

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI TEKSTİL BOYALARININ AMFİBİ İRİBAŞLARINA TOKSİK
ETKİLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

121256

UFUK GÜNAY DOĞAN

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

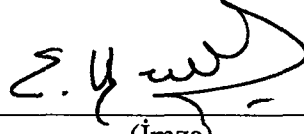
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA
Temmuz 2002

121256

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma Jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.



(İmza)

Doç.Dr. Elif YEŞİLADA

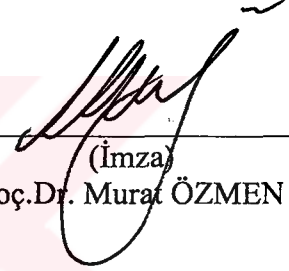
Başkan



(İmza)

Doç.Dr. Özfer YEŞİLADA

Üye



(İmza)

Doç.Dr. Murat ÖZMEN

Üye

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

17.12.2002



(İmza)

Doç.Dr. Özfer YEŞİLADA
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI TEKSTİL BOYALARININ AMFİBİ İRİBAŞLARINA TOKSİK ETKİSİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ufuk Günay DOĞAN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

49+vii sayfa

2002

Danışman: Doç Dr. Murat ÖZMEN

Astrazonlar, diğer tekstil boya arasında, tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan boyar maddelerinden biridir. Birçok tekstil boyası ve bu boya içeren atık sular çeşitli test organizmaları için toksik, genotoksik ve mutajenik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, astrazon boyaalarının sucul test organizmalarına toksik etkileri üzerine yapılmış olan çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Bu araştırma, dört farklı astrazon boyasının *Bufo viridis* (kara kurbağası) iribaşlarına toksik etkilerini saptamak amacıyla planlandı. Toksik etki, iribaşların iki farklı gelişim evresinde, durağan test sistemi kullanılarak araştırıldı. Astrazon mavi, siyah, sarı ve kırmızı boya için iribaş gelişiminin 20. evresinde LC50 değerleri 72 saatlik test periyodu sonunda sırası ile 2.89 ppm, 4.00 ppm, 39.35 ppm ve 66.03 ppm düzeyinde bulundu. Gelişimin 24. evresinde, aynı koşullar altında 72 saatlik test periyodu sonrasında LC50 düzeyi bu boya için 0.919 ppm, 2.66 ppm, 20.37 ppm ve 13.69 ppm olarak saptandı.

Araştırmada, iki farklı gelişim evresindeki kurbağa iribaşlarında bu tekstil boyaalarının oluşturduğu etkisiz en yüksek konsantrasyon (NOEC) ve etkili en düşük konsantrasyon (LOEC) değerleri, varyans analizi (ANOVA) testi ile saptandı. NOEC-LOEC değerleri 72 saat sonunda 20. gelişim basamağındaki iribaşlarda, sırasıyla, astrazon mavi, siyah, sarı ve kırmızı boyaalarında, 2.57-2.82 ppm, 3.38-3.68 ppm, 39.52-41.92 ppm ve 65.42-69.40 ppm, 24. gelişim evresinde 1.36-1.63 ppm, 2.35-2.58 ppm, 13.15-18.92 ppm ve 9.46-13.23 ppm değerleri saptandı.

Çalışmada kullanılan bu dört farklı boyaya 12 ve 24. saatlerde maruz bırakılan iribaşlarda Glutasyon S-transferaz (GST) ve karboksil esteraz (CaE) enzim aktivitesi araştırıldı. Enzim aktiviteleri bazı uygulama gruplarında 24. gelişim evresinde iribaşların boya maddeye maruz bırakılmalarını takiben önemli düzeyde artış gösterdi.

Elde edilen sonuçlara göre astrazon mavisinin kurbağa iribaşlarının gelişiminin 20. ve 24. evrelerinde en yüksek toksik etkiye sahip boya olduğu bulundu. Ayrıca, bulgular, kurbağa iribaşlarının gelişiminin 24. evresinde uygulanan boya maddelerine karşı, 20. evredeki iribaşlardan daha fazla duyarlı olduklarını da gösterdi.

ANAHTAR KELİMELEER: Astrazon, tekstil boya, toksisite, iribaş, *Bufo viridis*, letal konsantrasyon, LC50, NOEC, LOEC, GST, CaE

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ABSTRACT

Master Thesis

AN INVESTIGATION FOR THE TOXICITY OF SOME TEXTILES DYES ON AMPHIBIAN TADPOLES

Ufuk Günay DOĞAN

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

49+vii pages

2002

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat ÖZMEN

Astrazone dyes, among many others, are one of the commonly used group of synthetic substances in the textile industry. Several textile dyes and their effluents were found to be toxic, genotoxic and mutagenic in various test organisms. However, to our knowledge, the information related to the toxicity of astrazone dyes on aquatic organisms is limited.

This study presents the toxicity of four different astrazon dyes on *Bufo viridis* (frog of land) tadpoles. The toxic effect was investigated in two different developmental stages of the tadpoles in static, renewal test conditions. LC50s were determined as 2.89 ppm, 4.00 ppm, 39.35 ppm and 66.03 ppm for astazon blue, black, yellow and red dyes, respectively, in the 20th stages of development in 72 h of exposure period. The LC50 values were also found as 0.919 ppm, 2.66 ppm, 20.37 ppm and 13.69 ppm in 24th stage of the developmental period in 72 h of exposure under the same conditions for the same dyes.

Non Observed Effective Concentration (NOEC) and Lowest Observed Effective Concentration (LOEC) values were also determined in two different developmental stages of tadpoles using analysis of variance (ANOVA) test. The NOEC-LOEC values were found to be as 2.57-2.82 ppm, 3.38-3.68 ppm, 39.52-41.92 ppm and 65.42-69.40 ppm for astrazon blue, black, yellow and red dyes, respectively, on 20th developmental stages of tadpoles after 72 h treatment period. Also, these values were found to be as 1.36-1.63 ppm, 2.35-2.58 ppm, 13.15-18.92 ppm and 9.46-13.23 ppm for same dyes at the 24th developmental stages after same treatment period.

Glutathion S-transferase (GST) and carboxylesterase (CaE) activities were also determined *B.viridis* tadpoles after 12 and 24 h treatment period. Enzymatical activities were increased, significantly, after some exposure concentrations of dye substances in 24th stages of tadpoles.

These results show that, astrazon blue is the most toxic textile dye to tadpoles in 20th and 24th stages of the development. Finally, the 24th stage of tadpoles were determined to be more sensitive than 20th stage ones for all dyes tested in various concentrations.

KEY WORDS: Astrazon, textile dye, toxicity, tadpole, *Bufo viridis*, lethal concentration, NOEC, LOEC, GST, CaE

TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini benden esirgemeyen, bana özverili bilimsel çalışma alışkanlığını kazandıran saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç Dr. Murat ÖZMEN'e;

Çalıőmalarımın deneysel aşamasında benden hiçbir laboratuvar araç gerecini esirgemedен kullanmama izin veren, tanımaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Sayın Doç.Dr. Özfer YEŞİLADA'ya

Çalıőmalarımda emeği olan, ekip arkadaőım Arő. Grv. Abbas GÜNGÖRDÜ'ye;

evirilerimde benden yardımını esirgemeyen Dr. Uğurcan KESKİN'e;

Tezimde maddi ve manevi emeği geçen, yardım istediğimde her zaman imdadıma yetişen sevgili dostum Başar OTLU'ya, Arő. Grv. Seval CİNG'e ve daha ismini sayamadığım Fen Edebiyat Fak.Biyoloji Bölümündeki tüm dostlarıma;

Ayrıca her őeye rağmen benden desteğini esirgemeyen sevgili AİLEM'e

teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çevre ve Çevre Kirliliği.....	1
1.2. Çevre Toksikolojisi Çalışmalarının Amaçları.....	4
1.3. Boyar Maddelerin Tanımı ve Sınıflandırılması.....	4
1.3.1. Bazık Boyalar.....	5
1.4. Geleneksel Arıtım Sistemlerinden Çıkan Atık Suların Karakteri ve Toksikite Açısından Değerlendirilmesi.....	5
1.5. Tekstil Sanayi Atık Sularının Toksik İçerikleri.....	6
1.6. Toksik Boyalara Maruz Kalma Yolları.....	7
1.7. Endüstriyel Atık Sularının Canlılar Üzerinde Toksik Etkileri.....	8
1.8. Endüstriyel Boyaların İnsanlar ve Hayvanlar Üzerine Etkileri.....	8
1.9. Kurbağa İribaşlarında Toksikite Göstergesi Olarak Kullanılan Enzimler.....	9
1.9.1. Karboksil Esteraz Enzimi.....	9
1.9.2. Glutasyon S-Transferaz Enzimi.....	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	11
3. MATERYAL VE METOD.....	14
3.1. Çalışmada Kullanılan Boyar Madde.....	14
3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanı.....	16
3.3. Analizler.....	18
3.3.1 Kurbağa İribaşlarının Enzimatik Analiz İçin Hazırlanması.....	18
3.3.2 Kurbağa İribaşlarında GST ve CaE Aktivitesi.....	18
3.3.3 pH ölçümü.....	19
3.3.4 LD50, NOEC ve LOEC Değerlendirilmesinin İstatistiksel Analizi.....	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	21
4.1. Astrazon Boyaları için Belirlenen LC50 doz konsantrasyonları.....	21
4.2. Astrazon Boyar Maddelerinde Yapılan Letalite Testleri.....	21
4.3. 24 Saatlik Periyotlar İçinde Astrazon Grubu Boyaların pH Değişimleri.....	28
4.4. Embriyoların Astrazon Grubu Boyalara Maruz Bırakılmaları Sonucunda Morfolojilerinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	29
4.5. Astrazon Boyaları için Belirlenen NOEC ve LOEC Değerleri.....	29
4.6. Enzimatik Bulgular.....	31
4.6.1. GST Bulguları.....	31
4.6.2. CaE Bulguları.....	33
5. TARTIŞMA.....	36
6. KAYNAKLAR.....	43

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil 1.1.	Ksenobiyotik bir maddenin canlılar üzerindeki olası etkileri.....	3
Şekil 1.2.	Bazik boyalara bir örnek olarak astrazon sarısının kimyasal yapısı	5
Şekil 3.1.	Astrazon kırmızısı grubundan Bazik Kırmızı 24 boyasının kimyasal dallanma şekli.....	14
Şekil 3.2.	Astrazon mavisi grubundan Basik Mavi 41 boyasının kimyasal dallanma şekli	15
Şekil 3.3.	Kurbağa iribaşlarının metamorfoz aşamaları.....	17
Şekil 4.1.	Astrazon mavisinin 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi.....	24
Şekil 4.2.	Astrazon kırmızısının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi.....	25
Şekil 4.3.	Astrazon siyahının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi.....	26
Şekil 4.4.	Astrazon sarısının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlarda öldürücü etkisi.....	27
Şekil 4.5.	Farklı toksik boyar maddelere maruz kalan kurbağa iribaşlarında ortaya çıkan gelişimsel anomaliler.....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Astrazon boyalarının iribaş gelişim evresinin 20 ve 24. evrelerinde farklı zamanlara bağlı olarak LC50 düzeyleri	21
Çizelge 4.2.	24 saatlik uygulama süresine bağlı olarak ortamın pH değişimi.....	28
Çizelge 4.3.	Astrazon boyasına maruz bırakılan iribaşların NOEC ve LOEC değerleri.....	29
Çizelge 4.4.	24. gelişim evresinde, dört farklı renkte astrazon boyasına 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesi	32
Çizelge 4.5.	24. gelişim evresinde, dört farklı renkte astrazon boyasına 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlarda CaE aktivitesi.....	34
Çizelge 4.6.	Aynı dozda boyar maddelere maruz kalan iribaşlarda zamana bağlı enzim aktivitesi değerlerinin karşılaştırılması.....	35



SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
ETAD	Boyar Madde Üretim Endüstrisi Ekoloji ve Toksikoloji Birliği
CaE	Karboksil esteraz
GST	Glutasyon S-Transferaz
EC50	Organizmaların %50 sinde bir etkisi olan konsantrasyonun grafik veya matematiksel hesaplama sonucu tahminlerle test edilmesi
LC50	Organizmaların %50 sinin ölümüne yol açan konsantrasyonun grafik veya matematiksel hesaplama tahminleri ile test edilmesi
NOEC	Organizmaya etkisi olmayan toksik maddenin en yüksek konsantrasyonu
LOEC	Organizmaya etkisi olan en düşük konsantrasyon
CDNB	1-kloro-2,4 dinitrobenzen
ppm	miligram/litre
U/L	Unite/litre
ml	Mililitre
mg/l	Miligram/litre
EPA	Amerikan Çevre Koruma Kurumu
EDTA	Etilendiamin tetraasedik asit
DTT	Dithiothroitol
Mm	Milimolar
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojenfosfat
KCl	Potasyum monoklor
EtOH	Etil alkol
nm	Nanomol
µl	Miktolitre
DTNB	5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit)
BSA	Bovine serum albumin
BUTAT	Bütil 1-bütilyoasetotiyot
ANOVA	Varyans analiz
PCB	Poliklorobifenil

1. GİRİŞ

1.1. Çevre ve Çevre Kirliliği

Doğada büyük ya da küçük hiçbir canlı tek başına bulunmaz. Canlının bulunduğu yerdeki fiziksel-kimyasal koşullar ve diğer canlılar, o canlının çevresini oluşturur. Ekolojik anlamda çevre sözcüğü, bireyle ilişkili canlı cansız her şeyi kapsar [1]. Canlılar ekosistem içerisinde çevreleri ile üreme, beslenme, barınma, taşınma gibi birçok amaçla etkileşim içerisinde bulunurlar.

Tüm dünyada 1970'li yıllarda başlayan büyük sanayi devrimi ve bu sanayileşmenin sonucu olarak ortaya çıkan birçok sorun çevre üzerinde büyük baskı unsurları olarak karşımıza çıkmıştır. 1970'li, 1980'li ve 1990'lı yıllar, bütün insanlığın gelişmiş, az gelişmiş ülke ayrımı olmaksızın ekolojik bunalım sorunuyla karşılaştığı ve bu sorunun bilincine vardığı yıllar oldu. Nükleer reaktörlerden doğan radyoaktif kirlenmeler, sanayi dumanları ve temiz olmayan enerji kaynaklarından kaynaklanan sülfür oksitlerinin oluşturduğu asit yağmurları, orman alanlarının daraltılması ve giderek yok edilmesi, karbon oksitleri ve nitrojen oksitleri gibi gazların global olarak dünya üzerinde yarattığı sera etkisi, petrol tankerlerinin kazaları, nükleer denizaltılar ve kimyasal atıklarla denizlerin kontrolsüz kirlenmeleri, gübrelerin ve tarım ilaçlarının yarattığı sorunlar, aşırı nüfus artışı, ozon tabakasının incilmesi ve sanayileşme çevre sorunlarının başlıca nedenlerindedir [2]. Çevrenin canlı ve cansız öğeleri bu sorunlardan büyük boyutlarda etkilenmektedir. Bunların bir sonucu olarak dünyamız her geçen gün daha çok kirlenmekte, her biri onbinlerce yıllık bir zaman sürecinde ortaya çıkan türler hızla ortadan kalkmaktadır. Günümüzden 3.5 milyon yıl önce bir türün yok oluş hızının onbin yılda bir olduğu hesaplanırken, günümüz çevresel sorunlarının etkisi nedeniyle en iyimser tahminlerimizle her yüzyılda bir 150 türün yok olduğu tahmin edilmektedir [3].

Önceleri bölgesel olarak algılanabilen ve çözümlenmeye çalışılan çevre yıkımlarının bugün hiç de öyle olmadığı ortaya çıkmıştır. Buna en iyi örneklerden birisini Rusya'daki Çernobil kazası teşkil etmektedir.

Ekolojik sistemler çok hassas dengeler üzerine kuruludur. Ekosistemi halkalardan oluşmuş bir kolyeye benzetirsek, kolyenin her bir halkası bir popülasyonu temsil edebilir. Halkaların uç uca eklenmesi ile komuniteler oluşur. Böylece halkaların

her biri kolyemizi bütünleyen unsurlardır. Ekosistemi tahrip eden çevresel unsurlar kolyemizin zincirlerinin bozulmasına yol açar. Bu sürecin hızlanması ise kolyenin yeniden onarılmasının çok güç hale gelmesine neden olmaktadır [3].

Çevresel kirliliğin dolayısıyla ekosistemlerin tahrip edilmesinin tek sorumlusu insandır. İnsanlar, endüstriyel tesislerden doğaya atılan çeşitli kimyasal maddeler ve fiziksel ajanlar ile çevreyi kirletmekte, artan nüfusun besin gereksinimlerini karşılamak için her geçen yıl daha fazla kimyasal maddeyi tarım alanlarında kullanmakta, yeşil alanları ve ormanları tarımsal ve kentsel amaçlarla kullanıma açarak doğayı tahrip etmektedir. Hem çevreyi kirleten ve bozanın, hem de bunlardan zarar görenin, ekosistemin yanı sıra, esas olarak insan olması, sorumluluk kavramının çevre açısından önemini artıran önemli bir etmendir. 1970'lerden bu yana, dünya kamuoyu, "her ne pahasına olsun gelişme" anlayışından, sürekli ve dengeli gelişme anlayışına doğru bir ilerleme göstermiştir [4].

