



The assessment of biological accumulation on exposure in boron particles of *Desmodesmus multivariabilis*

Yeşim DAĞLIOĞLU^{*1}, Betül YILMAZ ÖZTÜRK²

¹ Ordu University, Faculty of Science and Letters, Department of Biology, Ordu, Turkey

² Eskişehir Osmangazi University Central Research Laboratory Application and Research Center, Eskişehir, Turkey

Abstract

Due to the fact that our country has the world's leading boron deposits, aquatic ecosystems are exposed to intense forms of boron. In this research, bioaccumulation of boron particles (micro and nano) which are formed with removal and operation of boron in Turkey and of boron nanoparticles which are used in the nanotechnology industry have been evaluated on single cell fresh water algae (*Desmodesmus multivariabilis*). As a result of this study, it has been observed that nano and micro boron particles accumulate in different amounts in the algae. When we look at the highest accumulation amounts, the accumulation was in 0.01 mg/l concentrations for both particles and it was measured as 6.390 ppb for nano boron, 12.490 ppb for micro boron. The difference between the concentration groups of boron particles in *Desmodesmus multivariabilis* was found to be significant ($P < 0.01$).

Key words: *Desmodesmus multivariabilis*, boron particles, bioaccumulation, nanoparticles, nanotoxicology

----- * -----

Desmodesmus multivariabilis'in bor partiküllerine maruz kalmada biyolojik birikiminin değerlendirilmesi

Özet

Ülkemizin dünyanın önde gelen bor madeni yataklarına sahip olmasından dolayı, sucul ekosistemler bora yoğun şekilde maruz kalmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye de bor madeninin işletilmesi, çıkarılması ile oluşan bor partikülleri (nano ve mikro boyutlu) ile nanoteknoloji endüstrisinde kullanılan bor nanopartikülünün biyolojik birikimi tek hücreli tatlı su alginde (*Desmodesmus multivariabilis*) değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, algelerde nano ve mikro bor partiküllerinin farklı miktarlarda birikim gösterdiği gözlenmiştir. En yüksek birikim miktarlarına baktığımızda her iki partikülü için 0.01 mg/l konsantrasyonlarda kaydedilmiştir. Ölçülen bor miktarları, nano bor için 6.390 ppb mikro bor için 12.490 ppb dir. *Desmodesmus multivariabilis* de bor partiküllerinin konsantrasyon grupları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$).

Anahtar kelimeler: *Desmodesmus multivariabilis*, bor partikülleri, biyolojik birikim, nanopartikül, nanotoksikoloji

1. Giriş

Nanobilim, nano ölçek (0.1-100 nm çapında) seviyesinde malzemeleri anlamak ve bu seviyede maddeleri sentezlenmek, manipüle ve modifiye etmektir (Royal Society and the Royal Academy of Engineering, 2004). Nanoteknoloji, bilim ve teknoloji uygulamalarının pek çok alanını kapsayan moleküler teknoloji bilimiyle kesişen son derece umut ve heyecan verici bir alandır (Moore, 2006). Amacı, yapı ve cihazları atomik, moleküler ve supramoleküler düzeyde kontrol edilmesiyle üstün özellikler kazandırmasıdır. Ayrıca, bu malzemeleri kullanmak ve etkin bir şekilde üretmeyi öğrenmektir (www.nano.gov/nni2.htm). Nanobilim ve nanoteknoloji, nano ölçek doğasından dolayı elektronik, telekomünikasyon, üretim teknolojileri, eczacılık ve tıp dahil birçok alanda köprü vazifesi görür (Gross, 1999; Kim vd., 2005; Perkel, 2004; Royal Society and the Royal Academy of Engineering, 2004). Son yıllarda çeşitli tüketici ürünleri ve sanayide mühendislik nano malzemelerinin hızla artan kullanımı ile insan ve çevre sağlığı üzerine

