

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TOKSİKOLOJİ BİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ

**BAZI FARMASÖTİK İLAÇ KALINTILARININ  
SULARDAKİ TOKSİK ETKİLERİ**

**(Doktora Tezi)**

**Ayşe Handan DÖKMECİ**

EDİRNE – 2009

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TOKSİKOLOJİ BİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ

**BAZI FARMASÖTİK İLAÇ KALINTILARININ  
SULARDAKİ TOKSİK ETKİLERİ**

**(Doktora Tezi)**

**Ayşe Handan DÖKMECİ**

**Destekleyen Kurum : TÛBAP-120**

**Tez No :**

**EDİRNE – 2009**

## TEŐEKKÜR

Hayatımın ve doktora çalıőmamın her aşamasında bilgisini, tecrubesini ve desteğini esirgemeyen hocam ve canım babam Prof.Dr.İsmet DÖKMECİ'ye her zaman yanımda olduğu için sonsuz teőekkürler. Her zaman bilgileri, hoőgörüleri ve güler yüzleriyle yanımda olan değerli hocalarım Prof.Dr.Ahmet ULUĞÖL, Prof.Dr.Hakan KARADAĞ, Prof.Dr.Dikmen DÖKMECİ, Prof.Dr.Faruk YORULMAZ ve Prof.Dr. Derya AZMAK'a ayrıca Yrd.Doç.Dr.Nesrin TURAN'a teőekkür ederim. Bana laboratuvarını aan sayın hocam Prof.Dr.Hilmi İBAR'a ve çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Araő.Gör. Kenan SEZER ve Erasmus öğrencisi Müjgan HALİL'e, TÜBİTAK MAM'de deneysel çalışmalarında yardımcı olan Sn.Leyla TOLUN'a, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalıőanlarına ve tüm dostlara desteklerinden dolayı teőekkürlerimi sunarım. Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyip yanımda olan sevgili aileme de teőekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
ENDOKRİN MADDELER VE ÇEVRESEL ETKİLERİ.....	3
TIBBİ İLAÇLAR VE KAYNAKLARI.....	5
TIBBİ İLAÇLARIN ÇEVREDEKİ YAZGISI .....	13
TIBBİ İLAÇLARIN ÇEVREDEKİ KONSANTRASYONLARI .....	17
NON-STEROİD ANTIENFLAMATUVAR İLAÇLAR (NSAİİ) .....	20
EKOTOKSİSİTE TESTLERİ.....	22
TIBBİ İLAÇLARIN EKOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİ.....	27
NON-STEROİD ANTIENFLAMATUVAR İLAÇLARIN AKUT ETKİLERİ .....	28
NON-STEROİD ANTIENFLAMATUVAR İLAÇLARIN KRONİK ETKİLERİ.....	32
İLAÇ KARIŞIMLARININ TOKSİSİTESİ VE TOPLU ETKİLERİ .....	33
ÇEVRESEL KONSANTRASYONLARLA EKOTOKSİKOLOJİK ETKİ KONSANTRASYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI .....	36
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	37
ÇALIŞMA ALANININ GENEL ÖZELLİKLERİ .....	37
NUMUNE ALMA YÖNTEMLERİ .....	45
NUMUNELERİN KARAKTERİZASYONU.....	46

KULLANILAN İLAÇLAR VE ÖZELLİKLERİ.....	46
İNKDS (İBUPROFEN, NAPROKSEN, KAFEİN, DİKLOFENAK, SALİSİLİK ASİT) BİLEŞİKLERİNİN TESPİTİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER.....	53
İNKDS BİLEŞİKLERİNİN EKOTOKSİSİTE ÇALIŞMA ŞARTLARININ TESPİTİ .....	57
BULGULAR .....	60
TARTIŞMA.....	73
SONUÇLAR.....	79
TÜRKÇE ÖZET .....	81
İNGİLİZCE ÖZET.....	83
KAYNAKLAR.....	85
RESİMLEMELER LİSTESİ.....	102
ÖZGEÇMİŞ.....	105
EKLER.....	106

## SİMGE VE KISALTMALAR

- AAT:** Atıksu arıtma tesisi  
**AKM:** Askıda katı madde  
**AOX :** Adsorbable organo xenobiotics (*adsorplanabilir organo ksenobiyotikler*)  
**AOX:** Adsorbable Organic Halogens  
**BCF:** Biyokonsantrasyon Faktörü  
**BOİ<sub>5</sub>:** Biyolojik oksijen ihtiyacı  
**BSTFA:** N,O-Bis(trimetil)triflora asetamid  
**CAS:**CAS Registry number  
**COX:** Siklooksijenaz  
**ÇOSB:**Çerkezköy Organize Sanayi Bölgesi  
**DİK:** Diklofenak  
**DOSB:**Deri Organize Sanayi Bölgesi  
**EAAT:** Eysel atıksu arıtma tesisi  
**EA:** Eysel Atıksu  
**EC:** European Committe  
**EC<sub>50</sub>:**Effective Concentration  
**ECOSAR:** Ecological Structure Activity Relationship  
**EDC:** Endocrine Disrupting Chemicals  
**EPA:**Environmental Protection Agency  
**GC :** Gas Chromatography (*Gaz kromatografisi*)  
**HAA:** Heterosiklik Aromatik Aminler  
**HAH:** Halojenlenmiş aromatik hidrokarbonlar  
**HCl:** Hidroklorik asit  
**HMDS:** Hekzametil disilazane  
**İNSD:** İbuprofen, Naproksen,Diklofenak, Salisilik asit  
**İNKDS:** İbuprofen, Naproksen, Kafein, Diklofenak, Salisilik asit  
**İBU:** İbuprofen  
**KAF:** Kafein  
**KOİ:** Kimyasal Oksijen ihtiyacı

