

**FARKLI ÜRETİM ÖZELLİĞİNE SAHİP
NANOMALZEMELERİN BİTKİLER ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Özgür Nazıkcın
Yüksek Lisans Tezi

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı / Nanoteknoloji Bölümü
Şubat 2015

**Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1110F160.**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özgür Nazıkcın'ın "Farklı Üretim Özelliğine Sahip Nanomalzemelerin Bitkiler Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Nanoteknoloji Bölümü'ndeki, Yüksek Lisans Tezi 12.02.2015 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı		İmza
Üye (Tez Danışmanı) :	Prof. Dr. Ali Savaş KOPARAL
Üye	: Yard. Doç. Dr. Filiz BAYRAKÇI KAREL
Üye	: Yard. Doç. Dr. Belgin KARABACAĞLU

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI ÜRETİM ÖZELLİĞİNE SAHİP NANOMALZEMELERİN BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Özgür NAZİKCAN

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

İleri Teknolojiler Anabilim Dalı / Nanoteknoloji Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Ali Savaş KOPARAL

2015, 110 sayfa

Üretim miktarı gün geçtikçe artan ve ürün çeşitliliği hızla gelişen nanomalzemelerin çevrede oluşturdukları toksik etkilerinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalarının sayısı ve çeşitliliği de gün geçtikçe artmaktadır. Ancak nanoteknoloji kullanılarak elde edilen ürünlerin sayısı ve çeşitliliğine bakıldığında, bu yeni teknoloji ile elde edilen ürünlerin toksisite çalışmalarının niteliği ve niceliğinin yeterliliği tartışma konusudur.

Bu tez çalışmasında kullanımı hızla artan ve yaygınlaşan metal oksit nanopartiküllerinin, çevreye olan salınımları sonucu insan sağlığı ve çevre üzerinde oluşturabilecekleri olumsuz etkilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Farklı üretim yöntemleri kullanılarak elde edilen, TiO_2 ve ZnO nanomalzemeleri farklı konsantrasyonlarla besin çözeltilisi, su ve toprak ortamlarına uygulayarak, çeşitli zirai bitkilerin tohumlarının çimlendirmesi ve bitki gelişme üzerine etkileri, bitkilerin kök, sürgün ve yaprak gibi bölümlerinin morfolojik ve fizyolojik değişim farklılıkları ile değerlendirilmiştir. Bununla beraber, USEPA'nın önermiş olduğu numune hazırlama yöntemi izlenerek hazırlanan bitki ve toprak örnekleri, ICP-OES cihazı ile ağır metal iyonu birikimleri ve birikim farklılıkları ortaya konulmuştur. Sonuçlar ZnO nanopartiküllerine maruz kalan bitkilerin, doz artışı ile özellikle kök bölümlerindeki çinko iyonu birikimlerinin arttığını, buna bağlı olarak da bitki gelişimini inhibe ederek, toksik etkiler oluştuğunu göstermektedir. Bununla beraber TiO_2 nanopartikülleri ile oluşan maruziyetler için belirli bir negatif veya toksik etkiye rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışma ile ZnO ve TiO_2 nanomalzemelerinin zirai bitkilerin çimlenme ve gelişimi sürecine etkileri değerlendirilmiş olup, patentli MicNo[®] üretim teknolojisinin hali hazırda satışı gerçekleştirilen ticari nanomalzemelere göre oluşturduğu farklılıklar ve üstünlükler ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: ZnO , TiO_2 , Nanopartikül/Nanomalzeme, MicNo[®] üretim teknolojisi, ICP-OES, Biyobirikim, Nanotoksikoloji.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF EFFECTS OF NANOMATERIALS WHICH HAVE PRODUCED BY DIFFERENT METHODS ON PLANT DEVELOPMENT

Özgür NAZİKCAN

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Department of Advanced Technologies/ Nanotechnology Program

Supervisor: Prof. Dr. Ali Savaş KOPARAL
2015, 110 pages

As the days goes on, increasing the amount of production and manufacturing diversity rapidly growing nanomaterials and there is also that the number and variety of works related to the evaluation of the toxicity of nanoparticles in the environment. However, when we look at the numbers and variety of products obtained by using nanotechnology, the products obtained with this new technology's of toxicity studies' qualities and quantities adequacy is controversial.

In this study, the use of metal oxide(s) nanoparticles which are rapidly growing and expanding, as a result of environmental release of nanoparticles aimed to evaluate the negative effects on human health and the environment. By applying to nutrient solution, water and soil media with different concentrations of TiO₂ and ZnO nanomaterials which are obtained using different production methods. Afterwards, the effects on germination of seeds of various agricultural crops in these environments and effects on the development of plant's parts such as roots, stems and leaves are evaluated by morphological and physiological changes. Also, following the method of USEPA was used for prepared to plant and soil samples. After than heavy metal ion deposition of prepared samples were analyzed and presented differentiation of deposition by using ICP-OES. When the results were analyzed, exposed ZnO nanoparticles to the plants, with the increase of zinc ion doses, an especially accumulation in the root's portion. Accordingly, the plant growth by inhibiting showed that toxic effects occurred. However, for exposure formed by the TiO₂ nanoparticles have not been detected a given negative or toxic effects.

In this study, effects of ZnO and TiO₂ nanomaterials on agricultural crops' germination and development processes are evaluated. Accordingly, the patented production technology MicNo[®] products' and already realized sales of commercial products' effects have been evaluated and results showed that the differences and advantages of MicNo[®] production technology.

Keywords: ZnO, TiO₂, Nanoparticles/Nanomaterials, MicNo[®] production technology, ICP-OES, Bioaccumulation, Nanotoxicology.

TEŞEKKÜR

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Nanoteknoloji Bölümü'ndeki yüksek lisans eğitimim süresince ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan, bilgi, beceri ve insanlığıyla her daim örnek alacağım değerli hocam Prof. Dr. Ali Savaş Koparal'a,

Çalışmalarımın bütün aşamalarında değerli görüş ve yardımları ile bana yol gösteren ve kendisi ile disiplinler arası bir araştırma ortamında çalışma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Ender Suvacı'a,

Yüksek lisans eğitimimim sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Anadolu Üniversitesi öğretim üyelerinden, değerli hocalarım Yard. Doç. Dr. Filiz Bayrakçı Karel'e ve Öğr. Gör. Dr. Emine Esra Gerek'e,

Araştırmalarımın bütün aşamalarında laboratuvar imkanlarını sonuna kadar kullanmamı sağlayan Anadolu Üniversitesi, Çevre Sorunları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin bütün değerli öğretim üyelerine ve çalışanlarına,

Çalışmalarıma başladığım ilk günden bugüne kadar yanımda olan değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Elif Kaynak'a, Uzman Biyolog Ümit Yılmaz Yıldız'a, Yüksek Mühendis Tuğçe Demirel'e ve Yüksek Mühendis Seval Yılmaz'a,

Çalışmalarıma olan yardımları ile bana büyük katkıda bulunan ve her zaman destekleyen arkadaşlarım, Yüksek Mühendis Yiğitalp Okumuş'a, Yüksek Mühendis Yasemin Aksöz'e, Yüksek Mühendis Uğur Can Özöğüt'e, Malzeme Bilimi ve Mühendisi arkadaşlarım Ayşegül Tuna'a, Burcu Ceren Dabak'a ve Ozan Uylaş'a, Ziraat Yüksek Mühendisi ve Biyolog Serhan Karakaş'a,

Tez çalışmama yapmış olduğu finansal destek için Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Sevgi ve desteklerini hayatım boyunca benden esirgemeyen canım aileme,
En içten teşekkürlerimi sunarım.

Özgür Nazıkcın

Şubat/ 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. NANOTEKNOLOJİ VE NANOTOKSİKOLOJİ.....	7
2.1. Nanoteknoloji Alanındaki Son Gelişmeler ve Nanoteknolojinin Geleceği.....	7
2.2. Nanoteknoloji Çalışmalarında Kullanılan Üretim Yöntemleri.....	10
2.3. Nanotoksikoloji Alanında Gerçekleştirilen Çalışmalar	12
2.3.1. Nanomalzemelerin canlıların yaşamı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar.....	15
2.3.2. Nanomalzemelerin ekotoksisitesi ve fitotoksisitesi ile ilgili çalışmalar	21
3. NANOMALZEMELERİN ÖZELLİKLERİ	39
3.1. Çinko Oksit Nanomalzemeleri	39
3.1.1. Ticari çinko oksit nanomalzemeleri.....	40
3.1.2. Patentli çinko oksit (MicNo-Z [®]) nanomalzemelerin üretimi.....	40
3.2. Titanyum dioksit Nanomalzemeleri	42
3.2.1. Ticari titanyum dioksit nanomalzemeleri.....	43
3.2.2. Patentli titanyum dioksit (MicNo-T [®]) nanomalzemelerin üretimi.....	43
3.3. Nanomalzemelerin Karakterizasyonu ve Özelliklerinin Karşılaştırması.....	44
4. MATERYAL VE YÖNTEM	57
4.1. Nanomalzeme ve Bitki Etkileşim Çalışmaları.....	58
4.1.1. Farklı ortamlarda bitki çimlendirme ve kısa süreli etki inceleme çalışmaları	58
4.2. Bitki ve Toprak Numunelerinin Ağır Metal İçeriği Değerlendirme Çalışmaları...61	
5. DENEYSSEL ÇALIŞMA VERİLERİ	64
5.1. Bitki Kök Uzunlukları Çalışma Verileri	68

5.2. Bitkilerde Oluşan Ağır Metal Birikimi Değerlendirme Çalışma Verileri.....	71
6. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI	83
6.1. Bitki Kök Uzanımları Çalışma Sonuçları	83
6.2. Bitkilerde Oluşan Ağır Metal Birikimi Değerlendirme Çalışması Sonuçları.....	87
7. TARTIŞMA VE ÖNERİLER	93
KAYNAKLAR	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1. ZnO nanopartikülleri, ve. diğer metal ve metal oksit nanopartiküllerinin canlı hücreleri ile olan etkileşimi [Hackenberg ve ark., 2011b].....16
- Şekil 2.2. Bir nanomalzemenin toprak ortamına salınımı sonucunda (muhtemel) izleyeceği rotaların değerlendirilmesi. [Klaine ve ark., 2008].....37
- Şekil 3.1. Termogravimetrik (TG) analiz tekniği ile solvotermal yöntemle sentezlenen tozlara ait sıcaklığa bağlı ağırlık kaybı grafiği... 41
- Şekil 3.2. Ticari ZnO (soldaki) ve Ticari TiO₂ (sağdaki) nanopartiküllere ait SEM görüntüleri.....46
- Şekil 3.3. Solvotermal sentez yöntem ile üretilen TiO₂ tozlarının kalsinasyon öncesi a) 2,000 büyütmede, b) 10,000 büyütmede, ve kalsinasyon sonrası elde edilen anataz formundaki TiO₂ tozların c) 1,500 büyütmede, d) 15,000 büyütmedeki SEM görüntüleri.....47
- Şekil 3.4.. Solvotermal sentez ile elde edilen TiO₂ (kalsinasyon öncesi) tozların a) 6,000 büyütmede, b) 10,000 büyütmede, ve kalsinasyon sonrası elde edilen MicNo-T[®] tozların c) 2,000 büyütmede, d) 7,000 büyütmedeki SEM görüntüleri.....48
- Şekil 3.5. Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen hegzagonal plaka şekilli (MicNo[®]-Z) ZnO tozların a) kalsinasyon öncesi ve b) kalsinasyon sonrası SEM görüntüleri.....49
- Şekil 3.6. Ticari ZnO (üsteki) ve Ticari TiO₂ (alttaki) nanopartiküllerin XRD grafikleri.....50
- Şekil 3.7. TiO₂ nanopartiküllerinin referans anataz ve rutil verilerine göre Rietveld metodu ile fit dilmiş XRD grafikleri.....51
- Şekil 3.8. Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen tozların XRD grafiği...53
- Şekil 3.9. Solvotermal sentez sonucu elde edilen titanyum gliserin kompleksi partiküllerinin 500°C’de 5 saat süreyle kalsine edilmesinden sonra elde edilen tozlara ait XRD grafiği.....54

Şekil 3.10. (a) Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen (10°-60° arası) ve (b) ardından bu tozların kalsine edilmesiyle elde edilen tozlara ait (30°-70° arası) XRD grafikleri.....	55
Şekil 5.1. Çalışmada kullanılan farklı bitki tohumlarının nanopartikül maruziyeti öncesi ihtiva ettikleri Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal içerikleri, (mg/kg).....	65
Şekil 5.2. ZnO nanopartiküllerinin 50 mg/l’de süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.....	66
Şekil 5.3. ZnO nanopartiküllerinin 200 mg/l’de süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.....	67
Şekil 5.4. ZnO nanopartiküllerinin 400 mg/l’de, süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.....	67
Şekil 5.5. 400 ppm seviyesinde Ticari TiO ₂ (sağdaki) ve MicNo-T [®] (soldaki) nanopartiküllerinin süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.....	68
Şekil 5.6. 4000 ppm seviyesinde Ticari TiO ₂ (sağdaki) ve MicNo-T [®] (soldaki) nanopartiküllerinin süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.....	68
Şekil 5.7. MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları..	69
Şekil 5.8. Ticari ZnO nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.	69
Şekil 5.9. Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları..	70
Şekil 5.10. MicNo-T [®] nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.	70
Şekil 5.11.(a) MicNo [®] -Z nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi.....	71
Şekil 5.11.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi.....	71
Şekil 5.12.(a). MicNo-T [®] nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonubirikimi değişimi.....	72
Şekil 5.12.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi.....	72
Şekil 5.13.(a). MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonubirikimi değişimi.....	73

Şekil 5.13.(b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	73
Şekil 5.14. (a). MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	74
Şekil 5.14. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonubirikimi değişimi.....	74
Şekil 5.15. (a). MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	75
Şekil 5.15. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	75
Şekil 5.16. (a). MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonubirikimi değişimi.....	76
Şekil 5.16. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	76
Şekil 5.17. (a). MicNo-Z [®] nanopartiküllerinin tere bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	77
Şekil 5.17. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin tere bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.....	77
Şekil 5.18.(a). MicNo-T [®] nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	78
Şekil 5.18.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	78
Şekil 5.19.(a). MicNo-T [®] nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	79
Şekil 5.19.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	79
Şekil 5.20. (a). MicNo-T [®] nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonubirikimi değişimi.....	80
Şekil 5.20.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	80
Şekil 5.21. (a). MicNo-T [®] nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	81

Şekil 5.21.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	81
Şekil 5.22. (a). MicNo-T [®] nanopartiküllerinin salatalık bitkisi kök bölümlerinde oluşturduğu Tiyonu birikimi değişimi.....	82
Şekil 5.22.(b). Ticari TiO ₂ nanopartiküllerinin salatalık bitkisi kök bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çeşitli bitkiler ile TiO ₂ nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.	30
Çizelge 2.2. Çeşitli bitkiler ile Zn ve ZnO ağır metal ve nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.	31
Çizelge 2.3. Çeşitli bitkiler ile farklı metal ve metal oksit nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.	32
Çizelge 2.4. Çeşitli bitkiler ile piyasada yer alan (diğer) farklı nanopartiküllerin maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.	33
Çizelge 3.1. Ticari ZnO nanopartikülü XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri.	52
Çizelge 3.2. Ticari TiO ₂ nanopartikülü XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri.	53
Çizelge 5.1. Şebeke, saf ve ultra saf sularının pH değerleri ve içerdikleri Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonları içeriklerinin ortalama değerleri (ppm).	64
Çizelge 5.2. Kullanılan toprağın fizikokimyasal özellikleri.	64
Çizelge 5.3. 2012 yılının ilk on ayında yapılan çalışmalarda kullanılan toprağı içeriğinin ortalama B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyon miktarları, (ppm).	65
Çizelge 5.4. 2013 ve 2014 yılları arasında yapılan çalışmalarda kullanılan toprağı içeriğinin ortalama Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonları içerikleri, (ppm).	65
Çizelge 5.5. Saf su, şebek suyu, toprak çözeltisi ve Hougland besin çözeltisi içerisinde nanopartiküllerin dağılımları ile ortaya çıkan zeta potansiyeli değerleri (mV) değişimleri.	66
Çizelge 5.6. Parçacıkların sahip oldukları Zeta potansiyeli (mV) değerine bağlı olarak göstermiş oldukları stabilite davranışları.	66
Çizelge 5.7. Hougland besin çözeltisi ortamında gerçekleştirilen tohum çimlenmesi sonucu elde edilen kök uzanım değerleri ve bağıl kök uzanım yüzdeleri.	69

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu\text{g/ml}$: Mikrogram/mililitre
μM	: Mikro molar
A.B.D.	: Amerika Birleşik Devletleri
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
AFM	: Atomic Force Microscopy (Atomik Kuvvet Mikroskopisi)
Ag	: Gümüş iyonu veya elementi
Al_2O_3	: Alüminyum oksit (Alumina) molekülü
As	: Arsenik elementi
Ba	: Baryum elementi
BET	: Brunauer-Emmett-Teller (BET) metodu, Spesifik yüzey alanı ölçüm cihazı
$\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$: Gliserin
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: Kalsiyum Klorür, Dihidrat
CaCO_3	: Kalsiyum karbonat
Cd	: Kadmiyum elementi
CdSe	: Kadmiyum Selenid
CeO_2	: Seryum oksit
cm	: Santimetre
Co	: Kobalt iyonu veya elementi
Co_3O_4	: Trikobalt tetraoksit
Cr	: Krom iyonu veya elementi
Cu	: Bakır iyonu veya elementi
CuO	: Bakır oksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Dr.	: Doktor unvanının kısaltması
E.F.S.A.	: Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi
EC_{50}	: Maksimum etkinin %50'sini oluşturan madde konsantrasyonu
EPA	: Environmental Protection Agency (Çevre Koruma Ajansı)
ETAAS	: Elektro ısı atomik absorpsiyon spektroskopisi
F.D.A.	: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Kurulu
Fe	: Demir iyonu veya elementi
Fe/Co	: Demir/kobalt
Fe_2O_3	: Demir (III) oksit
Fe_3O_4	: Demir (II,III) oksit
FeO	: Demir oksit
FTIR	: Fourier dönüşümü infrared spektroskopisi
g	: Gram
g/cm^3	: Gram/santimetreküp yoğunluk birimi
g/kg	: Gram/kilogram

H ⁺	: Hidrojen iyonu
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
H ₃ O ⁺	: Hidronyum iyonu
HCl	: Hidroklorik asit
HClO ₄	: Perklorik asit
HCO ⁻³	: Bikarbonat iyonu
HNO ₃	: Nitrik asit
IBM	: International Business Machines
ICP	: Inductively Coupled Plasma (İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma)
ICP-OES	: Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (İndüktif olarak Eşleşmiş Plazma – Optik Emisyon Spektrometri yöntemi)
IPCS	: International Programme on Chemical Safety (Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı)
JECFA	: Gıda Katkı Maddesi Uzman Komitesi
K	: Potasyum elementi
KBr	: Potasyum bromür
kg	: Kilogram
KH ₂ PO ₄	: Monopotasyum fosfat
KNO ₃	: Potasyum nitrat
KOH	: Potasyum hidroksit
m	: Metre
Mg	: Magnezyum iyonu veya elementi
mg/kg	: Miligram/kilogram
mg/l	: Miligram/litre
MgSO ₄ .7H ₂ O	: Magnezyum sülfat
MicNo [®]	: Mikron boyutlu nano primer taneciklerden oluşan patentli nanomalzeme üretim teknolojisi
MicNo-T [®]	: MicNo [®] teknolojisi ile üretilmiş TiO ₂ nanomalzemeleri
MicNo-Z [®]	: MicNo [®] teknolojisi ile üretilmiş ZnO nanomalzemeleri
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
Mn ₂ O ₃	: Manganez(III)oksit
Mo	: Mobilden
N ₂	: Azot molekülü
Ni	: Nikel elementi
NiO	: Nikel oksit
nm	: Nanometre
OECD	: (Organisation for Economic Co-operation and Development) veya Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü)
OH	: Hidroksil iyonu

Pb	: Kurşun elementi
Pd	: Paladyum elementi
ppm	: Parts per million (milyonda bir birim ifadesi)
QD	: Kuantum dot (nokta)
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)
Sb	: Antimon elementi
SCENIHR	: Yeni Ortaya Çıkmakta Olan Sağlık Riskleri Bilimsel Komitesi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SiO ₂	: Silisyum oksit
Sn	: Kalay elementi
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
TEM-EDS	: Transmission Electron Microscope Energy Dispersive Spectroscopy
TG	: Termogravimetrik analizi
TG/DTA	: Termogravimetrik ve diferansiyel termal analizi
Ti	: Titanyum elementi
TiO ₂	: Titanyum dioksit
TiOSO ₄ xH ₂ O	: Titanyum oksisülfat hidrat
TiSiO ₄	: Titanyum silikat
TTM	: Taramalı Tünelleme Mikroskobu
UNEP	: (United Nations Environment Programme) Birleşmiş Milletler Çevre Programı
USEPA	: United State Environmental Protection Agency (Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı)
UV	: Ultraviyole
V	: Vanadyum elementi
vb.	: ve benzeri
X K	: X Kelvin sıcaklığı
X M	: X molariteye sahip çözelti
X°C	: X derece santigrat
XRD	: X-ışını difraktometresi
XRF	: X-ışını floresans tekniği
Zn	: Çinko elementi veya iyonu
ZnCl ₂	: Çinko klorür
ZnO	: Çinko oksit
ZnS	: Çinko sülfür
ZnSO ₄	: Çinko sülfat
ZnSO ₄ .7H ₂ O	: Çinko sülfat heptahidrat
ZrO ₂	: Zirkonyum dioksit

1. GİRİŞ

Günlük yaşantımızın neredeyse her alanında nanoteknoloji kullanılarak elde edilen ürün ve cihazların sayısı hızla artmaktadır. İçinde bulunduğumuz yirmi birinci yüzyılın sağlıktan tekstile, savunma sanayinden enerjiye varana kadar birçok endüstriyel alanında, nanoteknoloji kullanılarak elde edilen yeni ürünler büyük bir ilgi ve merakla eski teknolojilerin yerini almaktadır.

Dünya devi ülkelerin hükümetlerinin geleceğin anahtarı olarak gördükleri, yaptıkları çağrılar ile yatırımcıların dikkatini çekerek ve bütçelerinden hatırı sayılır payları nanoteknoloji ile ilgili çalışmalara ayırarak desteklemeleri, bu yeni teknoloji ile yeni bir endüstriyel devrimin yaşanıyor olduğunun işaretidir. Buna ek olarak piyasada söz sahibi çeşitli endüstri devi firmaların çağa ayak uydurarak, yeni satış stratejilerinde nanoteknoloji önemli bir yere sahip olacağı son yıllarda çıkan ürün ve teknolojik gelişmelerle ortadadır.

Bir malzemenin veya partikülün nano boyuta sahip olduğunu, belirtilen yapının en az bir boyutunun 1 ila 100 nanometre (10^{-9} m) (nm) aralığa sahip bir ölçekte olması ile sağlanabileceği ve ancak bu sayede nano malzemedен söz edilebileceği, Britanya Standartlar Enstitüsü (2007), Amerikan Test ve Malzeme Kurumu (2006) ve Avrupa Komisyonu Yeni Tespit Edilmiş ve Yeni Ortaya Çıkmakta Olan Sağlık Riskleri Bilimsel Komitesi, (SCENIHR, 2007) gibi önemli ulusal veya uluslararası kurum ve kuruluşların yayınladıkları çalışmalara ile ortaya konulmuştur.

Nanoteknoloji ile 1-100 nm boyutu aralığında atomik, moleküler veya makro moleküler seviyede teknolojik gelişme ve çalışmalar nano boyuta sahip malzemeleri anlamayı sağlayarak, bu boyutta yapıların, cihazların, yeni fonksiyonlara ve özelliklere sahip sistemlerin tasarımını, üretimini, manipülasyonu, karakterizasyonunu, uygulanmasını ve kullanmasını amaçlayan bir disiplindir. Herhangi bir malzemeye yeni, farklı özellikler ve işlevler genellikle 100 nm altı gibi bir kritik boyut ile sağlanabilmektedir. Nanoteknoloji kullanılarak yapılan araştırma ve geliştirme çalışmaları ile büyük malzeme bileşenlerinin, sistemlerinin ve mimarilerinin içine nano yapının entegrasyonu sağlanarak yeni ürün ve sistemler geliştirilmektedir (Dreher, 2004).

Nanoteknolojinin amacı, tıpkı doğanın tüm canlı sistemlerinde olduğu gibi küçük parçaların bir araya gelmesi ile daha büyük yapılara ulaşmasını taklit etmesi ya da diğer bir deyişle atom ve moleküllerin belirli bir düzende bir araya gelme özelliklerinden faydalanarak hiyerarşik ölçülerde bir bütün oluşturması şeklinde tanımlamak mümkündür (Roco, 2003). Nanoteknoloji alanındaki gelişmeler sayesinde biyolojik sistemlerin daha iyi anlaşılması ve dikkatle ele alınmasına olanak sağlayabilecek yeni imkân ve keşifler insanoğluna sunulmaktadır. Buna en güzel örnek olarak, 2002 yılında A.F.M. (Atomik Kuvvet Mikroskopisi) kullanılarak 21 ve 28 nükleotid uzunluğu aralığında Ribonükleik asit (RNA) veya nano-RNA keşfi bilim dünyasında yılın atılımı olarak seçilmesi verilebilir (Couzin, 2002). Bununla birlikte doğal ortamında yaşayan bakteri ve mineral yüzeyler arasındaki yapışma kuvvetlerini nicel ara yüzey olarak ölçebilen biyolojik kuvvet mikroskobu geliştirilmiştir (Roco, 2003).

Nanoteknoloji, biyolojik sistemlerin transformasyonu için yeni çözümler sunmakta ve çeşitli alanlarda uygulamaları için geniş bir teknolojik platform sağlamaktadır. Buna göre; moleküler tıp (hastalıkların teşhisi ve tedavisi, vücut hasarlarının onarılması ya da rejeneratif tıp, nano ölçekli cerrahi işlemler, hedefli ilaçların sentezi), çevrede bulunan nanopartiküllerin sağlığa etkilerinin incelenmesi (nanopartiküllerin neden olduğu ekotoksikoloji), gıda ve tarım ürünlerinin veya sistemlerinin iyileştirilmesi (tarımsal üretimin ve gıda korunmasının artırılması ve yeni gıda ürünleri), insan performansının iyileştirilmesi (duyusal kapasitenin artırılması, beyin ve zihin bağlayan nano-elektronik ve nano yapıları malzemelerin merkezi sinir sistemine entegrasyonu) gibi başlıklar ve alt başlıklar bu yeni ve sürekli gelişen teknolojiye örnek olarak verilebilir. Bu şekilde de nanoteknoloji tek bir branşın veya meslek grubunun özel çalışma konusu olmaktan çıkmakta ve disiplinler arası bir teknoloji olarak değerlendirilmesi gerekmektedir (Roco, 2003; Stampoulis ve ark., 2009).

Gün geçtikçe geliştirilen ve kullanılan farklı üretim teknolojileri ile hayatımızın birçok alanında nanoteknoloji kullanılarak insanlığın hizmetine sunulmuş ürünlere bakıldığında; ilaç, malzeme bilimi, üretim ve çok çeşitli teknolojiler içeren birçok alanda yeni uygulamalarla karşılaşmakta ve endüstriyel nanopartikülleri içeren ürünlerin sayısı hızla artmaktadır.

Metal nanopartiküller başta olmak üzere Buckminster fulleren esaslı karbon nanotüpler ve karbon siyahı geniş çapta kullanılmaktadır. Bu nanopartiküller, kozmetik, boya, dolgu malzemesi, katalizör, yarı iletken teknolojisi, mikroelektronik gereçler ve ilaç taşıyıcı sistemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Gümüş, alüminyum oksit, demir oksit, silika oksit, titanyum oksit ve çinko oksit gibi metal ve metal oksit nanopartikülleri kullanımı da hatırı sayılır ölçüdedir. Nanopartiküllerin farklı tasarım ve sentezi sonucunda farklı fizikokimyasal etkilerin ortaya çıkması ve buna bağlı olarak da farklı biyolojik ve çevresel davranışlar oluşturmalarını doğrudan etkilemektedir (Fent, 2010; Kahru ve Dubourguier, 2010).

Nanoteknolojinin insan ve çevre sağlığı üzerindeki etkileri ile ilgili ilk değerlendirme konferansı Palo Alto, Kaliforniya, A.B.D.'de 1989 yılında gerçekleştirilmiştir (Crandall ve Lewis, 1992). Son yirmi yılla bakıldığında nanoteknoloji kavramı, bilim ve mühendislik alanlarında ortaya çıkan yenilikler ile hızla yaygınlaşmaya başlamıştır. Yapılan bu ilk konferansta nanoteknolojinin kullanımı ile ortaya çıkabilecek riskler ile ilgili ilk endişeler konunun uzmanları tarafında kabaca da olsa dile getirilmiştir. Son yirmi yıl içerisinde sadece nanoteknoloji kavramı ile ilgili değil, aynı zamanda da sürdürülebilirlik kavramı ile ilgili de ilk çalışmalar ortaya çıkmaya başlamış ve zaman içerisinde büyük önem kazanmıştır. Sürdürülebilirlik kavramı ile her hangi bir oluşumun veya işleyişin değerlendirilmesinde, ekonomik anlamda ortaya çıkan tablonun yanı sıra, çevreye olan etkilerin ve nihai sonuçların da işleyişin bir parçası olarak değerlendirilmesi ile günümüz teknolojisinin gelişiminin her aşamasında ekosistem ile uyumlu hale gelmesini sağlamıştır (Opschoor ve Reijnders, 1991; Gilbert, 1996).

Suh ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınlanan derleme çalışmasında hem biyoteknolojinin artan gereksinimini hem de nanotoksikoloji üzerine yapılan çalışmaların önemini değerlendirilmiştir. Nano boyuta sahip malzemeler memeli hücrelerinden 100 ila 10000 kat arasında daha küçük boyutlara sahip olabilir. Kesin verilerle birlikte moleküllerin boyutları, toksisite doz ilişkisi, maruziyet ve metabolik yola bağlı olarak oluşturacakları etkilerin farklılıklar gösterebileceği

için nano boyuta sahip malzemelerin toksik etkilerinin sadece nanopartiküllerden kaynaklı olabileceğinden söz etmek zorlaşmaktadır.

İnsan yaşamında kullanımı hızla yaygınlaşan nanopartiküllerin çevreye salınımlarıyla veya atılmalarıyla oluşturabilecekleri olumsuz etkilerin incelenmesi ve gerekli önlemlerin alınarak insan ve çevre için daha güvenli, ekolojik ve sürdürülebilir bir teknoloji haline gelmesi önem arz etmektedir. Günlük hayatımızda hızla yer alan nanoteknoloji ile ilgili gelişmeleri, sağladığı vazgeçilmesi güç avantajlar ve muhtemel olumsuz etkiler birlikte düşünülmesi ve tüm bu süreç beşikten mezara prensibi ile bir arada değerlendirilmedi. Sürdürülebilir yaklaşımlar ile geliştirilen üretim yöntemleri kullanılarak nanoteknolojinin, insanlığa sunduğu bu yeni avantajlardan vazgeçilmeksizin toksik olmayan, çevreyle dost, ekolojik nano ürünlerin geliştirilmesi, yaygın kullanımının sağlanması ve insanlığın hizmetine sunulması zorunlu hale gelmektedir.

Piyasada satışı devam eden çeşitli nanopartiküllerin çevresel etkilerinin değerlendirilmesi ile ilgili yayınlanan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, yapılan önemli çalışmalarla bu nanopartiküllerin insan sağlığı üzerindeki doğrudan veya dolaylı etkilerinin değerlendirilmesini içerdiği görülmektedir. Buna göre de çalışmaları yaklaşım olarak ikiye ayırdığımızda, ilkinin çeşitli model insan veya hayvan hücreleri ile kontrollü deneyler şeklinde diğerinin ise doğrudan vaka çalışmaları üzerinden gerçekleştirildiği görülmektedir. Bu çalışmaları destekler nitelikte olan ve ekosistemde yaşayan diğer canlılar üzerindeki nanopartiküllerin etkilerinin değerlendirmesi kapsamında yayınlanan çalışmalarda ise, genellikle su ve toprak sistemlerinde yaşayan çeşitli tek hücreli veya daha gelişmiş canlılar ile *in vitro* (yapay ortamda) ve *in vivo* (canlı ortamında) çalışmaların gerçekleştirildiği görülmektedir.

Ancak ekosistemin ve besin zincirinin temel taşlarından olan bitkiler ile yapılan nanopartiküllerin etki değerlendirmesi çalışmalarının konusu, içeriği ve sayısı ile ilgili literatürde eksiklikler veya üretim hızına karşı bu konuya ilginin diğer canlılar ile yapılan çalışmalara nazaran göreceli olarak yetersizliği tıpkı bu yüksek lisans çalışmasında da olduğu gibi yayınlanan çalışmaların ve bildirimlerin çıkış noktasını oluşturmaktadır.

Piyasada bulunan ve sayıları gün geçtikçe katlanarak artan nanopartikülleri içeren ürünlerin kullanımı sonucu, doğaya salınımları kaçınılmaz bir hal almaktadır. Buna bağlı olarak da farklı yollar izleyerek ekosistemine dahil olması ve besin zincirine katılması ile ortaya çıkan tablonun geleceği ve akıbeti, gezegenimizde yaşayan tüm canlılar için önemli bir hal almaktadır.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında hali hazırda ticari satışı devam eden titanyum dioksit (TiO_2) ve çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri ve mikron boyutlu nano primer taneciklerden oluşan patentli ürünler olan titanyum dioksit (MicNo-T[®]) ve çinko oksit (MicNo-Z[®]) nanopartiküllerinin toz formlarının bitkilerin gelişimi üzerindeki etkileri değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Farklı üretim yöntemleri kullanılarak elde edilen ZnO nanopartikülleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda 0 ila 4000 ppm (part per million) değerlerinde değişen dozlar ile su, Houglan besin çözeltisi ve toprak ortamlarında bitki tohumlarının çimlenmesi ve gelişmesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bununla beraber farklı üretim yöntemleri kullanılarak elde edilen TiO_2 nanopartikülleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda aynı yöntem ile 0 ila 10000 ppm ile değişen dozlarda su ve toprak ortamlarında çeşitli bitki tohumlarının çimlenmesi ve gelişmesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile farklı üretim yöntemlerinin birbirlerine göre farklı çevresel etkiler gösterebileceğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Buna ek olarak nanopartiküllerin çevrede oluşturabilecekleri muhtemel olumsuz etkilerin minimize edilmesi ve sürdürülebilir üretim yöntemlerinin geliştirilmesi son yılların en dikkat çekici konuları arasında yer aldığı belirlenmiştir. Artan üretim ve kullanım hacmi ile ekosistemde yıllar içinde çok ciddi miktarlarda bulunmaları ve birikim oluşturabilecekleri ön görülen, TiO_2 ve ZnO metal oksit nanopartiküllerinin sucul veya toprak ortamlarında özellikle bitkileri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Yapılan bu çalışmaya paralellik gösteren ve literatürde yer alan, çeşitli bitkilerin çimlenme ve gelişme evresini içeren çalışmalarda farklı nanopartiküllerin oluşturduğu akut veya kısa etkilerin değerlendirilmesi ele alınmaktadır.

Bu tez çalışması ile gerçekleştirilen kısa süreli etki değerlendirmesinde domates, tere, salatalık, kabak, fasulye, nohut ve bezelye tohumları ve soğan bitkisi ile çalışılmıştır. Belirtilen bitki tohumlarının dört farklı nanopartikülü içeren besin çözeltisi, su ve toprak ortamlarında çimlendirmesi gerçekleştirilmiştir. Farklı ortamlarda gerçekleştirilen çimlendirme işlemi 5 ila 16 gün arasında sürmüştür. Çimlendirme ortamına ve bitki çeşidine göre farklılık gösteren süreler sonrasında belirtilen bitkilerin kök, sürgün ve yaprak bölümlerin uzanımı, sayısı ve kuru ağırlığı değerlendirilmiş ve bitki bölümlerinin ağır metal içeriklerinin tayini gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmalar sayesinde konsantrasyon artışı ile birlikte ZnO nanopartiküllerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması ile bitki gelişiminin engellediği belirlenmiştir. TiO₂ nanopartiküllerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak zararlı bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur. Böylece besin zincirinin halkalarında yer alan canlılar yaşamları boyunca çeşitli ağır metal veya nanopartikül alımını istemsiz bir şekilde artması ve biyobirikimin oluşması nedeniyle, etkin madde ve mekanizmaya bağlı olarak çeşitli kalıtsal rahatsızlıkların önünü açabileceği ve küresel olarak tüm insanlığı etkilemesinin kaçınılmaz olduğu ön görülmektedir.

Ekosistem içerisinde çevrime katılan nano boyuta sahip herhangi bir malzemenin, bitki bünyesine alınan miktarlarının değişimi ve buna bağlı olarak nihai etkileri ve salınımı sonucu ortaya çıkan güvenli maksimum derişimi aralığının veya belirli sınır değerlerin belirlenmesi insan sağlığı ve çevre için önem arz etmektedir.

2. NANOTEKNOLOJİ VE NANOTOKSİKOLOJİ

2.1. Nanoteknoloji Alanındaki Son Gelişmeler ve Nanoteknolojinin Geleceği

Yapılan nanoteknoloji konulu araştırmaların büyük bir çoğunluğunu fizik, kimya, biyoloji, malzeme bilimi ve tıp disiplinlerinin mensubu olan bilim insanlarının katkıları ve disiplinler arası çalışmaları ile ortaya çıkmaktadır. Nanoteknoloji alanındaki araştırma ve geliştirme çalışmaları ile kitlesel anlamda herkesin ulaşabileceği yeni ürün ve teknolojiler insanlığın hizmetine sunulmaktadır (Roco, 2003; Stampoulis ve ark., 2009).

Nanoteknolojinin temel kavramının Dr. Richard Feynman'ın 1959 yılında Amerikan Teknoloji Enstitüsü'nde "There's plenty of room at the bottom"(Derinlerde daha yer var) başlıklı sunumunda ortaya konduğu kabul edilmektedir (Feynman, 1960). Bununla beraber nanoteknoloji terimi ilk olarak 1974 yılında, Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Dr Norio Taniguchi tarafından kullanmış bu alana olan ilgilinin artmasını sağlamıştır. Nanoteknoloji alanında sonraki yıllarda çeşitli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu gelişmelerden en can alıcısı, 1981 yılında IBM (International Business Machines)'in taramalı tünelleme mikroskopunu icat etmesidir (Binnig ve Röhrer, 1982). Bu nanoteknoloji çalışmaları için bir dönüm noktası olmuştur. Nanoteknoloji alanında diğer önemli bir çalışma da, 1985 yılında "buckyballs" adı verilen yeni nano yapılı karbon modifikasyonunu keşfedilmesidir (Kroto ve ark., 1985). Bahsi geçen bu çalışmalar nanoteknoloji alanında kaydedilen ve öne çıkan kilometre taşlarıdır. 2014 yılına gelindiğinde ise Göttingen'deki Max Planck Biyofizik Kimya Enstitüsü'nün başkanlığı yapan Alman uzman Dr. Stefan Hell ile A.B.D.'li Dr. Eric Betzig ve Dr. William Moerner'in yüksek çözünürlükte görüntüleme imkânı sağlayan "yapılandırılmış aydınlatma mikroskopi teknolojisini" geliştirdi. Yaptıkları bu çalışma Stefan ve ekibine 2014 Nobel Kimya Ödülü'nü kazandırdı. (Vinogradova, 2014).

En az bir boyutu <100 nm olması sayesinde düşük boyut, yüksek yüzey alanı, farklı şekil ve kimyasal kompozisyonu gibi fizikokimyasal özellikleriyle aynı kimyasal yapıya benzer yığın formlarına göre eşsiz farklılık gösteren ürünler nanomalzeme olarak ifade edilmektedir. Sağladığı bu eşsiz özellikler ile mikroelektronikler, kataliz malzemeleri, yakıt hücreleri, malzeme birikimi, tekstil, biyoteknoloji, kauçuk, kişisel bakım ürünleri, kozmetik ve ilaç endüstrisinde geniş uygulamalar ile karşılaşılmaktadır (Farre ve ark., 2011; Newman ve ark., 2009; Serpone, ve ark., 2007). Kullanımının hızla artması ile çok çeşitli uygulama alanlarında yer alması sayesinde 2015 yılı itibariyle nanoteknoloji 1 trilyon dolarlık bir pazara sahip olması ve iki milyon çalışanı ile dev bir endüstri haline geleceği düşünülmektedir (Rao ve Shekhawat, 2014).