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +904522265200; Fax.: +904522339149; E-mail: yozkan52@gmail.com

endişeleri beraberinde getirmiştir. Serbest kalan nanopartiküllerin ana alıcılarından biri, genellikle belediye atık su arıtma tesisleri olarak kabul edilir (Westerhoff vd., 2013). Nanopartiküller, nanopartikül-ürün üretimi, kullanımı veya bertarafı sırasında kanalizasyon suyuna kolayca geçebilir. Tespit edilmiş kanalizasyon nanopartikül konsantrasyon verileri olmasına rağmen bu veriler eksiktir. Çünkü belediye atık su arıtma tesislerindeki atık suların içindeki nanopartiküllerin kümeleşme (agregasyon), çöktürme, yağış, biyosorpsiyon veya başka biyokütle kaynaklı işlemlerin etkisiyle büyük kısmı uzaklaştırılmaktadır (Chen vd., 2012; Westerhoff vd., 2011). Nanopartiküllerin belediye atıksularında mevcut olduğunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur (Wang ve Chen, 2015). Westerhoff vd., (2011), ABD belediye tesislerinde atık su atıklarında, değişik konsantrasyonlarda TiO₂ nanopartikülü tespit etmişlerdir. Yine, Gottschalk vd., (2009) Avrupa ve ABD kanalizasyon arıtma tesislerinde atık olarak fulleroller, karbonnanotüpler, gümüş, çinko oksit ve TiO₂ nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarını tespit etmişlerdir. Endüstriyel ürünler ve atık/atık sular önlemler alınmasına rağmen drenaj hendekleri, nehirler, göller, halıç ve kıyı suları gibi su yollarında sonlanma eğilimindedir (Moore vd., 2004). Tespit edilen atıksu da nanopartikülün mevcut konsantrasyonu nispeten düşük olmasına rağmen, büyük ölçekli üretim ve uygulamalarından dolayı bu konsantrasyonun ileriki yıllarda artacağı öngörülmektedir. Kanalizasyon çamurundaki nanopartiküllerin nanopartikül içeren atık su akıntılarının artışıyla da ayrıca artacaktır (Wang ve Chen, 2015). Sonuç olarak, nanoteknoloji endüstrisinin büyük ölçekli üretimi ile atıklar su yollarına gelmeye başlar. Böylelikle, nano ölçekli ürünler ve yan ürünlerinin su ortamına girmesi kaçınılmaz olmuştur (Moore vd., 2004). Nanopartiküllerin su ortamına karışmasının sonucu olarak potansiyel tehlikeleri ile mücadele etmek için en kısa sürede etkin risk değerlendirme prosedürlerinin uygulama gerekliliğini zorunlu kılmıştır (Moore, 2006).

Sucul biota içinde nanopartiküllerin alımı önemli bir husustur. Sucul sistemlerde nanopartikül alımının potansiyel yolları ise hücre duvarı, koku organları yada solungaç gibi epitel sınırların ötesinde giriş yada doğrudan beslenmedir (EPA, 2012). Hüresel düzeyde, bakteriler gibi prokaryotlarda nanomateryallerin pek çok türünü almasına karşı büyük ölçüde korunabilir. Çünkü, prokaryotların hücre duvarı boyunca supramoleküler koloidal parçacıkların taşımıcılığı için mekanizmaları yoktur. Bununla birlikte ökaryotlar (tek hücreliler ve metazoan) da durum çok farklıdır. Çünkü onların nano ölçek (<100 nm) ve mikro ölçekli (100-100.000 nm) partikülleri hücrelerin içselleştirmesine yönelik prosesleri son derece gelişmiştir (Pelkmans ve Helenius, 2002; Reiman vd., 2004). Sucul ekosistemde nanopartikül toksisitesinin ve birikiminin nanopartikül konsantrasyonu ve maruz kalma süresine bağlı olarak değiştiği model organizma *Artemia salina* (*Brine shrimp*) gösterilmiştir (Dağlıoğlu vd., 2015a). Üretilen nanopartiküllerin yalnızca sucul ortamda değil herhangi bir ortamda nasıl davranacağı hâlâ büyük ölçüde bilinmemesine rağmen, boyutları, yüzey yükleri ve kimyasal reaktivitelerinin bilinmesine dayalı olarak potansiyel tehlikeleri hakkında bazı makul tahminler yapılabilir. Fakat, nanopartiküller gerçekte supramoleküler varlıklar olmasından dolayı her ne kadar yüzey özellikleri bilinsede biyolojik etkileşimleri olması bakımından dolayı kolayca öngörülemeyen yeni özellikleri ortaya çıkabilir (Colvin, 2003; Warheit, 2004). Sucul sistemlerde, sadece mikro katman, hüme gibi doğal kolloidler ve süspanse sediment parçacıkları fiziksel seviyede oldukça karmaşıktır. Nanopartiküllerinde sucul sistemlere katılmasıyla, nanopartiküllerin fiziksel davranışlarının geleneksel kimyasal kirleticilerin etkisinden daha farklı ve karmaşık olması tahmin edilmektedir (Warne ve Hawker, 1995). Nanopartiküllerin organizmalar tarafından alımı belirli topluluklar ve ekosistemlerin fonksiyonel ekolojileri içinde organizmaların belirli gruplarının rolü üzerine bindirilmiş filojenik ve türlerin farklılıkları gibi bir dizi konuları gündeme getirir (Rice, 2003).