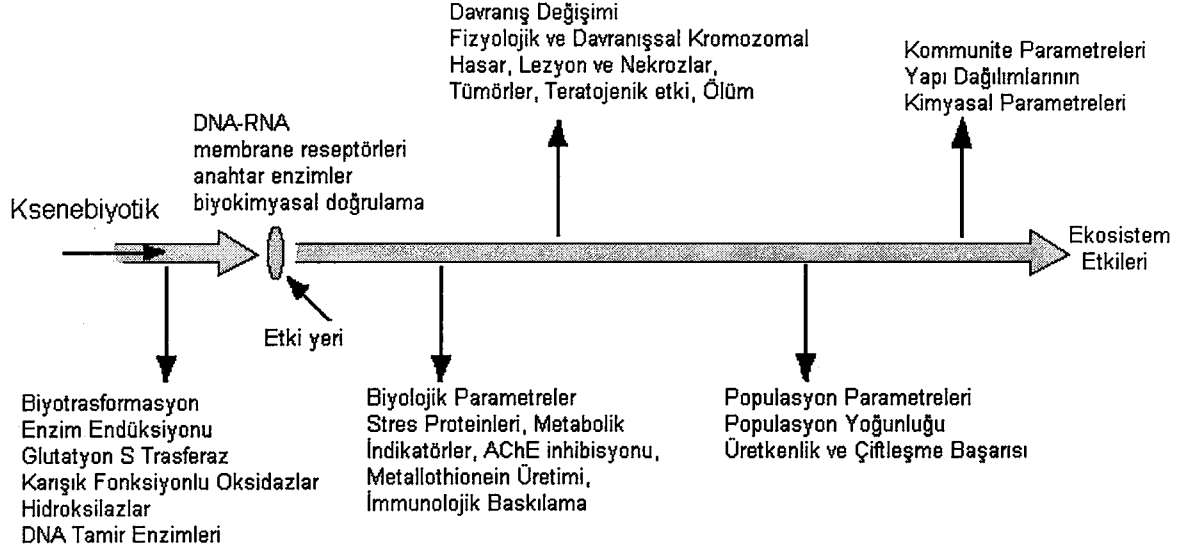
Modern yaşamımızın ve endüstrileşmenin bir sonucu olarak çok yoğun şekilde kullanılan çeşitli ağır metaller ve birçoğu çeşitli ağır metaller yada zehirli bileşikler içeren tekstil boyar maddeleri su ve topraklarda yaşayan organizmaların dolayısı ile ekosistemin olumsuz yönde etkilenmesine yol açmaktadır.

Toksisite (zehirlilik), biyolojik bir sistem üzerine zararlı bir etki meydana getiren bir maddeye bağlı olarak ortaya çıkar. Bu biyolojik etkiyi meydana getiren maddeye toksikant (zehirleyici) denir. Toksikantlar doğal ve doğal olmayan maddeler olmak üzere iki farklı gruba ayrılır. Biyolojik sistemler tarafından üretilen doğal toksikantlar olduğu gibi doğal olmayan kimyasal kökenli toksikantlar da olabilir. Günümüzde kullanılan maddelerin çoğunluğu insan yapımı kimyasal maddelerdir ve bunlar ksenobiyotik olarak adlandırılmaktadır. İnsanlar tarafından üretilen ve kullanılan bileşiklerin sayısı yüzbinlerle ifade edilebilir ve bu maddelerin milyonlarca ton düzeyinde kontrolsüz olarak kullanılması sonucunda da ekolojik denge bozulmaktadır.

Bu toksik maddeler çevreye farklı yollarla girmektedir. Evsel atıklar, endüstriyel kaynaklara bağlı akıntılar, tehlikeli atık depolama tankları ve bunlardan kaza sonucu oluşan sızıntılar gibi kaynaklardan doğaya verilirler. Ayrıca kontrolsüz boşaltmalar, tarımsal kaçaklar, kontamine olmuş topraklar ve sucul sedimentler, atmosferik depolanma gibi yollarla da doğaya çeşitli kimyasal maddeler girebilir.

Ekosistem ile bir ksenobiyotiğin ilişkisi açısından yapılan değerlendirmelerde çeşitli parametreler kullanılabilir. Şekil.1 tür üzerinde toksik etkiye bağlı olarak kullanılacak çeşitli parametrelerden bazılarını göstermektedir. Bir ekosistem üzerine

bir ksenobiyotik etkilerinin tanımlanması açısından bu çalışmaların yürütülmesi önem taşımaktadır ve bizim için aydınlatıcı sonuçlar verebilir [5].



Şekil 1.1. Bir ksenobiyotik maddenin canlılar üzerindeki olası etkilerini göstermektedir. Buna göre maddeler biyolojik sistemlerde çeşitli enzimatik değişimlere uğratılabilir, çeşitli hasarlara yol açabilir. Buna bağlı olarak sonuçta populasyon ya da kommunitte düzeyinde ekosistem üzerine olumsuz etkilere neden olabilir

Tekstil boyaları ve bunların atık suları sanayileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çevre ve insan sağlığı açısından büyük sorunlara yol açmaktadır. Türkiye ve yöremizde özellikle tekstil sanayiinde son yıllarda hızlı ilerlemeler kaydetmektedir. Bunun sonucu olarak her gün milyonlarca metreküp boya ve çeşitli kimyasallar içeren atık sular herhangi bir arıtıma tabi tutulmadan en yakın su kaynaklarına deşarj edilmektedir [6].

Boyar maddelerin kullanıldığı endüstriler su kirlenmesinin ana kaynaklarından biridir. Boyalı atık sular içerdiği renk ve toksik maddelerden dolayı su kaynaklarını kirlenmektedir. Renk atık sularda tespit edilen ilk kirleticidir [7]. Boyar maddeler sucul yaşamdaki fotosentetik dengeyi bozarak canlıların yaşamsal faaliyetlerinde geri dönüşümsüz bozulmalara neden olmaktadır. Glover [9] ve Tratnyek [10]'in bildirdiğine göre boyalı atık sularındaki renkler yalnızca estetik problemlere yol açmaz, çevreye sahnmasıyla biyolojik sistemlerde önemli hasarlara yol açabilir. Böylece, boyalı atık sular toksik etki göstermelerinden dolayı sucul canlıların ve toprak ekosisteminin tahribatına neden olmaktadır [6].

Ancak, tekstil boya maddelerinin ekosistemde canlılar üzerine oluşturduğu toksik etkiler hakkında bugüne kadar yapılan ayrıntılı çalışmalar oldukça sınırlıdır. Genel olarak boyar madde içeren atık sularının toksik ve genotoksik etkisine yönelik çalışmalar; mikroorganizmalar üzerine yapılmıştır [11-22].

1.2. Çevre Toksikolojisi Çalışmalarının Amaçları

Çevre toksikolojisine yönelik çalışmalar çeşitli amaçlara yönelik olarak yürütülmektedir. Bunlardan;

Birincisi, kimyasal maddelerin (ksenobiyotiklerin) çevreyle etkileşimini saptamaktır. Bu ilişkiyi saptamak amacıyla çeşitli toksik madde miktarları yada dozunun biyolojik sistem üzerine etkilerinin araştırılması gerekir.

İkincisi, ksenobiyotiğin biyolojik sistem üzerine etkisini saptamaya yöneliktir. Örneğin protein yada diğer moleküller üzerine toksik maddelerin etkilerini incelemeyi amaçlar.

Üçüncüsü, ksenobiyotiğin moleküler düzeyde biyolojik organizasyon üzerine etkilerini saptamayı amaçlar.

Bir ekosistem yada doğal koşullarda bir organizma üzerinde bu etkileşimin saptanabilmesi için toksik maddenin laboratuvar koşullarında çeşitli türlerden organizmalarla etkileşiminin araştırılması gerekmektedir [5]. Bu organizmanın seçiminde toksik ajanın verildiği alıcı ortamda etkilenebilecek olası organizmaların doğru olarak seçilmesi de önemlidir. Buna bağlı olarak, sucül ortamlarda madde etkisine maruz kalan organizmalar balıklar ve amfibiler olacaktır. Böylece uygun test organizmasının seçilmesi ile kirletici maddenin ekosistem üzerindeki olası etkilerinin saptanması mümkün olabilir.

1.3. Boyar Maddelerin Tanımı ve Sınıflandırılması

Boyar Madde Üretim Endüstrisi Ekoloji ve Toksikoloji Birliği (ETAD), boyaları, “yoğun bir şekilde renkli ve ışığı seçici absorbe ederek bir substrata renk veren floresan organik maddeler” olarak tanımlamaktadır [23]. Uygulandığında boyalar substrat içine işleyerek çözünebilir veya çözünmeyebilir.

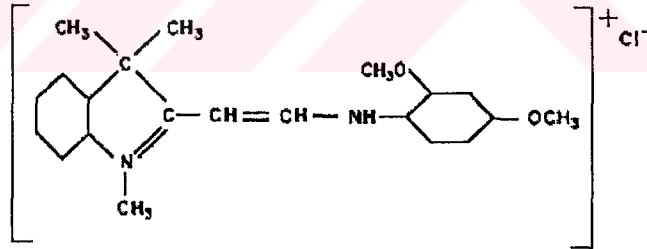
Boyarlar dokuma, deri, kağıt, mürekkep, vernikler, plastikler, kozmetikler ve bazı gıda maddelerin renklendirmesinde kullanılır. Zollinger [24] tarafından bildirildiğine göre, dünyadaki toplam renklendirici üretimi yıllık 800 000 ton kadardır.

Ticari boyalar birçok fiziksel granüller, tozlar, akışkanlar ve macunlar içermektedir. Boyaların renklendirici konsantrasyonları yaklaşık olarak %5-100 arasındadır [25].

Birçok biçim içeren kimyasal yapı ve çeşitteki organik boyalar, genel boya kimyası ve uygulama yöntemlerine göre sınıflandırılmaktadır. Örneğin, kimyasal yapısında azo içeren sınıflar, triarilmetan'lar, difenilmetan'lar, antrakion'lar, stilberi'ler, metin'ler, ksantan'lar gibi farklı gruplara ayrılmaktadır. Boya kimyasında genelde kullanılan tekstil boyar maddeleri 14 kategori ve sınıf içinde gruplandırılmaktadır. Bunlar, asit boyaları, direkt boyalar, azo boyalar, disperse boyalar, sülfür boyaları, reaktif lif boyaları, bazik boyalar, oksidasyon boyaları, keskin (krom) boyaları, geliştirme boyaları, vat boyaları, pigmentler, optik/floresan parlaticılar, ve solvent boyalardır [23].

1.3.1. Bazik Boyalar

Bazik boyar maddeler çözünürleştirici grubu bulunmayan organik bazlardır. Ancak tuz şeklinde iken suda çözünebilir. Gıda maddelerinde, mumların ve ayakkabı cilalarının ve tekstil sanayiinde kullanılan ipliklerin renklendirilmesinde kullanılır (Şekil2).



Şekil-1.2. Bazik boyalara bir örnek olarak astrazon sarısının kimyasal yapısı

1.4. Geleneksel Arıtım Sistemlerinden Çıkan Atık Suların Karakteri ve Toksikite Açısından Değerlendirilmesi

Günümüzde kullanılan boyaların hepsinin parçalanmadığı veya fiziksel ve kimyasal işlemlerle ortamdaki uzaklaştırılmadığı ayrıca bazı parçalanabilen ürünlerin de daha toksik olduğu bilinmektedir [26]. Zollinger, H. [27] tarafından bildirildiğine göre, tekstil boyama işlemleri sırasındaki bazı işlemlerde oluşan aksaklıklar nedeniyle

boya maddesinin %10-15'i direkt olarak atık suya karışabilmekte ve bunun sonucunda da boya direkt olarak çevreye ulaşabilmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda boya ve yan ürünleri reaktör performansını olumsuz yönde etkileyen toksik bir etki göstermiştir [28]. Çeşitli çalışmalarda elde edilen bulgular, çöktürme ve filtrasyon içeren geleneksel atık su arıtım metotlarının boya bileşiklerinin uzaklaştırılmasında etkisizliğini göstermiştir [29,30]. Örneğin reaktif boyalar yüksek çözünürlükleri nedeniyle işlemde geçirilmesi zor olduğundan geleneksel biyolojik yöntemlerle ortadan kaldırılamazlar. Bunun yanında Pierce [31] bildirdiğine göre, aktif çamur kanalizasyon iyileştirme fabrikalarına giren reaktif tekstil boyalarının %90'nının hiç değişmeden reaktörden nehirlere döküldüğü de bilinmektedir. Boyar maddelerinin büyük bir çoğunluğu mikrobiyal saldırıya yüksek dirençlidir ve bu yüzden bunlar geleneksel biyolojik arıtım sistemleriyle çok zor arıtılmaktadır [32, 33]. Bu nedenle geleneksel arıtım sistemlerine ek olarak fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik arıtım içeren entegre arıtım sistemleri geliştirilmektedir. Fakat bu arıtım sistemlerinin bir kısmı bazı dezavantajlarından dolayı (yüksek maliyet, düşük verim, arıtım sonrası istenmeyen yan ürünler) endüstriyel boyutta kullanılamamaktadır [28]. Laboratuvar ölçeğinde veya pilot fabrika ölçeğinde kullanım alanı bulabilmektedir. Uygulamalar sonucunda boyar maddelerin renginin tamamına yakını giderilebilmesine rağmen, ortaya çıkan atık suyun öncekinden daha toksik olabildiği durumlar da gözlenmiştir. Örneğin Robinson ve arkadaşları [34] yaptıkları çalışmaya göre boyar maddelerin ozon tarafından parçalanması sonucu oluşan ürünlerin özellikle omurgasız sucul canlılar üzerinde olumsuz etkileri olduğunu rapor etmişlerdir.

Sonuçta klorlama nedeniyle meydana gelen toksisite organik maddelerde daha önce bulunmayan uygun olmayan oluşumlara neden olabilir, toksik olmayan maddeler toksik özellik kazanırken, toksik özellikteki maddeler daha toksik hale gelebilir[37].

1.5. Tekstil Sanayi Atık Sularının Toksik İçerikleri

Laing [40] tarafından belirtildiği gibi, endüstriyel kaynaklı atık sulardaki boya kirliliğinin büyük kısmı tekstil boyalarının kullanımından kaynaklanmaktadır. Banat ve arkadaşları [41] tekstil boyalarının özellikle ayrışma dayanıklı olarak tasarlanan sentetik orjinli ve kompleks aromatik moleküllerden oluştuğu bildirmektedir. Tekstil endüstrisi atık suları kompleks bir karışım içermekte ve bu kompleks yapıdaki boya ve boya ürünlerinde organik bileşikler, organoklorin içeren temel pestisitler ve ağır

metaller gibi inorganik bileşikler bulunmaktadır [42]. Örneğin tekstil sanayi üretim işlemlerine göre farklılık içeren yün, pamuk ve sentetik elyaf vb. üretim süreçlerinde tekstil atıksularında parlaticılar, yağlar, boyalar, deterjanlar, kelatlayıcı (tutunucu) ajanları, inorganik tuzlar, sürünücü boyalar, yumuşatıcılar, formaldehit içerikli reçineler, lateks ürünleri, renklendiriciler, nemlendirme alanları vs. içeren değişik yapılarıdaki bu boyaların kullanımı ile oldukça farklı kirli su bileşimleri elde edilmiştir [37, 43]. Tekstil endüstrisindeki ıslatma işlemlerinde boyalar deterjanlar ve süspansiyon edilmiş yağ içerikleri yüksek kalitede suya ihtiyaç duymaktadır [44]. Örneğin, geleneksel tekstil parlatma endüstrisi yaklaşık olarak 1 kg tekstil maddesi için 100 litre su kullanmaktadır [45]. Dolayısıyla tekstil endüstrisi içerdiği sentetik boyalardan dolayı günümüzde en çok su kullanan ve bunun sonucunda büyük miktarda renklendirilmiş atık su üreten endüstrilerden birisidir [46]. Genelde karışımdaki bu içeriklerin çevre üzerine etkisi dikkate alınmamakta ve bu nedenle hiçbir arıtım işlemine tabi tutulmadan yerel lağım sistemlerinden çevreye boşaltılmaktadır [43]. Bu atık suların çevreye salınmasıyla estetik, çevresel ve sağlık problemlerine maruz kalılabilmektedir [9, 10, 40]. Örneğin, Malatya'da bulunan tekstil endüstrisi birçok farklı özellikte boyar maddeler kullanmakta ve bunları büyük oranda doğrudan su kaynaklarına vermektedir. Bunun sonucu olarak yapılan gözlemlerde, bu atık suların Karakaya Baraj gölüne Yeşilyurt çayı ve Tohma çayı aracılığı ile ulaştığı gözlenmektedir. Buna bağlı olarak, baraj gölünde yapılan çalışmalar sırasında, gölünün Tohma çayına yakın bölümlerinde ekosistemin büyük ölçüde tahrip olduğu ve biyolojik yaşamın sona erdiği gözlenmektedir (Özmen, kişisel bilgi).

Boyama işlemi sonrasında açığa çıkan atık suyun renkli, yüksek kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) olan ve biyolojik olarak parçalanamayan organik maddeleri içermesinden dolayı çevreciler tarafından ilgi odağı olmaktadır.

1.6. Toksik Boyalara Maruz Kalma Yolları

Atık boyalar, eğer arıtılıyorsa, çoğu zaman atık su arıtım tesislerinden sıradan bir işleminden geçirildikten sonra yerel kanalizasyonlara bırakılır [43]. Çoğunlukla bu atık boyalar bütün canlı formları için potansiyel bir tehlikeye neden olmaktadır [47, 48]. Atık su arıtım fabrikalarında kullanılan biyolojik yöntemlerle arıtılan sularda yeterli renk giderimi sağlanamadığı ve arıtılmış sularda kabul edilebilir estetiksel değerlere ulaşamama sonucu sucul biyotaya zararlı etkiler yapabileceği rapor edilmektedir [49].

Ayrıca boyaların endüstriyel ünitelerden atık madde içeren kirli suların insanların yaşadığı çevreye sızıntı yaparak, yıkama, yıkanma ve içme sularında kullanılmasının zararlı etkiler yapabileceği öne sürülmüştür [35].

Gelişmiş ülkeler de sucul organizmaların boşaltılan endüstriyel atıklardan olumsuz yönde etkilenmemesi için toksisite testleri yapılması zorunludur [37]. Çevresel bakımdan boyar maddeler ile organizmalar en çok sucul ortamlarda maruz kalmaktadır. Buna bağlı olarak sucul, yarı sucul omurgalı ve omurgasız hayvanlar ile sucul kuşlar boya maddelerinin toksik etkilerine en fazla maruz kalan canlılar olarak kabul edilmektedir. Yurdumuzda da çeşitli kanun ve yönetmeliklere bağlı olarak endüstriyel kirleticilerin arıtılmaksızın alıcı ortamlara deşarjı yasaklanmış olmasına karşın, çeşitli endüstriyel kaynaklı kirleticiler doğrudan doğruya doğaya salıverilmektedir.