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'nın (USEPA, 2005) nanoteknoloji ile ilgili yayınladıkları çalışmalarında nanomalzemeleri; karbon esaslı nanomalzemeler, metal, metal oksit esaslı ve kuantum dot nanomalzemeler, dendrimerler veya nano boyutlu polimerler ve yığın form içerisinde kompozit olarak yer alan nanopartiküller olmak üzere dört kategoride değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur. Buna göre yapılan çalışma kapsamında kullanılan nanopartiküller üçüncü grup kapsamındadır. Metal oksit nanopartikülleri eşsiz katalitik ve optoelektronik özelliklere sahip olmaları, antimikrobiyal aktiviteleri engellemeleri nedeniyle yığın metal oksit formunun sahip olmadığı birçok avantajı sunmaktadır. (Ma ve ark., 2013; Royal Society, 2004).

Çinko oksit (ZnO), periyodik tabloda II-B grubunda yer alan ve geçiş metali olan çinkonun (Zn) oksit formu olarak tanımlanır. Tetrahedral koordinasyonu kovalent bağlı sp^3 olup, yoğunluğu (300 K) $5,606 \text{ g/cm}^3$ 'dir (STEINER, 2004). Çinko oksit nanopartikülleri eşsiz fotokatalitik, elektronik, optik, dermatolojik ve antibakteriyel özellikleri sayesinde çok farklı türde ürünün içeriğinde yer alabilmektedir.

ZnO nanopartikülleri nanoteknoloji pazarında eşsiz bir paya sahiptir. Piyasada ZnO nanopartikülleri, güneş kremleri gibi cilt koruyucu ürünlerinde, su arıtımında organik içeriklerin fotokatalitik degradasyonu uygulamalarında, biyo görüntüleme, çeşitli kirleticiler, toksik gazlar, alkol ve gıda tazeliğini gösteren gaz sensörlerinde, kaplama ve boya ürünleri gibi çok sayıda alanda ve üründe insanlığın hizmetine sunulmuştur. Ayrıca ZnO nanopartiküllerinin hatırı sayılır ölçüde UV (ultraviyole) ışın adsorpsiyonuna rağmen, görünür ışığı geçirgenliği nedeniyle UV koruyucu film üretiminde de rağbet görmektedir. Ancak en yaygın olarak güneş kremleri, bebek pudraları, kepeğe karşı etkili şampuanlar, UV koruyucu kumaş kaplamalarında, anti kanser çalışmaları ve ilaç taşınımında kullanımı ile karşılaşılmaktadır. Çok geniş uygulama alanına sahip olması nedeniyle çinko oksit nanopartiküllerinin çevreye salınımları kaçınılmazdır (Rao ve Shekhawat, 2014; Adamcakova-Dodd ve ark., 2014).

Yaygın olarak üretilen ve piyasada yer alan diğer bir metal oksit nanopartikülü ise titanyum dioksit nanopartikülleridir. IV-B grubunda yer alan ve geçiş metali olan titanyum (Ti) elementinin oksit formu titanyum dioksit (TiO_2) olarak tanımlanır. Latis sabitleri arasındaki farklılıklar nedeniyle anataz, rutil ve brookite olmak üzere üç farklı forma sahip olan titanyum dioksidin teorik yoğunlukları 3.83, 4.24 ve 4.17 g/cm³ olarak hesaplanır (Mo ve Ching, 1995).

Üretim hacmi bakımından ilk beş nanopartikül arasında yer almaktadır. Yüksek yüzey alanı ve yeksane por boyutunun sağladığı eşsiz elektronik ve optik özellikler sayesinde fotokataliz, güneş pilleri, lityum-iyon bataryalar, sensörler ve kataliz desteği gibi çeşitli uygulamalar ile karşımıza çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2012a). Titanyum dioksit nanopartiküllerin yaygın kullanımına bağlı olarak çevreye olan salınımlarının gün geçtikçe artmasıyla birlikte canlılar üzerindeki maruziyetlerinin de artması kaçınılmazdır. Bu durum nano boyutta sahip TiO_2 bileşiklerinin veya ürünlerinin potansiyel toksisitesinin ivedikle değerlendirilmesini de beraberinde getirmektedir. Titanyum dioksit rutil, anataz ve brookite olmak üzere üç farklı formda olabilir. Titanyum dioksit nanopartiküllerinin %50'e yakını kozmetik ve güneş koruyucu ürünlerin içeriğinde yer alır.

Ayrıca kendini temizleyebilen seramikler, anti-mikrobiyolojik plastik paketler ve çimento içeriğinde katkı malzemesi olarak yer almaktadır. Buna ek olarak çeşitli gıda ürünlerinde E171 gibi katkı maddesi olarak veya şeker, peynir, diş macununun içeriğinde nanopartikül bulunan ürünler piyasada yerini almıştır (Zhang ve ark., 2012b; Newman ve ark., 2009; Iavicoli ve ark., 2012).

Üretim ve buna bağlı olarak tüketim potansiyeli hızla artan, çinko oksit ve titanyum dioksit nanopartiküllerini içeren çeşitli ürünler insanlığın hizmetine sunulmakta ve sağladığı eşsiz avantajlar dikkat çekmektedir. Buna bağlı olarak da bahsedilen uygulama alanlarına ek olarak farklı ve yeni uygulama alanlarında nanopartikül içeren yeni ürün ve teknolojilerin günlük yaşamın değişmez bir gerekliliği haline geleceği kaçınılmazdır.

2.2. Nanoteknoloji Çalışmalarında Kullanılan Üretim Yöntemleri

Bugüne kadar yayınlanan nanomalzeme üretim çalışmalarına bakıldığında, üretilen ürünün sentezlenmesi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanıldığı görülmektedir. İstenilen belirli şekil, boyut ve özelliğe sahip nanopartikülleri sentezlemek için birbirinden farklı özel yöntemler geliştirilmiştir.

Günümüzde yaygın kullanıma sahip olan teknikler arasında; ultraviyole radyasyon, aerosol teknolojileri, litografi, lazer ablasyonu, ultrasonik alanlar ve fotokimyasal azaltma teknikleri bulunmakta ve nanopartikül üretimi yapılmaktadır. Ancak kullanılan bu yöntemlerde, tehlikeli çeşitli kimyasalların kullanımı, üretim sırasında ortaya çıkabilecek insan sağlığı için tehlikeli kimyasal maddelerin oluşumu, hem üretim özellikleri hem de işlem kontrolünün getirdiği zorluklar, iş sağlığı ve güvenliği konularının göz ardı edilememesi nedeniyle pahalıya mal olabilmektedir. Bu durumda hem üretim yönteminin geleceği ve sürdürülebilirliği hem de her mühendislik yaklaşımında olması gereken fayda maliyet analizlerinin ele alınması gerekmektedir (Narayanan ve Sakthivel, 2010).

Bu duruma ek olarak eski veya geleneksel yöntemlerden vazgeçilerek hem üretim sırasında hem de üretim sonrasında oluşan ürün veya yan ürünlerin çevre ve enerji açısından kazanç sağlayabilecek sürdürülebilir yöntemlerin kullanılması gün geçtikçe önem arz etmektedir. Farklı kompozisyonlara, boyutlara, şekillere, çalışma amacına uygun olarak üretilmiş kontrollü dağılım özelliklerine sahip nanopartiküllerin sentezinde kullanılması düşünülen yeni prosedürlerin uygun maliyetli olması da kullanımının yaygınlaşması ve tercih edilebilmesi için önemli bir faktördür (Som ve ark., 2010; Narayanan ve Sakthivel, 2010; Dreher, 2004).

Nanopartiküller genellikle her uzaysal boyutta 0.1 ila 1000 nm arasında değişen ve yaygın olarak top-down veya bottom-up yaklaşımları kullanılarak sentezlenen ürünlerdir. Top-down yaklaşımlarda yığın (bulk) malzeme kademeli olarak nano boyuta parçalanırken, bottom-up yaklaşımlarda ise atom veya moleküller nanometre aralığa sahip moleküler yapılar halinde bir araya getirilir. Bottom-up yaklaşım yaygın olarak nanopartiküllerin kimyasal ve biyolojik sentezinde karşılaşılmaktadır. Yığın malzemelerden farklı olarak nano boyuttaki malzemeler, karakteristik fiziksel, kimyasal, elektronik, elektriksel, mekanik, manyetik, termal, dielektrik, optik ve biyolojik özelliklere sahiptir. Malzemelerin değişen fizikokimyasal özellikleri ile nanopartiküllerin daha geniş atom yüzeyine ve geniş yüzey enerjisine sahip olması kaçınılmazdır (Narayanan ve Sakthivel, 2010).

Nanopartikül üretiminde kullanılan kimyasal metotlara bakıldığında çoğu işlemlerde ister istemez toksik kimyasallar, apolar çözücüler kullanılmaktadır. Ancak nanopartiküllerin üretim sürecinden başlayıp, bertarafına kadar toksik olmaması ve biyo uyumlu olması gereklidir. Beşikten mezara bir yaklaşımla üretilerek ekosistemle barışık ürünlerin geliştirilmesi, gelecek nesil tüketiciler için önem arz etmektedir (Som ve ark., 2010; Narayanan ve Sakthivel, 2010; Dreher, 2004).

Narayanan ve Sakthivel'in 2010 yılında yayınlanan çalışması, benzer çalışmalar arasından ön plana çıkmaktadır. Buna göre, çevre dostu yaklaşımla sentezlenen ve toksik olmayan nanopartiküllerin geliştirilmesinde yeşil kimya ve biyolojik süreçlerin kullanılması ve yaygınlaşması ile sağlanabileceği ön görülmektedir.

Tehlikeli kimyasalları içeren fiziksel ve kimyasal yöntemlerinin yanında mikrobiyal biyosentez ile nanopartiküllerin üretimi etkin maliyete sahip olmasının yanında çevre dostudur. Bu yüzden nanopartiküllerin mikrobiyal sentezi nanobiyoteknolojinin önemli bir koludur. Zengin çeşitlilik nedeniyle mikroorganizmaların nanopartikül sentezi için potansiyele sahip olduğu son yıllarda yapılan çalışmalar ile ortaya konulmaktadır (Narayanan ve Sakthivel, 2010)

Nanoteknolojinin hızla gelişmesi ile yeni fırsatlar ve avantajlar sunan ürünlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bununla birlikte üretilen ürünlerin insan sağlığı ve çevre açısından değerlendirilmesi de gün önemli hale gelmektedir. Nanopartiküllerin kimyasal ve biyolojik özelliklerine bağlı olarak canlılar üzerindeki toksikolojik etkileri ve farklı yaşam ortamlardaki davranışları ile ilgili boşluklar bulunmaktadır. Nanoteknoloji kullanılarak üretilen ürünlerin yaşam döngü analizi ile insan ve çevre üzerindeki etkileri değerlendirilebilir. Yeni üretim yöntemlerinin kullanılması ile zararlı kimyasal ürünlerden kaçınılarak, fazla enerji ve malzeme tüketiminin önüne geçilerek ve atık oluşumu azaltılarak daha faydalı bir teknolojinin insanlığın hizmetine sunulabileceği ön görülmektedir (Som ve ark., 2010; Narayanan ve Sakthivel, 2010).

2.3. Nanotoksikoloji Alanında Gerçekleştirilen Çalışmalar

“Her madde bir zehirdir. Zehir ve ilacın birbirinden ayıran ise dozudur” aforizması ile tanınan ve onaltıncı yüzyılda yaşamış, Paracelsus’dan günümüze toksikoloji biliminde önemli gelişmeler kaydedilmiştir (Selinus ve ark., 2005). Toksikoloji, çeşitli kimyasal maddelerin canlılar ve canlıların yaşadığı biyolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri ve bu etkilerin sonuçlarını inceleyen bilim dalıdır.

Bu bilim dalına çok değil, geçtiğimiz yıllarda eklenen ve bir alt bilim dalı haline gelen nanotoksikoloji kavramı ile nanoteknoloji kullanılarak üretilen ve geliştirilen nanomalzemelerin oluşturduğu hücrel ve çevresel toksisitenin incelemesi amaçlanmaktadır.

Bu konuda ilk yapılan ve öne çıkan çalışmaların arasında sıyrılan Oberdörster ve ekibinin 2005 yılında yayınlanan çalışması ile nanotoksikoloji kavramı kabul görmüştür. Nanopartiküllerin toksisitelerinin izlenmesi ve değerlendirilmesinde, nanopartiküllerin toksik etkileri ile doğrudan bağlantılı olan nanomalzemelerin fizikokimyasal karakterizasyonu, *in vitro* (yapay ortamda) ve *in vivo* (canlı ortamında) değerlendirme çalışmalarının önemi vurgulanmıştır.

Nanopartiküllerin toksisitesinin değerlendirilmesi için yapılan *in vitro* testlerin sayısının artmasının önemi ile ilgili yayınlanan neredeyse her nanotoksikoloji çalışmalarında vurgulanmaktadır. Nanotoksikoloji çalışmalarında yeni üretilen nanopartiküllerin güvenilirliği adına şüpheler bulunmaktadır. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* testlerin doz-cevap ilişkileri arasında anlamlı korelasyon veya ilgi olduğu bilinmektedir. Bu anlamda yapılan her çalışma nanopartiküllerin işleyişlerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayarak, nanopartiküllerin oluşturabilecekleri toksisite ile ilgili sistematik isimlendirmesi ve sınıflandırması ile ilgili boşlukların giderilmesi için gereklidir (Han ve ark., 2012).

Yapılan çalışmalar ışığında nanopartiküllerin boyut, şekil ve yüzey kimyası veya fizikokimyasal özellikleri, topaklaşma seviyesi, çözünürlüğü, yapısal ve kimyasal kompozisyonu, nanopartiküllerin biyolojik sistemler ile oluşan toksisitelerini açıklamada kullanılmasının önemi vurgulamaktadır (Gentleman ve Chan, 2009). Farklı nanopartikül üretim yöntemleri ile üretilen malzemelerin yüzey ve çeşitli fizikokimyasal özelliklerini etkilediği bilinmektedir. Han ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınlanan çalışmalarında, ZnO nanopartiküllerinin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak nanomalzemenin farklı ortamlarda çözünmesinde önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur.

Topaklaşma testi kapsamında pH 7.5 değerinde, iki farklı ZnO nanopartikülü farklı zeta potansiyeline ve iyonik şiddet sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bununla beraber ZnO nanopartiküllerin çözünmesi pH değerine, spesifik yüzey alanına ve çeşitli fizikokimyasal yüzey özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir. Çinko oksit, endüstriyel ve tüketim uygulamaları ile yaygın olarak kullanılmaktadır. Araştırmacılar ve mevzuat düzenleyici kurumlar, nanopartiküllerin kullanımı ve kontrolü ile ilgili kayda değer ilgili göstermektedir.

ZnO nanopartiküllerinin çevresel ve sağlık üzerine olan risklerinin değerlendirilmesi günümüzde hız kazandırmıştır. ZnO, inorganik ve katı formda beyaz rengeyle doğada bulunabilen bir tozudur. Ancak çoğu durumda çinko oksit teknik işlemler sonucunda elde edilebilir. Yığın formuna sahip ZnO partikülleri 0.5-5 µm (mikro metre) aralığında boyutta sahip olup, nano-ZnO partiküllerinin en az bir boyutu 100 nm'nin altındadır. Yığın ZnO kauçuk, seramik, boya, hayvan gıdası, gübre, tıbbi ilaçlar ve katı malzemesi olarak kullanılır. Nano-ZnO, öncelikli olarak kozmetik, güneş kremi, kremlerde kullanılmaktadır. Doğada ise bu partiküller çoğunlukla topraklaşma eğilimine sahiptir (International Zinc Association, 2013). Nanopartiküllerin mobilitesi veya hareketliliği, çevresel ortamın kimyasal karakterizasyonu veya içeriği ile doğrudan alakalıdır. Çinko kaynaklı yer altı suyu kirlenme potansiyeli, alkalın koşulları altında azalabileceği görülmektedir. Ancak fosfat minerali kum ortamında, ZnO nanopartiküllerinin hareketliliğini fazlasıyla kolaylaştırır (Li ve Schuster, 2014).

Nanotoksikoloji çalışmalarında karşılaşılan zorluklara bakıldığında, çeşitli ortamlarda aglomerasyona ve topraklaşmaya bağlı olarak çeşitli nanopartiküllerin toksik etkileri tam anlamıyla ortaya çıkmaması nedeniyle toksik çalışmalarda aksaklıklar oluşmaktadır. Nanopartikülün aglomerasyon ve daha ileri bir durum olan sedimentasyonu boyuta, maruziyet süresine ve doza bağlı olarak toksisitesini etkilemektedir (Allouni ve ark., 2009).

Nanopartiküllerin durağanlık veya stabilitesi, metabolik faaliyetlerdeki akıbetlerini etkiler. Toksikite değerlendirmesinde nanopartiküller için molekül ağırlığı, öncül partikül sayısı ve yüzey alanı tipik doz ölçümlerinde ön planda olan parametrelerdir. Parçacık şekli, kaplaması, kimyasal karakterizasyonu ve elektrofiziksel özelliklerinin dikkate alınması önerilmektedir. Bazı durumlarda nanopartiküllerin yüzey alanı, toksisite değerleri ile en iyi korelasyon gösteren veri olduğu kabul edilmektedir. Farklı nanomalzemelerin neden olduğu toksisite hasarlarının, oksidatif işleyiş farklılıklarının ve reaktif oksijen türleri oluşumlarının değerlendirilmesinin, nanopartikül toksisitesinin ortaya konulması açısından kilit role sahip olduğuna dikkat çekilmektedir (Hartung ve Sabbioni, 2011).

Farklı yollarla doğaya salınımı gerçekleşen çoğu kirleticinin en önemli yutağı olan su sistemleridir. Nanopartiküllerin besin zincirine dahil olmasını ön gören ve olumsuz etkileri ile ilgili çalışmaların sayısının artması gün geçtikçe artmaktadır. Ekosistem çevriminde dolaşimleri ve birikimleri kaçınılmaz olan nanopartiküllerin davranışlarının daha iyi anlaşılması önemlidir. Bununla beraber nanopartiküllerin salınımı gerçekleşebileceği çevrelerin birbirinden farklı ve değişken özelliklere sahip olabilecekleri göz ardı edilmemelidir. Çevresel etkileri değerlendirilen nanopartiküllerin, akut toksisite göstermeseler de canlıların çeşitli doku veya sistemlerinde oluşturabilecekleri birikimleri, uzun dönem sonrası etkileri ve besin zincirindeki durumları hakkında soru işaretleri tam anlamıyla aydınlatılamamıştır (Tyne ve ark., 2013; Prasad, 2004).

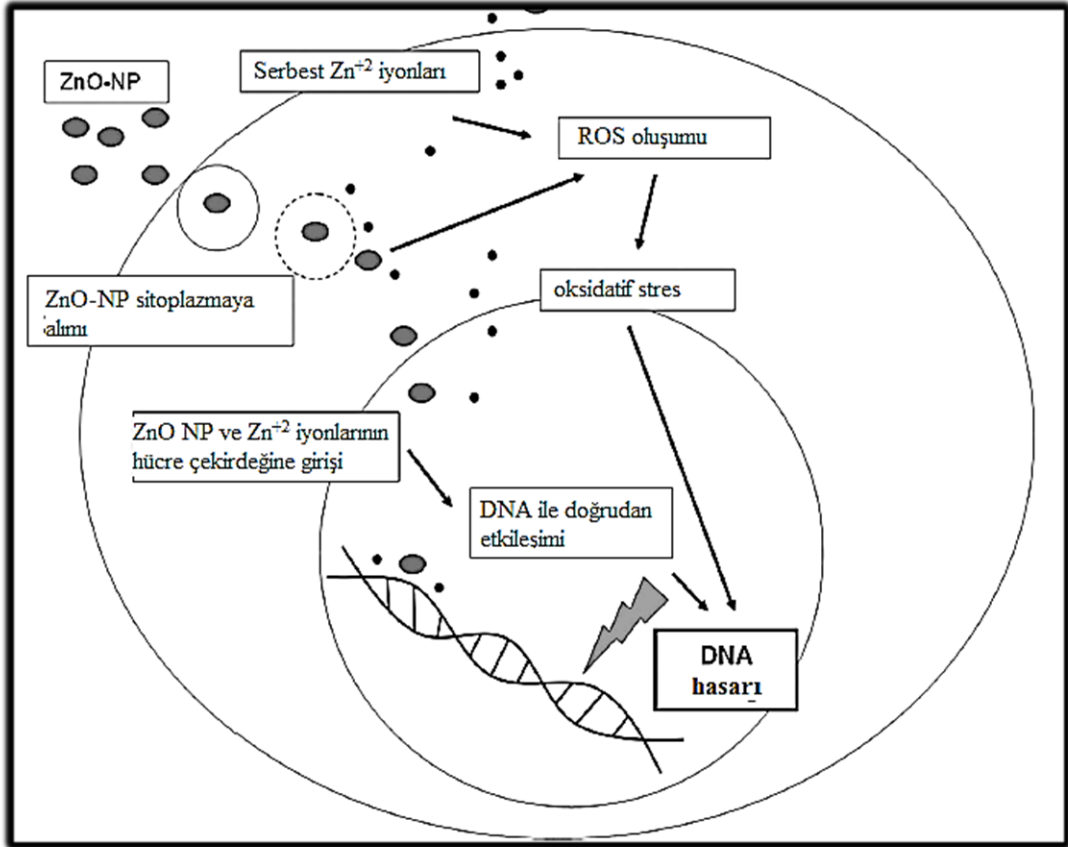
Nanopartiküllerin antropojenik kaynaklı salınımı ile insan sağlığı ve yaşam üzerine olumsuz etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu durumda da nanopartikül ve biyolojik süreçler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi gün geçtikçe önem kazanmaktadır (Dietz ve Herth, 2011).

2.3.1. Nanomalzemelerin canlıların yaşamı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar

Literatürde yer alan çalışmalar ışığında, aynı kimyasal kompozisyonlara sahip yığın malzemeler ile karşılaştırıldıklarında nanopartiküller belirgin farklı biyolojik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Reaktif oksijen türleri oluşturması, fiber şekli, boyutu, çözünürlüğü ve kristal fazı gibi özellikler, nanopartiküllerin biyolojik etkisinin indikatörleri olarak değerlendirilebilmektedir.

2010 yılında yayınlanan bir çalışmada, nanopartikül türlerine göre çok duvarlı karbon nanotüpler >> CeO₂ (Seryum oksit), ZnO > TiO₂ > fonksiyonalteli SiO₂ (Silisyum oksit) > SiO₂, ZrO₂ (Zirkonyum dioksit), karbon siyahı şeklinde zararlı etkilerinin potansiyeli sıralanmıştır (Landsiedel ve ark., 2010).

Metal oksit nanopartiküllerinin, insan sağlığı ile ilgili öne çıkan çalışmalara bakıldığında; ZnO nanopartiküllerinin birincil insan nazal mukoza hücreleri kültürü üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri değerlendirildiği bir çalışmada, 50 ppm seviyesinde sitotoksik etkiler oluşturduğu, 10 ppm seviyesinde da DNA (Deoksiribonükleik asit) hasarları belirlenmiştir (Hackenberg ve ark., 2011a).



Şekil 2.1. ZnO nanopartikülleri, ve. diğer metal ve metal oksit nanopartiküllerinin canlı hücreleri ile olan etkileşimi [Hackenberg ve ark., 2011b].

ZnO nanopartiküllerinin Şekil 2.1.'deki gibi hücre içindeki etkileşiminde izlediği yol çoğu metal ve metal oksit nanopartikülleri için benzer olup, nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri ile doğrudan ilişkilidir (Hackenberg ve ark., 2011b).

Nanopartiküllerin toksisitesi değerlendirilmesinde partikül boyutu ve buna bağlı olarak da farklı fizikokimyasal özellikler neden olduğu mitokondriyal hasar, oksidatif stres, kromozomal ve oksidatif DNA hasarı ele alınabilmektedir. Partikül boyutunun küçülmesi ile nanopartiküller, daha toksik veya canlılar için tehlikeli hale gelebilmektedir. Nanomalzemeler yüzey yükü değerleri açısından değerlendirildiğinde ise nanopartiküllerin hücreye alımı ve buna bağlı olarak oluşan toksisiteye bakıldığında, katyonik nanopartiküllerin anyonik nanopartiküllere göre daha toksik olduğunu ortaya konulmuştur (Hackenberg ve ark., 2011b).

İnsan akciğer epitel hücreleri üzerinde farklı metotlar kullanılarak altısı sentezlenmiş (presipitasyon, solvotermal, sol-jel yöntemleri), ikisi ticari, toplamda sekiz farklı ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin boyut, şekil, yüzey alanı, faz ve kompozisyonu gibi başlıca fizikokimyasal özelliklerinin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmaya göre, daha düşük boyuta sahip nanopartiküllerin daha toksik etkiler gösterdiği ve nanorod ZnO partiküllerinin küresel olanlara göre daha toksik olduğu belirlenmiştir. Tüm TiO₂ nanopartiküllerinin, ZnO nanopartiküllerine kıyasla düşük toksisiteler ortaya koyduğu söylenebilir. Ayrıca amorf>anataz>anataz/rutil formuna sahip sırayla sitotoksitenin arttığı belirlenmiştir. Buldukları fazın yanında nanopartikülün boyutu, yüzey alanı ve şekli toksisitenin değerlendirilmesinde önemli rol oynamıştır. Ancak metal oksit nanopartiküllerin boyuta bağlı, A549 hücreleri üzerinde biyolojik etkilerin kesin sonuçlar vermediği ve birincil partikül boyutunun toksisite değerlendirmesi için yetersiz olduğu belirlenmiştir (Hsiao ve Huang, 2011). Bununla birlikte bazı araştırmacılar, malzemenin hidrodinamik boyutunun sitotoksisite çalışmalarında önemli olduklarını söylemektedir (Kato ve ark., 2009; Pauluhn, 2009). Nanopartiküllerin toksisitelerin değerlendirilmesinde fizikokimyasal faktörlerin sistematik anlamda içeren çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır (Hsiao ve Huang, 2011).

Literatürde bulunan vaka çalışmaları arasından güneşin zararlı ışınlarından korunmak için titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartiküllerini içeren güneş kremlerinin halk sağlığı için güvenliği ve güvenilirliği ele alan Newman ve arkadaşlarının (2009) çalışması öne çıkmaktadır.

Sadece insanlar üzerinde değil, aynı zamanda sucul ve toprak sistemlerinde yaşamını sürdüren canlılar üzerinde yapılan ve öne çıkan çalışmalara bakıldığında; Tyne ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınlanan çalışmasında, *C. elegans* için yeni bir toksisite ortamı sunulmaktadır. Yapılan test ile gümüş nanopartikülleri ve çözünmüş gümüş nitrat toksitesi değerlendirilmiştir. Gümüş nanopartikülleri (EC₅₀ 6.5 mg Ag/l), gümüş nitrata (EC₅₀ 0.28 mg Ag/l) göre daha az toksisite göstermektedir. Nanopartikül içeren kirleticilerin doğrudan doğaya salınımı ve atık çamurda birikimi ile toprak ortamı başlıca yutak haline gelmesi kaçınılmazdır. Yapılan diğer bir çalışmada TiO₂ ve ZnO nanopartiküllerinin yer solucanı (*Eisenia fetida*) üzerindeki toksisitesi toprak ve yapay toprak sistemlerinde 0.1, 0.5, 1 ve 5 g/kg (gram/kilogram) dozlarla 7 günlük maruziyet ile değerlendirilmiştir. Buna göre solucanların Zn ve Ti içerikleri, antioksidant enzim aktiviteleri, DNA hasarı, selüloz aktivitesi ve gut hücrelerinin mitokondriyal hasarları akut toksisitesi olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında 1 g/kg ve üzeri nanopartiküle maruz kalan toprakların yer solucanlarında DNA hasarına neden olduğu görülmüştür. Buna ek olarak en yüksek konsantrasyonda özellikle çinko biyobirikimi ve mitokondriyal hasara rastlanılmıştır (Hu ve ark., 2010).

Nanopartiküllerin salınımı ile sucul ortamlara dağılmaları ve su ortamında dibe çökmesi ile sediment ortamında yaşayan organizmalar üzerinde potansiyel tehlikeler oluşturmaktadır. ZnO nanopartiküllerinin, çinko metal iyonuna (ZnSO₄) göre *H. azteca* üzerinde yapılan genetik analizler sonucunda daha toksik olduğu ortaya konulmuştur (Poynton ve ark., 2013).

Metal oksit nanopartiküllerin sucul ortamda potansiyel ekotoksikolojik etkilerini daha iyi anlayabilmek ve ortaya koyabilmek yapılan bir başka çalışmada, 96 saatlik maruziyet ile embriyo-larva zebra balıkları üzerinde nano-ZnO, nano-TiO₂ ve alumina (nAl₂O₃)'in etkileri araştırılmıştır. Parçacık boyutunun etkisinin de değerlendirilmesi için aynı kimyasal formüle sahip yığın formun da etkisi değerlendirilmiştir (Zhu ve ark., 2008).

Nano ve yığın ZnO partiküllerinin zebra balığı embriyo gelişimini geciktirdiği ve yaşamlarını olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur. TiO₂ ve alumina partiküllerinin belirli bir toksik etki gösterdiği ortaya konulamamıştır Aynı çalışmada üç soru ile parçacıkların toksik etkileri değerlendirilmiştir. Buna göre; (i) partiküllerin zebra balığı embriyo ve larvaları üzerinde hangi toksik veya potansiyel toksik etkileri gösterdiği. (ii) değerlendirilen üç kimyasalın erken yaşam döneminde zebra balıklarındaki doz-cevap ilişkisi. (iii) farklı boyutlarda kimyasalların mı yoksa kimyasal yapı ve morfolojinin mi toksisite değerlendirilmesinde etkin olacağı değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışma sucul ortamda metal oksit nanopartiküllerinin toksisitesinin değerlendirilmesi ile ilgili ilk çalışma olması da dikkat çekicidir (Zhu ve ark., 2008).

Nano-TiO₂ partiküllerinin ile ilgili yapılan başka bir çalışmada *Daphnia magna* üzerindeki etkileri altı nesil izlenmiş ve değerlendirilmiştir. Her nesil 21 günlük periyotlar ile nanopartiküllere maruz kalmıştır. 1.78 mg/l (miligram/litre) konsantrasyon seviyesinde kronik maruziyet sonuçları elde edilmiştir. Çoklu nesil etkisinin, tek nesil üzerindeki etkinin değerlendirilmesine göre daha doğru ve kesin sonuçlar elde edilmesi çalışmanın çıkış noktalarındandır. Altıncı nesilde deneylerin sonlandırılmasının bir diğer nedeni de ölüm oranlarının artışıdır (Jacobasch ve ark., 2014). Nano-TiO₂ partikülleri ile yapılan bir başka çalışma, karayip dağlık yıldız mercanları üzerindeki etkilerin 17 günlük süre ile 0.1 ila 10 mg/l konsantrasyonların oluşturduğu akut etki, genetik etkiler ve birikim değerlendirilmesini içermektedir (Jovanovic ve Guzman, 2014).

Farklı yaşam formları kullanılarak ön plana çıkan etki değerlendirme çalışmalarına bakıldığında ise; ZnO, CuO (bakır oksit) ve TiO₂ nanopartiküllerinin, moleküler ve hücre biyolojisinde ökaryotik model organizma olan *Saccharomyces cerevisiae* üzerindeki toksik etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada nanopartiküller ile beraber yığın ve iyon formların etkileri karşılaştırılmıştır. Nano ve yığın TiO₂ partiküllerin 20000 mg/l da dahi toksik olmadığı belirlenmiştir (Kasemets ve ark.,2009).

Saccharomyces cerevisiae ile yapılan bir başka metal ve metal oksit nanopartiküleri ile ilgili çalışmada ZrO_2 , Fe^0 , ve Mn_2O_3 (Magnezyum(III)oksit) nanopartiküllerinin toksik etkilerini değerlendirmede ilk olup, Mn_2O_3 nanopartiküllerinin oksijen alımını etkilediği ve hücre membranlarına zarar verdiği belirlenmiştir. Kullanılan her partikül biyo ortamda yüksek topaklaşma eğilimi göstermektedir. Mn_2O_3 nanopartiküllerinin 170 mg/l konsantrasyonunda oksijen tüketimini etkilediği ve hücre membranlarına zarar verdiği belirlenmiştir. Fe^0 düşük etkiler gösterirken diğer nanopartiküller belirli bir toksisite göstermemiştir (Otero-Gonzalez ve ark. 2013).

Başta çinko oksit nanopartikülleri olmak üzere, diğer tüm nanopartiküllerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* testlerin sonuçları ile hızla hayatımıza giren nano boyuta sahip ürünlerin sayısı ve çeşitliliği karşılaştırıldığında, nanopartiküllerin genotoksik etkileri ile ilgili yeterli veri bulunmadığı söylenebilir. Bunun önemli nedenleri arasında nanopartiküllerin biyolojik etkileri ve fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirme yöntemlerine bağlı olarak farklılıklar göstermesi olduğu söylenebilir (Kwon ve ark., 2014).

OECD (Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü) yayınladığı test standartlarına göre; bakteriyel mutajenite testi, *in vitro* kromozomal aberasyon testi, *in vivo* alkalın komet analizi ve *in vivo* mikronükleus testi olmak üzere dört farklı genotoksisite testi ile nanopartiküllerin etkileri değerlendirilmesinin gerekliliği önem arz etmektedir. 2005 yılından günümüze OECD standartları partiküllerin kristallenme derecesi, partikül boyutu, tane yüzey kimyası, yüzey yükü gibi karakteristik malzeme özelliklerinin toksisite çalışmalarında önem arz ettiğini göstermektedir (OECD, 2010).

Bu şekilde nanopartiküllerin insan sağlığı ve çevre güvenliği konularında dikkat çekici çalışmalar yapılmıştır (Kwon ve ark., 2014). Bu çalışmalara örnek olarak, Hackenberg ve arkadaşlarının 2010 yılında 100 nanometreden düşük boyutta sahip TiO_2 tozlarını kullanarak gerçekleştirilen çalışma verilebilir. TiO_2 nanopartikülleri ile 10, 25, 50, 100 $\mu g/ml$ (mikrogram/mililitre)'lik konsantrasyonlar ile yapılan sitotoksisite deneyleri sonucunda sitotoksik bir etkiye

rastlanmamış olup, aksine elde edilen sonuçlarda olduğu gibi bazı konsantrasyonlarda kontrole göre pozitif etkiler gözlemlenmiştir.

Yapılan nanotoksikoloji çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen *in vitro* ve *in vivo* genotoksisite testleri sonucunda, her zaman bir korelasyon elde edilemeyeceği günümüzde yapılan çalışmaların ışığında söylenebilir. Doz artışı ile birlikte değerlendirilen pek çok nanopartikülün topaklaşma eğilimi göstermesi ile birlikte farklı özelliklere sahip nanopartiküllerin farklı maruziyetler yolları ile canlıların farklı organ veya sistemleri üzerinde genotoksisite gösterebileceği söylenebilir.

2.3.2. Nanomalzemelerin ekotoksisitesi ve fitotoksisitesi ile ilgili çalışmalar

Yüksek derişimler ile ağır metallere maruz kalan bitkilerde, “metal zararı” olarak adlandırabileceğimiz yapısal ve işlevsel değişiklikler oluşmaktadır. Metal zararı; metallerin, moleküllere bağlanmasıyla doğrudan veya serbest radikal oluşumunu artırması ile dolaylı yoldan görülmektedir. Bitkiler çeşitli ağır metallerin oluşturduğu zararlardan korunmak için; metal alınımından sakınma, biriktirme ve savunma şeklinde davranışlar sergiler. Metal zararından etkilenme derecesi, bitkinin türüne, maruz kalınan metalin çeşidine ve derişimine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (Ayhan ve ark., 2006).

Toprak kirliliği giderimi çok zor sağlanabilen, hatta bazı durumlarda giderimi sağlanamayan bir ortam olması nedeniyle ağır metal iyonlarının oluşturduğu çevre kirliliği kirleticiler arasındaki en tehlikelilerinden birisidir.

Bitkiler stomaları aracılığı ile de metalleri iyon halinde alabildikleri gibi çoğunlukla kökleri aracılığı ile alırlar. Metaller toprak ortamında kolloidlere tutunmuş olarak, organik maddelere bağlı olarak ve toprak çözeltisinde iyon halinde bulunur. Bitkiler sıcaklık, pH, organik madde miktarı, diğer metallerin varlığı, mikroorganizma ve mikroorganizma faaliyetleri gibi yaşam koşullara bağlı olarak metalleri iyon halinde bünyelerine alabilir.

Toprağın pH değerinin düşmesi, ortamda bulunan H⁺ iyonlarının artmasına neden olur. Böylece metal iyonlarının kolloidlere tutunmasını engelleyerek toprak çözeltisi içerisinde derişimlerinin artmasına neden olur. Bitkilerin köklerinin kation değişim kapasitesi, kök yüzey alanı ve rizosfer pH değerini değiştirerek aldıkları metal miktarını farklılaşabilir. Köklerden alınan metal iyonlarının taşınımı bitkinin türüne ve metalin çeşitine göre farklılık göstererek ksilem ile bitkinin sürgün ve yaprak bölümlerine iletilir. Ağır metallerin morfolojik anlamda oluşturdukları en belirgin etkisi köklerde görülür. Buna göre, kontrol grubu ile ağır metalle maruz kalmış toprakta yetiştirilen bitkilerin kökleri daha kısa ve saçak kök sayısında azalma, yan köklerde artma veya azalmaya rastlanmaktadır. Metal alımının devamı ile de bitkinin sürgün uzanımını da etkilemektedir. Metal maruziyeti ile bitkilerin kök ve sürgün kısımlarının yaş ve kuru ağırlıklarında azalma meydana gelmekte ve bitki büyümesi yavaşlamaktadır. Bununla beraber metaller işlevsel (enzimler) ve yapısal molekülleri etkileyerek doğrudan veya serbest radikal oluşumunun artmasına neden olup dolaylı yoldan da bitki gelişimini etkiler. Metal iyonları enzimlerin aktif bölümlerinde bulunan sülfidril gruplara bağlanarak inaktivasyona neden olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Van Assche ve Clijters (1990) başka metallerin yüksek derişimlerde metalin çeşitine bağlı olarak kofaktör metallerin yerine geçtiği saptanmıştır. Rubisco enziminin kofaktörü Mg elementi olup, yüksek derişimde Zn içeren ortamda, Zn'nun Mg yerine geçtiği ve enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Bununla beraber metallerin yapısal moleküller üzerinde de olumsuz etkiler gösterdiği tüm ağır metal çalışmalarında dikkat çekilmektedir. Hücre zarını oluşturan zar lipitleri birçok fonsiyondan sorumludur. Metal stresi altında hücre zarı lipitlerinin yapısında meydana gelen bir değişiklik, hücre zarı yapısını ve fonksiyonlarını etkidiği ve hücre zarı yapısında meydana gelen değişimler hücre zarı akışkanlığının değişmesine ve hücre zarına bağlı enzimlerin yapı ve aktivitelerinin değişmesine neden olduğuna belirtilmektedir.

Metaller hücre içinde serbest radikal oluşumunu indükleyerek dolaylı yoldan lipit peroksidasyonuna, nükleik asitlerin zarar görmesine, klorofil parçalanmasına ve fotosentezin inhibisyonuna neden olabilir. Metaller farklı yollardan serbest radikal oluşumu üzerinde etkili olabilmektedirler.

Bazı bitkiler rizosferdeki pH değerini artırarak, metal alınımını azaltacak yöntemler geliştirmişlerdir. pH değeri arttığında, metallerin hareketliliği (mobilitesi) azalmaktadır. Bazı organik asitlerin rizosfere verilmesi ve burada metallere bağlanması (şelasyonu), metal alınımının azalmasına neden olabilmektedir. Bitkilerde oluşan metal zararını engelleme mekanizmasına bakıldığında bünyeye alınan metal iyonlarının serbest formda veya kompleks halde tekrar rizosfere geri verilebildiği belirlenmiştir.

Çinko (Zn) elementinin bitkideki fonksiyonuna bakıldığında, Mg ve Mn gibi pek çok enzim reaksiyonunda görev almaktadır. Karbonik anhidras enzimi aktivitesini sağlar. Bitkilerde çinkonun yeterlilik düzeyi 15-20 ppm arasındadır. Yüksek miktarda çinko bazı bitkilerde demir noksanlığına sebep olabilir. Yer kabuğunda bulunan çinko konsantrasyonu; ortalama 80 mg/kg civarındadır (Goldschmidt, 1954).