**LC50:** Lethal Concentration 50  
**LOEC:** Lowest Observe Effective Concentration  
**LogKow:** n-oktanol-su ayırma katsayısı  
**M/z :** Mass/valence (Kütle/yük)  
**MS :** Mass Selective (*Kütle seçici*)  
**MSTFA:** N-Metil-N (trimetilsilyl) trifluoroasetamid  
**NaCl:** Sodyum Klorür  
**NaOH:** Sodyum Hidroksit  
**NAP:**Naproxen  
**NOEC:**No Observe Effective Concentration  
**NSAİD:**Non Steroidal Anti İnflamatuvar Drug  
**NSAİİ:** Non Steroid Antienflamatuvar İlaç  
**OECD:** Organisation for Economic Co-operation and Development  
**PAH:** Poli Aromatik Hidrokarbonlar  
**PEC:** Predicted Environmental Concentration (*Tahmin edilen çevresel konsantrasyon*)  
**PNEC:** Predicted no-effect Concentration (*Tahmin edilen etkisiz konsantrasyon*)  
**PCPC:** Pharmaceutical and Personal Care Product  
**QSAR:** Quantitative structure-activity relationship  
**S1:** Çorlu Vatan hastanesi atık suyu deşarj noktasına yakın yüzey suyu numune noktası  
**S2:** Çorlu Devlet ve Askeri hastanesi atık suyu deşarj noktasına yakın yüzey suyu numune noktası  
**S3:** Çorlu Şifa hastanesi atık suyu deşarj noktasına yakın yüzey suyu numune noktası  
**S4:** ÇOSB arıtma tesisine yakın yüzey suyu numune noktası  
**S5:** Lüleburgaz Eczacıbaşı İlaç Firması atık su arıtma tesisine yakın yüzey suyu numune noktası  
**SA:** Salisilik asit  
**SM:** Standart Methods  
**SPE :** Solid Phase Extraction (*Katı faz ekstraksiyonu*)  
**SPE:** Solid Phase Extraction  
**SSRI:** Selective Serotonine Reuptake Inhibitor  
**STP:** Sewage Treatment Plant  
**STP:**Sewage Treatment Plant  
**TFA:** Triflora asetikasit  
**TOK:** Toplam Organik Karbon  
**TU:** Toxic Unit (*Toksik Birim, TB*)  
**TÜBİTAK MAM:** TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi  
**USEPA:** United State Environmental Protection Agency

## GİRİŞ VE AMAÇ

İlaçlar kullanıldıktan sonra ne olurlar? Tamamen vücudumuz tarafından kullanılırlar mı? Yoksa bir kısmı boşaltımla birlikte atılır mı? Kullanılmayan ve biriken ilaçlar nerede son bulur? İlaçlar çevrede yaşayan diğer organizmaları etkilerler mi? Her yerde bulunabilen İlaç ve Kişisel Bakım Ürünleri (Pharmaceutical and Personal Care Product, PPCP) aslında sürekli ve tekrar tekrar çevreye katılan kirleticiler olarak ciddi ve önemli bir çevre kirliliği sorunu yaratarak karşımıza çıkmaktadır. Bu maddelerin yalancı-kalıcı olduğu düşünülür, çünkü dönüşenin ya da gidenin yerine yenisi gelir.

Çevrede önceden bilinmeyen, tanınmayan, öngörülmeven veya şüphe edilmeyen kimyasal kirleticilerden kaynaklanabilecek tehlikeler, uzun süredir birçok bilim dalındaki bilim adamının ilgisini çekmektedir. Farmasötiklerin kullanımından kaynaklanan mikrokirleticilerin çevredeki varlıkları ve kaderi ile ilgili çalışmalar son 20 yılda yeni teknolojilerin gelişmesiyle birlikte giderek artmıştır. Farmasotik ilaçlar (veterinerlik ve yasadışı dahil) ve kozmetik, yiyecek katkı maddeleri ve diğer kişisel bakım ürünlerinin tüketimi bazı ülkelerde 100 tondan fazladır (1-3) ve pestisit tüketim miktarlarına yaklaşmaktadır. Birçok ülkede reçetesiz satılan non-steroid antiienflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) yüzlerce ton kullanılmaktadır. Günümüzde genel amaçla kullanılan 100.000'in üzerinde sentetik organik kimyasal (ksenobiyotik) bulunmaktadır (4).

Piyasaya sürekli yeni ilacın ve kişisel bakım ürünlerinin girmesi ve sucul ortamda tespit edilmeleri sonucunda PPCP'ler diğer kimyasallarla anılmaya başlanmıştır. İlaçlar, insan/hayvan sağlığını korumak, hastalıkların teşhisi, tedavisi ve önlenmesi için kullanılan kimyasallardır. İlaç aktif maddeleri atıksulara insan dışkılarından ve hastane atıksularından



ulaşabilmekte ve atıksu sistemindeki kaçaklardan yeraltı sularına sızabilmektedir. Hastane atıklarının depolandığı depo alanları ve ilaç üretim yerleri diğer olası kaynaklardır. Bu maddelerin büyük bir kısmı arıtma tesislerinde uzaklaştırılmadıkları için atıksular ile sulara, oradan da yeraltı sularına ulaşmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, su kaynaklarına ve besin zincirine karışan ilaç aktif maddelerinin ve metabolitlerinin ekosistem ve insan sağlığı için gerçek bir tehdit oluşturduğunu göstermektedir.