1.7. Endüstriyel Atık Sularının Canlılar Üzerinde Toksik Etkileri

Endüstriyel atık kirliliği, fabrikalarının atık su borularından çevreye ya doğrudan ya da yetersiz bir arıtım işleminden geçmiş atık sulardan kaynaklanmaktadır. Bu atıklar istenmeyen renk, yüksek konsantrasyonda organik ve inorganik bileşikler, yüksek pH ve oldukça zengin seviyede ağır metaller dahil olmak üzere birçok toksik madde içerdikleri bilinmektedir [7, 38]. Ayrıca Fishbein [39] yaptığı çalışmayla endüstriyel atıkların bitkiler ve hayvanlar üzerinde genetik hasarlardan sorumlu olduğunu da öne sürmüştür. Endüstriyel kaynaklı tekstil atık suları doğrudan veya yeterli arıtım yapılmadan yüzey sularına karışabilir bu da sucul hayatın kalitesini ve çeşitliliğini etkileyebilir. Bu nedenle sucul ekosistemler için tehlikeli olabilecek tekstil atık suları ortamdaki uzaklaştırılmalıdır.

1.8. Endüstriyel Boyaların İnsanlar ve Hayvanlar Üzerine Etkileri

Tekstil sanayiinde kullanılan boyalar hem deney hayvanlarında hem de insanlarda alerjik reaksiyonlara, deri tahribatına, egzemaya sebep olabilir [50, 51]. Ayrıca, karaciğer, akciğer, dolaşım sistemi, bağışıklık sistemi ve üreme sisteminde zararlara sebep olabileceğini kanıtlayan çalışmalar yapılmıştır [52, 56].

Boyaların azo bağları ve nitro veya amino-grupları deney hayvanlarında karaciğerde ve mesanede kanser oluşumunu da uyarmaktadır [57, 58].

Toksik özellikteki boyaların insanlar ve hayvanlarda oluşturduğu patolojik etkileri hakkında yapılan çalışmalara örnek verecek olursak; Gosselin ve arkadaşları

[59] yaptıkları çalışmada, bazik yeşil boyasının ağızdan alınmasının ishale ve karın ağrısına sebebiyet verdiğini rapor etmişlerdir. İnsansız yapılan toksisite çalışmalarından deneysel olarak elde edilen sonuçlarda tavşan gözlerinde bazik yeşil boyasının şiddetli bir şekilde hasara yol açtığını göstermektedir [60].

Zimina ve Pavlenko [61] yaptıkları başka bir çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak brillant yeşili içeren 3-arilmetan boyalarının akut, toksik ve mutajenik etkilerini araştırmıştır. Deney sonucu bu boyanın yüksek biyolojik aktivitede hücre ölümü ve büyüme bozukluğuna yol açtığını göstermektedir. Ayrıca boyaların nokta mutasyonları arttırdığı ve solunum sisteminde hasara sebebiyet verdiği saptanmıştır.

Hayvan çalışmalarında bazı benzidin ile ilgili boyaların tümörlere sebebiyet verdiği gösterilmiştir [62, 63].

Bazik yeşil boyasının gentian(centian) mor ve malaşit ile çapraz reaksiyon göstererek egzemaya neden olduğu rapor edilmiştir [64].

Sax [65] yaptığı çalışmada bazik yeşil boyasının deride, gözde ve solunum sisteminde irritasyona yol açtığı bildirmektedir.

1.9. Kurbağa İribaşlarında Toksikite Göstergesi Olarak Kullanılan Enzimler

Kimyasal kirlenmeye bağlı olarak ortaya çıkan biyolojik değişimlerin en önemlilerinden birisi de enzim aktivitelerinde gözlenen farklılıklardır. Böylece çeşitli özgül biyokimyasal belirteçler kullanılarak organizmaların maruz kaldıkları kontaminasyon kaynakları hakkında bir fikir yürütülebilmekte ve organizmanın kimyasal toksik ajanlara maruz kalması sonucu oluşan değişiklikler, biyolojik izleme yöntemleri olarak kullanılabilir [92].

1.9.1. Karboksil Esteraz Enzimi

Karboksil esterazlar (CaE), ester substratlarından alkol bağının hidrolizini katalizleyen, serin hidrolazlar sınıfı enzimlerdir. Karboksil esterazlar, birçok omurgalı ve omurgasız canlıların dokularında aktivite gösterir ve geniş substrat özgüllüğüne sahiptir [93].

Karboksil esterazların işlevleri tam olarak bilinmemesine rağmen ksenobiyotiklerin ve biyolojik esterlerin asimilasyonunda, özgül lipidlerin taşınmasında ve depolanmasında, özgül hormonların biyolojik inaktivasyonunda düzenleyici olarak işlev gördüğü öne sürülmektedir [94].

Sucul çevrede büyük oranlarda esterlerin varlığı bilinmesine rağmen, CaE aktivitesinin çevresel kirlenme belirteci olarak kullanılması ancak son yıllarda önem kazanmıştır. Esterli bileşiklerle ilgili yapılan sınırlı araştırmalarda, balıkların yüksek esteraz aktivitesine sahip olduklarını ve ester hidrolizinin, hidrofobik kirleticilerin biyolojik birikimini önemli oranda indirgediğini göstermektedir [95-96]. Son yıllarda yapılan araştırmalarda CaE'in memeli ve balıklarda organofosfat ve organofosforotiot insektisitlerinin toksik etkilerine karşı koruyucu etkilere sahip oldukları gösterilmiştir [97-98].

1.9.2. Glutasyon S-Transferaz Enzimi

Glutasyon transferazlar genel olarak glutasyonu bir kofaktör olarak gereksinen enzimlerdir. Enzimin substrat özgüllüğü oldukça geniştir. Balık karaciğer dokusunda glutasyon-S transferaz (GST) (E.C.2.5.1.18) enzimi için 1-kloro-2,4 dinitrobenzen (CDNB) iyi bilinen referans bir substrattır [99-100]. Balıklarda GST aktivitesi poliklorlu bifenilleri de içeren çok çeşitli eleftrofilik kirletici tarafından indüklenebilmektedir [100-101]. Bu enzim aslında sitozolik bir enzim olmasına rağmen, membran bağlı formlarının da bulunduğu bilinmektedir. Glutasyon-S transferaz'ın reaktif ara ürünleri, polisiklik aromatik hidrokarbonları detoksifiye etmekle görevlidir [102]. Enzimin geniş bir substrat özgüllüğü bulunmakla beraber, izozim düzeyinde substrat özgüllüğü daha belirgindir [99].

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Wells ve arkadaşları [79] tekstil kirlisi ve atıklarını *Daphnia pulex*'de 48 saatlik akut, statik testlerde düşük derecede bir toksisiteye neden olduğunu göstermiş ve Cu'nun(Bakır) toksisitede etken faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Dinnel ve Stober [80] kirli sularda birçok klorlanmış ve organik içerikli okside oluşumların, atık su toksisitesinde değişimlere yol açtığını rapor etmişlerdir.

Chen ve arkadaşları [37], yaptıkları bir çalışmada daphnia (*Daphnia similis*)'de 48 saatlik hayatta kalma testi, medaka embriyosunda 14 günlük ve gençlerde 96 saatlik hayatta kalma testi ve tilapia (*Oreochromis mossambicus*)'da gençlerde 96 saatlik hayatta kalma testi gibi farklı sucul organizmalarda toksisite testleri yapılmışlardır. Her üç örnekte de medaka embriyosunda yumurta açılım inhibisyonu, daphnia da immobilizasyon gözlenmiştir. LC50 ve EC50 42.3% ve 48.5% de medaka embriyolarının hayatta kalma ve yumurta açılım sonuçları başarılıdır. İnhibe edilmiş *Photobacterium luminance* Microtox[®] analizinde 15min-EC50 de 33.6% de başarı sağlanmıştır. Aynı örnekler üzerinde tekrarlanan testlerde genç tilapia, LC50 de 90.5%, akut toksikliğe cevap verdiği görülmüştür [37].

Chung ve arkadaşları [89] ve Grefory [90] yaptıkları çalışmada pek çok boyanın hem hücre içi hem de hücre dışı mutasyona neden olduğunu göstermişlerdir.

Moller vd. [81] ve Hayakawa vd. [82] tarafından yapılan araştırmaya göre, boya ve tekstil endüstrisinde kullanılan boyaların, bazı katkı maddelerinin toksik, genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkileri bulunmaktadır.

Hayakawa vd. [82] ve Cameron vd. [83] mono azo boyalar ve diazo boyalarda, Morgan vd. [84], benzidin kongenerlerde, Palagina vd. [85] ve Palus [86] mono-nitro boyalar, Simi vd. [87] ve Brown vd. [88] xantdene ve tripentil metan boyalarında ve Mori vd. [89] amino-azobenzen boyalarda genotoksik ve mutajenik aktiviteleri rapor etmişlerdir.

Orange II, Metanil sarı boyaları ve bunların karışımının sıçanlara etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada, Orange II ve Metanil sarısı sıçanların vücut ağırlığı başına 80 mg/kg doz da 3 gün boyalara maruz bırakılması sonucunda ethoxresorufin-O-dietilaz (% 40-190), anilin hidroksilaz (% 27-92), aril hidrokarbon hidroksilaz (% 50-62) ve aminopirin N-dimetilaz (% 42-49) aktivitelerinde artışa neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca Orange II ve Metanil sarısının birebir karışımında hepatik parametreler üzerine sinerjistik etki gösterdiği saptanmıştır [103].

Azo grubu bir boya olan Orange II ile yapılan bir çalışmada sıçanlar farklı boya konsantrasyonlarda içeren besinlerle 90 gün beslenmişler ve Orange II'nin LD50 değeri ile toksisitesi saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmada sıçanlarda dalak dışında hiçbir organ üzerinde belirgin bir olumsuz etki gözlenmemiştir. Aynı zamanda kullanılan bütün dozlarda ölüm gözlenemediği için Orange II için bir letal doz saptanamamıştır. Çalışmada sıçan dalağında önemli derecede büyüme gözlenmiştir. Bununla beraber sıçanların kırmızı kan hücrelerinin sayısı ve hemoglobinlerinde azalma gözlenmiştir [104].

Walthall ve Stark [105] farklı iki ksantan boyasının *Daphnia pulex* üzerine toksik etkisini araştırmışlar ve bu boyaların teker teker veya birlikte uygulandığında toksik etkilerinin olduğunu göstermiştir. Üstelik bu iki boyanın birlikte kullanıldığı da bir sinerjizm göstermiş ve bunun sonucu *Daphnia*'da ölüm artmıştır.

Murugesan vd. [106] tekstil atık suların balıklar üzerine yaptığı histokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri test etmişler ve testin sonucunda, bu atık suyun önemli değişimlere yol açtığını göstermişlerdir. Ovaryum üzerine yapılan bu çalışmada oogenezin erken safhalarında oogoniyum nükleuslarının tam bir karyolizise uğradığını ve çekirdekçiklerin kaybolduğunu gözlemişlerdir. Histokimyasal çalışmalar oositlerde RNA miktarında azalışı göstermiştir. Atık su içerisindeki ağır metallerin bu etkide önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.

Smuthi vd. [107] tekstil boyama atık sularının balık karaciğer hücreleri ve eritrositlerinde DNA hasarını indüklediğini rapor etmiştir. %1 gibi düşük konsantrasyonda bile DNA hasarı gözlenmiştir.

Bu çalışmada Malatya'da tekstil sanayiinde yaygın olarak kullanılan dört farklı astrazon boyasının (bazik boya) kurbağa iribaşları üzerinde toksik etkisinin ve öldürücü dozlarının saptanması amaçlanmıştır. Literatüre göre, omurgalılar üzerinde toksisite ile ilgili çok az çalışma yapılmış olan bir boyar madde gurubu kullanılmıştır. Boyaların yurdumuzda ve Malatya çevresinde yaygın olarak bulunan bir amfibi türünün iribaşları üzerine toksik etkilerinin saptanması amaçlanmıştır. Buna bağlı olarak, kullanılan boyaların iribaşların iki farklı gelişim döneminde ve farklı zaman periyotlarında uygulanmasına bağlı olarak ortalama öldürücü konsantrasyonun (LC50), etkili olmayan en yüksek konsantrasyonun (NOEC) ve etkili en düşük konsantrasyonun (LOEC) saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca, boyar madde konsantrasyonuna maruz bırakılmış iribaşlarda, bazı enzim aktivitesi değişiklikleri de araştırılmıştır. Böylece bu boyar maddelerin çevresel açıdan risk değerlendirmesinin yapılması da amaçlanmaktadır.

kullanılan yöntemlerin bazılarının yurdumuzdaki bilimsel araştırmalarda ilk kez kullanılmış olması da önem taşımaktadır.

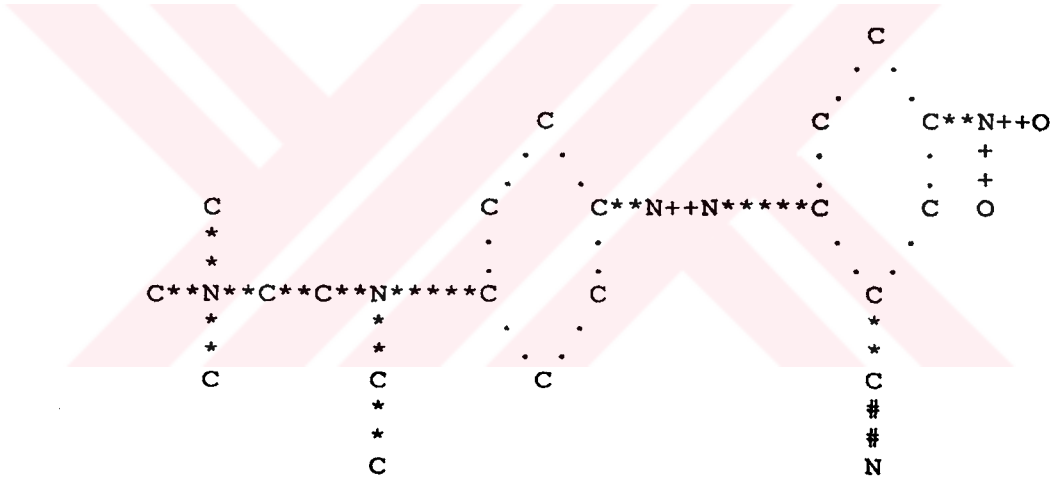


3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışmada Kullanılan Boyar Madde

Araştırmalarda Malatya İpaş Tekstil ve İplik Boyama Tesislerinden sağlanan ve bu tesiste yaygın olarak kullanıldığı bilinen dört farklı astrazon boyasının kurbağa iribaşlarının farklı gelişim dönemleri üzerine olan toksik etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmalarda kullanılan boyar maddelerin kimyasal özellikleri ve yapıları tam olarak bilinmemekle birlikte, astrazon kırmızısı ve mavisi azo grubu içeren boyalardır. Boyanın kimyasal yapısına örnek teşkil edebilecek olan Bazik kırmızı(Basic Red 24) Şekil 3.1’de gösterilmektedir.

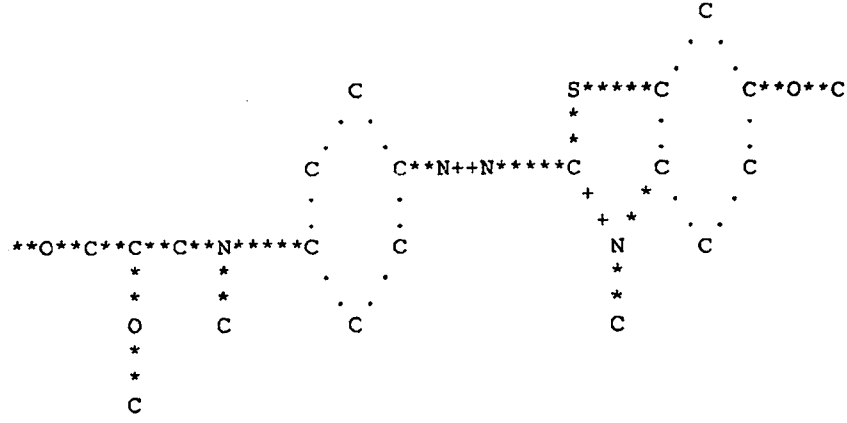


** tek bağ ## üçlü bağ
++ çift bağ . . rezonans bağ

Şekil 3.1. Astrazon kırmızısı grubundan Bazik Kırmızı 24 boyasının kimyasal dallanma şekli

Çalışmalarımızda test materyali olarak Bazik kırmızı 46 boyası kullanıldı. Bu boya ticari olarak Astrazon Red FBL olarak adlandırılmaktadır.

Astrazon mavisi olarak araştırmalarda, astrazon mavi FGRL olarak adlandırılmış boya kullanıldı. Bu boyar maddeye örnek teşkil edebilecek kimyasal yapı Şekil 3.2’de verilmiştir.



** tek bağ ## üçlü bağ
 ++ çift bağ .. rezonans bağ

Şekil 3.2. Astrazon mavisi grubundan Basik Mavi 41 boyasının kimyasal dallanma şekli

Astrazon sarısı ve siyahı için örnek bir yapı bulunamamıştır. Ayrıca bu boyaların bir azo grubu içerip içermediği hakkında bir bilgiye ulaşılamamıştır. Astrazon sarısının ticari G GELB GLB kodlu boyası ve astrazon siyahının ticari FDL kodlu boyaları toksisite testleri için kullanıldı.

Tüm boyalar suda iyi çözünebilme yeteneği gösterdiklerinden, çalışma süresince taze olarak hazırlanmış boya çözeltileri kullanıldı. Stok boya çözeltileri kaynak suyu kullanılarak hazırlandıktan sonra bir haftalık uygulama süresinde ve +4⁰ C’de muhafaza edildi.

Kurbağa iribaşlarına uygulanacak doz aralıklarını saptamak amacıyla yapılan ön çalışmalara bağlı olarak, astrazon mavisi için 90.60 ppm, astrazon kırmızısı için 88.58 ppm, astrazon siyahı için 90.60 ppm ve astrazon sarısı için 22.40 ppm’lik stok boya çözeltileri kullanıldı. Stok boya çözeltileri distile su içinde çözüldürüldü. Bu stok boya çözeltilisinden ön doz tarama sonuçlarına göre, astrazon mavisi için 1.09-18.34 ppm, kırmızı için 3.37-88.58 ppm, siyah için 1.59-35.42 ppm ve sarı için 3.42-66.79 ppm arasında uygulama dozları kullanıldı.