Bitkiler fazla metal iyonlarını, duyarlı metabolik aktivitelerin olmadığı hücre yapılarında ve organellerinde biriktirebilir. Bu bölgelerden biri hücre duvarıdır. Hücre duvarı matriksi, katyon değiştirme bölgesidir. Ayrıca metallerin çeşitli oranlarda biriktirebilirler ve bazı metallerin dışarı verilmesini sağlarlar. Yapılan çalışmalar ile bitkilerin, yüksek derişimlerde metallere (Cr, Co, Ni, Zn, Cu, Mo, Cd ve Pb) maruz kaldıklarında bu metalleri ekstrasellular karbonhidratların bulunduğu bölgelerde ve hücre duvarında biriktirdikleri literatürde yer alan çoğu çalışmanın çıkış noktasını oluşturmaktadır. Metallerin biriktirildiği diğer önemli bölge ise hücre vakuolleridir. Bitkilerde metalleri taşıma ve biriktirmede ligandların rol aldığı saptanmıştır.

Çeşitli kaynaklardan yaygın kirlenme nedeni oluşturan, çevresel koşullara bağlı olarak farklılık gösteren, biyolojik sistemler üzerinde etki gösteren ve besin zinciri ile canlılarda birikim oluşturmaları nedeniyle ciddi bir kirlilik oluşturan metaller sulu çözeltilerde (+) yüklü iyonlar (katyon) olarak bulunur. Hücrelerde negatif yüklü yani elektron verici bölgelere (sülfür, oksijen ve azot atomları) sahip yapısal ve işlevsel moleküllere bağlanabilirler.

Bilinen elementlerin büyük çoğunluğu tepkimelerde elektron verme eğiliminde olan metallere oluşmaktadır. Yoğunluğu 5 g/cm³ üzerinde metaller için ağır metal terimi kullanılır.

Çinko ve titanyum metal yoğunluğu sırasıyla 7.1 g/cm^3 ve $4,506 \text{ g/cm}^3$ olup, çalışma kapsamında incelenen nanopartiküller ZnO ve TiO₂ olarak oksit ve toz formdadır. Bütün metaller belirli bir derişim ve üzerinde canlılar için zararlıdır. Daha düşük birincil tanecik boyutu ve daha büyük spesifik yüzey alanına sahip nanopartiküllerin daha iyi çözüldüğü görülmektedir (Han ve ark., 2014).

İnsanoğlu varoluşunda günümüze bitkileri hayatın birçok alanında kullanmakta ve bitkilere ihtiyaç duymaktadır. Yaşam döngüsünün önemli bir parçası olan hayvanların yaşamları da bitkilere bağlıdır. Dünya nüfusunun hızla artması ile bitkilere olan ihtiyaç hızla ve kompleksleşerek artmaktadır (Alpaslan ve ark., 1998).

Nanopartiküllerin antropojenik kaynaklı bir kirletici olması nedeniyle doğaya salınımı, insan sağlığı ve yaşam üzerine olumsuz etkileri olabileceği ön görülmektedir. Bu nedenle de nanopartikül ve biyolojik süreçler arasındaki ilişkinin anlaşılması gün geçtikçe önemli hale gelmektedir. Bitkiler, hava ve toprak ortamı ile içli dışlıdır. Bu yüzden nanopartiküler bitki yüzeylerinde bulunan nano veya mikro metrelik açıklıklardan geçerek adsorbe edilebilir. Bitkilerin bünyesine giren ve birikim sonucunda kalıcı hale gelen nanopartikülerin, besin zinciri ile insanların sofralarına daha sonra da bünyelerine alınabileceği düşünülmektedir (Dietz ve Herth, 2011).

Jovanovic ve Guzman (2014) yayınladıkları nanopartikül etki değerlendirme çalışmalarında, çevreye saçılan nanopartiküllerin gelecekte küresel ısınmaya ve diğer çevresel streslere neden olabileceği düşünülmektedir (Jovanovic ve Guzman, 2014).

Nanopartikül alımı bitkilerde farklı yolları takip ederek gerçekleşebilir. Nanopartiküllerin bitki bünyesine alım hızlarının, nanomalzemelerin boyut ve yüzey özelliklerine bağlı olarak farklılıklar gösterebileceği ön görülmektedir. Nanomalzemelerin, bitki metabolizması ve gelişimi üzerindeki etkileri nanopartiküllerin boyut, konsantrasyon ve kimyasal özelliklerine bağlıdır.

Biyolojik sistemler ve nanopartiküller arasındaki ilişki ile ilgili aşağıda yer alan beş başlık önem arz etmektedir. Buna göre;

(i) Sistem çözeltisi içinde bulunan metal iyonlarının kimyasal etkilerinin oluşturduğu farklılıklar, nanopartiküllerin çözünme değerini etkiler.

(ii) Nanopartiküllerin oluşturduğu mekanik etkiler, partiküllerin sahip olduğu yapı, şekil ve yüzey farklılıkları sonucu oluşur.

(iii) Canlı ve malzeme yüzeyleri arasında katalitik etkiler oluşabilir.

(iv) Oksidatif etkiler sonucu, nanopartiküller kovalent olmayan veya kovalent mekanizmalar ile canlı yüzeyinde bulunan protein gibi yapılara bağlanabilir.

(v) Ortamın pH, sıcaklık ve nem değerleri bu ilişkiyi doğrudan etkileyen bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Hücrelere nanopartikülün penetrasyonu, malzemelerin şekline, yüzey alanı, fizikokimyasal özellikleri oluşturabileceği bağlara ve yüzey kimyasına bağlı olarak değişir. Bununla birlikte, metal ve metal oksit nanopartiküllerin iyonlaşarak toksik etkiler oluşturabilir. Atmosfer ve toprak ortamında nanopartiküllerin beklenen veya tahmin edilen konsantrasyonları oldukça düşüktür. Ancak bitki yüzeyi ile nanopartiküller arasındaki etkileşiminin, artan üretim hacmine bağlı olarak kaçınılmaz hale geleceği ortadadır. Bu etkileşim ile çoğunlukla toksik olmayan veya lokal etkiler ortaya çıkmaktadır. Mekanik etki anlamında bakıldığında ise nanopartiküllerin boyutu ve yüzey kimyası ön plana çıkmaktadır. Buna göre, nanopartiküller bitki hücrelerinin porlarını tıkayarak su ve besin alışverişini etkileyebilir (Dietz ve Herth, 2011; Rico ve ark., 2011; Garcia ve ark., 2011).

Nanopartiküller, bitki kök açıklıkları veya bitkinin kök hücrelerini tıkayarak, hem hidrolik iletkenlik hem de besi maddesi alımını engeller. Böylece bitkilerin gelişimi olumsuz yönde etkilenebilir. Bunun en önemli nedeni de bitki hücrelerinin hayvan hücrelerinden farklı olarak, 5-20 nm çapında büyüklüğe sahip por açıklıklarının yarı geçirgen hücre duvarına sahip olmasıdır. Bitkiler çevreden aldıkları nanopartikülleri vasküler sistem ile diğer üst organlara taşınmasını sağlar. Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalar nanopartiküllerin hücre duvarında yeni veya daha büyük porlar oluşturabildiklerini ortaya koymuştur (Du ve ark., 2011; Rico ve ark., 2011).

Hayvan hücrelerinden farklı olarak bitki hücreleri farklı genişlikte değişen por büyüklüğüne sahip hücre duvarları vardır. Tüm bitki kökleri, H⁺ iyonunu dışarıya vererek, mikronütrientlerin çevreden bitki içerisine alınmalarını sağlar ve kök etrafındaki bölgenin pH değerinin düşmesine neden olur (Rabatic ve ark., 2006; Monshausen ve ark., 2007).

Tarımsal bitkiler ile gerçekleştirilen toksisite değerlendirme çalışmalarında değişen faktörlere bakıldığında; nanopartikülerin parçacık boyutu ve özgül yüzey alanı, fizikokimyasal özellikler ile birlikte bitkinin çeşidi, bitkisel yaş/yaşam döngüsü, büyüme ortamı, nanopartikül kararlılığı ve seyreltme maddesi konsantrasyonu da göz ardı edilmemelidir (Rico ve ark., 2011).

Nanomalzemelerin çoğu için çevresel açıında hassasiyet gösterilmesi gereklidir. Bu yeni teknolojiye sahip ürünlerin özelliklerinin son derece karmaşık olması nedeniyle, çevresel etkilerinin ve akıbetlerinin parametrik olarak değerlendirilmesi zordur (Garcia ve ark., 2011).

Literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında çevresel koşulların, iyon konsantrasyonu değişimine etkisi olabileceği görülmektedir. Sadece belirli koşullarda yetiştirilen bitkilerin gerekli ve iz elementleri absorbe edebileceği ve buna bağlı olarak da toksisitenin etkili olduğu konsantrasyonun değişebileceği söylenir. Bu nedenle de bir ürün olarak piyasaya sunulan herhangi bir nanopartikülün, besin zinciri üzerindeki muhtemel etkileri ile ilgili yeterli bir bilginin kapsamlı olarak değerlendirilmesi veya sunulmasının güçleştiği söylenebilir. Nanopartiküllerin biyoakümülyasyonu, biyotransformasyonu ve oluşturdukları risklerin değerlendirilmesi çeşitli tarla bitkileri ve ürünleri için hala tam olarak açıklanamamış değildir. Az sayıda bitki ve az çeşitlilikte nanopartikül için yapılan çalışmaların çoğu bitkilerin erken dönem büyüme süreci olan tohumdan çimlenmesi veya ilk 15 günlük gelişme dönemini kapsamaktadır. Bununla birlikte az sayıda gelecek nesil ürünleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışma bulunmaktadır.

Nanopartiküller tohum çimlenmesini ve kök büyümesini engelleyebilir. Bu kapsamda yapılan ve en çok atıf alan çalışmalar arasında Lin ve Xing'in 2007 yılında yayınlanan çalışmaları yer almaktadır. Buna göre çok duvarlı karbon nanotüpler, alüminyum, alumina, çinko ve çinko oksit nanopartiküllerinin turp, şalgam, delice otu, marul, mısır ve salatalık üzerindeki fitotoksik etkileri tohum çimlenmesi ve kök uzanımı ile değerlendirilmiştir. 2000 mg/l seviyesinde tohum çimlendirmesinde nano-Zn partiküllerinin delice otu üzerinde, nano-ZnO partiküllerin mısır üzerinde etkisi görülmemiştir. Özellikle Zn ve ZnO metal nanopartiküllerinin tohum çimlenmesi ve kök uzanımını engelleyici etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Yüksek yapılı bitkilerde fitotoksisite değerlendirmesi yapılırken nanopartiküller için kapsamlı bir toksisite profilini geliştirmek gereklidir. Hassasiyet, basitlik, düşük maliyet ve zararsız kimyasallar veya numuneler için uygunluğu gibi birçok avantaja sahip olması nedeniyle tohum çimlenmesi ve kök uzanımı akut fitotoksisite testleri arasında en sık ve en yaygın şekilde kullanılan yöntemdir. Çimlenme tohumların suyu emmesiyle başlayan ve kökçüklerin ortaya çıkması ile sonuçlanan fizyolojik bir süreçtir.

2008 yılında yayınlanan Lin ve Xing'in çalışmasında, ZnO nanopartiküllerinin çavdar otu (*Lolium perenne*) bitkisinde, hücreye alımı ve bitki bünyesine dağılımı incelenmiştir. Buna göre ZnO nanopartiküllerinin çözünerek toksisiteye katkı yaptıkları belirlenmiştir. Topraksız kültür ortamında Zn^{2+} iyonları ve ZnO nanopartiküllerinin, bitki kökünden alımını ve fitotoksisitesi karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir. Bitki kökünden nanopartiküllerin alımı ve fitotoksisite ışın, elektron ve geçirimli elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmiştir. ZnO nanopartiküllerinin çavdar otunun biyokütlesini önemli ölçüde azalttığı, kök uçlarının yüzey alanını küçüldüğü ve kök epidermal ve kortikal hücrelerini daralttığı belirlenmiştir. Yapılan ICP-OES ölçümleri ile ZnO nanopartiküllerinin toksisite eşiğinin Zn^{2+} iyonlarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, kökten gövdeye az miktarda çinko taşındığı tespit edilmiş olup, kök hücrelerinde partiküllerin önemli birikim oluşturduğu ve kök dokuda bağlanmalar yaptığı belirlenmiştir.

TiO₂ nanopartiküllerin oluşturduğu ekotoksikolojik risklerin değerlendirilmesi ile ilgili çalışma sayısı, üretilen ve üretim anlamında gerçekleştirilen çalışmaların sayısının yanına dahi yaklaşamaz.

Buna göre, Larue ve arkadaşlarının 2012 yılında yayınlanan çalışmalarında, antaz ve rutil olmak üzere farklı formlara sahip, boyutları 12-655 nm aralığında değişen TiO₂ nanopartiküllerinin buğday bitkisi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Buğday kök kısımlarındaki birikimler ve kök-sürgün taşınım oranları karşılaştırılmıştır. Birikimler çimlendirmeyi, biyokütleyi ve terlemeyi etkilememiş olup, 140 nm üzerindeki boyuta sahip nanopartiküllere maruz kalmış buğday bitkilerinin sürgün kısımlarına nanopartiküllerin geçiş yapamadıkları belirlenmiştir. Ayrıca buğday bitkilerinin başlangıç gelişim aşamasında kök uzunluğunun artmasını sağlamıştır. Kullanılan bitkiler kalın, sert, hidrofobik ve 5 nm çapında porlu yapıda hücre duvarlarına sahiptir. TiO₂ nanopartiküller düşük boyutları nedeniyle bitki kök hücre açıklıklarında birikir. Hücre duvarından daha büyük boyuta sahip nanopartiküllerin de birikim oluşturduğu belirlenmiştir.

Lin ve Xing'in 2008 yılında yayınlanan çalışmalarında, ZnO nanopartikülüne maruz kalan bitki köklerinde büzüşmeler olduğu, vakuolizasyonu ve ölümler gerçekleştiği ortaya koymuşlardır.

Yığın ve nano forma sahip, ZnO ve TiO₂ partiküllerinin buğday bitkisi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan başka bir çalışmada 250, 500, 1000 ve 2000 mg/l konsantrasyonlar ile tohum çimlenmesi, sürgün-kök uzanımı, mitotik hücre indeksi, fotosentetik pigment ve toplam protein içeriği değerleri karşılaştırılmış olup, partiküllerin tohum çimlenmesi, sürgün-kök büyümesi ve hücre bölünmesi üzerinde bir etkisi görülmemiştir. Ancak ZnO nanopartiküllerine maruz kalan bitkilerde klorofil ve protein içerikleri belli bir şekilde arttığı, diğer partiküller için ise böyle bir değişime rastlanmadığı belirlenmiştir (Ramesh ve ark., 2014; Navarro ve ark., 2008).

Titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartiküllerinin tarla ortamında buğday büyümesi ve toprak enzim aktivitesi üzerine yapılan bir başka çalışmada, TiO₂ nanopartiküllerinin öncelikli olarak buğday bitkisi hücre duvarında tutulduğu belirlenmiştir (Du ve ark., 2011).

Buna karşın ZnO nanopartikülleri toprakta çözünerek, buğdayın toksik seviyede çinko metali alımını artırmıştır. Nanopartiküller veya çözünen iyonlar, toprak ekosistemi için son derece toksik etkiler oluşturabilir (Du ve ark., 2011).

Toprak ekosisteminde nanopartiküllerin taşınım ve biyoakümüasyonu, bitkiler ve besin zinciri için önemlidir. Tarihsel olarak bitkiler, yüksek ökaryotlarda mutagenез etkilerinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalarda indikatör organizma olarak kullanılmıştır.

Bu anlamda *Allium* kök kromozomal sapma testi, çevresel etkisi oluşturabilecek kimyasalların değerlendirilmesinde veya genotoksisitenin belirlenmesinde Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) ve Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) tarafından etkin ve standart test olarak kabul edilmiştir. *Allium cepa* 1920'li yıllardan bugüne kadar kromozomal bozuklukların değerlendirilmesinde indikatör bitki olarak kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin toksisitesini değerlendirilirken; (1) kimyasal toksisite veya serbest (toksik) iyonların kimyasal bileşim, (2) parçacıkların yüzey, boyut ve şeklinin oluşturduğu stres önemlidir. Bu durum hücre kültürlerinin doz yanıt ilişkisi ile de örtüşmektedir (Kumari ve ark., 2009).

Nanopartiküller, bitki tohumlarının çimlenmesini engellemek ile birlikte, bitkilerin büyümesini etkileyerek bodur kalmalarına, canlı kütesinin artmasını engeller ve bitki kök uç hücrelerinde deformasyona neden olurlar. Nanopartikül içeren hidroponik solisyonların ortama eklenmesi ile sağlam fidelerin primer köklerini etkileyerek, yaprak büyümesi ve terlemeyi kısıtlar. Nanopartiküllerin toksik etkileri bir tarafa, kullanılan nanopartiküllerden kaynaklanan bitki bünyesindeki suyun azalması ve nano boyuta sahip hücre duvarları porlarını tıkayarak apoplastik akışı engellemektedir (Asli ve Neumann, 2009).

Çizelge 2.1.'de TiO₂ nanopartiküllerinin, Çizelge 2.2.'de Zn ve ZnO nanopartiküllerin, Çizelge 2.3.'de diğer metal ve metal oksit nanopartiküllerinin ve Çizelge 2.4.'de ise piyasada yer alan (diğer) farklı nanopartiküllerin çeşitli bitkiler üzerinde oluşturdukları maruziyetleri sonucunda ortaya çıkan etkileşimlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çeşitli bitkiler ile TiO₂ nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.

Yazar / Tarih	NanoP.	Bitki türü	Doz aralığı	Yapılan çalışma	Sonuçlar/Bulgular
JOSKO ve OLESZCZUK, 2013	ZnO, TiO ₂ ve Ni Nano ve yığın formları	<i>Lepidium sativum</i> (Tere)	0, 10, 100 ve 1000 mg/kg	Phytotoxkit Ftm metodu kullanılarak fitotoksosite değerlendirilmesi.	ZnO nanopartiküllerinde doz cevap etki ilişkisi ile nanopartiküllerin sinerjik etkileri sonucunda nano-ZnO'nin etkilerinin azaldığı belirlenmiştir.
LANDA ve ark. 2012	ZnO, Fullerene ve TiO ₂	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0-100 mg/l	7 günlük maruziyet ile bitki kökleri üzerindeki genetik etkilerin değerlendirilmesi	Nano-ZnO potansiyel çevresel riske, fullerene kısmen fitotoksik ve nano-TiO ₂ ise zayıf etkileri belirlenmiştir.
ASLI ve NEUMANN, 2009	Nano-TiO ₂	Mısır (<i>Zea mays</i> L.)	0-1 g/l	Kök hidrolik iletkenliği, yaprak ve kök büyüme oranları, terleme ve kök hücre duvarı gözenek boyutu ölçümü değerlendirilmesi.	Nanopartikül ölçülen her parametreyi doğrudan etkilediği uzun etki değerlendirmesi ile belirlenmiştir.
KUREPA ve ark., 2010	Nano-TiO ₂	<i>Arabidopsis thaliana</i>	0,1, 0,5, 2 ve 5 µM	Hücre kofulları ve çekirdeklerdende oluşan birikimler, optik ve X-ışını floresan mikroskopları kayıt altına alınmıştır	Nanopartiküllerin hücre duvarlarında geçerek bitki hücrelerine nüfuz ettiği ve belirli yerlerde birikim oluşturabildikleri belirlenmiştir.
JACOB ve ark., 2013	Nano-TiO ₂	Fasulye, buğday ve <i>E. canadensis</i>	0, 6, 18 mmol Ti/l ve 0 ve 12 mmol Ti/l	Kök ve diğer bitki bölümlerinde Fe, Mn, Mg ve Ti alımı ve taşınması değerlendirilmiştir.	8 tekrarlı, <i>E. canadensis</i> bitkisinin Fe, Mn ve Mg alımını etkilemiştir Köke sahip bitkilerin biyokütle üretimini TiO ₂ nanopartikülü etkilememiştir.
GAO ve ark., 2013	Anataz-nano-TiO ₂	<i>Ulmus elongata</i>	%0.1, %0.2 ve %0.4 sulu çözelti	<i>Ulmus elongata</i> tohumları üzerindeki etkileri ve Mg, K, Mn ve Cu alımları	Mg, K, Mn ve Cu alımları ile oluşan etkiler değerlendirilmiştir
LARUE ve ark., 2011	Nano-TiO ₂	Buğday, <i>Brassica napus</i> ve <i>Arabidopsis thaliana</i>	0, 10, 50, 100, 500, 1000 ve 2000 mg/l	Çeşitli görüntüleme, çimlendirme, kök uzanımı, kuru biyokütle ve solunum miktarları ile değerlendirilmesi.	Kullanılan nanopartiküllerin kök uzanımı ve çimlenme üzerinde bir etkisi görülmemiştir.
GHOSH ve ark., 2010	Nano-TiO ₂	<i>Allium cepa</i> ve <i>Nicotiana tabacum</i>	0-2 mM	Genotoksik uç noktaları, DNA komet analizi ve DNA laddering tekniği kullanılarak değerlendirilmesi.	Mikronükleus ve kromozomal anormallik azalma ilişkisi bulunur 0,25 mM seviyesinde genotoksik, daha yüksek dozlarda DNA hasarının azalma bulunmaktadır. Yığın TiO ₂ partikülleri 1.25 mM ve üzerinde genotoksik ve EC ₅₀ nano-TiO ₂ için ~4mM olarak belirlenmiştir.
KLANCNIK ve ark., 2011	Nano-TiO ₂	<i>Allium cepa</i>	0, 0.1, 1, 10, 100 ve 1000 µg/ml	Bitkilerin makroskopik ve mikroskopik parametreler ile değerlendirilmesi.	Nano-TiO ₂ toksik olmadıkları ve herhangi bir etki konsantasyonu tespit edilememiştir.

Çizelge 2.2. Çeşitli bitkiler ile Zn ve ZnO ağır metal ve nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.

<u>Yazar / Tarih</u>	<u>NanoP.</u>	<u>Bitki türü</u>	<u>Doz aralığı</u>	<u>Yapılan çalışma</u>	<u>Sonuçlar/Bulgular</u>
ÇAVUŞOĞLU ve ark., 2009	Zn ve Cd ağır metal iyonları	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fasulye)	30 ve 70 ppm	7 günlük çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı ve mikronukleus sıklığı indikatör olarak kullanılmıştır	Doza bağlı olarak mikronukleus sıklığında artış görülmüştür. Cd, Zn iyonlarına göre daha toksik olduğu belirlenmiştir.
RASKAR ve LAWARE, 2014	Çinko oksit	<i>Allium cepa</i>	0, 10, 20, 30 ve 40 ppm	Hücre bölünmesi, çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkileri değerlendirilmesi	Doz artışı ile birlikte artan kromozomal aberasyon ve azalan mitotik indeks belirlenmiştir.
KUMARI ve ark., 2011	Nano-ZnO	<i>Allium cepa</i>	25, 50, 75 ve 100 µg/ml	Mitotik indeks, mikronukleus indeks, kromozomal sapma indeksi ve lipid peroksidasyon değerlendirilmesi.	Konsantrasyon artışı ile MI değerinde azalma olduğu ortaya konmuş olup, MN ve kromozomal sapma endeksi artışı belirlenmiştir.
RAO ve SHEKHAWAT 2014	Nano-ZnO	<i>Brassica juncea</i>	0, 200, 500, 1000 ve 1500 mg/l	Biyoakümülyasyon ve antioksidatif enzim aktivitesi üzerindeki etkilerin değerlendirilmesi	Prolin içeriği ve lipid peroksidasyon miktarı 1000 mg/l'a kadar kademeli olarak artmakta ve bitki biyokütlesinde ciddi bir azalma vardır. Farklı bitki dokuları için antioksidan enzim değerlendirilmeleri yapılmış ve ZnO birikimi belirlenmiştir.
LOPEZ-MORENO ve ark., 2010	Nano-ZnO ve Nano-CeO ₂	Soya fasulyesi	0, 500, 1000, 2000, ve 4000 mg/l	Tohumların çimlenmesi ve elemental alını, oluşan genotoksik etkilerin değerlendirilmesi	ICP-OES ile metal birikimleri değerlendirilmiş, 2000 mg/l ve üzeri dozlarda CeO ₂ in birikim ve genotoksik etkinin arttığı, ZnO etkilerin ise tolere edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir
POKHREL ve DUBEY, 2013	Citrat kaplı-nano-Ag ve nano-ZnO	Mısır ve kabak	0-1000 ppm	Öncül kök morfolojisi, metal biyo alımı, nem içeriği, çimlenme oranı, ve kök uzanımı değerlendirilmiştir.	Doz artışı ile olumsuz etkilerin belirlenmesi sağlanmıştır.
HERNANDEZ-VIEZCAS ve ark., 2011	Nano-ZnO	Mesquite ağacı	500 ile 4000 mg/l	Metal biyoalımı değerlendirilmiştir.	Kök ve yaprak vasküler sisteminde çinko varlığı ortaya konulmuştur.

Çizelge 2.3. Çeşitli bitkiler ile farklı metal ve metal oksit nanopartikülü maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.

<u>Yazar / Tarih</u>	<u>NanoP.</u>	<u>Bitki türü</u>	<u>Doz aralığı</u>	<u>Yapılan çalışma</u>	<u>Sonuçlar/Bulgular</u>
GHOSH ve ark., 2012	Gümüş nanopartikül leri	<i>Allium cepa</i> ve <i>Nicotiana tabacum</i>	0, 25, 50 ve 75 ppm	<i>in vivo</i> koşullarda DNA hasarları değerlendirilmesi	Kök hücrelerinde sürgün ve yaprak hücrelerine göre daha belirgin genotoksik etkiler belirlenmiştir.
SOLGI ve ark., 2009	Gümüş nanopartikül leri	Jerbera çiçeği (<i>Gerbera jamesonii</i> cv. 'Dune')	5, 10 ve 20mg/l	Nano-gümüşün çiçeklerin vazo yaşamı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi.	Çiçeklerin yaş ağırlıklarında zaman bağlı artış belirlenmiştir.
LEE, ve ark., 2012	Nano-Ag	<i>Phaseolus radiatus</i> ve <i>Sorghum bicolor</i>	0, 10, 20, 30, 40 mg/l ve 0, 200, 400, 600, 800, 1000, 2000 mg/kg	Etkiler agar ve toprak ortamlarında değerlendirilmiştir	Toprak ortamına salınımı sonucunda Ag nanopartiküllerin etkilerinin azaldığı belirlenmiştir.
KUMARI ve ark., 2009	Nano-Ag	<i>Allium cepa</i>	25, 50, 75 ve 100 ppm	Kök uç hücrelerinin mitotik indeks, mitotik faz hücre dağılımı, kromozomal anormallikler gibi hasarların değerlendirilmesi	Mitotik indeks (MI) % 60.3 olup, artan konsantrasyon ile %27.62'e kadar düştüğü belirlenmiştir.
GARCIA ve ark., 2011	Seryum oksit (CeO ₂), TiO ₂ ve demir oksit (Fe ₃ O ₄) nanopartikül leri	<i>Lactuca sativa</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Spinacia oleracea</i> , <i>Allium porrum</i> ve <i>Capsicum annuum</i>	0, 0.64, 0.32, 0.13 ve 0.064 mg/ml	Yirmi kök kullanılarak 25 °C'da çimlenme yüzdeleri ve kök uzanımları üçer tekrarlı olarak değerlendirilmiştir	<i>Allium porrum</i> ve <i>Capsicum annuum</i> tohumlarında çimlenme gerçekleşmemiştir. Yapılan tüm denemelerde seryum oksit nanopartikülleri yüksek toksisite göstermiştir.
KOCE ve ark., 2013	TiO ₂ ya da SiO ₂ nanopartikül leri	<i>Allium cepa</i>	0.1, 1, 10, 100 ve 1000 µg/ml,	Oksidatif stresi, antioksidan enzim glutasyon rediktaz, askorbat peroksidaz (A-POD), gayakol peroksidaz (G-POD), katalaz (CAT) ve lipid peroksidasyon ölçümleri	Maruziyet süresi 24 saat olup, Nano-SiO ₂ adsorpsiyonları düşük, nano-TiO ₂ adsorpsiyonu kayda değer boyutta olduğu belirlenmiştir.
PEREIRA ve ark., 2011	TiO ₂ , TiSiO ₄ , CdSe/ZnS kuantum dot, Fe/Co, altın nanorod	<i>Vibro fischeri</i> ve <i>Salmonella typhimurium</i>	100% 50% 25% 12.5% 6.25% µM	Toprak ortamında toksisitesinin ve genotoksitesinin değerlendirilmesi	Doz artışı ile toprakta toksisitesinin arttığı belirlenmiştir.

Çizelge 2.4. Çeşitli bitkiler ile piyasada yer alan (diğer) farklı nanopartiküllerin maruziyetleri sonucu ortaya çıkan etkileşimlerin ve maruziyetlerin değerlendirildiği çalışmaların özeti.

Yazar / Tarih	NanoP.	Bitki türü	Doz aralığı	Yapılan çalışma	Sonuçlar/Bulgular
YANG ve WATTS, 2005	Fenatren ile kaplı ve kaplı olmayan nano-Al ₂ O ₃	Mısır, salatalık, soya fasulyesi, lahana ve havuç	20, 200 ve 2000 µg/ml	Tohumlarının çimlendirilmesi ve kök uzanımları değerlendirilmiştir.	Alümina partiküllerini havucun kök uzamalarını inhibe ettiği belirlenmiştir.
NALWADE ve BONAWATE, 2014	Karbon nano malzemeleri	<i>Allium cepa L.</i>	0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml	Tohum çimlenmesi ve çimlendirilmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.	80 µg/ml karbon nanomateryal seviyesinde tohum çimlenmesinde artış olduğu belirlenmiştir.
STAMPOULIS, ve ark., 2009	Çok duvarlı karbon nanotüp, Ag, Cu, ZnO ve Si nanopartikül ve yığın formları	Sakız kabağı	0-1000 mg/l	Tohum çimlenmesi, kök uzanımı ve biyobirikimi değerlendirilmiştir. 15 günlük hidrofonic çözeltilerde denemeler gerçekleştirilmiştir.	Elde edilen sonuçlar değerlendirme için yeterli hassasiyette değildir.
ANDRADE ve ark., 2014	Çok duvarlı karbon nanotüpleri	<i>Allium cepa</i>	20, 50 ve 500 ppm	Genotoksikite/mutajenite testleri ile DNA hasarları değerlendirilmiştir.	Genotoksik veya mutajenik etkilere rastlanmamıştır.
KO ve KONG., 2014	CuO, TiO ₂ , NiO, Fe ₂ O ₃ , ZnO, ve Co ₃ O ₄	<i>Raphanus sativus</i> , <i>Lactuca sativa</i>	0-500 mg CuO/l, 0-1,000 mg NiO/l, 0-200 mg ZnO/l, 0-10,000 mg TiO ₂ /l, 0-1,000 mg Fe ₂ O ₃ /l, 0-200 mg Co ₃ O ₄ /l	Çevresel toksisite tohum çimlendirmesi ile değerlendirilmiştir.	<i>Lactuca</i> türü <i>Raphanus</i> 'e göre daha hassastır. Çimlenme üzerindeki etki ve toksiklik CuO>ZnO>NiO>Co ₃ O ₄ , Fe ₂ O ₃ olarak değiştiği belirlenmiştir.
LEE ve ark., 2010	nAl ₂ O ₃ , nSiO ₂ , nFe ₃ O ₄ ve ZnO	<i>Arabidopsis thaliana</i>	400, 2000 ve 4000 mg/l	Tohum çimlenmesi, kök uzanımı ve yaprak sayısının değerlendirilmesi.	ZnO daha çok fitotoksik, diğer nanopartiküller ise toksik olmadıkları belirlenmiştir.
GHODAKE, ve ark., 2011	Kobalt ve çinko oksit nanopartikülleri	<i>Allium cepa</i>	5, 10, 20 mg/l (ppm)	Kök uzanımı, kök morfolojisi ve hücre morfolojisi üzerindeki etkileri ile adsorpsiyon potansiyelleri değerlendirilmiştir.	Kök sisteminde kobalt oksit nanopartiküllerinin kitlesel adsorpsiyonu fitotoksikitenin oluşmasına neden olmuştur. ZnO-nano ciddi birikimi ile hücre ve kromozomal modüllerin hasarına neden olduğu belirlenmiştir.

Çevreden alınan nanopartiküllerin bitkilerin dolaşım sistemi ile çeşitli sürgün veya diğer organlara taşınabileceği belirlenmiştir. Nanopartiküllerin alınımının verimli ve sistematik olarak değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar son zamanlarda ön plana çıkarak bu çalışmaların paralelliğinde gerçekleştirilen etki değerlendirme çalışmaları ile nanopartiküllerin akıbetlerinin değerlendirilmesinde daha doğru sonuçlar verebileceği ön görülmektedir (Kurepa ve ark., 2010).

Besin zincirinin temel taşı olarak kabul edilen bitkiler ile yapılan önemli ve öne çıkan çalışmalara bakıldığında, çeşitli özellik ve boyutlara sahip ve tez çalışması için önem arz eden (özellikle) titanyum dioksit, çinko oksit ve diğer nanopartiküller değerlendirilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalar, çalışmada kullanılan bitki türü, değerlendirilen doz aralığı, çalışmanın etki ve sonucu şeklinde ilişkilendirilmiş ve çizelgelerde değerlendirilmiştir.

Literatürde yer alan ve önceki yıllarda gerçekleştirilen uzun süreli etki değerlendirme çalışmalarına bakıldığında, özellikle son bir veya iki yılda yayınlanan çalışmaların bu konuya gösterdikleri önem dikkat çekmektedir.

Yoon ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınlanan çalışmalarında, ZnO nanopartiküllerinin soya fasulyesi bitkisinin büyüme, gelişme ve üreme dönemi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışma nanopartiküllerin uzun süreli etki değerlendirme çalışmaları arasında önemli bir yere sahiptir. ZnO nanopartikülleri 0, 50 ve 500 mg/kg konsantrasyonlarla kuru topraklara dozlanmıştır. Sera koşullarında soya fasulyesi 8-9 haftada yetiştirilmiştir. Her 3 günde bir N içermeyen Hoagland solisyonu (pH 6.0) veya şebeke suyu ile bitkiler sulanmıştır. Mikrokozmosun 25-30 °C sıcaklıkta olması sağlanmış ve her gün saksılar yer değiştirilmiş veya döndürülmüştür. Deney süresi 500 mg/kg grubu için 57 gün, kontrol ve 50 mg/kg grupları için 65 gün olarak belirlenmiş ve bu süre sonrasında hasat işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubu ile nanopartiküle maruz kalan bitkiler kıyaslandığında, kök ve sürgünlerin konsantrasyon artışıyla birlikte uzanımlarının azaldığı, daha düşük yüzey alan ve hacimlere sahip oldukları belirlenmiştir. Kök uzanımları, 50 ve 500 mg/kg ZnO içeren topraklarda yetiştirilen bitkilerde sırasıyla yüzde onluk ve seksen dokuzluk azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak, kök uzanımı için EC₅₀ değeri 160 (141-182) mg/kg olduğu belirlenmiştir.

Kök yüzey alanı ve hacimlerine göre ise EC₅₀ değerlerinin sırasıyla, 156 (135-180) ve 151 (128-177) mg/kg olduğu belirtilmiştir. Sürgün uzanımına göre değerlendirildiğinde ise bu değer 227 mg/kg, yüzey alanına ve göre yüzey hacmine göre ise sırasıyla 192 (166-222) ve 165 (145-188) mg/kg olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak 500 mg/kg doza sahip topraklarda yetiştirilen bitkilerden döl alınamamıştır. Bu da ZnO nanopartiküllerinin bitki gelişimi basamağına ket vurduğu ve soya bitkisinin üretkenliğini negatif olarak etkilediğini göstermiştir.

Buna ek olarak, Ge ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin toprak mikrobiyal biyokütlesini, çeşitliliğini ve kompozisyonunu negatif yönde etkilediğini rapor etmiştir. Ayrıca 2009 yılında yayınlanan başka bir çalışmada, ZnO nanopartiküllerinin toprak mikrobiyal çeşitliği azalttığını ve buna bağlı olarak mısır bitkisinin biyokütlesini mikrokozmos ölçeğinde azalttığını ortaya koymuştur. Çalışmada kontrol ve 50 mg/kg ZnO nanopartikülü içeren topraktaki bitkilerin benzer durumda olduklarına dikkat çekilmekte olup, 500 mg/kg ZnO nanopartikülü içeren toprakta yetiştirilen soya bitkilerinde solma, sararma ve nokta oluşumları gözlemlenmiştir (Kim ve ark., 2009). Bu ve benzeri koşullarda bitki gelişim basamaklarının önemli ölçüde etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konulması önemlidir (Yoon ve ark., 2014).

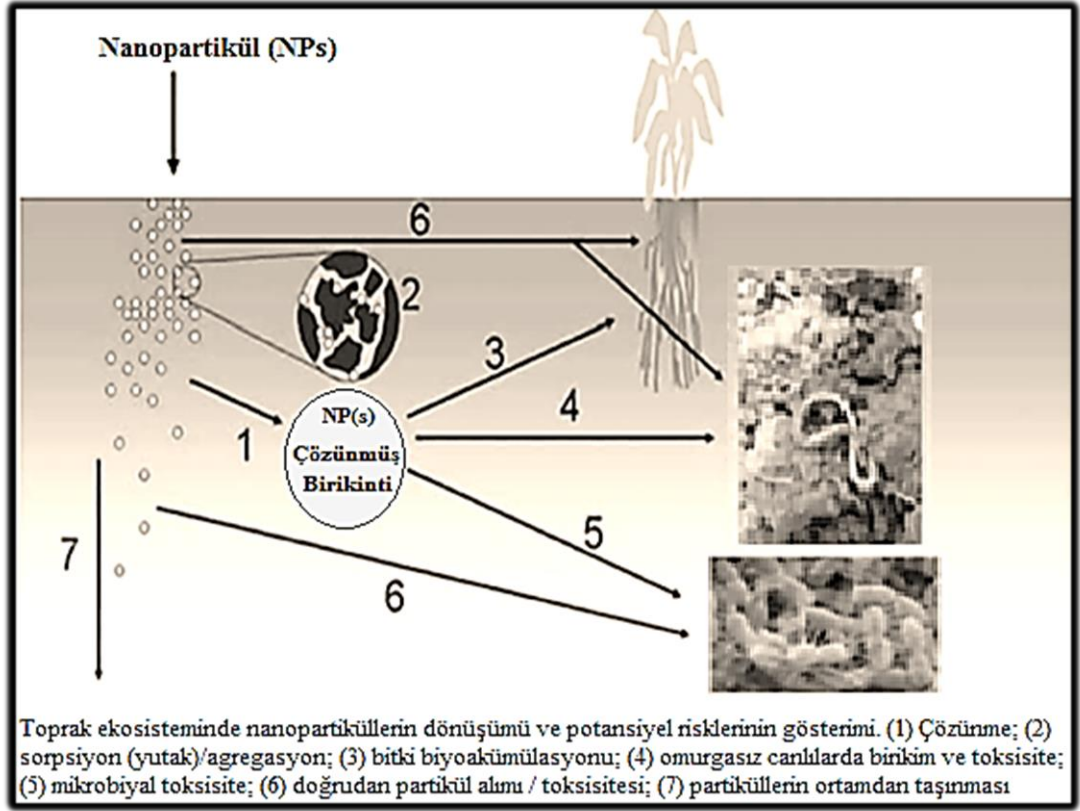
Yapılan saksı çalışmalarına diğer bir örnek ise, *Justicia Jendaracia* özütü kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin, *Vigna mungo* (siyah mercimek) bitkisi üzerindeki ekotoksikite çalışması olup, saksılar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin etkileri 30 gün süresince ve sonrasında sürgün uzanımı, yaprak yüzey alanı ve yaprakların içerdiği klorofil parametreleri ile değerlendirilmiştir.

Çalışmada bitkilerin atmosfer veya karasal aktiviteler sonucu mantar ve algler kadar nanopartiküllere de maruz kalabileceği ön görülmekte olup, hava kaynaklı nanopartiküller yapraklara temas ederek veya tutunarak bitki gelişimini etkileyebileceği veya nanopartiküllerin bitki kök yoluyla da suda çözünmüş olarak bitkiye alınması ile çeşitli etkiler oluşturabileceği düşünülmektedir (Namasivayam ve ark., 2014).