Yapılan araştırmalar sonucunda, ilaçların özellikle biyolojik hedefler söz konusu olduğunda sulu ortamdaki organizmaya uzun dönemli etkilerinin ve karışım halinde bulunabilen bileşiklerin etkilerinin çok az bilindiğini göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı, evsel ve endüstriyel deşarjların olduğu yüzey sularında, reçetesiz olarak satılabilen ve tüketimleri her geçen gün artan Naproksen, Diklofenak, İbuprofen, Salisilik asit (Asetil salisilik asit metaboliti) ve Kafenin (stimulant olarak) konsantrasyonlarının yüzey suyunda belirlenmesi ve analiz edilen bu ilaçların farklı konsantrasyonlarda *V.fisheri* bakterisine olan akut toksisitesinin değerlendirmesidir.

## **GENEL BİLGİLER**

### **ENDOKRİN MADDELER VE ÇEVRESEL ETKİLERİ**

Son 20 yılda yapılan bilimsel çalışmalar sucul çevrede bulunan bazı mikrokirleticinin organizmaların normal hormonal fonksiyonlarını engelleyip endokrin sistemlerini bozabileceğini ortaya koymuştur. Yeni, daha hassas ve daha düşük konsantrasyonları ölçebilen bilimsel metotların ve analitik ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesiyle, halen mevzuatlarda olmayan ve önceki yıllarda tespit edilemeyen doğal sulardaki ve içme suyu kaynaklarındaki mikrokirleticiler, son yıllarda özellikle de gelişmiş ülkelerde güncel hale gelmiştir. Bu kimyasallar genel hatlarıyla endokrin/üreme sistemini bozan kimyasallar (Endocrine-Disrupting Compound EDC), tıbbi ilaçlar ve kozmetik/bakım ürünleri (PPCP), hormonal olarak aktif maddeler (Hormonally Active Agent, HAA) ve antibiyotikler olarak sıralanabilir (5-8).

Sucul çevrede organik kirliliği belirleyebilmek için iki yol izleyebiliriz;

1) Numunedeki kirleticilerin neler olduğu belirtilmeden, kirletici miktarının toplam bir değerle ifade edilmesi şeklinde,

2) Kirletici bileşiklerin tür ve miktarlarının ayrı ayrı tanımlanması şeklinde ifade edilmektedir. Örneğin, herhangi bir su numunesine ait biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ) değeri, o su numunesinde bulunan ve mikroorganizmalar tarafından oksijen kullanılarak parçalanabilen organik maddelerin tamamının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yine başka bir örnek olarak, herhangi bir numunede adsorbe olmuş halojenli organik kirleticilerin tür ve miktarının tamamı adsorbe olabilen organo ksenobiyotikler (Adsorbable Organo

Xenobiotics, AOX) parametresi ile ifade edilebilmektedir. Bu parametrelerin kullanılması ile meydana gelen kirliliğin miktarı yüzeysel olarak belirtilirken, kirliliğin hangi bileşikten kaynaklandığı hakkında herhangi bir fikir yürütmek hemen hemen imkansızdır (9).

Sucul ortamlar birçok kimyasal maddeden etkilenmektedir. Sentetik olarak üretilen ve doğal ortamların dengesini bozabilecek EDC, PPCP ve HAA'lar evsel ve endüstriyel atıksulara karışmakta, konvansiyonel atıksu arıtma tesislerinde giderilemeyip alıcı ortamlara deşarj edilmekte ve doğal sularda, içme suyu kaynaklarında, hatta beslenme zincirlerine ulaşarak birikmektedir. Bu kompleks organik bileşikler sentetik ve inhibe edici özelliklerinden dolayı doğal mikroorganizmalar tarafından parçalanamamakta ya da metabolitleri oluşmaktadır. Kararlı ve kalıcı yapıda kimyasallar olduklarından biyolojik olarak bozunmaları zordur bu sebepten dolayı yıllarca doğada değişik fazlarda yer almaktadır (6,10,11).

Endokrin sisteminin normal fonksiyonunu engelleyen kimyasallar genel olarak EDC'ler olarak adlandırılmaktadır. EDC'ler son yıllarda daha hassas analitik yöntemlerin gelişmesiyle çeşitli bilimsel çalışmalar sonucunda birçok gelişmiş ülkede gündeme gelmiştir. EDC'ler vücuda alındıklarında doğal hormonları taklit ederek üreme sistemini bozarak birçok hayvan türlerinde (bazı balıklarda, kuşlarda, memelilerde, ve timsahlarda) cinsiyet bozuklukları, cinsiyetsiz doğumlar, sperm sayılarında azalmalar, erkek organizmalarda dişilik, dişi organizmalarda da erkeklik özelliklerini artırdığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda gelişmiş ülkelerde EDC, PPCP, HAA ve antibiyotiklerin hangi doğal sularda ve içme suyu kaynaklarında ne miktarlarda bulunduğu tespiti için detaylı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (7,8,10-12). Sadece sucul ortamlarda konsantrasyonlarının tespiti değil, bu kimyasalların organizmaya alındıktan sonra organizmaya olan kronik veya akut etkilerinin tayini gibi birçok araştırmalar da toksikologlar, çevre bilimciler, biyokimyacılar ve tıp uzmanları tarafından yapılmaktadır.

