

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÜYÜK MENDERES HAVZASINDA ÇOKLU BROMLU
BİFENİL KİRLİLİĞİ VE SUCUL SİSTEM CANLILARINDA
PROTEİN OKSİDASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Programı
Yüksek Lisans Tezi

Eczacı Rasih KOCAGÖZ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Hilmi ORHAN

İZMİR
2011

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÜYÜK MENDERES HAVZASINDA ÇOKLU BROMLU
BİFENİL KİRLİLİĞİ VE SUCUL SİSTEM CANLILARINDA
PROTEİN OKSİDASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Programı
Yüksek Lisans Tezi

Eczacı Rasih KOCAGÖZ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Hilmi ORHAN

İZMİR
2011

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç. Dr. Hilmi ORHAN

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Ferzan LERMİOĞLU

Üye : Prof. Dr. Filiz KÜÇÜKSEZGİN

Üye : Doç. Dr. Hande GÜRER ORHAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Lütfiye Sumru SÖZER KARADAĞLI

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 18-01-2011

ÖNSÖZ

Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ferzan Lermioğlu'na teŖekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmalarında katkıları ve desteğinden dolayı tez danışmanım Doç. Dr. Hilmi Orhan'a çok teŖekkür ediyorum. Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hande Gürer Orhan'a, anabilim dalındaki tüm çalışma arkadaşlarıma, deneylerdeki yardımları için Uzm. Ecz. Serra Nuriye İstanbullu, Uzm. Ecz. Melis Karaca ve Biyomüh. Beste Çağdaş'a teŖekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamda analiz ettiğim karaciğer örneklerinin sahada elde edilmesinde Tübitak projesi ekibi içinde anabilim dalı üyelerimiz dışında yer alan Prof. Dr. Okan Özaydın ve Dr. Fatih Perçin'e teŖekkür ediyorum.

Hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir desteğini benden esirgemeyen aileme çok teŖekkür ederim.

Bu tez, 108Y049 nolu TÜBİTAK projesi ve Ege Üniversitesi 09/ECZ/013 no'lu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR	VIII
BÖLÜM I	1
I GİRİŞ ve AMAÇ	1
I.1. GENEL BİLGİLER	5
I.1.1. ALEVLENMEYİ GECİKTİRİCİLER VE ÇEVRESEL KİRLENME	5
I.1.1.1. Bromlu Alevlenmeyi Geciktiriciler	5
I.1.1.2. Çevresel Kirlenme ve Kalıcılık	8
I.1.1.3. Uzun Mesafelere Taşınma ve Yayılma	10
I.1.1.4. Maruziyet ve Toksikite	11
I.1.1.5. Biyolojik Birikim	13
I.1.1.6. Kısıtlamalar ve Yasaklamalar	14
I.1.1.7. Alternatif Bileşikler	15
I.1.2. POLİBROMLU DİFENİL ETERLER	16
I.1.2.1. Gruplandırma ve İsimlendirme	16
I.1.2.2. PBDE'lere Maruziyet	17
I.1.2.3. Kalıcılık ve Biyoakümülyasyon	18
I.1.2.4. PBDE'lerin Toksik Etkileri	20
I.1.2.5. Kalıntı sorunu, ADI ve MRL Sınır Değerleri	22
I.1.2.6. Çevrede Kimyasal ve Biyolojik Parçalanma	24
I.1.3. ANALİZ EDİLEN PBDE TÜREVLERİ	26
I.1.3.1. PBDE 17	26
I.1.3.2. PBDE 66	26
I.1.3.3. PBDE 100.....	27
I.1.4. PBDE'LERİN ÇEVREDE VE CANLI DOKULARDA İZLENMESİ	28
I.1.4.1. Abiyotik Ortamda Çevresel İzleme	28
I.1.4.2. Biyolojik Ortamda Çevresel İzleme	29
I.1.4.3. İnsanda İzleme Çalışmaları	30
I.1.5. BİYOLOJİK OKSİDASYON	31
I.1.5.1. Organizmada Kimyasalların Neden Olduğu Oksidatif Stres	31
I.1.5.2. Hücresel Makromolekül Oksidasyonu	34
I.1.5.3. Protein Oksidasyonu	35
I.1.5.4. Protein Oksidasyonu Belirleme Yöntemleri	36
BÖLÜM II	38
II.1. GEREÇ VE YÖNTEM	38
II.1.1. GEREÇ	38
II.1.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
II.1.1.2. Kullanılan Gereçler	39
II.1.1.3. Kullanılan Çözeltiler	40

II.1.1.3.1. PBDE Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözeltiler.....	40
II.1.1.3.2. Protein Oksidasyonu Deneyinde Kullanılan Çözeltiler	40
II.1.2. YÖNTEMLER	40
II.1.2.1. PBDE Miktar Ölçümünün Analitik Validasyonu Çalışması	40
II.1.2.2. Örnekleme Çalışması	44
II.1.2.3. Karaciğer Dokusunda PBDE Miktar Ölçümü	46
II.1.2.3.1. PBDE Miktar Ölçümü için Standart Çözelti ve Doku Hazırlığı.....	46
II.1.2.3.2. PBDE'lerin Dokudan Ekstraksiyonu	47
II.1.2.3.3. Silika Kolonundan Fraksiyonlandırma ve GC-ECD Ölçümü	47
II.1.2.4. Su Örneklerinde PBDE Miktar Ölçümü.....	47
II.1.2.5. Balık Karaciğer Dokularında Protein Oksidasyonu Ölçümü.....	48
II.1.2.5.1. Protein Oksidasyonu Ölçümü için Karaciğer Dokularının Analize Hazırlanması	48
II.1.2.5.2. Protein Oksidasyonu Ölçümü Deney Prosedürü	48
II.1.2.5.3. Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	49
BÖLÜM III	50
III. BULGULAR	50
III.1. PBDE Miktar Ölçümü Analitik Validasyon Çalışması Bulguları	50
III.2. Balık Karaciğer Dokularında PBDE Miktar Ölçümü Sonuçları.....	53
III.3. Su Örneklerinde PBDE Miktar Ölçüm Sonuçları	58
III.4. Balık Karaciğer Dokularında Protein Oksidasyonu Ölçümü Bulguları	59
III.4.1. Protein Standart Doğrusunun Çizimi	60
BÖLÜM IV	62
IV TARTIŞMA VE SONUÇ	62
ÖZET	70
ABSTRACT	71
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	96

TABLULAR DİZİNİ

Tablo I.1.	2003-2007 yılları arasında, orman yangınları hariç, Türkiye’de meydana gelen yangınlara ait istatistikler.....	1
Tablo I.2.	2006 yılına kadar en fazla üretilen bromlu AG’ler ve kimyasal yapıları ve kullanım yerleri.....	6
Tablo I.3.	Bromlu alevlenmeyi geciktiricilerin 1989-1999 arası üretim miktarları.....	8
Tablo I.4.	UNEP tarafından 2001 yılında tanımlanan <i>Dirty Dosen</i> ve 2009 yılında eklenen PBDE türevlerinin de dâhil olduğu 9 ek madde.....	15
Tablo I.5.	PBDE türevlerinin brom süstitüsyon sayısına göre gruplara dağılımı.....	17
Tablo I.6.	PBDE türevlerinin oktanol-su partisyon katsayısı (Log K_{os}) ve suda çözünürlüğü.....	19
Tablo I.7.	Bazı PBDE türevleri için LD50, LOEL, NOEL/NOAEL, ADI ve MRL Değerleri.....	24
Tablo III.1.	Sazan karaciğer dokusunda PBDE türevleri miktar tayini yönteminin analitik validasyon verileri.....	51
Tablo IV.1.	Tez çalışmasında elde edilen sazan karaciğeri PBDE konsantrasyonlarının literatürde yer alan sazan karaciğer, kas dokusu ve yumurta PBDE konsantrasyonları ile karşılaştırılması.....	66
Tablo IV.2.	Penta türevi PBDE’lerin ADI Değeri ve 3 istasyondan avlanan balıkları tüketmekle günlük maruz kalınabilecek maksimum miktarları.....	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil I.1.	Çok bromlu BAG'lerin çevredeki davranışları.....	9
Şekil I.2.	PBDE'lerin genel formülü ve süstitüsyon pozisyonları.....	16
Şekil I.3.	PBDE ve Tiroid T ₄ hormonunun kimyasal yapıları	20
Şekil I.4.	Serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin hücrel makromoleküller üzerinde etkisi	32
Şekil I.5.	Protein molekülü üzerinde karbonil gruplarının oluşumu, türevlendirilmesi ve spektrofotometrik yöntemle ölçümü.....	37
Şekil II.1.	Büyük Menderes Nehri üzerinde sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) balık örneklemelerinin yapıldığı istasyonları gösteren havza haritası	45
Şekil II.2.	Sahada örnekleme çalışmasında yakalanan bir sazan (A) ve karaciğer dokusunun ayrılması (B).....	45
Şekil III.1.	İlk dönem (Şubat-Nisan 2009) ve ikinci dönem (Temmuz 2009) örneklemede elde edilen sazan karaciğerlerinin dörder gün boyunca analizinde kullanılan kalite kontrol örneklerine ait Shewhart grafikleri.	52
Şekil III.2.	GC-ECD yöntemi ile analiz edilen PBDE türevlerine ait örnek kromatogramlar.....	53
Şekil III.3.	I. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde PBDE türevlerinin konsantrasyon ortalamaları (<i>ng/g yaş doku</i>)	54
Şekil III.4.	II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde PBDE türevlerinin konsantrasyon ortalamaları (<i>ng/g yaş doku</i>).....	55
Şekil III.5.	I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde PBDE-17 konsantrasyon ortalamaları (<i>ng/g yaş doku</i>).	56
Şekil III.6.	I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde PBDE-66 konsantrasyon ortalamaları (<i>ng/g yaş doku</i>).	57
Şekil III.7.	I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde PBDE-100 konsantrasyon ortalamaları (<i>ng/g yaş doku</i>)	58
Şekil III.8.	I. Örnekleme döneminde Söke istasyonlarından elde edilen MSE5 kodlu sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneğinin 250-500 nm dalga boyu aralığında alınmış UV-spektrumu.	59
Şekil III.9.	I. ve II. Örnekleme dönemlerinde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (<i>Cyprinus carpio</i>) karaciğer örneklerinde karşılaştırmalı olarak protein oksidasyonu düzeyleri (<i>nmol/mg protein</i>).	60
Şekil III.10.	Sığır Serum Albümini (BSA) kullanılarak hazırlanan örnek bir protein kalibrasyon doğrusu	61

KISALTMALAR

ADI	Kabul edilebilir günlük alım düzeyi
AG	Alevlenmeyi geciktirici
AR	Androjen reseptörü
ATSDR	Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Dairesi
BAG	Bromlu alevlenmeyi geciktirici
BCF	Biyokonsantrasyon faktörü
BOD	Biyolojik oksijen ihtiyacı
COD	Kimyasal oksijen ihtiyacı
DeBDE	Dekabromlu difenileter
HBCD	Hekzabromosiklododekan
KOK	Kalıcı organik kirletici
LOD	Belirlenebilirlik sınırı
LOQ	Ölçülebilirlik sınırı
MRL	Maksimum kalıntı miktarı
NOAEL	Advers etki gözlenmeyen en yüksek düzey
OECD	Ekonomik İşbirliği ve Gelişim Örgütü
PBB	Polibromlu bifenil
PBDD	Polibromlu dibenzodioksin
PBDE	Polibromlu difenileter
PBDF	Polibromlu dibenzofuran
PKO	Protein karbonili
ROT	Reaktif oksijen türleri
TBBPA	Tetrabromobisfenol A
T ₄	Tiroksin
UDPGT	Üridindifosfoglukronil transferaz
UNEP	Birleşmiş Milletler Çevre Programı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

BÖLÜM I

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Yangınlar ülkemizde her yıl önemli sayıda ölüme ve yaralanmaya neden olmaktadır, aşağıdaki tabloda 2003-2007 yılları arasına ait istatistikler görülmektedir.

Tablo I.1. 2003-2007 yılları arasında, orman yangınları hariç, Türkiye’de meydana gelen yangınlara ait istatistikler (1).

YIL	YANGIN SAYISI	MADDİ ZARAR (Milyon TL)	CAN KAYBI	
			İNSAN	HAYVAN
2003	56.482	564	505	18.819
2004	60.801	99	330	12.191
2005	57.293	116	290	672
2006	81.149	168	349	1.885
2007	94.353	412	358	6.312
TOPLAM	350.078	1.360	1.832	39.879

İstatistiklerin oldukça iyi biçimde kayıt altına alındığı Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) yangın kaynaklı ölüm ve yaralanma sayıları sırasıyla 3,000 ve 20,000’dir (2). Can kayıplarının yanı sıra tabloda görüleceği üzere ülkemizde yangın kaynaklı ekonomik kayıplar da önemli düzeydedir. ABD’nde hesaplanan ekonomik kayıp yıllık 1 milyar Dolar civarındadır. 30 yıl öncesi ile nüfusa orantılı olarak değerlendirildiğinde dünyadaki gelişmiş ülkelerde yangın sayılarında önemli azalmalar görülmektedir. ABD ve diğer gelişmiş Batı ülkelerinde yangın sayılarındaki azalma, kısmen de olsa alevlenme sıcaklığını yükselterek yanmayı zorlaştırmak amaçlı olarak üretilen ve çok çeşitli malzemeye, cihaza ve tüketici ürününe konan alevlenmeyi geciktirici (AG, *flame retardants*; FR) maddelere bağlıdır. Ülkemizde ilk bakışta 2003-2007 arası yangınlarda azalma görülmemesinin

nedenleri şöyle sıralanabilir; ilk olarak bu zaman aralığı 30 yıllık bir sürece göre oldukça kısadır, dolayısıyla 30 yıl öncesine göre yangın sayılarında ülkemizde de bir azalma söz konusudur. İkincisi, ülkemizde sanayileşme ABD ve Batı Avrupa ülkelerine göre daha geriden geldiğinden, AG'lerin kullanımı da daha az yoğunluktadır. Ayrıca sanayiye bağlı olarak çıkan yangın sayıları da nispeten daha azdır. Avrupa ile kıyaslandığında ABD'de elektrikle çalışan araçlar ve mobilya&tekstil ürünlerinin yanmasına bağlı yangın sayılarının daha düşük olması, ABD'de AG maddelerle ilgili yasal düzenlemelerde daha yüksek standartların konmuş olmasına bağlanmaktadır (3). Dolayısıyla bu maddeler hayat kurtarmalarının yanı sıra ekonomik kayıpları da önemli oranda önlemektedirler. Yangınların bu iki önemli olumsuz etkisi yanında sağlık bilimlerini doğrudan ilgilendiren bir başka etkisi, çevremizde kalıcılığı yüksek olan çoklu halojenli dibenzo-*p*-dioksinler ve çoklu halojenli dibenzo-*p*-furanlar gibi kirleticilerin açığa çıkmasına yol açmalarıdır. Dolayısıyla alevlenmeyi geciktirici sentetik maddelerin üretilerek kullanılmasının birbirinden farklı alanlarda oldukça yararlı etkileri söz konusudur. Ancak AG'lerin tüm dünyada yaygın kullanılmaya başlamasıyla birlikte zamanla ne yazık ki bu maddelerin kendilerinin de hem çevre, hem insan sağlığı üzerinde önemli derecede olumsuz etkilere yol açabildikleri fark edilmeye başlanmıştır. Yıllar içerisinde gerçekleştirilen ve halen devam etmekte olan bilimsel araştırmaların sonuçları, AG maddelerin insan ve çevredeki diğer canlıların sağlığı üzerindeki bu olumsuz etkilerinin kimyasal yapılarına, içerdikleri halojenlerin sayısı ve molekül üzerindeki konumlarına bağlı olarak nicel olduğu kadar nitel olarak da farklılaştığını göstermektedir. Bu tez çalışmasının *Genel Bilgiler ve Tartışma* bölümlerinde bu konulara ayrıntılı olarak yer verilmiştir.

İnsan ve çevremizdeki diğer canlıların sağlığı açısından baktığımızda, AG maddelerin bir grubunu oluşturan polibromlu difenileter (PBDE) türevi maddeler, kimyasal yapılarının oldukça dayanıklı olmasının yanı sıra insan ve diğer ekosistem canlılarında potansiyel toksisitelerinin yüksek olması nedeniyle çevresel kirlilik açısından kritik öneme sahiptirler. Çevremize çeşitli yollarla giren bu maddelerin endişe kaynağı olmasının bir başka nedeni, yağda çözünürlükleri çok yüksek olan bu maddelerin biyoakümülyasyona uğramaları ve besin zinciri boyunca üst trofik düzeylere doğru ilerledikçe konsantrasyonlarının artmasıdır. Bunun sonucunda çevreye salınan PBDE miktarı çok düşük de olsa besin zincirinin üst noktasındaki canlıya, bu arada beslenme yoluyla insana da ulaştığında ciddi toksik etkilere neden olacak kadar konsantre olabilmektedir. Dolayısıyla PBDE'ler, çevresel kirliliğe yol açan diğer birçok kimyasal madde grubu gibi, insanlar ve insan dışında diğer ekosistem canlıları gibi iki farklı grupta toksik etkilere neden olmaktadır. Toksikolojinin alt dallarının ikisi, bu iki hedef grup dikkate alınarak tanımlanan "çevresel toksikoloji" ve "ekotoksikoloji"dir (4). Bu iki alt dal pratik nedenlerle birbirinden ayrı gibi görünse de aslında iç içe geçmiş alanlardır; çünkü çevre kalitesinin bozulması dolaylı ya da doğrudan insan sağlığının da bozulmasına yol açmaktadır. Çok daha doğrudan insan sağlığı üzerinde etkili olan diğer neden, PBDE'lerin diğer bazı çevresel kirleticiler gibi çevredeki canlıların dokularında biriktiklerinde bu canlıların insanlar tarafından besin olarak tüketilenleri aracılığıyla konsantre olmuş bir biçimde insana geçmeleridir. Bu besin maddelerinin başında tatlı su ve deniz ürünleri olan balıklar ve diğer tüketilen canlılar gelmektedir. Bu tez çalışmasında insanlar tarafından tüketilen tatlı su ürünlerinden sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) karaciğer dokusunda PBDE türevlerinin miktarları ölçülmüş, ayrıca yine aynı dokuda protein molekülleri üzerinde neden olabilecekleri genel bir

toksik etki olarak oksidatif hasar düzeyleri değerlendirilmiştir. Bu yolla hem ekotoksikolojik olarak sazan balıklarındaki durum araştırılmış, hem insanların bu balıkları tükettiklerinde maruz kalacakları kimyasal madde miktarları belirlenmiş, hem de sazan karaciğerinde PBDE miktarları ile protein oksidasyonu düzeyleri arasındaki korelasyon incelenerek insanlar için de benzer bir toksisite mekanizmasının geçerli olup olmayacağı konusunda veri elde edilmiştir. Bu bileşikler, canlıların yağlı dokularında konsantre olmuş bir şekilde yüksek miktarda insan vucuduna girdiklerinde doğrudan kendileri ve/veya metabolitleri, kimyasal yapılarına ve reaktivitelerine göre farklı toksik etkilere neden olabilmektedirler.

Tez alışması kapsamında araştırılan bir başka konu, balık dokularında PBDE düzeylerinin havza üzerinde bölgesel ve bir yıl içinde dönemsel olarak değişip değişmediğidir. Bu amaçla Büyük Menderes Nehri üzerinde çıkış noktası olan Işıklı Gölü, endüstri kuruluşlarının yoğunlaştığı Sarayköy bölgesi ve nehrin denize döküldüğü delta olmak üzere 3 farklı istasyondan kiş ve ilkbahar dönemleri olmak üzere aynı yıl içinde 2 farklı dönemde örneklemeler yapılmış, PBDE kirliliğinde dönemsel farklılığın yanı sıra olası coğrafi farklılık da araştırılmıştır. Bu tez çalışmasının bir bölümünü oluşturduğu TBTAK projesi kapsamında balıkların kas dokusu düzeylerinin yanı sıra aynı rneklemeye istasyonlarından sağlanmış olan su örneklerinde PBDE türevlerinin yanında diğer önemli çevresel kirleticiler kimyasal grupların da ölçülmesiyle uluslar arası literatürde Büyük Menderes Nehri'ne atfedilen Ege Denizi'nde su kuşları yumurta ve dokularındaki kimyasal kirlilikte (5,6) Büyük Menderes Nehri'nin payı ortaya somut olarak konmuş olacaktır.

I.1. GENEL BİLGİLER

I.1.1. ALEVLENMEYİ GECİKTİRİCİLER VE ÇEVRESEL KİRLENME

I.1.1.1. Bromlu Alevlenmeyi Geciktiriciler

Giriş Bölümü'nde kısmen açıklandığı üzere günlük yaşantımıza giren birçok tüketici ürünü, sentetik polimerlerden oluşmakta ve bu polimerler kimyasal bileşimleri gereği çok kolay alev alabilmektedirler. Ayrıca bu ürünlerin büyük çoğunluğu elektrikle çalışan aletler ya da elektronik devrelere sahip ürünler olduğundan çalışırken ısınmakta ve kritik tutuşma ısısına ulaşarak alev alması daha da kolaylaşmaktadır. Bu büyük yanma riskine karşın bu ürünleri kullanabilmemiz, söz konusu alev alma özelliklerinin azaltılması sayesinde olmaktadır. Alevlenme potansiyelinin azaltılması, "alevlenmeyi geciktiriciler" olarak adlandırılan ve tutuşma sıcaklıkları çok yüksek olan kimyasal maddelerin üretimleri sırasında polimerlere katılması yoluyla sağlanmaktadır. Bu bileşiklerin alev almayı geciktirerek yanmayı zorlaştırma mekanizması, ısının yanma noktasına kadar yükselmesi durumunda AG'lerin polimer yapısından ayrılması ve yanıcı gazların oluşmasını önlemesidir. Yanmanın başlangıcında yüksek enerjili hidrojen ve hidroksil radikalleri oluşur, bu radikaller AG'den aşırı ısınmayla salınan brom tarafından uzaklaştırılır. Böylece AG'ler gaz fazda yer alarak radikal zincir mekanizmasını kimyasal olarak engellerler (7).

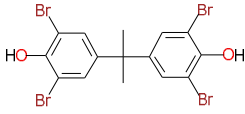
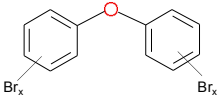
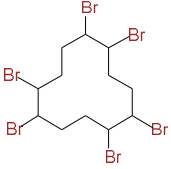
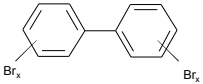
AG'ler kimyasal olarak 4 alt grupta toplanmaktadırlar (8);

1. Halojenlenmiş organik alevlenmeyi geciktiriciler
 - a) Bromlu bileşikler (BFRs; Brominated flame retardants)
 - b) Klorlu bileşikler (PCBs; Polchlorinated biphenyls)
2. Fosfor içeren alevlenmeyi geciktiriciler
3. Azot içeren alevlenmeyi geciktiriciler
4. İnorganik alevlenmeyi geciktiriciler

1.a. Grubunda yer alan BFR türevleri kendi içinde difenil eterler, bromlu bisfenoller, siklododekanlar, fenoller ve fitalik asit türevleri olmak üzere 5 alt gruba ayrılırlar.

Bu tez çalışmasının konusunu oluşturan polibromlu difenil eter türevlerini (PBDE) de içerecek şekilde, üretilen AG'lerin çok büyük çoğunluğunu oluşturan 5 madde grubu Tablo I.2'de gösterilmiştir.

Tablo I.2. 2006 Yılına kadar en fazla üretilen bromlu AG'ler, kimyasal yapıları ve kullanım yerleri (8).

Grup/kimyasal adı	Kimyasal yapı	Kullanım yerleri
Tetrabromobisfenol A (TBBPA)		Bilgisayar, monitör, televizyon, kağıt, tekstil ürünleri
Polibromludifenil eterler (PBDEs)		Mobilya sanayi, plastik, cep telefonları
Hekzabromosiklododekan (HBCD)		İnşaat malzemeleri, halı, arabalarda kullanılan tekstil ürünleri
Polibromlubifeniller (PBBs)		Elektronik cihazlar, elektrik devreleri

Bu 5 grup madde *Dünya Sağlık Örgütü* (WHO) verilerine göre polistiren köpükler ve epoksi reçineler gibi birçok polimere eklenmektedirler (9). Bu polimerler ise bilgisayardan diğer elektronik ürünler ve elektrikli cihazlara, televizyon, tekstil gibi tüketici ürünlerinden izolasyon malzemelerine kadar birçok tüketici ürününün yapısını oluşturduklarından AG'ler günlük yaşantımıza yaygın olarak girmektedirler (7-10). Söz konusu polimerlerin AG amaçlı olarak eklendikleri ürünlere daha ayrıntılı bakacak olursak tekstil ürünlerinden halı, mobilya ve perdelerde, araba sanayinde özellikle koltuklarda, kaportada ve yer döşemelerinde, elektrik ve elektronik cihazlarda, plastik kaplı elektrikli cihazlarda, büro malzemelerinde ve sıcaklık yalıtımı amaçlı kullanılan ürünlerde bulunmaktadır. AG'ler tek başlarına veya karışım halde polimerlere katılırlar. Örneğin kullanılmakta olan ticari penta PBDE % 40 tetra, % 50-60 penta ve % 6 hekza türevi PBDE'leri içermektedir (11). Bu maddelerden PBB türevlerinin üretimleri uzun süre önce durdurulmuştur. Bunun nedeni 1970'li yılların başlarında ABD-Michigan'da bir PBB karışımı olan Firemaster FF-1'in yanlışlıkla hayvan yemlerine karışması sonucu yaygın bir zehirlenme olayı ile bölgedeki hayvan stoklarında önemli azalmaya ve olayın meydana geldiği çiftlik çalışanlarının sağlıkları üzerinde uzun dönemde olumsuz etkilere yol açmasıdır (12). Benzer şekilde geçmişte AG olarak giysilere eklenen tris-BP'nin (tris[2,3-dibromopropil]fosfat) mutajenik ve nefrotoksik olduğunun gösterilmesiyle üretimine son verilmiştir (13,14).

Tablo I.3. Bromlu alevlenmeyi geciktiricilerin 1989-1999 arası üretim miktarları (15).