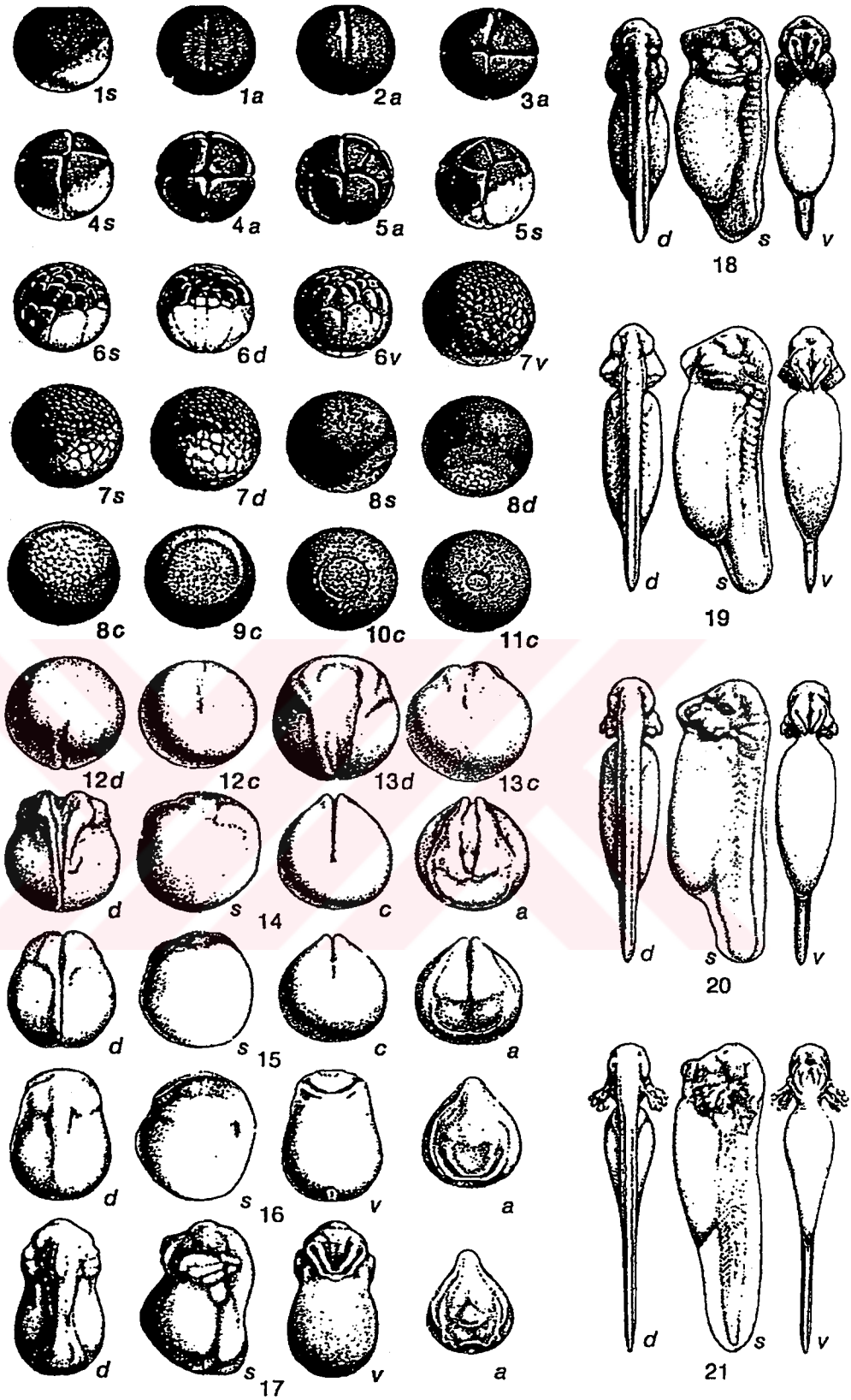
3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanı

Çalışmada deney hayvanı olarak kara kurbağası (*Bufo viridis*) iribaşları kullanıldı.

Bu amaçla, kurbağaların eşleşme dönemindeki yumurtlama izlenmek suretiyle, kampus alanında bulunan su birikintilerine bırakılan yumurtalar takibe alındı. 12 saat içerisinde izlenen birikintilere bırakılan yumurtalar toplandı. Tür teşhisi yumurta yığımlarına göre yapıldı.

Laboratuvar ortamına taşınan yumurtalar 22-24 °C oda sıcaklığında akvaryum içinde bir hava pompası ile havalandırılarak embriyoların gelişimi sağlandı. Yumurtadan çıkan iribaşlar 48. saatten itibaren haşlanmış ıspanak ile beslenerek 20. gelişim evresine kadar izlendi. Willis W. Mathews [35] tarafından hazırlanan amfibi gelişim atlasındaki evreler ile karşılaştırmak suretiyle test uygulama dönemleri saptandı. Astrazon boya uygulaması iribaş metamorfozunun 20. ve 24. evrelerinde ayrı ayrı yapıldı (Şekil 3.3). Uygulanacak boya dozlarının saptanması amacıyla her boya için ve her bir gelişim evresinde ayrı ayrı doz tarama çalışmaları yapıldı [77].

20. ya da 24. gelişim evresine ulaşan iribaşlar 250 ml'lik plastik kaplar içinde ön çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre saptanmış olan dozlarda boya etkisine maruz bırakıldı. İribaşların buldukları boya konsantrasyonu Amerikan Çevre Koruma Kurumu (U.S. EPA) tarafından önerilen yöntemle göre aritmetik doz artışına bağlı olarak uygulandı [78]. Çalışmada 24 saatlik statik yenilemeli test düzeneği kullanılarak, organizmalar boya etkisine maruz bırakıldı. Boya etkisine 20. ya da 24. evrelerde 168 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlar her 24 saatte bir kontrol edildi. Hareketsiz kalan iribaşlar ölü olarak kabul edildi. Ölen iribaş sayısı kaydedilerek, ortamdaki uzaklaştırıldı. Yaşayan iribaşlar aynı konsantrasyonda yeni boya çözeltisi içine aktarıldı. İribaşların gelişimi üzerine boya etkisinin saptanması amacıyla, düşük orta ve yüksek konsantrasyona sahip ortamlardan alınan iribaş örnekleri %30'luk alkol içinde fotoğrafları alınana değin muhafaza edildi. Araştırmada 20. ve 24. evrelerde her boya konsantrasyonu için her kaptaki 20 iribaş olacak şekilde dört tekrarlı olarak deney düzeneği oluşturuldu. Bu kaplardan birisi örneklerin kaptaki morfolojik gözlemi için saklanması amacıyla, diğer 3 kap ise letal doz düzeyinin saptanmasına yönelik olarak kullanıldı. Araştırmada ayrıca 20. ve 24. gelişim evrelerinde kontrol grubu olarak kullanılan iribaşlar kaynak suyu içinde muhafaza edildiler. Boya etkisinin gözlemlendiği süre içerisinde kontrol ve uygulama grubu iribaşları beslenmediler.



Şekil 3.3. Kurbağa iribaşlarının metamorfoz aşamaları

3.3. Analizler

3.3.1. Kurbağa İribaşlarının Enzimatik Analiz İçin Hazırlanması

Öldürücü konsantrasyon düzeyinin saptanmasına yönelik sonuçlardan elde edilen veriler ışığında, 24. gelişim evresinde astrazon kırmızı için 39.96-69.40 ppm, mavi için 1.45-3.75 ppm, siyah için 1.32-5.40 ppm, sarı için 8.06-48.60 ppm dozlar arasında deney düzeneği kuruldu. Her kaba 20 iribaş konulmak suretiyle 3 tekrarlı bir düzenek hazırlandı. Bu iribaşların 4-5 tanesi 12. saat sonunda, geri kalanları 24. saat sonunda toplanarak, eppendorf tüplerine alındı. İribaşlar -70°C 'de enzimatik analiz çalışmalarına kadar saklandı.

Bu iribaşlar tartıldıktan sonra ağırlıklarının 7 katı hacimde (w/v), 7.4 pH'daki 0.1 M potasyum fosfat tamponu (KH_2PO_4 , 0.1 M; KCl, 0.15 M; EDTA, 1 Mm; DTT, 0.05 Mm) eklenerek cam-teflon homojenizatörde (Ika Instruments, Germany) 7-8 vuruş ile parçalandı. Çalışmanın tüm aşamasında örnekler buz içinde korundu. Homojenat temiz eppendorf tüplerine alınarak $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16.000 xg'de 20 dk santrifüj (Ole Dich Instrumentmarkers, Microcentrifuge 157. mp, Denmark) edildikten sonra örnekler yeni eppendorf tüplerine alındıktan sonra supernatantlar -70°C 'de derin dondurucuda Glutasyon S-transferaz (GST) ve karboksilesteraz (CaE) enzim aktivitelerinin saptanması için kullanılana kadar saklandı.

3.3.2. Kurbağa İribaşlarında GST ve CaE Aktivitesi

Kurbağa iribaşlarından elde edilen supernatant kullanılarak GST ve CaE aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Bu amaçla bir mikropilaka okuyucu sistemi (Molecular Devices, USA, Versa max) kullanıldı.

Glutasyon S-transferaz'ın enzimatik reaksiyonuna bağlı olarak enzim aktivitesinin ölçülmesi amacıyla CDNB (150 mM, %96 EtOH'da) (Sigma Corp., USA) kullanılarak test edilmiştir [109].

0.1 M pH 6.5 fosfat tamponu içeren reaksiyon karışımı toplam 210 μl olacak şekilde hazırlandı. Enzim aktivitesinin ölçülmesi amacıyla 10 μl (0.1 M pH 7.4 fosfat tamponu ile) supernatant kullanıldı. Reaksiyon başladıktan itibaren mikropilaka okuyucu sisteminde çalkalanarak karıştırıldı ve 25°C 'de 344 nm dalga boyunda 1 dk. süre ile okuma yapıldı. Her örnek için üç tekrar yapıldı, aynı örnekte elde edilen bulgularda %10 'dan az korelasyon farkı elde edildiğinde bulgular kaydedildi.

Karboksilesteraz aktivitesi ölçülürken, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Organik Kimya Laboratuvarında Doç. Dr. Ahmet Mete tarafından hazırlanan BUTAT olarak adlandırılan bir madde substrat olarak kullanıldı.

10 μ supernatant örnekleri mikropalakaya pipetlendi ve 100 ml, 0.05 M fosfat tamponu (%0.015 DTNB, %0.01 BSA) ve 1 ml 0.02 M BUTAT (44 μ l BUTAT / 10 ml %96 EtOH) 200 μ l eklenerek reaksiyon başlatıldı. Enzim aktivitesi 25 $^{\circ}$ C'de 405 nm dalga boyunda 1 dk. süre ile okuma yapıldı. Okuma işlemi esnasında karışımın her 10 sn'de bir çalkalanarak okunması sağlandı. Her örnek için üç tekrarlı okuma yapıldı ve veriler arasında %10'luk bir korelasyon farkı gözleendiğinde ölçüm tekrar edildi.

3.3.3. pH ölçümü

Her boyar madde çözeltilisinin en düşük, en yüksek ve orta düzeydeki konsantrasyonlarının pH'ları günlük olarak ölçüldü. Bu ölçümler iribaşlar test çözeltilerine konulmadan önce ve 24 saat sonunda kaplar değiştirilmeden önce içinde canlı denek olan kaplarda yapıldı.

3.3.4. LD50, NOEC ve LOEC Değerlendirilmesinin İstatistiksel Analizi

İki farklı gelişim evresindeki kurbağa iribaşlarından elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel paket program (SPSS[®] Inc. USA) kullanıldı.

Çalışma bulguları regresyon probit analizi kullanılarak değerlendirildi. Ortalama öldürücü konsantrasyon (LC50) düzeyi iki farklı gelişim evresi için 24. saat, 72. saat ve 168. saatler de ayrı ayrı saptandı. Ayrıca elde edilen verilerle aynı paket program kullanılarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulama grubunda istatistiksel olarak gözlenemeyen en yüksek konsantrasyon düzeyi (NOEC) ve en düşük etkili konsantrasyon düzeyi (LOEC) Dunnett's T-testi metodu ile iki farklı gelişim evresi için ayrı ayrı saptandı.

Enzimatik analiz sonucunda elde edilen bulguların varyans analizi (ANOVA) ile 24. gelişim evresindeki kurbağa iribaşları için 12. ve 24. saatlere bağlı olarak Kruskal Wallis yöntemi ile test edildi. Gruplar arası farklılığın önemli olup olmadığı $P < 0.05$ düzeyinde önemlilik derecesine göre saptandı. Gruplar arası farklılığın önemli olduğu saptandığında, örnekler ikili karşılaştırma ile Mann Whitney-U yöntemine göre karşılaştırıldı. Buna bağlı olarak enzim aktivitesi bakımından grup içi farklılığın

$P < 0.05$ düzeyinde önemli bulunduğu gruplar saptandı. Ayrıca enzim aktivitesi aynı dozlar için 12. ve 24. saatlerde Student T-testi yöntemi ile karşılaştırıldı.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Astrazon Boyaları için Belirlenen LC50 doz konsantrasyonları

Yapılan bütün testlerde Astrazon boyaların *Bufo viridis* iribaşlarının 20. ve 24. evredeki gelişim basamaklarında toksik etki gösterdiği bulunmuştur. Çizelge 4.1'de iribaşların 20 ve 24. gelişim evresinde, 24, 72 ve 168 saat sonrası çalışılan dört tekstil boyasının LC50 düzeyleri gösterilmiştir. Test sonuçlarında astrazon mavisi ve kırmızısı için 168 saatte 24. gelişim evresinde tüm iribaşlar öldüğü için LC50 saptanamadı.

Çizelge 4.1. Astrazon boyalarının iribaş gelişim evresinin 20 ve 24. evrelerinde farklı zamanlara bağlı olarak LC50 düzeyleri

Boya	Gelişim evresi	24 saat (ppm)	72 saat (ppm)	168 saat (ppm)
Mavi	20	5,835	2,890	1,664
	24	2,919	0,919	nd
Kırmızı	20	71,285	66,031	63,429
	24	24,513	13,693	nd
Sarı	20	47,545	39,357	14,441
	24	23,289	20,370	17,857
Siyah	20	23,477	4,004	2,463
	24	2,847	2,658	1,877

nd: konsantrasyon düzeyi saptanamadı.

4.2. Astrazon Boyar Maddelerinde Yapılan Letalite Testleri

Çalışmamızda kurbağa iribaşları 20. gelişim basamağında, astrazon mavisinin 1.09-18.34 ppm dozları arasında boyar maddeye maruz bırakıldı. 24 saatlik testin sonunda 2.33 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 18.34 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.1a). 72 saatlik testin sonunda 1.75 ppm'de ölüm gözlenmezken 9.12 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.1b). 96 saatlik deney sürecinde ise 1.09 ppm'de %1.67'lik bir ölüm gözlenirken 2.57 ppm'de iribaşların tümü ölmüştür. (Şekil 4.1c).

İribaşların 24. gelişim basamağında yapılan testlerde ise astrazon mavisinin 0.44-4.06 ppm dozları arasında boyar maddeye maruz bırakıldı. 24 saatlik test sonunda

1.38 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 4.06 ppm'de %100 ölüm saptandı (Şekil 4.1a). 72 saatlik test sonunda 0.78 ppm'lik konsantrasyon öldürücü etki göstermezken, 1.63 ppm dozda %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.1b). 96 saat'lik testin sonunda ise 0.44 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 1.36 ppm'de % 100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.1c).

Kurbağa iribaşları 20. gelişim basamağında gerçekleştirilen testlerde astrazon kırmızısının 3.37- 88.58 ppm arasında boyar maddeye maruz bırakıldı. 24 saat sonunda 61.66 ppm'de herhangi bir ölüm gözlenmezken 88.58 ppm'de %95 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2a). 72 saatlik test sonunda 47.71 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 76.01 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2b). 96 saatlik testin sonunda da 39.60 ppm'de herhangi bir ölüm gözlenmezken 69.40 ppm'de %90 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2c).

Kurbağa iribaşlarının 24. gelişim basamağında yapılan testlerde, 24. saat sonunda astrazon kırmızısında 13.23 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 45.75 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2a). 72 saatlik testin sonunda 6.79 ppm'de ölüm gözlenmezken 25.80 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2b). 96 saatlik test sonunda 6.79 ppm'de herhangi bir ölüm gözlenmezken 16.02 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.2c).

Kurbağa iribaşları 20. gelişim evresinde astrazon siyah tekstil boyası ile gerçekleştirilen testlerde, 24. saat sonunda 4.46 ppm'de ölüm gözlenmezken 35.42 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.3a). 72 saatlik deney sürecinin sonunda 2.33 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 5.94 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.3b). 96 saatlik testin sonunda 1.59 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 4.46 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (4.3c).

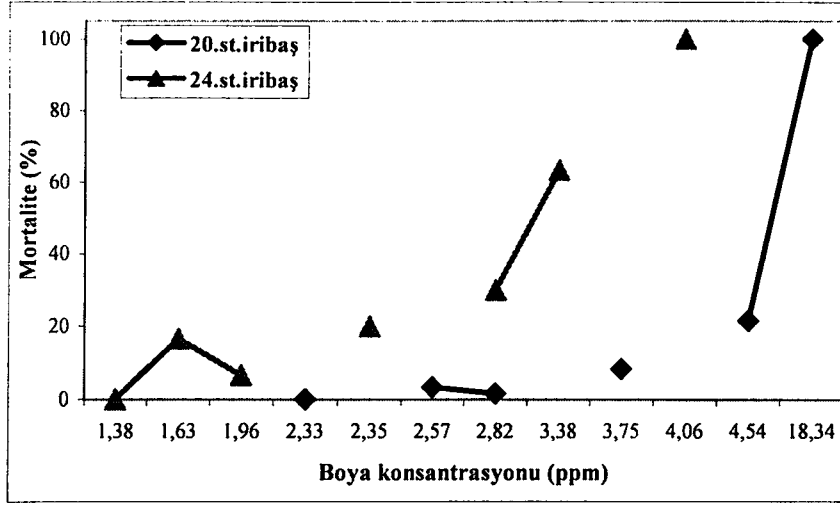
İribaşların 24. gelişim evresinde astrazon siyahı ile yapılan testlerde ise 24. saat sonunda 1.38 ppm'de ölüm gözlenmezken 4.06 ppm'de %100'lük ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.3a). 72 saatlik testin sonunda 1.38 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 3.38 ppm'de %100 ölüm gerçekleşmiştir (Şekil 4.3b). 96 saatlik testin sonunda ise 0.27 ppm'de ölüm gözlenmezken 2.82 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.3c).