Amerikan Çevre Koruma Teşkilatı (Environmental Protection Agency, EPA) bir EDC'yi ve etki mekanizmalarını şöyle tanımlar (7,11): "Organizmaya harici olarak alınan, doğal veya insan kaynaklı, bireysel veya popülasyon seviyelerinde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz negatif etkiler yapan kimyasallardır. EDC'lerin organizmadaki hormonal sisteme etkileri: doğal hormonları taklit ederek normal sentezleri ve hormonal fonksiyonları engelleme, depolanan hormonları serbest bırakma, salgı, taşınım mekanizmalarını engelleme, bağlanma, ve doğal hormonları devre dışı bırakma"dır. Doğal östrojenlerin benzer etkilerine sahip olmalarından dolayı EDC'ler östrojenik olarak da kabul edilirler (13-17).

Sucul çevrede bulabilecek EDC'ler:

- Doğal östrojenler (örneğin, 17P-estradiyol, estron, fitoöstrojenler ve hayvan steroidleri),
- Sentetik östrojenler,
- Hormonlar ve metabolitler (estradiyoller, testosteron, progesteron),
- Organoklorlu pestisitler (DDT, lindan, zineb, atrazin),
- Bazı PPCP'ler (Tıbbi İlaçlar),
- Halojenlenmiş aromatik hidrokarbonlar (HAH),
- Çok halkalı aromatik hidrokarbonlar (PAH),
- Fitalatlar,
- Fenoller (bisofenol A),
- Dioksinler,
- Poliklorlu bifeniller (PCB),
- Alkilfenoller,
- Alkilfenol etoksilatlar (APE),
- Fekal steroidler,
- Antidepresanlar,
- Kadmiyum ve kurşun gibi bazı ağır metaller (6,8,11,12,18-22).

## **TIBBİ İLAÇLAR VE KAYNAKLARI**

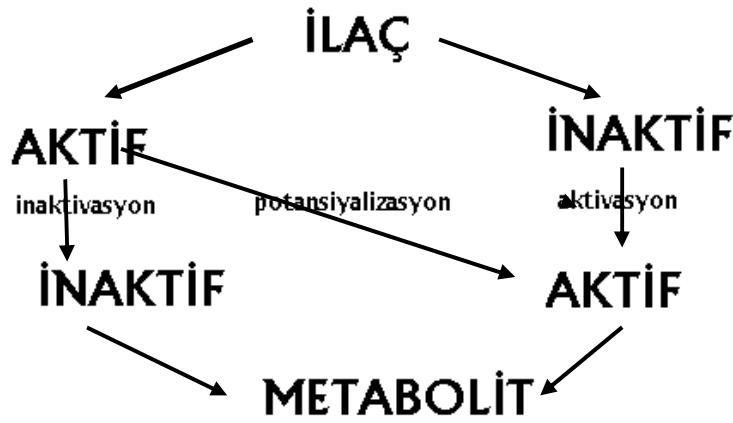
İlaç, geniş anlamda kullanılan bir tanımlamadır, insan ve hayvan hastalıklarını tedavi edici ya da koruyucu özelliğe sahip madde ya da bileşikler olarak tanımlanır. Tıbbi tanı ya da organik işlevleri düzeltmek ya da değiştirmek ve diyet amacıyla verilen tüm maddelerde genel anlamda ilaç tanımlaması içine girmektedir.

İlaç metabolizasyonu (biyotrasformasyon) organizmaya uygulanan ilacın enzimatik sistemlerin etkisiyle metabolik değişikliğe uğraması ve aktif ya da inaktif metabolitler şeklinde vucuttan atılması olayıdır. İlaçların metabolizasyonu iki önemli sonuç doğurur:

1-İlaç molekülleri böbreklerden daha kolay atılan hidrofil (suda kolay çözünür) metabolitler şekline dönüşür.

2- Daha düşük aktiviteli metabolitler şekline dönüşürler. Bazen bunun tersi olabilmektedir. Metabolitlerde esas (ana) ilaç molekülü kadar (bazen daha fazla) aktif olabilmektedir.

Biyotransformasyon, bir ilacın ya da maddenin aktivitesini inaktivasyon, aktivasyon ya da potansiyalizasyon şeklinde etkilemektedir. İnaktivasyon şeklindeki etki, farmakolojik aktiviteden yoksun (inaktif) metabolitlerin oluşması olayıdır. Bu durumda terapötik etkiyi oluşturan metabolitler değil, ana ilacın kendisidir (ana molekül). Aktivasyon şeklindeki etkide ilacın farmakolojik aktivitesi ancak biyotransformasyon reaksiyonundan sonra ortaya çıkar. Bu olasılık ana molekülün hiçbir farmakolojik etkiye sahip olmadığını ve biyolojik etkiden sorumlu aktif metabolitlere biyotransforme olmak zorunda olduğunu göstermektedir. Potansiyalizasyon şeklindeki etki ise, aynı farmakolojik özellikleri daha etkin bir şekilde gösteren bir metabolite biyotransforme olan intrensenk farmakolojik aktiviteye sahip ilacın durumudur.