Yeşil algler Chlorophyta grubunda bulunan beta karoten ve ksantofil gibi yardımcı pigmentler ile klorofil a ve b içeren çift membranlı plastidler taşıyan fotosentetik ökaryotlardır (Lewis ve McCourt, 2004). Ayrıca, kamçılı tabanında mikrotübüllerin dokuz çiftini bağlayan eşsiz bir stellat yapısı vardır (Kenrick ve Crane, 1997). Algler önceden olduğu gibi günümüzde de çevre kalitesinin göstergesi olarak edilmektedir. Çünkü alglerin toksik faktörler veya beslenme yoluyla çevresel tepkileri belirlemek için oldukça kapsamlı yeteneği olduğu doğrulanmıştır (Van Coillie vd., 1983). Sucul çevrede özellikle fitoplankton gibi organizmalar ile nanopartiküller etkileşim halindedir. Fitoplanktonun sucul çevrede oldukça yaygın ve önemli ekolojik rolleri vardır. Fitoplankton ile beslenen midye, filtre beslenen kabuklular ve daha pek çok besin ağları için temeldir (Strayer vd., 1999). Conway vd., (2014) nanopartikül ile sucul organizmaların etkileşimini trofik transfer ve biyomagnifikasyon ile açıklamıştır. Deniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*)'ni CeO₂ nanopartikülüne doğrudan ve dolaylı olarak (fitoplankton emme yoluyla) maruz bırakmıştır. Bunun sonucunda su sütununda serbest bırakılan CeO₂ den ziyade fitoplanktona emdirilen CeO₂ nanopartikülünün midyede daha fazla ve daha kısa sürede birikimine yol açtığı görülmüştür. Ayrıca çalışmalarında, nanopartiküllerin fitoplankton ile yakından ilişkilendirilmesinin midyelerin, “bindirme/piggybacking“ mekanizması aracılığıyla fitreleme süreçlerini potansiyel olarak bertaraf edebileceğini varsaymışlardır. Biyolojik birikim (biyoakümülyasyon), vücut yüzeyleri aracılığıyla ve gıda alımı (biyomagnifikasyon) yoluyla maddelerin alımıdır. Biyokonsantrasyon faktörü (BCF), gıda yada ortamda bulunan (su gibi) ve organizmada kimyasalların konsantrasyonları arasındaki orandır. Sucul sistemlerde hem biyokonsantrasyon hemde biyomagnifikasyon gerçekleşir (Forsythe vd., 1996; Ratté 1999). Sucul ortamlarda, fitoplankton ve perifiton genellikle besin zincirine kirleticilerin girişinden sorumludur. Algler, çözünmüş ağır metaller (<0,2 µm) için olağanüstü bir birikim potansiyeline sahiptir. Alghücreleri hayvanlar tarafından tüketilirse metallerin biyojeokimyasal döngüsünün akibetini güçlü şekilde etkiler (Fisher ve Reinfelder, 1995).

Bor, doğada yaygın olarak bulunmasına rağmen oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunur. Yeryüzü kabuğundaki içeriği yaklaşık % 0.0003' tür. Doğada, çoğunlukla boraks, kernit veya kolemanit gibi poliboratlarda şeklinde