Kurbağa iribaşları 20. gelişim basamağında astrazon sarısı ile yapılan testlerde, 24. saat sonunda 43.18 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 66.79 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4a). 72 saatlik testin sonunda 23.38 ppm'de herhangi bir ölüm gözlenmezken 48.60 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4b). 96 saatlik testin sonunda 3.42 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 30.40 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4c).

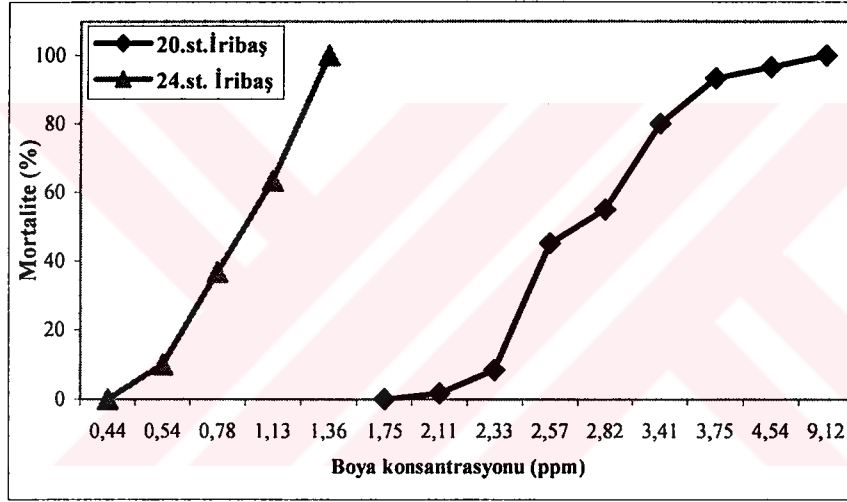
İribaşların 24. gelişim evresinde astrazon sarısı ile yapılan testlerde ise, 24. saat sonunda 15.77 ppm'de ölüm gözlenmezken 39.52 ppm'de %100'lük ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4a). 72 saatlik testin sonunda 6.13 ppm'de hiç ölüm gözlenmezken 39.25 ppm'de %100 ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4b). 96 saatlik testin sonunda ise 6.13 ppm'de herhangi bir ölüm gözlenmezken 30.35 ppm'de %100'lük ölüm gözlenmiştir (Şekil 4.4c).



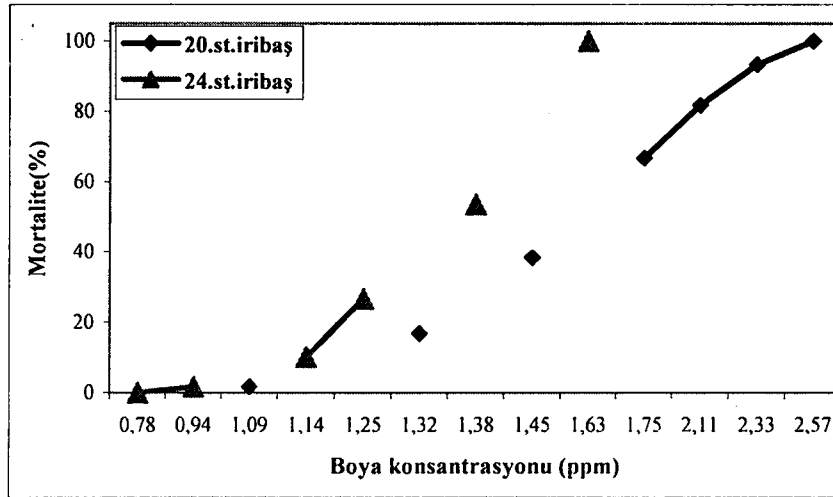
A



B

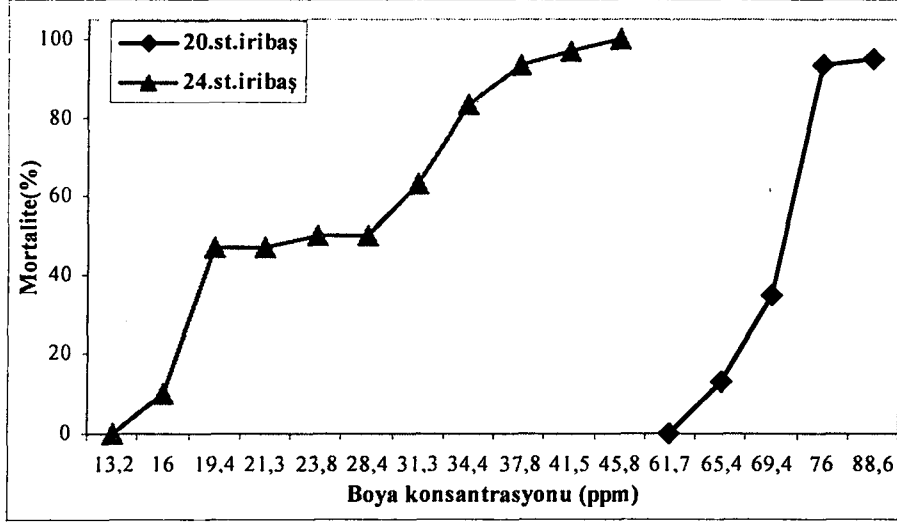


C

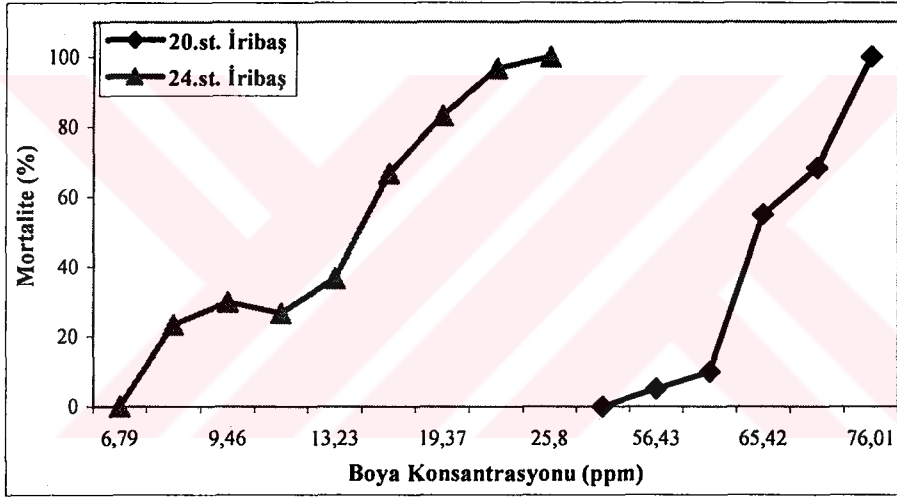


Şekil 4.1. Astrazon mavisinin 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi
A. 24. saat, B: 72. saat, C: 168. saat

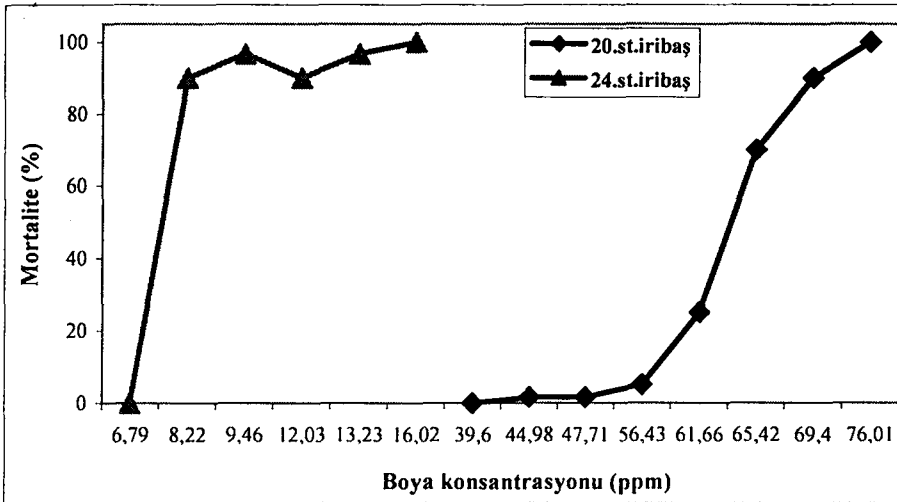
A



B

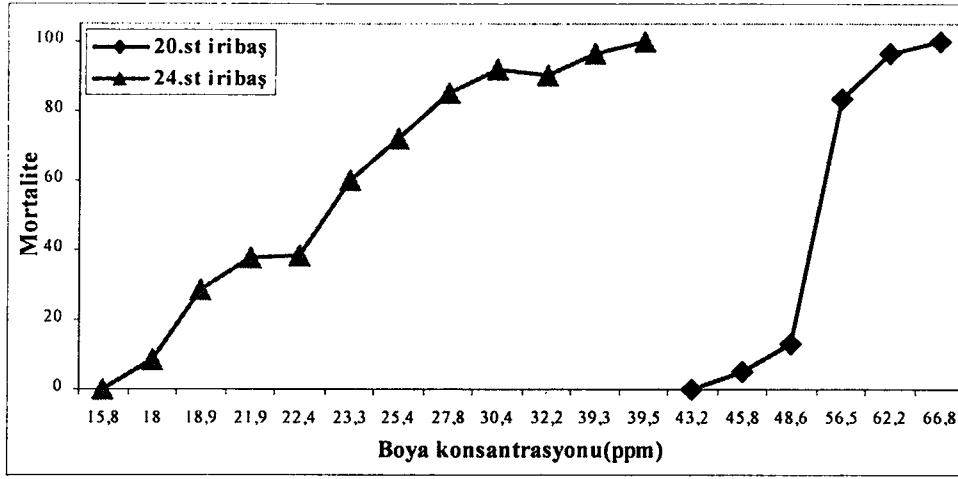


C

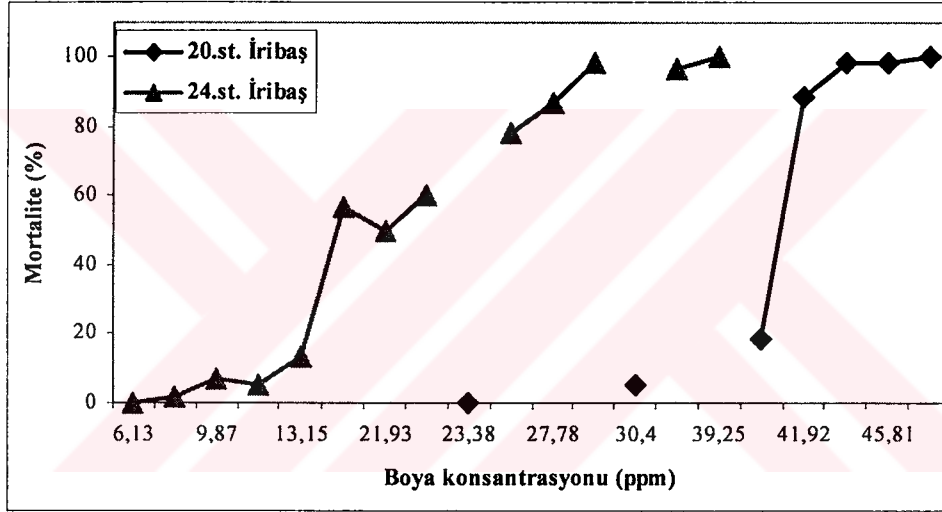


Şekil 4.2. Astrazon kırmızısının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi
A: 24. saat, B: 72. saat, C: 168. saat

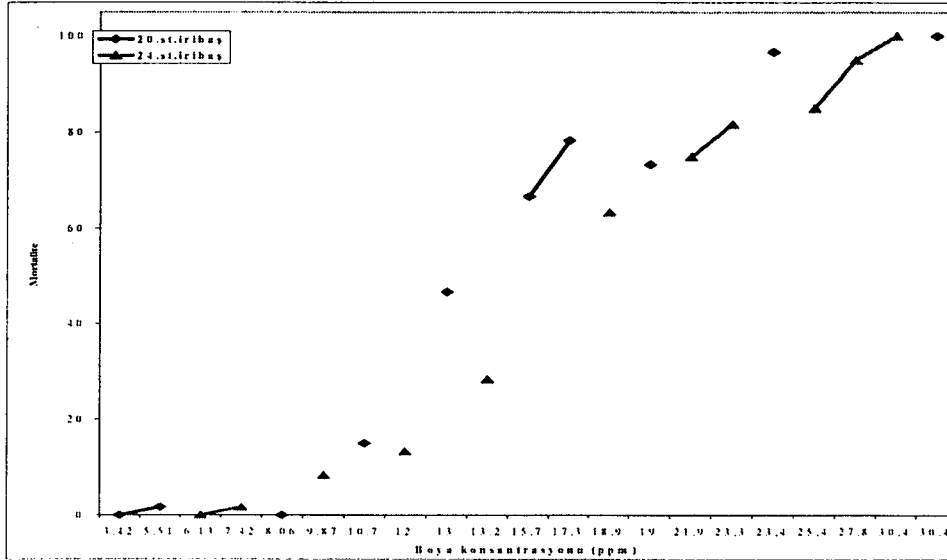
A



B

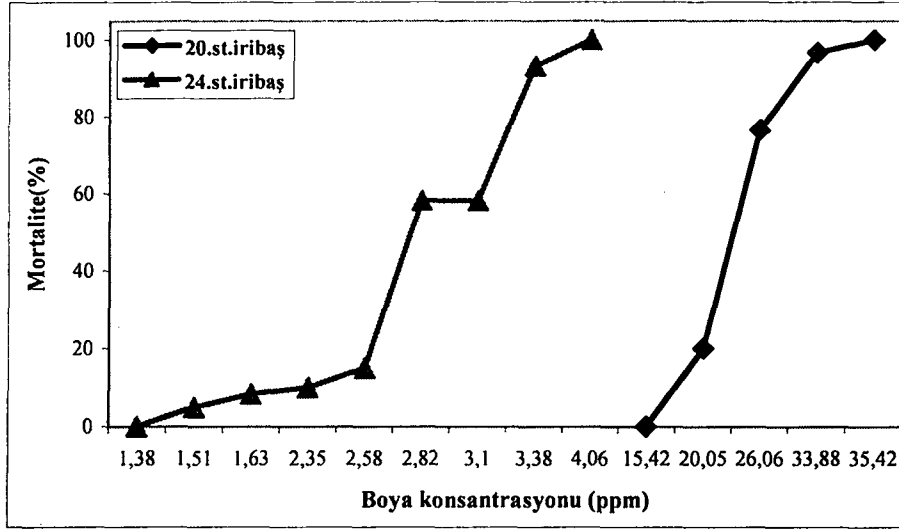


C

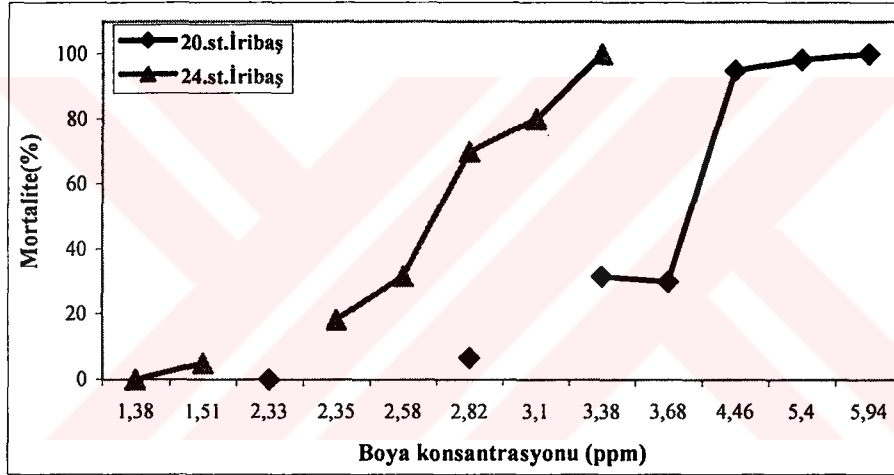


Şekil 4.3. Astrazon siyahının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlara öldürücü etkisi
A: 24. saat, B: 72. saat, C: 168. saat

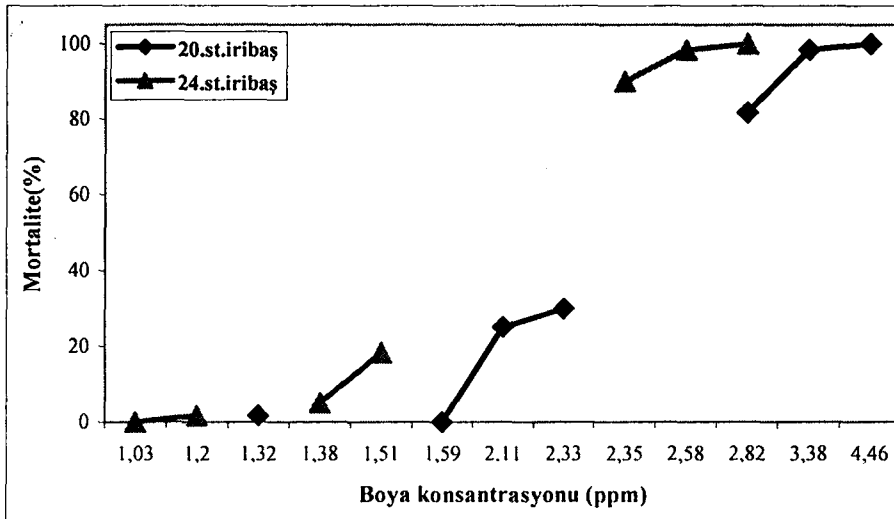
A



B



C



Şekil 4.4. Astrazon sarısının 20. ve 24. gelişim evrelerinde iribaşlarda öldürücü etkisi
A: 24. saat, B: 72. saat, C: 168. saat

4.3. 24 Saatlik Periyotlar İçinde Astrazon Grubu Boyaların pH Değişimleri

Deney süresince yaptığımız pH ölçümlerine göre, test ortamında 24 saatlik statik değişmeli test sisteminde boyar maddenin ortamın pH'sında önemli ölçüde bir değişim ortaya çıkmamıştır. Buna göre, ortamların pH değeri 24 saatlik zaman sürecinde astrazon siyahı için 8,73-9,04 arasında, astrazon mavisi için 8,72-9.01 arasında, astrazon kırmızısı için 8,18-9,01 arasında, astrazon sarısı için 8,36-8,95 arasında değişim göstermektedir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. 24 saatlik uygulama süresine bağlı olarak ortamın pH değişimi

Boya(ppm)	pH (0. saat)	pH (24.saat)
Siyah		
1.32	8.99	8.96
4.46	8.97	9.04
18.89	8.91	8.95
28.58	8.83	8.98
1.09	8.73	8.97
Mavi		
3.75	8.82	9.01
18.34	8.80	9.02
34.13	8.72	9.03
Kırmızı		
3.27	8.89	9.01
39.96	8.69	8.78
75.84	8.18	8.31
Sarı		
1.14	8.70	8.95
15.72	8.69	8.92
45.81	8.59	8.83
62.16	8.36	8.66
Kontrol	8.46	8.88

4.4. Embriyoların Astrazon Grubu Boyalara Maruz Bırakılmaları Sonucunda Morfolojilerinde Meydana Gelen Değişiklikler

Kurbağa iribaşlarının sucul ortamda boyar maddelere maruz kaldıkları takdirde diğer sucul canlılar gibi toksik, genotoksik ve mutajenik etkilerle karşılaşabilecekleri yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bununla birlikte boyar madde canlı üzerinde gelişimsel baskılara neden olduğu da bilinmektedir. Buna göre (Şekil 4.5)'de farklı astrazon boyalarının toksik etkilerine maruz bırakılan iribaşlarda gelişimsel anomaliler göstermiştir.