**Şekil 1. Organizmada bir ilaç molekülünün olası yazgısı (23)**

Çevrede bulunan çok sayıda kimyasal maddenin bir kısmı (besinler) organizma için fizyolojik etkilidirler. Diğer bir kısmının (besin katkı maddeleri, pestisit rezidüleri ve çevre kirletici maddeler) ise fizyolojik rolü yoktur. Çoğu kez zararlı etkiler oluşturabilirler. İsteğimiz dışında organizmaya giren yabancı kimyasal maddelere “ksenobiyotik” adı verilir. Ksenobiyotikler büyük ölçüde biyotransformasyonla ve eliminasyon sistemleriyle vucuttan atılmaktadırlar (23).

İlaçların insanlardan çıkış yolu önce bünyeye alınmasını takiben ifraz edilmesi ve atıksu ile atılmasıdır. Bu nedenle atıksu şebekesi, insan ilaçlarının kullanımından sonra ve kullanılmamış ilaçların çevreye atılmasından sonraki ana yoldur. Hastane atıksuları, imalat

atıksuları ve sızıntı suları (24) önemli konsantrasyonlarda ilaç kalıntısı bulundurabilirler. AAT (atıksu arıtma tesisi) de tamamen giderilemeyen ilaçlar, atık su içinde deşarj edilerek nehirlerin, göllerin yer altı sularının ve içme sularının kirlenmesine sebep olurlar. Atık çamur, tarım sahalarına atıldığında toprağın kirlenmesi ve drenaj sonucu yüzeysel sulara ulaşması mümkündür . Ayrıca veteriner ilaçları sucul sistemlere, tarlalara gübre uygulaması ve balık çiftliklerindeki direkt uygulama ile girebilirler.

İlaçların tüketimi önemlidir. Avrupa Birliği ülkelerinde insanlar için üretilen yaklaşık 3000 farklı ilaç; ağrı kesici ve antiinflamatuvar ilaçlar, kontraseptivler (gebelik önleyici ilaçlar), antibiyotikler, beta-blokerler, nöroaktif bileşikler ve birçok başka ilaç kullanılmaktadır. Aynı zamanda çok sayıda ilaç, veteriner tıbbında da kullanılmaktadır. Bunlar arasında da antibiyotikler ve antiinflamatuvar ilaçlar sayılabilir. İngiltere, Almanya ve Avustralya 'da çok sık kullanılan ilaçların miktarı senede yüzlerce ton seviyesindedir (25-27) . Değişik ülkeler için ilaçların tüketim yolları aynı değildir ve bazı ilaçlar yasaklanmış olabilir. Bu nedenle kullanılan ilaçların gerçek miktarları belirsizdir. Fakat muhtemelen Tablo 1'de rapor edilen miktarlardan daha yüksektir. Herhangi bir ilacın yıllık tüketimini hesaplamak zordur ve sıklıkla tahminler üzerinden belirleme yapılır. (28).

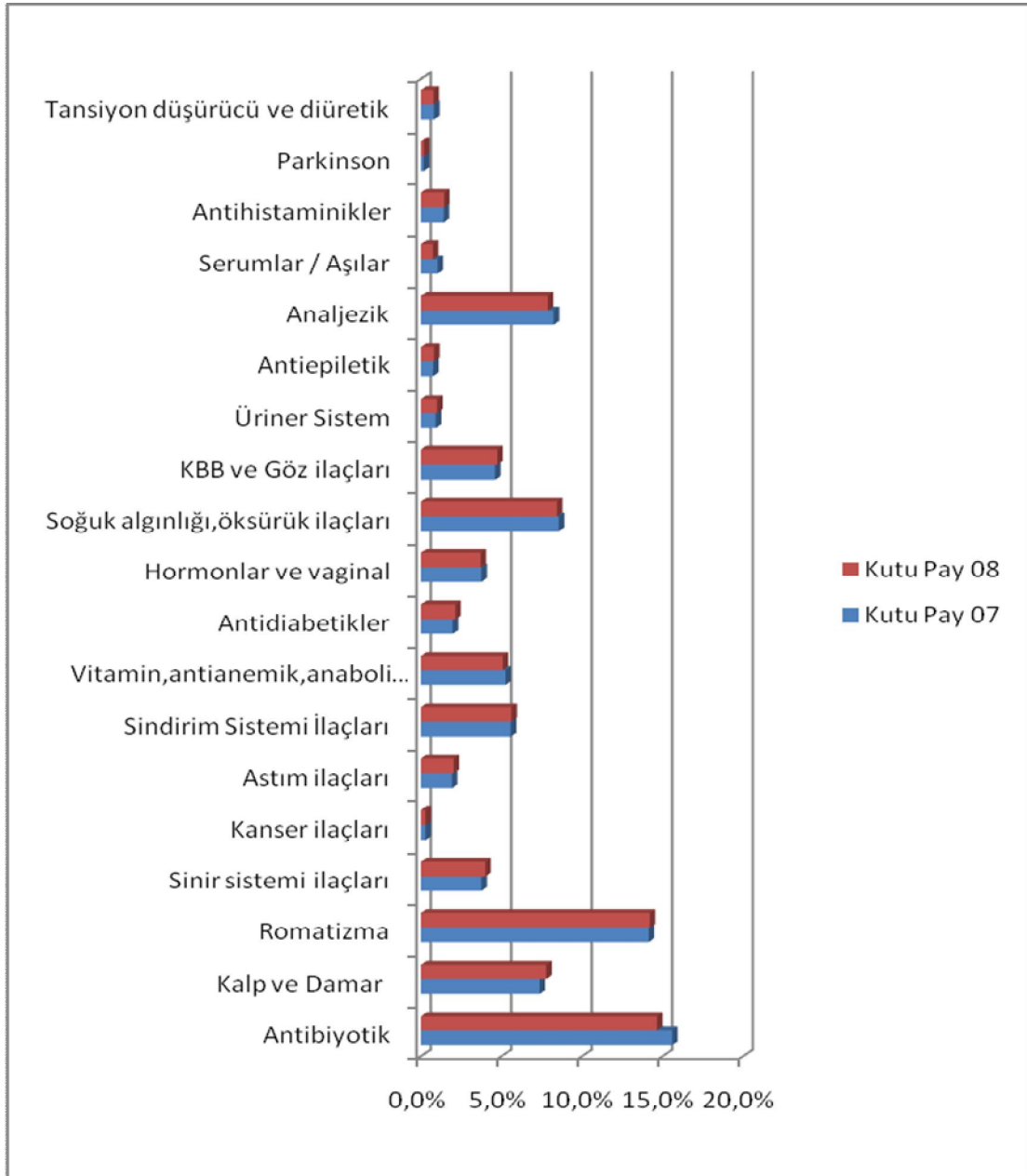
**Tablo 1. Farklı Ülkeler için öngörölmüş Analjezik, Antipiretik ve Anti-enflamatuvar ilaçların tüketimleri (25-27,29-31).**

