environmental Science & Technology*, 31(7); 2154-2156.
- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C. and Wang, S. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 6; 1243.
- Whitfield, P. and Mitchell, L. 2004. X-ray diffraction analysis of nanoparticles: Recent developments, potential problems and some solutions. *International Journal of Nanoscience*, 3(06); 757-763.
- Wiesner, M.R., Lowry, G.V., Alvarez, P., Dionysiou, D. and Biswas, P. 2006. Assessing the risks of manufactured nanomaterials.
- Yarrow, M., Marin, V.H., Finlayson, M., Tironi, A., Delgado, L.E. and Fischer, F. 2009. The ecology of *Egeria densa* Planchon (Liliopsida: Alismatales): A wetland ecosystem engineer?. *Revista Chilena de Historia Natural*, 82(2); 299-313.
- Zhang, D., Hua, T., Xiao, F., Chen, C., Gersberg, R.M., Liu, Y. and Tan, S. K. 2015. Phytotoxicity and bioaccumulation of ZnO nanoparticles in *Schoenoplectus tabernaemontani*. *Chemosphere*, 120; 211-219.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilara DİLBAZ  
Doğum Yeri : Keçiören/ANKARA  
Doğum Tarihi : 03.11.1996  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dil: İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Gülveren Anadolu Lisesi (2014)  
Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2018)  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı  
(Aralık 2020)

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

-

### Uluslararası Kongre Sunum (Sunum tarihleri dikkate alınmalıdır)

Poster sunumu: Ergönül M.B., Nassouhi D., Yurdakul Y., **Dilbaz D.** 2019. The comparison of ZnO nanoparticle removal by *Myriophyllum spicatum* in tap and pond water. 2nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2019). June 28-29th. Ankara, Turkey.