	Yıllık üretim miktarları (x 1000 ton)		
	1989	1994	1999
Avrupa	28	32.5	30.9
Asya	28.7	38.5	113.9
ABD	50	65	58.7
Toplam	106.7	136	203.5

PBDE'ler, çevrede biyoakümülyasyona ve besin zincirinde biyomagnifikasyona uğramaları ve insan dokuları ve sıvılarında da saptanmaları nedeniyle 2009 yılında Stockholm Sözleşmesi kapsamında *Kalıcı Organik Kirleticiler* grubuna dâhil edilmişlerdir (16).

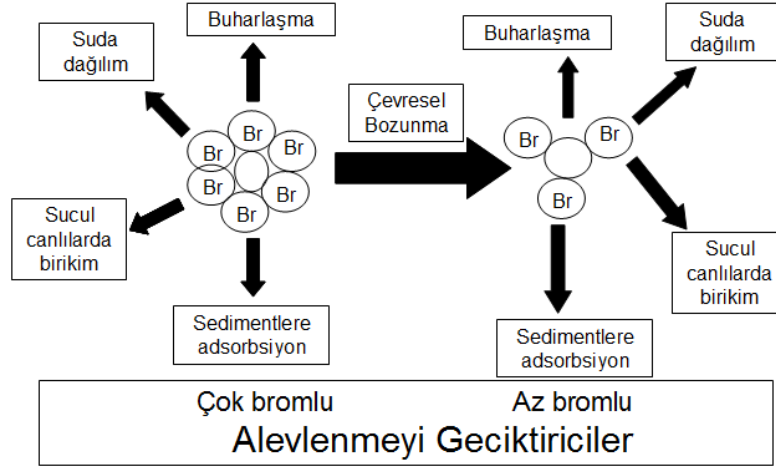
I.1.1.2. Çevresel Kirlenme ve Kalıcılık

1871 yılında ilk sentezlenmelerini takiben yıllar boyunca çok çeşitli ürünlerde kullanılmaları sonucu bromlu AG'ler (BAG) eklendikleri ürünler dışında çevremizde her yerde bulunabilen kirleticiler haline gelmişlerdir (17). Birçok farklı ülkede yapılan araştırmalarda BAG'ler insan ve yabanıl canlı dokularında saptanmıştır. ABD, Kanada, İskandinav ülkeleri, Tayvan ve Japonya gibi coğrafi olarak birbirinde uzak birçok ülkede yapılan çalışmalarda bu maddelere evsel tozlarda, havada, toprakta, yüzey sularında, sedimentlerde ve atık sularda, balık dokularında rastlanmıştır (15,18-24).

BAG'ler kimyasal olarak stabil bileşiklerdir, dolayısıyla degradasyona dayanıklıdırlar. Herhangi bir çevresel kirletici ajanın kalıcılığını belirleyen onun fiziksel, kimyasal ve biyolojik degradasyona dayanıklılığıdır. Kalıcılığın ölçüsü ise

maddenin su, sediment, toprak gibi bulunabileceği çevresel kompartımanlardaki yarılanma ömrüdür.

Japonya’da ve İsveç’te yapılan çalışmalarla BAG’lerin çevredeki davranışları ortaya konmuştur.



Şekil I.1. Çok bromlu BAG’lerin çevredeki davranışları (25).

BAG olarak genellikle benzen halkaları üzerinde fazla sayıda brom taşıyan türevler kullanılmıştır. Bunlar çevrede daha az hareket ederler, çünkü sudaki çözünürlükleri, uçuculukları ve biyoakümüasyonları düşüktür, ayrıca sedimentlere daha kuvvetli adsorbe olurlar. Daha az sayıda brom içeren türevler ise daha uçucudur, suda daha çok çözünürler ve canlı dokularda daha iyi biyoakümü olurlar (26). BAG’ler kimyasal yapı açısından oldukça farklılıklar gösterdikleri gibi (Tablo I.2) kalıcılık açısından da yaygın farklılıklar gösterirler. Örneğin bu gruptaki türevler genel olarak yüksek kalıcılığa sahip olmaların karşın, TBBPA ve HBCD çevrede çok daha çabuk yıkılırlar. TBBPA havada, toprakta ve sedimentte saptanmasına karşın yüksek lipofilik özelliğinden dolayı sularda bulunmaz, hem oksijenli, hem de oksijensiz ortamlarda parçalanır (27, 28), ayrıca ışığa duyarlıdır. TBBPA’nın toprak, su ve sedimentteki yarılanma ömrünün kısa olmasından dolayı canlılarda

bulduğuna ait veriler kısıtlıdır. Jakobsson ve arkadaşları, elektrik teknisyenlerinin serumlarında 1-3.4 *pg/g yağ* TBBPA saptamışlardır (29). Yarılanma ömrü balıklarda 1 günden az, istiridyelerde ise 5 gün civarındadır (30). HBCD'in yarılanma ömrü TBBPA'ya benzerlik gösterir. Havada 3, suda ise ortam koşullarına göre 2-25 günlük yarılanma ömrüne sahiptir. HBCD suda az çözünür daha çok sedimentlerde birikirler. HBCD'nin (α , β ve γ -HBCD olmak üzere) 3 farklı izomeri vardır. Sedimentlerde genellikle γ -HBCD bulunur, lağım atıklarında ise her üç izomere de rastlamak mümkündür (31).

Çevrede genellikle tetraBDE türevlerine rastlanmaktadır (PBDE alt grupları, I.1.2. "POLİBROMLU DİFENİL ETERLER" bölümünde açıklanmıştır). Bunun nedeni fazla bromluların az bromlulara degrade olması olabilir. Salınımı ve akümülyasyonları devam eden çok bromlu PBDE türevleri yavaşça bozunurlar. Sonuç olarak da çevreye daha az bromlanmış PBDE türevlerinin miktarının artmasına neden olurlar (32-34).

I.1.1.3. Uzun Mesafelere Taşınım ve Yayılma

Yapılan çalışmalar bizlere, BAG'lerin üretildikleri ve/veya kullanıldıkları yerlerden çok uzaklara taşınabildiklerini, çevrede ve insan dokularında BAG'lerin konsantrasyonlarının hızlı bir şekilde artmasıyla göstermektedir (35). TBBPA üretildiği alana yakın hava örneklerinde 1.8 $\mu\text{g} /\text{m}^3$ düzeyinde saptanmıştır (36). Japonya'da ise toprakta ve sedimentte 0.5-150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *kuru ağırlık* aralığında saptanmıştır (37,38).

PBDE'ler ve HBCD, Kuzey Kutbu'ndan alınan hava örneklerinde ve derin denizlerde yaşayan memeli hayvanlarda bile saptanmıştır. Bu durum, bu alanlarda hiçbir üretim olmamasına karşın BAG'lerin ne kadar uzun mesafelere kadar yayılabildiklerinin kanıtıdır (15,21).

BAG'lerin canlı dokulara girerek yaşam döngüsüne katılmaları, onların çevrede yaygın bir dağılım göstermelerine neden olmaktadır. Üretimleri sırasında fabrikalardan çevreye salınabilmekte, ayrıca kullanıldıkları ürünlerden doğrudan buharlaşarak, ürünün yıkanmasıyla ya da ısınması sonucunda da yayılabilmektedirler. Son olarak çöplerin yakılması ve/veya geri dönüşümleri sırasında da çevreye girerler (19,21).

Birçok BAG yüksek lipofilisiteye sahiptir, ayrıca partiküllere bağlanma eğilimindedir. Bu nedenle sedimentte ve atmosferdeki partiküllerde ölçülen miktarları, yüzey sularından genelde daha yüksek çıkmaktadır. Partiküllere iyi bağlanmaları, hava yoluyla çok uzak mesafelere taşınmalarını ve yaygın dağılım göstermelerini açıklamaktadır (18).

2007-2008 yıllarında Çin'de yapılan bir çalışmada, PBDE üreten fabrikaya 200 m uzaklıktaki nehirden sağlanan balıkların kas, karaciğer ve yumurtalarında birçok PBDE türevi saptanmıştır. Buna karşın aynı bölgeden sağlanan sediment örneklerinde yine bazı türevlere rastlanmasına rağmen bu miktarlar ölçülebilirlik sınır değerinin (LOQ) altında bulunmuştur (39).

I.1.1.4. Maruziyet ve Toksikite

Çok yakın bir geçmişe kadar BAG'lerin tüm dünyada yaygın üretilmeleri ve çok çeşitli ürünlerde kullanılmaları, insanların ve çevredeki canlıların bu kimyasallara yoğun olarak maruz kalmasına neden olmuştur. İnsanların BAG'lere maruziyeti daha önce bahsedildiği gibi kontamine yiyeceklerle ve inhalasyonla olabilir. Solunum yolu ile maruziyet incelendiğinde BAG'lerin buldukları tüketim ürünlerinden buharlaşarak veya toz partiküllere adsorbe olarak atmosferik

kompartımana geçtikleri ve her iki durumda insanlar tarafından solunarak ya da yutularak vücuda girdikleri görülmektedir (22,40).

Mesleki maruziyet de söz konusudur; elektronik ve bilgisayar sanayinde alışanlarda BAG'lere mesleki maruziyet gösterilmiştir (19). Elektroniklerin parçalanması sırasında BAG'lerin havaya salındıkları ve çalışanların kanlarında yüksek miktarlarda buldukları belirlenmiştir. Bu çalışmalarda tespit edilen ana türevler dekaBDE ve TBBPA'dır (41).

İnsanlar BAG'lere daha çok kontamine et ve balık ürünlerinin ve bitkisel yağların tüketilmesiyle maruz kalmaktadır. Amerika'da marketten alınan balıklarda yapılan bir çalışmada PBDE miktarı $8.5-3078 \text{ pg/g yaş doku}$ olarak saptanmıştır (42). İsveç'teki bir çalışmada ise balıklarda saptanan HBCD miktarları $6.7-51 \text{ ng/g yaş}$ olarak belirlenmiştir (21). İ mekanlardan toplanan tozlarda yapılan analizlerde PBB, HBCD, TBBPA ve birçok PBDE türevleri saptanmıştır (29,43-47). Ev ve işyeri ortamı havasında saptanan bu miktarlar, insan maruziyeti açısından doğrudan bir kaynak oluşturmaktadır.

Yapılan alışmalarda BFR'lerin beyin gelişimini olumsuz etkiledikleri belirlenmiştir (48). Ayrıca kemirici deneylerinde PBDE'lerin ve HBCD'ın tiroid hormon seviyesini düşürdükleri saptanmıştır (49,50). TBBPA ve HBCD de beyinde dopamin ve glutamat gibi bazı nöromediyatörlerin salınımını azaltmaktadır (51). Kobaylarda yapılan deneylerde TBBPA akut toksik etkisi çok düşüktür, sıçanlarda LD50 değeri $5 \text{ g/kg vücut ağırlığı}$ 'ndan (v.a.) daha fazla, farelerde ise 4 g/kg 'dan daha fazla bulunmuştur (30). In vitro çalışmalarda TBBPA, hepatositlerde mitokondri hasarına yol açmış, membran fonksiyonlarında değişikliğe neden olmuş ve bazı CYP enzimlerini inhibe etmiştir (52). Yapılan hücre kültürü çalışmalarında TBBPA'nın immünotoksik olduğu saptanmıştır, çok düşük konsantrasyonlarda dahi

aktif T hücrelerinin proliferasyonundan sorumlu CD25'in sentezini inhibe etmektedir (53). TBBPA'nın hidrosillenmiş metabolitlerinin in vitro yapılan deneylerde, östrojen sülfonil transferaz aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır (54). Bazı verilerin sağlanmış olmasına karşın literatürde HBCD'in toksisite çalışmaları yeterli değildir. Sıçanlarda yapılan deneyde HBCD'nin karaciğer etkileri için LOEL değeri 13 mg/kg/gün ve NOAEL değeri 1,000 mg/kg/gün olarak saptanmıştır (55,56). Eriksson ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada doğum öncesi HBCD'a maruz kalan farelerde normal davranışlarda, öğrenme ve hafıza işlevlerinde değişikliklerin olabileceği gösterilmiş, ayrıca nikotinic reseptörlerin sayısında da azalmalar saptanmıştır (57). Mariussen ve arkadaşlarının izole sıçan beyninde yaptıkları çalışmada HBCD'in sinaptozomlarda dopamin alımını engellediği gözlenmiştir (58). Shi ve arkadaşlarının balıklarda yaptıkları çalışmada TBBPA'nın hidrosil radikali üretimini artırdığı ve artan hidrosil radikali konsantrasyonu ile oluşan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu arasında güçlü ilişki olduğu gösterilmiştir (59).

I.1.1.5. Biyolojik Birikim

Biyolojik birikim, yağda çözünürlüğü yüksek olan kimyasal maddelerin buldukları fiziksel çevreden çeşitli yollarla yağ içeren canlı dokulara geçip birikmelerini tanımlar. Bu birikim *biyokonsantrasyon*, *biyoakümülyasyon* ve *biyomagnifikasyon* terimleri ile açıklanır.

Biyokonsantrasyon, bir kimyasal maddenin sucul ortamdaki canlıda deriden basit difüzyon ve/veya suyun balıklarda solungaç gibi organlardan süzülmesi gibi pasif mekanizmalarla canlı dokulara girişini ve yağlı dokularda depolanışını tanımlar (16).

Biyokümülyasyon, kimyasal maddenin deri ve solungaçlar aracılığıyla alımının yanı sıra absorpsiyon, soluma ve beslenme yoluyla da vücuda girmesi ve hayvan (ya da bitki) dokusunda konsantre edilmesidir.

Biyomagnifikasyon ise kimyasal maddenin çevreden tek bir canlının dokularına girerek birikmesini değil, besin zincirinde yer alan canlıların birbirini yemesi yoluyla canlıdan canlıya aktarılmasını ve zincirin her basamağında, yani her bir trofik düzeyde konsantrasyonun gitgide artmasını ifade eder (60).

I.1.1.6. Kısıtlamalar ve Yasaklamalar

PBDE'lerin çevrede kalıcılıkları ve insan sağlığı üzerine olabilecek olumsuz etkilerine karşı *Dünya Sağlık Örgütü* 1994'te, PBDE'ler ile ilgili Çevresel Sağlık Kriterleri'ni (Environment Health Criteria) yayınlamıştır. Bu yayında bromlanmış yanmayı geciktiricilerin sağlık ve çevre üzerine olan etkileri ve potansiyel riskleri değerlendirilmiştir (9).

Ekonomik İşbirliği ve Gelişim Örgütü (OECD), PBDE'lerle ilgili risk azaltıcı aktivitelere kılavuzluk etmiş ve 1994'te BAG'lerle ilgili Risk Azaltıcı Monograf (Risk Reduction Monograph) yayınlamıştır (61).

İnsan sağlığı ve çevrenin genel olarak KOK'lerden korunması amacıyla *Birleşmiş Milletler Çevre Programı* (UNEP), KOK'lere ilişkin *Stockholm Sözleşmesi*'ni hazırlamış ve bu sözleşme 2004 yılında yasal olarak yürürlüğe girmiştir. 172 ülke ve bir bölgesel ekonomik entegrasyon örgütü tarafından kabul edilen bu sözleşmeye göre daha önce *Kirli Düzyine* (*Dirty Dosen*) olarak adlandırılan 12 çevresel kirleticiye 9 kirletici daha eklenmiştir. *Kirli Düzyine* içinde olan ve 23 Mayıs 2001'de sözleşme metninde yer alan 12 kimyasal madde ve 2009 yılında eklenen 9 madde Tablo I.4'te gösterilmiştir.

Tablo I.4. UNEP tarafından 2001 yılında tanımlanan *Dirty Dosen* ve 2009 yılında eklenen PBDE türevlerinin de dâhil olduğu 9 ek madde (16,62).

Dirty Dosen (23 Mayıs 2001)	Ek 9 madde (4-8 Mayıs 2009)
Aldrin, Klordan, Diklorodifeniltrikloroetan (DDT), Dieldrin, Endrin, Heptaklor, Mireks, Toksafen, Hezazklorobenzen, Poliklorlu bifeniller (PCB), Poliklorludibenzo- <i>p</i> -dioksin (dioksin), Poliklorludibenzofuran (furan)	Klordekan, hezabromobifenil, Lindan, α -Hezazklorosikloheksan, β -Hezazklorosikloheksan, Tetrabromodifenil eter (PBDE 40-81) ve Pentabromodifenileter (PBDE 82-127), Hezabromodifenileter (PBDE 128-169) ve Heptabromodifenil eter (PBDE 170-193), Perflorooktan Sülfonil asit, tuzları ve Perflorooktan sülfonilflorit, Pentaklorobenzen

Son düzenlemeye kadar bazılarının üretim ve kullanımları sınırlı olan bu Kalıcı Organik Kirleticiler'in üretimi, kullanımı, ithali ve emisyonları tamamen yasaklanmış, atık ve stoklarının yönetimi ile birlikte 2025 yılına kadar ortadan kaldırılmaları, taraf olan ülkelerin yükümlülükleri arasında sayılmıştır.

Ülkemiz; KOK'lara ilişkin Stockholm Sözleşmesi'ni 23 Mayıs 2001'de imzalamış ve sözleşme 14 Nisan 2009 tarihinde 5871 sayılı Kanun olarak (63) Türkiye Büyük Millet Meclisi onayından geçmiş, Bakanlar Kurulunca kabul edilerek 30 Temmuz 2009'da yayımlanmıştır (62). Sözleşme, 12 Ocak 2010 tarihinde Türkiye için resmen yürürlüğe girmiştir (16,64).

I.1.1.7. Alternatif Bileşikler

Daha önceki bölümlerde bahsedildiği üzere BAG'lerin kullanımı yanmaya karşı direnç oluşturmada en ekonomik yoldur. PBDE'lerin yanı sıra TBBPA, HBCD, tetrabromofitalik anhidrit, dibromoneopentilglükol ve bromlu stiren bu amaçla kullanılmaktadır. Bu maddelerin alternatifleri ise fosfor ve metal içeren bileşiklerdir,

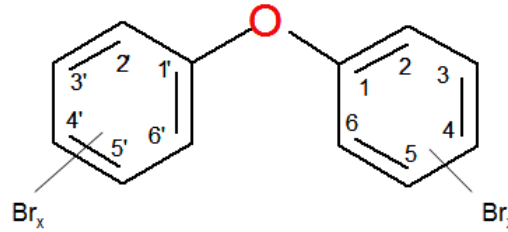
ancak bunların sentezi ve elde edilmesi hem pahalıdır, hem de imalat sorunları ortaya çıkarmaktadırlar (7). Alternatifler kimyasal yapıları açısından BAG'lerden oldukça farklı olmalarına karşın yanmayı önleyici mekanizmaları aynıdır (65,66).

Alman Hükümeti'nin 2000'de oluşturduğu komisyon, alüminyum trihidroksit, amonyum polifosfat ve kırmızı fosforun AG'lerde kullanılmasıyla çevreye daha az sorunlu maddelerin salınmasının sağlanabileceğini raporlarında belirtmişlerdir (31).

I.1.2. POLİBROMLU DİFENİL ETERLER

I.1.2.1. Gruplandırma ve İsimlendirme

PBDE'ler laboratuvarında fenol molekülü ile bromobenzenin tepkimesi sonucu ile sentezlenir. Daha sonra alüminyum III bromür veya demir III bromür (Friedel Kraft Katalizi) ile halkanın diğer pozisyonları bromlanır (7). PBDE'lerin genel kimyasal formülü $C_{12}H_{(0-9)}Br_{(1-10)}O$ 'dir. Yapıda bulunan hidrojen ve brom atomlarının sayısı her zaman 10'a eşittir (Şekil I.2).



Şekil I.2. PBDE'lerin genel formülü ve süstitüsyon pozisyonları.

PBDE'lerin numaralandırılmasında halkaların oksijenle bağ yaptıkları karbon atomları 1 ve 1' numarayı alır. 1 ile başlayan halkada saat yönüne doğru sayılar giderek artarak numaralandırılırken, diğer halkada ise saat yönünün tersi olacak şekilde numaralandırılır (Şekil I.2.).

Teorik olarak brom atomlarının sayısı ve pozisyonuna göre 209 adet kimyasal yapı olasılığı vardır ve bunlar tekli bromludan onlu bromludifenil eterlere kadar 10

gruba ayrılırlar (67). Tablo I.5’de 209 türevin toplam 10 gruptan hangisine girdiği gösterilmiştir.

Tablo I.5. PBDE türevlerinin brom süsstitüsü sayısına göre gruplara dağılımı.

Brom sayısına göre gruplar	PBDE türev adı
MonoBDE	1-3
DiBDE	4-15
TriBDE	16-39
TetraBDE	40-81
PentaBDE	82-127
HekzaBDE	128-169
HeptaBDE	170-193
OktaBDE	194-205
NonaBDE	206-208
DekaBDE	209

I.1.2.2. PBDE’lere Maruziyet

PBDE’lere maruziyet diğer BAG’lere maruziyete göre bir farklılık göstermez (*Bölüm I.1.1.4. Maruziyet ve Toksikite*). Genel toplum açısından ana maruziyet kaynağı kontamine yiyeceklerdir. Ayrıca çevresel kontaminasyon ile bu maddeleri dokularında barındıran kasaplık ya da kümes hayvanlarının etlerinin ve balık ürünlerinin tüketilmesiyle insanlar bu maddelere maruz kalırlar. İkincil maruziyet kaynağı ise iç mekanlardır. Yapılan deneysel çalışmalarla iç mekanlardaki tozların PBDE düzeyleri ile insanların ve evcil hayvanların kanlarında ölçülen PBDE konsantrasyonu arasında istatistiksel açıdan önemli bir ilişki gösterilmiştir (68). İç

mekanlarda eşyalardan çevreye salınan PBDE'ler, maruziyetin ana kaynağıdır. Bir başka maruziyet yolu ise meslekidir. Elektronik cihaz geri dönüşümü yapılan bir işyerinde çalışanların kanında PBDE türevleri saptanmıştır (69). Ayrıca çöplerden geçimini sağlayan kişilerin serumlarında yine PBDE'lere rastlanmıştır (70). PBDE'lerin sucul ekosisteme nasıl girdiği ve besin zincirinde nasıl ilerlediği kısmen bilinse de insanların yiyecekler dışında PBDE'lere maruziyetleri henüz tüm ayrıntıları ile ortaya konmuş değildir (71).

I.1.2.3. Kalıcılık ve Biyoakümülyasyon

*Giriş Bölümü'*nde bahsedildiği gibi PBDE'lerin ve diğer BAG'lerin zaman içinde insan sağlığı ve çevre üzerinde bir risk oluşturdukları anlaşılmaya başlanmıştır. Bu riski daha da artıran özellik, yine vurgulandığı gibi çevrede kalıcı olmalarıdır. Bu kimyasallar asidik ve bazik koşullara, ısıya, ışığa, indirgenmeye ya da oksidasyona karşı dayanıklıdır. Dolayısıyla çevrede, canlılara ve bu arada insanlara da ulaşabilecek kadar uzun süre kalırlar (72,73).

PBDE'ler kimyasal bozunmaya karşı dirençli olmalarının yanı sıra oldukça yağda yüksek çözünürlük özelliğine de sahiptirler, bu özellikleri onların hızla biyoakümüle olmalarını sağlar. Çevresel kirlenici olarak kaygılanılmasına neden ikinci özellikleri budur. Tablo I.6. PBDE'lerin yağda çözünürlük derecelerini göstermektedir.

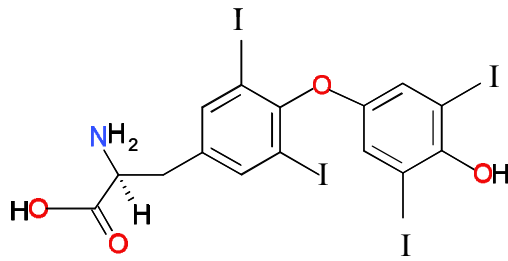
Tablo I.6. PBDE türevlerinin oktanol-su partiyon katsayısı (Log K_{os}) ve suda çözünürlük dereceleri (7,74).

PBDE Türevi	Log K_{os}	Çözünürlük mg/L
Deka PBDE	>5	0.02-0.03
Okta PBDE	5.5-8.9	<0.01
Hekza PBDE	6.86-7.92	4.08E-03
Penta PBDE	6.64-6.97	9.00E-07
Tetra PBDE	5.87-6.16	0.07
Tri PBDE	5.47-5.58	0.38

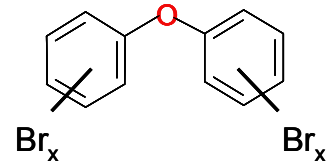
Oslo ve Paris Komisyonu'nun yayınladığı kriterlere göre bir maddenin biyoakümüle olabilmesi için Log K_{os} katsayısı 4'ten büyük, biyokonsantrasyon faktörü (BCF) ise 2000 L/kg 'dan büyük olmalıdır. Tabloda da görüldüğü gibi PBDE türevlerinin tümünün Log K_{os} katsayısı 4'ten büyüktür. BCF değerlerine bakarsak örneğin penta türevi PBDE için bu değer, 27400 L/kg olarak saptanmıştır (75). Daha az bromlanmış PBDE türevleri, çok bromlanmışlara göre daha uzun sürede biyoakümüle olurlar. Bunun sebebi çok bromlanmış türevlerin daha hacimli moleküller olması sonucu canlıların vücuduna daha az ve yavaş alınmalarındadır (19,76). Sucul sistem canlılarında PBDE'ler besin zincirinin farklı trofik düzeylerinde biyomagnifiye olurlar. Baltık ekosisteminde yapılan çalışmalarla PBDE'lerin ringa balığında, somonda, foklarda ve balık kartallarında biyomagnifiye oldukları gösterilmiştir (77,78). Burreau ve arkadaşları hamsi, ringa balığı ve somonlarda yaptıkları çalışmalarda tetra- ve penta türevi PBDE'lerin birbirlerine yakın oranlarda, triBDE türevlerinin daha az, hekzaBDE türevlerinin ise daha da az biyomagnifiye olduklarını gözlemişlerdir (79).