CeO₂ nanopartiküllerinin akut etkileri araştırılmakta olup, uzun süreli etkileri hala merak konusudur. 10 mg/l konsantrasyon seviyesinde, domates bitkisi üzerinde etkileri ile ikinci nesil tohumların gelişimleri üzerindeki etkiler ile değerlendirilmiştir. Buna göre elde edilen yeni nesil tohumların daha küçük, daha zayıf veya güçsüz ve önceki nesille göre daha düşük biyokütlelere sahip oldukları belirlenmiştir. İkinci nesil bitki köklerinde ise daha fazla miktarda seryum dioksite rastlanmıştır (Wang ve ark., 2013).

Nanomalzemelerin çevresel risk değerlendirilmesi yapılırken, sadece doğrudan hedef organizmalar üzerindeki toksisitenin değil, aynı zamanda da dolaylı veya potansiyel maruziyetlerin ve farklı metabolik yolların da ortaya konulması çalışmanın başarısı için önem arz etmektedir.

Al-Salim ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında, QD (quantum dot) nanopartiküllerinin (6.5 nm ortalama partikül boyutuna sahip) çevreden alınımı ve akıbetleri, topraktan bitkilerle alınımı ve toprak ortamında böcekler üzerindeki etkileri ile incelenmiştir. Çalışma kapsamında delice otu, soğan, *Arabidopsis thaliana* ve kasımpatı bitki indikatörü olarak, Leafroller larvaları da böcek indikatörü olarak kullanılmıştır. Böcek larvaları 2 ila 4 gün QD ile beslenmesi sonucunda karın bölgelerinde, dışkılarında ve az miktarda da hemolenflerinde floresans etkiler gözlemlenmiştir. Al-Salim ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma herhangi bir nanopartikülün besin zinciri üzerindeki etkisi anlamında, Şekil 2.2. ile de uyum göstermekte olup, bu konuda öne çıkan ayrıntılı çalışmalardan birisi olarak dikkat çekmektedir (Klaine ve ark., 2008).



Şekil 2.2. Bir nanomalzemenin toprak ortamına salınımı sonucunda (muhtemel) izleyeceği rotaların değerlendirilmesi. [Klaine ve ark., 2008]

Fitotoksisite çalışmalarının dışında literatürde, nanopartiküllerin atık haline geldikten sonra, oluşan bu atıkların bertarafı ve nanopartiküllerin yaşam döngü analizleri ile ilgili çalışmaların sayısında kayda değer bir artış olduğu görülmektedir. Nanomalzemelerin doğadaki durumu ve akıbeti ile ilgili öne çıkan bir çalışmada, 25 farklı endüstriyel ve kentsel katı atık depolama sahasından alınan sızıntı suyu, kontamine olmuş katı, sediment ve depolama sahası sızıntı suyu numunelerinde, potansiyel kolloid salınımı değerlendirilmiştir. Değerlendirilen tüm numunelerin içerdiği As, Ba, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, V ve Zn iyonları yani mikro kirletici içeriklerinin, 100 µg/l seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Zn iyonlarının kolloid formu daha yoğun orandadır. TEM-EDS (Transmission Electron Microscope-Energy Dispersive Spectroscopy) metodu ile TiO₂ gibi çeşitli nanopartiküllerin varlığı da ortaya konulmuştur (Hennebert ve ark, 2013).

Hızla kullanımı yaygınlaşan nanopartiküllerin insan sağlığı ve çevre üzerindeki zararları ile ilgili endişeler oluşmaktadır. Atıksu ortamından nanopartiküllerin giderimi için verimli yöntemlerin kullanılması gün geçtikçe önemli hale gelmektedir. Gözenekli ortam filtrasyonu, partikül maddelerin giderimi için kullanıla gelmekte olup, nanopartikül giderimi için de gelecek vaat etmektedir. Gerçekleştirilen bir çalışmada, floresan-çekirdek nano-silika (n-SiO₂) gözenekli yapının transferinin kontrolünün izlenmesi için geliştirilmiştir. Kum, aktif karbon ve diatom toprak yatak malzemesi olarak TiO₂ nanopartiküllerinin sucul ortamdan giderim verimleri değerlendirilmiştir (Rottman, 2012).

Ağır metaller, tıpkı Şekil 2.2.'de olduğu gibi, kolloidal adsorbsiyon ve iyon değişimi ile toprakta birikim oluşturarak toprağın biyoelverişliliğini olumsuz etkilemektedir (Algan ve Bilen, 2005). Ağır metal toksisitesi, bitkilerin büyüme ve gelişmesini yavaşlatarak, enzim aktivitesinde bozulmaya, kök hücrelerinde hasara, depolama faaliyetlerinin bozulmasına, fotosentez aktivitesinin gerilemesine, besin elementlerinin alımının yavaşlamasına ve ürün verimliliğinin düşmesine neden olduğu bilinmektedir (Yağdı ve ark., 2000; Ak ve Yücel, 2011).

3. NANOMALZEMELERİN ÖZELLİKLERİ

Nanopartiküllerin sundukları avantajlardan vazgeçilmeksizin oluşturdukları toksik durumların azaltılması veya toksik olmayan nanomalzemelerin üretilmesi için sayılı üretim yaklaşımı bulunmaktadır. Bu yaklaşımlardan biri nanopartiküllerin yüzeylerinin organik, polimerik, seramik malzemeler ile kaplanmasıdır. Böylece nanopartikül ve canlı yüzeyler arasında gerçekleşecek olumsuz etkiler olan penetrasyon veya birikimin önüne geçilebileceği ön görülmektedir (Nohynek ve ark. 2007; Warheit, 2004; Schins ve ark., 2002).

MicNo[®] üretim teknolojisi gibi bir yaklaşım ile üretilen nanomalzemelerin, piyasada yer alan nanomalzemere kıyasla daha az toksik özellikler göstermeleri amaçlanmakta ve nano boyuta sahip yapıların şekil ve boyut kontrollü olarak sentezlenmesi ile bu amacın sağlanabileceği ön görülmektedir (Yakaboylu, 2011). Sulu/susuz çözeltilerden çöktürme ve ardından homojen çekirdeklendirme işlemleri ile büyüme kontrollü sentez gerçekleştirilebilir. Sol-jel, polyol, hidrotermal ve solvotermal yöntemler büyüme kontrollü nanomalzeme sentezi yöntemleri arasındadır (Adair ve Suvacı, 2000; Sun ve Xia, 2002; Liao ve Liao, 2007).

Ticari ürün olan titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartikül toz formları ve MicNo[®] teknoloji ile üretilen, mikron boyutlu nano primer taneciklerden oluşan ve patentli ürünler olan, titanyum dioksit (MicNo-T[®]) ve çinko oksit (MicNo-Z[®]) nanopartiküllerinin toz formlarının çeşitli bitkilerin gelişimi üzerindeki kısa dönem etkileri değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

3.1. Çinko Oksit Nanomalzemeleri

Piyasada bulunan çinko oksit nanopartiküllerinin üretim metotları arasında yaş polimerizasyon metodu, sol-jel, sol-jel yanma, çöktürme, hidrotermal, kimyasal buhar biriktirme, mikrodalga desteli, sonokimyasal metot ve termal oksidasyon gibi çeşitli teknikler yer almakta ve istenilen özelliklere bağlı olarak nano boyuta sahip ZnO üretimi gerçekleştirilmektedir (Razali ve ark., 2011).

Çinko oksit tüm hayvan çeşitleri için güvenli bir çinko kaynağıdır. Çinko oksit deri ve göz için tahriş edici değildir. Bununla birlikte solunum sistemini üzerinde olumsuz etkiler gösterebilir. Çinkonun yüzey suları ile yıkanması sonucunda özellikle yer altı suları ile ilgili potansiyel çevresel etkileri hakkında endişeler bulunmaktadır. Geçiş metali olan çinko tüm canlı organizmalarda olması gereken bir iz elementtir ve tüm proteinlerin yapısının yaklaşık yüzde onu çinko olup, üçüncü derece yapılar veya katalitik aktivitenin sağlanması için gereklidir (E.F.S.A., 2012).

Üretim miktarı ve muhtemel doğaya saçılımı her geçen gün artan ZnO nanopartiküllerinin yaşam döngüsündeki yeri ve akıbeti ile ilgili çalışmaların önemi ve buna bağlı olarak sayısı her geçen gün artmaktadır.

3.1.1. Ticari çinko oksit nanomalzemeleri

Kullanılan ticari ZnO nanopartikül tozunun firmanın yayınladığı kataloglar ve malzeme güvenliği veri sayfası değerleri göz önüne alınarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ticari ZnO nanomalzemelerinin fizikokimyasal özellikleri hem nanomalzemelerin karakterizasyonu ile ilgili bölümde hem de sucul ve toprak ortamlarında yapılan çalışmaların yer aldığı bölümlerde yer verilerek karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

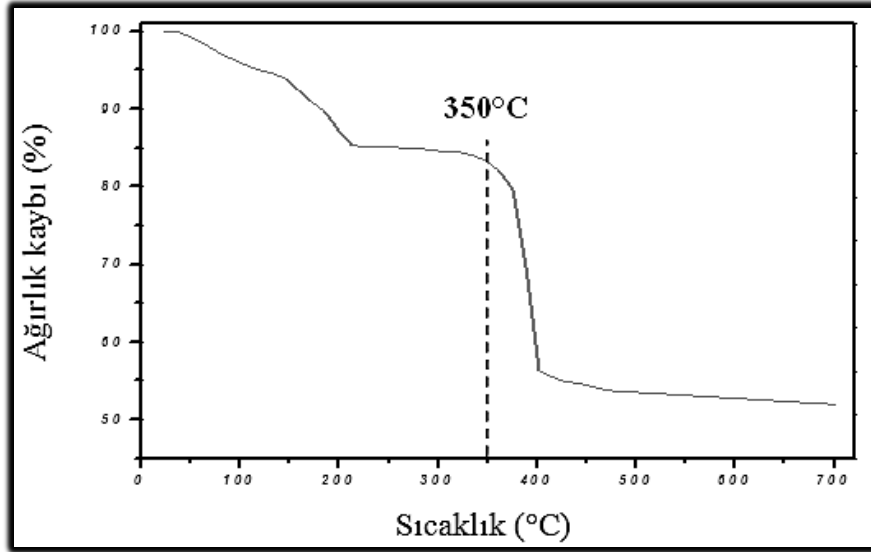
3.1.2. Patentli çinko oksit (MicNo-Z[®]) nanomalzemelerin üretimi

Mikron boyutlu plaka şekile sahip nanoboyutlu birincil taneciklerden oluşan ZnO partiküllerinin üretimi için solvotermal yöntem kullanılmıştır. Sentezin ilk aşamasında sistemde çözücü ortamı oluşturacak gerekli miktarda (150 gram) ve molaritede gliserin 120°C sıcaklığa kadar ısıtılmıştır.

Isıtma işlemi ile eş zamanlı olarak mekanik karıştırıcı kullanılarak 500 rpm'de karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık 120 °C'e ulaştığında gerekli olan 15 g ticari çinko oksit tozu (ZnO, % 99.0 - 100.5 saflık aralığında, Merck) sisteme ilave edilmiştir ve elde edilen çözelti hızlı olarak (5 °C/dakika ısıtma hızı ile) 260 °C'e ısıtılmıştır.

Tepe sıcaklığında çubuksu şekle sahip TiO_2 tozlarının sentezinden farklı olarak bu süreçte 1 saat süresince sentez işlemi devam ettirilmiş ve ardından solvotermal sentez sonlandırılmıştır. Sentez sonrası safsızlıklar ile sistemde kalan gliserinin uzaklaştırılması amacıyla 3 kez saf su ve 1 kez izopropanol ile karıştırılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir yıkama işlemi yaklaşık 30 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi sonrası solvotermal sentez yöntemi ile elde edilen tozlar oda sıcaklığında portatif çeker ocakta kurutulmuştur. Sentezlenen tozların kararlı ZnO formuna dönüşümü için gerekli kalsinasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TG/DTA) teknikleri kullanılmıştır.

Şekil 3.1.'de gösterilen TG eğrisine göre ağırlık kaybının en yüksek olduğu ve ZnO dönüşümünün gerçekleşmeye başladığı sıcaklığın $\sim 350^\circ C$ olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre solvotermal sentez yöntemi ile üretilen tozlar $350^\circ C$ 'de 1.5 saat süreyle kalsine edilmiştir.



Şekil 3.1. Termogravimetrik (TG) analiz tekniği ile solvotermal yöntemle sentezlenen tozlara ait sıcaklığa bağlı ağırlık kaybı grafiği.

Solvotermal üretim yöntemi ile sentezlenen, daha sonrasında kalsine edilen ZnO nanomalzemelerin karakterizasyon çalışmaları (TG/DTA, XRD, SEM, XRF, BET) gerçekleştirilmiştir (Özögüt, 2013).

3.2. Titanyum dioksit Nanomalzemeleri

Ticari olarak insanlığın hizmetine sunulan titanyum dioksit pigmenti genel olarak sülfat veya klorit süreçleri ile üretilmektedir. Titanyum dioksit üretiminde ana ham malzeme olarak ilmenite (FeO/TiO_2) kullanılmaktadır. Titanyum dioksit, yüzde doksan dokuz ve üzeri yüksek derece saflıkta üretilmektedir. Beyaz pigment olarak titanyum dioksit sahip olduğu, parlaklık ve yüksek refraktivite indeksi (>2.4) nedeniyle boya, kaplama, plastik, kağıt, mürekkep, fiber, gıda ve kozmetik ürünlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Kuznesorf ve Rao, 2006).

Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Kurulu'nun (F.D.A.) 2005 yılında ve Avrupa Birliği ülkelerinde Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi'nin (E.F.S.A.) 2004 yılında yayınlanan raporlarına göre titanyum dioksit partikülleri gıda ürünleri alanında geniş bir uygulamaya sahiptir. Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda ürünleri ağırlıkça %1'i geçmemek şartıyla titanyum dioksit içerebilir. Hindistan'da sakız ürünlerinde %1'den yukarı olmamak şartıyla ve meyve sularında 100 mg/kg aşmamak şartıyla titanyum dioksit içermesine izin verilmektedir. Japonya'da ise gıda boyası kullanımında belirli bir sınırlama uygulamamakla birlikte belirli gıdalarda titanyum dioksitin kullanımına izin verilmemektedir. 1995 yılında yayınlanan ve 2005 yılında revize edilen gıda katkı maddesi genel standartları el kitabına göre, hangi gıdalarda titanyum dioksitin yer alabileceği belirtilmiştir.

Demir, krom veya vanadyum kaynaklı safsızlıklar nedeniyle titanyum dioksit beyaz görüntüsünü kaybederek koyulaşabilir. Rutil formu, termodinamik açıdan titanyum dioksitin durağan formu olup, anataz 700°C üzerinde hızlıca rutil forma dönüşebilir. Titanyum dioksit, su, hidroklorik asit, seyreltik sülfik asit ve organik çözeltilerde çözünmezken, hidroflorik asitte ve yüksek ısıya sahip konsantre sülfürik asitte çözünebilir. Sucul alkali ortamda ise neredeyse çözünmez haldedir (Kuznesorf ve Rao, 2006).

Titanyum dioksitin gastrointestinal alanda veya cilde absorbe olmaması, yapılan solunum maruziyeti çalışmalarında yüksek konsantrasyonlarda dahi çok düşük yan etkiler göstermesi, epidemiolojik çalışmalarda herhangi bir kanserojen etkiye rastlanmaması çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Titanyum dioksitin çözünürlüğünün yok denilecek kadar az ve inert yapıda olması nedeniyle, belirli bir toksik etkiye sahip olmadığı ve JECFA (Gıda Katkı Maddesi Uzman Komitesi) (1970) yaptığı toplantıda alınan karara bakıldığında ise titanyum dioksitin bu özelliklerinden dolayı alımı konusunda herhangi bir limit değeri belirlenmediği görülmektedir (USEPA, 2005).

Su ortamında çözünmemeleri nedeniyle titanyum dioksit partikülleri düşük akut toksisiteye sahiptir. Buna ek olarak toprak ortamında yaşayan canlılar içinde belirli bir risk oluşturmamaktadır. Ancak değişen ortam koşulları ve kümülatif etki mekanizması ile bu durum farklılıklar gösterebilir.

3.2.1. Ticari titanyum dioksit nanomalzemeleri

Kullanılan ticari TiO_2 nanopartikül tozunun firmanın yayınladığı kataloglar ve malzeme güvenliği veri sayfası değerleri göz önüne alınarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ticari TiO_2 nanomalzemelerinin fizikokimyasal özellikleri hem nanomalzemelerin karakterizasyonu ile ilgili bölümde hem de sucul ve toprak ortamlarında yapılan çalışmaların yer aldığı bölümlerde yer verilerek karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Patentli titanyum dioksit (MicNo-T[®]) nanomalzemelerin üretimi

Çubuksu şekle sahip TiO_2 partiküllerinin üretimi için, titanyum oksisülfat hidrat ($TiOSO_4 \cdot xH_2O$) sulu çözeltisi gerekli molaritede hazırlanmış ve manyetik karıştırıcıda saf su içerisinde tamamen çözünene kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan 2 M potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi ilave edilerek, sistemin pH değerinin 8.4 ile 8.5 aralığında olması sağlanmıştır. Bu ilave ile birlikte çözeltinin bulandığı ve oda sıcaklığında hidroksit çöktürme işleminin gerçekleştiği gözlenmiştir.

İlavenin ardından manyetik karıştırıcı ile 30 dakika karıştırılarak, hem çöktürme işlemi tamamlanmış hem de sistemin homojenliği sağlanmıştır. Daha sonra hem safsızlıkların giderilmesi hem de çöktürülen hidroksit jelinin sistemden ayrıştırılması için santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi 3000 rpm'de onar dakikalık süreler ile 5 kez saf su kullanılarak tekrarlanmıştır. Bu işlem sonrası elde edilen hidroksit jeli 80°C sıcaklığındaki etüvde kurutulmuştur.

Solvotermal sentez işleminin birinci adımında, sistemde çözücü ortamı oluşturacak gerekli miktarda (250 gram) ve molaritede gliserin 120°C sıcaklığa ısıtılmıştır. Isıtma işlemi ile eş zamanlı olarak mekanik karıştırıcı kullanılarak 500 rpm'de karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Sıcaklık 120°C'ye ulaştığında gerekli olan 18.024 g hidroksit tozu sisteme ilave edilmiştir ve elde edilen çözelti hızlı olarak (~5°C/dakika ısıtma hızı ile) 260°C'ye ısıtılmıştır. Bu sıcaklıkta 10 dakika süresince sentez işlemi devam ettirilmiş ve ardından solvotermal sentez sonlandırılmıştır. Sentez sonrası safsızlıklar ile sistemde kalan gliserinin uzaklaştırılması amacıyla 4 kez saf su ve 1 kez izopropanol (C₃H₈O₃) ile karıştırılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından santrifüj işlemi ile hem son yıkama aşaması gerçekleştirilmiş hem de sentezlenen tozların ayrıştırılması sağlanmıştır. Yıkama işlemi sonrası solvotermal sentez yöntemi ile sentezlenen tozlar oda sıcaklığında portatif çeker ocakta kurutulmuştur. Sentezlenen tozların kararlı anataz (TiO₂) formuna dönüşümü için gerekli kalsinasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TG/DTA) teknikleri kullanılmıştır. TG/DTA analiz sonuçlarına göre solvotermal sentez yöntemi ile üretilen tozlar 500°C sıcaklığında 5 saat süreyle kalsine edilmiştir.

3.3. Nanomalzemelerin Karakterizasyonu ve Özelliklerinin Karşılaştırması

Ticari olarak temin edilen ve MicNo[®] teknolojisi kullanılarak üretilen nanomalzemelerin, bitkilerin çimlenme ve gelişimleri üzerine etki değerlendirme çalışmalarında kullanılmadan önce detaylı olarak karakterizasyon işlemlerine tabii tutulmuştur.

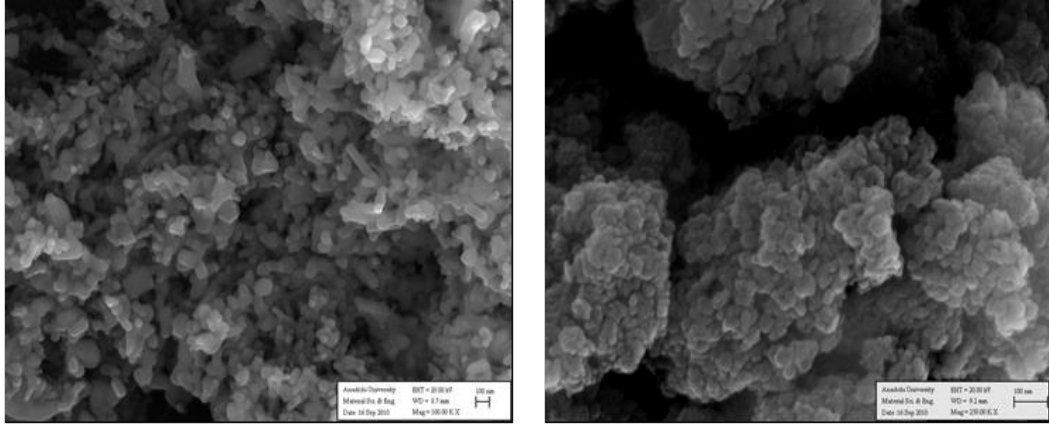
Ticari ve MicNo[®], nano boyutlu çinko oksit ve titanyum dioksit tozlarının temininin ardından XRD, (Rigaku, Rint 2200), SEM, (Zeiss EVO 50 EP V), XRF, (Rigaku, ZSX Primus) ve BET (Quanta Chrome Instruments, Autosorb-1) ile karakterizasyon çalışmaları Anadolu Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Yapılan karakterizasyon değerlendirme çalışmalarına bakıldığında ise solvotermal yöntem kullanılarak sentezlenen ve kalsine edilen MicNo[®] tozları ve ticari olarak temin edilen nano boyutlu ZnO ve TiO₂ tozlarının, faz analizi x-ışını difraktometresi (XRD), Rigaku, Rint 2200 marka cihaz ile, Cu K α ışınımları kullanılarak 10° ile 70° aralığında, 2°/dk tarama hızı ile gerçekleştirilmiştir.

Nanomalzemelerin içerdikleri safsızlıklar x-ışını floresans (XRF, Rigaku, ZSX Primus marka) tekniği ile incelenmiştir. Tozların spesifik yüzey alanı, Brunauer-Emmett-Teller (BET) metodu ile Quanta Chrome Instruments, Autosorb-1 marka spesifik yüzey alanı ölçüm cihazı ile ölçülmüştür (Yakaboylu, 2011; Özöğüt, 2013).

Ticari ve solvotermal yöntem kullanılarak sentezlenen MicNo[®] nano boyutlu ZnO ve TiO₂ tozlarının ortalama tane boyutları, tane boyut dağılımları ve morfolojilerinin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss SUPRA 50 V) ikincil elektron dedektörü kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz ile ilgili alınan görüntüler Şekil 3.2., Şekil 3.3. Şekil 3.4. ve Şekil 3.5.'de verilmiştir. Şekil 3.2.'de görülen analiz sonuçları incelendiğinde kullanılan iki ticari tozun da eşeksenli tanelerden oluştuğu belirlenmiştir.

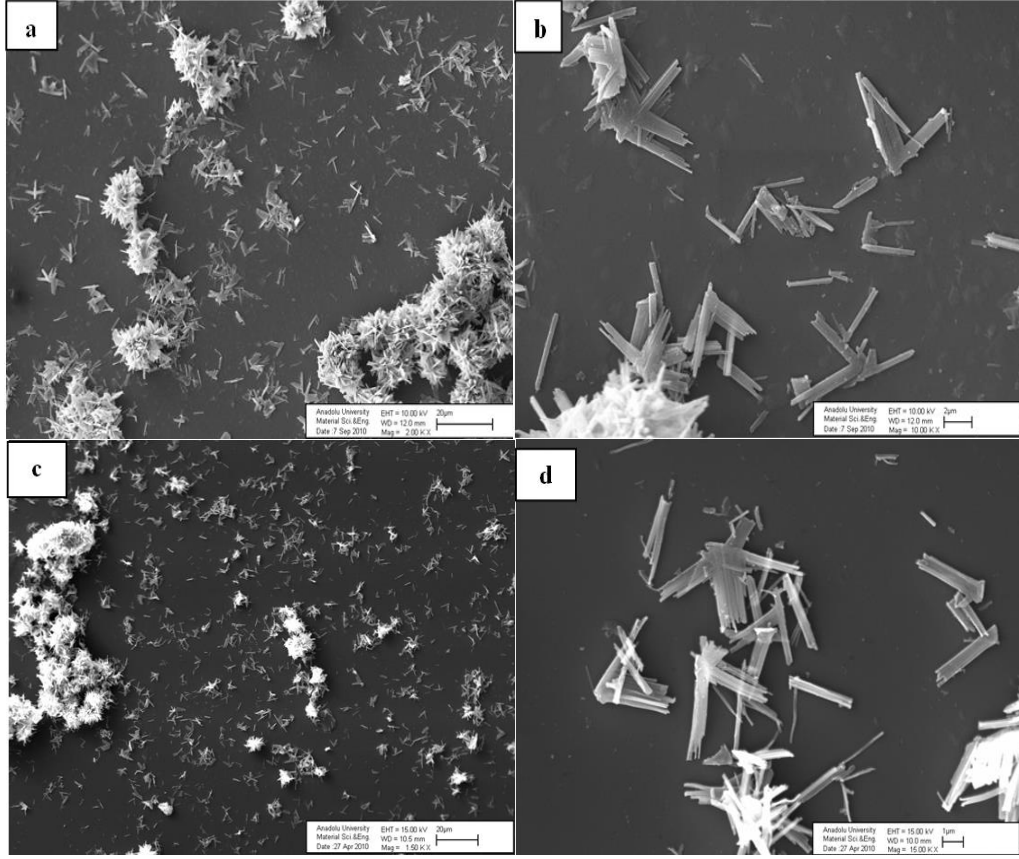
Görüntü analiz programı (ImageJ 1.43u) yardımıyla SEM görüntüleri incelendiğinde ticari ZnO ve TiO₂ tozların ortalama tane boyutlarının sırasıyla 86 nm ve ~44 nm olduğu belirlenmiştir. Şekil 3.2.'de yer alan SEM görüntülerinde de görüldüğü üzere, tozların topaklandığı gözlenmektedir. Nano boyuttaki bu tozların primer tane boyut değerleri yerine, aktif yüzey alanlarına bakılması, bu tozların bitkilerin çimlenme ve gelişme aşamaları üzerine etkilerinin daha doğru analiz edilmesine yardımcı olabilmesi için tozların spesifik yüzey alanları da ölçülmüştür.



Şekil 3.2. Ticari ZnO (soldaki) ve Ticari TiO₂ (sağdaki) nanopartiküllere ait SEM görüntüleri.

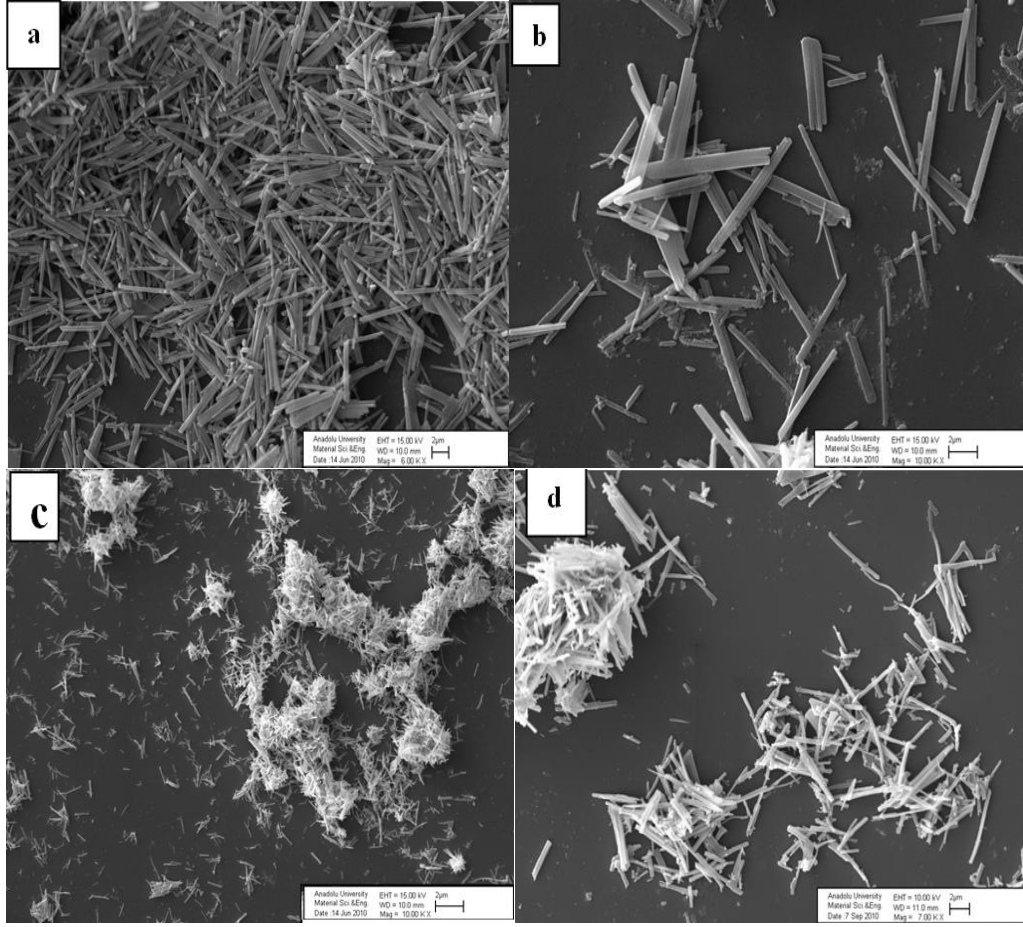
Solvotermal sentez yöntemi ile elde edilen TiO₂ tozların kalsinasyon öncesi ile kalsine edildikten sonra elde edilen anataz formundaki MicNo[®]-T tozların da karakterizasyon işlemi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirilmiş olup, görüntüleri Şekil 3.3.'de verilmiştir.

Kalsinasyon öncesi tozların SEM görüntüleri incelendiğinde, tozların çubuksu şekilde büyüdüğü görülmesine rağmen bazı bölgelerde aglomerasyon probleminin olduğu belirlenmiştir. Bu problemin sentez sonrası gerçekleştirilen yıkama işleminin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kalsinasyon sonrası elde edilen anataz formundaki tozların SEM görüntüleri ile çubuksu şekle sahip tozların uzunluklarının ~5-7 µm, genişliklerinin ise ~250-350 nm olduğu belirlenmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 3.3.-d), çubuksu şekle sahip tozların şeffaf oldukları gözlenmektedir. Bu sonuç ile birlikte üretilen çubuksu şekle sahip tozların kalınlıklarının nano boyut seviyesinde olduğu ortaya konulmuştur.



Şekil 3.3. Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen TiO₂ tozlarının kalsinasyon öncesi a) 2,000 büyütmede, b) 10,000 büyütmede, ve kalsinasyon sonrası elde edilen anataz formundaki TiO₂ tozların c) 1,500 büyütmede, d) 15,000 büyütmedeki SEM görüntüleri.

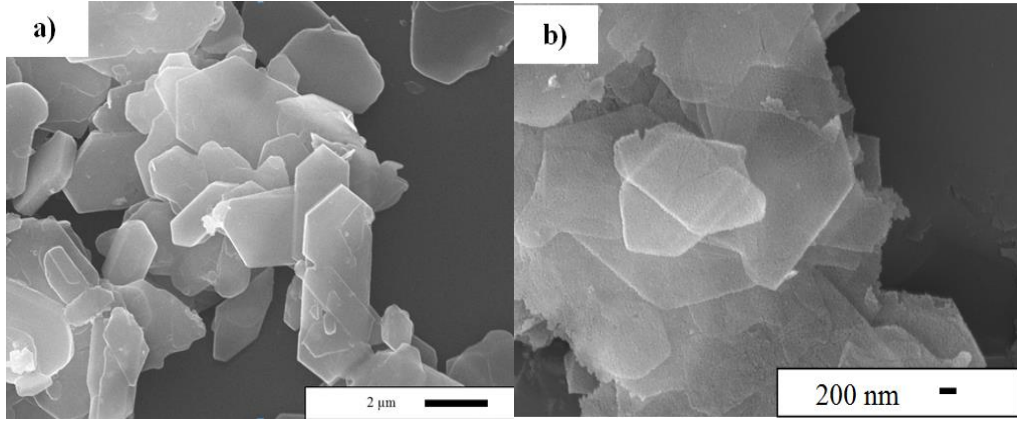
Solvotermal sentez yönteminde ortaya çıkan aglomerasyon probleminin giderilmesi ve çubuk şeklindeki tozların daha homojen elde edilebilmesi için sadece yıkama işlemleri değiştirilerek, aynı deney koşullarında yeni bir solvotermal sentez işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemleri diğer sentez ile benzer şekilde gerçekleştirilmiş olmasına karşın, farklı olarak ultrasonik homojenizatör cihazı kullanılarak sistemdeki aglomerelerin dağıtılması amaçlanmıştır. Bu sentez sonucu elde edilen (kalsinasyon öncesi) tozlar ile kalsine edildikten sonra elde edilen tozların taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 3.4.'de görülmektedir. Ultrasonik homojenizatör cihazının kullanılmasının aglomerlerin veya topaklaşmanın dağıtılmasında oldukça etkili olduğu kalsinasyon öncesi tozlara ait SEM görüntüleri incelendiğinde net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 3.4.. Solvotermal sentez ile elde edilen TiO_2 (kalsinasyon öncesi) tozların a) 6,000 büyütmede, b) 10,000 büyütmede, ve kalsinasyon sonrası elde edilen MicNo-T[®] tozların c) 2,000 büyütmede, d) 7,000 büyütmedeki SEM görüntüleri.

Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen Zn-gliserin kompleks yapısındaki tozlar ile bu tozların 350 °C’de kalsine edilmesiyle elde edilen yüksek kristallliğe sahip MicNo-Z[®] tozlarının SEM görüntüleri Şekil 3.5.’de yer almaktadır. Kalsinasyon sonrası tozların tamamen çinko oksit (ZnO) kristal formunda kristalleştikleri net olarak ortaya konulmuştur. Dolayısıyla çinko gliserolat yapısındaki tozların wurtzite kristal yapısında, kararlı ZnO formuna dönüştürülmesi için gerekli olan kalsinasyon sıcaklığı için 350°C’nin yeterli olduğu görülmüştür. Bütün tozların küresel şekle ve aynı tane boyutuna sahip oldukları varsayılarak spesifik yüzey alanından hesaplanan ZnO partiküllerinin ortalama birincil tane boyutu ise 30.6 nm’dir. Gerçekleştirilen bu çalışmalarda partiküllerin hegzagonal plaka şeklinde büyüme eğiliminde oldukları gözlenmiştir.

Görüntü analiz programı (ImageJ 1.43u) yardımıyla SEM görüntüleri incelendiğinde bu plakaların ~10 µm uzunluğunda ve ~3 µm genişliğinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca SEM görüntüleri dikkatli olarak incelendiğinde üst üste gelen plaka şekilli yapılarda bir alttaki plaka yapısının net olarak görülebildiği tespit edilmiştir. Bu da üretilen ZnO plakaların kalınlıklarının nano boyut seviyesinde olduğunu işaret etmektedir.



Şekil 3.5. Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen hegzagonal plaka şekilli (MicNo[®]-Z) ZnO tozların a) kalsinasyon öncesi ve b) kalsinasyon sonrası SEM görüntüleri.

Ticari ZnO ve TiO₂ tozlarının spesifik yüzey alanları, spesifik yüzey alanı ölçme cihazı (BET, QuantoChrome, Autosorb-1) kullanılarak belirlenmiştir.

BET analizi öncesinde 200°C sıcaklıkta 2 saat süreyle ticari tozların nemleri vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ardından adsorbe edici azot (N₂) gazı kullanılarak ticari tozların 11 noktalı BET analizleri gerçekleştirilmiştir. Bütün tozların küresel şekle ve aynı tane boyutuna sahip oldukları varsayılarak, spesifik yüzey alanlarından ortalama tane boyutları aşağıdaki formül (Eşitlik 3.1.) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$d = \frac{6}{S \cdot \rho} \quad (\text{Eşitlik 3.1.})$$

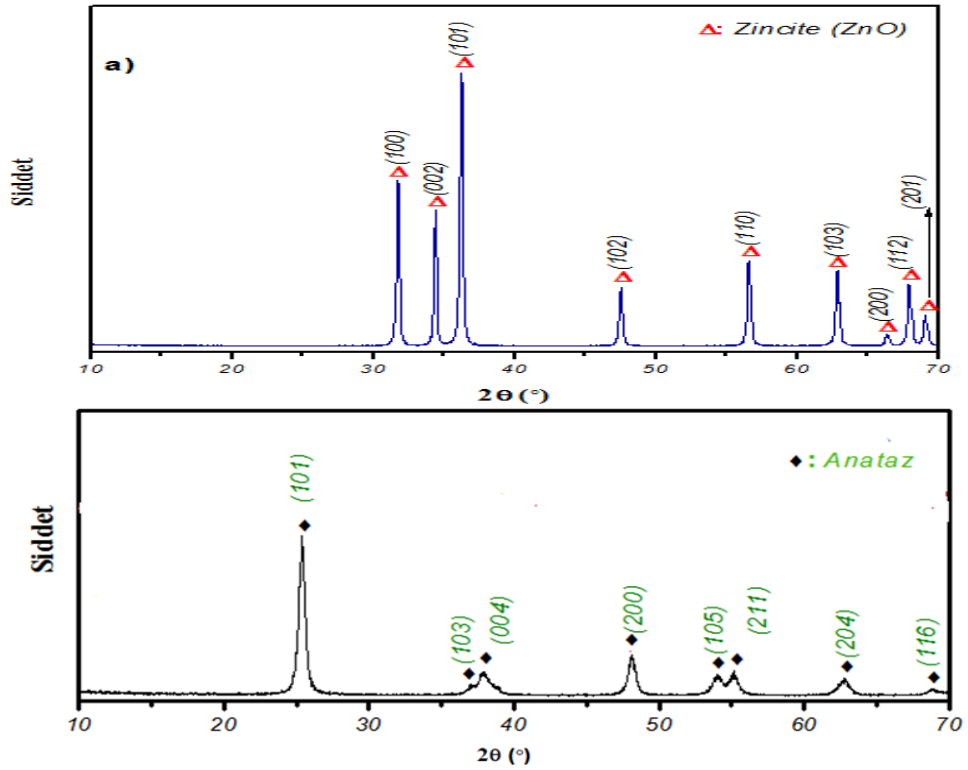
d = küresel bir tanenin ortalama çapı (ortalama tane boyutu)

S = tozun spesifik yüzey alanı (m²/g)

ρ = tozun teorik yoğunluğu (g/cm³)

ZnO ve TiO₂ ticari nanopartiküllerin spesifik yüzey alanları sırasıyla 13.1 ve 87.3 m²/g olup, yukarıdaki eşitlik ile hesaplanan ortalama tane boyutları sırasıyla 81.7 ve 17.7 nm'dir. ZnO ve TiO₂ ticari tozlar için yüzey alanlarından hesaplanan ortalama tane boyutları ile şirket tarafından belirtilen tane boyutlarının tutarlı oldukları görülmektedir. Yüksek yüzey alanına sahip TiO₂ nanopartikülün tane boyut değerleri arasında farklılık olduğu tespit edilmiştir. Topaklanma miktarının çok yüksek ve tanelerin ayırt edilmesinin zor olmasından dolayı SEM görüntülerinden elde edilen yaklaşık tane boyutunun daha farklı ve yüksek (~44 nm) elde edildiği düşünülmektedir.