	Almanya 1999a	Almanya 2000a	Almanya 2001a	Avusturya 1997b	Danimark a 1997c	Avusturalya 1998d	İngiltere 2000e	İtalya 2001f	İsviçre 2004g
<b>Analjezikler, antipiretikler ve antienflamatuvar ilaçlar</b>									
Asetil salisilik asit	902.27 (1)	862.60(1)	836.26(1)	78.45(1)	0.21 (7)	20.4(9)			43.80(3)
Salisilik asit	89.70 (12)	76.98 (17)	71.67 (17)	9.57 (11)					5.30 (6)
Parasetamol	654.42 (2)	641.86 (2)	621.65(2)	35.08 (2)	0.24 (6)	295.9 (1)	390.9(1)		95.20(1)
Naproksen				4.63 (16)		22.8 (7)	35.07 (12)		1.70 (12)
İbuprofen	259.85 (5)	300.09 (5)	344.89 (5)	6.7 (13)	0.03 (19)	14.2(13)	162.2(3)	1.9 (15)	25.00 (4)
Diklofenak	81.79(16)	82.20 (14)	85.80 (14)	6.14(15)			26.12 (16)		4.50 (7)

\*Her Ülke için en çok satılan ilk 6 analjezik, anrienflamatuvar ve atipretik ilaç değerlendirmeye alınmıştır. Parantez içindeki değerler o ülkedeki satış sıralamasını göstermektedir. Veriler ton/yıl'dır. a(26), b(29), c(30), d(27), e(25), f(31).

2008 yılında Türkiye reçeteli ilaç pazarı tutar olarak %9 oranındaki büyümeyle 12 milyar TL'ye (9.3 milyar Dolar), kutu olarak %5 oranında büyümeyle 1.38 milyar kutuya ulaşmıştır. Pazarda kutu bazında, tedavi gruplarına baktığımızda antibiyotikler ilk sırayı almaktadır. Tablo 2'de Ağrı kesicilere bakıldığında Soğuk algınlığı ve grip ilaçları ile aynı oranlarda pazar payında yerini aldığı görölmektedir.

**Tablo 2. 2007-2008 yıllarında tedavi gruplarına göre ilaç tüketimi (32)**



\*Tedavi Grupları (Kutu bazında)

1999-2000 yılları arasında A.B.D.'nin 30 eyaletinde 139 doğal suda yapılan analizlerde en sık olarak koprostanol (fekal steroid), kolesterol (bitki ve hayvan steroidi), N,N-dietiltoluamit (böcek kovucu), kafein, triklosan (antimikrobiyal dezenfektan), tri(2-kloroetil) fosfat (yangın söndürücü), ve 4-nonilfenol (iyonik olmayan deterjan metaboliti) bulunmuştur (33,34). Bu çalışmada anti-enflamatuvar ilaç olan parasetamol ve diklofenak araştırılmıştır. Yapılan araştırmalara göre parasetamol (acetaminophen)'ün Almanya'da yılda 500 ton'dan



fazla satıldığı, diklofenak'ın ise yılda 75 ton civarında satıldığı belirlenmiştir. Parasetamol'un atıksu arıtım tesisleri tarafından kolayca giderildiği ve yüzey sularında bulunmadığı, diklofenak'ın ise Avusturya, Brezilya, Almanya, Yunanistan, İspanya, İsviçre ve Amerika'da yapılan araştırmada hem atıksu arıtma tesislerinin çıkış sularında hem de yüzey sularında ng/L-µg/L seviyelerinde bulunduğu tespit edilmiştir (35-42). Bu kimyasalların içme suyu ile tekrar vücuda alındığında etkileri bilinmemektedir.

Tıbbi maddeler ile bu kadar ilgilenilmesinin önemli bir nedeni de organizmalarda biyolojik bir etki yaratmak için üretilmiş olmalarıdır. İlaçlar hücre membranları geçebilecek kadar lipofiliktirler ve midenin asidik pH'ında hidrolize olabilirler. Dayanıklılırlar ve sıvı fazda hareketlilikleri yüksektir (37,43,44). Bu özellikleri nedeniyle ilaç aktif maddeleri / dönüşüm ürünleri biyoakümüle olabilirler ve sucul veya karasal ekosistemlerde etkilere sebep olabilirler (37,44).