I.1.2.4. PBDE'lerin Toksik Etkileri

PBDE türevi BAG'lerin toksik etkilerini ana olarak **a.** endokrin sistem üzerindeki etkileri (endokrin bozucu etki) ve **b.** sinir sistemi üzerindeki etkileri (nörotoksisite) şeklinde gruplandırmak mümkündür. Bu iki hedef sistem üzerindeki toksik etkiler kısmen birbiri ile ilişki içindedir ve her iki sistemin yer aldığı süreçler nedeniyle PBDE türevlerinin gelişimsel toksisitelerinden de bahsedilebilir. PBDE türevlerinin endokrin sistem ile etkileşmeleri, büyük oranda tiroid hormonu homeostazını bozmalarına bağlıdır (18,67). PBDE'ler tiroid hormon reseptörlerine endojen hormonlarla yarışmalı olarak bağlanırlar, çünkü PBDE'lerin kimyasal yapıları, endojen tiroid hormonu olan T₄'e büyük benzerlik gösterir (Şekil I.3).



T₄ Hormonu(Tiroksin)



PBDE Genel Formülü

Şekil I.3. PBDE ve Tiroid T₄ hormonunun kimyasal yapıları.

PBDE'ler karaciğer işlevlerinde değişikliğe neden olarak da tiroid hormonunu etkileyebilirler. Çoğunlukla T₄'ün normalin üzerinde elimine olmasına neden olurlar (80). 2001 yılında Tong Zhou ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada DE-71 (büyük oranda tetra ve penta PBDE türevlerini içeren karışım) ve DE-79'a (büyük oranda hepta ve okta PBDE türevlerini içeren karışım) akut maruz bırakılan sıçanlarda hipotiroksinemi ve uridindifosfoglukronil transferaz (UDPGT) aktivitesinde artış gözlemişlerdir. UDPGT, T₄'ün glukronid konjugatı halinde safra

ile elimine edilmesini sağladığı için gözlenen hipotiroksinemi muhtemelen T4 atılımının artmasına bağlıdır (81). PBDE'lerin serum T4 seviyesini düşürdüğü, çalışmalarda da gösterilmiştir (82-84). Tiroid hormonları beyin gelişiminde önemli rol oynadıklarından dolayı PBDE türevlerine bağlı olarak ortaya çıkan nörotoksitenin nedeni, T4 hormon seviyesindeki azalma olabilir (85).

PBDE'lerin fetüs gelişimi üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalarda ana hedefin sinir sistemi olduğu gösterilmiştir (18, 86-88). Bu konuda kemiricilerde yapılan çalışmalarda doğum öncesi ve sonrasında PBDE'lere maruziyetle özellikle lökomotor aktivite ve öğrenmede, ayrıca davranış kalıbında önemli değişiklikler gösterilmiştir (84, 86, 89-94). Stoker ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, penta türevi PBDE'lerin erkek üreme organlarının ve diğer organların gelişiminde görev alan hormonların androjen reseptörlerine (AR) yarışmalı bağlanmaları sonucunda anti-androjenik etki gösterdikleri saptanmıştır. Sonuçta pubertede gecikme ve androjen bağımlı organların boyutlarında azalma ortaya çıkmıştır (95). Penta türevi PBDE'lerin endokrin bezlerinde üretilen hormonların aracılık ettiği seksüel gelişimi ve seksüel dimorfik davranışları engellediği, başka çalışmalarda da gösterilmiştir. Maruziyet ile pubertede gecikmekte ve folikül oluşumu azalmaktadır (96).

PBDE'lerin sitotoksik etkileri konusunda Birchmeier ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan çalışmada PBDE'lerin hücre canlılığını azalttığı, apoptozis ve nekrozu arttırdığı gösterilmiştir (97). Madia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Penta türevi PBDE-99'a maruz bırakılan insan astrositoma hücrelerinde p53 gen ekspresyonunun artması, Birchmeier ve arkadaşlarının çalışmasında gözlenen apoptozisin nedeni olabilir. Çünkü p53, hücre döngüsünün ana düzenleyicisidir ve ekspresyon düzeylerindeki herhangi bir değişim, apoptozis sürecini başlatabilir (98). İn vitro olarak nöronal ve astroglial hücrelerde yapılan çalışmalarda PBDE'lerin

nöronlarda neden oldukları apoptotik hücre ölümünde oksidatif stresin rol oynadığı gösterilmiştir (99-101).

Yapılan bazı çalışmalarda özellikle kalsiyum ve protein kinaz C homeostazisinde, PBDE'lerin hücrel sinyal iletimini etkileyebildiği gözlenmiştir (98,102,103).

1.1.2.5. Kalıntı Sorunu, ADI ve MRL Sınır Değerleri

PBDE'lere bağlı kalıntı sorunu ve insan dokularında PBDE düzeylerine yönelik olarak Schechter ve arkadaşları, ABD'de 2002'de yaptıkları çalışmada anne sütü örneklerinde toplam 13 PBDE türevi (17, 28, 47, 66, 85, 99, 100, 138, 153, 154, 183 ve 209) saptamışlardır (40). Araştırmacılar, PBDE türevlerinin biyoakümüle olmaları ve doğal parçalanmaya karşı dayanıklı olmaları nedeniyle zamanla anne sütünde daha fazla birikebileceği yorumunu yapmaktadırlar. PBDE birikiminin artmasının ana nedeni olarak PBDE içeren hayvansal gıda tüketiminin de giderek artması gösterilmektedir (40).

2003 yılında Erdoğan ve arkadaşları, Kahramanmaraş'ta toplanan anne sütlerinin 37'sinden sadece 3'ünde PBDE 47 ve PBDE 99'a rastlanmıştır (104).

Schechter ve arkadaşları 2003 yılında Amerika'da marketlerden aldıkları yiyecek örneklerinde bazı PBDE türevlerinin (PBDE 17, 28, 47, 66, 77, 85, 99, 100, 138, 153, 154, 183, 209) analizlerini yapmışlardır. Analiz ettikleri deniz ürünleri; tilapia balığı, karides, alabalık, kedi balığı, köpek balığı ve somon, et ürünleri domuz pastırması, hamburger köftesi, domuz eti, tavuk göğsü, hindi köftesi, ördek eti, sosis ve domuz sucuğu, diğer ürünler ise margarin, süt, yoğurt, dondurma, hayvansal yağ, peynir, yumurta ve dana karaciğeridir. Sonuçlara göre en yüksek ortalama toplam PBDE miktarları deniz ürünlerinde (ortalama 1725 *pg/g yaş ağırlık*), daha sonra et ürünlerinde (ortalama 283 *pg/g yaş ağırlık*) ve daha sonra günlük tüketilen diğer

ürünlerde (ortalama 31.5 *pg/g yaş ağırlık*) saptanmıştır (42). Voorspoels ve arkadaşları Belçika’da 2005’te büyük marketlerden, balıkçılardan, kasaplardan ve çok bilinen hızlı yiyecek restoranlardan aldıkları yiyecek örneklerinde PBDE türevlerinin (PBDE 28, 47, 99, 100, 153, 154, ve 183) analizini yapmışlar ve en yüksek ortalama toplam PBDE miktarlarına deniz ürünlerinde (460 *pg/g yaş doku*), daha sonra günlük tüketilen yiyeceklerde (260 *pg/g yaş doku*), daha sonra hazır gıdalarda (86 *pg/g yaş doku*) ve en düşük konsantrasyonda ise et ürünlerinde (70 *pg/g yaş doku*) rastlamışlardır (105).

PBDE’ler gibi fiziksel çevremize istem dışı girmekte olan kirleticiler, besinler ve solunan hava yoluyla insana kadar ulaşmakta ve çeşitli derecelerde toksik etkilere yol açmaktadırlar. Bu durumda ortam havası ve besinlerde, özellikle tarım ürünleri ve hayvansal gıdalarda söz konusu çevresel kirleticilerin neden olacağı sağlık sorunlarını önlemenin yolu, bu kirleticilerin belirli bir zaman diliminde insan vücuduna girdiğinde zarar vermeyecek miktarlarının belirlenmesi ve ortam havası, yiyeceklerde sürekli kontrol yapılmasıdır. Bu miktarları insanlarda deney yaparak belirlemek etik açıdan imkansız olduğundan deney hayvanlarında birkaç farklı türde kontrollü toksisite testleri sonucunda “*no observed adverse effect level*” (NOAEL) değeri belirlenir (106). Başta tür farkı olmak üzere çeşitli nedenlerle hayvanda elde edilen güvenli miktar doğrudan insana uygulanamayacağından bu değer bir güvenlik faktörüne (genelde 100) bölünmesiyle elde edilen “*acceptable daily intake*” (ADI) değerine ulaşılır. Bu değer, söz konusu kimyasal maddenin yaşam süresi boyunca vücuda girdiğinde herhangi bir sağlık sorununa yol açmayacak olan miktarını gösterir (*mg kirletici/kg vücut ağırlığı*) (106). Çevreden maruziyet söz konusu olduğunda insan vücuduna girecek sınır miktarların bilinmesi kadar bir diğer önemli nokta, tükettiğimiz besinlerde, ortalama tüketim miktarı gözönüne alınarak

yine insan sağlığını korumaya y6nelik olarak izin verilebilecek en y6ksek değerlerin belirlenmesidir, bu değer “kalıntı limiti” (MRL; maximum residue level) olarak adlandırılır (106).

Bu tez 7alışması kapsamında araştırılan PBDE t6revleri asıl olarak fizikokimyasal 6zellikleri nedeniyle birikme eğilimde oldukları deniz 6r6nleri, solunan hava, kasaplık ve k6mes hayvanlarının etleri ve tarım 6r6nleri aracılığıyla insanlara ulaşabilmektedirler. Tablo I.7’da PBDE t6revlerinin toksisite testleri sonucunda belirlenmiş olan s6z konusu sınır değerleri ve kalıntı limit değerleri g6sterilmiştir.

Tablo I.7. Bazı PBDE t6revleri i7in LD50, LOEL, NOEL/NOAEL, ADI ve MRL Değerleri (9,107-112).

Kimyasal adı	LD50 g/kg	LOEL (mg/kg/g6n)	NOEL/NOAEL (mg/kg/g6n)	ADI (mg/kg/g6n)	MRL
PentaBDE (PBDE 100 vb.)	>2	1, 3, 5	1	0.002	1 mg/kg/g6n
OktaBDE	>28	5, 8	2 (havada 0.6 mg/m ³)	0.003	-
HekzaBDE	>10				-
DekaBDE	<2	80-100* (sı7an), 7.5 (balık) 1100**	1	0.01	10 mg/kg/g6n

*Sı7anlarda karaciğerde ağırlık artışına neden olan LOEL değer

** Sı7anlarda sistemik toksisite neden olan LOEL değer

ABD Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı (ATSDR), az bromlanmış PBDE t6revlerinin MRL değerlerini 0.03 mg/kg/g6n olarak a7ıklamıştır (113).

I.1.2.6. 7evrede Kimyasal ve Biyolojik Par7alanma

PBDE’ler 7evresel degradasyona karşı PCB’lerden daha dayanıksızdırlar. 76nk6 C-Br bağı, C-Cl bağından daha zayıftır (114). Ancak in vitro yapılan

biyotransformasyon çalışmalarında farklı sonuçlar alınmış ve PBDE'lerin PCB'lere göre biyotransformasyona daha dayanıklı oldukları gözlenmiştir (115). Biyodegradasyonun PBDE'ler için önemli bir yolak olmamasına karşın fotolizis, PBDE'lerin parçalanmasında önemli bir role sahiptir (116). Çevrede sularda bulunabilen dekabromlu difenileter (DeBDE) ışık etkisiyle pek önemsenmeyecek düzeyde bozunur. Hidroksillenmiş olan bozunma ürünleri UV enerjisini daha çok absorplayarak hızlıca bozunur ve çoklu bromlanmış dibenzofuranlar (PBDF) ve çoklu bromlanmış dibenzodioksinleri (PBDD) oluştururlar. Oluşan bu bileşikler de toksik bileşiklerdir. Watanabe ve arkadaşları 1987 yılında yaptıkları çalışmada hekzan içindeki DeBDE'nin UV ve güneş ışığı etkisiyle fotolize uğrayıp PBDF'lerin oluştuklarını göstermişlerdir (117).

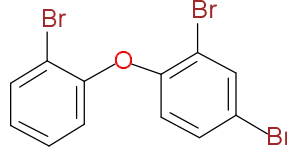
PBDE'lerin cansız ortamlardaki taşınımaları, onların çevrede nasıl degrade olacaklarını önemli oranda belirler (118).

PBDE 209 çevrede daha az bromlanmış PBDE türevlerine ve daha toksik türevlere parçalanırlar, ancak çevresel degradasyonu çok yavaştır ve önemsenmeyecek kadar düşük orandadır (119, 120).

Laboratuvar koşullarında yapılan birçok deneysel çalışmalarda PBDE'lerin suda, toprakta, sedimentte ve evsel tozlarda fotokimyasal ve biyolojik olarak nasıl degrade oldukları gösterilmiştir (121-127).

I.1.3. ANALİZİ GERÇEKLEŞTİRİLEN PBDE TÜREVLERİ

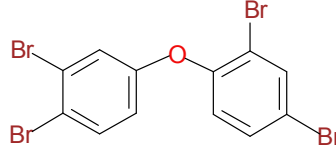
I.1.3.1. PBDE 17 (2,2',4-Tribromodifenil eter)



PBDE-17

TriBDE türevi olan PBDE-17, IUPAC'a göre 2,2',4-tribromodifenil eter olarak isimlendirilir. Molekül, üç adet brom atomu içerir, ağırlığı 407 g/mol'dür ve kapalı formülü $C_{12}H_7Br_3O$ 'dir. Elementel olarak % 35.4 karbon, % 1.7 hidrojen, % 3.9 oksijen ve % 58.9 bromdan oluşur. Sinonimleri; difenileter tribromo türevi, tribromodifenil eter ve 1,1'-oksibenzentribromo türevidir.

I.1.3.2. PBDE-66 (2,3',4,4'-Tetrabromodifenil eter)

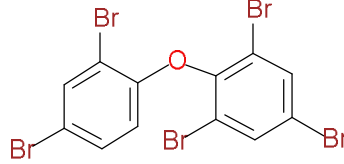


PBDE-66

TetraBDE türevi olan PBDE-66, IUPAC'a göre 2,3',4,4'-tetrabromodifenil eter olarak isimlendirilir. Molekül dört adet brom atomu içerir, ağırlığı 486 g/mol'dür ve genel kimyasal formülü $C_{12}H_6Br_4O$ 'dir. Elementel olarak % 29.7 karbon, % 1.2 hidrojen, % 3.3 oksijen ve % 65.8 bromdan oluşur. Sinonimleri; difenileter tetrabromo türevi, 1,1'-oksibenzen tetrabromo türevi, tetrabromodifenil oksit ve tetrabromodifenil eter'dir. Sudaki çözünürlüğü $<0.011 \text{ mg/L}$ 'dir (25°C).

Farelerde beyin gelişimi sırasında (doğumdan sonraki 10 gün boyunca) Tetra-BDE'ye maruziyet ile kalıcı davranışsal değişiklikler oluşmaktadır (128).

I.1.3.3. PBDE-100 (2,2,4,4',6-Pentabromodifenil eter)



PBDE-100

PentaBDE türevi olan PBDE-100, IUPAC'a göre 2,2',4,4',6-pentabromodifenil eter olarak isimlendirilir. Molekül beş adet brom atomu içerir, molekül ağırlığı 565 g/mol'dür ve kapalı kimyasal formülü $C_{12}H_5Br_5O$ 'dir. Elementel olarak % 25.5 karbon, % 0.9 hidrojen, % 2.8 oksijen ve % 70.8 bromdan oluşur. Sinonimleri; difenileter pentabromo türevi, pentabromodifenil oksit, pentabromodifenil eter, pentabromofenoksibenzendir. $25^{\circ}C$ 'deki dansitesi $2.3 \mu g/L$ ve $25^{\circ}C$ 'deki sudaki çözünürlüğü $13.3 \mu g/L$ 'dir. Buna karşın toluen, diklorometan ve metiletilketonda iyi çözünür.

Tavşanlarda yapılan deneylerde topikal uygulanan PentaBDE deride çok hafif alerjik reaksiyona yol açmıştır, bunun yanında gözlerde kızarıklık, kemozis (konjonktivanın altında sıvı birikmesi) ve akıntıya neden olur (9). Sıçanlarda diyetle kısa süreli PentaBDE maruziyeti sonucunda karaciğer ağırlığında artış ve histopatolojik değişimler gözlenmiştir (129). PentaBDE'nin mikrobiyal ve ökaryotik hücre sistemlerinde mutajenik olmadığı rapor edilmiştir (11). Farelerle yapılan bir çalışmada tek doz Penta-BDE maruziyetinin T4 seviyesini azalttığı saptanmıştır (130).

I.1.4. PBDE'LERİN ÇEVREDE VE CANLI DOKULARDA İZLENMESİ

I.1.4.1. Abiyotik Ortamda Çevresel İzleme

Çevrede PBDE'ler hava, toprak, sediment ve yüzey sularının yanı sıra binaların içinde, lağım sularında ve kullandığımız arabaların donanımı ve döşemelerinde de bulunabilmektedir (131, 132). PBDE'lerin su, hava ve topraktaki konsantrasyonları, kentsel yoğunluklara göre de değişiklik göstermektedir. Nüfus yoğunluğunun fazla olduğu alanlarda sularda, havada, toprakta ve sedimentte PBDE konsantrasyonları üretimle, geri dönüşümle ve çöp öğütme işlemleriyle ilişkili olarak artar. Bu da abiyotik ortamların PBDE'lerle kirlenmesine neden olur (131, 133-135). PBDE'lerin yaşam alanlarından uzak yerlere taşınması, önemli bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. PBDE'ler uzun mesafeli atmosferik taşınımlarla bir yerden bir yere hareket ederler. Bu taşınımında bölgesel hava kütlelerinin hareketleri de önemli bir role sahiptir (118, 136). Suların ve toprakların PBDE'lerle kirlenmesinde ana neden, atmosferik taşınımdır (137, 138).

Evlerde PBDE'lerin elektronik cihazlardan ve mobilyalardan salındığı düşünülmektedir. Havaya PBDE'lerin salınmasına evsel tozlar, havalandırmalar ve hava filtreleme sistemleri neden olmaktadır. Zaman zaman iç mekânlardaki PBDE konsantrasyonları, dış mekânlardakinden daha yüksek olmaktadır (131). Bir görüşe göre dış ortamlardaki PBDE konsantrasyonunun ana kaynağı iç mekânlardaki PBDE olabilir (139).

Yüzey sularının PBDE'lerle kontamine olmasında önemli bir etken toprak erozyonudur (140). Yüzey sularına geçen PBDE'ler, çevrede bir yerden başka bir yere daha hızlı taşınabilir ve sedimentlerde, tarımın yapıldığı ovalardaki topraklarda ve sucul canlılarda birikebilir (131, 138, 141). Tarım arazilerinin kontamine olmasında bir başka yol, lağım atıklarının boşaltılmasıdır (141). Ayrıca şehirlerde

kontamine sularla tarım alanlarının sulanması sonucu PBDE'ler toprağa, sedimente ve atmosferik faza geçebilir (142).

Covaci ve arkadaşları 2001 yılında Danube Deltası'na yakın 3 farklı gölden sediment örnekleri toplamışlar, ve toplam PBDE konsantrasyonlarını (PBDE 28, 47, 99,100, 153, 154 ve 183) 0.1 *ng/g kuru ağırlık* altında saptamışlardır (143).

Wang ve arkadaşları Ağustos 2003'te Çin-Guangdong bölgesinden topladıkları toprak ve sediment örneklerinde PBDE türevlerinin analizlerini yapmışlar ve PBDE 17, -66 ve -100 miktarlarını sediment örneklerinde sırasıyla 1.09, 0.80, 0.88 *ng/g kuru ağırlık* olarak ölçmüşlerdir. Toprak örneklerinde ise PBDE 17'yi 0.34-5.15 *ng/g kuru ağırlık*, PBDE 66'yı 0.96-10.7 *ng/g kuru ağırlık*, PBDE 100'ü ise 2.70-89.40 *ng/g kuru ağırlık* olarak saptamışlardır (144).

Boer ve arkadaşları Hollanda'da sedimentlerde ve sanayi atık sularında bazı PBDE türevlerinin (PBDE 47, 99, 153 ve 209) analizlerini yapmışlar, sedimentlerde 1.1 -22 *µg/kg kuru ağırlık* konsantrasyon aralığında saptamışlardır. Atık sanayi sularında ise 0.4-45 *µg/kg kuru ağırlık* konsantrasyon aralığında ölçmüşlerdir (145).

I.1.4.2. Biyolojik Ortamda Çevresel İzleme

Canlılar çevrede tekrar dağılmalarına neden olurlar, bu tekrar dağılım, bölgesel veya evrensel çapta olabilir. Buna özellikle balıkların ve kuşların göç etmeleri ve geniş bir alana yayılmaları neden olur (146). Daha önce bahsedildiği gibi yapılan birçok çalışma ile PBDE'lerin canlı dokularda biyoakümülyasyonları gösterilmiştir (147,148). ABD'de 10-20 yıllık sürelerle yapılan çalışmalarda yabancı hayatta saptanan PBDE düzeylerinin her 3-5 yılda yaklaşık 2 katına çıktığı gösterilmiştir (149-152). Baltık Denizi'nde yapılan çalışmalarda canlılardaki PBDE miktarlarının trofik düzeyin artmasıyla birlikte arttığı gösterilmiştir. Bu PBDE'lerin

sucul ekosistemde biyoakümüle olduğunun kanıtıdır (77, 148). Çok bromlanmış türevlerin balıklarda ve memelilerde daha az bromlanmış türevlerine dönüşmesi sonucu dokularda daha çok bu az bromlu metabolitler biyoakümüle olmaktadır (34,153-155). Bazı metoksillenmiş PBDE türevleri çevrede kendiliğinden oluşabilmektedir. Bu türevler yunuslarda ve diğer sucul memelilerde, süngerlerde, alglerde ve kurtçuklarda saptanmıştır (156). PBDE türevlerinin yabanıl hayvanların dokularındaki miktarları, bu hayvanların kimyasalı çevreden doğrudan almalarıyla, çevrede kendiliğinden oluşmuş örneğin hidroksilli türevlerin ya da çok bromlanmış olanların daha az bromlu türevlerine dönüşmesiyle veya besin zincirinde trofik düzeylerde farklı miktarlarda biyomagnifiye olmalarıyla ilişkili içindedir.

1.1.4.3. İnsanda İzleme Çalışmaları

“*Kalıntı Sorunu*” bölümünde verildiği üzere, ABD ve Türkiye’de yapılan anne sütü taramalarında, bu tez çalışmasında balık dokularında analiz edilen 17, 66 ve 100’ün de içinde olduğu çeşitli PBDE türevlerine rastlanmıştır, ABD’de konsantrasyon aralığı 0.01-34 ng/g yağ, Türkiye’de ise 0.002-0.004 ng/g yağ ağırlık bulunmuştur. (40,104). Polonya’da 2004 yılında gerçekleştirilen benzer bir çalışmada Jaraczewska ve arkadaşları, anne sütlerinde 0.05-2 ng/g yağ konsantrasyon aralığında PBDE-28, -47, -99, -100, -153 ve -183’e rastlamışlardır (157).

Lorber ve arkadaşlarının 2007’de, Karlsson ve arkadaşlarının ise yine aynı yıl yaptıkları çalışmalarda, çöplerden inhalasyon ile maruz kalan kişilerin kanında çöpteki PBDE konsantrasyonu ile doğrusal ilişki gösteren düzeylerde PBDE saptanmıştır (158,159). Schecter ve arkadaşlarının 2006’da, Voorspoels ve arkadaşlarının 2007’de yaptıkları çalışmalarda insanların PBDE’lere maruziyet kaynağının et, balık ve yüksek miktarda PBDE içeren diğer günlük yiyecekler olduğunu gösterilmiştir (105,160).

PBDE içeren eşyaların üretimi, tekrar geri kazanımları ve kullanımdan sonra atılmaları, bu aşamalarda çalışanlar için PBDE'lere maruziyet açısından önemli kaynaklardır. Bi ve arkadaşları'nın 2007'de yaptıkları araştırmada Çin'de bulunan elektronik eşya geri dönüşüm bölgesinde çalışan işçilerin serumunda ortalama PBDE-209 konsantrasyonu, mesleki maruziyet açısından o zamana kadar rapor edilen popülasyonlar dikkate alındığında, 50-200 kat yüksek bulunmuştur (161). PBDE'ler lipofilik özelliklerinden dolayı plasentayı aşır fetüse de ulaşabilirler (162).

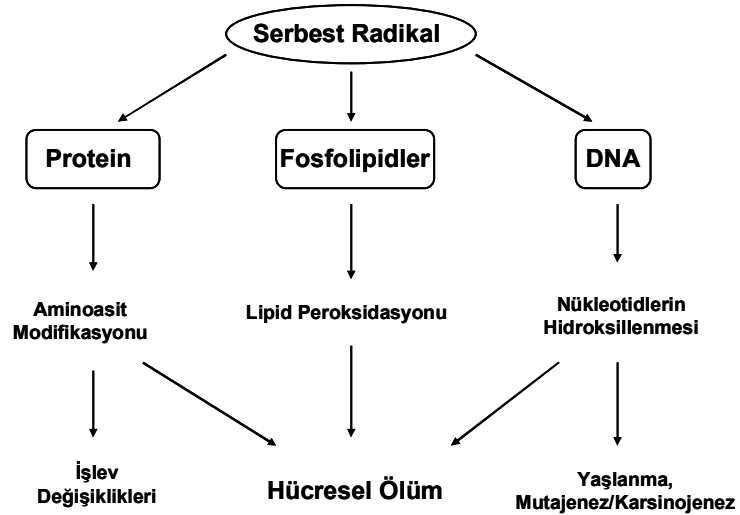
Meneses ve arkadaşlarının İspanya-Tarragona'da insan yağ dokusu örneklerinde yaptıkları analizlerde tetraBDE, pentaBDE ve hekzaBDE türevleri, erkeklerde 0.59-1.82 ng/g yağ kadınlarda 0.24-1.84 ng/g yağ konsantrasyon aralıklarında ölçülmüştür (163).