oksijene bağlıdır (Kastori vd., 2008). En yüksek bor konsantrasyonu sediment ve sediment kayalarında, özellikle kil zengini deniz sedimentlerinde bulunur. Deniz suyundaki yüksek bor konsantrasyonu, deniz killerinin diğer kaya türlerine göre bor açısından zengin olmasını sağlar (Butterwick vd., 1989). Bazı çalışmalarda borun suda yaşayan bitkilerde biriktiği gösterilmiştir (Schuler, 1987; Saiki vd., 1993). Fernandez vd., (1984) yeşil alg *Chlorella pyrenoidosa*'da borun biyolojik olarak birikimini incelemiştir. Davis vd., (2002) tarafından yürütülen bir çalışmada, bor uygulanan sumercimeği türü olan *Spirodella polyrrhiza*'nın önemli miktarda bor biriktirmediğini kaydetmiştir. Bununla birlikte, Glandon ve McNabb (1978), başka bir tür su mercimeği *Lemna minor*'un diğer hidrofitler (örn., *Ceratophyllum demersum*) ile karşılaştırıldığında biyoakümülyasyon yaptığını tespit etmiştir. Günümüzde bordan oluşan malzemeler, yarı iletkenler (Zhang vd., 2000), koruyucu kaplamalar (Bekish vd., 2010), yüksek yoğunluklu yakıtlar (Van Devenner vd., 2009) ve kanser tedavisinde (Mortensen vd., 2006) kullanılır (Shin vd., 2011). Ayrıca, hızlı enerji salıverme oranı ve yanma yüksek ısıları gibi arzu edilen yanma özelliklerine sahip bor, alüminyum ve benzeri nanoboyutlu enerjetici olanlar silah ve roket iticileri için yeni katı yakıtlardır (Kuo vd., 2004; Risha vd., 2003). Ayrıca, ülkemiz dünyadaki en önemli bor yataklarından biridir. Bor, toprak, kayalar ve suda yaygın olarak bulunan bir element olup çıkarılması ve işleme sırasında bor nanopartiküllerinin sucul ortama geçeceği düşünülmüştür. Bu sebeple bor uzun yıllar birçok araştırmaya konu olmuştur ve bu çalışmaların büyük çoğunluğu, ancak 1 µm'den daha büyük partiküller ile gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte bor nanopartikülünün toksisite üzerine çalışmalar ise oldukça az sayıdadır. Bunlardan bazıları Dağlıoğlu vd., (2015b) yılında bor nanopartikülünün bal arısında (*Apis mellifera*) maruz kalma süresine bağlı olarak toksisitenin arttığını kaydetmiştir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda sucul organizmalarda bor nanopartikülünün birikimine rastlanmamıştır. Bu çalışma ile bor nanopartikülü ve mikro bor partikül uygulamaları kimyasal kirleticilere duyarlılığı kanıtlanan tatlı su alg *Desmodesmus multivariabilis* kullanılarak bor nanopartikülü ve mikro bor partikül birikim miktarları karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Alg kültürü

Test organizması olan *Desmodesmus multivariabilis* Afyon, Eber gölünden toplandı. Daha önce izole edilen saf kültür BG-11 besi ortamında Rippka (1988), tarafından verilen prosedüre göre büyütüldü. Bu ortam, yalnızca metal iyonlarını eser miktarda ihtiva eder ve alg için zengin bir büyüme ortamı sağlar.

2.2. Partiküllerin Hazırlanışı

Bor (nano ve mikro) partiküllerinin stok çözeltileri deiyonize suda hazırlandı. Daha sonra hazırlanan bu çözelti 20 saniye vortekslelendikten sonra bor partiküllerinin stok çözeltilerinin suda dağılımını arttırmak için ultra sonik su banyosunda (Bandelin, sonorex) 30 dakika sonike edildi. Tüm bu aşamalardan sonratest konsantrasyonlar stok çözeltilerden seyreltme yoluyla hazırlandı.

2.3. Akut toksisite deney düzenneği

Deney düzenneği için 100 ml erlen içerisine birim hacim yöntemiyle belirlenen yaklaşık 10^6 hücre sayısını içeren alg kültürü (*Desmodesmus multivariabilis*) ve 10 ml test çözeltisi (0.1, 0.01, 0.001 mg/l) eklendi. Nanopartiküllerin hareketsiz ortamda agregat oluşumunu engellemek için maruz kalma çalışması orbital shaker (karıştırıcı) da yürütüldü. Deneyler shaker'ın hızından hücrelerin zarar görmeyeceği aynı zamanda partiküllerin agregat oluşumunu engelleneceği hızda (85 rpm), 25°C'de 12/12 saat fotoperiyottayürütüldü.