İlaç aktif maddelerinin çevreye girişi çeşitli yollarla olmaktadır. İnsanlar ve hayvanlardan başlayan bu çevrimde ilaç aktif maddeleri atıksulara, toprağa, yeraltı sularına ve yeterli arıtım yapılmadığı takdirde içme sularımıza kadar ulaşırlar (37,45,46). Hayvanlar ve insanlar için kullanılan tıbbi maddelerin sucul çevreye giriş yolları ayrıntılı olarak Şekil 2'de verilmiştir.

Tıbbi ürünleri iki kısma ayıracak olursak; insanlar tarafından kullanılan tıbbi ürünler (F1) ve veterinerlik ilaçları (F2) şeklinde sınıflandırabiliriz. Veterinerlik ilaçları çiftlik hayvanı yetiştiriciliğinde ve kümes hayvanı üreticiliğinde kullanılırlar (F3). Ayrıca, meralardaki çiftlik hayvanlarının tedavisi için kullanılan ilaçlar (F4) ve balık çiftliklerinde kullanılan yem katkıları (F5) veterinerlik amaçlı kullanım yoluyla doğaya karışırlar. İnsanlar tarafından kullanılan tıbbi ürünler, idrar ve dışkı yoluyla kanalizasyona (F6) ve oradan da atıksu arıtma tesisine (F7) ulaşırlar. Ksenobiyotikler örnek alınırsa burada maddenin 3 türlü davranış olasılığı vardır :

- 1) Aktif madde tamamen su ve CO<sub>2</sub> 'e mineralize olur (Örn. Aspirin).
- 2) Aktif madde lipofiliktir ve kolayca parçalanmaz. Böylece maddenin bir kısmı çamurda tutulur.
- 3) Aktif madde lipofilik halinden daha hidrofobik bir forma metabolize olur, ancak dayanıklı hale gelir.

Bu şekilde arıtma tesisinde giderilemez ve atıksu ile atılarak (F9) alıcı sulara karışır (F9). Metabolitlerin biyolojik olarak aktif olmaları durumunda da ortamdaki sucul organizmaları etkiler (F11). Çamurda tutulma olasılığı olan maddeler; çamurun tarlalara

serilmesi durumunda mikroorganizmaları ve yararlıları etkileyebilir (F12). Ahırlardaki hayvanlar için büyümeyi destekleyici olarak kullanılan tıbbi maddeler çoğunlukla gübreye kadar ulaşmaktadır (F13). Bu maddeler toprak organizmalarını etkileyebilir (F14). Araziye yayılmış olan arıtma çamurlarındaki ve gübredeki hidrofilik maddeler yağmurlar sonucunda sızma ile sucul çevreye ulaşırlar (F15). Arazideki hayvanlar için kullanılan tıbbi maddeler idrar ve dışkı yoluyla doğrudan araziye atılır (F16). Yüksek ve noktasal konsantrasyon toprak organizmalarını etkilemektedir (F17). Araziye yayılmış tıbbi maddeler toprakta mineralize olabilir veya yeraltısu kaynaklarına ulaşabilir. Balık çiftliklerinde kullanılan tıbbi maddeler ise direk uygulama ile alıcı sulara karışır, çünkü antibiyotik ve diğer ilaçlarla balıkları tedavi etmenin en iyi yolu yem katkılarını kullanmaktır. Verilen yem katkılarının büyük bir kısmı balıklar tarafından yenmediği zaman kafeslerin içinden düşerek deniz tabanında birikir. Bu maddeler sucul organizmaları etkileyebilir (F18). İnsanların kullanımı için satılan tıbbi maddelerin bilinmeyen bir kısmı insanlar tarafından atık olarak tuvaletlere atılırlar ve kanalizasyon sistemine karışarak arıtma tesisine ulaşırlar (F19) (44).



## TIBBİ İLAÇLARIN ÇEVREDEKİ YAZGISI

Sulu ortamlardaki ilaçlar ve metabolitlerinin davranış ve gelecekteki etkileri iyi bilinmemektedir. İlaçlar düşük uçucu özelliklerinden dolayı çevrede besin zinciri yolu ile sucul ortamlarda taşınırlar. İlaçların su ortamındaki asılı katı maddelere adsorbsiyonu ve biyolojik bozunmaları önemlidir. Adsorbsiyon partiküller ve mikroorganizmalar ile ilaçların hem hidrofobik hemde elektrostatik çekim özelliklerine bağlıdır. Bu bileşikler hidrofilik olmalarına göre su ortamına girebilir ya da adsorbe olmuş halde katı partikül üzerinde kalabilirler. Bazı ilaç sınıfının hidrofilik ve hidrofobik özellikleri Şekil 3’de verilmiştir.