I.1.5. BİYOLOJİK OKSİDASYON

I.1.5.1. Organizmada Kimyasalların Neden Olduğu Oksidatif Stres

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok reaktif moleküllerdir (164). Serbest radikaller, hücrelerde endojen olarak olduğu gibi çeşitli kimyasallara maruziyet sonucunda da oluşabilirler. Bu kimyasalların bazen doğrudan kendileri ya da oluşturdukları metabolitler radikal yapısında bazen de biyotransformasyonları sonucunda yan ürün olarak radikallerin oluşmasına neden olurlar. Bunlar arasında parakuat, allokstan, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaçların aşırı dozları, iyonize edici radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, organik çözücüler gibi çevresel kirleticiler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler sayılabilir (165-168).

Dış kaynaklı kimyasal maruziyeti dışında vücut içerisinde kendiliğinden oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROT) endojen metabolizma, hücre içi ve hücrelerarası haberleşme, transkripsiyon, kontraksiyon gibi birçok biyokimyasal ve fizyolojik olayda rol alırlar. Bu şekliyle gelişmiş organizmalarda/canlılarda radikallerin oluşması, redoks homeostazı ve organizmanın yaşamını sürdürmesi için gereklidir. Ancak kimyasal maruziyeti sonucu normal miktarların üzerinde oluşan radikaller birçok toksik süreçten sorumludurlar (169). Hem endojen olarak, hem de kimyasal maruziyeti sonucu oluşan önemli serbest radikaller ya da ROT arasında süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksil radikali (ROO^\cdot) ve nitrik oksit radikali (NO^\cdot) sayılabilir (169-171).



Şekil I.4. Serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin hücrel makromoleküller üzerinde etkisi (172).

Organizmada aşırı miktarda oluşan serbest radikaller ve ROT'ne karşı enzimatik ve enzimatik olmayan iki ayrı bileşenden oluşan bir savunma sistemi vardır. Bu sistem kritik öneme sahip hücrel molekülleri oksidatif hasarlara karşı

korurlar. Şekil I.4. serbest radikallerin neden olduğu hücrel makromoleküllerin oksidasyonu ve sonuçlarını şematize etmektedir. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerin toksik etkilerinden korunur. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme, bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği ifade eder (173, 174).

Çevresel kirleticiler de canlılarda oksidatif strese neden olabilirler. Çevresel kirleticilere karşı sucul sistem canlıları, karada yaşayan canlılar ve memelilere göre çok daha duyarlıdır. Bu canlılarda yapılan çalışmalarla, kirleticilere maruziyetle ortaya çıkan oksidatif stresin neden olduğu toksik etkiler için veri sağlanmaktadır (175). Yapılan çalışmalarda çevresel kirleticilere maruz kalmış balıkların karaciğerlerinde reaktif oksijen türlerinin oluştuğu gösterilmiştir (176). PBDE türevlerinin oksidatif stresi indüklediğine dair veriler vardır. İn vitro olarak nöronal ve astroglial hücrelerde PBDE’lerin indüklediği apoptotik hücre ölümünde oksidatif stres rol oynamaktadır (99-101). Fernie ve arkadaşlarının kuş yumurtalarını in vitro olarak PBDE-47, -99, -100 ve -153’e maruz bıraktıkları çalışmada kontrol yumurtalarına göre lipid peroksidasyonu ve okside glutatyon miktarı anlamlı derecede artmıştır (177). Sıçan hipokampus hücre kültüründe tetrabromodifeniler türevi olan PBDE-47 oksidatif stres oluşturarak DNA’da hasara ve apoptozise neden olmuştur (100).

I.1.5.2. Hüresel Makromolekül Oksidasyonu

Serbest radikaller hücre içinde dengeyi bozacak miktarda oluştuğunda lipid, protein, DNA ve karbonhidrat yapısındaki tüm önemli hüresel bileşenleri okside edebilirler. Serbest radikallerin tüm bu etkilerinin sonucunda okside olarak yapısı değişen makromolekül hücre içerisinde işlevini yerine getiremeyeceğinden dolayı hücre hasarı ortaya çıkar. İskemi sonrasında reperfüzyon da ROT'nin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır (178-181). Bir önceki bölümde vurgulandığı üzere en göze çarpan etkilerden biri, sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarının lipid moleküllerinin perokside olmasıdır. Membran lipidlerinde peroksidasyon, membranın hasar görmesi sonucu bütünlüğün bozulmasına ve sonrasında hücre hasarına yol açar. Lipidlerin okside olmalarıyla birçok parçalanma ürünü oluşur. Bunların doğrudan saptanmaları oldukça zordur, ancak oluşan ikincil ürünler (aldehitler ve ketonlar) daha kolay bir şekilde saptanmaktadırlar. Lipit peroksidasyonunu saptamak için aldehit yapısındaki maddeler ve bunlar içerisinde en çok malondialdehit (MDA) ölçülür (179, 182-186).

Serbest radikallerin hücre içinde diğer önemli hedefleri DNA molekülü ve proteinlerdir. Serbest radikaller DNA molekülünde pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlara neden olurlar, ayrıca DNA'nın çapraz bağlı proteinlerinde ve deoksiriboz fosfatlarında gözlenen hasarlardır. Yapılan çalışmalarda genellikle DNA'daki guanozin bazının hidroksillenmesiyle oluşan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ölçülerek oksidatif DNA hasarının derecesi belirlenir (185, 187-191). DNA'da oluşan bir diğer oksidatif hasar göstergesi ise DNA'nın hidroksillenmesiyle oluşan timin glikol ve timidin glikoldür (192, 193).

Proteinlerdeki sisteinik tiyol grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak bozunabilirler. Proteinlerin oksitlenmesiyle aldehit yapısında maddeler de

oluşmaktadır. Genel olarak proteinlerden iki baskın aldehit türü oluşur, bunlar γ -glutamil semialdehit ve 2-aminoadipik semialdehittir ve HPLC ve kütle spektrometresiyle belirlenebilmektedirler (194).

Hücrel makromoleküllerden proteinlerin oksitlenmesiyle protein karbonilleri (PKO) ve dimerik yapıdaki maddeler gibi yapıca farklı ürünler oluşur. Oksidasyona en çok fenilalanin ve tirozin aminoasitleri duyarlıdır. Tirozinin okside olmasıyla *o*-tirozin, *m*-tirozin ve ditirozin oluşur (179, 195). Ditirozin oksidatif stresin göstergesi olarak hücre lizatlarında ve idrarda analiz edilmektedir (191, 196, 197).

1.1.5.3. Protein Oksidasyonu

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi, amino asit dizilimlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler, serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur (198).

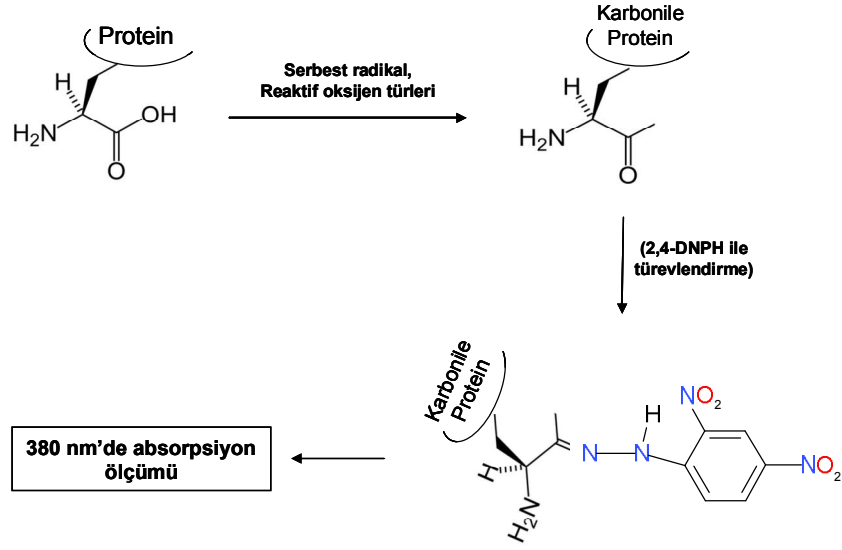
Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal işlevlerini yerine getiremezler. Pirolin ve lizin amino asitleri, ROT üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu, methemoglobin oluşumuna neden olur (178, 180, 181). Tokur ve Polat, Mersin Körfezi'nden topladıkları tekir balıklarının kas, miyofibril ve sarkoplazmik analizlerinde miyofibril proteinlerde 0.123-0.396 *nmol karbonil/mg protein*, sarkoplazmik proteinlerde 0.108-0.228 *nmol karbonil/mg protein* ve kas proteinlerinde ise 0.338-0.619 *nmol*

karbonil/mg protein PKO düzeyleri saptamışlardır (199). Baron ve arkadaşları, alabalık kaslarında PKO miktarının zamanla değişimini araştırmışlardır. Örneklemeden hemen sonra *2.8 nmol karbonil/mg protein*, 48 saat buzda bekletildiğinde ise *2.9 nmol karbonil/mg protein* PKO miktarı ölçmüşlerdir. Ayrıca örneklerin 13 ay boyunca -20 ya da -80°C'de saklanmasıyla PKO miktarlarında önemli bir değişim gözlememişlerdir (200). Forster ve arkadaşları, farelerin farklı beyin bölgelerindeki (korteks, hipokampus, striatum, orta beyin, beyincik ve beyin arka bölgesi) PKO miktarlarını ölçtükleri çalışmalarında *1-2 nmol/mg protein* aralığında değerlere ulaşmışlardır (201). Parvez ve arkadaşları, benekli yılan balıklarını bazı pestisit türevlerine (deltametrin, endosülfan ve parakuat) maruz bıraktıkları çalışmalarında balıkların karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında PKO miktarlarını analiz etmişlerdir. En yüksek PKO miktarı deltametrine maruz kalmış balıkların karaciğerlerinde (*2 nmol/mg protein*) ölçülürken, en düşük PKO miktarı ise kontrol grubu balıkların solungaçlarında (*0.68 nmol/mg protein*) bulunmuştur (202). Tokur ve arkadaşları Adana'da marketten aldıkları balık örneklerinin (sardalya, hamsi, palamut ve lüfer) kas dokularında PKO miktarlarını ölçmüşler, en düşük PKO miktarı *0.38 nmol/mg protein* ile palamutta saptanırken, en yüksek PKO miktarı *1.25 nmol/mg protein* ile hamside bulunmuştur (203).

I.1.5.4. Protein Oksidasyonu Belirleme Yöntemleri

Protein hasarının en sık kullanılan biyogöstergesi proteinlerin oksidasyonu sonucunda molekül üzerinde oluşan karbonil gruplarıdır. PKO grupları aminoasit artıklarının (özellikle lizin, arjinin, treonin ve prolin) doğrudan oksidasyonu ile oluşur (Şekil I.5.). Proteinlerin bu oksidatif modifikasyonları yapı ve işlevlerinde önemli değişikliklere neden olur. Protein karbonilleri, oksidatif stresin yaygın olarak

kullanılan ve kimyasal olarak stabil olan biyogöstergeleridir. Karboniller spektrofotometrik olarak ve ELISA teknikleriyle kolayca ölçülebilir (204- 208).



Şekil I.5. Protein molekülü üzerinde karbonil gruplarının oluşumu, türevlendirilmesi ve spektrofotometrik yöntemle ölçümü.

Ayrıca proteinlerin oksitlenmesiyle aldehytler de oluşmaktadır. Bu türevler HPLC ve kütle spektrometresiyle ölçülebilmektedirler (194).

BÖLÜM II

II.1. GEREÇ VE YÖNTEM

II.1.1 GEREÇ

II.1.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Kimyasal madde</u>	<u>Firma adı</u>
Aseton pestanal	Fluka 34480
Butilhidroksitoluen (BHT)	Sigma B-1378
Diklorometan suprasolv	Merck 106054
2,4- Dinitrofenil hidrazin (DNPH)	Aldrich D19930-3
Dipotasyumhidrojen fosfat (K_2HPO_4)	Merck 8591389
Etil asetat	Riedel 27227
Etanol	Riedel 34870
Etilen diamintetraasetikasit disodyum ($EDTA.Na_2$)	Sigma E5134
Guanidin hidroklorür	Sigma G4505
Hidroklorik asit (HCl)	Sigma 07102
n-Hekzan pestanal	Fluka 34484
PBDE Mix (BDE-MXD)	Wellington
PCB 103 (C20010300)	Dr.Ehrenstorfer
PCB 198 (E20019800)	Dr.Ehrenstorfer
Potasyumdihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	Merck 1467444
Sığır serum albümini (BSA)	Sigma A8022
Silika gel 60 (0,063-0,2 mm)	Merck 107734
Sülfürik asit	J.T.Baker 6057
Trisma Base	Sigma T1503
Tris HCl	Sigma T5941

Trikloroasetik asit (TCA)

Sigma T6399

Susuz sodyum sülfat

Riedel de Haen 13464

II.1.1.2 Kullanılan Gereçler

Makine ve teçhizat

Derin dondurucu (-86°C)

Etüv

GC-ECD

Homojenizatör

Manyetik karıştırıcı

Otomatik mikropipet

pH metre

Santrifüj

Spektrofotometre

Su banyoları

Su arıtma cihazı

Terazi

Vorteks

Kuvartz spektrofotometre küveti

Çeker ocak

Firma adı ve modeli

New Brunswick U410 premium

Heraeus

Agilent 7890A

Heidolph SC-M

Velp Scientifica 100162

Wisestir MSH-20A

Eppendorf

Gilson

Hanna-pH211

Thermo Scientific CL31R

Shimadzu UV-VIS 160A

Nüve-BM 302

Memmert WB14

Millipore Direct Q

Sartorius GP1200P

Nüve NM 110

Velp Scientifica 2x³

Shinsaeng Fumehood

II.1.1.3 Kullanılan Çözeltiler

II.1.1.3.1. PBDE Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözeltiler

80 mL Hekzan:Aseton (3:1, h/h) çözeltisi

25 mL Hekzan:Diklorometan (1:1, h/h) çözeltisi

II.1.1.3.2. Protein Oksidasyonu Deneyinde Kullanılan Çözeltiler

100mM Fosfat Tamponu (pH 7.40)

50 mM tris tampon (pH 7.40; 1 mM EDTA içeriyor)

BHT çözeltisi

%100 (a/h) TCA

2,5 M HCl (10 mM DNPH içeriyor)

2,5 M HCl

Etanol:etilasetat (1:1, h/h)

6 M guanidin HCl (20 mM potasyum fosfat içinde, pH 2.30)

BSA çözeltileri (0.25-0.5-1-2 mg/ml)

II.1.2 YÖNTEMLER

II.1.2.1. PBDE Miktar Ölçümünün Analitik Validasyonu Çalışması

Tez kapsamında sahadan elde edilen biyolojik örneklerde miktarı belirlenecek olan toplam 3 PBDE türevi kimyasal maddenin gaz kromatografisi-elektron yakalayıcı detektör (GC-ECD) tekniği ile güvenilir bir şekilde ölçülebilmesi için analiz yönteminin doğrusallığı, doğruluğu, tekrarlanabilirliği, geri kazanımı (verimi) ve hassasiyeti araştırıldı.

Bu amaçla öncelikle literatür bilgilerinin ve yayınlanmış prosedürlerin de yardımıyla bir GC analiz yöntemi kuruldu. Uygulanan GC-ECD yönteminde cihazın koşulları aşağıdaki şekliyle uygulanmıştır:

Enjektör sıcaklığı: 200 °C

Enjeksiyon miktarı: 1 µL, splitless

Detektör sıcaklığı: 300 °C

Başlangıç sıcaklığı: 80 °C

Sıcaklık programı:

a) 15 °C/dk artış hızı ile 180 °C'ye (5 dk. bekleme)

b) 15 °C/dk artış hızı ile 250 °C'ye (27 dk. bekleme)

c) 40 °C/dk artış hızı ile 280 °C'ye (30 dk. bekleme)

Kolon: 50 m HP-5MS

Taşıyıcı gaz: Azot

Gaz akış hızı: 1,82 ml/dk.

Daha sonra çözücü olarak ultrasaf hekzan içerisinde 0, 5, 10 ve 20 *pg/µL* konsantrasyonlarda standart çözeltileri hazırlanan 3 PBDE türevinin (PBDE-17, -66 ve -100) standart çözeltilerine internal standart (IS) olarak 75 *pg/µL* konsantrasyonda PCB 103 ve 50 *pg/µL* konsantrasyonda PCB 198 eklendikten sonra doku ekstraksiyonu koşulları uygulanarak bir sonraki sayfada dokular için anlatıldığı şekilde kolon fraksiyonlandırmasına tabi tutuldu. Ardından yukarıdaki ısı gradiyenti yöntemiyle GC'ye enjekte edildi. Her bir analitin ve aynı kromatogramdaki IS'in pik alanları manuel olarak entegre edildi ve kalibrasyon doğrularının hazırlanmasında analit pik alanının IS pik alanına oranı kullanıldı. Üç farklı günde hazırlanan kalibrasyon doğru setleri yardımıyla yöntemin doğrusallığı, doğruluğu, tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti analiz edildi.

Doğrusallık analizi için yukarıda konsantrasyonları verilen standart çözelti serileri, 3 farklı günde analiz edilmiş ve doğru denklemleri ile birlikte regresyon katsayıları bildirilmiştir.

Doğruluk (accuracy) analizi için yine aynı standart çözelti serileri 3 farklı günde analiz edilmiş ve her 3 farklı konsantrasyon için bulunması gereken değerlerden maksimum sapmalar bildirilmiştir.

Yöntemin kesinliğini (precision; günüçi ve günlerarası varyasyon) belirlemek amacıyla 3 farklı günde, aşağıda hazırlanışı belirtilen 4'er özdeş örnek olacak şekilde toplam 12 örnek analiz edilmiştir. Bu amaçla homojenize edilen 45 g sazan kas dokusuna her bir PBDE türevi, 4 *ng/g yaş doku* konsantrasyonda olacak şekilde ultrasaf hekzan içinde eklendi (enjekte edilen 200 μ L son hacim içerisinde 20 *pg/ μ L*). Ayrıca I.S. olarak 15 *ng/g yaş doku* olacak şekilde PCB-103 (enjekte edilen 200 μ L son hacim içerisinde 75 *pg/ μ L*) ve 10 *ng/g yaş doku* olacak şekilde PCB-198 (enjekte edilen 200 μ L son hacim içerisinde 50 *pg/ μ L*) yine ultrasaf hekzan içinde eklendi. Ardından çözücülerin uçması için dokular çeker ocak altında 2 saat boyunca bekletildi. Ekstre edileceği erlen içerisinde birer gram porsiyonlar halinde tartılan dokulara 5 g susuz Na₂SO₄ eklenerek cam bagetle iyice karıştırıldı. 80 mL ultrasaf hekzan:aseton karışımı (3:1) eklenerek manyetik karıştırıcıda 16 saat süreyle ekstre edildi. Ekstraktlar çeker ocak altında 70°C'ye ayarlı su banyosunun üzerinde hafif azot gazı akımı altında 5 mL'ye yoğunlaştırıldı. Kolon kromatografisi ile ekstraktların fraksiyonlandırması 60 mesh silika içeren kolonlarda yapıldı. Bu amaçla ilk aşamada silika 200°C'de 3 saat boyunca aktive edildi. Ardından millipore su ile %2 (a/a) oranında deaktive edildi ve cam pamuğu ile destek sağlanmış cam kolonlara dolduruldu. İlk aşamada kolonlar 6 g silika ve üzerine 1 g susuz Na₂SO₄ eklenerek hazırlandı. Kolonlar 13 ml hekzan ile şartlandıktan sonra 5 mL'ye yoğunlaştırılan örnekler kolonlara uygulandı ve ilk elüentler toplandı. Daha sonra elüsyon için kolonlardan sırasıyla 50'şer mL hekzan, 25 mL hekzan:diklorometan (1:1) karışımı ve 25 mL diklorometan geçirilerek elüentler toplandı (209, 210).

Toplanan elüentler 70°C'ye ayarlı su banyosunda hafif azot gazı akımı altında 5 mL'ye yoğunlaştırıldı. İkinci aşamada örneklerin yağından kurtarılması amacıyla silika-H₂SO₄ içeren kolonlardan geçirildi. Bu amaçla kolona 3,5 g %20 (a/a) sülfürik asitle aktive edilmiş silika ve üzerine 1 g susuz sodyum sülfat konuldu. Kolonun şartlanması için 5 mL hekzan geçirildi. Ardından ilk kolondan toplanan elüentler uygulandı. PBDE türevleri sırasıyla 50 mL hekzan, 25 mL hekzan:diklorometan (1:1) karışımı ve 25 mL diklorometan geçirilerek elüe edildi. Toplanan elüentler 70°C'de hafif azot gazı akımı altında 200 µL'ye yoğunlaştırıldı. GC viyallerindeki insertler içine alınarak analiz için GC-ECD'ye enjekte edildi. Her bir analitin ve aynı kromatogramdaki IS'in pik alanları manuel olarak entegre edilerek elde edilen analit pik alanının IS pik alanına oranı, miktar tayininde kullanıldı. Gün içi varyasyon için 4'er örnek 3 farklı günde analiz edildi ve 3 farklı gün için hesaplanan varyasyonların ortalamaları bildirildi. Günler arası varyasyon ise aynı veri setinden hesaplandı, toplam 12 analizin varyasyonu bildirildi.

Yöntemin hassasiyeti, yani ölçülen her bir analitin en küçük hangi miktarlarının pozitif olarak tanımlanabileceği ve en küçük hangi miktarlarının ölçülebileceğini belirlemek amacıyla PBDE türevlerinin organik çözücü içerisinde *Belirlenebilirlik Sınırı* (limit of detection; LOD) değeri araştırıldı. Bu amaçla analizlerde kalibrasyon doğrularının çizilmesinde kullanılan 5 pg/µL konsantrasyondaki çözeltileri GC-ECD'ye enjekte edildi. LOD değerinin belirlenmesi, zemin gürültü yükseklik ortalamasının 3 katı olarak hesaplandı.

Tez çalışmasında ilk ve ikinci dönem örneklemelelerinde farklı istasyonlardan elde edilen toplam 66 sazan karaciğer dokusunda PBDE miktar tayini yapılmıştır. Bu sayıda örnek, kalibrasyon doğrusu setleri ile birlikte 10 günlük süre içinde 4 farklı günde analiz edilmiştir. Bu analizler sırasında günler arası varyasyonun dışında

baştan sona yöntemin ne kadar doğruluk ve tekrarlanabilirlikle ölçüm yaptığının bir başka kontrol yöntemi, Shewhart grafiklerinin hazırlanmasıdır. Bu amaçla daha önceden bilinen konsantrasyonda (10 ng/g yaş doku, enjekte edilen 200 µL son hacim içerisinde 50 pg/µL) PBDE türevleri eklenerek -86 °C'de depolanan balık dokusu örnekleri, her bir analiz setinin başına ve sonuna eklenmiş ve bu örneklerde her bir PBDE türevinin miktar tayini yapılmıştır. Analiz süresi boyunca bu örneklerin PBDE miktarları belirlenerek bahsedilen Shewhart grafikleri hazırlanmıştır.

Analizlerde her basamakta madde kaybının derecesini belirlemek amacıyla seçilen 3 farklı konsantrasyonda (5, 25, 50 pg/µL) hazırlanan PBDE türevleri standart çözeltilerinin bir kısmı doğrudan, bir kısmı ise tam prosedür uygulanarak (kolon fraksiyonlandırmalarının ardından yoğunlaştırılarak) GC-ECD'de aynı yöntemle analiz edilmiştir. Daha sonra doğrudan enjekte edilen örneklerdeki PBDE türevlerinin IS'a oranlanan pik alanları %100 kabul edilerek prosedürden geçirilmiş örnekler aracılığıyla yöntemin verimi hesaplanmıştır.

II.1.2.2. Örnekleme Çalışması

Birinci dönem Şubat-Nisan 2009 tarihli örneklemede 32, ikinci dönem Temmuz 2009 tarihinde 34 olmak üzere toplam 66 sazan balığı (*Cyprinus carpio*), Büyük Menderes nehir havzası üzerinde belirlenen Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilmiştir.

Canlı olarak yakalanan ve cinsiyet açısından belirli bir olgunluk düzeyinde olması için en az 20 cm olmasına dikkat edilen balıklar, en çok 2 saat içerisinde canlıken disekte edildiler. Cerrahi set yardımıyla balıkların karın bölgesi açıldı, karın boşluğuna dolan kan örnekleri, ileri çalışmalar için tüplere alınarak donduruldu. Hemen karaciğer dokusu çıkarıldı ve vida kapaklı karyotüplere konarak

sıvı azot içine alındı. Sıvı azot içerisinde laboratuara ulaştırılan örnekler analize kadar -86°C derin dondurucuda saklandı.



Şekil II.1. Büyük Menderes nehri üzerinde sazan (*Cyprinus carpio*) balık örneklemelerinin yapıldığı istasyonları gösteren havza haritası.



A

B

Şekil II.2. Sahada örnekleme çalışmasında yakalanan bir sazan (A) ve karaciğer dokusunun ayrılması (B).

Aynı örnekleme dönemlerinde yine PBDE kirliliğini analiz etmek amacıyla istasyonlardan 55 μm por genişliğe sahip plankton bezinden süzülerek su örnekleri alındı.

II.1.2.3. Karaciğer dokusunda PBDE Miktar Ölçümü

Deney öncesinde kullanılacak bütün malzemeler kalıntı analizine uygun saflıkta hekzanla yıkandı.

II.1.2.3.1. PBDE Miktar Ölçümü için Standart Çözelti ve Doku Hazırlığı

Kalibrasyon doğrusunu oluşturabilmek amacıyla 0, 5, 10 ve 20 $pg/\mu L$ olacak şekilde toplam 4 konsantrasyonda standart çözelti, PBDE stok çözeltisinden uygun dilüsyonların yapılmasıyla hazırlandı.