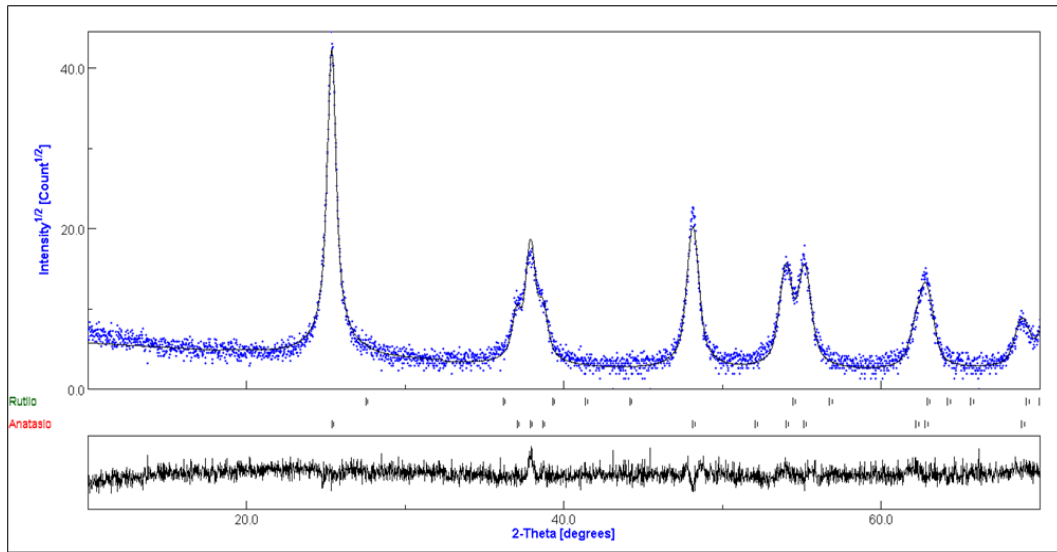
Ticari tozların faz analizleri x-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku, Rint 2200) analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.6.'da ticari nano boyutlu ZnO ve TiO₂ tozlarının XRD grafikleri görülmektedir. Bu sonuçlar incelendiğinde ticari ZnO tozunun tamamen zincite fazında olduğu belirlenmiştir. XRD grafiklerine göre ticari TiO₂ tozunun ise yine benzer şekilde ve tutarlı olarak sadece anataz fazında olduğu doğrulanmıştır (Yakaboğlu, 2011; Özöğüt, 2013).



Şekil 3.6. Ticari ZnO (üsteki) ve Ticari TiO₂ (alttaki) nanopartiküllerin XRD grafikleri.

Ayrıca bu noktada, *in-vitro* toksisite çalışmalarının sonuçlarının kompozisyona göre daha doğru değerlendirilebilmesi için ticari TiO₂ tozlarının kantitatif olarak faz analizlerinin yapılması gerektiği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Bu amaç doğrultusunda Trento Üniversitesi'nde araştırmacı olarak görevli Luca Lutterotti tarafından 2011 yılında geliştirilen MAUD (Materials Analysis Using Diffraction) programı kullanılmıştır. Bu program ile Rietveld metodu temel alınarak, difraksiyon grafikleri/sonuçları üzerinden malzeme analizi (kantitatif faz analizi, mikroyapı analizi, yönlenme analizi, vb.) geliştirilmiştir.

Referans XRD verilerine ait şiddet değerleri ve kristal latis parametreleri (a ve c) değiştirilerek ticari nano boyutlu TiO₂ tozlarının XRD verileri/grafikleri, anataz ve rutil fazlarına ait referans XRD verilerine denkleştirilmiş ve fit edilmiştir (Şekil 3.7.). Kantitatif faz analizi sonuçlarının doğruluğu ve güvenilirliği XRD verilerinin ne kadar iyi şekilde fit edildiği ile doğrudan ilişkilidir.



Şekil 3.7. TiO₂ nanopartikülerinin referans anataz ve rutil verilerine göre Rietveld metodu ile fit edilmiş XRD grafikleri.

Gerçekleştirilen kantitatif faz analizlerinin sonucunda Rw değerleri % 14-16 arasında, sigma değerleri ise yaklaşık 1.6 olarak elde edilmiş ve bu veriler kantitatif faz analizlerinin oldukça güvenilir olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca TiO₂ nanopartikülerinin ağırlıkça % 99.6'sının anataz kristal formunda olduğu

ortaya konulmuştur. Kantitatif faz analizi sonucuna göre bu tozun TiO_2 içeriğinin ağırlıkça % 0.4'lük bölümünün de rutil olduğu belirlenmesine karşın bu değer in önemsiz kabul edilebileceği düşünülmektedir.

Ticari tozların karakterizasyon çalışmalarında son aşama ise x-ışınları floresans (XRF) tekniği ile kantitatif olarak element analizini kapsamaktadır. Bu analizler için Anadolu Üniversitesi laboratuvarlarında bulunan x-ışınları floresans (Rigaku, ZSX Primus) analiz cihazı kullanılmıştır.

Bu çalışma ile birlikte özellikle saflık bilgisi net olarak üretici firma tarafından belirtilmeyen ticari nano boyutlu ZnO tozunun yüzde saflık oranının ve içerdiği safsızlıkların belirlenmesi hedeflenmiştir. XRF analizleri öncesinde 0.7 g ticari toz ile 7.0 g lityum tetraborat tozu tartılmış ve havanda öğütülerek karıştırılmıştır. Ardından platin kroze içerisine yerleştirilerek 15 dakika süreyle $950\text{-}1000^\circ\text{C}$ arasında eritme gerçekleştirilmiştir. Devamında platin tabla üzerinde hızlı soğutulmuş XRF numuneleri analiz için hazırlanmıştır. Çizelge 3.1.'de ticari nano boyutlu ZnO tozunun XRF analizi sonucu gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Ticari ZnO nanopartikülü XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri.

Bileşik/Element	ZnO	MgO	Al_2O_3	SiO_2	Cl	K_2O	CaO	Fe_2O_3
Ağırlıkça yüzdesi (%)	98.9251	0.0856	0.1906	0.2949	0.3047	0.065	0.0411	0.0929

Bu sonuç ile birlikte ticari ZnO tozunun yüksek saflıkta ve ağırlıkça % 98.9 saflık oranına sahip olduğu belirlenmiştir. İçerisinde Mg, Al, Si, K, Ca ve Fe elementlerinin ağırlıkça çok düşük yüzdelerde bulunduğu ortaya konularak, en yüksek safsızlık oranının ağırlıkça % 0.3 değeri ile klor (Cl) elementine ait olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada saflık değerleri üretici firma tarafından belirtilen TiO_2 tozları için de XRF analizleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2.'de gösterilen sonuçlara göre ticari TiO_2 nanopartikülünün saflık değeri ağırlıkça yaklaşık olarak % 99.0 olarak belirlenmiştir. Ancak bu değer üretici firma tarafından verilen saflık değeri (% 99.7) ile belirgin bir fark ortaya koymaktadır. Buna göre aradaki bu farkı yaratan temel safsızlığın (~ % 0.4) ise kükürt ve/veya kükürt bileşiği olduğu belirlenmiştir (Yakaboylu, 2011; Özöğüt, 2013).

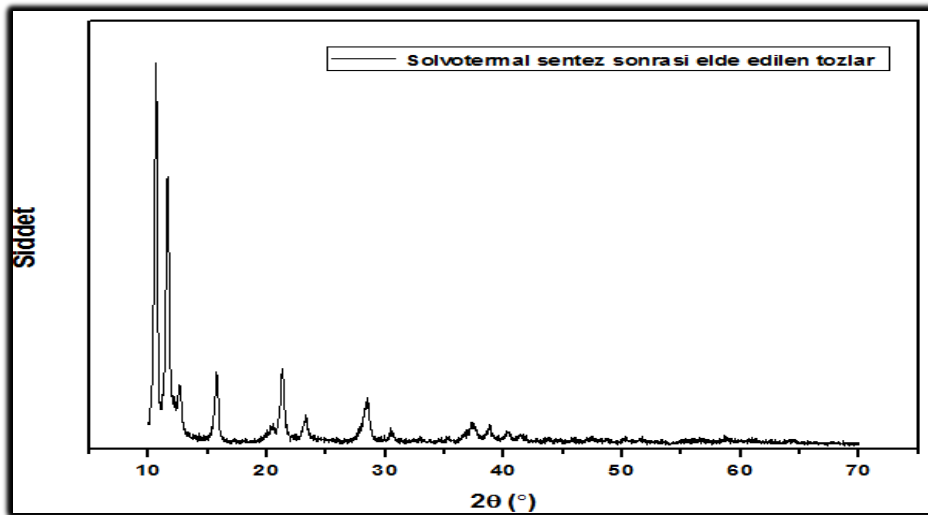
Çizelge 3.2. Ticari TiO₂ nanopartikülü XRF analizi sonucu ve elementlerin/bileşiklerin ağırlıkça yüzdeleri.

Bileşik/Element	TiO ₂	SiO ₂	P ₂ O ₅	SO ₃	CaO	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	ZrO ₂	ZnO
Ağırlıkça yüzdesi (%)	98.9549	0.1326	0.1772	0.3797	0.1115	0.0900	0.1001	0.0117	0.0424

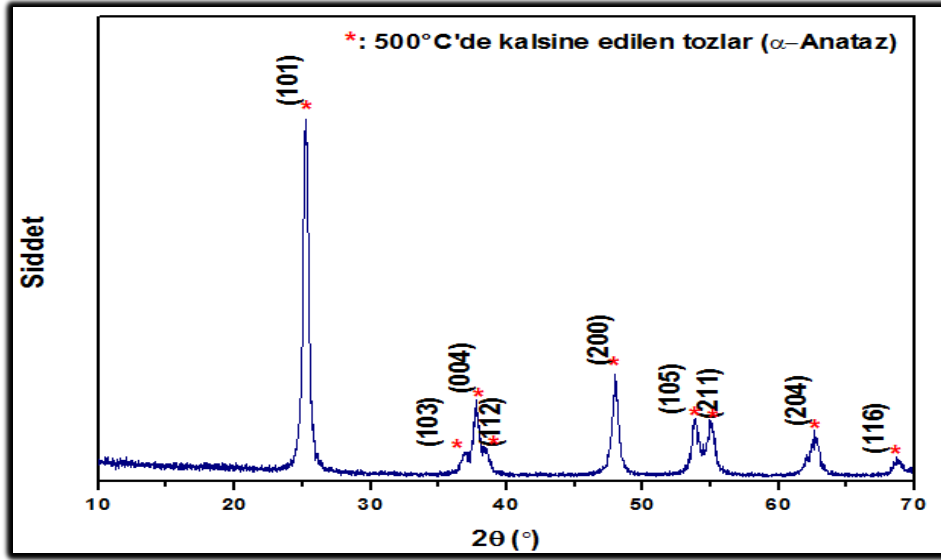
Bununla birlikte üretilen ve patentli ürünler olan plaka şekilli ZnO ve çubuksu şekle sahip TiO₂ partikülleri de karakterize edilmiş olup, özellikleri ile ilgili bilgiler ayrıntılı olarak aşağıda verilmiştir.

Şekil 3.8.'de solvotermal sentez yöntemi ile üretilen ve Şekil 3.9.'de kalsine edilen ve patentli ürün olan MicNo-T[®] TiO₂ nanopartikülünü tozların XRD grafikleri görülmektedir. Sentez sonrası elde edilen tozların XRD grafiği incelendiğinde herhangi bir referans XRD grafiği ile uyuşmadığı tespit edilmiştir. Titanyum katyonu (Ti⁺⁴) ile gliserin (C₃H₅(OH)₃) organik sisteminin birlikte oluşturduğu düşünülmüştür.

Bu tozların kalsine edilmesi sonucu elde edilen tozlara ait XRD grafiği incelendiğinde ise tozların tamamen anataz (TiO₂) kristal formunda kristalleştikleri görülmüştür (Yakaboğlu, 2011).



Şekil 3.8. Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen tozların XRD grafiği.



Şekil 3.9. Solvotermal sentez sonucu elde edilen titanyum gliserin kompleksi partiküllerinin 500°C’de 5 saat süreyle kalsine edilmesinden sonra elde edilen tozlara ait XRD grafiği.

Bu tozların primer (birincil) tane boyutları ise XRD sonucu (Şekil 3.9.) üzerinden Scherrer eşitliği (Eşitlik 3.2.) kullanılarak hesaplanmıştır. Bu eşitlikte D ; primer tane boyutunu, λ ; kullanılan X-ışınının dalga boyunu (Cu $K\alpha$ için 1.542 Å), β ; anataza ait (101) pikinin yarı yüksekliğindeki tam genişliğini (FWHM) ve θ ise (101) pikinin olduğu açığı ifade etmektedir.

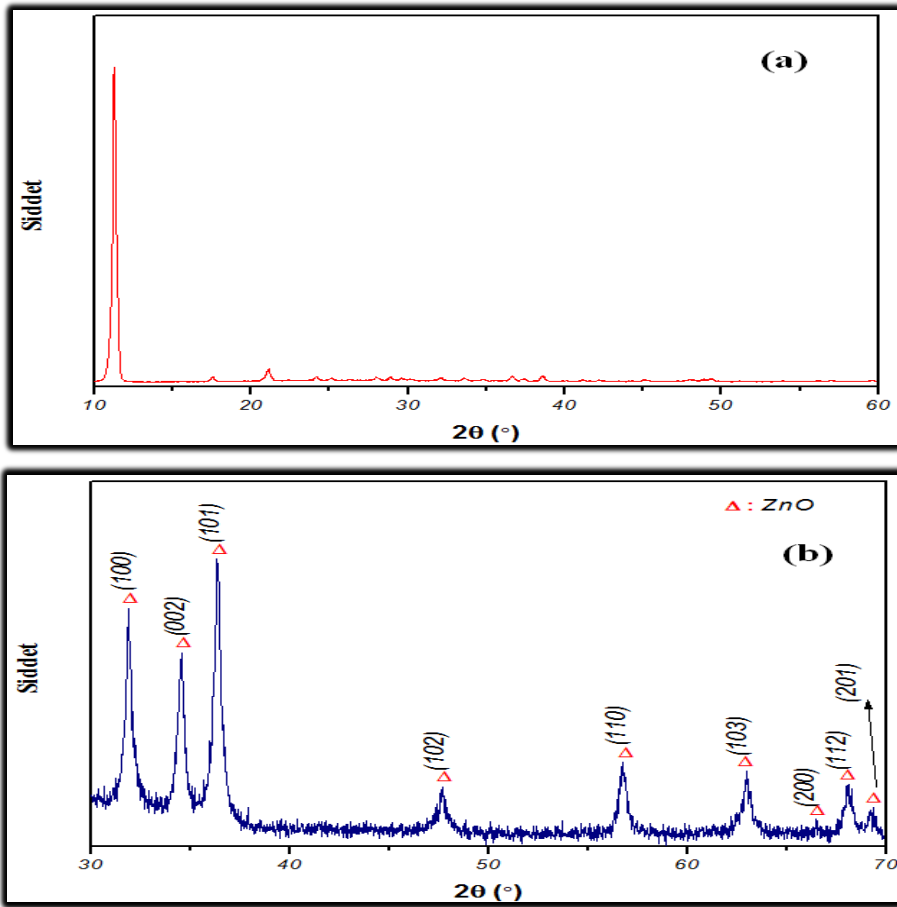
$$D = \frac{0.9 \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Eşitlik 3.2.})$$

XRD analizi sonucunda elde edilen veriler kullanılarak anataz partiküllerinin primer tane boyutu 30.8 nm olarak hesaplanmıştır. Ayrıca bu tozların spesifik yüzey alanı, spesifik yüzey alanı ölçme cihazı (BET, QuantoChrome, Autosorb-1) kullanılarak 46.96 m²/g olarak belirlenmiştir. Bütün tozların küresel şekle ve aynı tane boyutuna sahip oldukları varsayılarak spesifik yüzey alanlarından ortalama primer tane boyutları ilişkili formül (Eşitlik 3.1.) kullanılarak hesaplanmıştır. Ölçülen spesifik yüzey alanı değerinden bu eşitlikle birlikte ortalama primer tane boyutu 32.8 nm olarak hesaplanmıştır.

Yarı pik yüksekliğindeki genişlik ve spesifik yüzey alanı kullanılarak hesaplanan primer tane boyutu değerleri birbiriyle tutarlıdır. Sonuç olarak bu çalışmada ortalama primer tane boyutu yaklaşık olarak 31 nm olan çubuksu şekle sahip çok kristalli anataz tozları üretildiği ortaya konulmuştur (Yakaboğlu, 2011).

Patentli ürün olan ve plaka şekilli ZnO nanopartikül ile ilgili Şekil 3.10.'da solvotermal sentez yöntemi ile üretilen ve ardından kalsine edilen tozların XRD grafikleri görülmektedir.

Sentez sonrası elde edilen tozların (Şekil 3.10.-a) XRD grafiği incelendiğinde titanyum gliserolat yapısı ile benzer şekilde herhangi bir referans XRD grafiği ile uyuşmadığı belirlenmiştir. Burada da çinko katyonu (Zn^{+2}) ile gliserin ($C_3H_5(OH)_3$) organik sisteminin birlikte yeni bir kompleks yapı (çinko gliserolat, vb.) oluşturduğu düşünülmektedir. Kalsinasyon sonrası ise bu tozların tamamen çinko oksit (ZnO) kristal formunda kristalleştikleri ortaya konulmuştur (Şekil 3.10.-b), (Özöğüt, 2013).



Şekil 3.10. (a) Solvotermal sentez yöntemi ile üretilen (10°-60° arası) ve (b) ardından bu tozların kalsine edilmesiyle elde edilen tozlara ait (30°-70° arası) XRD grafikleri.

Bu tozların primer (birincil) tane boyutları ise XRD sonucu üzerinden, yarı pik yüksekliğindeki tam genişlik değeri temel alınarak ve Scherrer eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Bu hesaplamalar gerçekleştirilirken cihazdan kaynaklanan pik genleşmeleri elimine edilmiştir). XRD analizi sonucunda elde edilen veriler kullanılarak ZnO partiküllerinin birincil tane boyutu 28.8 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca ZnO tozlarının spesifik yüzey alanı, spesifik yüzey alanı ölçme cihazı (BET, QuantaChrome, Autosorb-1) kullanılarak 35 m²/g olarak belirlenmiştir (Özöğüt, 2013).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Gerçekleştirilen bu tez çalışması ile ticari satışı devam eden nanopartikül tozlar ile Anadolu Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ender Suvacı'nın laboratuvarında geliştirilen MicNo[®] üretim teknoloji kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin oluşturduğu çevresel etkilerin birbirleri arasındaki farklılıkların ortaya konulması ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ticari nanomalzemeler (<100nm), titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartikül toz formları kullanılmıştır. MicNo[®] teknoloji ile üretilen, mikron boyutlu nano primer taneciklerden oluşan ve patentli ürünler olan, titanyum dioksit (MicNo-T[®]) ve çinko oksit (MicNo-Z[®]) nanopartiküllerinin toz formları da ticari ürünler ile çeşitli bitkilerin gelişimi üzerindeki kısa dönem etkileri değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

Toksisitesi değerlendirilen nanopartiküller için doz aralığına bakıldığında; ticari ZnO ve MicNo-Z[®] nanopartikülleri ile, 0, 100, 200, 400, 500, 1000, 2000 ve 4000, ppm dozları ile değişen su, Hougland besin çözeltisi ve toprak ortamlarında çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ticari TiO₂ ve MicNo-T[®] nanopartikülleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda ise 0, 100, 200, 400, 500, 1000, 2000, 4000, 5000 ve 10000 ppm ile değişen dozlarda su, besin çözeltisi ve toprak ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Kısa süreli etki değerlendirme çalışmaları kapsamında domates, tere, salatalık, kabak, fasulye, nohut ve bezelye tohumları ve soğan bitkisi kullanılmıştır. Belirtilen bitki tohumlarının dört farklı nanopartikülü içeren besin çözeltisi, su ve toprak ortamlarında çimlendirmesi gerçekleştirilmiştir. Farklı ortamlarda gerçekleştirilen çimlendirme işlemi besin çözeltisi ortamında 5 gün, toprak ortamında ise 16 gün sürmüştür. Çimlendirme ortamına göre farklılık gösteren süreler sonrasında belirtilen bitkilerin kök, sürgün ve yaprak bölümlerin uzanımı, sayısı ve kuru ağırlığı değerlendirilmiş ve bu bölümlerin ağır metal içerikleri tayini yapılmıştır.

Belirtilen nanopartikülleri içeren saf su ortamlarında soğan bitkileri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar 4, 24 ve 48 saatlik sürelerde soğanlardan alınan kök bölümlerinin uzanımları ve ağır metal içerikleri ile değerlendirilmiştir.

Gelişimi izlenen veya yetiştirilen tüm bitkilerin kök, sürgün, yaprak vb. bölümlerinin metal birikimleri, USEPA'nın önerdiği yöntemler gözetilerek bitki ve toprak numuneleri hazırlanmıştır. Ardından hazırlanan bu numunelerin ICP-OES cihazı kullanılarak ağır metal içeriklerinin belirlenmesi sağlanmıştır. Elde edilen ağır metal birikim sonuçları nanomalzeme türleri arasında karşılaştırmalı olarak çalışmanın altıncı bölümünde yer almaktadır. Elde edilen sonuçlarla farklı bitkilerin kısa süreli gelişmeleri izlenerek, bu süre zarfında bitkilerin bünyelerine ağır metal alımı farklılığını etkilediği ortaya konularak değerlendirilmesi sağlanmıştır.

4.1.Nanomalzeme ve Bitki Etkileşim Çalışmaları

TiO₂ ve ZnO metal oksit nanopartiküllerin toprak ortamında kısa süreli etki değerlendirme çalışmaları kapsamında, başlangıçta indikatör olarak sadece kabak bitki tohumları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan toprağın ve değerlendirmesi yapılan nanopartiküllerin özellikleri nedeniyle fasulye, bezelye ve nohut bitkileri kullanılarak çalışmaya devam edilmiştir. Bu bitki tohumlarına ek olarak tere ve salatalık tohumları da çalışmaya dahil edilmiş ve tohum çeşitliliği sağlanmıştır.

4.1.1. Farklı ortamlarda bitki çimlendirme ve kısa süreli etki inceleme çalışmaları

Anadolu Üniversitesi, Çevre Sorunları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları koşullarında ve merkez bünyesinde yer alan iklimlendirme kabini (NÜVE marka GC 400) kullanılarak bahsi geçen bitkilerinin çimlendirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Kısa süreli etki değerlendirmeleri için tohumlar toprak ortamında polietilen tereftalat (PET, PETE, PETP) viyol veya kaplarda gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada çimlendirme işlemleri iklimlendirme kabini kullanılarak yapılmıştır. Çimlendirilen bitkiler için gerekli optimum sıcaklık değeri 25-27.5 °C ve nemi %55'e sabitlenmiş olarak gerçekleştirilmiştir.

İklimlendirme kabini (NÜVE marka GC 400) 20000 Lux \pm %10 ışık kapasitesine sahip olup, yaklaşık 10000-14000 arası Lux değerinde ışık verilmiştir. Çimlendirme için seçilen gün ışığı programlamasına göre cihaz 16 saat aydınlık (gündüz), 8 saat karanlık (gece) olacak şekilde kullanılmıştır. Ancak basit çimlendirme işlemlerinin ilk günlerinde yani sürgün oluşumuna kadar (~2 gün) aydınlatma sistemi devre dışı bırakılmıştır.

Farklı üretim yöntemleri kullanılarak üretilen ZnO nanopartikülleri ile gerçekleştirilen değerlendirme çalışmaları, 0, 100, 200, 400, 500, 1000, 2000 ve 4000, ppm dozları ile su (soğan bitkileri için), Hougland besin çözeltisini içeren steril pamuk ve toprak ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Ticari TiO₂ ve MicNo-T[®] nanopartikülleri ile gerçekleştirilen değerlendirme çalışmaların da ise 0, 100, 200, 400, 500, 1000, 2000, 4000, 5000 ve 10000 ppm ile değişen dozlarda, çinko oksit nanopartikülleri ile gerçekleştirilen çalışmalara benzer olarak su (soğan bitkileri için), Hougland besin çözeltisini içeren steril pamuk ve toprak ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca içerisinde pamuk ve/veya kurutma kağıdı ile tohumların sağlıklı gelişebilmesi için gerekli ortamın sağlandığı, su veya Hougland besin çözeltisi ile gerekli mineral ihtiyacı karşılanan petri kaplarında laboratuvar koşulları altında çimlendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kullanılan tüm bitkilerin çimlenme ve yetiştirme için gerekli optimum sıcaklık, derinlik, nem, havalandırma ve ışık gibi istekleri gözetilerek çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Farklı ortamlarda gerçekleştirilen çimlendirme işlemi 5 ila 16 gün sürmüştür. Çimlendirme ortamına göre farklılık gösteren süreler sonrasında belirtilen bitkilerin kök, sürgün ve yaprak bölümlerin uzanımı, sayısı ve kuru ağırlığı değerlendirilmiş ve elde edilen farklılıklar gözeterek bitki numunelerinin ağır metal içeriklerinin tayini gerçekleştirilmiştir. Ayrıca belirtilen nanopartikülleri içeren su ortamlarında soğan bitkileri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar 4, 24 ve 48 saatlik sürelerde soğanlardan alınan kök bölümlerinin uzanımları ve ağır metal içerikleri ile değerlendirilmiştir.

Her ne kadar elde edilen hasatlar sonucu bitki bölümlerinin fiziksel ve morfolojik farklılıkları değerlendirilmeye çalışılsa da, bu değerlendirmenin esas amacı konsantrasyon artışı ile birlikte farklı üretim yöntemleri kullanılarak üretilen nanopartiküllerin bitkilerin çeşitli bölümlerinde oluşturdukları ağır metal ihtiva farkını desteklemek için kullanılmıştır.

Toprak ortamında gerçekleştirilen çalışmalarda bitki yetiştirme ortamı olarak, şeffaf plastik tepsilere yerleştirilen, polietilen tereftalat bitki fidesi viyolleri (40 g kuru toprak/viyol) kullanılmıştır. Eskişehir'in tarımsal ve arazisel bütünlüğünü temsilen alınan toprak, Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce bitkilerin uygun koşullarda yetiştirilmesi için gerekli şartlar sağlanmaya çalışılmıştır. Daha sonra etkileri incelenmek istenilen nanomalzemelerin oluşturdukları konsantrasyon farkı/değişimi sonuçlarının doğru yorumlanabilmesi için toprağı ihtiva ettiği (başlangıç) ağır metal derişim değerleri ve özellikleri değerlendirilmiştir.

Ayrıca her bir viyol gözüne yaklaşık 40 gram elenmiş ve yabancı maddelerden ayıklanmış toprak olacak şekilde konsantrasyona bağı olarak toz nanopartiküller ile dozlanmıştır. Daha sonra nanopartikül içeren topraklara sahip hücrelere uygun derinliklerde birer adet tohum ekimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda sadece viyoller ile değil, çoklu tohum ekimine imkan veren plastik kaplarla da çalışılmıştır. Tohumların çimlenebilmesi için gerekli olan can suyu verilerek, tepsilere iklimlendirme kabinine yerleştirilmiştir. Çimlenme süresi boyunca bitkilere pulverize olarak su verilmiştir. Optimum çimlenme süresi olan 14-16 gün sonunda çimlendirme işlemine son verilerek bitkilerin gelişme durumları incelenmiştir.

Toprak ortamında yapılan çalışmaları destekler niteliğe sahip bir başka bitki gelişimi izleme çalışması olan bitki kök uzanımı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Farklı bitki tohumlarının çimlenme ve bitki gelişim izleme çalışmaları gerekli tutunma ortamı olarak içerisinde steril pamuk ve/veya kurutma kağıdı bulunan petri kapları ile gerçekleştirilmiştir. Petri kaplarında gerekli nanomalzeme dozlamaları ve bitki gelişimi için gerekli mineralleri içeren çözücü olarak motife Hougland besin çözeltisi kullanılmıştır.

Bir başka kök uzanımı (inhibisyonu) değerlendirme çalışmasında, plastik kaplar içerisinde saf suyun nanomalzemeler için çözücü ortam olarak kullanıldığı ve 4, 24 ve 48 saatlik sürelerde ağır metal içeriği değerlendirmek için bitki köklerinin numune olarak alınması ile gerçekleştirilen çalışmalarda arpacık soğanı indikatör bitki olarak kullanılmıştır. Arpacık soğanları (*Allium cepa* L.) ile gerçekleştirilen çalışmada her konsantrasyon değeri için aynı büyüklük ve yakın ağırlığa sahip soğanlar bir gün süresince saf suda köklendirilmiştir. Daha sonra eşit kök dağılımı sağlamak için köklenen benzer soğanlar seçilerek çalışmaya devam edilmiştir. Bu aşamadan sonra, farklı konsantrasyonlara sahip nanomalzeme içeren çözeltiler plastik kaplara alınmadan önce (dışarıdan sıcaklık, elektromanyetik etki uygulamadan sadece) sadece manyetik karıştırıcı ve manyetik balık kullanılarak karıştırılmıştır. Ardından numaralandırılan arpacık soğanları, kök kısımları çözeltiler ile teması sağlanılacak şekle getirilmiş ve çalışma başlatılmıştır. Belirtilen süre sonunda kök uzanımı değerleri kayıt altına alınmıştır. Tüm yetiştirme ortamlarında gelişimi takip edilen bitkilerin kök ve sürgün uzunlukları değişimi milimetrik mezür ile ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

4.2. Bitki ve Toprak Numunelerinin Ağır Metal İçeriği Değerlendirme Çalışmaları

Hem nanopartikül içeren toprak örneklerinin hem de yetiştirilen bitkilerin kök, sürgün ve yaprak bölümlerinin metal birikimleri belirlenmesi çalışmaları EPA metotları gözetilerek gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan numunelerin ağır metal içeriği ICP-OES cihazı ile belirlenmiştir. Yapılan ölçümlerin doğru ve sağlıklı sonuçlar verebilmesi için bitki ve toprak standartları kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan su, tohum, bitki ve toprak ağır metal içerikleri analizi belirleme işlemleri, Anadolu Üniversitesi, Çevre Sorunları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nda bünyesinde yer alan Varian 720-ES ICP-OES cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda su ve toprak numuneleri EPA Metot 3050 ve 3051'e bağlı kalınarak hazırlanmıştır.

Ağır metal içeriği değerlendirmesi kapsamında gerçekleştirilen n çalışmalara bakıldığında ise; öncelikle çalışmalarda toplanan toprak ve bitki bölümleri sırasıyla 65°C ve 105°C sıcaklığa ayarlanan Nüve marka etüv içerisinde (farklı petri kaplarına alınan bu numuneler) sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilmiştir. Toprak için bu süre on saat olup, bitki numuneleri için 24 saat bekletilmiştir. Sabit ağırlığa getirilen tüm numuneler hassas terazi (Sartorius marka) ile tartılmış ve değerler kaydedilmiştir. Ardından ağır metal içerikleri değerlendirme çalışmalarına kadar laboratuvar ortamında karanlık ve kuru bir yerde plastik (şeffaf) kilitli poşetler içerisinde muhafaza edilmiştir. Numunelerin ağır metal içeriği değerlendirme çalışmalarında ise, gerekli sayıda numunenin hep birlikte aynı koşullar altında değerlendirilebilmesine titizlik gösterilmiştir. Belirli ağırlıklarda alınan toprak (0.5 g) ve bitki bölümleri (<0.1 g) tartımında hassas terazi kullanılmıştır.

Tartım değerleri kayıt altına alınan numuneler, Mars Xpress marka mikrodalga fırın kullanılarak gerçekleştirilecek özümsenme işlemi için teflon TFM Vessel (55 ml) hücelere alınmıştır. Bu aşamadan sonra korozif özelliğe sahip kimyasal maddeler ile çalışıldığı için işlemlerin hepsi çeker ocak (Uzay marka) altında gerçekleştirilmiştir. Toprak ve çeşitli tek yıllık bitkilerden toplanan numunelerinin metal içeriklerinin, basına ve ani sıcaklık değerlişimlerine dayanıklı, kapalı, teflon hücelere sahip mikrodalga cihazı kullanılarak sıvıya çekilmeleri sağlanmıştır. Gerçekleştirilen bu çalışmada ise Mars Xpress marka mikrodalga fırının, teflon hcelerine alınan numuneler asit ile muamele edilebilmek için çeker ocağa alınmıştır. Buna göre tartım sonrasında bitki bölümlerini içeren numunelere uygun hacimlere sahip cam pipetler kullanılarak, %30-35 saflıkta hidrojen peroksit (5 ml) ve %65 saflıkta nitrik asit (5 ml) karışımı eklemiştir. Toprak numuneleri ise nitrik asit (10 ml) ile muamele edilerek hazırlanmıştır.

Kimyasal ajan eklenen hceler çeker ocakta bir süre bekletilerek, uçucu olan içeriklerinin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra Mars Xpress Vessel Capping Station kullanılarak kapakları kapatılmış ve Mars Xpress TFM Vessel Stater Set'e (40 Place) uygun dizilişte yerleştirilerek mikrodalga fırına alınmıştır.

Kapalı hücre mikrodalga fırın sistemi kullanılarak (MARSXpress) gerçekleştirilen özümseme çalışmalarında, tüm numunelerin 15 dakikalık sürede 200°C sıcaklığa çıkması sağlanıp, sonrasında mikrodalga fırının 200°C sıcaklıkta 15 dakika çalışması ile katı numunelerin sıvıya çekilme işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga fırında gerçekleştirilen işlem sonrasında hücreler fırından dışarıya çıkarılarak, oda sıcaklığına gelmeleri için bir süre bekletilmiştir. Daha sonra çeker ocak içerisine alınan hücrelerin, Mars Xpress Vessel Capping Station kullanılarak kapakları açılmış ve üzerlerine ultra saf su ilavesi yapılmıştır. Bu su ilavesi ile teflon hücre çeperlerinde kalan çözeltinin, varsa katı partiküllerin bir araya getirilmesi için sağlanmıştır. Mars Xpress hücrelerinde bulunan bitki veya toprak numuneleri, kırıklık setler halinde seyreltme işlemine tabii tutulmuştur.

Bitki ve toprak özütlerini içeren çözeltilerin seyreltilmesi işleminde ~0,055 µS/cm iletkenliğe sahip, ultra saf su kullanılmıştır. 100 mililitrelik balon jöjeler ve mavi bantlı süzgeç kağıdı yerleştirilmiş uygun huniler kullanılarak çözeltiler süzölmüş, daha sonra da yüz mililitreye tamamlanmıştır. Bununla birlikte sadece $\text{NHO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ ve NHO_3 içeren kör numuneler hazırlanmış ve diğör tüm numuneler gibi 100 ml'e seyreltilerek tamamlanmıştır. Süzme işlemi sonrasında elde edilen seyreltilmiş numuneler ICP-OES ölçümünden önce, plastik kapaklı numune kaplarına (100 ml) alınıp ve artı 4°C sıcaklığa sahip buzdolabında muhafaza edilmiştir. Değörlendirme için hazırlanan numuneler ölçüm öncesi oda sıcaklığına gelmeleri için bir süre bekletilmiştir. Değörlendirmesi yapılacak olan B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonu için stok referans numuneler ile hazırlanan çözeltiler cihaza okutulularak kalibrasyon doğruları elde edilmiştir.

Kullanılan ICP-OES cihazının optik dedektör, araç ve gereç içeriğine baktığımızda, RF jeneratör gücü (RF generator power) 1.2 kW, Torch modu (Torch mode) aksenel, plazma gaz akış hızı (Plasma gas flow rate) 15 lt/dk, yardımcı gaz akış hızı (Auxiliary gas flow rate) 1.5 lt/dk, denetleme veya görüş boyu (Viewing height) 6mm, püskürteç basıncı (Nebulizer pressure) 160 kPa, pompa akış hızı (Pump flow rate) 1.5 rpm'dir. Değörlendirilen metal iyonlarının arasında çalışma için birincil öneme sahip olan Zn ve Ti iyonlarının emisyon çizgileri (emission lines) Zn 213.857 ve Ti 334.941'dir.

5. DENEYSEL ÇALIŞMA VERİLERİ

Nanopartiküllerin çevresel etkilerinin değerlendirilmesi kapsamında, kısa süreli etki değerlendirme çalışmalarında domates, tere, salatalık, kabak, fasulye, nohut ve bezelye tohumları ve soğan bitkisi ile çalışılmıştır.

Buna göre Şekil 5.1.'de çalışmada kullanılan farklı bitki tohumlarının nanopartikül maruziyeti öncesi ihtiva ettikleri Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal içerikleri, mg/kg olarak verilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan Şebeke, saf ve ultra saf sularının pH değerleri ve içerdikleri Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonları içeriklerinin ortalama değerleri (ppm) Çizelge 5.1.'de yer almaktadır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne verilen toprak numunesinin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 5.2.'de yer almaktadır. Kullanılan toprağın çalışmalara başlamadan önce ihtiva ettiği ağır metal konsantrasyonları Çizelge 5.3. ve Çizelge 5.4.'de yer almaktadır.

Çizelge 5.1. Şebeke, saf ve ultra saf sularının pH değerleri ve içerdikleri Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonları içeriklerinin ortalama değerleri (ppm).

	pH	Cd (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Pb (ppm)	Ti (ppm)	Zn (ppm)
Şebeke Suyu	7,4	0	0	0,0539	0,00084	0,00033	0	0,046
Saf Su	5,2	0	0	0,0178	0,00006	0,00013	0	0,012
Ultra Saf Su	5,1	0	0	0,0156	0	0	0	0,005

Çizelge 5.2. Kullanılan toprağın fizikokimyasal özellikleri.

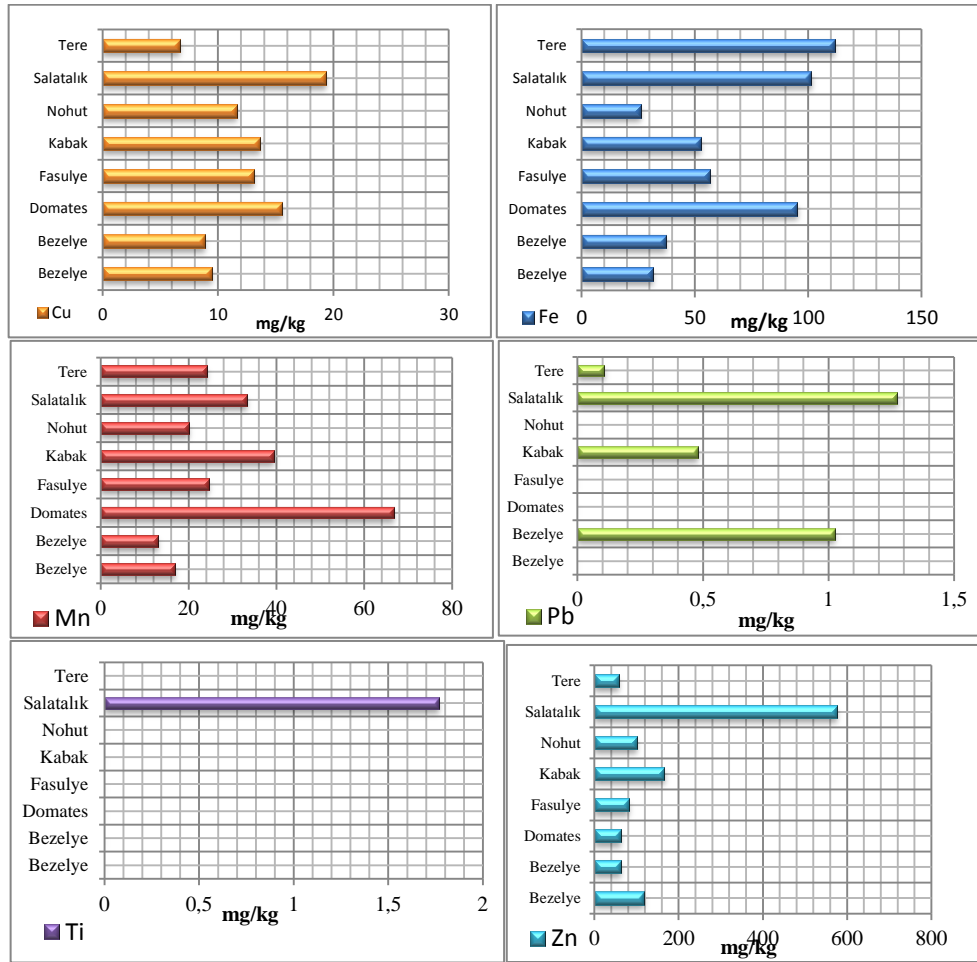
Derinlik (cm)	Doymuşluk (işba) %	PH Doymuş toprakta	EC dS/m	Total Tuz %	Kireç %	Organik Madde %	Bitkilerde Yararışlı	
							Fosfor P ₂ O ₅ kg/da	Potasyum K ₂ O kg/da
0-30	78-C	8,00	1,335	0,067	12,52	0,40	3,84	120,51

Çizelge 5.3. 2012 yılının ilk on ayında yapılan çalışmalarda kullanılan toprağı içeriğinin ortalama B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyon miktarları, (ppm).