2.4. ICP-MS analizi

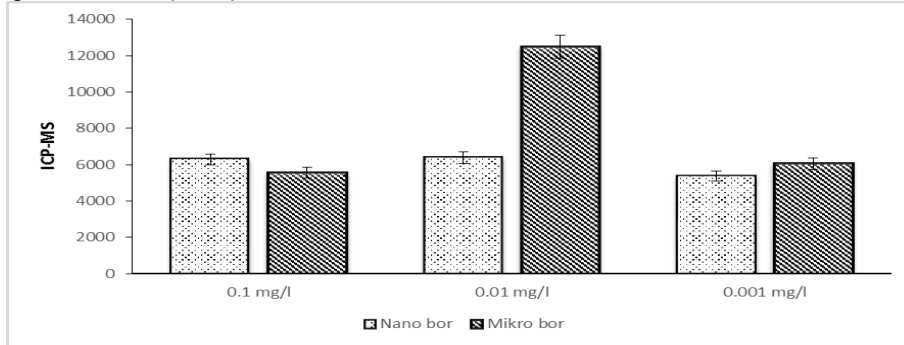
Desmodesmus multivariabilis alg kültürü bor partiküllerine 72 saat maruz kaldıktan sonra birikim miktarı ICP-MS (Perkin Elmer Elan DRC-e) ile belirlendi. Bunun için maruz kalma sonrası toplanan algler, oda sıcaklığında Whatman GFC/A süzgeç kâğıtlarından süzülükten sonra, 5 saat 105 °C etüvde kurutuldu. Kurutulan örnekler 100 ml'lik beherlere alınıp üzerine 1 gram biyokütleyle 12 ml HNO₃-HClO₄ (1:1) karışımı gelecek şekilde asit ilave edildi ve çeker ocağa dikkatlice ısıtılarak yaş yakmaya bırakıldı. Kuruluğa yaklaşan beherlere, soğutulduktan sonra 2 ml derişik HClO₄ eklendi ve çok küçük bir alev ile tekrar kuruluğa dek ısıtıldı. Çözme işlemi için sırasıyla önce 1 gram biokütleyle 5 ml derişik HNO₃ asit ilave edilip buharlaştırıldıktan sonra derişik HCl ilave edilip kuruluğa yakın ısıtıldı. Beher içerikleri 1 gün sonra 1 ml derişik HCl ile ıslatıldıktan sonra 50 ml bidistile suda çözüldü ve siyah bant süzgeç kâğıdından süzülerek yıkandı. Süzülen ana sıvılar yıkama suları ile birlikte 100 ml'lik balon jojelerde toplanarak toplam hacim su ile 25 ml'e tamamlanıp çalkalandı (EPA, Method 200.7, 1994) ve bunların standart çözeltileri ile İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresin (ICP-MS) de analiz edildi.

2.5. İstatistiksel analizler

Tüm deneyler bağımsız olarak üç kez tekrarlandı ve veriler standart sapma ile ortalama değer olarak kaydedildi. Analizler SPSS(Statistical Package for the Social Sciences) 18,0 paket programı ile yapıldı. Kontrol ve test gruplarının ortalama birikim miktar değerlerini karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma analizi (TUKEY) uygulandı.

3. Bulgular

Sucul ekosistemin indikatör organizması olan *Desmodesmus multivariabilis* BG-11 besi ortamında 72 saat 0.1, 0.01 ve 0.001 mg/L konsantrasyonlarında nano ve mikro bor partiküllerine maruz bırakıldı ve bu uygulamadan sonra alg hücrelerin bor partiküllerini içselleştirme miktarları analiz edildi.



Şekil 1. Maruz kalma sonrası alg hücrelerinde bor partiküllerinin birikim miktarı

ICP-MS ile ölçüm sonrası nano ve mikro bor partiküllerinin 0.1, 0.01 ve 0.001 mg/L konsantrasyonlarında birikim miktarları sırasıyla; 6.281, 6.390, 5.370 ve 5.561, 12.490, 6.048 ppb olarak ölçülmüştür (Şekil 1).