Cam kapaklı şilifli erlenlere kör yanında düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda standart seri hazırlandı. Düşük konsantrasyonda PBDE karışımı içeren erlene 10 μL hacimde 100 $pg/\mu L$ konsantrasyonda PBDE karışımı (GC-ECD'ye enjeksiyon sırasındaki 200 μL hacimdeki çözelti içindeki son konsantrasyonu 5 $pg/\mu L$ 'dir), orta konsantrasyonda PBDE karışımı içeren erlene 20 μL hacimde 100 $pg/\mu L$ konsantrasyonda PBDE karışımı (GC-ECD'ye enjeksiyon sırasındaki 200 μL hacimdeki çözelti içindeki son konsantrasyonu 10 $pg/\mu L$ 'dir) ve yüksek konsantrasyonda PBDE karışımı içeren erlene 40 μL hacimde 100 $pg/\mu L$ konsantrasyonda PBDE karışımı (GC-ECD'ye enjeksiyon sırasındaki 200 μL hacimdeki çözelti içindeki son konsantrasyonu 20 $pg/\mu L$ 'dir) konuldu. Üzerlerine internal standart olarak 100 μL hacimde 150 $pg/\mu L$ konsantrasyonda PCB 103 ve 100 μL hacimde 100 $pg/\mu L$ konsantrasyonda PCB 198 eklendi (GC-ECD'ye enjeksiyon sırasındaki 200 μL hacimdeki çözelti içindeki son konsantrasyonları PCB 103 için 75 $pg/\mu L$ ve PCB 198 için 50 $pg/\mu L$ 'dir).

Balık karaciğer dokuları ortalama 1 g olacak şekilde tartıldı. Üzerlerine internal standart olarak PCB 103 (enjeksiyondaki son konsantrasyon 75 $pg/\mu L$) ve PCB 198 eklendi (enjeksiyondaki son konsantrasyon 50 $pg/\mu L$). Çözücünün uçması için

dokular 2 saat süreyle çeker ocak altında bekletildi. Sonra balık karaciğer dokularına 1:5 (a/a) oranında susuz sodyum sülfat eklendi ve bağıtle iyice karıştırılarak doku suyunun tamamen tutulması sağlandı.

II.1.2.3.2. PBDE'lerin Dokudan Ekstraksiyonu

Balık karaciğer dokularının üzerine 80 mL hekzan:aseton (3:1, h/h) karışımı kondu ve 16 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstraktlar çeker ocak altında 70°C'ye ayarlı su banyosunun üzerinde hafif azot gazı akımı altında 5 mL'ye yoğunlaştırıldı.

II.1.2.3.3. Silika Kolonundan Fraksiyonlandırma ve GC-ECD Ölçümü

Bu bölümde uygulanan işlemler, “II.1.2.1. PBDE Miktar Ölçümünün Analitik Validasyonu Çalışması” bölümünde ayrıntılı biçimde anlatıldığı şekilde uygulanmıştır.

II.1.2.4. Su Örneklerinde PBDE Miktar Ölçümü

Su örneklerinde PBDE türevlerinin miktarını ölçmek amacıyla bir seri standart çözelti, “II.1.2.1. PBDE Miktar Ölçümünün Analitik Validasyonu Çalışması” bölümünde ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Daha sonra analiz edilecek su örneğinin 1 L'si üzerine IS olarak 15 ng PCB-103 ve 10 ng PCB-198 eklendi (enjekte edilen 200 µL son hacim içerisinde sırasıyla 75 pg/µL ve 50 pg/µL). Örnekler 16 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 100 mL diklorometan ile ekstre edildi. Süre sonunda diklorometan tabakası ayrıldı ve 70°C'ye ayarlı su banyosunda hafif azot gazı akımı altında 5 mL'ye yoğunlaştırıldı. Daha sonra ekstraktlar “II.1.2.1. PBDE Miktar Ölçümünün Analitik Validasyonu

Çalışması” bölümünde ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde silika kolonundan geçirilerek fraksiyonlandırma yapıldı. Su örnekleri yağ içermediği için 2. silika-H₂SO₄ kolon uygulaması yapılmaksızın GC-ECD’ye enjekte edildi.

II.1.2.5. Balık Karaciğer Dokularında Protein Oksidasyonu Ölçümü

II.1.2.5.1. Protein Oksidasyonu Ölçümü için Karaciğer Dokularının Analize

Hazırlanması

0.2 g civarında balık karaciğer dokusu tartılarak üzerine 0,5 g *doku/ mL* olacak şekilde 100 mM fosfat tamponu (pH 7,40) eklendi. Buz üzerinde 1,5 dk. süreyle homojenize edildi (211).

II.1.2.5.2. Protein Oksidasyonu Ölçümü Deney Prosedürü

Örneklerin PKO düzeyleri, Reznick ve Levine’nin yöntemleri esas alınarak ölçüldü (204-206). Hazırlanan homojenatın 125 μ L’sine 1 mL 50 mM tris tamponu (pH 7.40, içinde 1 mM EDTA, 22,6 mM BHT-doku ağırlığının %0,01’i (a/a) olacak şekilde) eklendi. Bu aşamadan sonra iki ayrı tüpe 0,25’er mL homojenat alındı. Bunlardan birisi PKO’nin ölçüleceği, diğeri ise kör olarak kullanılacak örnek olarak işaretlendi. Her iki tüpe 0,25 mL %100 (a/h) TCA eklendi, 10 dk. buz banyosunda inkübasyonun ardından çöken protein pelletleri 4°C’de 25.000 xg’de 5 dk. süreyle santrifüj edildi. Ayrılan pelletlerin üzerine örnek tüpünde 1 mL 10 mM DNPH içeren 2,5 M HCl çözeltisi ve diğeri kör tüpüne ise sadece 1 mL 2,5 M HCl çözeltisi kondu. Her iki örnek 1 saat süreyle her 15 dk.’da bir vortekslenerek karanlıkta, oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda pelletlerin üzerine 0,1 mL %100 (a/h) TCA eklendi ve 4°C’de 25.000 xg’de 5 dk. süreyle santrifüj edilerek pelletler ayrıldı. Ayrılan pelletler 3 kez 1’er mL etanol:etilasetat (1:1, h/h) ile yıkanarak lipid

ve DNPH kalıntıları uzaklaştırıldı. Pelletlerin 35 °C’de ultrasonik su banyosunda 15 dk. süreyle 1,5 mL 6 M guanidin.HCl’de (20 mM fosfat tamponu-pH 2,30- içinde) çözünmesi sağlandı. Çözünmeyen partiküller 4°C’de 25.000 xg’de 5 dk. süreyle santrifüj edilerek uzaklaştırıldı. Sadece HCl eklenmiş kör’e karşı DNPH eklenmiş örneklerin 250-500 nm dalga boyu aralığında spektrumları alındı. 380 nm’de maksimum absorbans yaptıkları böylece doğrulandıktan sonra bu dalga boyunda absorpsiyonları okunarak kaydedildi.

Protein karbonil miktarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı:

$$C = \frac{\text{Abs (380 nm)}}{\epsilon}$$

Formülde: $\epsilon = 22000/M = 22000/10^6$ nmol/ml

Absorptivite PKO: 22000

10^6 : Sonuçları nmol’e çevirmek amaçlı katsayı

II.1.2.5.3. Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Total protein miktarının belirlenmesi amacıyla guanidin.HCl içerisinde sığır serum albümini (BSA) kullanılarak hazırlanan 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/mL konsantrasyondaki standart protein çözeltilerinin absorbansı, 280 nm’de guanidin.HCl’ye karşı okundu. Excel programında konsantrasyona karşılık absorpsiyon grafiği çizdirilerek standart doğru ve doğru denklemi elde edildi. Aynı şekilde absorbansı ölçülen örneklerin total protein içerikleri bu doğru denklemi yardımıyla hesaplandı (204-206).

BÖLÜM III

III BULGULAR

III.1. PBDE Miktar Ölçümü Analitik Validasyon Çalışması Bulguları

PBDE türevlerinin GC-ECD'de analizlerine ilişkin analitik validasyon sonuçları Tablo III.1'de verilmiştir. Her bir analit için sırasıyla gün içi ve günler arası varyasyon, belirlenebilirlik sınırı (LOD; limit of detection), kalibrasyon doğrusunun her 3 konsantrasyonu olan 5, 10 ve 20 $pg/\mu L$ için % sapma cinsinden doğruluk değerleri, kalibrasyon doğru denklemleri ve regresyon katsayıları bildirilmiştir. Analizlerin yapıldığı 3 gün boyunca elde edilen doğru denklemlerinde eğim ve kesme noktası değerlerinin ortalaması, standart sapmaları ile birlikte bildirilmiştir.

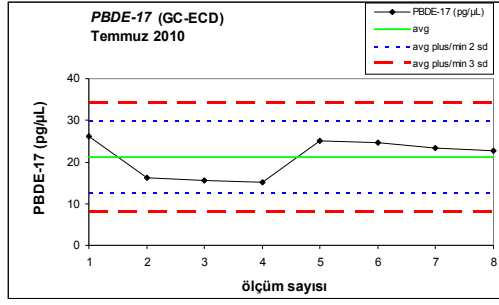
I. ve II. dönem örnekleri farklı zaman aralıklarında analiz edildiğinden II. döneme ait kalibrasyon doğru denklemleri ve regresyon katsayıları da italik olarak I. döneme ait değerlerin altında verilmiştir (Tablo III.1.). Tekrarlanabilirlik ve çalışma kapsamındaki örneklerin tamamının ölçüldüğü süre boyunca doğruluktan ve kesinlikten ne kadar sapma olduğunun analizinin bir başka güvenilir göstergesi, ajan eklenmiş aynı miktarda analit içeren standart örneklerin her analiz serisine eklenmesi ve bu örneklerde ölçülmesi gereken analit miktarının süre boyunca ne doğrulukta ölçülebildiğinin izlenmesidir. Bu tez çalışmasında iki farklı dönemde örnekleme yapılmış ve karaciğer dokuları yine iki farklı zaman aralığında analiz edilmiştir. Bu dönemlerin her birine ait olmak üzere ölçülen PBDE-17, -66 ve -100 için ayrı Shewhart grafikleri hazırlanmıştır. Bu amaçla söz konusu ajan eklenmiş örneklerin analizi ile elde edilen sonuçlar, Shewhart grafikleri şeklinde Şekil III.1'de toplu olarak verilmiştir.

Tablo III.1. Sazan karaciğer dokusunda PBDE türevleri miktar tayini yönteminin analitik validasyon verileri.

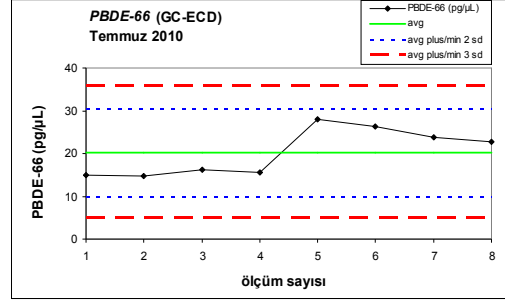
VK: *Varyasyon Katsayısı*, LOD: *Belirlenebilirlik Sınırı*.

MADDE	%VK (Kesinlik)		LOD (pg/ μ L)	Doğruluk (% sapma)			Geri kazanım (%)			Kalibrasyon Doğrusu ($y = ax + b$)	r^2
	Günlük	Günlerarası		5 pg/ μ L	10 pg/ μ L	20 pg/ μ L	5 pg/ μ L	25 pg/ μ L	50 pg/ μ L		
PBDE-17	9.5	19.3	0.10	3.3	3.8	1.0	76	86	119	0.035 (± 0.011) x + 0.035 (± 0.018)	0.974
										<i>0.013 (± 0.001)x + 0.015 (± 0.009)*</i>	<i>0.991</i>
PBDE-66	10.0	23.0	0.08	7.7	11.4	2.5	83	65	71	0.029 (± 0.003) x + 0.024 (± 0.021)	0.978
										<i>0.012 (± 0.001)x + 0.009 (± 0.005)</i>	<i>0.984</i>
PBDE-100	10.5	23.8	0.11	14.1	13.9	4.4	97	100	92	0.016 (± 0.007) x + 0.012 (± 0.009)	0.997
										<i>0.007 (± 0.001)x + 0.007 (± 0.006)</i>	<i>0.984</i>

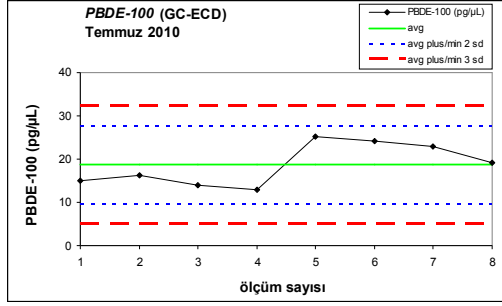
*İkinci sırada italik karakterlerle gösterilen kalibrasyon doğru denklemleri ve r^2 değerleri, 2. örnekleme analizlerine ait değerlerdir.



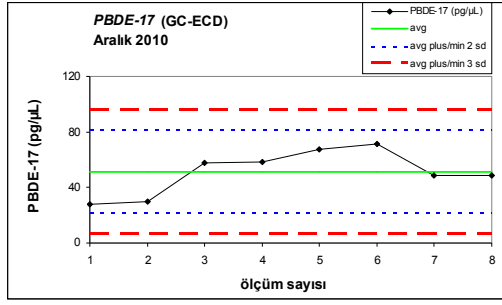
I-A



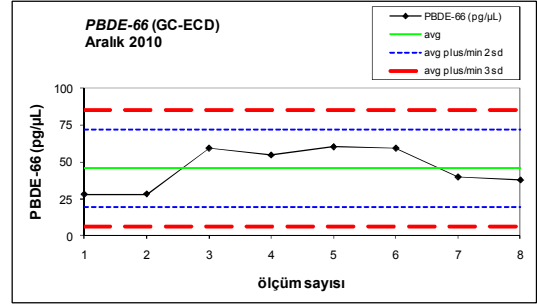
I-B



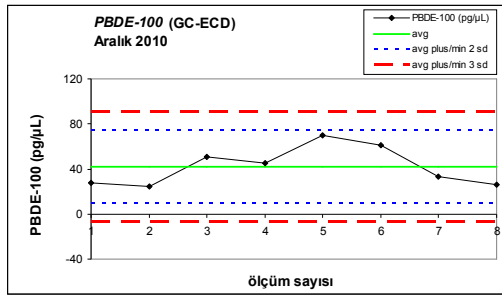
I-C



II-A



II-B

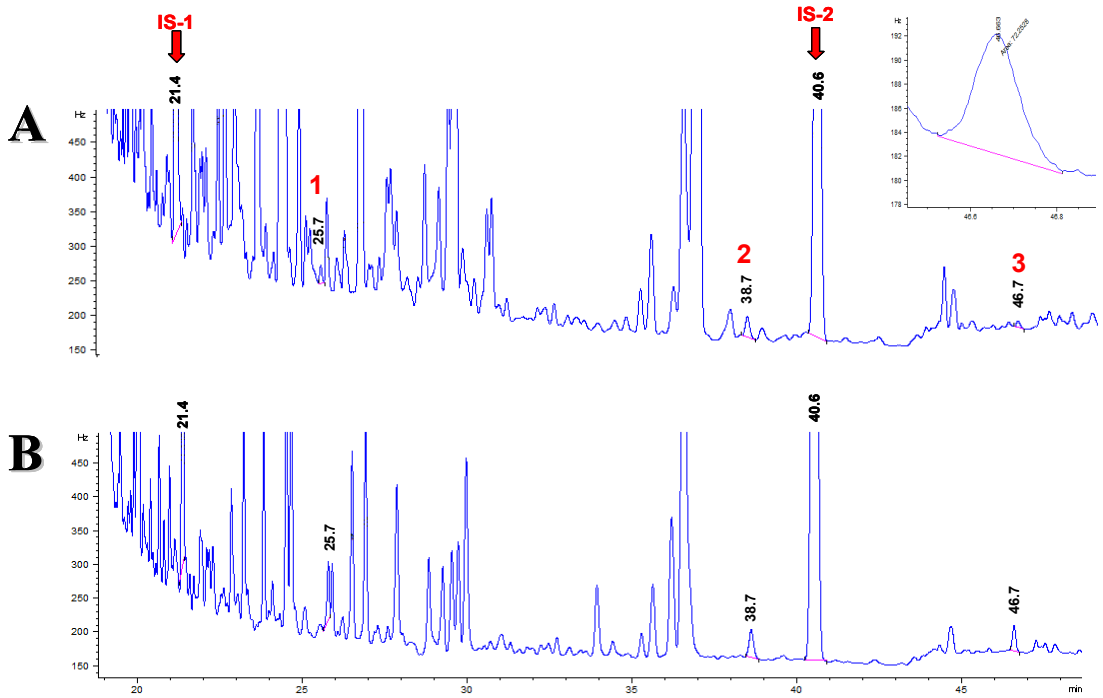


II-C

Şekil III.1. İlk dönem (Şubat-Nisan 2009) ve ikinci dönem (Temmuz 2009) örneklemede elde edilen sazan karaciğerlerinin dörder gün boyunca analizinde kullanılan kalite kontrol örneklerine ait Shewhart grafikleri. Kalite kontrol örneklerinin hazırlığı için 10 ng/g yaş doku (enjekte edilen 200 µL son hacim içinde 50 pg/µL) konsantrasyonda olacak şekilde PBDE-17, -66 ve -100 ajan olarak sazan kas dokusu homojenatına eklenmiş ve eşit miktarlara bölünüp -86 °C’de saklanarak, her analiz serisinin başına ve sonuna 2 örnek eklenmiştir. Her bir grafik altındaki I, ilk örnelemeye ait sonuçları, II ise 2. örnelemeye ait sonuçları sembolize etmektedir. Her bir grafik altındaki A, PBDE 17’ye ait sonuçları; B, PBDE 66’ya ait sonuçları; C, PBDE 100’e ait sonuçları sembolize etmektedir.

III.2. Balık Karaciğer Dokularında PBDE Miktar Ölçümü Sonuçları

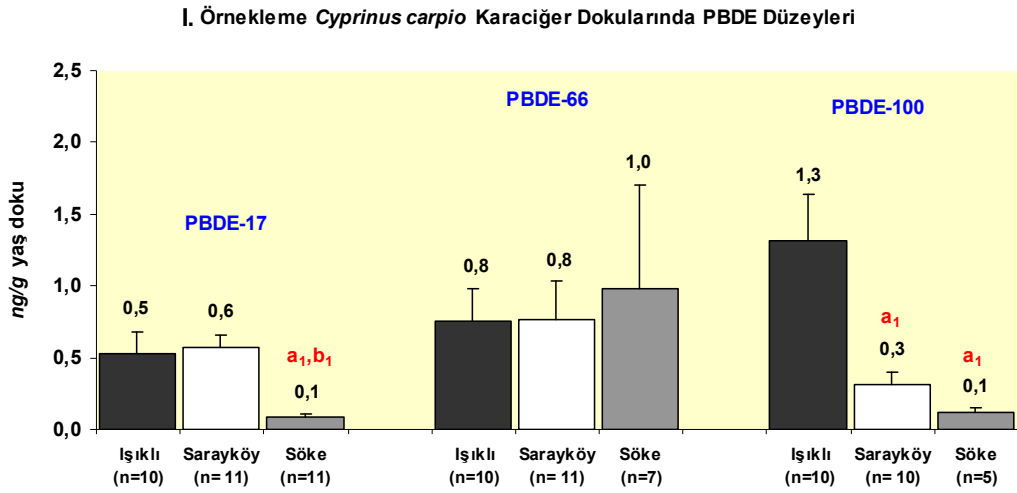
Analitik validasyonu tamamlanarak yöntemin geçerliliği kanıtlandıktan sonra karaciğer dokularının PBDE türevi konsantrasyonları GC-ECD’de belirlenmeye başlanmıştır. Şekil III.2’de 5 $pg/\mu L$ konsantrasyondaki standart çözelti ve ikinci örnekleme döneminde Söke istasyonundan yakalanan sazanların birine ait GC-ECD kromatogramı gösterilmiştir.



Şekil III.2. GC-ECD yöntemi ile analiz edilen PBDE türevlerine ait örnek kromatogramlar. **A**, Söke istasyonundan elde edilen sazan karaciğer örneğine ait kromatogram; **B**, 5 $pg/\mu L$ konsantrasyonda standart çözeltiye ait kromatogram. **IS-1**, İnternal standart-1 (PCB-103); **1**, PBDE-17; **2**, PBDE-66; **IS-2**: İnternal standart-2 (PCB-198); **3**, PBDE-100.

Büyük Menderes Nehri havzasında seçilen üç istasyondan farklı iki örnekleme döneminde örneklenen sazan balıklarının karaciğerlerinde araştırılan PBDE türevlerinden PBDE-17, -66 ve -100 saptanmıştır. Standart çözelti içerisinde bulunan diğer PBDE türevleri olan -47, -153, -183 ve -209 LOD değerlerinin altında olduğu

için, ya da standart doğru elde edilemediği için ($r^2 < 0.70$) miktar tayini sonuçlarına dahil edilmemişlerdir. İlk örnekleme döneminde en yüksek PBDE konsantrasyonu, Işıklı istasyonundan örneklenen sazan balıklarında PBDE-100 için 1.3 ± 0.3 ng/g yaş doku (Ortalama \pm Standart Hata) olacak şekilde, en düşük ise Söke istasyonundan örneklenen sazan balıklarında PBDE-17 ve PBDE-100 maddesinde 0.1 ± 0.02 ng/g yaş doku ve 0.1 ± 0.04 ng/g yaş doku olacak şekilde saptanmıştır. İkinci örnekleme döneminde en yüksek PBDE konsantrasyonu Sarayköy istasyonundan örneklenen sazan balıklarında PBDE-66 için 0.77 ± 0.25 ng/g yaş doku olacak şekilde, en düşük ise Söke istasyonundan örneklenen sazan balıklarında PBDE-17 için 0.1 ± 0.03 ng/g yaş doku olacak şekilde saptanmıştır.

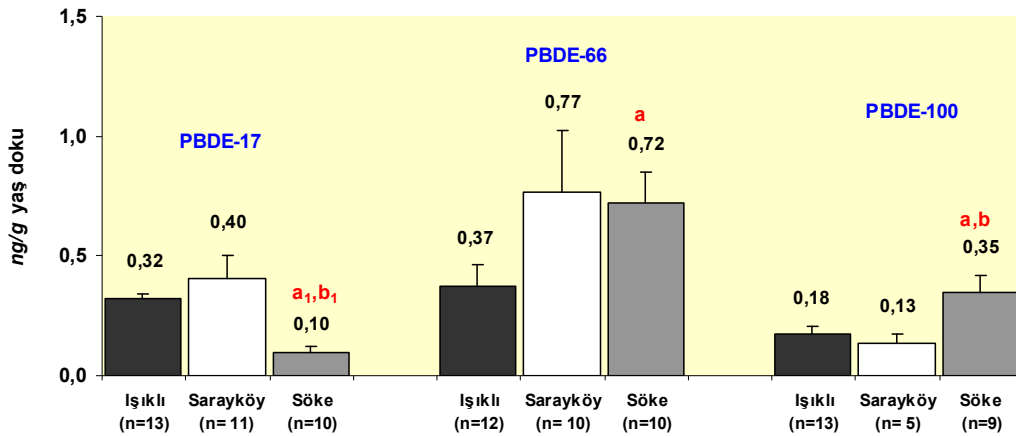


Şekil III.3. I. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde PBDE türevlerinin konsantrasyon ortalamaları (ng/g yaş doku). Sonuçlar Ortalama Konsantrasyon \pm Standart Hata olarak bildirilmiştir. **a**: $p < 0.05$ ve **a₁**: $p < 0.01$ Işıklı istasyonuna göre, **b**: $p < 0.05$ ve **b₁**: $p < 0.01$ Sarayköy istasyonuna göre.

Birinci örnekleme dönemi sazan karaciğerlerinde PBDE-17 en yüksek konsantrasyonda Sarayköy'den sağlanan örneklerde ölçülmüştür. Işıklı'dan sağlanan örneklerde ölçülen PBDE-17 miktarı Sarayköy ortalamasına çok yakındır. Söke

istasyonunda saptanan PBDE-17 miktarı, diğer her iki istasyona göre istatistiksel açıdan önemli derecede düşüktür (Şekil III.3., sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.01$). PBDE-66 konsantrasyon ortalaması, Işıklı ve Sarayköy örneklerinde aynı, Söke örneklerinde ise daha yüksektir, ancak bu yükseklik istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Bunun nedeni, Söke ortalaması varyasyonunun büyük olmasıdır (Şekil III.3.). Işıklı istasyonunda saptanan PBDE-100 ortalaması, Sarayköy ve Söke ortalamasına göre anlamlı derecede yüksektir (Şekil III.3., sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.01$). PBDE-66'ya benzer şekilde Sarayköy'de PBDE-100 ortalaması Söke ortalamasından yüksek olmasına karşın standart hatasının büyük olması, aradaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz olmasına yol açmıştır.

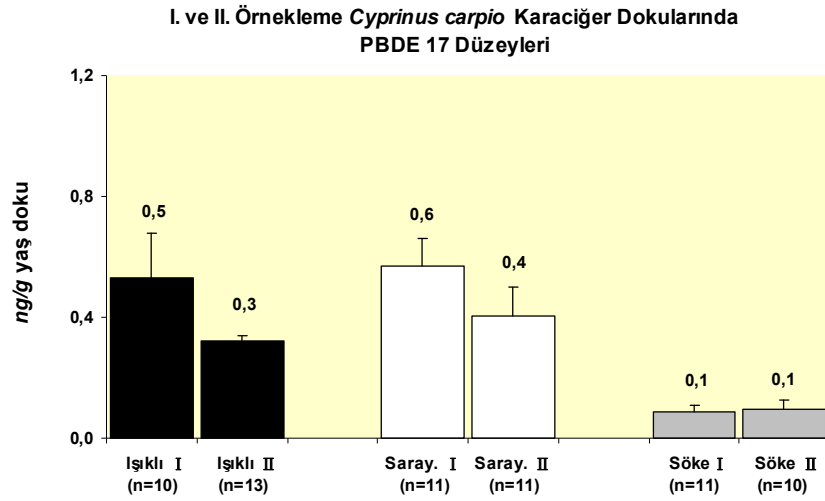
II. Örnekleme *Cyprinus carpio* Karaciğer Dokularında PBDE Düzeyleri



Şekil III.4. II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde PBDE türevlerinin konsantrasyon ortalamaları (ng/g yaş doku). Sonuçlar Ortalama Konsantrasyon ± Standart Hata olarak bildirilmiştir. **a**: $p<0.05$ ve **a₁**: $p<0.01$ Işıklı istasyonuna göre, **b**: $p<0.05$ ve **b₁**: $p<0.01$ Sarayköy istasyonuna göre.