	B	Cd	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Ni	Pb	Ti	Zn
ppm	10,83	1,97	111,02	37,02	16345,97	4151,52	536,66	275,98	16,64	64,98	42,89

Çizelge 5.4. 2013 ve 2014 yılları arasında yapılan çalışmalarda kullanılan toprağı içeriğinin ortalama Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal iyonları içerikleri, (ppm).

	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Ti	Zn
Miktar (ppm)	1,94	35,93	15731,62	554,91	8,80	31,93	34,05



Şekil 5.1. Çalışmada kullanılan farklı bitki tohumlarının nanopartikül maruziyeti öncesi ihtiva ettikleri Cu, Fe, Mn, Pb, Ti ve Zn ağır metal içerikleri, (mg/kg).

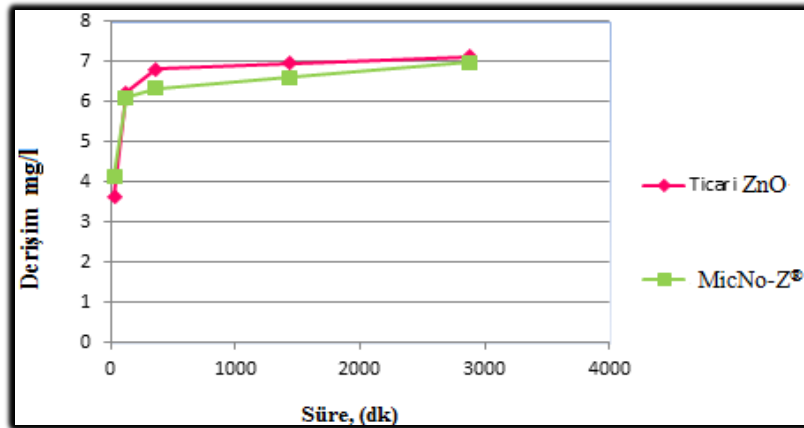
Çizelge 5.5.'de yer alan farklı ortamlarda değerlendirilen tüm nanomalzemelerin zeta potansiyeli değerleri ile Çizelge 5.6.'de yer alan parçacıkların zeta potansiyel değerlerine bağlı olarak göstermiş oldukları stabilite durumları karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 5.5. Saf su, şebeke suyu, toprak çözeltisi ve Hougland besin çözeltisi içerisinde nanopartiküllerin dağılımları ile ortaya çıkan zeta potansiyeli değerleri (mV) değişimleri.

	Ticari ZnO	MicNo-Z [®] ZnO	Ticari TiO ₂	MicNo-T [®] TiO ₂
Saf Su	-3,84	-6,64	-17,3	-20,2
Şebeke Suyu	-17,2	-14,7	-18,6	-15,3
Toprak Çözeltisi	-14,7	-15,2	-13,9	-17,2
Hougland Çözeltisi	-16,4	-15,2	-17,3	-16,4

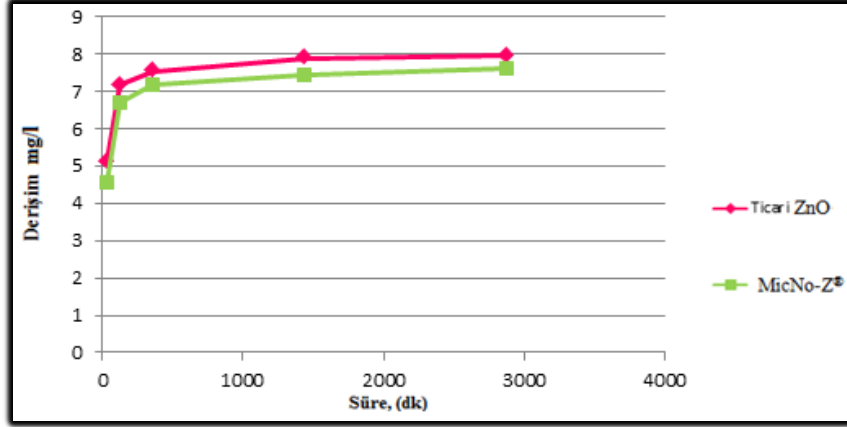
Çizelge 5.6. Parçacıkların sahip oldukları Zeta potansiyeli (mV) değerine bağlı olarak göstermiş oldukları stabilite davranışları

Zeta potansiyeli (mV)	Parçacığın stabilite davranışı
0 ila ±5 arası	Ani koagülasyon veya flokülasyon oluşur.
±10 ila ±30 arası	Ani değişimlere sahip, kararsız durum.
±30 ila ±40 arası	Orta derecede kararlı durum.
±40 ila ±60 arası	İyi derecede kararlı durum.
±60 ve üzeri değerler	Mükemmel derecede kararlı durum.

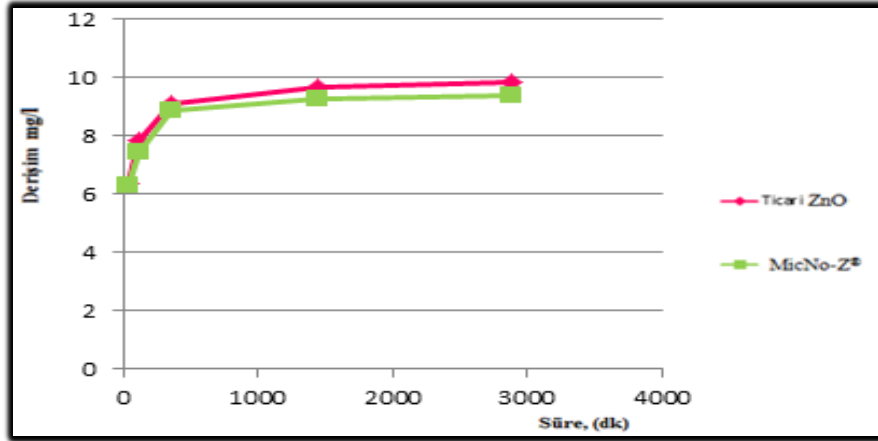


Şekil 5.2. ZnO nanopartiküllerinin 50 mg/l'de süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.

Şekil 5.2.'de ZnO nanopartiküllerinin 50 mg/l'de iyonlaşma sonuçları verilmiştir. Şekil 5.3.'de ZnO nanopartiküllerin 200 mg/l'de iyonlaşma sonuçları verilmiştir. Şekil 5.4.'de ZnO nanopartiküllerin 400 mg/l'de iyonlaşma sonuçları verilmiştir.

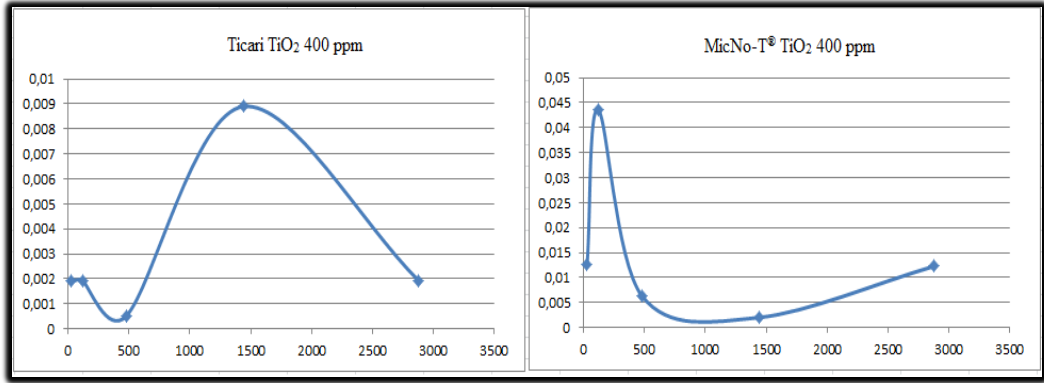


Şekil 5.3. ZnO nanopartiküllerinin 200 mg/l'de süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.

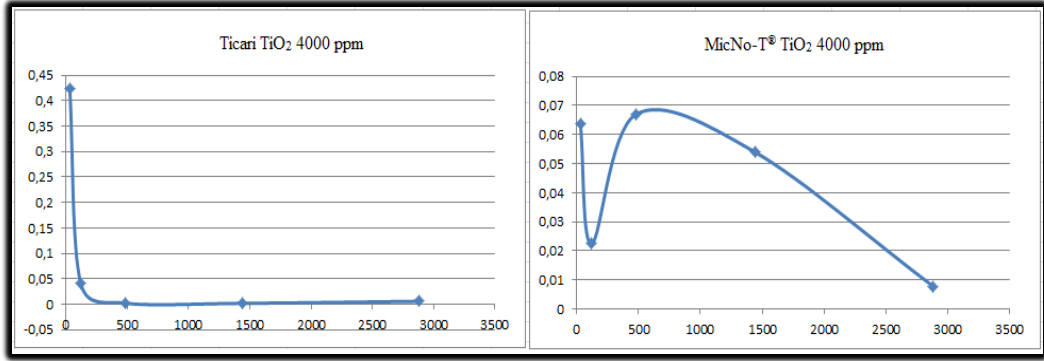


Şekil 5.4. ZnO nanopartiküllerinin 400 mg/l'de, süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.

MicNo-T® ve ticari TiO₂ nanopartikülleri için gerçekleştirilen iyonlaşma çalışmalarının değerlendirilmesi, 400 mg/l için Şekil 5.5.'de, 4000 mg/l için ise Şekil 5.6.'da yer almaktadır.



Şekil 5.5. 400 ppm seviyesinde Ticari TiO₂ (sağdaki) ve MicNo-T® (soldaki) nanopartiküllerinin süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.



Şekil 5.6. 4000 ppm seviyesinde Ticari TiO₂ (sağdaki) ve MicNo-T® (soldaki) nanopartiküllerinin süreye (dakika) bağlı olarak iyonlaşma değişimleri.

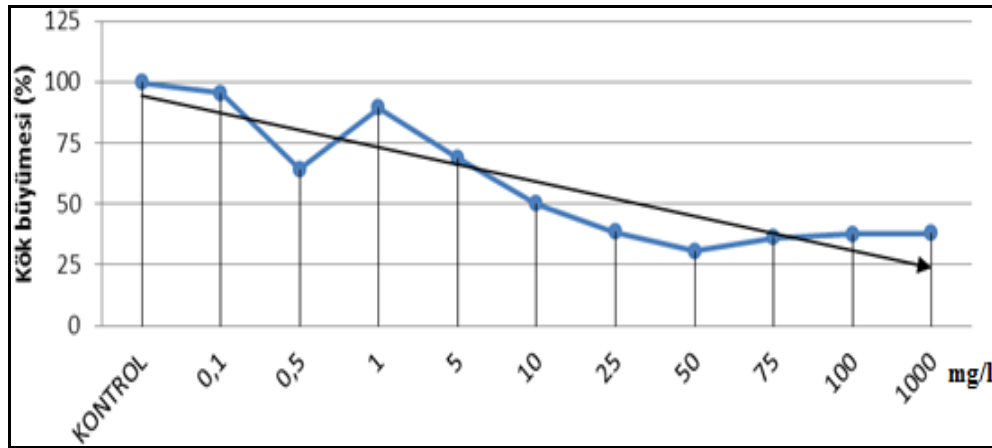
5.1. Bitki Kök Uzanımları Çalışma Verileri

Farklı bitkiler için elde edilen etkin konsantrasyonlar Çizelge 5.7. üzerinde kök uzanımı/bağlı kök yüzdesi şeklinde gösterilmiş, olup koyu puntolar ile gösterilen değerler bitkilerin nanomalzeme maruziyetlerine karşılık elde edilen EC₅₀ değerlerini temsil etmektedir.

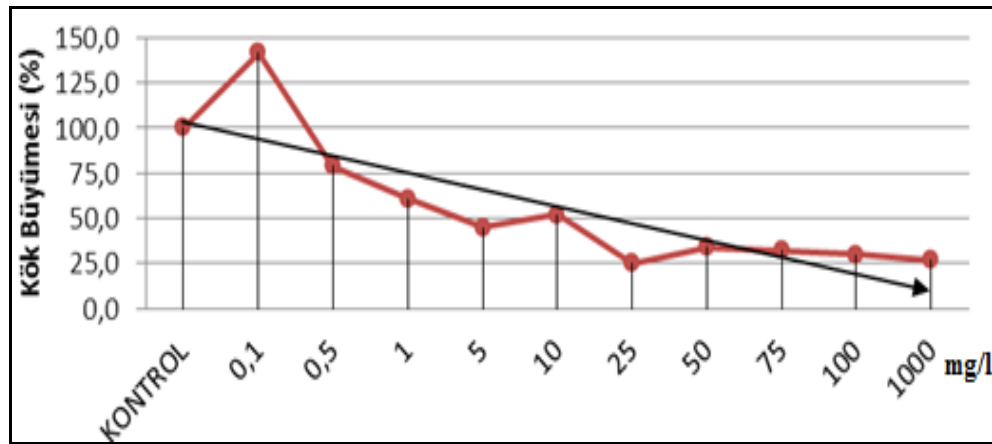
Çizelge 5.7. Houglan besin çözeltisi ortamında gerçekleştirilen tohum çimlenmesi sonucu elde edilen kök uzanım değerleri ve bağıl kök uzanım yüzdeleri.

(cm / %)	Fasulye	Nohut	Domates	Tere	Salatalık	Kabak
Kontrol	6,11 / 100	4,91 / 100	6,51 / 100	5,55 / 100	4,52 / 100	4,67 / 100
100 ppm MicNo [®] -Z	4,01 / 65,6	5,43 / 110	4,75 / 73,0	4,23 / 76,2	3,15 / 69,7	7 / 149,9
100 ppm T-ZnO	4,11 / 67,3	5,21 / 106,1	5,22 / 80,2	4,36 / 78,6	5,12 / 113,3	3,75 / 80,3
500 ppm MicNo [®] -Z	5,01 / 82	4,38 / 89,2	5,1 / 78,3	5,2 / 93,7	3,97 / 87,8	4,5 / 96,4
500 ppm T-ZnO	4,16 / 68,1	3,86 / 78,6	4,72 / 72,5	2,76 / 49,7	4,36 / 97,1	2,5 / 53,5
1000ppm MicNo [®] -Z	3,52 / 57,6	3,54 / 72,1	3,3 / 50,7	4,25 / 76,6	4,7 / 103,9	4,83 / 103,4
1000 ppm T-ZnO	3,04 / 49,8	2,58 / 52,6	4,8 / 73,7	4,84 / 87,2	3,91 / 86,5	4,43 / 94,8
2000ppmMicNo [®] -Z	3,17 / 51,9	4,02 / 81,9	2,2 / 38,4	3,4 / 61,3	4,47 / 98,9	3,85 / 82,4
2000 ppm T-ZnO	1,26 / 21,1	1,36 / 27,7	2 / 30,7	3,2 / 57,7	4,2 / 92,9	3,35 / 71,7
4000ppmMicNo [®] -Z	1,73 / 28,3	2,17 / 44,2	2,5 / 38,4	2,2 / 39,6	3,86 / 85,4	4,13 / 88,4
4000 ppm T-ZnO	1,02 / 16,7	1,62 / 33,0	0,5 / 7,7	1,2 / 21,6	3,01 / 66,6	4,25 / 91

Şekil 5.7. ve Şekil 5.8.'de sırasıyla MicNo-Z[®] ve ticari ZnO nanopartiküllerinin kök büyümesi ile ilgili inhibisyon test sonuçları verilmiştir.

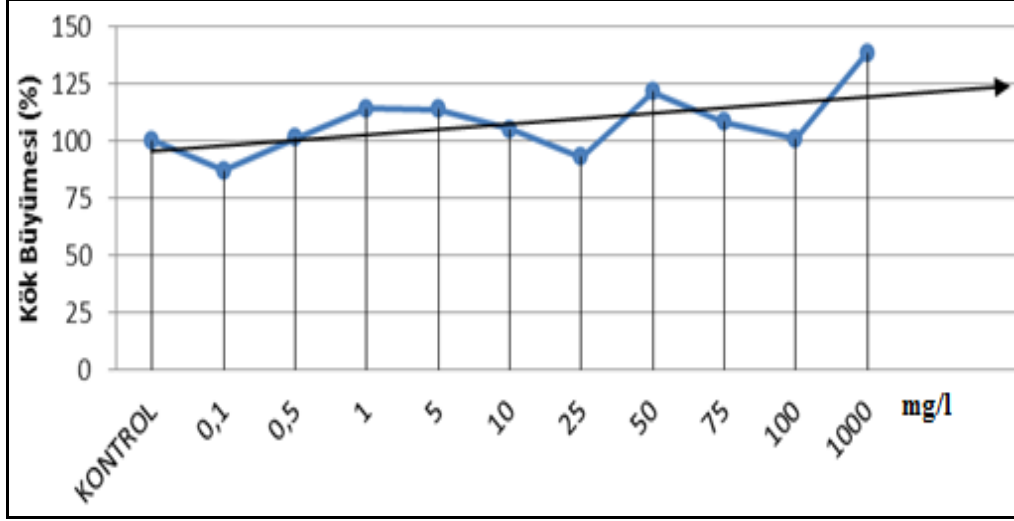


Şekil 5.7. MicNo-Z[®] nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.

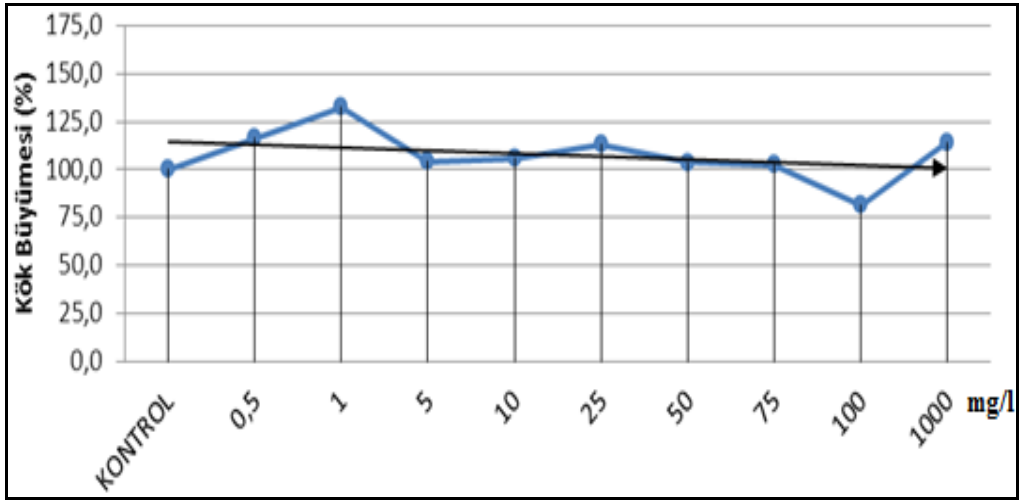


Şekil 5.8. Ticari ZnO nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.

TiO₂ nanopartikülleri için gerçekleştirilen denemelerde belirtilen konsantrasyon aralığında etkin doz değerine ulaşamamıştır. Bununla ilgili elde edilen grafiksel gösterim Şekil 5.9. ve Şekil 5.10.'da yer almaktadır.



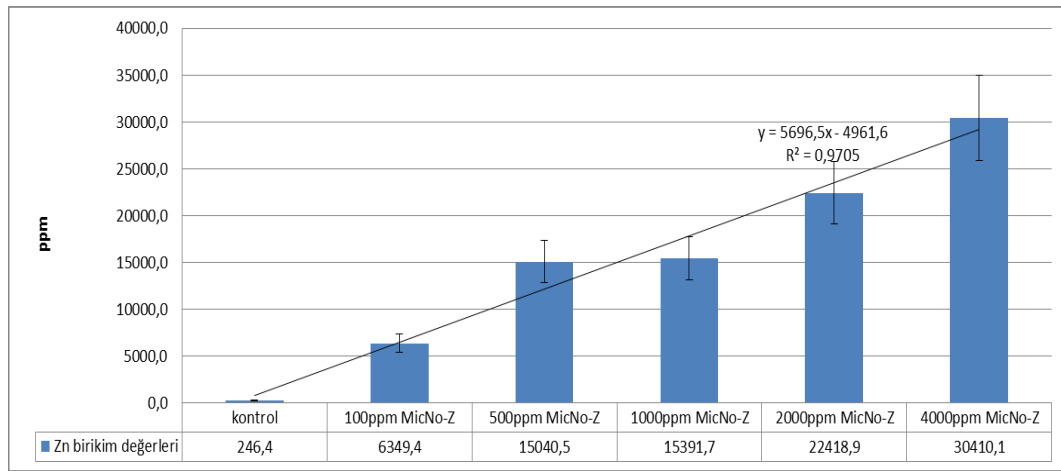
Şekil 5.9. Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.



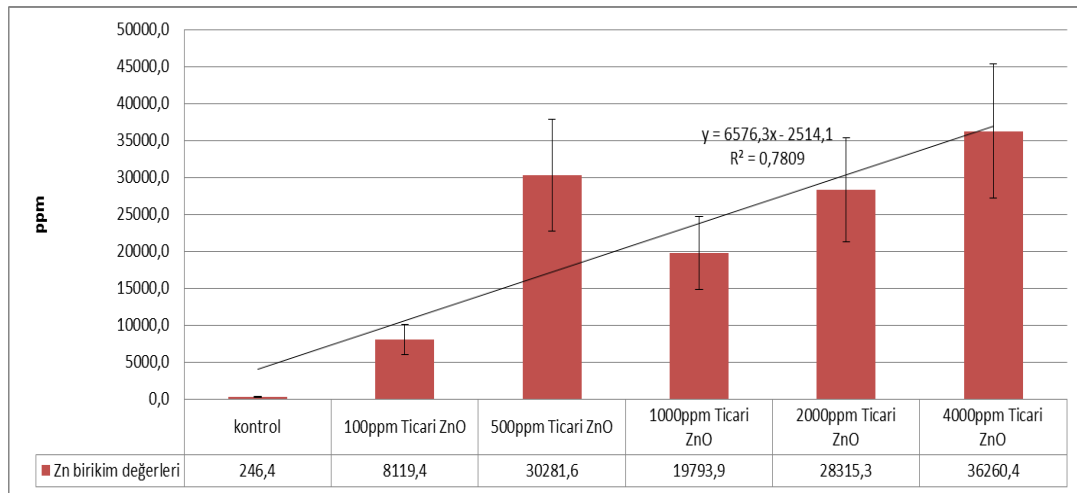
Şekil 5.10. MicNo-T[®] nanopartiküllerinin kök inhibisyon testi sonuçları.

5.2. Bitkilerde Oluşan Ağır Metal Birikimi Değerlendirme Çalışma Verileri

Farklı konsantrasyonlarda nanomalzemelere maruz kalmış toprak ortamlarında çimlendirilen bitkileri nanomalzemeye bağlı olarak kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ve titanyum iyon miktarları mg/kg olarak verilmiştir. Buna göre; Şekil 5.11.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.11.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimini göstermektedir.

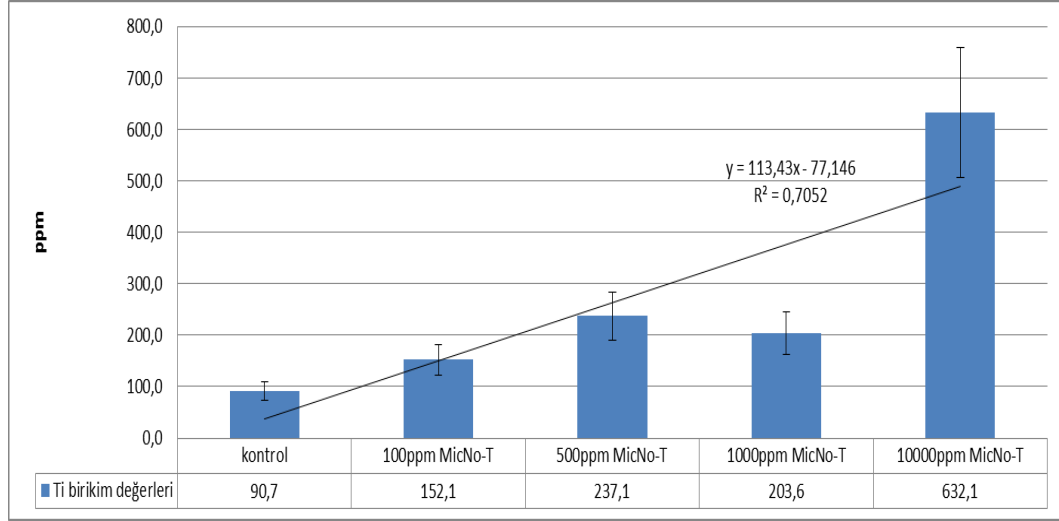


Şekil 5.11.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi.

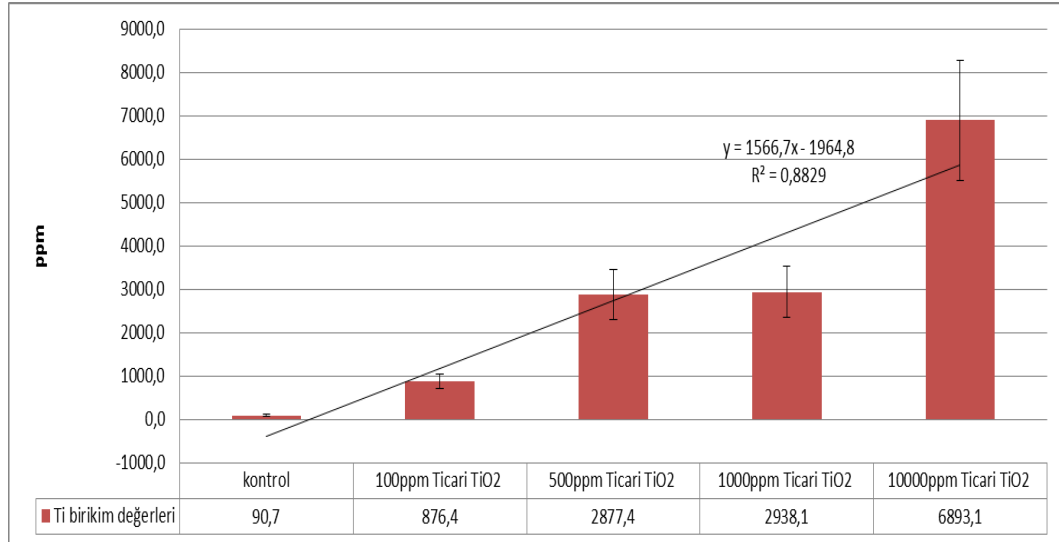


Şekil 5.11.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.12.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.12.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimini göstermektedir.

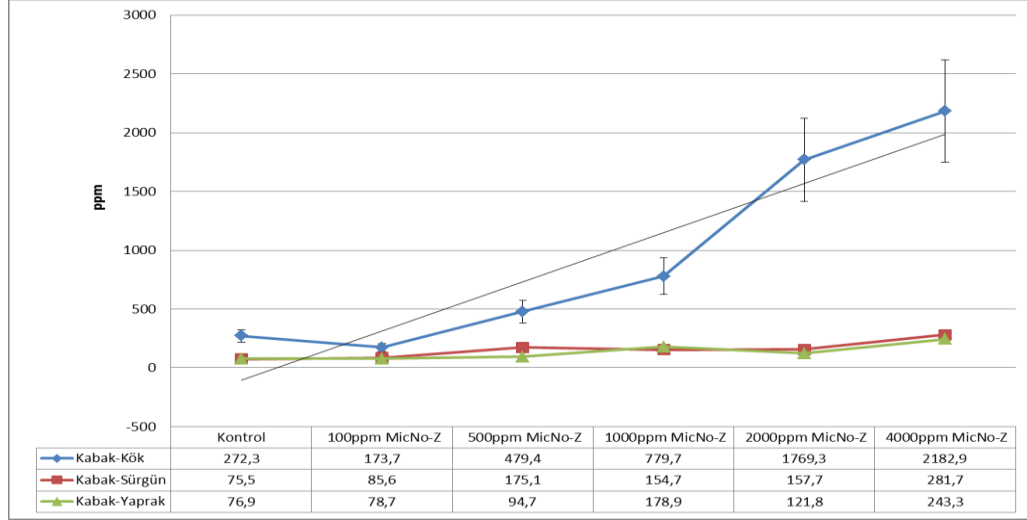


Şekil 5.12.(a). MicNo-T[®] nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi.

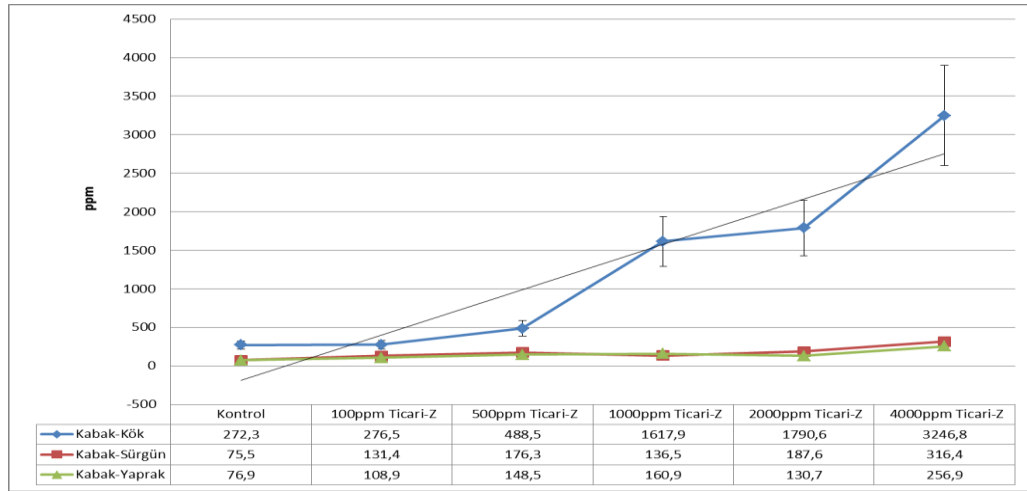


Şekil 5.12.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerine maruz kalmış soğan köklerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.13.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış kabak kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.13.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

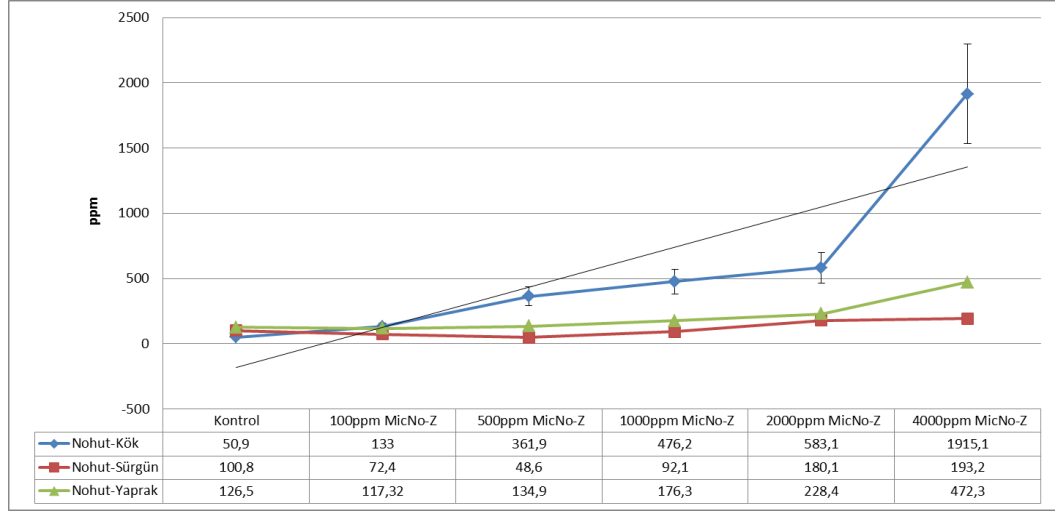


Şekil 5.13.(a). MicNo[®]-Z nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

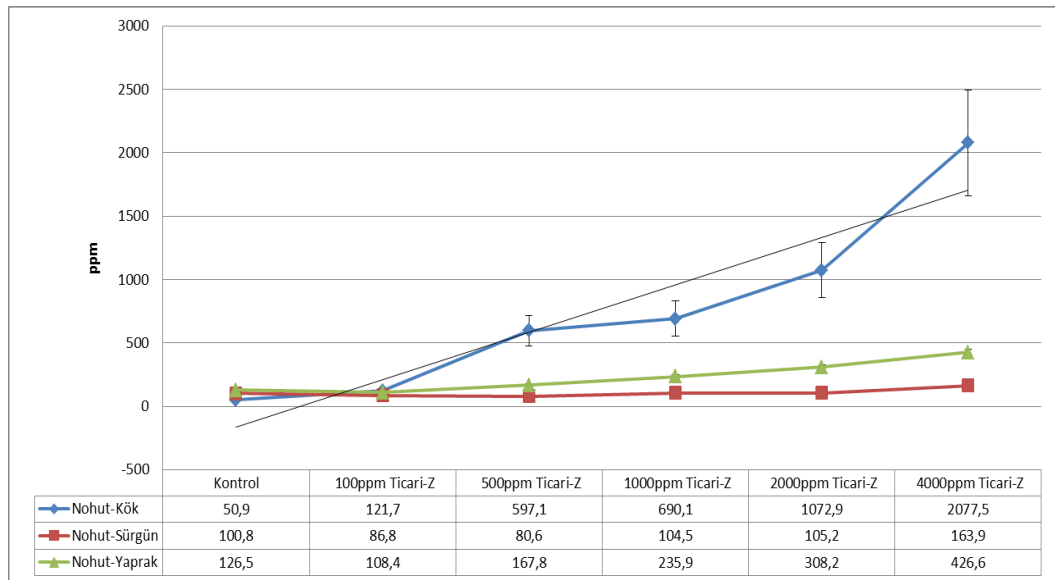


Şekil 5.13.(b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.14.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış nohut kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.14.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

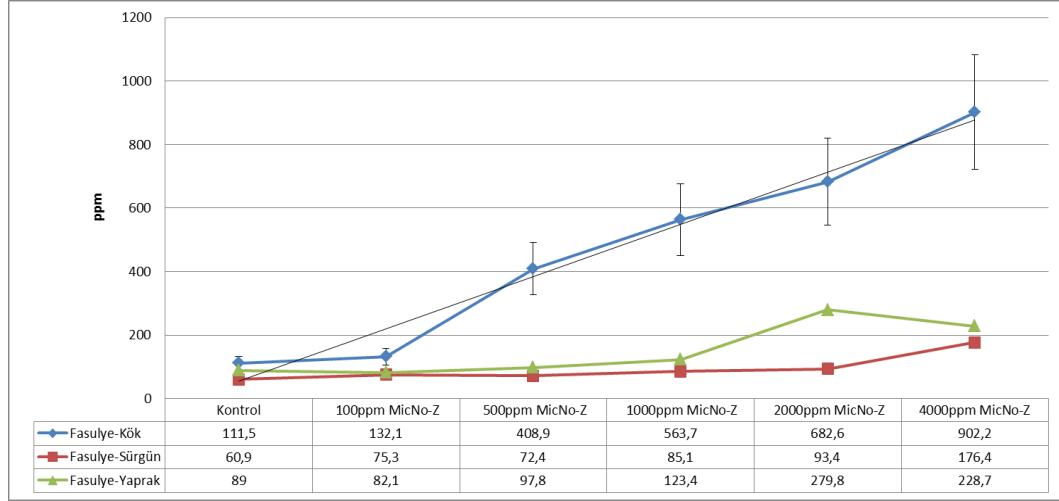


Şekil 5.14. (a). MicNo-Z[®] nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

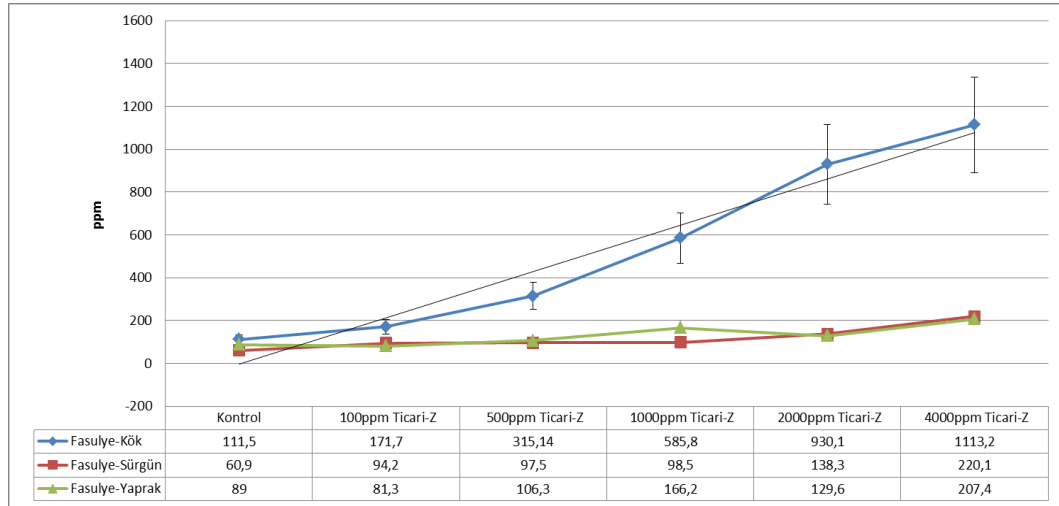


Şekil 5.14. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.15.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış fasulye kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.15.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

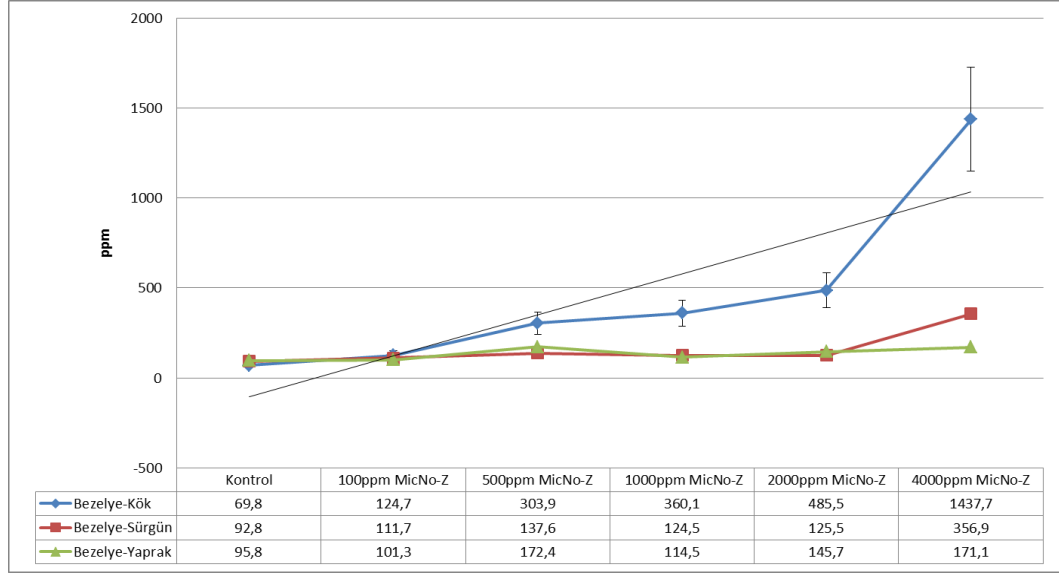


Şekil 5.15. (a). MicNo-Z[®] nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

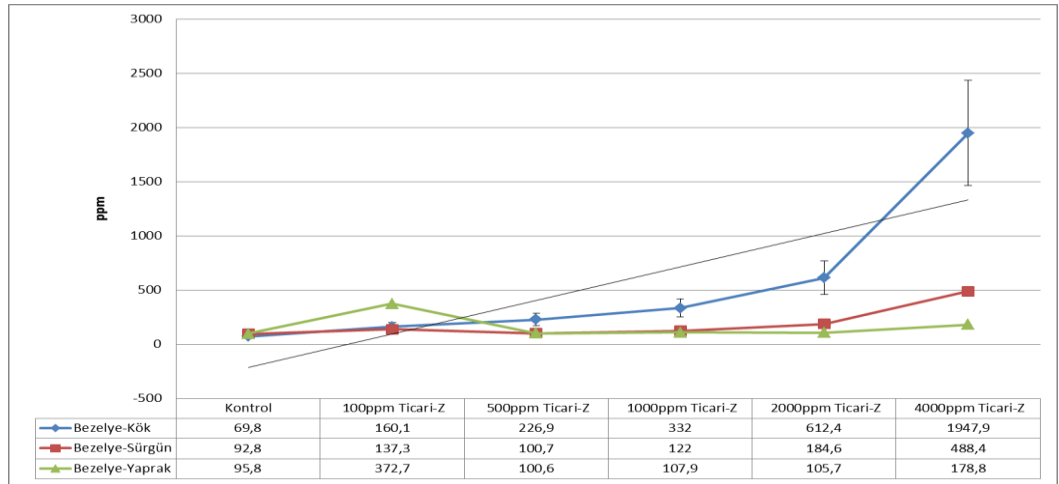


Şekil 5.15. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.16.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış bezelye kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.16.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