Tablo 1. ANOVA'ya göre nano bor partikül konsantrasyon grupları arası farklılıklar

Konsantrasyon mg/l (I)	Konsantrasyon mg/l (J)	Ortalama Fark (I-J)	Önemlilik	%95 Güven aralığı	
				Alt sınır	Üst sınır
0.1	0.01	109.7*	0.00	111.1	108.2
0.1	0.001	910.3*	0.00	908.9	911.8
0.01	0.001	1020.0*	0.00	1018.6	1021,4

*Ortalama fark 0.01 seviyesinde önemlidir.

ANOVA istatistik sonuçlarına göre, nano bor partikül konsantrasyonları arasında birikim miktarları açısından önemli farklılıklar vardır ($P < 0.01$), (Tablo 1).

Tablo 2. ANOVA'ya göre mikro bor partikül konsantrasyon grupları arası farklılıklar

Konsantrasyon mg/l (I)	Konsantrasyon mg/l (J)	Ortalama Fark (I-J)	Önemlilik	%95 Güven aralığı	
				Alt sınır	Üst sınır
0.1	0.01	6929.3*	0.00	6931.3	6927.2
0.1	0.001	487.0*	0.00	489.0	484.1
0.01	0.001	6442.3*	0.00	6440.2	6444.3

*Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Yapılan istatistik sonuçlarına göre nano ve mikro bor partikül konsantrasyonları arasında birikim miktarları açısından önemli farklılıklar vardır ($P < 0.01$), (Tablo 1 ve 2).

Mikro borun konsantrasyonları arasında birikim miktarları farklılığı nano bora kıyasla oldukça fazladır. Özellikle 0.01 mg/l konsantrasyonunda ciddi oranda birikim miktar farklılığı vardır ve diğer konsantrasyonların yaklaşık iki katıdır. Genel olarak bor partiküllerinin konsantrasyonlara göre birikim miktarlarında belirli bir ilişki söz konusu değildir.

4. Sonuçlar ve tartışma

Bu çalışmada, alglerin gelişimleri için gerekli olan çeşitli tuzlar hazırladığımız BG-11 ortamında mevcuttur. Toksikite çalışmaları sırasında, bor partiküllerinin erlenlerin dibine çökmesini önlemek için orbital shaker da 85 rpm hızla sürekli olarak karışımı sağlanmıştır. Çalışma sonucunda alglerde nano ve mikro bor partiküllerinin farklı miktarlarda biriktiği gözlenmiştir. En yüksek birikim miktarlarına baktığımızda her iki partikülü için 0.01 mg/l

konsantrasyonlarda olmuş ve nano bor için 6.390 ppb mikro bor için 12.490 ppb olarak ölçülmüştür. Mikro borda nano bora göre birikim nerdeyse iki kattır. En düşük birikim miktarlarına baktığımızda ise nano bor için 0.001 mg/l konsantrasyonunda 5.370 ppb, mikro bor için 0.1 mg/l 5.561 ppb olarak ölçülmüştür. Ayrıca, genel olarak mikro bor partiküllerinde nano bor partiküllerine göre daha fazla birikim olmuştur. Bu çalışmaya göre hem nano hemde mikro bor partiküllerinin konsantrasyon artışına göre birikim miktarlarında doğrusal bir artış yada azalış gözlenmemiştir.

Desmodesmus multivariabilis de bor partiküllerinin konsantrasyon grupları arasındaki farklılıklara baktığımızda, bor nanopartikülünün 0,1 ile 0.01; 0.1 ile 0.001 ve 0.01 ile 0.001 mg/l konsantrasyonları arasında çok önemli farklılıklar vardır. Tüm konsantrasyonlar arasında en büyük farklılığı 0,1 mg/l konsantrasyonu göstermiştir ($P < 0.01$). Mikro bor partiküllerinin ise 0.1 ile 0.01; 0.1 ile 0.01; 0.01 ile 0.001 mg/l konsantrasyonları arasında farklılıklar bulunmuştur. Bunda da nano bor da olduğu gibi en büyük farklılığı oluşturan konsantrasyon grubu 0.1 mg/l dir.

Son yıllarda nanoteknolojinin kullanımının artması sonu su kaynaklarımızın nanoteknolojinin yapı taşı olarak adlandırılan nanopartiküllerden kirleneceği öngörülmektedir. Bununla birlikte, nanopartikül risk değerlendirilmesi yapılmaktadır. Fakat, yukarıda da bahsedildiği gibi nanopartiküllerin atık sularda toksisitesi ile ilgili henüz oldukça az sayıda çalışma yapılmıştır. Fakat özellikle şebeke sularının nanopartiküller ile kirlenmesi üzerine ülkemizde hiç bir çalışma yapılmamıştır. İçme suları doğrudan kirlenmese bile nanopartiküllerin yer altı suları ile şebeke sularına karışması kaçınılmazdır.