4.5. Astrazon Boyaları için Belirlenen NOEC ve LOEC Değerleri

Çalışılan dört çeşit tekstil boyasının 20. ve 24. gelişim basamağındaki *Bufo viridis* iribaşlarında 24. saat, 72. saat ve 168. saatde saptanan NOEC ve LOEC değerleri Çizelge 4.3'de verilmektedir.

Çizelge 4.3 Farklı dozlarda astrazon boyasına maruz bırakılan iribaşlar için istatistiksel olarak hesaplanan etkisiz en yüksek konsantrasyon (NOEC) ve etkili en düşük konsantrasyon (LOEC) değerleri

Boya	Gelişim evresi	NOEC (ppm)			LOEC (ppm)		
		24 saat	72 saat	168 saat	24 saat	72 saat	168 saat
Mavi	20	4,54	2,57	1,45	26,06	2,82	1,75
	24	1,63	1,36	1,25	2,35	1,63	1,38
Kırmızı	20	69,40	65,42	21,62	76,01	69,40	49,48
	24	19,38	9,46	8,22	21,32	13,23	9,46
Sarı	20	56,52	39,52	12,99	62,16	41,92	13,84
	24	18,92	13,15	11,95	21,93	18,92	13,15
Siyah	20	20,05	3,38	2,11	26,06	3,68	2,33
	24	2,82	2,35	1,51	3,10	2,58	2,35



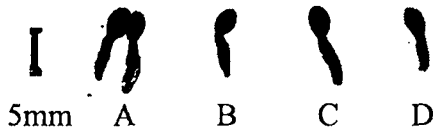
A-kontrol, Astrazon Kırmızısı B-3.27ppm, C-8.50ppm, D-18.22ppm, E-39.96ppm, F- 56. 43ppm, G- 61.66ppm, H- 65.42ppm



A-kontrol, Astrazon Sarısı B-1.14ppm, C-3.42ppm, D-8.06ppm, E-15.72ppm, F-19.02ppm



A-Kontrol, Astrazon Mavisi B-1.09ppm, C- 1.75ppm, D-2.33ppm



A-Kontrol, Astrazon Siyahı B-1.32ppm, C-1.59ppm, D- 2.11ppm

Şekil 4.5. Farklı boyar maddelere 168 saat maruz bırakılmış 24. gelişim evresindeki kurbağa iribaşlarında ortaya çıkan gelişimsel anomaliler(1/1)

4.6. Enzimatik Bulgular

4.6.1. GST Bulguları

Çizelge 4.4 de 24. gelişim evresinde farklı dozlarda boyar madde etkisine 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlar için Glutatyon-S transferaz (GST) enzim aktivitesi değerleri gösterilmiştir.

Genelde boyar madde etkisine bağlı olarak GST aktivitesinin özellikle 12 saatlik uygulama sonunda kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğu görülmektedir.

Buna göre, astrazon mavisinde 12 saat de 2.11 ppm dozda boyaya maruz kalan iribaşlarda GST aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Astrazon kırmızısında 12 saat de 61,66 ppm, 69,40 ppm ve 88,58 ppm, 24 saat de 96,40 ppm dozlarında boyaya maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gösterdiği görülmektedir ($P<0.05$).

Astrazon sarısında 12 saat de 41,92 ppm 48,60 ppm dozda boyaya maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Astrazon siyahında 12 saat de 5,40 ppm ve 24 saat de 1,32 ppm dozda boyaya maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Çizelge 4.4. 24. gelişim evresinde dört farklı renkte astrazon boyasına, 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesi (U/L)

MAVİ	N	12. saat	SEM	N	24. saat	SEM
1,45ppm	2	271,15	20,10	3	399,53	62,05
2,11ppm	3	350,89*	47,24	3	378,25	64,88
3,75ppm	3	316,79	73,38	3	476,22	142,07
18,34ppm	3	417,20	81,57	-	-	-
KIRMIZI						
39,96ppm	2	481,46	83,95	3	272,51	97,50
47,71ppm	2	619,70	8,43	3	338,63	49,66
61,66ppm	3	657,06*	99,27	3	415,69	178,66
69,40ppm	3	687,22*	160,28	3	203,76*	16,13
88,58ppm	3	510,87*	63,44	-	-	-
SARI						
8,06ppm	3	216,67	29,67	3	376,31	35,19
15,72ppm	3	313,97	48,89	3	339,04	27,54
41,92ppm	3	355,11*	8,64	3	262,84	57,13
48,60ppm	3	361,34*	33,82	2	254,88	40,47
SİYAH						
1,32ppm	3	259,95	27,77	3	162,70*	35,97
5,40ppm	3	449,14*	80,51	1	297,55	-
9,12ppm	3	289,42	113,56	-	-	-
Kontrol	3	242,99	38,76	3	307,39	52,48

* Kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında enzim aktivitesi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur $P<0.05$.

4.6.2. CaE Bulguları

Çizelge 4.5'de 24. gelişim evresinde farklı dozlarda boyar madde etkisine 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlar için karboksilesteraz (CaE) enzim aktivitesi değerleri gösterilmiştir.

Genelde boyar madde etkisine bağlı olarak CaE aktivitesinin özellikle 24 saatlik uygulama sonunda kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğu görülmektedir.

Buna göre, astrazon mavisinde 12 saat de 2.11 ppm ve 3,75 ppm dozda boyaya maruz kalan iribaşlarda CaE aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Astrazon kırmızısında 12 saat de 39,96 ppm, 47,71 ppm, 61,66 ppm, 69,40 ppm ve 88,58 ppm dozlarında boyaya maruz bırakılan iribaşlarda CaE aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gösterdiği görülmektedir ($P<0.05$).

Astrazon sarısında 12 saat de 15, 72 ppm, 41,92 ppm ve 48,60 ppm ve 24 saat de 41,92 ppm dozda boyaya maruz bırakılan iribaşlarda CaE aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Astrazon siyahında 12 saat de 1,32 ppm 5,40 ppm ve 9,12 ppm, 24 saat de 1,32 ppm dozda boyaya maruz bırakılan iribaşlarda CaE aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$).

Çizelge 4.5 24. gelişim evresinde dört farklı renkte astrazon boyasına çeşitli 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakılan iribaşlarda CaE aktivitesi (U/L)

Mavi	N	12 saat	SEM	N	24 saat	SEM
1,45ppm	2	71,03	19,08	3	143,94	23,12
2,11ppm	3	112,01*	11,91	3	179,09	36,08
3,75ppm	3	85,48*	20,52	3	236,14	37,63
Kırmızı						
39,96ppm	3	78,93*	21,15	3	185,70	36,26
47,71ppm	3	72,38*	5,15	3	172,60	27,57
61,66ppm	3	121,34*	20,11	2	232,86	2,95
69,40ppm	3	90,07*	9,77	3	168,66	7,78
88,58ppm	3	78,77*	17,13	-	-	-
Sarı						
8,06ppm	3	617,0	129,91	3	225,50	44,27
15,72ppm	3	1159*	100,05	3	176,60	50,60
41,92ppm	3	913,1	123,38	3	89,90*	14,46
48,60ppm	3	1160*	28,97	2	147,10	14,44
Siyah						
1,32ppm	3	1156*	111,87	3	892,45*	4,81
5,40ppm	3	835,5*	189,92	1	880,77	-
9,12ppm	3	938,7*	139,83	-	-	-
Kontrol	3	375,33	5,89	3	193,73	14,25

* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Uygulama sürelerine bağı olarak, 12 ve 24 saatlerde aynı doz etkisine maruz bırakılan iribaşlar için enzim aktivitesi değerlerinin Student T-testi ile yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.6 12. ve 24. saatlerde boyar maddelerin etkisine maruz bırakılan iribaşların, aynı dozda maddelere karşı zamana bağı enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

(ppm)	GST	CaE
Mavi		
1,45	-	-
2,11	-	-
3,75	-	+
Kırmızı		
39,96	-	-
47,71	-	+
61,66	-	-
69,40	+	+
Sarı		
8,06	+	+
15,72	-	+
41,92	-	+
48,60	-	-
Siyah		
1,32	-	+
5,40	-	-
Kontrol	-	+

+ Bir boyanın 12 ve 24 saat de aynı konsantrasyonunda enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında $P<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

- Bir boyanın 12 ve 24 saat de aynı konsantrasyonunda enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında önemli bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA

Boyar madde endüstrisi yoğun olarak çeşitli tipte boyar maddeler kullanmaktadır. Bu boyar maddelerin sayısı tam olarak bilinmemekle beraber Zollinger, tarafından[27] 10.000 çeşit pigment ve boyar maddenin dünya çapında kullanıldığı rapor edilmektedir [108]. Bu maddeler genelde karışım halinde doğaya salınmakta ve ekosistem üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Endüstriden kaynaklanan atık suların toksik etkileri organik-inorganik madde karışımının etkisine bağlanabilir. Bununla birlikte kimyasal yapıları nedeniyle, boyar maddelerin her birinin toksik etkisinin belirlenmesi ve ekosistemde organizmalar üzerinde olası risk etkilerinin saptanması büyük önem taşımaktadır [38].

Azo bileşikleri doğal olarak meydana gelmeyen yapılardır ve doğada bulunması ancak kimyasal bir senteze bağlıdır. Araştırmacılar bu maddelerin aerobik bakteriyal yıkıma dirençli bileşikler olduğunu rapor etmektedirler [110-112].

Genel olarak azo boyaların DNA hasarlarına neden olan bir etkisinden önce organizmada metabolik olarak indirgenmeye uğradığı bilinmektedir [21]. Diğer taraftan azo boyaların metabolizması oldukça karmaşıktır ve yüksek organizasyonlu hayvanlarda barsak mikroflorası tarafından serbest aminlere indirgendikten sonra, karaciğerde ileri düzeyde metabolize edilmektedir. Rajaguru ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda bir azo boyası olan direkt red 2 (DR2) nin potansiyel bir klastojen olarak rol oynadığı ve metabolitlerinin hayvan ve insan sağlığı üzerinde risk etkisine sahip olabileceği belirtilmektedir [108]. Ağız yolu ile alınan maddelere kıyasla sucul organizmaların tüm vücutlarının madde etkisine sürekli olarak maruz kalması nedeniyle daha yüksek toksik riske sahip olabileceği söylenebilir.

Araştırma bulgularına göre, test materyali olarak kullandığımız dört farklı renkteki astrazon boyasının tümünün, *Bufo viridis* iribaşlarının farklı gelişim evreleri üzerinde toksik etkiye sahip olduğu görülmektedir. Boyalar arasında öldürücü etki düzeyleri farklılık göstermektedir. Buna göre, araştırmada kullanılan boyalardan astrazon mavisi en yüksek toksik etkiye sahipken, astrazon kırmızısının nispeten daha az düzeyde toksik olduğu saptanmıştır. 24 saat süreyle boyar maddeye maruz kalan iribaşlarda öldürücü düzeyde etkili olan boyar madde konsantrasyonu, 72 ve 168 saat süreyle madde etkisine maruz kalanlara göre daha, yüksek doz değerlerine sahiptir. 24 saat süre ile madde etkisine maruz kalma sonucunda elde edilen LC50 düzeyine göre,

72 saatlik süre sonunda elde edilen LC50 konsantrasyonu %50 azalırken, bu değer 168 saat sonunda yaklaşık %70 oranında azalış göstermektedir.

Elde edilen bulgular, astrazon boyalarının *B. viridis* iribaşlarında çok düşük dozlarda bile toksik ve öldürücü etkilere yol açtığını göstermektedir. Buna bağlı olarak sonuçlar, bu boyaları içeren tekstil fabrikası atık sularının doğaya verilmesi durumunda sucul ortamdaki canlılar için önemli bir risk faktörü olarak rol oynayabileceğini ve bu maddelerin alıcı ortamda birikimi sonucu bu riskin artacağını göstermektedir. Diğer taraftan, bu çalışmada boyar maddelerin her biri tek başına kurbağa iribaşlarına uygulanarak, yol açtıkları toksik etkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ancak tekstil sanayiinde genel olarak bu tipte maddelerin tek başına kullanılmayıp, genelde bir karışım halinde kullanılıyor olması, ayrıca alıcı ortamda bu tipte maddelerin birikimi sonucu ve diğer çevresel kirleticiler ile bir arada bulunmalarının yol açabileceği toksik etkinin düzeyi bilinmemektedir. Diğer taraftan bu maddeler, bir sinerjistik etkiye yol açarak toksik etkilerini daha fazla gösterebilirler. Bu durumda doğal ekosistem üzerine ortaya çıkabilecek etkinin düzeyi de artacaktır. Bulgularımıza göre, iribaşların gelişiminin farklı evrelerinde astrazon boyalarına farklı duyarlılıklar gösterdiği görülmektedir. Buna göre, 20. gelişim evresinde daha yüksek konsantrasyonlarda boyar maddelerin toksik etkiye yol açarken, 24. gelişim evresinde iribaşlar çok daha düşük konsantrasyonlarda boyar madde etkisine karşı duyarlı hale gelmektedir. Buna neden olan faktörler çok çeşitli olabilir. Özellikle vücut yüzey alanının gelişimine bağlı olarak artması sonucunda iribaşların daha fazla toksik madde etkisi ile maruz kalmaları nedeniyle, duyarlılığın gelişime bağlı olarak arttığı düşünülmektedir. Çünkü sucul ortamda iribaşlar vücut yüzeyleri ile daha fazla madde etkisine maruz kalmaktadır. Diğer taraftan 20. gelişim evresinde iribaşlar sadece solungaç solunumu yaparken, organ sistemleri de henüz gelişmemiş durumdadır. Oysaki 24. gelişim evresinde iribaşlarda organ sistemleri de gelişmeye başlamakta ve metabolik aktivite buna bağlı olarak daha fazla artmaktadır. Bu nedenle ileri gelişim evrelerinde vücuda alınan boyar maddenin daha düşük dozlarda daha fazla toksik etki göstermesi beklenebilir.

Bir astrazon boyası olan bazik yeşili için LD50 değerleri sıçanlarda intraperitoneal uygulama sonrasında 8 mg/kg, farelerde oral yolla 25 mg/kg ve intraperitoneal yolla uygulamada ise 5 mg/kg olarak bulunmuştur [113]. Bizim araştırmamız sonucunda ise sucul ortamda 72 saat sonunda LC50 konsantrasyonları 20 ve 24. gelişim evresindeki iribaşlarda, sırası ile, astrazon mavisi için 2,890-0,919 ppm, kırmızı için 66,031-13,693 ppm, sarı için 39,357-20,370 ppm ve siyah için ise 4,004-

2,658 ppm değerleri arasındadır. Bu bulgulara göre, iribaşların gelişiminin farklı evrelerinde astrazon boyalarına farklı duyarlılıklar gösterdiği görülmektedir. Bu nedenle, ileri gelişim evrelerinde vücuda alınan boyar maddenin daha düşük dozlarda daha fazla toksik etki göstermesi beklenebilir. Buna bağlı olarak doz yanıt ilişkisi sucul bir organizma olarak iribaşlarda daha düşük dozlarda saptanmıştır.

Araştırmada kullanılan astrazon mavisi ve kırmızısının azo grubu içeren kimyasal maddeler olduğu bilinmektedir. Literatür verilerine göre, azo grubu içeren maddeler yüksek toksik etkilerinin yanında [7, 38], mutajenik ve karsinojenik kimyasal ajanlar olarak da bilinmektedir [82, 83, 89]. Araştırma sonuçlarına göre, azo grubu taşıyan mavi boyanın yüksek toksik etkiye sahipken, astrazon kırmızısının tüm kullanılan boyalar içinde doz-yanıt ilişkisine bağlı olarak en düşük toksik etkiye sahip olması ise beklentilerimizle uyuşmamaktadır. Bu durum astrazon kırmızısının suda en kolay çözünebilen, dolayısıyla daha kolay metabolize edilebilir bir boya olmasına bağlı olabilir. Diğer taraftan 24. gelişim evresinde 168 saat süreyle kırmızı yada mavi boyar madde etkisine maruz kalan iribaşlar test sresinin tamamlanmasından önce ldklerinden LC50 düzeyi saptanamamıştır. Bu durum daha uzun süreli olarak madde etkisine maruz kalmanın toksik etkiyi arttırdığını ifade etmektedir. Diğer taraftan, astrazon kırmızısına oranla daha toksik etki gösteren sarı ve siyah boyar maddelerin kimyasal yapısı ile ilişkili bilgiye ulaşılamamıştır.