İkinci örnekleme dönemi sazan karaciğerlerinde PBDE-17, en yüksek konsantrasyonda Sarayköy istasyonundan yakalanan örneklerde, daha sonra Işıklı'dan yakalanan örneklerde saptanmıştır, ancak ikisi arasındaki fark önemsizdir.

Söke'den yakalanan örneklerdeki PBDE-17 ortalaması ise diğer iki istasyondaki değerlere göre önemli derecede farklı bulunmuştur (Şekil III.4., sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.01$). PBDE-66 konsantrasyonu en yüksek düzeyde Sarayköy istasyonundan yakalanan örneklerde, daha sonra Söke'de saptanmıştır, ancak aralarında anlamlı bir fark yoktur. Işıklı örneklerindeki PBDE-66 konsantrasyonu Söke'ye göre önemli derecede düşüktür (Şekil III.4., $p<0.05$). Sarayköy'den yakalanan örneklerde varyasyonun yüksek olması, bu ortalamının Işıklı'ya göre farklı olmamasına neden olmuştur. PBDE-100 ilk örnekleme sonuçlarının aksine en yüksek konsantrasyonda Söke örneklerinde saptanmıştır, bu istasyonda saptanan değer, diğer iki istasyona göre anlamlı derecede yüksektir (Şekil III.4., sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.05$).

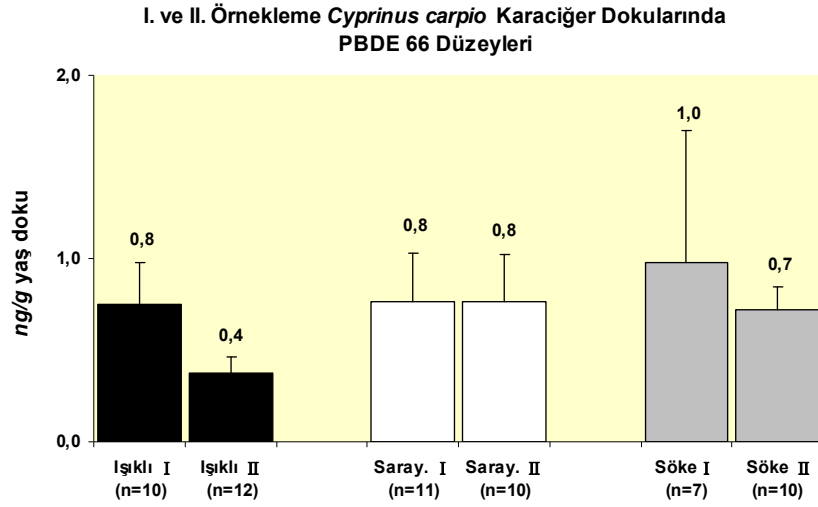


Şekil III.5. I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde PBDE-17 konsantrasyon ortalamaları (*ng/g yaş doku*). Sonuçlar *Ortalama Konsantrasyon ± Standart Hata* olarak bildirilmiştir.

Birinci örnekleme dönemi ve ikinci örnekleme döneminde aynı istasyonda sazan karaciğer dokularında saptanan kirletici düzeyleri, Şekil III.5., III.6. ve III.7'de karşılaştırılmıştır. PBDE-17'ye baktığımızda Işıklı ve Sarayköy istasyonlarında 2. Dönemde saptanan değerler, ilk döneme göre daha düşüktür, ancak aradaki fark

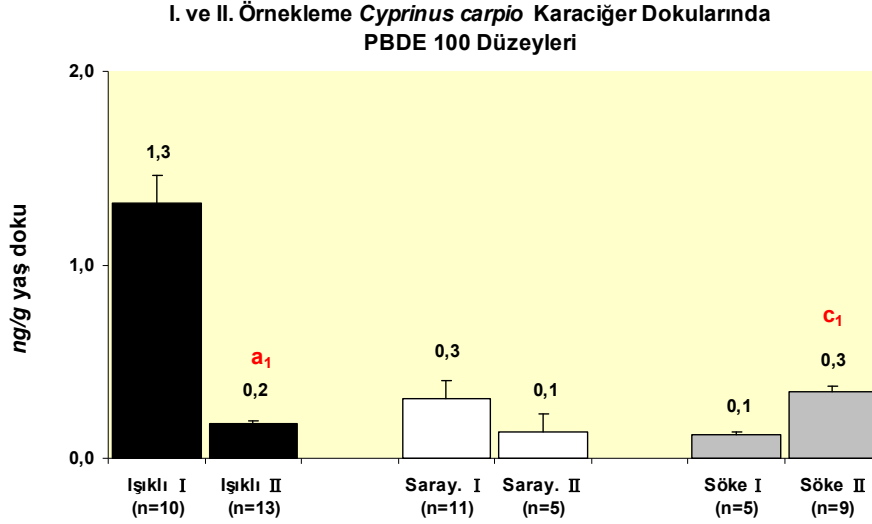
varyasyonun büyük olması nedeniyle istatistiksel açıdan önemsizdir (Şekil III.5.)

Söke’de ise her iki dönemde ölçülen PBDE-17 ortalaması aynı çıkmıştır.



Şekil III.6. I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde PBDE-66 konsantrasyon ortalamaları (*ng/g yaş doku*). Sonuçlar *Ortalama Konsantrasyon ± Standart Hata* olarak bildirilmiştir.

PBDE-66’ya bakıldığında bu kez Işıklı ve Söke istasyonlarında ilk örnekleme ortalamalarının sayısal değer olarak 2. örnekleme ortalamalarından daha yüksek olduğu, ancak ortalamalar çok farklı olsa da standart hatanın yüksekliğinden dolayı aradaki farkın önemsiz olduğu görülmektedir. Sarayköy istasyonu ortalamaları ise 1. ve 2. örneklemede aynı çıkmıştır (Şekil III.6.).



Şekil III.7. I. ve II. Örnekleme döneminde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde PBDE-100 konsantrasyon ortalamaları (*ng/g yaş doku*). Sonuçlar *Ortalama Konsantrasyon ± Standart Hata* olarak bildirilmiştir. **a**: $p < 0.05$ ve **a₁**: $p < 0.01$ Işıklı istasyonu I. örnekleme sonucuna göre, **b**: $p < 0.05$ ve **b₁**: $p < 0.01$ Sarayköy istasyonu I. örnekleme sonucuna göre, **c**: $p < 0.05$ ve **c₁**: $p < 0.01$ Söke istasyonu I. örnekleme sonucuna göre.

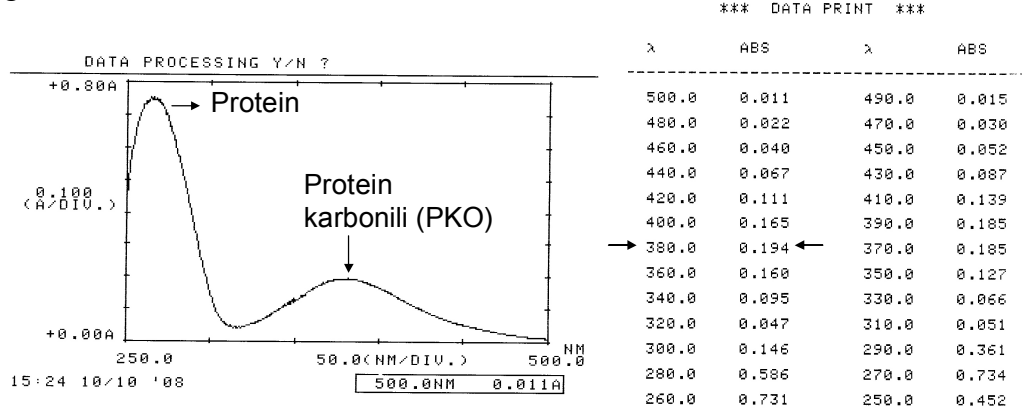
Birinci örnekleme dönemindeki Işıklı'dan toplanan örneklerdeki PBDE-100 konsantrasyonu ortalaması, ikinci örnekleme dönemine göre anlamlı derecede yüksektir (Şekil III.7, $p < 0.01$). Sarayköy istasyonunda da benzer bir yükseklik olmasına karşın her iki ortalamanın standart hatasının da yüksek olması nedeniyle fark önemsizdir. Söke istasyonunda ise Işıklı istasyonu sonuçlarının aksine 2. örnekleme ortalaması ilk örnekleme göre önemli derecede yüksektir (Şekil III.7. $p < 0.01$).

III.3. Su örneklerinde PBDE Miktar Ölçüm Sonuçları

Her iki örnekleme döneminde toplanan su örneklerinin analizlerinde gözlenen PBDE türevlerinin konsantrasyonları, LOQ sınır değerinin altında bulunmuştur. Bu nedenle miktar tayini yapılamamıştır.

III.4. Balık Karaciğer Dokularında Protein Oksidasyonu Ölçümü Bulguları

Bölüm II’de anlatıldığı şekilde protein oksidasyonu ön çalışmalarında 250-500 nm dalga boyu aralığında alınan spektrumlarda PKO, 380 nm’de maksimum absorpsiyon yapmıştır, şekil III.8’de örnek bir UV-spektrumu ve absorpsiyon tablosu görülmektedir.

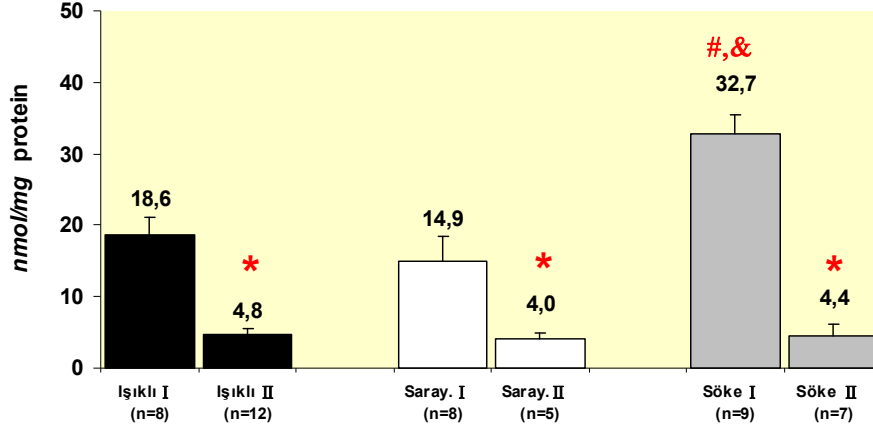


Şekil III.8. I. Örnekleme döneminde Söke istasyonlarından elde edilen MSE5 kodlu sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneğinin 250-500 nm dalga boyu aralığında alınmış UV-spektrumu.

Her analiz gününde UV spektrum alınarak maksimum absorpsiyon kontrol edilmiştir.

İlk ve 2. Örnekleme döneminde elde edilen karaciğer örneklerinde protein oksidasyonu düzeyleri, karşılaştırmalı olarak şekil III.9’da verilmiştir. Elde edilen ortalama PKO değerleri önce aynı istasyon içinde 1. ve 2. örnekleme arasında, daha sonra ise istasyonlar arasında istatistiksel olarak farkın önem testine (*t testi*) tabi tutulmuşlardır.

I. ve II. Örnekleme *Cyprinus carpio* Karaciğer Dokularında Protein Karbonil Düzeyleri



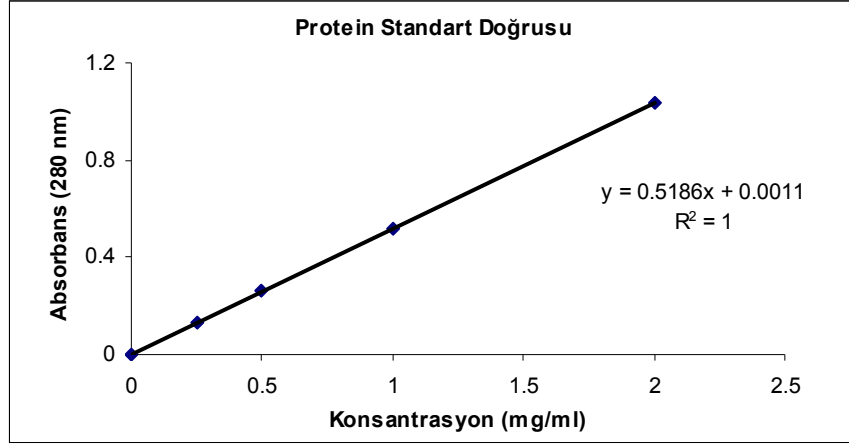
Şekil III.9. I. ve II. Örnekleme dönemlerinde Işıklı, Sarayköy ve Söke istasyonlarından elde edilen sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğer örneklerinde karşılaştırmalı olarak protein oksidasyonu düzeyleri (*nmol/mg protein*). Sonuçlar Ortalama Konsantrasyon \pm Standart Hata olarak bildirilmiştir. *: $p < 0.05$, Aynı istasyon I. örnekleme sonucuna göre, #: $p < 0.05$, Işıklı istasyonu I. örnekleme sonucuna göre, &: $p < 0.05$, Sarayköy istasyonu I. örnekleme sonucuna göre.

Örneğin içerdiği total protein başına hesaplanarak normalize edilen PKO değerlerine göre birinci örnekleme döneminde Söke istasyonunda diğer iki istasyona göre anlamlı derecede yüksek protein oksidasyonu saptanmıştır (Şekil III.9), bu fark %1 yanılma değeri ile oldukça güçlüdür. Herbir istasyon kendi içinde 1. ve 2. örnekleme değerleri açısından kıyaslandığında, tüm istasyonlarda 2. dönem karaciğer örneklerinde protein oksidasyonunun önemli derecede azaldığı gözlenmiştir.

III.4.1. Protein Standart Doğrusunun Çizimi

Bölüm II.'de anlatıldığı şekilde örneklerde ölçülen PKO düzeyleri, örneğin içerdiği total protein başına verilerek normalize edilmiş ve farklı ortalamaların birbiri ile kıyaslanabilmesi sağlanmıştır. Bu amaçla her analiz günü, standart BSA kullanılarak 0.25, 0.5, 1 ve 2 *mg/mL* konsantrasyonlarda protein standart doğrusu

izdirilmiştir (şekil III.10). Elde edilen doğru denklemi, örneklerin içerdiği total protein miktarının hesaplanmasında kullanılmıştır.



şekil III.10. Sığır Serum Albümini (BSA) kullanılarak hazırlanan örnek bir protein kalibrasyon doğrusu.

BÖLÜM IV

IV TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında amacımız, Ege Bölgesinin ve ülkenin en büyük akarsularından olan ve toplam 600 km'lik bir havza ile tarım ve balıkçılık gibi sektörleri ilgilendiren Büyük Menderes Nehri'nde sazan balıklarında, önemli çevresel kirleticilerden olan PBDE yapısındaki bileşiklerin düzeylerini saptamak, ayrıca bu kirliliğe bağlı olarak balık karaciğer dokusunda protein oksidatif hasarının derecesini belirlemektir. Bu araştırmada nehir üzerinde 3 istasyon belirlenerek 1 yıl içinde 2 ayrı dönemde örnekleme yapılarak hem istasyonlar arasında, hem de 2 farklı dönem arasında karşılaştırma yapılmıştır. Böylece kirliliğe maruz kalan tatlısu balıklarından sazanların karaciğer protein oksidasyonundaki değişimlerin, önemli bir çevresel kirletici grubu olan PBDE'lere maruziyetin göstergesi olarak kullanılıp kullanılmayacağı test edilmiş, bunun sonucunda da aynı maddelere maruz kalan insanlardaki durumun ortaya konması açısından veri sağlanmıştır.

İnsanlar bu çevresel kirleticilere ana olarak besin amaçlı tükettikleri balık ve diğer su ürünleri, kasaplık ve kümes hayvanlarının etleri, ev içi ve dışında solunan hava, meyve-sebze ve içme suyundaki kalıntılar yoluyla maruz kalmaktadırlar. Besin olarak makbul olan sazan balıklarının bölgede yaşayanlarca tüketilen karaciğer dokularında PBDE miktar tayini yapılarak insanların maruz kalacağı kirletici miktarları hakkında farklı dönemlere ait veri sağlamak amaçlarımız arasındadır. Eczacı olarak bu yolla maruz kalınması muhtemel kirletici düzeylerinin insanlarda neden olacağı toksik etkileri öngörmenin yanı sıra bir başka amacımız, tamamı halojen (brom) taşıyan söz konusu kirleticilerin vücutta önemli bir işleve sahip olan proteinlerin (örneğin ilaç biyotransformasyonunda rol alan enzimler) oksidasyonuna

neden olarak, bölgede yaşayan insanlarda ilaç etkinliği ve toksisitesini nasıl değiştirebileceği hakkında fikir edinmektir.

Bu tez çalışmasının da içinde olduğu projenin planlanıp gerçekleştirilmesinin bir başka nedeni, yukarıda anlatılan sonuçlara ulaşabilmek için Büyük Menderes havzasında DSİ tarafından en son 2007 yılında yapılan su kalitesi izleme çalışmaları ve uluslar arası literatürde ulaşılabilen ülkemiz kaynaklı bir makale dışında canlı ve cansız ortamda gerçekleştirilmiş kimyasal kirlilik çalışması olmamasıdır (212, 213). DSİ tarafından yaptırılan çalışmalarda su kalitesi parametreleri sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen içeriği, bor, metaller gibi fiziksel ve inorganik parametrelerin yanında organik olarak elementel analiz ya da grup halinde toplam fenolik bileşikler gibi parametrelerden oluşmaktadır. Uluslar arası literatüre girmiş olan diğer çalışmada ise Büyük Menderes'te 21 istasyonda yüzey suyu kalitesini belirlemek için elektriksel iletim, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOD), kimyasal oksijen ihtiyacı (COD) gibi parametreler ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel bir faktör analiziyle değerlendirilmiştir (213).

Çevresel toksikoloji ve ekotoksikoloji çalışmalarında kirleticilerin çevresel düzeylerinin biyolojik olarak izlenmesinde balık türleri sıklıkla kullanılır. Bu çalışmada, sucul besin zincirinde merkezi konumu nedeniyle, ayrıca insanlar tarafından bol tüketilmesi nedeniyle sazan balığı test organizması olarak seçilmiştir.

Tez çalışmasında öncelikle PBDE'lerin doku konsantrasyonlarının doğru ve güvenilir bir biçimde ölçülebilmesi amacıyla yöntemimizin analitik validasyonu yapılmıştır. Sonuçları Tablo III.1'de verilen parametrelere baktığımızda, gün içi ve günler arası varyasyonun, PBDE'lerin fizikokimyasal özellikleri nedeniyle biraz yüksek olsa da kabul edilebilir düzeyde olduğu görülmektedir. LOD değerleri açısından, kurmuş ve uygulamış olduğumuz GC-ECD yönteminin, seçtiğimiz

PBDE'lerin kesin bir şekilde belirlenebilmelerine ve miktar tayinlerinin yapılabilmesine imkân sağlayacak düzeyde olduğu görülmektedir. Miktar tayininde kullandığımız 5, 10 ve 20 $pg/\mu L$ konsantrasyonda kalibrasyon çözeltilerinin her biri için elde ettiğimiz doğruluk değerleri tatmin edici düzeydedir, en düşük konsantrasyonda maksimum sapma %14.1 olmakla birlikte en yüksek konsantrasyondaki maksimum sapma % 4.4 civarındadır. Genelde olduğu gibi en yüksek sapmalar daha düşük konsantrasyonlarda gözlenmiştir.

Kalibrasyon doğru denklemlerine ve regresyon katsayılarına göre doğrusallığın yeterli olduğu görülmektedir (Tablo III.1.).

Analizlerin sürdüğü 4 gün boyunca örneklerdeki miktarların ne kadar güvenli ölçüldüklerinin bir kriteri olarak konsantrasyon açısından özdeş olarak hazırlanarak derin dondurucuda saklanan ve her analiz serisine 2 adet eklenen kalite kontrol örneklerinden elde edilen sonuçlardan Shewhart grafikleri hazırlanmıştır (Şekil III.1.). Analiz süresi boyunca ölçülmesi gereken teorik konsantrasyon, grafikte merkezdeki yeşil çizgi ile, ± 2 SD (standart sapma) sınırları kesikli mavi çizgi ile, ± 3 SD sınırları ise kırmızı kesikli çizgi ile gösterilmiştir. Kalite kontrol örneklerinde ölçülen iki değer ± 2 SD sınırına, ya da sadece bir değer ± 3 SD sınırına değmesi durumunda istatistiksel açıdan analiz güvenilirliğini kaybettiğinden tekrarlanması gerekir. Sonuçlarımızın hiçbirinde iki değer aynı anda ± 2 SD sınırına, ya da sadece bir değer ± 3 SD sınırına temas etmemektedir (Şekil III.1.). Bu durum, miktar tayininin yeterli kalitede olduğunu göstermektedir.

PBDE türevlerinin GC-ECD analizine yönelik örnek bir kromatogram, Şekil III.2'de verilmiştir. Uzunluk olarak standart 30 m yerine 50 m özel GC kolonu kullanmamız sonucunda, analiz edilen tüm maddelerin kromatografik olarak yeterli

düzeyde kolondan elüe oldukları ve dolayısıyla güvenli bir biçimde ölçülebildikleri görülmektedir.

Tez çalışması kapsamında Menderes Nehri havzasında üç istasyon seçilmiştir. İlk istasyon olan Işıklı Gölü, Büyük Menderes Nehri'nin ana kaynağıdır ve çevresinde endüstri ve tarım yoğun olmadığı için temiz olduğu var sayılabilir. İkinci istasyon olan Sarayköy tekstil, kağıt beyazlatma ve çeşitli endüstrilerin bulunduğu bir bölgedir. Son istasyon ise nehrin ağzı olan Söke Deltası'dır. Deltanın da içinde bulunduğu Söke ovası her yıl temiz toprak girişi nedeniyle çok verimlidir ve nehrin çevresinde tarım gelişmiştir, dolayısıyla "pestisit" olarak adlandırdığımız tarım ilaçları bu bölgede yoğun kullanılmaktadır. Çevrede PBDE'lerin kaynağı "*Genel Bilgiler*" Bölümü'nde bahsedildiği şekilde PBDE içeren atıklar, çöpler ve bunların yakılması, iç mekanlardan atmosfere salınma, üretim, taşıma ya da kullanım sırasında çevreye yayılan miktarlar ve atmosferdeki partiküllere tutunma sonucu uzak bölgelerden taşınımıdır. Analizleri gerçekleştirdiğimiz her 3 istasyon için bu potansiyel kaynaklar geçerlidir. Bunun yanı sıra çevresel kirlenici olarak PBDE türevlerinin çevrede izlenmesi, bu konuda genel kirlilik analizleri dünyada da oldukça yeni bir konudur, bu maddelerin çevresel kirlilik açısından kritik kimyasallar listesine dahil edilmeleri ancak 2009 yılı Mayıs ayında gerçekleşmiştir (16).

Bu tez çalışmasında analiz ettiğimiz istasyonlarda bulduğumuz PBDE doku konsantrasyonlarını Türkiye ve dünyada yapılmış kısıtlı sayıdaki benzer çalışma sonuçlarıyla kıyasladığımızda, özellikle aynı doku olan karaciğerde karşılaştırılabilir sonuçlar elde ettiğimiz görülmektedir (Tablo IV.1.). Buna karşın muhtemelen kas dokusunun yağ içeriğinin karaciğer dokusuna göre düşük olması nedeniyle kas dokusunda daha düşük düzeyler ölçülmüştür.

Tablo IV.1. Tez çalışmasında elde edilen sazan karaciğeri PBDE konsantrasyonlarının literatürde yer alan sazan karaciğer, kas dokusu ve yumurta PBDE konsantrasyonları ile karşılaştırılması

MADDE	Balık Doku Konsantrasyonu (ng/g yaş doku) / (ng/g yağ)			Balık Doku Konsantrasyonu (ng/g yaş doku)				Balık Doku Konsantrasyonu (ng/g yağ)						
	TEZ Büyük Menderes (2009)			Ceyhan Nehri (2003) (25)				Erie gölü (2006) (214)	Nonkang Nehri (2007-2008) (39)					
	Işıklı Sazan kc.	Sarayköy Sazan kc.	Söke Sazan kc.	sazan kas	sazan kc.	akçapak kas	yayın kas	sazan kas	sazan kc	sazan kas	sazan yumurta	havuz sazanı kas	havuz sazanı kc	havuz sazanı yumurta
PBDE-17	0.53*	0.57	0.09	-	-	-	-	-	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	10.90	18.63	1.69											
	0.32	0.40	0.10											
	7.16	12.98	2.28											
PBDE-66	0.75	0.76	0.98	-	-	-	-	-	2.1	1.4	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	16.63	25.03	18.70											
	0.37	0.77	0.72											
	8.09	26.58	0.72											
PBDE-100	1.32	0.31	0.12	N.D.	-	0.04	0.04	10.1	5.3	2.1	2.6	1.9	0.79	0.54
	28.75	9.62	2.37											
	0.18	0.13	0.35											
	3.94	3.60	8.82											
Σ PBDE	2.60	1.65	1.19	0.15	39	0.67	0.5	-	-	-	-	-	-	-
	56.29	53.28	22.76											
	0.87	1.31	1.17											
	19.18	43.16	11.83											

* İlk 3 sütun satırlarında yer alan bu tez çalışması sonuçları, her bir madde için:
1. satır ilk örnekleme değeri, 2. satır 2. örnekleme değeri (*italik*) olacak şekilde verilmiştir.