Kaynaklar

- Bekish, Y. N., Poznyak, S. K., Tsybulskaya, L. S., Gaevskaya, T. V. (2010). Electrodeposited Ni–B alloy coatings: structure, corrosion resistance and mechanical properties. *Electrochim Acta*, 55:2223–2231.
- Butterwick, L., De Oude, N., Raymond, K. (1989). Safety assessment of boron in aquatic and terrestrial environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 17: 339-371.
- Chen, C., Chang, H., Kao, P., Pan, J., Chang, J. (2012). Biosorption of cadmium by CO₂-fixing microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour Technol*, 105, 74–80.
- Colvin, V. L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nat Biotechnol*, 21:1166–70.
- Conway, R. J., Hanna, K. S., Lenihan, S. H., Keller, A. A. (2014). Effects and implications of trophic transfer and accumulation of CeO₂ nanoparticles in a marine mussel. *Environ. Sci. Technol.*, 48(3), pp 1517–1524.
- Dağlıoğlu, Y., Çelebi, M.S., (2015a). The evaluation of the acute toxic effects of polyvinylferrocene supported platinum nanoparticles on *Artemia salina* (Brine shrimp) ". *Biological Diversity and Conservation*, ISSN 1308-8084 Online; ISSN 1308-5301 Print 8/3 304-312(2015).
- Dağlıoğlu, Y., Kabakçı, D., Akdeniz, G., (2015b). Toxicity of Nano and non-nano boron particles on *Apis mellifera* (honey bee) *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences Res J. Chem. Environ. Sci.*, Vol 3 [3] June 2015: 06-13.
- Davis, S. M., Drake, K. D., Maier, K. J. (2002). Toxicity of boron to duckweed, *Spirodella polyrrhiza*. *Chemosphere*, 48: 615-620.
- EPA (2012). Nanomaterial Case Study: N 1 Sil i Nanoscale Silver in Disinfectant Spray, EPA/600/R-10/081F August 2012 www.epa.gov/research.
- Evans, B. Favorito, A.N., Boyer, E., Risha, G.A., , Wehrman, R.B., Kuo, K.K., 2004. Characterization of nano-sized energetic particle enhancement of solid-fuel burning rates in an X-ray transparent hybrid rocket engine. in: 40th AIAA/ASME/SAE/ASEE Joint Propulsion Conference and Exhibit, Florida.
- Fernandez, E., Sanchez, E., Bonilla, I., Mateo, P., Ortega, P. (1984). Effect of boron on the growth and cell composition of *Chlorella pyrenoidosa*. *Phyton.*, 44: 125-131.
- Fisher, N. S., Reinfelder, J. R. (1995). The trophic transfer of metals in marine systems. In: Turner DR, Tessier A (eds) *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. John Wiley & Sons, Chichester, p 363–406.
- Forsythe, B. L., La Point, T. W., Cobb, G. P., Klaine, S. J. (1996). Silver in an experimental freshwater ecosystem. *Proceedings*, 4th Argentum International Conference on the Transport, Fate, and Effects of Silver in the Environment, Madison, WI, USA, August 25–28, pp. 185–189.
- Glandon, R. P., McNabb, C. D. (1978). The uptake of boron by *Lemna minor*. *Aquatic Botany*, 4: 53-64.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W., Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environmental science & technology*, 43.24: 9216-9222.
- Gross, M. (1999). *Travels to the nanoworld: miniature machinery in nature and technology*. New York: Plenum Trade; 254 pp.
- Kastori, R., Maksimović, I., Kraljević-Balalić, M., Kobiljski, B. (2008). Physiological and genetic basis of plant tolerance of excess boron. *Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences*, 114, 41-51, ISSN 0352 4906.
- Kenrick, P., Crane. P. R. (1997). The origin and early evolution of plants on land. *Nature*, 389: 33–39.
- Kim, D, El-Shall, H., Dennis, D., Morey, T. (2005). Interaction of PLGA nanoparticles with human blood constituents. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 40:83–91.