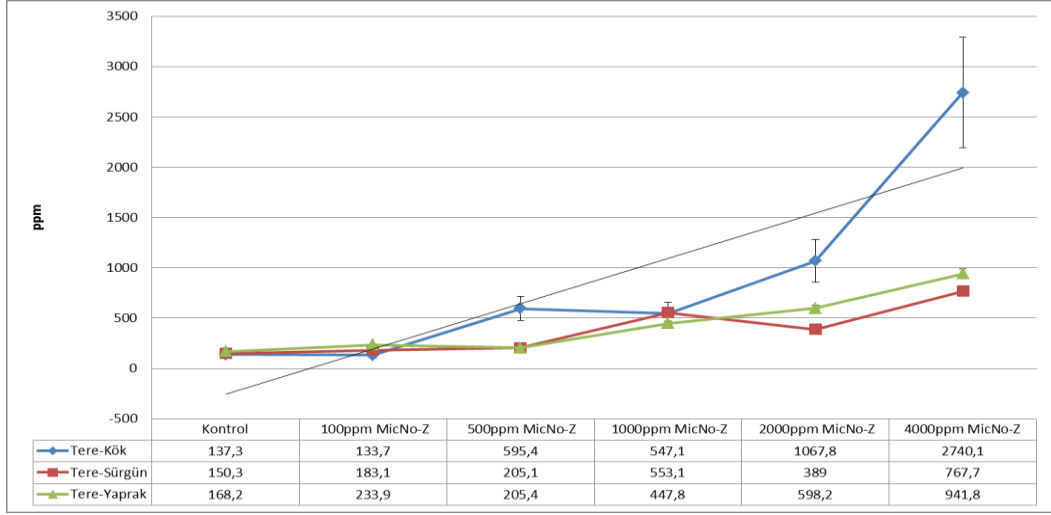


Şekil 5.16. (a). MicNo-Z[®] nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

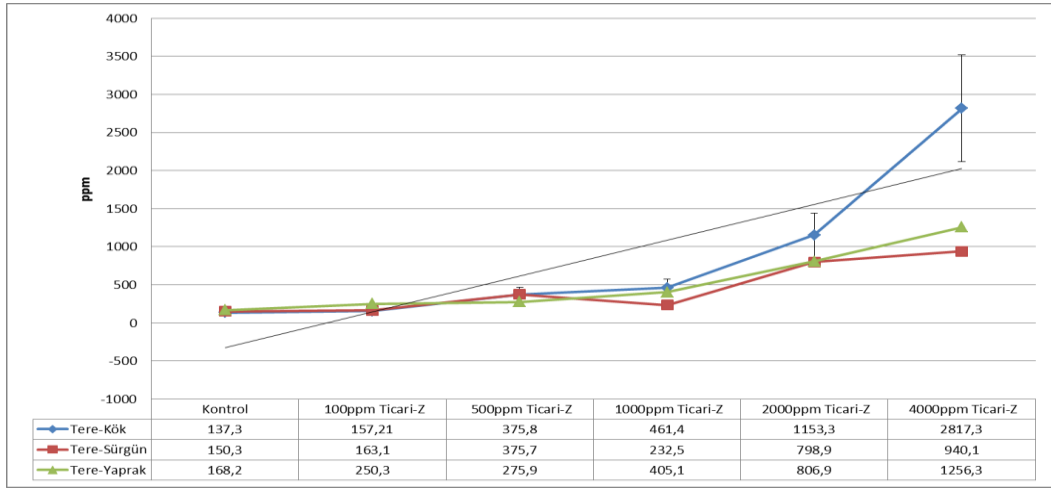


Şekil 5.16. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.17.(a) MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalmış tere kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Zn iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.17.(b) Ticari ZnO nanopartiküllerinin tere bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

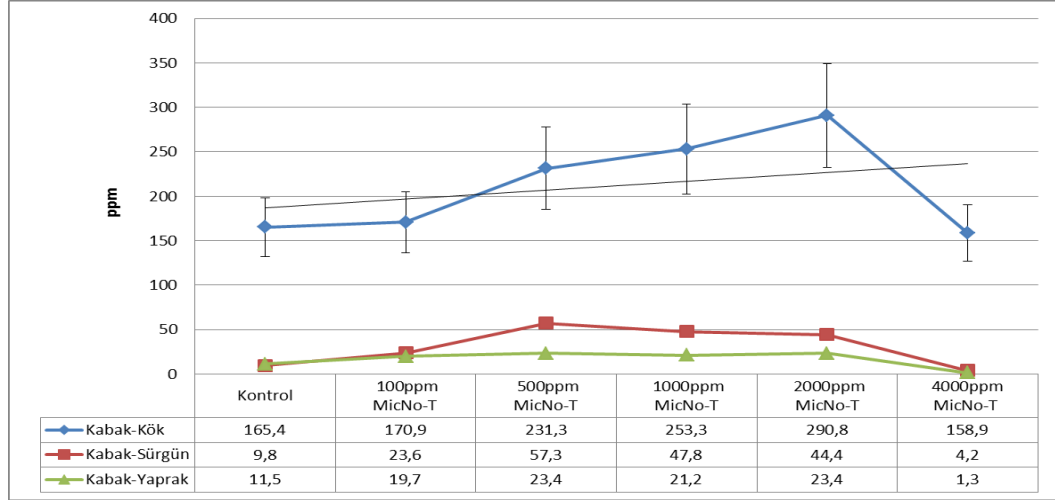


Şekil 5.17. (a). MicNo-Z[®] nanopartiküllerinin tere bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

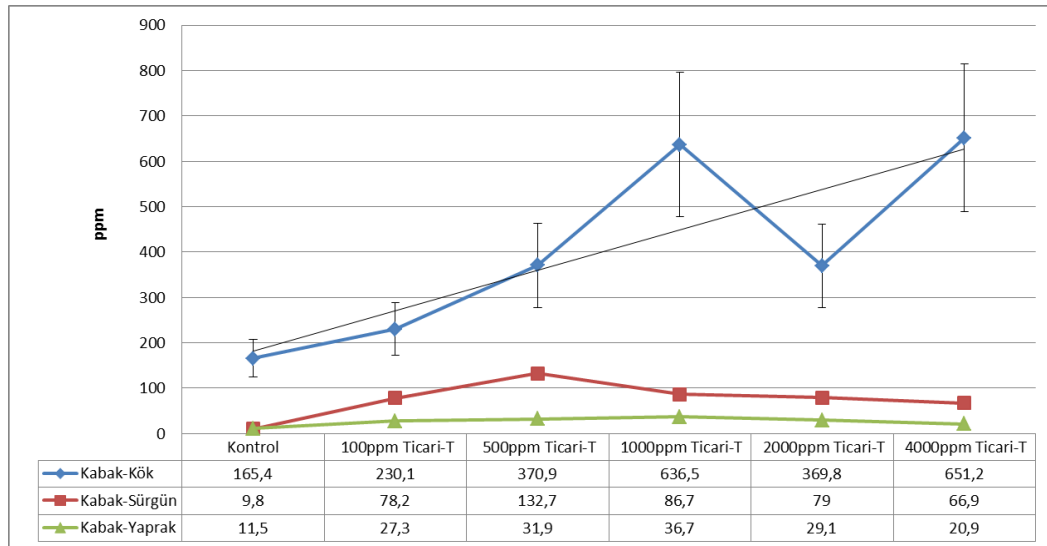


Şekil 5.17. (b). Ticari ZnO nanopartiküllerinin tere bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Zn iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.18.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış kabak kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.18.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

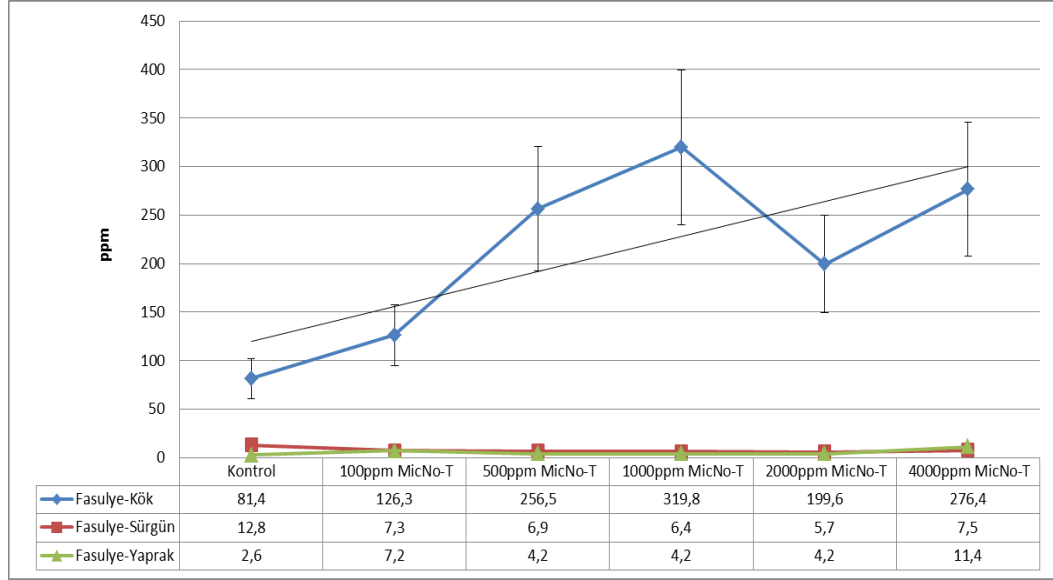


Şekil 5.18.(a). MicNo-T[®] nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

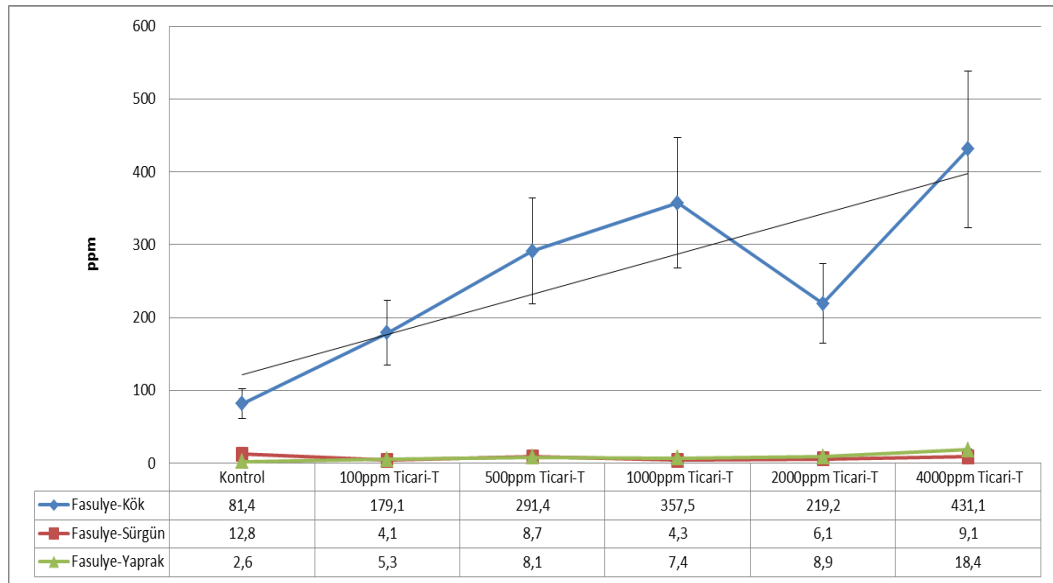


Şekil 5.18.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin kabak bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.19.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış fasulye kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.19.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

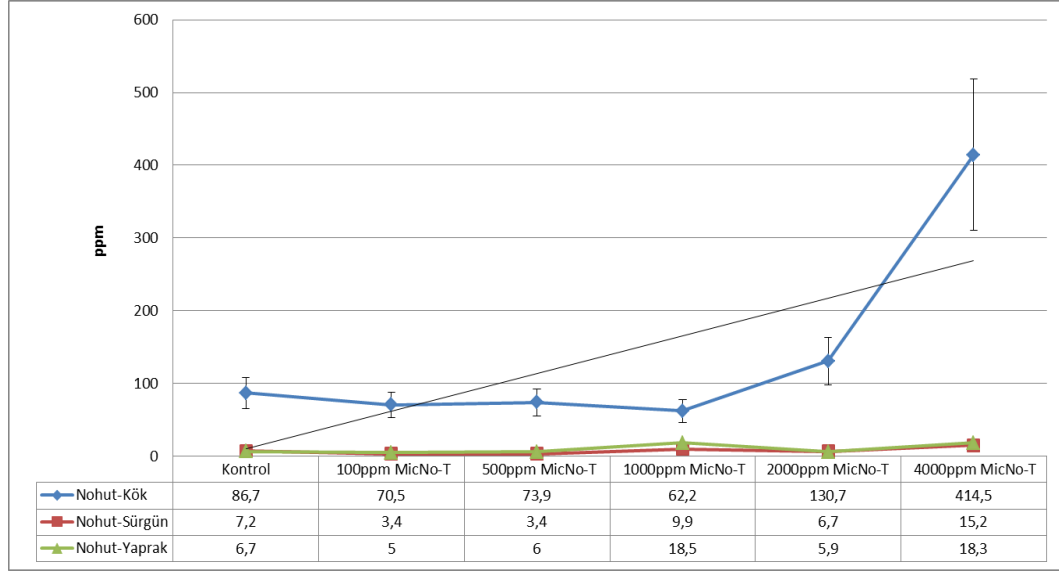


Şekil 5.19.(a). MicNo-T[®] nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

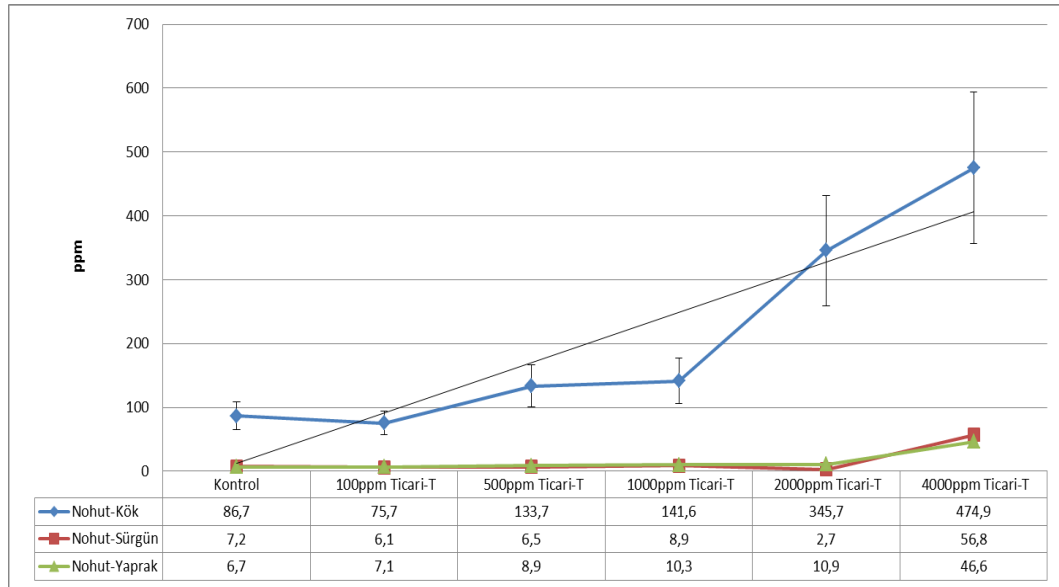


Şekil 5.19.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin fasulye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.20.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış nohut kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.20.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

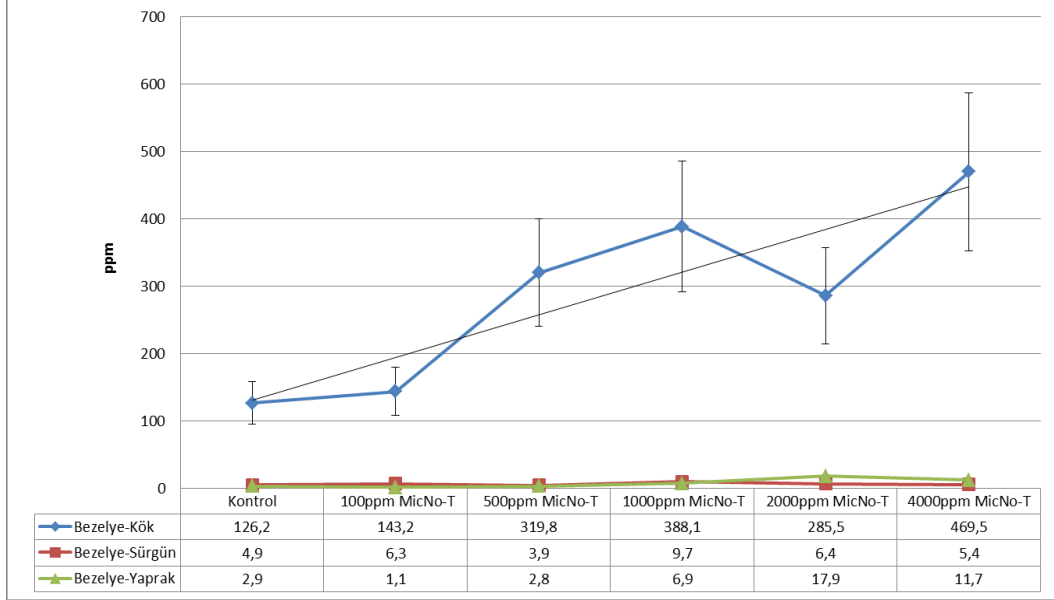


Şekil 5.20. (a). MicNo-T[®] nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

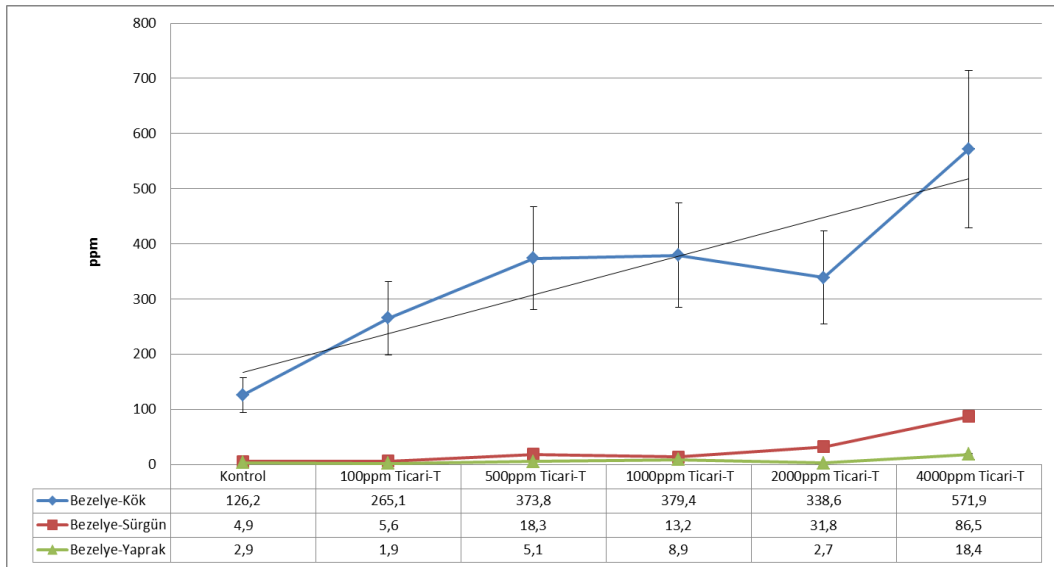


Şekil 5.20.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin nohut bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.21.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış bezelye kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.21.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi göstermektedir.

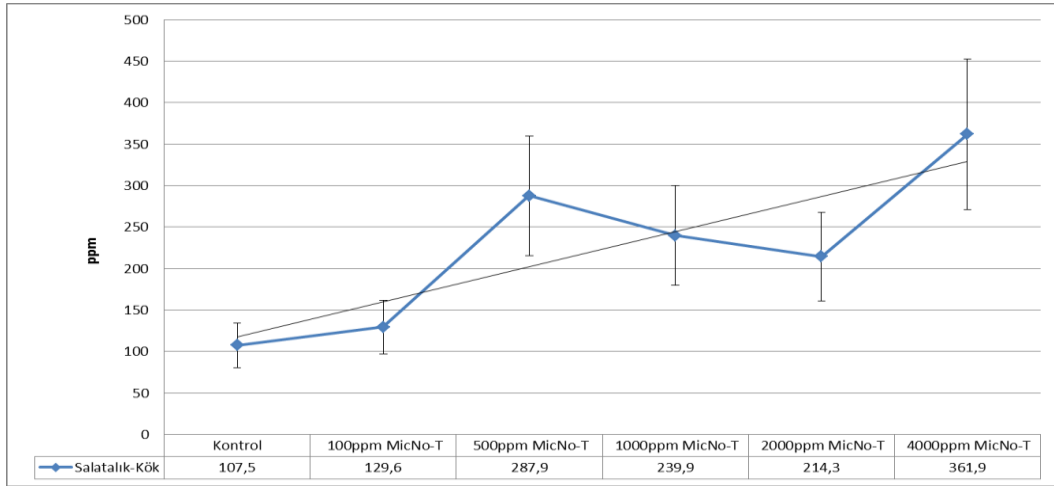


Şekil 5.21. (a). MicNo-T[®] nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

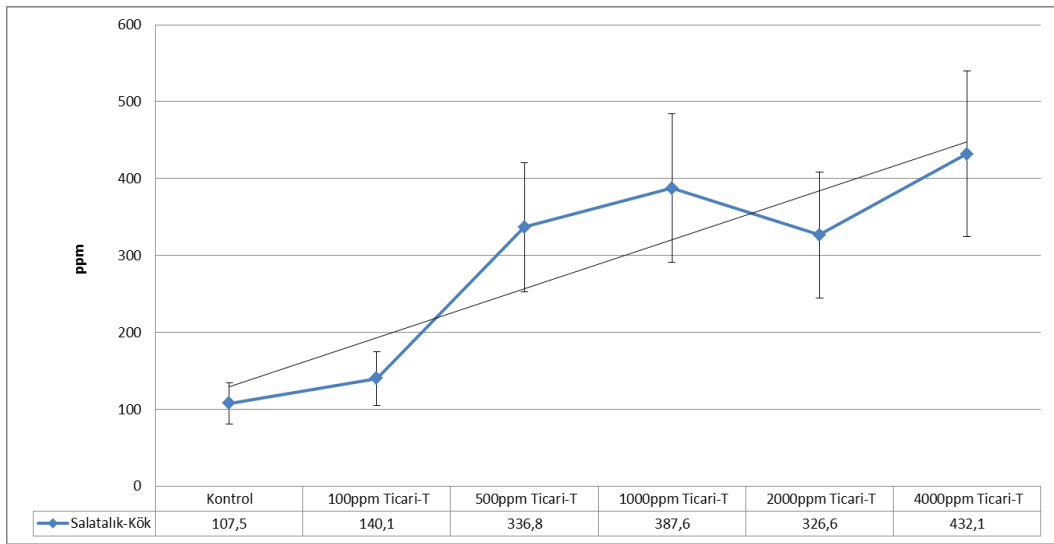


Şekil 5.21.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin bezelye bitkisi bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

Şekil 5.22.(a) MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalmış salatalık kök, bölümünde oluşan Ti iyonu birikimi değişimi göstermekte olup, Şekil 5.22.(b) Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin salatalık kök bölümünde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi göstermektedir.



Şekil 5.22. (a). MicNo-T[®] nanopartiküllerinin salatalık bitkisi kök bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.



Şekil 5.22.(b). Ticari TiO₂ nanopartiküllerinin salatalık bitkisi kök bölümlerinde oluşturduğu Ti iyonu birikimi değişimi.

6. DENEYSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI

Tez çalışması kapsamında nanopartiküllerin oluşturdukları toksisitenin ve dağılımların doğru yorumlanabilmesi için su ortamında oluşturdukları iyonlaşma değerleri belirlenmiştir. Bununla beraber nanomalzemelerin zeta potansiyel gerçekleştirilmiştir. Zeta potansiyeli ölçümlerinin hepsi eksi değerlerde değiştiği ve çalışılan ortamlarda tüm nanomalzemelerin kararsız durumda olmalarına karşın MicNo[®] üretim teknolojisi ile sentezlenen nanomalzemelerin zeta potansiyeli değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum iyonlaşma değerlendirmeleri ile de doğrulanmıştır. Buna göre ticari nanomalzemeler, patentli ürün olan MicNo[®] nanomalzemelerine göre daha fazla süre ortamda salınım yapmaktadır.

6.1. Bitki Kök Uzanımları Çalışma Sonuçları

Bitkiler üzerindeki etkileri değerlendirilen ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin farklı pH değerlerine sahip ortamlarda, farklı iyonlaşma değerlerine sahip olmaları ön görüşüyle iyonlaşma değerlendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Nanomalzemelerin iyonlaşma özelliklerinin değerlendirmesi çalışmalarında elde edilen sonuçlara bakıldığında; 50 mg/l derişimde MicNo-Z[®] nanopartiküllerini içeren numunelerin 300 dakika sonunda, iyonlaşan Zn iyonu derişiminin 6,7 mg/l olduğu tespit edilmiştir. Şekil 5.2.'de görüldüğü üzere aynı derişimde ticari ZnO nanopartiküllerini içeren numunelerin 5 saat (3000 dk) sonunda iyonlaşan Zn iyonu derişiminin ise 7 mg/l olduğu tespit edilmiştir. İyonlaşma her iki nanomalzeme içinde 0-300 dakika arasında hızlı gerçekleştiği belirlenmiş olup, 300 dakikadan sonra yavaşlamıştır. 200 mg/l derişimde MicNo-Z[®] nanopartiküllerini içeren numunelerde 5 saat sonunda iyonlaşan Zn iyonu derişiminin 7,5 mg/l olduğu belirlenmiştir. Aynı derişimde ticari ZnO nanopartiküllerini içeren numunelerde aynı süre sonunda iyonlaşan Zn iyonu derişiminin 8 mg/l olduğu belirlenmiştir. Her iki nanomalzeme için, iyonlaşma değeri değişimi 0-400 dakika arasında hızlı gerçekleşmiş olup, 400 dakikadan sonra yavaşlamıştır. Şekil 5.3.'de ZnO nanopartiküllerin 200 mg/l'de iyonlaşma sonuçları verilmiştir.

400 mg/l derişim ile MicNo-Z[®] nanopartikülleri içeren numunelerin 5 saat sonunda iyonlaşan Zn derişimi, 9 mg/l olduğu belirlenmiştir. Ticari ZnO nanopartikülleri için ise bu değerin 9,9 mg/l olduğu tespit edilmiştir. İyonlaşma her iki nanopartikül için de, 0-300 dakika arasında hızlı gerçekleşmekte olup 300 dakikadan sonra yavaşlamıştır. Şekil 5.4.'de ZnO nanopartiküllerin 400 mg/l'de iyonlaşma sonuçları verilmiştir.

MicNo-T[®] ve ticari TiO₂ nanopartikülleri için gerçekleştirilen iyonlaşma çalışmalarının değerlendirilmesi, 400 mg/l için Şekil 5.5.'de, 4000 mg/l için ise Şekil 5.6.'da yer almaktadır.

Elde edilen iyonlaşma verileri ışığında, ZnO ve TiO₂ nanopartikülleri için sonuçların hiçbir şekilde benzerlik göstermediği rahatlıkla söylenebilir. ZnO nanopartiküllerinin iyonlaşma grafiğinin, zamana bağlı olarak hangi konsantrasyon olursa olsun iyonlaşma değerlerinin belirli bir süreden sonra yatay hale geldiği ve daha sonrasında da belirli bir değerde sabitlenebildiği belirlenmiştir. Ancak TiO₂ nanopartiküllerinde bu durum, zamana bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle toksisitesi değerlendirilen nanopartiküllerin su ve besi ortamlarındaki zeta potansiyellerinin de göz ardı edilmemesi gereklidir. Elde edilen zeta potansiyeli ve iyonlaşma değerleri değişim verileri, kısa süreli etki değerlendirmesi çalışmalarında tüm nanopartiküller için azami öneme sahiptir. Metal oksit nanopartiküllerinin, sucul ve toprak ortamlarında oluşan dağılımlarının sayısal veriler ışığında anlaşılması amaçlanmıştır. Yapılan zeta potansiyeli ve iyonlaşma değerlendirmeleri çalışmaları, farklı bitki tohumları ile gerçekleştirilen çimlendirme ve bitki gelişimi izlenme çalışmalarını, nanomalzemelerin bitki bünyesine alımlarının ve bitki bünyesinde oluşturdukları birikim farklılıklarının ortaya konulmasını desteklemek amaçlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Daha önce belirtilen içerikle hazırlanan Hougland çözeltileri içerisinde 0, ila 4000 mg/l farklı dozlarda değişen nanopartikülleri içeren çözeltiler manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Daha sonra da belirtilen tohumlarla kök uzanım değerlendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Houglan besin çözeltileri kullanılarak, petri kaplarında pamuk ve kurutma kağıdının köklenme ortamı olarak kullanıldığı bu çalışmada, farklı üretim süreçleri ile elde edilen metal oksit nanopartiküllerin çevresel etkilerinin değerlendirilmesinde etkin doz olan EC₅₀ değeri belirlenmiştir.

Belirtilen tohumlar ile TiO₂ ve ZnO nanopartiküllerinin 0, 100, 500, 1000, 2000 ve 4000 mg/l değerlerinde değişen dozlar ile 5 günlük (120 saat) çimlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonrasında doza bağlı olarak artan nanopartikül konsantrasyonu ile çimlenen tohumların kök uzunlukları ve tohumların çimlendirme yüzdeleri değişimleri kullanılarak, nanopartiküllerin akut etkilerinin değerlendirilmesi sağlanmıştır. Çalışma ile ilgili veriler değerlendirildiğinde, TiO₂ nanopartikülleri için Houglan besin çözeltileri içeren ortamda hiçbir tohum için etkin doz belirlenmiştir. 5 günlük sürede ZnO nanopartikülleri için ise sadece kabak ve bezelye bitki tohumları için kök uzunluğu değerlendirilebilecek veri elde edilememiştir. Bu nedenle hazırlanan yeni denemelerde kabak tohumları yedi günlük süre ile maruziyet çalışmalarına alınmıştır.

Ticari ZnO ve MicNo-Z[®] nanopartiküllerine maruz kalan bezelye tohumu hariç diğer bitki tohumlarının kök uzunluğu ile kontrol grubu bitkilerin kök uzunluğu ortalama değerleri değişimi Çizelge 5.7.'de verilmiştir. Çizelge 5.7.'de sadece bezelye bitkisi tohumları ile ilgili değerlere, yeterli ve uygun verilerin elde edilememesi nedeniyle yer verilmemiş olup, diğer bitkiler artan nanopartikül konsantrasyonuna bağlı olarak elde edilen uzunluk değerleri ve kök uzunluk bağlı değerleri yüzde olarak ifade edilmiştir. Gerçekleştirilen bu kısa etki çalışmalarında özellikle ticari ZnO nanopartiküllerine 2000 ppm ve üzeri dozlarda maruziyetlerde fasulye ve nohut bitki köklerinde dallanmaların azaldığı ve kök uzunluklarının gözle görülür bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Artan nanomalzeme dozu ile birlikte, özellikle 500 mg/l konsantrasyonunda sonra kök gelişimlerinin sekteye uğradığı görülmekte ve tohuma bağlı olarak farklı dozlarda etkilediği görülmektedir. Tohum kütlesi azaldıkça doza bağlı etkinin arttığı ve kök uzunluğunu etkilediği söylenebilir. Ancak bu çalışmada değerlendirilen nanomalzemelerin salatalık tohumları üzerindeki etkisi ile ilgili etkin konsantrasyon ortaya konulamamıştır.

Bununla birlikte belirtilen konsantrasyon artışı ile MicNo-Z[®] maruz kalan bitki tohumlarının kök uzanımı değerlerine bakıldığında, göreceli olarak ticari ZnO maruz kalan bitki tohumlarına nazaran daha az etkilendikleri söylenebilir.

Bu çalışma ile paralellik gösteren başka bir diğer bir çalışmada ise, saf su içerisinde farklı konsantrasyonlara sahip dört farklı nanopartikül ile hazırlanan çözeltilerin, arpacık soğanı (*Allium cepa* L.) bitkileri ile belirtilen metal oksit nanopartiküllerin etki değerlendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Etkin dozun belirlenmesi veya kök inhibisyon testi amacı ile soğanlar, 96 saat süreyle TiO₂ ve ZnO nanopartikülleri için 0,1-1000 mg/l konsantrasyona sahip ortamlarda denemeler gerçekleştirilmiştir. 96 saat sonunda kök uzunlukları ölçülmüştür. Elde edilen kök uzunım değerleri kontrol grubu ile karşılaştırılması yapılarak, kök inhibisyon testi sonuçları elde edilmiştir. Buna göre yapılan hesaplamalar sonucu elde edilen dağılımlar; Şekil 5.7. ve Şekil 5.8.'de sırasıyla MicNo-Z[®] ve ticari ZnO nanopartiküllerinin kök büyümesi ile ilgili inhibisyon test sonuçları verilmiş olup, grafikte de gösterildiği üzere etkin konsantrasyon değeri olan, EC₅₀ değerlerinin birbirine eşit ve 10 mg/l olduğu belirlenmiştir. Ancak interpolasyonu yapılan doğrunun geçtiği noktalara bakıldığında ticari nanomalzemelerin EC₅₀ değerinin iki buçuk kat daha yüksek bir konsantrasyonda olduğu görülmektedir.

TiO₂ nanopartikülleri için gerçekleştirilen denemelerde belirtilen konsantrasyon aralığında etkin doz değerine ulaşamamıştır. Bu durumda da TiO₂ nanopartikülleri için kök inhibisyon testi, daha yüksek konsantrasyonlarla devam edilmiştir. Ancak yapılan bu denemelerde de kök inhibisyonu görülmemekle birlikte, TiO₂ nanopartiküllerinin soğan kök hücresi gelişimine su ortamında nötr etkileri olduğu söylenebilir. Bununla ilgili elde edilen grafiksel gösterim Şekil 5.9. ve Şekil 5.10.'da yer almaktadır.

6.2. Bitkilerde Oluşan Ağır Metal Birikimi Değerlendirme Çalışması Sonuçları

Elde edilen kök inhibisyon verileri ışığında, soğan bitkisi köklerinde oluşan nanopartikül birikimlerin belirlenebilmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Soğan bitki kökleri, 0, 100, 500, 1000, 2000 ve 4000 mg/l konsantrasyon aralığı ile ZnO nanopartikülleri ve 0, 100, 500, 1000 ve 10000 mg/l konsantrasyon aralığı ile TiO₂ nanopartikülleri içeren ve saf suyun çözücü olarak kullanılması ile hazırlanan çözelti ortamlarında değerlendirilmeleri gerçekleştirilmiştir. 48 saatlik maruziyet ile elde edilen sonuçlara bakıldığında ZnO nanopartikülleri için konsantrasyon artışına bağlı olarak kök bölümlerinde oluşan çinko ağır metaki birikimleri Şekil 5.11'de gösterilmiştir. Buna göre kontrol grubundaki soğan köklerinin sahip olduğu çinko birikiminin, nanopartiküllere maruz kalan soğanlara göre göz ardı edilebilecek seviyede farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Nanopartikül konsantrasyonu artışına bağlı olarak, çinko birikiminin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca MicNo[®]-Z ve ticari ZnO nanomalzemeler, aynı konsantrasyonlarda değerlendirildiklerinde, MicNo[®]-Z nanopartiküllerine maruz kalan soğanların kök bölümlerinde, ticari ZnO nanopartiküllerine maruz kalan göre daha az çinko ağır metali birikimi olduğu belirlenmiştir.

TiO₂ nanopartiküllerinin soğan köklerinde oluşturduğu maruziyet sonrasında gerçekleştirilen ağır metal iyonu içeriği değişimi ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları Şekil 5.12.'de yer almaktadır. Gerçekleştirilen çalışmada izlenen yöntem ZnO nanopartikülleri için olan ile aynıdır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında kontrol grubundaki titanyum ağır metal birikiminin nanopartiküllere maruz kalan soğanlara göre göz ardı edilebilecek seviyede oldukları belirlenmiştir. Bununla birlikte konsantrasyon artışına bağlı olarak, titanyum iyonu birikiminin arttığı belirlenmiş olup, böylelikle doza bağlı olarak bir artış da elde edilmiştir. Ayrıca MicNo[®]-T ve ticari TiO₂ nanopartikülleri aynı konsantrasyonlarda soğan köklerinde oluşturdukları ağır metal birikimi değerlendirildiğinde, MicNo[®]-T nanopartiküllerine maruz kalan soğanlarda daha az ağır metal birikimi olduğu belirlenmiştir.

Kullanılan nanopartiküllerinin MicNo[®] ve ticari olanlarının oluşturduğu birikimler karşılaştırıldığında, genel olarak MicNo[®] partiküllere maruz kalan toprakta veya sucul ortamda çimlendirilen ve gelişimi takip edilen bitkilerin özellikle kök kısımlarında oluşan ağır metal birikimlerin farklılığı göreceli olarak ticari nanopartiküllere maruz kalan bitkilere göre daha düşük değerlerde olduğu belirlenmiştir. Değerlendirilen diğer bitkilerde de özellikle kök bölümleri için benzer değişimler ortaya koyulması ile birlikte sürgün ve yaprak bölümündeki birikim değişimleri farklılıkları göz ardı edilebilecek kadar az miktardadır. Yapılan bu çalışmalar ile literatürde sucul ortamda dağılımları sağlanan nanopartiküller ile ilgili yapılan gerçekleştirilen etki çalışmalarına katkı sağlaması kaçılmazdır.

Gerçekleştirilen her denemede, belirli konsantrasyonda yer alan en iyi uzanım ve ağırlık değerlerine karşın, tam tersi olan en düşük uzanım ve ağırlık değerlerine sahip bitki bölümleri ağır metal iyonu değerlendirilmesi için özümseme işlemine tabii tutulmuştur. Böylece değerlendirilen bitkilerin kök, sürgün ve yaprak gibi bölümlerinin ihtiva ettiği ağır metal iyonu değişim miktarları farklılıklarının ortaya konulması ile nanopartiküllerin oluşturduğu çevresel etkilerin birbirleri arasında karşılaştırılmalı olarak ortaya koyulması ve değerlendirilmesi sağlanmıştır. Uzanım ve ağırlık değişim değerleri bu bölümde verilmemiş olup, bu değerler ağır metal birikimin değerlendirilebilmesi için uygun numunenin seçiminde değerlendirilmiştir.

Göstermiş olduğu uygun çimlenme yüzdeleri ile kabak, fasulye, nohut, bezelye ve tere tohumlarının çimlendirme çalışmalarında dört farklı nanopartikül tozları 0, 100, 500, 1000, 2000 ve 4000 mg/kg dozlara sahip topraklarda çimlendirilme işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan tüm çalışmalar farklı bitki bölümlerinin doz artışı ve malzeme farklılığının doğru bir şekilde ortaya konulabilmesi için minimum üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen görsel değerlendirme ışığında kontrol grubunun ortalama kök uzanımlarının, ortalama sürgün uzunlukları ve yaprak sayısının, ticari ve sentez, TiO₂ ve ZnO nanopartiküllerine maruz kalmış topraklardaki bitkilere göre daha iyi durumda oldukları söylenebilir.

Ancak bu durum fizyolojik olarak incelendiğinde çinko oksit nanopartiküllerine özellikle de ticari ZnO nanopartiküllerine maruz kalmış topraklarda çimlendirilen kabakların yapraklarındaki yapısal bozukluklar ve kontrol gruplarına göre orantısız gelişimler dikkat çekmektedir. Oluşan morfolojik aksaklıklar sürekli yapılan kontrol grubu denemelerinde de rastlanılmıştır. Ancak nanopartiküllere maruz kalan topraklarda yetişen bitkilerde daha sık karşılaşılmıştır. Oluşan bu farklılıklar ağır metal içeriği değerlendirilmesinde numune seçimi için ön koşul olarak değerlendirmeye alınmıştır. Kök, sürgün ve yaprak uzanım veya gelişimleri de diğer bitkilerde de gözlemlenmiştir.