Kurbağa iribaşlarının 168 saat süreyle madde etkisine maruz kalmaları morfolojik olarak önemli bazı bozukluklara neden olmuştur (şekil 4.5). Özellikle uygulama dozunun artışına bağlı olarak, iribaşlarda gelişimin yavaşladığı ve yüksek dozlarda vücut büyüklüklerinde belirgin bir gerileme olduğu saptanmıştır. Bu etki özellikle astrazon kırmızısı için gözlenmiştir. Astrazon mavisi ve siyahı nispeten daha az morfolojik anomalilere neden olurken, astrazon sarısı için belirgin bir morfolojik anomali gözlenmemiştir. Sentetik boyaaların mikroorganizmalar tarafından yıkımı esnasında açığa çıkan aromatik aminler genellikle toksik ve karsinojenik etkiye sahiptir [114]. Yeşilada ve arkadaşları, astrazon kırmızısının beyaz çürükçül fungus olan *Funalia trogii* kullanılarak, yıkıma uğratılabileceğini rapor etmektedir [115]. Ancak, bu maddelerin funguslar tarafından yıkımı takiben omurgalılar üzerine olan toksik etkinin azaltılabileceğine ilişkin bir bilgiye ulaşılamamıştır. Bununla birlikte, bu maddelerin bakterilere olan toksik etkilerinin azaldığı rapor edilmektedir [Elif Apohan-Tez]. Bulgularımıza bağlı olarak, iribaşlarda uygulama sresinin artmasına da bağlı olarak ortaya çıkan morfolojik anomaliler boyar maddelerin ortamda kimyasal, fiziksel ya da

mikroorganizmal yıkımdan çok, iribaşların bu toksik ajanlara karşı sahip oldukları biyokimyasal reaksiyonlar ile ilişkili olabilir. İribaşların biyotransformasyon reaksiyonları sonucunda bu maddeleri yıkıma uğratarak sekonder metabolitleri oluşturması sonucu daha toksik ajanlar oluşabilir. Bu durum, iribaşlarda gelişimsel bozukluklara neden olabilecek maddelerin ortamda bulunmasına bağlanabilir. Oysa ki ortamda boyar maddelerin yıkımı fiziksel, kimyasal ya da mikroorganizmal yolla gerçekleşiyor olsa bile ortamın 24 saat aralıklarla yenilenmesi sonucunda olası bu etki en az düzeye indirgenmektedir.

Amfibilerin gelişiminde ve metamorfozunda troid hormonunun önemli rolü olduğu bilinmektedir. *Xenopus leavis* metamorfozunda özellikle PCB ile troid hormon arasında homeostazisin sağlanması bakımından ilişki olduğuna dair bazı deliller rapor edilmiştir [116]. Buna göre troid hormonunun metamorfozda vücut ağırlığının artışı sağlamada önemli rolü olduğuna ilişkin deliller bulunmaktadır. Astrazon boyalarının etkisine bağlı olarak *B viridis* iribaşlarının vücut büyüklüğünde belirgin bir azalmanın gözlenmesi, hormonal dengenin bozulması ile ilişkili olabilir.

Bununla birlikte iribaşlarda boyar madde etkisine bağlı olarak hormonal aktivitenin değişip değişmediği ise çalışılmamıştır.

Oda sıcaklığında (25 °C) gerçekleştirilen araştırmada, 0. saat ve 24. saat sonrası elde edilen verilere göre kontrol grubu için ortam pH'sında yaklaşık %5'lik bir artış olmasına karşın, içerisinde boyar madde olan kapların pH'ın da 24 saat sonunda yaklaşık %10'luk bir azalma gözlenmiştir. Bu farklılık ortamda bulunan boyar maddenin kimyasal özelliğinden kaynaklanabilir.

Enzim aktivitesi ile ilgili veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm boyalar için GST aktivitesinde doza bağlı olarak bir artış görülmektedir. Bu aktivite artışının bazı uygulama gruplarında kontrole göre önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Glutasyon-S transferaz aktivitesindeki bu artış boyar maddelerin toksik etkisine işaret etmektedir. Buna göre, iribaşlarda astrazon boyalarının bu enzim için bir substrat olarak kullanıldığı ve astrazon boyalarının II. basamak biyotransformasyon reaksiyonları ile detoksifikasyona uğratılmaya çalışıldığı da düşünülmektedir.

12 saatlik uygulama sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, astrazon mavisine maruz bırakılan iribaşlarda GST aktivitesinin %10-40 oranında arttığı, bu artışın kırmızı için %50-65 oranında olduğu, sarı için %33 ve siyah için ise %7-45 oranlarında artış gösterdiği bulunmuştur. Bu durum tüm boyalara karşı organizmanın kendisini savunmak için bir sistem geliştirmeye çalıştığını ifade edebilir.

Karboksilesteraz aktivitesinin astrazon mavisi için tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artış gösterdiği, diğer astrazon boya için özellikle yüksek konsantrasyonlarda madde uygulamasına bağlı olarak CaE aktivitesinin inhibe edildiği görülmektedir. Bu enzim son yıllarda özellikle pestisit ve polisiklik aromatik bileşikler gibi çevresel kirleticilerin etkisinin belirlenmesi için biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir. Elde edilen bulgular, bu bileşiklerin indirgenmesinde enzimatik reaksiyonların önemli bir rolü olabileceğine işaret edebilir. Diğer taraftan birinci basamak biyotransformasyon aşamasında da önemli biyobelirteç olarak P450 enzim sisteminin de daha ileri araştırmalarda biyobelirteç olarak kullanılması, bu boyar maddeler için *B. viridis*'de biyotransformasyon reaksiyonlarının daha iyi aydınlatılmasına yardımcı olabilir.

Literatüre göre, bu boya organizmalar üzerinde toksik etkileri hakkında bilgile çok sınırlıdır. Bu nedenle, kurbağa iribaşları üzerine ya da diğer sucul organizmalara etkileri ile ilgili bir çalışmaya yapılan literatür araştırmalarında rastlanamamıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular Astrazon grubu boya sucul organizmalarda toksik etkilerinin saptanması bakımından da önemli katkılar sağlamıştır. Bununla birlikte, bu maddelerin toksik etkilerinin daha iyi aydınlatılabilmesi için ayrıntılı başka çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Araştırmada 24, 72 ve 168 saat astrazon boyasına maruz bırakılan 20. ve 24. gelişim evrelerindeki kurbağa iribaşlarına etkisiz en yüksek konsantrasyon (NOEC) ve etkili en düşük konsantrasyon (LOEC) değerleri de saptanmıştır. Araştırma sonucunda astrazon mavisinin NOEC ve LOEC değerleri en düşük ve astrazon kırmızının NOEC ve LOEC değerleri en yüksek değerler olarak saptanmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen NOEC değerleri amfibilerin sucul ekosistemde tolere edebilecekleri maksimum astrazon boya konsantrasyonlarını saptamak bakımından da önem taşımaktadır. Bu türde bir araştırma literatür kayıtlarına göre yurdumuzda bugüne kadar ilk kez gerçekleştirilmiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde EPA, çevresel kirleticilerin risk etkisinin saptanması görevini üstlenmiş bir kurumdur. Avrupa'da bu görev çeşitli kurumlar tarafından üstlenilmiştir. Buna karşın yurdumuzda bu tipte çalışmaların yürütülmesi görevi herhangi bir kuruma verilmemiştir. Ayrıca yurdumuzda yürütülen çeşitli toksisite çalışmalarında ilk kez bu araştırma ile NOEC ve LOEC düzeylerinin bir grup kimyasal madde ile saptanması amaçlanmıştır. Bu nedenle de bulgularımız önem taşımaktadır.

U.S. EPA'nın hazırladığı bir rapora göre çeşitli kimyasal maddelerin ve toksik bileşiklerin test edilmesi amacıyla kurbağa iribaşlarının kullanılması, sucul ekosistemde yaşayan organizmalara bu maddelerin etkisinin saptanması bakımından önemlidir [117]. Schuytema vd. [118] çevresel kirlenmenin etkilerini göstermek için iribaşların duyarlı organizmalar olduğunu, özellikle iki yaşam döngüsü nedeniyle hem karasal hem de sucul çevrede kirliliğin saptanması yönünde amfibilerin önem taşıdığını vurgulamaktadır. Bu araştırma sonucuna göre de *Bufo viridis* iribaşlarının çevresel kirliliğe yol açan boyar maddelerin etkilerini göstermek bakımından kullanışlı organizmalar olabileceği saptanmıştır.

Seçilen test organizması olan *B. viridis*'in yurdumuzda kozmopolit bir tür olması, bu organizmada saptanan etkili boya konsantrasyonu düzeylerinin ekosisteme bu boyayı içeren atık suların deşarj edilmesinin olası sonuçlarını göstermesi bakımından da büyük önem taşımaktadır. Balıklar üzerinde yapılan toksisite çalışmalarına bağlı olarak, çeşitli boyar maddelerin sudaki konsantrasyonun 100 mg/L düzeyinde bulunduğu toksik etkiye yol açmadığı bildirilmektedir[119]. Bununla birlikte, bu araştırma sonuçlarına göre, test edilen astrazon boyalarının tümünün bu değerin altında ki konsantrasyonlar da iribaşların %100'ünün ölümüne yol açması ve LC50 değerinin oldukça düşük olması nedeniyle yüksek bir toksik etkiye sahip olduğu ifade edilebilir. Ancak, alıcı ortamın su kapasitesine bağlı olarak boyar madde konsantrasyonu ortamda azaldığından, bu toksik etkinin kısa süre içerisinde gözlenebilmesi ekosistemde oldukça güç olmaktadır. Brown [119] tarafından yapılan bir çalışmada iki farklı konsantrasyonda boyar madde etkisine 8 hafta süre ile maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında maddenin önemli bir biyolojik birikim göstermediği ve toksik etkiye yol açmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, sucul organizmalarda kronik toksik etkinin akut etki ile karşılaştırıldığında, çok düşük konsantrasyonlarda ortaya çıktığı da rapor edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda elde edilen akut toksisite değerlerinin alıcı ortama sanayiden verilen toksik maddelerin birikimine bağlı olarak çok daha yüksek risk taşıdığını da ifade edebiliriz. Çünkü çalışmada *B. viridis* için elde edilen akut toksisite değerleri, toksik maddelerin doz-yanıt ilişkisine bağlı olarak sınıflandırılmasında bu organizmalar için yüksek riskli maddeler sınıfına dahil edilmesi gerektiğine işaret etmektedir. Ayrıca NOEC ve LOEC değerlerinin birbirine oldukça yakın olarak bulunması ekosistemde bu organizmaları olumsuz yönde etkileyen toksik madde konsantrasyonunun sınırının birbirine çok yakın olduğunu ifade etmektedir. Bu nedenle deneysel olarak laboratuvar koşullarında saptanan NOEC değerleri doğada

çeşitli çevresel faktörlere bağlı olarak organizmayı olumsuz yönde etkileyen toksik konsantrasyon haline dönüşebilir.

B. viridis'in gelişimsel periyodunun tamamlanması ve organizmanın eşeyssel olgunluğa erişimi için yaklaşık 2 yıl bir süre geçmesi gerektiği göz önünde alınacak olursa, yumurtadan ergine gelişinceye kadar organizmanın ekosistem içinde toksik boyar maddeye maruz kalma olasılığı arttırmaktadır. Bu nedenle ekosistemde bu türün alıcı ortamdaki boyar madde kontaminasyonuna bağlı olarak göstereceği toleransın saptanması önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, test edilen astrazon boyaalarının *B. viridis* iribaşları için yüksek toksik etkiye sahip bileşikler olduğunu ve doğal alıcı ortamlara arıtıma ya da yıkıma uğratılmaksızın deşarj edilmesinin ekosistem dengeleri açısından büyük bir risk yaratabileceğini ifade edebiliriz.



6. KAYNAKLAR

- [1] M. Kışlalıoğlu, F. Berkes, *Ekoloji ve Çevre Bilimleri*, Remzi Kitabevi A.Ş., İstanbul, 1994, p.14
- [2] F. Doğan, *Uygulamalı Çevre Bilimi ve Çevre Epidemiyolojisi*, İstanbul, 1998.
- [3] A. Kocataş, *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*, Ege Üniversitesi Basım Evi, İzmir, 1994, p.25
- [4] Ö.İ. Kaboğlu, Çevre Hakkı, 1. Ulusal Kültür Kongresi "Demokrasi Kültürü ve Globalleşme", 3-5 Kasım, İzmir, 1997.
- [5] W.G. Landis, Ming-Ho Yu, *Introduction to Environmental Toxicology*, Lewis Publishers, Florida, 1999, p11.
- [6] J.R.M. Willets and N.J. Ashbolt, *Understanding anaerobic decolouration of textile dye wastewater: mechanism and kinetics. Water Science and Technology.*, 2000, 42 (1)-2 pp 409-415.
- [7] R.K. Somashekar, M.R. Gurudev and Sidda Ramiah, *Somatic Cell Abnormalities Induced by Dye Manufacturing Industry Waste Water. Cytologia.*, 1985,50: 129-134.
- [8] J.B. Mudd, and T.T. Kozlowaski, *Responses of Plants to Air Pollution*, Academic Press, London, 1975.
- [9] B.Glover, *Getting rid of colour, J. Soc. Dyers Col.*, 1993, 109: 273.
- [10] P.G. Tratnyek, M.S. Elovitz and P. Colverson, *Photoeffects of textile Dye Wastewaters: Sensitization of Singlet Oxygen Formation, Oxidation of Phenols and Toxicity to Bacteria, Environ. Toxicol. Chem.*,1994, 13: 27-33.
- [11] M. K. Sharma, R. C. Sobti, *Rec effect of certain textile dyes in Bacillus subtilis, Mutation Research*, 2000, 465: 27-38
- [12] M.H. Nielsen, J. Rank, *Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the Allium test, Hereditas*, 1994, 121: 249-254.
- [13] P. Ander et al., *Studies on mutagenic properties of bleaching effluent, Sven. Papperstidn*, 1977, 80: 456-459.
- [14] K.E. Eriksson et al., *Studies on mutagenic properties of bleaching effluent, Part 2. Sven. Papperstidn*, 1979, 82: 95-100.
- [15] U. Rannug et al., *Mutagenic effects of effluents from chlorine bleaching of pulp, J. Toxicol. Environ. Health*, 1981, 7: 33-47.
- [16] L.J. McGeorge et al., *Mutagenicity analyses of industrial effluent: Results and considerations for integration into water pollution control programs. In: Short-Term Bioassays in the Analysis of Complex Environ. Mixtures IV(Eds.)*, Plenum Press, New York, 1985, p. 247-268.
- [17] C.D. Metcalfe et al., *Genotoxic activity of particulate material in petroleum refinery effluent, Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1985, 35: 240-248.
- [18] S.K. Somashekar, *Metaiotic adnormalities induced by dye industry waste water in Chlorophytum amaniense Engler. Cytologia*, 1987, 52: 647-652.
- [19] M.A. Van Der Gaag et al., "Methods to measure genotoxins in wastewater". Evaluation with in vivo and in vitro tests, In: *Genetic Toxicology of Copmlex Mixtures* (eds M.D. Waters et al.), Plemun Press, New York, 1990, p. 215-232.
- [20] J.U. Doerger et al., *Toxicity reduction evaluation at a munipical wastewater treatment plant using mutagenicity as an endpoint, Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1992, 22: 384-388.
- [21] V.S. Houk, *The genotoxicity of industrial wastes and effluents, Mutat. Res.*, 1992, 277: 91-138.

- [22] J. Rank and M.H. Nielsen, *A modified Allium test as a tool in the screening of genotoxicity of complex mixtures*, **Hereditas**, (1993, 118: 49-53.
- [23] *Pollution Prevention in The Dye Manufacturing Industry*, U.S. Dye Manufacturers Operating Committee of ETAD, October 1994.
- [24] H. Zollinger, *Color chemistry-syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments*. **VCH Publications**, New York, N.Y. 1991.
- [25] *Industrial Organic Chemicals*, Manufacturers-Industry Series, Census Bureau, Department of Commerce, 1992
- [26] T.J.Spadaro, et al., *Hydroxyl radical mediated degradation of azo dyes: evidence for benzene generation*, **Environ. Sci. Technol.**, 1994, 28:1389-1393.
- [27] H. Zollinger, *Color Chemistry: Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. **VCH Publications**, New York, 1987, pp. 92-100.
- [28] R.J.M. Willetts, N.J.Ashbolt, vd., *The use of a thermophilic anaerobic system for pretreatment of textile dye wastewater*, **Water Science and Technology**, 2000, 42: 309-316.
- [29] P. Cooper, *Removing colour from dyehouse waste waters – a critical review of technology available*, **J. Soc. Dyers Col.**, 1993, 109: 97-100.
- [30] S.F.Dubrow, et al., *Chemical Pretreatment and Aerobic- Anaerobic Degredation of Textile Dye Wastewater*. In: *Environmental Chemistry of Dyes and Pigments*, A. Reife and H.S. Freeman (eds.), John Wiley & Sons, Inc., 1996.
- [31] Pierce, J., *Colour in textile effluents-the origins of the problem*, **J. Soc. Dyers Colourists**, 1994, 110: 131-134.
- [32] U. Pagga, and D. Brown, *The degradation of dyestuffs. II. Behavior of dyestuffs in aerobic biodegradation tests*, **Chemosphere**, 1986, 15: 479-491.
- [33] G.M . Shaul vd., *Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process*, **Chemosphere**, 1991, 22: 107-119.
- [34] T. Robinson, et al., *Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative*, **Bioresource Technology**, 2001, 77: 247-255.
- [35] Willis W. Mathews, *Atlas of Descriptive Embryology*, Collier Macmillan Publishers, London, 1982, p. 31- 80.
- [36] J. Freda, & W. A.Dunson, (1985a) *Field and laboratory studies of ion balance and growth rates of ranid tadpoles chronically exposed to low pH*. *Copeia* 1985, 415-423.
- [37] C.M. Chen, M.L. Shih, S.Z Lee, J.S.Wang, *Increased toxicity of textile effluents by a chlorination process using sodium hypochlorita*, **Water Science and Technology**, 2001, 43(2): 1-8.
- [38] I. Sohair, Abo-Elela and R.Sh. Abdel Wahaab, *Fish Toxicity Bioassay of Textile Wastewaters Using Nile Bulti*, **Environmental Technology Letters**, 1988, 9: 1147-1152.
- [39] L. Fishbein, *Mutagens and potential mutagens in the biosphere*, **Sci. Tot. Environ.**, 1974, 2: 341-379.
- [40] R. Laing, *The impact of effluent regulations on the dyeing industry*, **Rev. Prog. Coloration.**, 1991, 21: 56-71.
- [41] I.M. Banat, P. Nigam, D.Singh, and R. Marchant, *Microbial decolourisation of textile-dye-containing effluents: A Review*. **Bioresource Technology**, 1996, 58: 217-227.
- [42] V. M. Correia, T. Stephenson and S. J. Judd, *Characterization of textile wastewaters: a review*, **Environ. Technol.**, 1994, 15:917-919.