- Kuo, K. K., Risha, G. A., Evans, B. J., Boyer, E., (2004). Potential usage of energetic nano-sized powders for combustion and rocket propulsion. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* 800, 1.1.1-1.1.12.
- Moore, M. N. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment?. *Environment International*, 32(2006) 967-976.
- Moore, M. N., Depledge, M. H., Readman, J. W., Leonard, P. (2004). An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutat Res*, 552:247–68.
- Mortensen, M. W., Sorensen, P. G., Bjorkdahl, O., Jensen, M. R., Gundersen, H. J. G., Bjornholm, T. (2006). Preparation and characterization of boron carbide nanoparticles for use as a novel agent in T cell-guided boron neutron capture therapy. *Appl Radiat Isotopes*, 64:315–324.
- Pelkmans, L., Helenius, A. (2002). Endocytosis via caveolae. *Traffic*;3:311–20.
- Perkel, J. M. (2004). Nanoscience is out of the bottle. *The Scientist*, 17(15):20–3.
- Ratte, H. T. (1999). Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18.1 (1999): 89-108.
- Reiman, J., Oberle, V., Zuhorn, I. S., Hoekstra, D. (2004). Size-dependant internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochem J*, 377:159–69.
- Rice, J. (2003). Environmental health indicators. *Ocean & Coastal Management*, 46.3 (2003): 235-259.
- Rippka, R. (1988). *Methods in enzymology*, vol. 167. Academic Press, New York.
- Royal Society and Royal Academy of Engineering. (2004). *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*. RS policy document 19/04. London: The Royal Society, p. 113.
- Saiki, M. K., Jennings, M. R., and Brumbaugh, W. G. (1993). Boron, molybdenum, and selenium in aquatic food chains from the lower San Joaquin River and its tributaries, California. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 24: 307-319.
- Schuler, C. A (1987). *Impacts of agricultural drainwater and contaminants on wetlands at Kesterson Reservoir, California*. MS Thesis, Oregon State University, Corvallis, OR, 136 pp.
- Shin, G. W., Calder, S., Ugurlu, O. (2011). Production and characterization of boron nanoparticles synthesized with a thermal plasma system. *Steven L. Girshick J Nanopart Res*, 13:7187–7191 DOI 10.1007/s11051-011-0633-3.
- Strayer, D. L., Caraco, N. F., Cole, J. J., Findlay, S., Pace, M. 1999. Transformation of Freshwater
- Van Coillie, R., Couture, P., Visser, S. A. (1983). Use of algae in aquatic ecotoxicology. In: *Aquatic Toxicology* Jerome O. Nriagu Editor. *Advances in Environmental Science and Technology*, Volume 13. Wiley, NY, 487-502.
- Van Devener, B., Perez, J. P. L., Jankovich, J., Anderson, S. L. (2009). Oxide-free, catalyst-coated, fuel-soluble, air-stable boron nanopowder as combined combustion catalyst and high energy density fuel. *Energ Fuel*, 23:6111–6120.
- Wang, D., Chen, Y. (2015). Critical review of the influences of nanoparticles on biological wastewater treatment and sludge digestion. *Critical Reviews in Biotechnology*, DOI: 10.3109/07388551.2015.1049509
- Warheit, D. B. (2004). Nanoparticles: health impacts? *Mater Today*, 7:32–5
- Warne, M. St. J., Hawker, D. W. (1995). The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: the funnel hypothesis. *Ecotoxicol Environ Saf*, 31:23–8.
- Westerhoff, P. K., Kiser, A., Hristovski, K. (2013). Nanomaterial removal and transformation during biological wastewater treatment. *Environ. Eng. Sci.*, 30, 109–117.
- Westerhoff, P., Song, G., Hristovskib, K., Mehlika Kiser, M. A. (2011). Occurrence and removal of titanium at full scale wastewater treatment plants: implications for TiO₂ nanomaterials. *Journal of Environmental Monitoring*, 13.5 (2011): 1195-1203.
- Zhang, X. W., Zou, Y. J., Yan, H., Wang, B., Chen, G. H., Wong, S. P. (2000). Electrical properties and annealing effects on the stress of RF-sputtered c-BN films. *Mater Lett*, 45:111–115.

(Received for publication 28 November 2016; The date of publication 15 December 2016)