Örneklemelelerin yapıldığı 2 farklı dönem açısından değerlendirildiğinde genellikle Temmuz ayında elde edilen 2. dönem örneklerinde PBDE düzeylerinde bir azalma eğilimi olmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı azalma sadece Işıklı istasyonunda, PBDE-100 maddesinde gözlenmiştir (Şekil III.7.). Söke istasyonunda ise aynı madde için anlamlı bir artış söz konusudur. Aynı şekilde 2 farklı dönemde karaciğer dokusunda protein oksidasyonu düzeyleri karşılaştırıldığında 3 istasyonun tamamında 1. döneme göre 2. dönemde anlamlı azalmalar belirlenmiştir. Kirletici düzeylerindeki azalma eğilimi ile PKO düzeylerinde azalma oldukça uyumludur, ancak Söke istasyonunda bu genel korelasyon dışında bir ilişki gözlenmesi, en azından bu istasyon için PKO oluşumunda farklı etkenlerin rol oynamış olabileceğini göstermektedir (Şekil III.7. ve III.9). İstasyonlar arasında kıyaslama yapıldığında birinci örnekleme döneminde en yüksek protein oksidasyonunun Söke örneklerinde olduğu gözlenmiştir (Şekil III.9). İkinci dönemde bu anlamlı yükseklik, PKO düzeylerindeki genel düşme ile birlikte yok olmuştur. İlk dönemde PKO düzeyinin Söke’de en yüksek olması, bu istasyonda farklı etkenlerin protein oksidasyonunda rol oynamış olabileceği tezini güçlendirmektedir. Söke istasyonundaki bu çelişkiye karşın diğer iki istasyondaki genel eğilim açısından PKO düzeylerinin PBDE’lere maruziyetin biyogöstergesi olarak kullanılma potansiyeli olduğu söylenebilir. PBDE türevleriyle yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda hücre içinde oksidatif stresi indüklemeleri (99-101, 177, 215) bu görüşü desteklemektedir.

Karaciğer dokularında analiz edilen her üç PBDE türevinin rahatlıkla belirlenmesine karşın aynı istasyonlardan sağlanan su örneklerinde PBDE ölçülememesi, bu maddelerin yağda çok iyi çözünmelerine karşın suda çok az çözünmeleri ve bu nedenle sudaki çok düşük miktarların da sürekli yağlı dokulara geçerek birikmeleri sonucudur.

Bu tez çalışmasının bir başka amacı, bu bölümün ilk paragrafında vurgulandığı üzere balıklarda ölçtüğümüz PBDE miktarlarını kullanarak bu balıkları tüketen insanlarda tahmini PBDE maruziyetini hesaplamak ve bir risk değerlendirmesi yapmaktır. Literatüre baktığımızda ölçtüğümüz PBDE türevlerinden PBDE-100'ün de içinde olduğu penta türevi PBDE'ler (PBDE 82-127) için ADI değerinin bulunduğunu görmekteyiz.

Bu balıkları tüketen bireylerin maruz kalacağı PBDE miktarlarını “en kötü senaryo” yaklaşımı ile hesaplamak amacıyla aşağıdaki değerler esas alınmıştır:

Bir porsiyonluk balık ağırlığı: 300 g

Yetişkin birey ağırlığı: 70 kg

Bir yetişkinin günlük tüketebileceği en çok balık miktarı

Kas dokusu ($3 \times 300 = 900$ g) *günde 3 balık tüketildiği varsayılarak*

Karaciğer dokusu ($3 \times 1.5 = 4.5$ g)

TOPLAM = 904.5 g

Bu değerler esas alınarak olası maruziyet düzeyleri hesaplanmış ve aşağıdaki tabloda (Tablo IV.2.) yetişkin bir insanın bir günde herhangi bir olumsuz sağlık riskine maruz kalmaksızın tüketebileceği maksimum kontaminant miktarları (ADI değeri) ile kıyaslamalı olarak bildirilmiştir.

Tablo IV.2. Penta türevi PBDE'lerin ADI Değeri ve 3 istasyondan avlanan balıkları tüketmekle günlük maruz kalınabilecek maksimum miktarları.

Madde	ADI (ng/kg vücut ağırlığı)	Maruz kalınan miktar (ng/kg vücut ağırlığı)		
		İŞIKLI SARAYKÖY	SÖKE	
PentaBDE	2000 (216)	16.79*	3.87*	1.29*
		2.3**	1.6**	4.52**

*: Birinci örnelemeye ait değerler

** : İkinci örnelemeye ait değerler

Bulunan değerler, ADI değerleri ile karşılaştırıldığında çok düşük oldukları görülmektedir. Ancak PBDE türevlerine tek maruziyet kaynağının su ürünleri olmadığı unutulmamalıdır. Balık tüketiminin yanı sıra ev tozları ve atmosfer, PBDE eklenmiş cihazların kullanımı ve tüketici ürünlerinin kullanılması, kontamine et, süt, meyve ve sebzelerin tüketilmesi gibi yollarla, ayrıca mesleki olarak da PBDE maruziyeti mümkündür. Dolayısıyla tam bir toksikolojik risk değerlendirmesi yapabilmek amacıyla bu parametrelerin de analiz edilmesi gerekir.

ÖZET

Büyük Menderes Havzasında Çoklu Bromlu Bifenil Kirliliği ve Sucul Sistem Canlılarında Protein Oksidasyonu Üzerine Etkileri

Ege Bölgesi ve ülkemizin en büyük akarsularından biri olan Büyük Menderes Nehri havzasında sazan balıkları (*Cyprinus carpio*) karaciğer dokusunda polibromlu difenil eter (PBDE) kirliliği boyutları ve söz konusu kirliliğin protein oksidasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla nehir üzerinde 3 istasyon belirlenerek 1 yıl içinde 2 ayrı dönemde örnekleme yapılarak 3 PBDE türevi madde ve protein karbonili (PKO) ölçülmüştür. Böylece hem istasyonlar arasında, hem de 2 farklı dönem arasında karşılaştırma yapılmıştır. Kirliliğe maruz kalan sazanların karaciğer proteini karbonil düzeylerinin, önemli bir çevresel kirlenici grubu olan PBDE'lere maruziyetin göstergesi olarak kullanılıp kullanılamayacağı test edilmiş, bunun sonucunda da aynı maddelere maruz kalan insanlardaki durumun ortaya konması açısından veri sağlanmıştır. Aynı dokuda elde edilen PBDE konsantrasyonu ve protein karbonil miktarı ilişkisi analiz edilmiş, ayrıca referans “temiz” bölge, endüstriyel kirlilik bölgesi ve tarımsal aktivite bölgesi olarak öngörülen 3 istasyondan farklı 2 dönemde elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı yorumlanmıştır. PBDE türevleri gaz kromatografisi-elektron yakalayıcı deteksiyon sistemi (GC-ECD) ile, protein karbonilleri ise çift ışık yollu spektrofotometrede kantitatif analiz ile belirlenmiştir. Genel olarak, ilk örnekleme döneminde en kirlili bölge, referans olarak düşünülen Işıklı iken, ikinci örnekleme döneminde ise endüstri bölgesi olan Sarayköy'dür. Sazan karaciğerlerinde dönemsel olarak saptanan PBDE konsantrasyonları yaz döneminde azalma eğilimindedir. İlk dönemde protein oksidasyonu en yüksek düzeyde Söke'de, ikinci dönemde ise Işıklı'da saptanmıştır. Örneklerde PBDE konsantrasyonu ile protein karbonil miktarları arasında zayıf doğrusal bir ilişki göze çarpmaktadır. Bir başka ilginç sonuç, başlangıçta referans bölge olabileceği düşünülen Işıklı Gölü'nün öngörüldüğü kadar “temiz” olmaması, en az diğer iki istasyon kadar ve bazı türevler için daha yüksek oranda PBDE türevlerini içerdiği bulunmuştur. Aynı bölgelerden sağlanan su örneklerinde beklenildiği gibi PBDE ölçülemedi. Sonuçlar, protein karbonil miktarının PBDE maruziyeti ile önemli derecede arttığını ve bu maruziyetin biyogöstergesi olarak kullanılabilirliklerini göstermektedir. Tüm istasyonlardan alınan balık örneklerinde PBDE türevleri yaz döneminde kışa oranla azalma eğilimindedir. Ayrıca bu bölgede yakalanan balıkları tüketen insanlarda PBDE maruziyetinin basit bir risk değerlendirmesi yapıldığında, maruz kalınabilecek miktarların toksikolojik risk sınırlarının altında kaldığı bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: PBDE, Büyük Menderes, sazan, biyogösterge, protein karbonili, maruziyet, toksikolojik risk değerlendirmesi

ABSTRACT

Polybrominated Biphenyl Pollution in Büyük Menderes Basin and Its Effect on Protein Oxidation in Living Organisms of Aquatic System

The dimensions of polybrominated diphenyl ether (PBDE) pollution and its effect on protein oxidation in carp (*Cyprinus carpio*) liver tissues from Büyük Menderes river basin, which is one of the biggest river of Ege Region and Turkey, have been investigated. In order to accomplish this, 3 polybrominated diphenyl ether congeners and protein carbonyls (PCO) have been measured in three stations in two different sampling periods in a year. By doing this, comparisons have been made both between three stations and two sampling periods. It has been tested whether PCO level of PBDE-exposed fishes can be used as a marker for PBDE exposure, and data were obtained for predicting the similar situation in humans. The correlation between PBDE concentration and PCO amount has been analyzed, and results from two different seasons of three stations which attributed as reference site, industrial site and agriculture site have been evaluated in a comparable manner. PBDE congeners have been measured by gas chromatography-electron capture detection (GC-ECD), and PCO have been determined by quantitative analysis in double beam spectrophotometer. In general, the most polluted site in the first period is Işıklı, which was previously supposed to be “reference”, and in the second period is the industrial area, Sarayköy. PBDE levels in carp liver tend to decrease in summer period. The highest PCO levels in the first period have been determined in Söke, while in the second period in Işıklı. Even not very strong, a linear correlation between PCO and PBDE levels has been observed. Another interesting finding was that Işıklı Lake is not that “clean” as it has been attributed, it contains PBDEs as high as other two stations. PBDEs have not been measured in water samples from the same sites, as expected. Findings pointed that PCO levels are increased with PBDE levels, and it can be used as a marker of PBDE exposure. PBDE levels tend to decrease in all stations in summer period. In addition, when the risk assessment of PBDE exposure of humans has been done, it has been concluded that the exposed concentrations by consuming those fishes are well below the toxicological limit values (acceptable daily intake).

Key words: PBDEs, Buyuk Menderes, carp, biomarker, protein carbonyl derivates, exposure, toxicological risk assessment

KAYNAKLAR

1. <http://ta8an.tr.gg/Yang%26%23305%3Bn-%26%23304%3Bstatistikleri.htm>
2. Karter M. J. (2002). Fire Loss in the United States During 2001. Quincy, MA:NFPA. Available: <http://www.nfpa.org/PDF/2001FireLoss.PDF?src=nfpa> [accessed 10 November 2003]
3. Dawson R. B. (2002). Benefits of brominated flame retardants in electrical and electronic equipment. In: Proceedings of the Brominated Flame Retardants and Electronics Conference and Roundtable, San Francisco, CA. Available: http://www.greenstart.org/efc9/bfrs/conf_ppts.htm [accessed 25 October 2002]
4. Klaassen C. D. (2001). Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Sixth Edition. McGraw-Hill Medical Publishing Division, USA
5. Goutner V., Albanis T., Konstantinou I., Papakonstantinou K.. (2001). PCBs and organochlorine pesticide residues in eggs of Audouin's gull (*Larus audouinii*) in the north-eastern Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.*, 42(5): 377-388
6. Albanis T. A., Goutner V., Konstantinou I.K., Frigis K. (2003). Organochlorine contaminants in eggs of the yellow-legged gull (*Larus cachinnans michahellis*) in the North Eastern Mediterranean: is this gull a suitable biomonitor for the region? *Environ. Pollut.*, 126: 245-255
7. Rahman F., Langford K. H., Scrimshaw M. D., Lester J. N. (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Sci. Total Environ.*, 275:1-17
8. Birnbaum L., Staskal D. F., Diliberto J.J. (2003). Health effects of polybrominated dibenzo-*p*-dioxins (PBDDs) and dibenzofurans (PBDFs). *Environ. Int.*, 29: 855–860
9. WHO. (1994). Brominated Diphenyl Ethers. Environmental Health Criteria 162: Geneva: World Health Organization
10. Kuryla W. C., Papa A. J. (1991) Flame retardants in polymeric materials. New York: Marcel Dekker

11. National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. (2001). Polybrominated Flame Retardants (PBFs) Priority Existing Chemical Assessment Report No. 20
12. Dunkel A. E. (1975). An updating on the polybrominated biphenyl disaster in Michigan. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 167:838–841
13. Dybing E., Soderlund E. J., Nelson S. D. (1980). Irreversible macromolecular binding of the flame retardant tris-(2, 3-dibromopropyl) phosphate in vitro and in vivo. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.*, 8: 265-268
14. Soderlund E., Dybing E., Nelson S. D. (1980). Nephrotoxicity and hepatotoxicity of tris(2,3-dibromopropyl)phosphate in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56: 171-181
15. Alae M, Arias P., Sjödin A., Bergman A. (2003). An Overview Of Commercially Used Brominated Flame Retardants, Their Applications, Their Use Patterns in Different Countries/Regions and Possible Models of Release. *Environ. Int.*, 29: 683-689
16. Persistent Organic Pollutants and the Stockholm Convention (2001): A Resource Guide, Resource Futures International.
17. Vonderheide A. P., Mueller K. E., Meija J., Welsh G. L. (2008). Polybrominated diphenyl ethers: Causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity. *Sci. Total Environ.*, 400: 425-436
18. Birnbaum L. S, Staskal D. F. (2004). Brominated flame retardants: cause for concern? *Environ. Health Perspect.*, 112:9-17
19. deWit C. A. (2002). An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46:583-624
20. Hale R. Alae M., Manchester-Neesvig J., Stapleton H.M., Ikonou M.G. (2003). Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the North American environment. *Environ Int.*, 29:771-779

21. Remberger M., Sternbeck J., Palm A., Kaj L., Stromberg K., Brorstrom-Lunden E. (2004). The environmental occurrence of hexabromocyclododecane in Sweden. *Chemosphere*, 54:9-21
22. Stapleton H. M., Dodder N. G., Offenberg J. H., Schantz M. M., Wise S. A. (2005). Polybrominated Diphenyl Ethers in House Dust and Clothes Dryer Lint. *Environ. Sci. Technol.*, 39:925-931
23. Erdogru O., Covaci A., Schepens P. (2005). Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey. *Environ. Int.*, 31:703-711
24. Cetin B., Odabasi M. (2008). Atmospheric concentrations and phase partitioning of polybrominated diphenyl ethers in İzmir, Turkey. *Chemosphere*, 71: 1067-1078
25. Watanabe I., Tatsukawa R. (1990). Anthropogenic brominated aromatics in the Japanese environment. Proceedings of the Workshops on Brominated Flame Retardants. Stockholm, Sweden: *National Chemicals Inspectorate (KEMI)*, 63– 71
26. Watanabe I., Sakai S. (2003). Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environ. Int.*, 29:665-682
27. Fackler P. H. (1989). Bioconcentration and Elimination of 14C residues by Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) Exposed to Tetrabromobisphenol A. Report No. 89-3-2952
28. Wareham M.A. (1989). Determination of the Biodegradability of Tetrabromobisphenol A in Soil under Aerobic Conditions. Report No. 88-11-2848. Springborn Life Sciences, Inc
29. Jakobsson K., Thuresson K., Rylander L., Sjobin A., Hagmar L., Bergman A. (2002). Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians. *Chemosphere*, 46:709–716
30. WHO. (1995). Tetrabromobisphenol A and Derivatives. Environmental Health Criteria 172. Geneva: World Health Organization

31. Leisewitz A., Kruse H., Schramm E. (2001). Substituting environmentally relevant flame retardants: Assessment fundamentals UBA-FB 0001.71/1. Berlin, Germany: Federal Ministry of the Environment, Nature Conservation, and Nuclear Safety
32. Lacorte S., Guillamon M., Martinez E., Viana P., Barcelo D. (2003). Occurrence and specific congener profile of 40 polybrominated diphenyl ethers in river and coastal sediments from Portugal. *Environ. Sci. Technol.*, 37:892-898
33. Soederstroem G., Sellstroem U., de Wit C. A., Tysklind M. (2004). Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209). *Environ. Sci. Technol.*, 38:127-132
34. Stapleton H. M., Alaei M., Letcher R. J., Baker J. E. (2004). Debromination of the flame retardant decabromodiphenyl ether by juvenile carp (*Cyprinus carpio*) following dietary exposure. *Environ. Sci. Technol.*, 38:112-119
35. Alaei M., Wenning R. J. (2002). The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges. *Chemosphere*, 46:579-582
36. Zweidinger R. A., Cooper S. D., Erickson M. D., Michael L. C., Pellizzair E. D. (1979). Sampling and analysis for semi volatile brominated organics in ambient air. In: Monitoring Toxic Substances (Schuetzle D, ed). ACS Symposium Series, Washington, DC: American Chemical Society, 94:217–231
37. Watanabe I., Kashimoto T., Tatsukawa R. (1983). The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan. *Chemosphere*, 12:1533–1839
38. Watanabe I., Kashimoto T., Tatsukawa R. (1983). Identification of the flame retardant tetrabromobisphenol A in the river sediment and the mussel collected in Osaka. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 31: 48–52
39. Xu J., Gao Z., Xian Q., Yu H., Feng J. (2009). Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the freshwater environment surrounding a PBDE manufacturing plant in China. *Environ. Pollut.*, 157:1911–1916

40. Schecter A., Pavuk M., Papke O., Ryan J. J., Birnbaum L. S., Rosen R. (2003). Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in U.S. Mother's Milk. *Environ. Health Perspect.*, 111: 1723-1729
41. Sjödin A., Carlsson H., Thuresson K., Sjölin S., Bergman A., Ostman C. (2001). Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 448-454
42. Schecter A., Pöpke O., Tung K-C., Staskal D., Birnbaum L. (2004). Polybrominated Diphenyl Ethers Contamination of United States Food. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 5306-5311
43. Schecter A., Papke O., Joseph J. E., Tung K. C. (2005). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. computers and domestic carpet vacuuming: possible sources of human exposure. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, 68: 501-513
44. Harrad S., Ibarra C., Diamond M., et al. (2008). Polybrominated diphenyl ethers in domestic indoor dust from Canada, New Zealand, United Kingdom and United States. *Environ. Int.*, 34: 232-238
45. Jones-Otazo H. A., Clarke J. P., Diamond M. L., et al. (2005). Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 5121-5130
46. Wilford B. H., Shoeib M., Harner T., Zhu J., Jones K. C. (2005). Polybrominated diphenyl ethers in indoor dust in Ottawa, Canada: implications for sources and exposure. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 7027-7035
47. Wu T., Herrman T., Papke O., et al. (2007). Human exposure to PBDEs: associations of PBDE body burdens with food consumption and house dust concentrations. *Environ. Sci. Technol.*, 41: 1584-1589
48. Eriksson P., Viberg H., Jakobsson E., Orn U., Fredriksson A. (2002). A brominated flame retardant, 2,2',4,4',5,5'-pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioural alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicol. Sci.*, 67: 98-103

49. Hallgren S., Sinjari T., Hakansson H., Darnerud P. O. (2001). Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Arch Toxicol.*, 75: 200-208
50. Leo T. M., van der Ven, Verhoef A., van de Kuil T., Slob W., Leonards P. E. G., Visser T. J., Hamers T., Herlin M., Hakansson H., Olausson H., Piersma A. H., Vos J. G. (2006). A 28-Day Oral Dose Toxicity Study Enhanced to Detect Endocrine Effects of Hexabromocyclododecane in Wistar Rats. *Toxicol. Scien.*, 94(2): 281–292
51. Mariussen E., Fonnum F. (2003). The effect of brominated flame retardants on neurotransmitter uptake into rat brain synaptosomes and vesicles. *Neurochem. Int.*, 43: 533–542
52. Boecker R. H., Schwind B., Kraus V., Pullen S., Tiegs G. (2001). Cellular disturbances by various brominated flame retardants. Second International Workshop on Brominated Flame Retardants, 14–16 May 2001, Stockholm, Sweden
53. Pullen S., Boecker R., Tiegs G. (2003). The flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrabromobisphenol A-bisallylether suppress the induction of interleukin-2 receptor alpha chain (CD25) in murine splenocytes. *Toxicol.*, 184: 11–22
54. Kester M. H., Bulduk S., van Toor H., Tibboel D., Meinel W., Glatt H., et al. (2002). Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated metabolites of polyhalogenated aromatic hydrocarbons reveals alternative mechanism for estrogenic activity of endocrine disrupters. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87:1142–1150
55. National Research Council. (2000). Decabromodiphenyl oxide. In: Toxicological Risks of Selected Flame-Retardant Chemicals. Washington, DC:National Academy Press, 72–98. Available: <http://www.nap.edu/books/0309070473/html/> [accessed 10 November 2003]
56. Chengelis CP. (1997). A 28-Day Repeated Oral Dose Toxicity Study of HBCD in Rats. WIL-186004, BFRIP 2.0-WIL HBCD. Arlington, VA:Brominated Flame Retardant Industry Panel, Chemical Manufacturers Association

57. Eriksson P., Viberg H., Fischer M., Wallin M, Fredriksson A. (2002). A comparison on developmental neurotoxic effects of hexabromocyclododecane, 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ether. *Organohalogen Compd.*, 57: 389-392
58. Mariussen E., Fonnum F. (2002). The effect of pentabromodiphenyl ether, hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol-A on dopamine uptake into rat brain synaptosomes. *Organohalogen Compd.*, 57: 395–399
59. Shi H., Wang X., Luo Y., Su Y. (2005). Electron paramagnetic resonance evidence of hydroxyl radical generation and oxidative damage induced by tetrabromobisphenol A in *Carassius auratus*. *Aquat. Toxicol.*, 74: 365–371
60. Hoffman D. J., Rattner B. A., Burton G. A., Cairns J. (2003). Handbook of Ecotoxicology. Second Edition. Lewis Publishers. A CRC Pres Company, Florida
61. OECD. (1994). OECD Environment Monograph Series No. 102: Risk Reduction Monograph No. 3 (Selected Brominated Flame Retardants)
62. Resmi Gazete: 14.04.2009, No.27200
63. Resmi Gazete: 30.07.2009, No.27304
64. POP İzleme: Çevre ve Sağlık Çalıştayı (2010): Bildiri Özetleri, Antalya
65. Danish EPA. Brominated flame retardants: substance flow analysis and assessment of alternatives, <http://www.indymedia.org/media/2009/07/926988.pdf>
66. Troitzsch J. International plastic flammability handbook. (1990). 2nd ed. Munich, Germany: Hanser
67. Darnerud P. O., Eriksen G. S, Jóhannesson T., Larsen P. B., Viluksela M. (2001). Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ. Health Perspect.*, 109(1):49-68
68. Dye J. A., Venier M., Zhu L., Ward C. R., Hites R. A., Birnbaum L. S. (2007). Elevated PBDE levels in pet cats: sentinels for humans? *Environ. Sci. Technol.*, 41: 6350-6356

69. Sjodin A., Hagmar L., Klasson-Wehler E., Kronholm-Diab K., Jakobsson E., Bergman (1999). A. Flame retardant exposure: polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. *Environ. Health Perspect.*, 107: 643-648
70. Athanasiadou M., Cuadra S. N., Marsh G., Bergman A., Jakobsson K. (2008). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and bioaccumulative hydroxylated PBDE metabolites in young humans from Managua, Nicaragua. *Environ. Health Perspect.*, 116: 400-408
71. Costa G. L., Giordano G., Tagliaferri S., Caglieri A., Mutti A. (2008). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants: environmental contamination, human body burden and potential adverse health effects. *Acta. Biomed.*, 79: 172-183
72. Pijnenburg A. M. C. M., Evert J. W., de Boer J., Boon J. P. (1995). Polybrominated biphenyl and biphenyl ether flame retardants: analysis toxicity and environmental occurrence. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 141:1-26
73. Allchin C. R., Law R. J., Morris S. (1999). Polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota downstream of potential sources in the UK. *Environ Pollut.*, 105:197-207
74. Alcock R. E., Sweetman A., Jones K. C. (1999). Assessment of organic contaminant fate in waste water treatment plants. I: Selected compounds and physicochemical properties. *Chemosphere*; 38(10): 2247-2262
75. Webster L., Russell M., Walsham P., Moffat C. F. (2006). Fisheries Research Services Internal Report No 06/06, <http://www.scotland.gov.uk/Uploads/Documents/IR0606.pdf>
76. OSPAR Commission. (2001). Certain Brominated Flame Retardants-Polybrominated diphenyl ethers, polybrominated biphenyls, hexabromo cyclododecane, OSPAR Priority Substances. OSPAR Commission, London
77. Haglund P. S., Zook D. R., Buser H-S., Hu J. (1997). Identification and quantification of polybrominated diphenyl ethers and methoxy-polybrominated diphenyl ethers in Baltic biota. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 3281-3287

78. Sellström U., Jansson B., Kierkegaard A., de Wit C. (1993). Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in biological samples from the Swedish environment. *Chemosphere*, 26: 1703–1718
79. Burreau S., Broman D., Zebühr Y. (1999). Biomagnification quantification of PBDEs in fish using stable nitrogen isotopes. *Organohalogen Compd.*, 40: 363–366
80. Ellis-Hutchings R. G., Cherr G. N., Hanna L. A., Keen C. L. (2006). Polybrominated diphenyl ether (PBDE)-induced alterations in vitamin A and thyroid hormone concentrations in the rat during lactation and early postnatal development. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 215: 135-145
81. Zhou T., Ross D. G., DeVito M. J., Crofton K. M. (2001). Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci.*, 61:76–82
82. Zhou, T., Taylor, M. M., DeVito M. J., Crofton, K. M., (2002). Developmental exposure to polybrominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol. Sci.*, 66:105–116
83. Skarman E., Darnerud P.O., Ohrvik H., Oskarsson A. (2005). Reduced thyroxine levels in mice perinatally exposed to polybrominated diphenyl ethers. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 19:273–281
84. Rice D. C., Reeve, E. A., Herlihy A., Zoeller, R. T., Thompson W. D., Markowski V. P. (2007). Developmental delays and locomotor activity in the C57BL6/J mouse following neonatal exposure to the fully brominated PBDE, decabromodiphenyl ether. *Neurotoxicol. Teratol.*, 29:511–520
85. Haddow J. E., Palomaki G. E., Allan W. C., Williams J. R., Knight G. J., Gagnon J., O’Heir C. E., Mitchell M. L., Hermos R. J., Waisbren S. E., Faix J. D., Klein R. Z. (1999). Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N. Engl. J. Med.*, 341:549–555

86. Branchi I., Capone F., Alleva E., Costa L.G. (2003). Polybrominated diphenyl ethers: neurobehavioral effects following developmental exposure. *Neurotoxicology*, 24:449–462
87. McDonald T. A. (2005). Polybrominated diphenylether levels among United States residents: daily intake and risk of harm to the developing brain and reproductive organs. *Integr. Environ. Assess. Manag.*, 1: 343–354
88. Costa L. G., Giordano G. (2007). Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Neurotoxicology*, 28: 1047–1067
89. Eriksson P., Jakobson E., Fredriksson A. (2001). Brominated flame retardants: a novel class of developmental neurotoxicants in our environment? *Environ. Health Perspect.*, 109: 903–908
90. Branchi I., Alleva E., Costa L.G. (2002). Effects of perinatal exposure to a polybrominated diphenyl ether (PBDE 99) on mouse neurobehavioral development. *Neurotoxicology*, 23: 375–384
91. Viberg H., Fredriksson A., Eriksson P. (2003). Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behavior, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 192: 95–106
92. Viberg H., Johansson N., Fredriksson A., Eriksson J., Marsh G., Eriksson P. (2006). Neonatal exposure to higher polybrominated diphenyl ethers, hepta-, octa-, or nonabromodiphenyl ether, impairs spontaneous behavior and learning and memory functions in adult mice. *Toxicol. Sci.*, 92: 211–218
93. Dufault C., Poles G., Driscoll L.L. (2005). Brief postnatal PBDE exposure alters learning and the cholinergic modulation of attention in rats. *Toxicol. Sci.*, 88: 172–180
94. Gee J. R., Moser V. C. (2008). Acute postnatal exposure to brominated diphenylether 47 delays neuromotor ontogeny and alters motor activity in mice. *Neurotoxicol. Teratol.*, 30: 79–87

95. Stoker T. E., Cooper R. L., Lambright C. S., Wilson V. S., Furr J., Gray L. E. (2005). In vivo and in vitro anti-androgenic effects of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 207:78–88
96. Lilienthal H., Hack A., Roth-Harer A., Grande S.W., Talsness C. E. (2006). Effects of developmental exposure of 2,2',4,4',5- pentabromodiphenyl ether (PBDE-99) on sex steroids, sexual development, and sexually dimorphic behavior in rats. *Environ. Health. Perspect.*, 114: 194-201
97. Birchmeier K. L., Smith K. A., Passino-Reader D. R., Sweet L. I., Chernyak S. M., Adams J. V., Omann G. M. (2005). Effects of selected polybrominated diphenyl ether flame retardants on lake trout (*Salvelinus namaycush*) thymocyte viability, apoptosis, and necrosis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 24:1518–1522
98. Madia F., Giordano G., Fattori V., Vitalone A., Branchi I., Capone F., Costa L. G. (2004). Differential in vitro neurotoxicity of the flame retardant PBDE-99 and of the PCB Aroclor 1254 in human astrocytoma cells. *Toxicol. Lett.*, 154: 11–21
99. Reistad T., Fonnum F., Mariussen E. (2006). Neurotoxicity of the pentabrominated diphenyl ether mixture, DE-71, and hexabromocyclododecane (HBCD) in rat cerebellar granule cells in vitro. *Arch. Toxicol.*, 80: 785–796
100. He W., He P., Wang A., Xia T., Xu B., Zhang M., Chen X., (2008). PBDE-47-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis in primary cultured hippocampal neurons. *Neurotoxicology*, 29: 124–129
101. He W., He P., Wang A., Xia T., Xu B., Chen X. (2008). Effects of BDE-47 on cytotoxicity and genotoxicity in human neuroblastoma cells in vitro. *Mutat. Res.*, 649: 62–70
102. Kodavanti P. R. S., Ward T. R. (2005). Differential effects of commercial polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyl mixtures on intracellular signaling in rat brain in vitro. *Toxicol. Sci.*, 85: 952–962
103. Dingemans M. M. L., Ramakers G. M. J., Gardoni F., van Kleef G. D. M., Bergman A., Di Luca M., van der Berg M., Westerink R. H. S., Vijverberg H. P. M. (2007).