- [43] P.G. Tratnyek, vd, *Photoeffects of Textile Dye Wastewaters: Sensitization of Singlet Oxygen Formation, Oxidation of Phenols and Toxicity to Bacteria*, **Environmental Toxicology and Chemistry**, 1994, 13: 27-33.
- [44] G. Ciardelli, and N. Ranieri, *The Treatment and Wastewater in the Textile Industry by Means of Ozonation and Electroflocculation*, **Pergamon, Wat. Res.**, 2000, 35: 2, 567-572.
- [45] A. Elias, et al., *Decolorization and Detoxification of Textile Dyers with a Laccase from *Trameters hirsuta**, **Applied and Environ. Microbiology**, 2000, 3357-3362.
- [46] S. Sumathi and B.S. Manju, *Uptake of reactive textile dyers by *Aspergillus foetidus**, **Enzyme and Microbial Technology**, 2000, 27: 347-355.
- [47] S.F. Zakrzewski, in: *Principles of Environmental Toxicology*, American Chemical Society, Washington, DC, 1991.
- [48] K.S. Rao, S. Shrivastava, S. Dhanobar, *Acute toxicity of reactive textile dyes to eggs and early life history stages of *Cyprinus carpio**, **Geobios**, 1988, 15(2/3): 111-113.
- [49] S.E. Law, *Electric discharge generated ozone and its beneficial agricultural/biological applications*. ESA'95, 23rd Annual Conference, University of Rochester, NY., 1995
- [50] J.C. Su, J.J.Horton, *Allergic contact dermatitis from azo dyes*, **Australas. J. Dermatol.**, 1988, 39:(1) 48-49.
- [51] G.L. Nikulina, D.N. Deveikis, G. Pyshnov, *Toxicity dynamics of anionic dyes in air of a work place and long term effects after absorption through skin*, **Med. Tr. Prom. Ekol.**, 1995, 6: 25-28.
- [52] R.H. Jaskot, D.L. Costa, *Toxicity of an anthraquinone violet dye mixture following inhalation exposure, intratracheal instillation gavage*, **Funham. Appl. Toxicol.**, 1994, 103: 22 -112.
- [53] W.C. Eastin, M.R. Elwell, S. Grumbein, J.H. Yuan, *Effects of D and C yellow No. 11 ingestion on F344/N rats and B6C3F1 mice*, **J. Toxicol. Environ. Health**, 1996, 48: 197-213.
- [54] B. Ballantyne, *Pulmonary alveolar phospholipoproteinosis induced by Orasol Navy blue dust*, **Hum. Exp. Toxicol.**, 1994, 13: 694-699.
- [55] B. Przybojewska, *An evaluation of the genotoxic properties of some chosen dyes using the micronucleus test in vivo*, **Mutat. Res.**, 1996, 367: 93-97.
- [56] H.L. Ng, S. Araki, T. Tanigawa, S. Sakurai, *Selective decrease of the suppresser-inducer T-lymphocytes workers exposed to benzidine and beta-naphthylamine*, **Arc. Environ. Health**, 1995, 50: 109-196.
- [57] A. Dipple, C.A.H. Bigger, *Mechanism of action of food associated polycyclic aromatic hydrocarbon carcinogens*, **Mutat. Res.**, 1991, 259: 263-276
- [58] W. Lijinsky, *The formation and occurrence of polynuclear aromatic hydrocarbons associated with food*, **Mutat. Res.**, 1991, 259: 251-261.
- [59] R.E. Gosselin, R.P. Smith, H.C. Hodge. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984., p.II-385
- [60] W.M. Grant, *Toxicology of the Eye*. 3rd ed. Springfield, IL: Charles C. Thomas Publisher, 1986. 155
- [61] T.A. Zimina, V.V. Pavlenko; **Genetica**, 1990, 26(12): 2246-9
- [62] S.H. Reynolds, R.M. Patterson, J.H. Mennear, R.R. Maronpot, M.W. Anderson, *ras Gene activation in rat tumors induced by benzidine congeners and derived dyes*, **Cancer Res.**, 1990, 15: 266-272.

- [63] G. Choudhary, *Human health perspectives on environmental exposure to benzidine: a review*, **Chemosphere**, 1996, 32: 267-291.,
- [64] M.J. Ellenhorn, and D.G. Barceloux. *Medical Toxicology-Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1988, 527
- [65] Sax, N.I. *Dangerous Properties of Industrial Materials*. 6th ed. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 1984, 354.
- [66] Beiswenger, (1988). Integrating anuran amphibian species into environmental assessment programs. U.S. Forest Service. Gen Tech. Rep. RM-166:159-165
- [67] G. S. Schuytema, A. V. Nebeker, L. Griffis, and Karsten N. Wilson., *Teratogenesis, Toxicity and Bioconcentration in Frogs Exposed to Dieldrin*, **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**., 1991, 21:332-350.
- [68] R.J. Hall, and D. Swineford, *Toxic effects of endrin and toxaphene on the southern leopard frog *Rana sphenoccephala**. **Environ. Pollut.**, 1980, Ser A 23: 53-65
- [69] G. Greenhouse, *The evaluation of toxic effects of chemicals in fresh water by using frog embryos and larvae*. **Environ Pollut.**, 1976, 11:303-315.
- [70] L. Ferrari, Equilibrio hidromineral de larvas de *Bufo arenarum*: Respuestas compensatorias al "stress" osmótico y al cadmio. Doctoral Dissertation. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires., 1995
- [71] J. Devilles, and J.M. Exbrayat, *Handbooks of Ecotoxicological Data. Ecotoxicity of Chemicals to amphibians*, Vol. I, Gordon & Breach Science Publishers, Great Britain, 1992.
- [72] D.G. McDonald, J.L. Ozog, & B.P. Simons, *The influence of low pH environments on ion regulation in the larval stages of the anuran amphibian (*Rana clamitans*)*. **Can. J. Zool.**, 1984, 62: 2171-2177.
- [73] J. Freda & W.A. Dunson., (1985b) Field and laboratory studies of ion balance and growth rates of ranid tadpoles chronically exposed to low pH. *Copeia* 1985, 415-423.
- [74] M. Linnenbach, R. Marthaler & H. Gebhardt, Effects of acid water on gills and epidermis in brown trout (*Salmo trutta* L.). In: *Ecophysiology of Acid Stress in Aquatic Organisms* (Eds H. Witters & O. Vanderborcht), 1987, pp. 365-374. *Ann. Soc. R. Zool. Belg.* 117, Suppl. 1.
- [75] C.P. Cummins, *Effects of aluminium and low pH on growth and development in *Rana temporaria* tadpoles.*, **Oecologia**, 1986, 69: 248-252.
- [76] F.L. Mayer, M.R. Ellersieck, Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. Resource Publication 160. U.S. Dept. Interior. Fish and Wildlife Service. Washington, DC, 1986
- [77] D.J. Ecobichon, *The Basis of Toxicity Testing (2nd Edition)*, CRC Press, New York, 1997, p.220.
- [78] U.S. Environmental Protection Agency, *Ecological Effects Test Guidelines : OPPT 850, 1800. Tadpole / Sediment Subchronic Toxicity Test*, 1996, EPA 712-C-96-132.
- [79] M.J.M. Wells, A.J. Rossano and E.C. Roberts, *Textile wastewater effluent toxicity identification evaluation*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 1994, 27: 555-560.

- [80] P.A. Dinnel, and Q.J. Stober, *Application of sea urchin sperm bioassay to sewage treatment efficiency and toxicity in marine water*, **Mar. Environ. Res.**, 1987, 21(1): 121-133.
- [81] M. Moller, L.H. Landmerk, A. Bjorseth, L. Renberg, *Characterization of industrial aqueous discharge by the TLC/Ames assay*, **Chemosphere**, 1984, 13: 871-879.
- [82] K. Hayakawa, V. Kawaguchi, T. Murahashi, M. Miyazaki, *Distribution of nitropyrenes and mutagenicity in air borne particulates collected with Andersen Sampler*, **Mutat. Res.**, 1995, 348: 57-61.
- [83] T.P. Cameron, T.J. Hughes, P.E. Kirby, V.A. Fung, V.C. Dunkel, *Mutagenic activity of 27 dyes and related chemicals in the Salmonella microsome and mouse lymphoma TK+/ assays*, **Mutat. Res.**, 1987, 189: 223-261.
- [84] D.L. Morgan, J.K. Dunnick, T. Goehl, M.P. Jokinen, H.B. Matthews, E. Zeiger, J.H. Mennear, *Summary of the National toxicology program benzidine dye initiative*, **Environ. Health Perspect.**, 1994, 102: 63-78.
- [85] I.A. Palagina, D.N. Deveikis, N.A. Vashchuk, G.L. Kaliuzhnyi, *The detection of genotoxic and mutagenic activities of disperse azo dyes for their hygienic standardization*, **Med. Tr. Prom. Ekol.**, 1995, 5: 12-15.
- [86] J. Palus, *Unscheduled DNA synthesis induced by Azo-dyes in primary rat hepatocyte using bromodooxyuridine density shift method*, **Mutat. Res.**, 1995, 335: 80.
- [87] S.Simi, S. Morelli, P.G. Gervasi, G. Rainaldi, *Clastogenicity of anthraquinones in V79 and three derived cell lines expressing P450 enzymes*, **Mutat. Res.**, 1995, 347: 151-156.
- [88] J.P. Brown, G.W. Roehm, R.J. Brown, *Mutagenicity testing of certified food colors and related azo, xanthene and triphenyl methane dyes with the and triphenyl methane dyes with the Salmonella / microsome system*, **Mutat. Res.**, 1978, 56:249-271.
- [89] Y. Mori, T. Niwa, K. Tyoshi, K. Hirano, M. Suguira, *Mutagenesis in Salmonella after metabolic activation of carcinogenic azo dyes and their isomers by liver S9 from rats, mice and hamsters*, **Mutat. Res.**, 1983, 56: 95-102.
- [90] K.T. Chung, C.E. Fulk, A.W. Andrews, *Mutagenicity testing of some commonly used dyes*, **Appl. Environ. Microbiol.**, 1981, 42: 641-649.
- [91] P. Grefory, *Azo dyes: Structure carcinogenicity relationship*, **Dyes Pigm.**, 1986, 7: 45-56.
- [92] L. Arcand-Hoy and C.D. Metcalfe, *Biomarkers of Exposure of Brown Bullheads (Ameiurus nebulosussu) to Contaminants in the Lower Great Lakes. North America*. **Environ. Contam. Toxicol.**, 1999, 18:740-749.
- [93] F.J. Leinweber, *Possible physiological roles of carboxylic ester hydrolases*, **Drug Metab. Rev.**, 1987, 18: 379-439.
- [94] M.G. Barron, K.A. Charron, W.T. Stott, et al., *Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout*, **Environ. Toxicol. And Chem.**, 1999, 18(11): 2506-2511.
- [95] C.A. Rogers, D.L. Stalling, *Dynamic of an ester of 2,4-D in organs of three fish species*, **Weed Sci.**, 1972, 20: 101-105.
- [96] M.G. Barron, P.W. Albro, W.L. Hayton, *Biotransformation of di-2- ethylhexyl phthalate by rainbow trout*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 1995, 14: 873-876.
- [97] J.S. Boone, J.E. Chambers, *Time course of inhibition of cholinesterase and aliesterase activities, and nonprotein sulhydryl levels following exposure to organophosphous insecticides in mosquito fish (Gambusia affinis)*, **Fundam. Appl. Toxicol.**, 1996, 29:202-207.

- [98] R. Abas, W.L. Hayton, *A physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic model for paraoxon in rainbow trout*, **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 1996, 145: 192-201.
- [99] M. Petrivalsky, M. Machala, K. Nezveda, V. Piacka, Z. Svobodano and P. Drabek, 1997, *Glutathion-Dependent Detoxifying Enzymes in rainbow Trout Liver: Search for Specific Biochemical Markers of Chemical Stress*. **Environ Toxicol. Chem.**, 16: 1417-1421.
- [100] S.G. George, 1994, *Enzymology and Molecular Biology of Phase II Xenobiotic Conjugating Enzymes in Fish*, IN: D.C. Malins and G.K. Ostrader (eds.), **Aquatic Toxicology**, Lewis Pub., Boca Raton, FL, USA, pp. 37-85.
- [101] S.M. Al-Ghais, 1997, *Species variation and some Properties of Renal Glutathion S-Transferase of Fish*, **Aquat. Toxicol.**, 24: 1-20.
- [102] T.K. Collier and U. Varanasi, 1991, *Hepatic Activities of Xenobiotic Enzymes and Biliary Levels of Xenobiotics in English Sole (Parophrys vetulus) Exposed to Environmental Conaminants.*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 20: 462-473.
- [103] S. Ramchandani, M. Das, S.K. Khanna, *Effect of metanil yellow Orange II and their blend on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in rats*, **Fd. Chem. Toxic.**, 1994, 32(6): 559-563
- [104] R. L. Singh, S. K. Khanna, G. B. Singh, *Acute and short-term toxicity studies on Orange II*, **Vet. Hum. Toxicol.**, 1987, 29(4): 300-303
- [105] W. K. Walthall, J. D. Stark, *The acute and chronic toxicity of two xanthene dyes, fluorescein sodium salt and phloxine B, to Daphnia pulex*, **Environmental Pollution**, 1999, 104: 207-215
- [106] A.G. Murugesan, M. A. Haniffa, *Histopathological and histochemical changes in the oocytes of the air-breathing fish Heteropneustes fossilis (bloch) exposed to textile- mill effluent*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 1992, 48: 929-936
- [107] M. Sumathi, K. Kalaiselvi, M. Palanivel, P. Rajaguru, *Genotoxicity of textile dye effluent on fish (Cyprinus carpio) measured using the comet assay*, **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 2001, 66: 407-414.
- [108] P. Rajaguru, L.J. Fairbairn, J. Ashby, M.A. Willington, S. Turner, L.A. Woolford, N. Chinnasamy, J.A. Rafferty, *Genotoxicity studies on the azo dye Direct Red 2 using the in vivo mouse bone marrow micronucleus test*, **Mutat. Res.**, 1999, 444: 175-180
- [109] G. Ekmekçi, et al., *Sarıyar Baraj Gölü Besleyen Akarsularda Kirliliğin Balıklara Etkileri, Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi*, 2000, Proje no: Tübitak, Tarp-1846, p:29
- [110] M. Chivukula and V. Renganathan, *Phenolic Azo Dye Oxidation by Laccase from Pyricularia oryzae*, **Appl., and Environ. Microbiology**, Dec. 1995, p.4374-4377
- [111] J.M. Bollag, et al., 1998, *Laccasemediated detoxification of phenolic compounds*, **Appl. Environ. Microbiol.**, 54: 3086-3091
- [112] G. Shaul, et al., 1991, *Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process*, **Chemosphere**, 22: 107-119
- [113] T.A. Zimina, V.V. Pavlenko; *Genetica* 26 (12) : 2246-9 **PEER REVIEWED**
- [114] U. Meyer, 1981, *Biodegradation of Synthetic Organic Colorant*. **FEMS Symp.** 12:371-385.
- [115] O.Yesilada, et al., 2002, *Decolourisation of the textile dye Astrazon Red FBL by Funalia trogii pellets*, **Bioresource Tech.** 81: 155-157

- [116] Bray and Siard, 1982, *Correlation among the changes in the levels of thyroid hormones, thyrotropin-releasing hormone during the development of Xenopus laevis*, **Exp. Cell Biol.**, 50:101
- [117] EPA, 1996 : Ecological Effects Test Guidelines, OPPTS 850. 1800 Tadpole/Sediment Subchronic Toxicity Test.
- [118] G.S. Schuytema, vd., 1994, *Toxicity of Guthion and Guthion 2S to Xenopus laevis Embryos*, **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 27:250-255
- [119] D. Brown, 1987, *Effects of Colorants in the Aquatic Environment*, **Ecotox. And Environ. Safety**, 139-147



**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BİBLİYOTEKLERİ MERKEZİ**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ufuk Günay DOĞAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Hekimhan- 04/09/1974
Mesleği ve Durumu : Biyoloji Öğretmeni

EĞİTİM

İlkokul : 30 Ağustos İlkokulu/MALATYA 1981-1986
Ortaokul : Atatürk Ortaokulu/ MALATYA 1986-1989
Lise : Malatya Lisesi/ MALATYA 1989/1992
Lisans : İnönü Üniveritesi, Eğitim Fak., Biyoloji Öğrt. Bölümü/MALATYA 1994-1998
Yüksek Lisans : İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı 1999-2002

BİLİMSEL FAALİYETLER

Poster Çalışması:

Eylül 13-16, 2001 tarihinde İstanbul'da yapılan uluslar arası **EUROTOX 2001** Kongresinde, *Toxicity Bioassay of Astrazon Dyes Using Amphibian Tadpoles*, başlıklı bir poster çalışması kabul edilmiştir. Bu çalışma "September 1st 2001 tarihli *Toxicology Letters*, 408:110" uluslar arası bir dergide yayımlanmıştır.

Verilen seminer:

Seminer Konusu : Toksikite Testleri
Seminer Tarihi : 12 Ocak 2001
Seminer Yeri : Biyoloji Bölümü Seminer Salonu