MicNo[®] ve ticari nanopartiküllere maruz kalan toprak ortamlarında çimlendirilen tohumlar üzerindeki kısa süreli etkilerin, bitkilerin kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan ağır metal birikimi farklılığı ortaya konulmasıdır. Buna göre, ZnO nanomalzemelerinin oluşturduğu ağır metal birikim farklılığı kabak, nohut, fasulye, bezelye ve tere bitkileri kullanılarak belirlenmiş olup, TiO₂ nanomalzemelerinin oluşturduğu ağır metal birikim farklılığında ise kabak, fasulye, nohut, bezelye ve salatalık bitkileri ile gerçekleştirilmiştir.

MicNo-Z ve Ticari-Z, ZnO nanomalzemelerini temsil etmekte olup, MicNo-T ve Ticari-T, TiO₂ nanomalzemelerini temsil etmektedir. Buna ek olarak MicNo[®] nanomalzemelerin oluşturduğu ağır metal birikimi gösterimi şekillerin (a) sekmesinde ve ticari nanomalzemelerin oluşturduğu ağır metal birikimi gösterimi ise şekillerin (b) sekmesinde karşılaştırmalı olacak şekilde verilmiştir.

Buna göre Şekil 5.13'de farklı üretim yöntemleri ile elde edilen ZnO nanomalzemelerinin kabak bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikimi farklılığı görülmektedir. Toprağa uygulanan ağır metal miktarının artması ile köklerin aldığı çinko iyonu miktarı artmaktadır. Buna ek olarak, MicNo-Z[®] nanomalzemelerinin oluşturduğu maruziyet özellikle kök bölümlerinde ticari ZnO nanomalzemelerin oluşturduğu birikimden genellikle daha az olduğu belirlenmiştir.

Bu artışın kabak bitkilerinin sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan ağır metal birikiminde de yavaşlayarak artan bir halde devam ettiğini ortaya koymuştur.

Şekil 5.14'de ise farklı üretim yöntemleri ile elde edilen ZnO nanomalzemelerinin nohut bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikimi farklılığı görülmektedir. Burada kabak bitkilerinden farklı olarak yaprak bölümlerinde oluşan birikimin doz artışı ile beraber sürgün bölümlerinde oluşan çinko ağır metali birikimi miktarlarının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen ZnO nanomalzemelerinin fasulye bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikimi farklılığı ise Şekil 5.15.'de görülmektedir. Burada da doz artışı ile birlikte diğer bitkilerde olan çinko ağır metali birikimi benzetmek ile birlikte bitkilerin sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan biyobirikimin birbirine çok yakın olduğu belirlenmiştir. Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen ZnO nanomalzemelerinin bezelye bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikimi farklılığı ise Şekil 5.16'da görülmektedir. Burada ise doz artışı ile birlikte diğer bitkiler bölümlerinde oluşan çinko ağır metali birikimi kabak bölümlerinde oluşan birikime benzetmekte olduğu söylenebilir.

Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen ZnO nanomalzemelerinin bitkiler üzerinde oluşturdukları birikimi farklılığı değerlendirilmesi son olarak tere bitkisi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre Şekil 5.17.'de tere bitkisinin kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikimi farklılığı görülmektedir. Burada diğer bitkilerden farklı bir durum olarak, tere bitkilerinin yenebilen kısımları olan sürgün ve özellikle de yaprak bölümlerinde oluşan çinko ağır metal birikiminin doz ile artışı ile birlikte oluşturduğu durum dikkat çekicidir.

Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen TiO₂ nanomalzemelerinin kabak bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan titanyum ağır metal birikimi farklılığı Şekil 5.18.'de görülmektedir. Buna göre TiO₂ nanomalzemeleri dozu artışı ile birlikte kabak bitkileri bölümlerinde oluşan titanyum birikimleri her ne kadar dalgalanmalar gösterse de kök bölümlerinde özellikle ticari nanomalzemenin birikime neden olduğu belirlenmiştir.

Bununla birlikte doz artışı sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan birikimlerin artışının azaldığını ortaya koymaktadır. Şekil 5.19.'da farklı üretim yöntemleri ile elde edilen TiO₂ nanomalzemelerinin doz artışı ile birlikte fasulye bitkisi kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşturduğu titanyum ağır metal birikimi farklılığı görülmektedir. Burada ortaya çıkan durum için titanyum birikiminin en etkili olduğu bölümün fasulyenin kök bölümü olduğu ve yukarı bölümlere taşınımının sağlanamadığı söylenebilir.

Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen TiO₂ nanomalzemelerinin doz artışı ile birlikte nohut ve bezelye bitkilerinin kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşturduğu titanyum ağır metal birikimi farklılığı sırasıyla Şekil 5.20. ve Şekil 5.21.'de verilmiştir. Her iki şekilde de görüldüğü gibi ortaya çıkan birikim farklılığı değişimi Şekil 5.19.'da fasulye bitki için oluşan birikim miktarı değişimine benzemektedir. Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen TiO₂ nanomalzemelerinin bitkiler üzerinde oluşturdukları birikimi farklılığı değerlendirilmesi son olarak salatalık bitkisi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre Şekil 5.22.'de salatalık bitkisinin kök bölümlerinde oluşan titanyum ağır metal birikimi farklılığı görülmektedir. Burada diğer bitkilerden farklı olarak, sürgün ve yaprak bölümlerinde oluşan titanyum ağır metal birikimi değerlendirilmesi gerçekleştirilemediği için yer verilmemiştir. Ancak TiO₂ nanomalzemelerinin doz ile artışı ile birlikte oluşturduğu birikim artışı burada da ortaya çıktığı görülmektedir.

Elde edilen veriler ışığında kabak, fasulye, nohut ve bezelye bitkilerinin kök, sürgün ve yaprak gelişmişlikleri ile ilgili durumlarının değerlendirilmesinde nanomalzeme (TiO₂ ve ZnO) konsantrasyonu artışı ile toprak ortamında çimlendirilme çalışmalarında özellikle 1000 mg/kg ve üzeri konsantrasyonlarda aksiliklerle (özellikle ZnO nanomalzemeleri için) daha sık karşılaşılmıştır. Buna göre gelişen kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde ortaya çıkan aksaklıklar kontrol grubu bitkilerin bölümleriyle kıyaslandığında fizyolojik anlamda farklılıklara rastlanmıştır.

Bu durum benzer olarak besin ve su ortamında gelişimi incelenen bitkiler ile yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir. Yapılan tüm çalışmalar göz önüne alındığında kısa süreli etki değerlendirmesinin gerekliliği ön plana çıkmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sayesinde konsantrasyon artışı ile birlikte ZnO nanopartiküllerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması ile bitki gelişiminin engelleyebildiği belirlenmiştir. Bununla beraber TiO₂ nanopartiküllerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak, zararlı bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur.

7. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bugüne kadar nanopartiküllerin çevreye olan etkilerinin değerlendirilmesi kapsamında gerçekleştirilen çalışmalara bakıldığında, herhangi bir nanomalzeme için su ortamından sonra en önemli yutak olan toprak ve toprak sisteminde gelişen bitkiler üzerinde nanomalzemelerin oluşturduğu toksisiteler ile ilgili yapılan çalışma olmadığı görülmektedir. Besin zincirinin önemli bir parçası olan, toprak ortamında gelişen ve yetişen bitkiler üzerinde nanopartiküllerin etkilerinin değerlendirilmesinde, hem teorik hem de pratik anlamda toksik etki değerlendirilmesi ile ilgili etki veya vaka çalışmalarının önemi gün geçtikçe artan nanomalzeme üretim hacmi ile daha fazla ortaya çıkmasının kaçınılmaz olduğu düşünülmektedir.

Bitki bünyesine ulaşan ağır metaller bitkilerin fizyolojik aktivitelerini engellemekte, verimliliklerini azaltmakta ve ölümlerine neden olmakta dolayısıyla ürün kalite ve miktarının azalmasına yol açmaktadırlar. Bitkilerin ağır metal toksisitesine karşı toleransları bitki türüne, element türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir.

Bu kapsamda da çalışmada gerçekleştirilen bitkiler üzerinde farklı üretim yöntemleri kullanılarak elde edilen nanopartiküllerin kısa süreli etkilerinin değerlendirmesi ile üretim yöntemlerinin özellikle çinko oksit nanopartikülleri için konsantrasyon artışı ile özellikle bitkilerin çimlendirme ve yetiştirmeleri safalarında bitki gelişimini engelledikleri ve birbirleri arasında farklı birikim değerleri oluşturdukları ortaya konulmuştur.

Nanopartikül stresi altında yetiştirilen bitkiler ile hem literatürde az sayıda çalışmaya katkı sağlanması ve alternatif üretim yöntemleri ile vazgeçilmesi güç olan ve yıllar içinde insanların alışkanlıkları arasında yer alan ürünlerin içerisinde hızla artan nanopartiküllerin çevrede oluşturulabileceği etkilerin minimize edilebileceği ortaya konulmuştur.

Farklı etki mekanizmaları nedeniyle nanopartiküllerin besin zinciri üzerindeki etkilerinin sadece bitkiler ile değil, stres altında yaşamını sürdüren diğer canlıların bir arada olduğu çalışma sistemi ile de ortaya konulması önemlidir. Gelecekte yapılması düşünülen çalışmalarının farklı özelliklere sahip nanopartiküllerin ekosistemde yer alan canlılar üzerinde etkileri; fizyolojik, morfolojik, hücresel ve genetik değişim parametreleri ile de ortaya konulması ve belirtilen değişkenlerin karşılaştırmalı olarak kullanılması, ancak hedefli etki değerlendirme çalışmalarının geliştirilmesi ile mümkündür.

Nanopartiküllerin muhtemel salınımı ile oluşabilecek toksik etkilerin değerlendirilmesinde, gerçek çevre koşulları da göz ardı edilmeksizin, elle tutulur manada gerçeğe en yakın veri ve sonuçlarla değerlendirilebilmesi için kısa süreli etkilerinin yanı sıra uzun süreli veya nesiller üzerindeki etkilerinin de değerlendirilmesi önemlidir.

Yapılan çalışma ile farklı üretim yöntemlerinin birbirlerine göre çevresel etkileri açısından üstünlük sağlaması ve mevcut sistemlerin çevrede oluşturacakları muhtemel olumsuz etkilerin minimize edilmesine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır. Artan üretim ve kullanım hacmi ile ekosistemde yıllar içinde çok ciddi miktarlarda bulunmaları ve biyobirikime neden olmaları gün geçtikçe göz ardı edilemez hale gelen TiO_2 ve ZnO metal oksit partiküllerinin sucul veya toprak ortamlarında ve özellikle bitki çeşitleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında ZnO nanomalzemelerinin oluştuğu çinko ağır metal birikim değişim miktarları (TiO_2 nanomalzemelerinin oluşturduğu duruma nazaran) doz artışı ile birlikte bitkilerin tüm bölümü için artan bir trend sergilemektedir. Bununla birlikte titanyum dioksit nanopartiküllerine maruz kalan topraklarda yetiştirilen tüm bitkilerinin kök birikimlerinde titanyum ağır metal iyonu birikimi diğer organlara göre daha fazla olması ile birlikte ticari tozun diğer organlarda birikimi, MicNo-T[®] partiküllerine göre daha fazladır.

Benzer durum ZnO nanopartikülleri içinde geçerli olup, sadece kök bölümlerinde değil, aynı zamanda sürgün ve yaprak bölümlerde de doz artışı ile beraber çinko ağır metal birikiminin artışı kaydedilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde farklı özelliklere sahip malzemelere maruz kalmış toprakta veya su ve besin ortamında çimlendirilen bitkilerin çeşitli bölümlerinin gelişimlerinin ve bu bölümlerde oluşan ağır metal birikimleri farklılıkları çalışmada yer almaktadır. Farklı bitki gelişme ortamlarının kullanılmasının en önemli nedeni nanomalzemelerin oluşturdukları difüzyon etkisi farklılığı olup, ortama bağlı olarak nanomalzemelerin homojenliğinde farklılıklar oluşması göz önünde bulundurulmuştur. Hazırlanan numunelerin konsantrasyon artışı ile bitki gelişimine ket vurduğu ve hazırlanan numunelerde kısmen elde edilen konsantrasyon artışı ile birikimin artığı belirlenmiştir.

Yapılan toprak ortamında çalışmaları genel olarak değerlendirildiğinde, yetiştirilen bezelye bitkileri farklı derişimlerdeki ZnO nanopartiküllerine maruz bırakılarak, nanopartiküllerin bu bitkilerin gelişimi üzerindeki etkilerinin analiz edilmiştir. Bezelye bitkisinin maruz kaldığı ZnO nanopartikül derişimi arttik, kök, sürgün ve yaprak bölümlerinde uzanım ve büyüme miktarları azalmıştır. Bitki köklerinde biriken metal oksit nanopartiküllerin, besin iletim yollarını tıkanması nedeniyle, bitki köklerinin yüksek derişimde katlanarak artan bir ağır metal birikiminin belirlenmesine neden olmuştur. Ayrıca bitki kökünün tıkanmasına neden olarak bitkinin yaprak ve sürgün bölümlerine daha az miktarda malzeme geçişine neden olup, bitkinin sağlıklı gelişimini engellediği de söylenebilir.

Yapılan alışmalar sayesinde konsantrasyon artışı ile birlikte ZnO nanopartiküllerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması ile bitki gelişiminin engellediği belirlenmiştir. Bununla beraber TiO₂ nanopartiküllerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak zararlı bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur.

Kullanılan nanopartiküllerinin MicNo[®] ve ticari olanlarının oluşturduğu birikimler karşılaştırıldığında, genel olarak MicNo[®] nanopartiküllere maruz kalan toprakta veya sucul ortamda çimlendirilen ve gelişimi takip edilen bitkilerin özellikle kök kısımlarında oluşan ağır metal birikimlerin farklılığı göreceli olarak ticari nanopartiküllere maruz kalan bitkilere göre daha düşük değerlerde olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma ile nanomalzemelerin sahip olduğu fizikokimyasal özellikler göz ardı edilmeden, oluşan maruziyet sonucu ortaya çıkan etkilerin değerlendirilebileceği vurgulanmıştır. Böylelikle nanomalzemelerin çevrede oluşabilecekleri salınımların gerçek şartlara en yakın olacak şekilde değerlendirilmesi ile çeşitli canlılar üzerindeki muhtemel olumsuz etkilerin ortaya konulabileceğine dikkat çekilmek istenmiştir.

Yapılan bu ve benzer çalışmalar ile her geçen gün önem kazanan nanopartiküllerin değerlendirme çalışmalarına katkı sağlanarak, nanopartiküllerin gelecekte oluşturabilecekleri potansiyel etkileri ağır metal birikimi farklılıklarının hassas ölçümler ile ortaya konulması sağlanmıştır. Çalışmanın çıkış noktası olmakla birlikte Eskişehir/Türkiye’de üretilen MicNo partikül teknolojisinin piyasada bulunan hali hazırda satışta olan nanopartiküllere çevresel etki anlamında standart Hougland besin çözeltisi ve Eskişehir çevresi toprak ortamında avantaj sağladığı ortaya konulmuştur.

MicNo® partikül üretim teknolojisi kullanılarak üretilen nanomalzemelerin bitki bölümlerinde oluşturduğu ağır metal iyonu birikim farklılıkları ile ticari nanopartiküller arasında sayısal olarak farklılıklar bulunmaktadır. Buna göre MicNo® teknolojisi ile üretilen nanomalzmelere canlı dokularda daha az birikime neden olmaları nedeniyle ticari satışı süren nanomalzemelerine göre çevre dostu olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Adair, J.H., Suvacı, E., “Morphological control of particles”, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5, 160-167, 2000.
- Adamcakova-Dodd, A., Stenbounova, L. V., Kim, J. S., Vorrink, S. U., Ault, A. P., O’Shaughnessy, P. T., Grassian, V. H., Thorne, P. S., “Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models”, *Particle & Fibre Toxicology*, 11-15, 2014.
- Ak, A., Yücel, E., “Ecotoxicological effects of heavy metal stress on antioxidant enzyme levels of *Triticum aestivum* cv. Alpu”, *Biological Diversity and Conservation*, 4, 3, 19-24, 2011.
- Algan, F.T.K., Bilen, S., “Toprak Kirlenmesi ve Biyolojik Çevre”, Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi, 36, 1, 83-88, 2005.
- Allouni, Z. E., Cimpan, M. R., Hol, P. J., Skodvin, T., Gjerdet, N. R., “Agglomeration and sedimentation of TiO₂ nanoparticles in cell culture medium”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68, 83-87, 2009.
- Alpaslan, M., Güneş, A., İnal, A., *Deneme Tekniği*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 1998.
- Al-Salim, N., Barraclough, E., Burgess, E., Clothier, B., Deurer, M., Green, S., Malone, L., Weir, G., “Quantum dot transport in soil, plants, and insects.”, *Science of the Total Environment*, 409, 3237-3248, 2011.
- American Society for Testing and Materials, “Standard terminology relating to nanotechnology.”, E 2456-06., West Conshohocken, PA., 2006.
- Andrade, L. R., Brito, A. S., Souza Meler, A. M. G., Zanin, H., Ceragioli, H.J., Baranuauskas, V., Cunha, K. S., Irazusta, S. P., “Absence of mutagenic and recombinagenic activity of multi-walled carbon nanotubes in the *Drosophila* wing-spot test and *Allium cepa* test”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 99, 92-97, 2014.

- Asli, S., Neumann, P. M., “Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport”, *Plant, Cell and Environment*, 32, 577-594, 2009.
- Ayhan, B., Ekmekçi, Y., Tanyolaç, D., “Bitkilerde Ağır Metal Zararları ve Korunma Mekanizmaları”, *Anadolu University Journal of Science and Technology*, Vol. 7, No: 1-16, 2006.
- Binnig, G., Röhrer, H., “Scanning tunneling microscope”, A.B.D. Patent No: 4343993, 1982.
- British Standards Institution, “Terminology for Nanomaterials.”, PAS 136:2007, London, UK, 2007.
- Couzin, J., “Breakthrough of the year: small RNAs make big splash.”, *Science*, 298, 5602, 2296-2297, 2002.
- Crandall B. C., Lewis J., “Nanotechnology: Research and Perspectives: Papers from the First Foresight Conference on Nanotechnology”, MIT Press, USA, 1992.
- Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Ergene A., “The Cytotoxic Effects of Zinc And Cadmium Metal Ions on Root Tip Cells of *Phaseolus Vulgaris* L. (Fabaceae)”, *SDU Journal Of Science (E-Journal)*, 4, 1, 1-11, 2009.
- Dietz, K-J., Herth, S., “Plant nanotoxicology”, *Trends in Plant Sciences*, 16, 582-589, 2011.
- Dreher, K. L., “Health and Environmental Impact of Nanotechnology: Toxicology Assesment of Manufactured Nanoparticles”, *Toxicological Sciences*, 77, 3-5, 2004.
- Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J., Guo, H., “TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil”, *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 822, 2011.

- E.F.S.A., “Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and materials in Contact with Food (European Food Safety Authority) on a request from the Commission related to the safety in use of rutile titanium dioxide as an alternative to the presently permitted anatase form.”, Question N° EFSA-Q-2004-103. Adopted on 7 December 2004., The EFSA Journal, 163, 1-12, 2004.
- E.F.S.A., “Scientific Opinion on safety and efficacy of zinc compounds (E6) as feed additive for all animal species: Zinc oxide, based on a dossier submitted by Grillo Zinkoxid GmbH/EMFEMA”, EFSA Journal, 10, 11, 2970, 1-24, 2012.
- F.D.A., “Titanium dioxide. In The United States Code of Federal Regulations, Title 21”, Section 73.575, Office of the Federal Register, Washington, DC., 2005.
- Farre M., Sanchis J., Barcelo D., “Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment”, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 30, No. 3, 517-527, 2011.
- Fent, K., “Ecotoxicology of Engineered Nanoparticles, Nanoparticles in the Water Cycle”, Chapter 11, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010.
- Feynman, R. P., “There's plenty of room at the bottom.”, Engineering and Science magazine, 23, 5, 22-36, 1960.
- Garcia, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., Gonzalez, E., Puentes, V., Barata, C., Font, X., Sanchez, A., “Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests.”, Desalination, 269, 136-141, 2011.
- Gao, J., Xu, G., Qian, H., Liu, P., Zhao, P., Hu, Y., “Effects of nano-TiO₂ on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings.”, Environmental Pollution, 176, 63-70, 2013.
- Ge, Y., Schimel, J. P., Holden, P. A., “Evidence for negative effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities.”, Environ.Sci.Technol.,45, 4, 1659–1664, 2011.

- Gentleman, D. J., CHAN, W. C. W. A., “Systematic Nomenclature for Codifying Engineered Nanostructures.”, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 5, No. 4, 426–431, 2009.
- Ghodake, G., Seo, Y. D., Lee, D., “Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*.”, Journal of Hazardous Materials, 186, 952-955, 2011.
- Ghosh, M., Bandpadhyay, M., Mukherjee, A., “Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes.”, Chemosphere, 81, 1253-1262, 2010.
- Ghosh, M., Manivannan, J., Sinha, S., Chakraborty, A., Mallick, S. K., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A., “*In vitro* and *in vivo* genotoxicity of silver nanoparticles.”, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 749, 1-2, 60-69, 2012.
- Gilbert A., “Criteria for sustainability in the development of indicators for sustainable development.”, Chemosphere, 33, 9, 1739-1748, 1996.
- Goldschmidt, V.M., “Geochemistry. Oxford Univ.Press (Clarendon).”, London and New York, 1954.
- Hackenberg, S., Friehs, G., Froelich, K., Ginzkey, C., Koehler, C., Scherzed, A., Burghartz, M., Hagen, R., and Kleinsasser, N., “Intracellular distribution, geno- and cytotoxic effects of nanosized titanium dioxide particles in the anatase crystal phase on human nasal mucosa cells.”, Toxicology Letters, 195, 9-14, 2010.
- Hackenberg, S., Scherzed, A., Technau, A., Kessler, M., Froelich, K., Ginzkey, C., Koehler, C., Burghartz, M., Hagen, R., Kleinsasser, N., “Cytotoxic, genotoxic and pro-inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells *in vitro*.”, Toxicology *in Vitro*, 25, 657-663, 2011(a).
- Hackenberg, S., Zimmemann, F. Z., Scherzed, A., Friehs, G., Froelich, K., Ginzkey, C., Koehler, C., Burghartz, M., Hagen, R., Kleinsasser N., “Repetitive Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles Induces DNA Damage in Human Nasal Mucosa Mini Organ Cultures.”, Environmental and Molecular Mutagenesis 52, 582-589, 2011(b).

- Han, X., Corson, N., Wade-Mercer, P., Gelein, R., Jiang, J., Sahu, M., Biswas, P., Finkelstein, J. N., Elder, A., Oberdörster, G., “Assessing the relevance of in vitro studies in nanotoxicology by examining correlations between in vitro and in vivo data.”, *Toxicology*, 297, 1-9, 2012.
- Han, Y., Kim, D., Hwang, G., Lee, B., Eom, I., Kim, P. J., Tong, M., Kim, H., “Aggregation and dissolution of ZnO nanoparticles synthesized by different methods: Influence of ionic strength and humic acid.”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 451, 7-15, 2014.
- Hartung, T., Sabbioni, E., “Alternative in vitro assays in nanomaterial toxicology.”, *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 3, 545-573, 2011.
- Hennebert, P., Avellan, A., Yan, J., Aguerre-Chariol, O., “Experimental evidence of colloids and nanoparticles presence from 25 waste leachates.”, *Waste Management*, 33, 1870-1881, 2013.
- Hernandez-Viezcas, J. A., Castillo-Michel, H., Servin, A. D., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., “Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles.”, *Chem. Eng. J.*, 170, 346–352, 2011.
- Hsiao I. L., Huang Y. J., “Effects of various physicochemical characteristics on the toxicities of ZnO and TiO₂ nanoparticles toward human lung epithelial cells.”, *Science of the Total Environment*, 409, 7, 1219-1228, 2011.
- Hu, C. W., Li, M., Cui, Y.B., Chen, J., Yang, L. Y., “Toxicological effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*.”, *Soil Biology & Biochemistry*, 42, 586-591, 2010.
- Iavicoli, I., Leso, V., Bergamaschi A., “Toxicological Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles: A Review of *In Vivo* Studies (Review Article).”, Editor: Schulte P., Hindawi Publishing Corporation *Journal of Nanomaterials*, Volume 2012, Article ID 964381, 36 pages., 2012.

- International Zinc Association, “Nano-Zinc Oxide Fact Sheet: Environment & Health.”, 1-3, 2013.
(http://www.zinc.org/sustainability/resources/fact_sheets)
- Jacob, D. L., Borchardt, J. D., Navaratnam, L., Otte, M. L., Bezbaruah A. N., “Uptake and Translocation of Ti from Nanoparticles in Crops and Wetland Plants.”, *International Journal of Phytoremediation*, 15, 142–153, 2013.
- Jacobasch, C., Völker, C., Giebner, S., Völker, J., Alsenz, H., Potouridis, T., Heidenreich, H., Kayser, G., Oehlmann, J., Oetken, M., “Long-term effects of nanoscaled titanium dioxide on the cladoceran *Daphnia magna* over six generations.”, *Environmental Pollution*, 186, 180-186, 2014.
- Josko, I., Oleszczuk, P., “Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles phytotoxicity.”, *Chemosphere*, 92, 91-99, 2013.
- Jovanovic, B., Guzman, H. M., “Effects of Titanium dioxide (TiO₂) Nanoparticles on Caribbean Reef-Building Coral (*Montastraea Faveolata*).”, *Environmental Toxicology and Chemistry, Aquatic Toxicology*, 33, 6, 1346-1353, 2014.
- Kahru A., Dubourguier H.C., “From ecotoxicology to nanoecotoxicology.”, *Toxicology*, 269, 105-119, 2010.
- Kasemets, K., Ivask, A., Dubourguier, H. C., Kahru, A., “Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*.”, *Toxicology in Vitro*, 23, 6, 1116-1122, 2009.
- Kato, H., Suzuki, M., Fujita, K., Horie, M., Endoh, S., Yoshida, Y., Iwahashi, H., Takahashi, K., Nakamura, A., Kinugasa, S., “Reliable size determination of nanoparticles using dynamic light scattering method for *in vitro* toxicology assessment.”, *Toxicology In Vitro*, 23, 5, 927–934, 2009.
- Kim, S., Kim, J., Lee, I., “Effects of Zn and ZnO nanoparticles and Zn²⁺ on soil enzyme activity and bioaccumulation of Zn in *Cucumis sativus*.”, *Chem. Ecol.*, 27, 1, 49–55, 2009.

- Klaine, S. J., Alvarez, P. J. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., Mahendra, S., McLaughlin, M. J., Lead, J. R., “Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. – Critical Review.”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 27, No. 9, 1825–1851, 2008.
- Klancnik, K., Drobne, D., Valant, J., Dolenc Koce, J., “Use of a modified *Allium* test with nanoTiO₂.”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 85-92, 2011.
- Ko, K., Kong, I. C., “Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation.”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98, 3295–3303, 2014.
- Koce, J. D., Drobne, D., Klancnik, K., Makovec, D., Novak, S., Hocevar, M., “Oxidative potential of UV-A irradiated or non-irradiated suspensions of TiO₂ or SiO₂ nanoparticles on *Allium cepa* roots.”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33, 4, 858-867, 2013.
- Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F., Smalley, R.E., “C60: Buckminsterfullerene.”, *Nature*, 318, 162-163, 1985.
- Kumari, M., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., “Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*.”, *Science of the Total Environment*, 407, 5243-5246, 2009.
- Kumari, M., Khan, S. S., Pakrashi, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., “Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*.”, *Journal of Hazardous Materials*, 190, 613-621, 2011.
- Kurepa, J., Paunesku, T., Vogt, S., Arora, H., Rabatic, B. M., Lu, J., Beau, Wanzer M., Woloschak, G. E., Smalle J. A., “Uptake and Distribution of Ultrasmall Anatase TiO₂ Alizarin Red S Nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana*.”, *Nano Letters*, 10, 2296-2302, 2010.
- Kuznesorf, P. M., RAO, M.V., “Titanium dioxide Chemical and Technical Assessment Draft”, 1-8, 2006.

- Kwon, J. Y., Lee, S. Y., Koedrith, P., Lee, J. Y., Kim, K-M., Oh, J-M., Yang, S. I., Kim, M-K., Lee, J. K., Jeong, J., Maeng, E. H., Lee, B. J., Seo, Y. R., “Lack of genotoxic potential of ZnO nanoparticles in *in vitro* and *in vivo* tests.”, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 761, 1-9, 2014.
- Landsiedel, R., Ma-Hock, L., Kroll, A., Hahn, D., Schnekenburger, J., Wiench, K., Wohlleben, W., “Testing Metal-Oxide Nanomaterials for Human Safety.”, Review, Advanced Materials, 22, 2601-2627, 2010.
- Larue, C., Khodja, H., Herlin-Boime, N., Flank, A.M., Fayard, B., Chaillou, S., Carriere, M., “Investigation of titanium dioxide nanoparticles toxicity and uptake by plants, Nanosafe2010: International Conference on Safe Production and Use of Nanomaterials.”, Journal of Physics: Conference Series 304, 2011.
- Larue, C., Laurette, J., Herlin-Boime, N., Khodja, H., Fayard, B., Flank, A-M., Brisset, F., Carriere, M., “Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* spp.): Influence of diameter and crystal phase.”, Science of the Total Environment, 431, 197-208, 2012.
- Lee, C.W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y.C., Braam, J., Alvarez, P.J.J., “Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*.”, Environ. Toxicol. Chem., 29, 669–675, 2010.
- Li, L., Schuster, M., “Influence of phosphate and solution pH on the mobility of ZnO nanoparticles in saturated sand.”, Science of the Total Environment, 472, 971-978, 2014.
- Liao, D.L.; Liao, B.Q, “Shape, size and photocatalytic activity control of TiO₂ nanoparticles with surfactants.”, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 187, 363-369, 2007.
- Lin, D., Xing, B., “Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth.”, Environmental Pollution, 150, 243-250, 2007.
- Lin, D., Xing, B., “Root Uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles.”, Environ. Sci. Technol., 42, 5580-5585, 2008.

- Lee, W.-M., Kwak, J. I., An, Y.-J., “Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: media effect on phytotoxicity.”, *Chemosphere*, 86, 491–499, 2012.
- Lopez-Moreno, M. L., De La Rosa, G., Hernandez-Viezcas, J. A., Castillo-Michel, H., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., “Evidence of the Differential Biotransformation and Genotoxicity of ZnO and CeO₂ Nanoparticles on Soybean (*Glycine max*) Plants.”, *Environ. Sci. Technol.*, 44, 7315–7320, 2010.
- Lutterotti, L., “MAUD (Material Analysis Using Diffraction) software.”, 2011.
<http://www.ing.unitn.it/~maud/>
- Ma, H., Williams, P. L., Diamond, S. A., “Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles - A review.”, *Environmental Pollution*, 172, 76-85, 2013.
- Mo, S-D., Ching, W.Y., “Electronic and optical properties of three phases of titanium dioxide: Rutile, anatase, and brookite.”, *Physical Review B*, 51 (19), 13023-13032, 1995.
- Monshausen, G. B., Bibikova, T. N., Messerli, M. A., Shi, C., Gilroy, S., “Oscillations in extracellular pH and reactive oxygen species modulate tip growth of *Arabidopsis* root hairs.”, *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.*, 104, 52, 20996–21001, 2007.
- Nalwade, A. R., Bonawate, G. S., “Carbon nanomaterials stimulate the growth of onion (*Allium cepa* L.) Var. Phule Suvarana.”, *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 4, 2, 862-869, 2014.
- Namasivayam, S. K. R., Koilpillai, Y. J., Bharani, R. S. A., Samrat, K., “Synthesis, Characterization, Anti Bacterial Activity and Ecotoxicity of Silver Nanoparticles from Callus Extract of *Justicia Jendaracia* (Burm.F).”, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7, 2., 212-216, 2014.
- Narayanan, K. B., Sakthivel N., “Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes.”, *Advances in Colloid and Interface Science*, 156, 1-13, 2010.

- Navarro, E., Baun, A., Renata, B., Hartmann, N. B., Filser, J., Miao, A. J., Quigg, A., Santschi, P. H., Sigg L., “Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi.”, *Ecotoxicology*, 17, 5, 372-386, 2008.
- Newman, M. D., Stotland, M., Ellis, J. I., “The safety of nanosized particles in titanium dioxide and zinc oxide based sunscreens.”, *J. Am. Acad. Dermatol*, 61, 685-692, 2009.
- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C., Roberts, M.S., “Grey goo on the skin?” Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety; *Critical Reviews in Toxicology*, 37, 251-277, 2007.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J., “Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles (Review).”, *Environmental Health Perspectives*, 113, 7, 823-839, 2005.
- OECD, “Environment, Health and Safety Publications Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials.”, No. 27, Paris, 2010.
- Opschoor, J. B., Reijnders, L., “Towards sustainable development indicators.”, Kuik O. and Verbuggen H. (Eds.), *Search of Indicators for Sustainable Development*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 7–28, 1991.
- Otero-Gonzalez, L., Garcia-Saucedo, C., Field, J. A., Sierra-Alvarez, R., “Toxicity of TiO₂, ZrO₂, Fe⁰, Fe₂O₃, and Mn₂O₃ nanoparticles to the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*.”, *Chemosphere*, 93, 6, 1201-1206, 2013.
- Özöğüt, U. C., “Tasarlanmış Şekle Sahip Çinko Oksit (ZnO) Partiküllerinin Üretimi ve *in vitro* Toksisitesinin Değerlendirilmesi.”, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 2013.
- Pauluhn, J., “Pulmonary toxicity and fate of agglomerated 10 and 40 nm aluminum oxyhydroxides following 4-week inhalation exposure of rats: toxic effects are determined by agglomerated, not primary particle size.”, *Toxicology Science*, 109, 1, 152–167, 2009.

- Pereira R., Rocha-Santos T.A.P., Antunes F.E., Rasteiro M.G., Riberiro R., Gonçalves F., Soare A.M.V.M., Lopes I., “Screening evaluation of the ecotoxicity and genotoxicity of soils contaminated with organic and inorganic nanoparticles: The role of ageing.”, *Journal of Hazardous Materials*, 194, 345–354, 2011.
- Pokhrel, L. R., Dubey, B., “Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles.”, *Science of the Total Environment*, 452-453, 321-332, 2013.
- Poynton, H. C., Lazorchak, J. M., Impellitteri, C. A., Blalock, B., Smith, M. E., Struewing, K., Unrine, J., Roose D., “Toxicity and Transcriptomic Analysis in *Hyalella azteca* Suggests Increased Exposure and Susceptibility of Epibenthic Organisms to Zinc Oxide Nanoparticles.”, *Environmental Science & Technology*, 47, 16, 9453-9460, 2013.
- Prasad, M. N. V., “Heavy Metal Stress in Plants, From Biomolecules to Ecosystems.”, Second Edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg Newyork. India, 2004.
- Rabatic, B. M., Dimitrijevic, N. M., Cook, R. E., Saponjic, Z. V., Rajh, T., “Spatially confined corner defects induce chemical functionality of TiO₂ nanorods.”, *Adv. Mater.*, 18, 8, 1033–1037, 2006.
- Ramesh ,M., Palanisamy, K., Babu, K., Sharma, N. K., “Effects of Bulk and Nano-titanium dioxide and Zinc oxide on Physio-morphological Changes in *Triticum aestivum* Linn.”, *Journal of Global Biosciences*, 3, 2, 415-422, 2014.
- Rao S., Shekhawat G. S., “Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*.”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 105-114, 2014.
- Raskar, S. V., Laware, S. L., “Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion.”, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 3, 2, 467-473, 2014.

- Razali, R., Zak, A. K., Majid, W. H., Darroudi, M., “Solvothelmal synthesis of microsphere ZnO nanostructures in DEA media.”, *Ceramics International*, 37, 3657-3663, 2011.
- Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J., Gardea-Torresdey, J. L., “Interaction of Nanoparticles with Edible Plants and Their Possible Implications in the Food Chain.”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry, Review*, 59, 3485-3498, 2011.
- Roco, M. C., “Nanotechnology: Convergence with modern biology and medicine.”, *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 337-345, 2003.
- Rottman, J. J., “Fundamentals and Application of Porous Media Filtration for the Removal of Nanoparticles from Industrial Wastewater.”, Department of Chemical and Environmental Engineering, Doctor of Philosophy with a Major in Chemical Engineering, The University of Arizona., 2012.
- Royal Society, “Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties.”, 2004. <<http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>>.
- SCENIHR, “Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks”, “The appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the Technical Guidance Documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials.”, 21–22 June 2007. European Commission, Brussels, Belgium, 2007.
- Schins, R.P.F., Duffin, R., Höhr, D., Knaapen, A.M., Shi, T., Weishaupt, C., Stone, V., Donaldson, K., Borm, P.J.A., “Surface modification of quartz inhibits toxicity, particle uptake, and oxidative DNA damage in human lung epithelial cells.”, *Chem. Res. Toxicol.*, 15, 1166-1173, 2002.
- Selinus, O., Alloway, B., Centeno, J.A., Finkelman, R.B., Fuge, R., Lindh, U., Smedley, P., “Essentials of Medical Geology, Impacts of Natural Environment on Public Health.”, Elsevier Academic Pres, 2005.
- Serpone, N., Dondi, D., Albini, A., “Inorganic and organic UV filters: their role and efficacy in sunscreens and suncare products.”, *Inorg. Chim. Acta*, 360, 794–802, 2007.

- Solgi, M., Kafi, M., Taghavi, T. S., Naderi, R., Essential oils and silver nanoparticles (SNP) as novel agents to extend vase-life of gerbera (*Gerbera jamesonii* cv. 'Dune') flowers, *Postharvest Biology and Technology*, 53, 155-158, 2009.
- Som, C., Berges, M., Chaudhry, Q., Dusinska, M., Fernandes, T. F., Olsen, S. I., Nowack B., "The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts.", *Toxicology*, 269, 160–169, 2010.
- Stampoulis, D., Sinha, S.K., White, J.C., "Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants.", *Environ. Sci. Technol.*, 43, 9473–9479, 2009.
- Steiner, T. D., (Ed.), "Semiconductor Nanostructures for Optoelectronic Applications."; *Zinc Oxide-Based Nanostructures* (Chapter 6), 187-224, Artech House: Boston, 2004.
- Suh, W. H., Suslick, K. S., Stucky, G. D., Suh, Y., "Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience, *Progress in Neurobiology.*", 87, 133-170, 2009.
- Sun, Y., Xia, Y., "Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles.", *Science*, 298, 2176-2179, 2002.
- Tyne, W., Lofts, S., Spurgeon, D. J., Jurkschat, K., Svendsen, C., "A New Medium for *Caenorhabditis Elegans* Toxicology and Nanotoxicology Studies, Designed to Better Reflect Natural Soil Solution Conditions.", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32, 8, 1711-1717, 2013.
- USEPA, "Reassessment of the Exemptions from the Requirement of a Tolerance for Titanium Dioxide or Inert Ingredient Tolerance Reassessment – Titanium Dioxide.", Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Washington D.C., USA, 2005.
- Van Assche, F.V., Clijsters, H., "Effects of metals on enzyme activity in plants.", *Plant Cell Environ.*, 13, 95-206, 1990.
- Vinogradova A., The Nobel Prize in Chemistry 2014, *Biotechnologia Acta*, 7, 5, 120-122, 2014.
- Wang, Q., Ebbs, S. D., Chen, Y., Ma, X., "Trans-generational impact of cerium oxide nanoparticles on tomato plants.", *Metallomics*, 5, 753-759, 2013.

- Warheit, D.B., “Nanoparticles: health impacts ?”, *Materials Today*, 7 (2), 32-25, 2004.
- Yağdı, K., Kaçar, O., Azkan, N., “Topraklardaki Ağır Metal Kirliliği ve Tarımsal Etkileri.”, *On Dokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15, 2, 109–115, 2000.
- Yakaboylu, G. A., “Şekil ve boyut kontrollü titanyum dioksit partiküllerinin üretimi.”, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Eskişehir, 2011.
- Yang, L., Watts, D.J., “Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles.”, *Toxicol. Lett.*, 158, 122–132, 2005.
- Yoon, S., Kwak, J. I., Lee, W., Holden, P. A., An, Y., “Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: A standard soil microcosm study.”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 131-137, 2014.
- Zhang, R., Elzatahry, A. A., Al-Deyab, S. S., Zhao, D., “Mesoporous titania: From synthesis to application.”, *Review*, 7, 344-366, 2012a.
- Zhang, R., Bai, Y., Zhang, B., Chen, L., Yan, B., “The potential health risk of titania nanoparticles.”, *Journal of Hazardous Materials*, 211-212, 404-413, 2012b.
- Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y., Lang, Y., “Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticle aqueous suspensions to Zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage.”, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 43, 3, 278-284, 2008.