- Neonatal exposure to brominated flame retardant BDE-47 reduces long-term potentiation and postsynaptic protein levels in mouse hippocampus. *Environ. Health Perspect.* 115: 865–870
104. Erdogrul O., Covaci A., Kurtul N., Schepens P. (2004). Levels of organohalogenated persistent pollutants in human milk from Kahramanmaras region, Turkey. *Environ. Int.*, 30: 659-666
 105. Voorspoels S., Covaci A., Neels H., Schepens P. (2007). Dietary PBDE intake: A market-basket study in Belgium. *Environ. Int.*, 33:93-97
 106. Karakaya A. E. (2000). Toksikolojinin Temel Kavramları. Editörler: Bökesoy T. A., Çakıcı İ., Melli M. Farmakoloji Ders Kitabı, Ankara
 107. EPA. (1984). Health and environmental effects profile for brominated diphenyl ethers. Environ criteria and assessment office, Cincinnati. US Environmental Protection Agency.
 108. EU (1999). Draft Risk assessment of diphenyl ether, pentabromo derivative (pentabromodiphenyl ether, of diphenyl ether, octabromo derivative, of bis(pentabromophenyl)ether (decabromodiphenyl ether).
 109. Carlson G. P. (1980). Induction of xenobiotic metabolism in rats by brominated diphenyl ethers administrated for 90 days. *Toxicol. Lett.*, 6:207-212.
 110. Kierkegaard A., *et al.* (1999). Dietary uptake and biological effects of decabromodiphenyl ether in rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci. Technol.*, 33: 1612-1617
 111. WHO (1994). Polybrominated biphenyls. International programme on substancesafety. Environmental health criteria 152. World Health Organization.
 112. Hardy M.L. (1997). Regulatory status and environmental properties of brominated flame retardants undergoing risk assessment in the EU: DBDPO, OBDPO, PeBDPO and HBDCD. Presenterad vid 6th European meeting on fire retardancy of polymeric materials. Sept 24-26, 1997 Lille, Frankrike

113. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2004). Toxicological Profile for Polybrominated Diphenyl Ethers and Polybrominated Biphenyls. <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp68-c10.pdf>
114. Hooper K., McDonald T. A. (2000). The PBDEs: an emerging environmental challenge and another reason for breast milk monitoring programs. *Environ Health Perspect.*, 108(5): 387-392
115. De Boer J., Wester P., Klamer H. J. C., Lewis W. E., Boon J. P. Do (1998). Flame retardants threaten ocean life? *Nature*, 394: 28-29
116. Bieniek D., Bahadir M., Kortte F. (1989). Formation of heterocyclic hazardous compounds by thermal degradation of organic compounds. *Heterocycles*, 28:719-722
117. Watanabe I., Kashimoto T., Tatsukawa R. (1987). Polybrominated diphenyl ethers in marine fish, shellfish and river sediments in Japan. *Chemosphere*, 16:2389-2396
118. Palm A., Cousins I. T., Mackay D., Tysklind M., Metcalfe C., Alae M. (2002). Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. *Environ. Pollut.*, 117:195–213
119. Gouin T., Harner T. (2003). Modelling the fate of the polybrominated diphenyl ethers. *Environ. Int.*, 29:717–724
120. Song M., Chu S., Letcher R. J., Seth R. (2006) Fate, partitioning, and mass loading of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) during the treatment processing of municipal sewage. *Environ. Sci. Tech.*, 40:6241–6246
121. Ahn M. Y., Filley T. R., Jafvert C. T., Nies L., Hua I., Bezares-Cruz J. (2006). Photodegradation of decabromodiphenyl ether adsorbed onto clay minerals, metal oxides and sediment. *Environ. Sci. Tech.*, 40:215–220
122. Eriksson J., Green N., Marsh G., Bergman A. (2004). Photochemical decomposition of 15 polybrominated diphenyl ether congeners in methanol/water. *Environ. Sci. Tech.*, 38:3119–3125

123. Gerecke A. C., Hartmann P. C., Heeb N. V., Kohler H. E., Giger W., Schmid P., Zennegg M., Kohler M. (2005). Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether. *Environ. Sci. Tech.*, 39:1078–1083
124. He J., Robrock K. R., Alvarez-Cohen L. (2006). Microbial reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Environ. Sci. Tech.*, 40:4429–4434
125. Stapleton H. M., Dodder N. G. (2008). Photodegradation of decabromodiphenyl ether in house dust by natural sunlight. *Environ. Toxicol. Chem.*, 27:306–312
126. Tokarz J. A., Ahn M., Leng J., Filley T. R., Nies L. (2008). Reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers in anaerobic sediment and a biomimetic system. *Environ. Sci. Tech.*, 42:1157–1164
127. Vonderheide A. P., Mueller S. R., Meija J., Welsh G. L., Mueller K. E., Kinkle B. K., Shann J. R., Caruso J. A. (2006). Rapid breakdown of brominated flame retardants by soil microorganisms. *J. Anal. At. Spectrom.*, 21:1232–1239
128. Eriksson P., Jakobsson E., Fredriksson A. (1998). Developmental neurotoxicity of brominated flame-retardants, polybrominated diphenyl ethers and tetrabromo-bisphenol A. *Organohalogen Compd.*, 35: 375-377
129. OECD (1997). SIDS draft report (Sponsored by UK). Risk assessment of diphenyl ether, pentabromo derivative (pentabromodiphenyl ether). Report of October 1997
130. Fowles J., Fairbrother A., Baecher-Steppan L., Kerkvliet N. (1994). Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J mice. *Toxicology*, 86: 49-61
131. Hale R. C., La Guardia M. J., Harvey E., Gaylor M. O., Mainor T. M. (2006). Brominated flame retardant concentrations and trends in abiotic media. *Chemosphere*, 64: 181-186
132. Hazrati S., Harrad S. (2006). Causes of variability in concentrations of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in indoor air. *Environ. Sci. Tech.*, 40: 7584-7589

133. Agrell C., ter Schure A. F. H., Sveder J., Bokenstrand A., Larsson P., Zegers B. N. (2004). Polybrominated diphenyl ethers (PBDES) at a solid waste incineration plant I: atmospheric concentrations. *Atmos. Environ.*, 38:5139–5148
134. Hale R. C., La Guardia M. J., Harvey E., Mainor T. M. (2002). Potential role of fire retardant-treated polyurethane foam as a source of brominated diphenyl ethers to the US environment. *Chemosphere*, 46:729–735
135. Leung A. O. W., Luksemburg W. J., Wong A. S., Wong M. H. (2007). Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in soil and combusted residue at Guiyu, an electronic waste recycling site in southeast China. *Environ Sci Tech.*, 41:2730-2737
136. Breivik K., Wania F., Muir D. C. G., Alaee M., Backus S., Pacepavicius G. (2006). Empirical and modeling evidence of the long-range atmospheric transport of decabromodiphenyl ether. *Environ. Sci. Tech.*, 40:461-468
137. Hassanin A., Breivik K., Meijer S. N., Steinnes E., Thomas G. O., Jones K. C. (2004). PBDEs in European background soils: levels and factors controlling their distribution. *Environ Sci Tech.*, 38:738-745
138. Streets S. S., Henderson S. A., Stoner A. D., Carlson D. L., Simcik M. F., Swackhamer D. L. (2006). Partitioning and bioaccumulation of PBDEs and PCBs in Lake Michigan. *Environ Sci Tech.*, 40:7263-7269
139. Harrad S., Hunter S. (2006). Concentrations of polybrominated diphenyl ethers in air and soil on a rural–urban transect across a major UK conurbation. *Environ. Sci. Tech.*, 40: 4548–4553
140. Zou M., Ran Y., Gong J., Mai B., Zeng E. Y. (2007). Polybrominated diphenyl ethers in watershed soils of the Pearl River Delta, China: occurrence, inventory, and fate. *Environ. Sci. Tech.*, 41: 8262-8267
141. Sellström U., De Wit C. A., Lundgren N., Tysklind M. (2005). Effect of sewage-sludge application on concentrations of higher-brominated diphenyl ethers in soils and earthworms. *Environ. Sci. Tech.*, 39:9064-9070

142. Goel A., McConnell L. L., Torrents A., Scudlark J. R., Simonich S. (2006) .Spray irrigation of treated municipal wastewater as a potential source of atmospheric PBDEs. *Environ. Sci. Tech.*, 40: 2142-2148
143. Covaci A., Gheorghe A., Hulea O., Schepens P. (2006). Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environ. Pollut.*, 140 :136-149
144. Wang D., Cai Z., Jiang G., Leung A., Wong M.H., Wong W. K. (2005). Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility. *Chemosphere.*, 60: 810–816
145. Boer J., Wester P.G., Horst A., Leonards P.E.G. (2003). Polybrominated diphenyl ethers in influents, suspended particulate matter, sediments, sewage treatment plant and effluents and biota from the Netherlands. *Environ. Pollut.*, 122: 63–74
146. Blais J. M., MacDonald R. W., Mackay D., Webster E., Harvey C., Smol J. P. (2007). Biologically mediated transport of contaminants to aquatic systems. *Environ. Sci. Technol.*, 41:1075–1084
147. Hites R. A., Foran J. A., Schwager S. J., Knuth B. A., Hamilton M. C., Carpenter D. O. (2004). Global assessment of polybrominated diphenyl ethers in farmed and wild salmon. *Environ. Sci. Technol.*, 38:4945-4949
148. NTP (2001). Technical Pentabromodiphenyl Ether, Technical Octabromodiphenyl Ether, Tetrabromodiphenyl Ether, Pentabromodiphenyl Ether, Hexabromodiphenyl Ether: Review of Toxicological Literature. National Toxicology Program. Research Triangle Park, NC
149. Ikonomou M.G, Rayne S., Addison R. F. (2002). Exponential increases of the brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. *Environ. Sci. Technol.*, 36:1886-1892

150. Lebeuf M., Gouteux B., Measures L., Trottier S. (2004). Levels and temporal trends (1988-1999) of polybrominated diphenyl ethers in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Canada. *Environ. Sci. Technol.*, 38:2971-2977
151. Norstrom R. J., Simon M., Moisey J., Wakeford B., Weseloh D. V. (2002). Geographical distribution (2000) and temporal trends (1981-2000) of brominated diphenyl ethers in Great Lakes herring gull eggs. *Environ. Sci. Technol.*, 36:4783-4789
152. Zhu L.Y., Hites R. A. (2004). Temporal trends and spatial distributions of brominated flame retardants in archived fishes from the Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 2779-2784
153. Morck A., Hakk H., Orn U., Wehler E. K. (2003). Decabromodiphenyl ether in the rat: absorption, distribution, metabolism, and excretion. *Drug Metab. Dispos.*, 31:900-907
154. Stapleton H. M., Letcher R. J., Baker J. E. (2004). Debromination of polybrominated diphenyl ether congeners BDE 99 and BDE 183 in the intestinal tract of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environ. Sci. Technol.*, 38:1054-1061
155. Tomy G. T., Palace V. P., Halldorson T., Braekevelt E., Danell R., Wautier K., Evans B., Brinkworth L., Fisk A. T. (2004). Bioaccumulation, biotransformation, and biochemical effects of brominated diphenyl ethers in juvenile lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Environ. Sci. Technol.*, 38:1496-1504
156. Teuten E. L., Xu L., Reddy C. M. (2005). Two abundant bioaccumulated halogenated compounds are natural products. *Science*, 307:917-920
157. Jaraczewska K., Lulek J., Covaci A., Voorspoels S., Kaluba-Skotarczak A., Drews K., Schepens P. (2006). Distribution of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers in human umbilical cord serum, maternal serum and milk from Wielkopolska region, Poland. *Sci. Total Environ.*, 372: 20–31
158. Lorber M. et al (2007). Exposure of Americans to polybrominated diphenylethers. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.*, 18:2-19

159. Karlsson M., Julander A., van Bavel B., Hardell L. (2007). Levels of brominated flame retardants in blood in relation to levels in household air and dust. *Environ. Int.*, 33:62–69
160. Schechter A., Papke O., Harris T. R., Tung K. C., Musamba A., Olson J., Birnbaum L. (2006). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. *Environ. Health Perspect.*, 114:1515–1520
161. Bi X., Thomas G. O., Jones K. C., Qu W., Sheng G., Martin F. L., Fu J. (2007). Exposure of electronics dismantling workers to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides in South China. *Environ. Sci. Tech.*, 41:5647–5653
162. Antignac J. P., Maume D., Marchand P., Monteau F., Zalko D., Beerebi A., Cravedi J. P., Andre F., Le Bizec B., Cariou R. (2006). Exposure assesment of fetus and newborn to brominated flame retardants in France: preliminary data. *Organohalogen Compd.*, 68: 790-793
163. Meneses M., Wingfors H., Seuhmacher M., Domingo J. L., Lindström G., Bavel B. V. (1999). Polybrominated diphenyl ethers in human adipose tissue from *Chemosphere*, 39(13): 2271-2278
164. Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaie A., (2004). Pesticides and oxidative stress : a review. *Med. Sci. Monit.*, 10: 141-147
165. Janssen Y. M. W., Houten B. V., Borm P. J. A., Mossman B. T. (1993). Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.*, 69: 261-274
166. Özdem S. S., Sadan G., (1994). Serbest oksijen radikallerinin olusumu ve klinik açidan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.*, 11: 63-71
167. Sinclair A. J., Barnett A. H., Junec J. (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *British J. Hosp. Med.*, 43: 334-344

168. Yagi K. (1994). Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine. (in) Free Radicals in Diagnostic Medicine. D Armstrong (Editor), pp. 17-27, Plenum Press, New York
169. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. (1989) Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd edn., Clarendon Press, Oxford
170. Droge W. (2003). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82: 47–95
171. Ames B. N., Shigenaga M. K., Hagen T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:7915–7922
172. de Zwart L.L. (1997). Development of non-invasive biomarkers for free radical induced damage. PhD Thesis, Amsterdam-The Netherlands
173. Serafini M., Del Rio D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Rep.*, 9(3):145- 152
174. Davies, M. J., Fu S., Wang H., Dean R. T. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in study of human disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 27: 1151–1161
175. Lackner R. (1998). “Oxidative stress” in fish by environmental pollutants. In: Braunbeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds.), *Fish Ecotoxicology*. Birkhauser Verlag, Basel, pp. 203–224
176. Livingstone D. R., Mitchelmore C. L., O’Hara S. C. M., Lemaire P., Sturve J., Forlin, L. (2000). Increased potential for NAD(P)H dependent reactive oxygen species production of hepatic subcellular fractions of fish species with in vivo exposure to contaminants. *Mar. Environ. Res.* 50: 57–60
177. Fernie K. J., Shutt J. L., Mayne G., Hoffman D., Letcher R. J., Drouillard K. G., Ritchie I. J. (2005). Exposure to Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): Changes in Thyroid, Vitamin A, Glutathione Homeostasis, and Oxidative Stress in American Kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicol. Sci.*, 88(2): 375–383

178. Dawn B. M., Allan D. M., Colleen M. S. (1996). Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Publisher: Lippincott Williams & Wilkins
179. Orhan H. (2007). Analyses of Representative Biomarkers of exposure and effect by chromatographic, mass spectrometric and nuclear magnetic resonance techniques: Method development and application in life sciences. *J. Sep. Sci.*, 30: 149-174
180. Lippincott W., Lippincott W., Baltimore, Maryland, Tietz N. W. (1995). Clinical Guide to Laboratory Tests. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania
181. Burtis C. A., Ashwood E. R. (1999). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania
182. Atasayar S., Gurer-Orhan H., Orhan H., Gurel B., Girgin G., Ozgunes H. (2009). Preventive effect of aminoguanidine compared to vitamin E and C on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 61: 23-32
183. Orhan H., Gurer-Orhan H., Vriese E., Vermeulen N. P. E., Meerman J. H. N. (2006). Application of lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers for oxidative damage in mammalian cells-A comparison with two fluorescent probes. *Toxicol. In Vitro.*, 20(6): 1005-1013
184. Orhan H., Evelo C. T. A., Sahin G. (2005). Erythrocyte antioxidant defense response against cigarette smoking in humans-The glutathione S-transferase vulnerability. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 19(4): 226-233
185. Orhan H, van Holland B, Krab B, Moeken J, Vermeulen NPE, Hollander P, Meerman JHN. (2004). Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: Increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radic. Res.*, 38 (12): 1269-1279
186. Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullou M., (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64: 178-189
187. Shigenaga M. K., Ames B. N. (1991). Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Rad. Biol. Med.*, 10: 211-216

188. Kasai H. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage 8- hydroxy-20-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 387: 147–163
189. Loft S., Fischer-Nielsen A., Jeding I. B., Vistisen K., Polsen H. E. (1993). 8-Hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *J. Toxicol. Environ. Health*, 40:391–404
190. European Standards Committee on Urinary (DNA) Lesion Analysis (ESCUA), Evans M. D., Olinski R., Loft S., Cooke M. S. (2010). Toward consensus in the analysis of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a noninvasive biomarker of oxidative stress. *FASEB J.*, 24(4): 1249-1260
191. Orhan H., Vermeulen N. P. E., Tump C., Zappey H., Meerman J. H. N. (2004). Simultaneous determination of tyrosine and phenylalanine oxidation products and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in biological samples as non-invasive multi-parameter biomarker for oxidative damage. *J. Chromatogr. B*, 799(2): 245-254
192. Cathcart R., Schwiers E., Saul R. L., Ames B. N., (1984). Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: a possible assay for oxidative DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 5633–5637
193. Adelman R., Saul R.L., Ames B.N. (1988). Oxidative damage to DNA: Relation to species metabolic rate and life span. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 2706–2708
194. Daneshvar B., Frandsen H., Autrup H., Dragsted L.O. (1997). g-Glutamyl semialdehyde and 2-amino-adipic semialdehyde: biomarkers of oxidative damage to protein. *Biomarkers*, 2: 117–123
195. Huggins T. G., Wells-knecht M. C., Deterie N. A., Baynes J. W., Thorpe S. R. (1993). Formation of o-tyrosine and dityrosine in protein during radiolytic and metal-catalyzed oxidation. *J. Biol. Chem.*, 17:12341–12347
196. Orhan H., Coolen S., Meerman J. H. N. (2005). Quantification of Urinary o,o'-dityrosine, a biomarker for oxidative damage to proteins, by high performance liquid

- chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry- A comparison with ion-trap tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 827: 104-108
197. Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeilliere-Blandin C., Nguyen- Khoa T., Nguyen A. T., Zingraff J., Jungers P., Descamps-Latscha B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 49: 1304–1313
 198. Barbara S., Stadtman B., Stadtman E. R. (1997). Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *J. Biol. Chem.*, 272(33): 20313–20316
 199. Tokur B., Polat A., (2010). Myofibrillar and Sarcoplasmic Protein Oxidation and Degredation of Thin-Lipped Garay Mullet (*Liza Ramada*) During Refrigerated Storage (4C). *J. Muscle Foods*, 21 :102–118
 200. Baron P. C., Kjaersgard I. V. H., Jessen F., Jacobsen C. (2007). Protein and Lipid Oxidation during Frozen Storage of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Agric. Food Chem.* 55: 8118–8125
 201. Forster M. J., Dubey A., Dawson K. M., Stutts W. A., Lal H. Sohal R. S. (1996). Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with oxidative protein damage in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93: 4765-4769
 202. Parvez S., Raisuddin S. (2005). Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 20:112–117
 203. Tokur B., Korkmaz K. (2007). The effects of an iron-catalyzed oxidation system on lipids and proteins of dark muscle fish. *Food Chem.*, 104: 754–760
 204. Levine R. L., Williams J. A., Stadtman E. R., Shacter E. (1994). Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.*, 233: 346–357
 205. Levine R. L., Garland D., Oliver C. N., Amici A., Climent I., Lenz A. G., Ahn B. W., Shaltiel S., Stadtman E. R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 186: 464–478

206. Reznick A. Z., Packer L. (1994). Oxidative damage to proteins—spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.*, 233: 357– 363
207. Keller A., Mohamed A., Dröse S., Brandt U., Fleming I., Brandes R. P. (2004). Analysis of dichlorodihydrofluorescein and dihydrocalcein as probes for the detection of intracellular reactive oxygen species. *Free Radic Res*, 38(12):1257-67
208. Ogino K., Wang D. H. (2007). Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: an approach to disease prevention. *Acta Med Okayama*, 61(4):181-189
209. Kurt P. B., Ozkoc H. B. (2004). A survey to determine levels of chlorinated pesticides and PCBs in mussels and seawater from the Mid-Black Sea Coast of Turkey. *Mar. Pollut. Bull.*, 48:1076–1083
210. Muir D., Savinova T., Savinov V., Alexeeva L., Potelov V., Svetochev V. (2003). Bioaccumulation of PCBs and Chlorinated Pesticides in Seals, Fishes and Invertebrates From the White Sea, Russia. *Sci. Total Environ.*, 306:111-131
211. Berdikova Bohne V. J., Hamre K., Arukwe A. (2007). Hepatic Metabolism, Phase I and II Biotransformation enzymes in Atlantic Salmon (*Salmo Salar L.*) During a 12 week Feedind Period With Graded Levels of The synthetic Antioxidant, Ethoxyquin. *Food Chem. Toxicol.*, 45:733-746
212. Bayraktar A. (2007). Büyük Menderes havzasında bor kirliliği ve jeotermal atık sularının aşağı Büyük Menderes havzasının tarımsal yapısına etkileri. *Kalite Kontrol Teknik Semineri Bildiriler Kitabı*, Bursa
213. Boyacioglu H. (2007). Surface water quality assessment by environmetric methods. *Environ. Monit. Assess.*, 131:371-376
214. Pérez-Fuentetaja A., Lupton S., Clapsadl M., Samara F., Gatto L., Biniakewitz R., Aga D. S. (2010). PCB and PBDE levels in wild common carp (*Cyprinus carpio*) from eastern Lake Erie. *Chemosphere*, 81 :541-547
215. Gurer-Orhan H, Orhan H, Vermeulen NPE, Meerman JHN. (2006). Screening the Oxidative Potential of Several Mono- and Di-Halogenated Biphenyls and Biphenyl Ethers in Rat Hepatocytes. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 9 (6): 449-454

216. Hellström T.(April 2000). Brominated Flame Retardants (PBDE and PBB) in Sludge – a Problem? VAV The Swedish Water and Wastewater Association Report No M 113 (eng)

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Aydın'da doğdum. İlköğrenimimi, orta ve lise öğrenimimi Aydın'da tamamladım. 2003 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde başladığım lisans eğitimimi Ocak 2008 tarihinde tamamladım. Hemen ardından Şubat 2008'de Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans çalışmalarına başladım.