### HİDROFİLİK



- İyonize kontrast ajanlar
- Florlu kinolonlar
- Lipid düzenleyiciler, B-blokerler, NSAİİ (Non Steroid anti enflamatuar ilaçlar)
- Sulfonamidler, makrolid grubu antibiyotikler
- Antiepileptikler; karbamazepin
- Antidepresanlar
- Estrojenler

### HİDROFOBİK

**Şekil 3. Bazı farmasötik ilaçların hidrofilik ve hidrofobik sınıflandırması (45).**

Asidik ilaçlardan NSAİİ olan asetilsalisilik asit, ibuprofen, fenoprofen, ketoprofen, naproksen, diklofenak ve indometasinin pKa değeri 4.1-4.9 aralığındadır, klofibrinik asit, benzofibrat (pKa 3.6) ve gemfibrozil nötral pH’da iyon olarak bulunurlar ve çamura çok az adsorbe olma eğilimleri vardır. Ama adsorbsiyon düşük pH ile artmaktadır. Nötral pH da negatif yüklü ilaçlar atıksuda genellikle çözülmüş fazda bulunurlar (35,47). Genellikle asidik ilaçların çamura emilimi, yüzey suları ve atık sulardan ilaçların giderimi için çok önemli bir parametre olmayabilir. İlaçların digested (çürük) çamur ve tortulardaki seviyeleri kontrol çalışmalarında gösterildiği gibi oldukça düşük kabul edilmektedir (48,49). Bununla beraber birçok ilaç atık çamurda önemli ölçüde adsorbe olabilir.

Bir ilacın çözülmüş fazda bulunması durumunda biyodegradasyon (biyolojik

bozunma), atıksu arıtımında en önemli giderme prosesi olarak önerilmektedir. Aktif çamur arıtımında aerobik (anaerobik de olabilir) bölgelerde veya atık çamurun parçalanmasında anaerobik formda bulunabilir. Genel olarak ilaçları da kapsayan mikrokirleticilerin aktif çamur arıtımındaki biyolojik bozunmaları, hidrolik alıkonma zamanı ve çamur yaşının artmasıyla doğru orantılıdır. Örneğin diklofenak'ın önemli ölçüde biyodegradasyona uğraması, çamurda tutulma zamanının en az 8 gün olmasıyla gerçekleşmiştir (50).

AAT proseslerinde giderim oranları üzerine yapılan çalışmalar atıksuların giriş ve çıkış daki konsantrasyon ölçümleri baz olarak alınarak yapılır ve AAT'lerinin yapılanma ve arıtma teknolojilerine, hidrolik alıkonma süresine, mevsime ve performansına bağlı olarak değişir. Yapılan bazı çalışmalar (1,51,52) ilaçların giderim veriminin % 0-99 gibi geniş bir aralığı kapsadığını belirtmektedir. Bazı ilaçlar için ortalama giderim oranları; karbamazepin için %7-8 (1,53,54) asetilsalisik asit için %81, propranonol için %96 ve salisilik asit için %99'a kadar değişmektedir (1,53,55). Ortalama en düşük giderim oranları Diklofenak için %26, bezafibrat için %51 olarak bulunmuştur fakat oranlar arıtım tesislerine göre önemli ölçüde değişmektedir ve naproxen için yüksek giderim (%81) oranı bulunmuştur (56). Tablo 3'de farklı arıtma tesislerinde bazı ilaçların giderim oranları verilmiştir. ABD'de 3 STP de ibuprofen, naproxen, ketoprofen ve diklofenak için %94 ile % 100 oranlarında yüksek giderim oranları bulunmuştur (57). Etkin giderim ileri arıtma basamağında gerçekleşir (%51-99), ön arıtımda sadece %0-44 arası arıtım sağlanır. Antikanser ilaç olan tamoxifen giderimi yapılamamıştır (58). İlaçlar bir heterojen gruptan oluşan çeşitli kimyasal özellikler içeren bileşikler olduğundan giderim oranlarındaki bu değişimler sürpriz değildir. Bileşiklerin kimyasal karakterlerinden bağımsız olarak, aynı bileşiğin değişik AAT'lerdeki etkinlikleri, arıtma basamaklarına ve diğer ekipmanlara, aynı zamanda da ısı ve hava gibi diğer faktörlere bağlı olarak da değişim gösterir. Örneğin diklofenak %17 (53) ile %69 (1) ve %100 (57) gibi farklı giderim oranları göstermiştir.

Yüzey sularında biyolojik bozunmaya bağlı biyotransformasyon meydana gelir fakat abiyotik dönüşüm reaksiyonları daha önemlidir. Çevre için önemli ilaçları hidrolizi genellikle ihmal edilse de, fotodegradasyon bazen su yüzeylerinde önemli rol oynar. Fotolizin yüzey sularındaki diklofenak için ana giderim prosesi olduğu gösterilmiştir (35). Bazı ilaçlar (sulfametaxol, ofloxasin ve propranolol) için yapılan laboratuvar deneyleri doğrudan ve dolaylı fotolizin giderim prosesindeki önemini göstermektedir (59). Fotodegradasyonun etkinliği, maddelerin özellikleri yanında güneş ışınlarının gücüne, bu nedenle mevsimlere ve enlemlere bağlıdır. Partiküllere emilim olabilir. Karbamazepin, diklofenak, ibuprofen'in

kumlu sedimentte emilme davranışlarını karakterize eden laboratuvar çalışmaları, emilme katsayılarının genellikle çok düşük olduğunu göstermiştir (60). Diklofenak ve ibuprofen, pKa değerleri 4.16 ve 4.52 olan karboksilik asitlerdir ve bu zayıf asitler su ve sediment ortamının pH'ında negatif yüklüdürler.

Diklofenak dışında, besin zinciri ya da biyotada ilaçların biyoakümülyasyon potansiyeli hakkında bilgi yoktur (61), fluoxetine, sertaline ve SSRI metabolitleri norfluotexine ve desmetilsertralin balıklarda tespit edilmiştir (62). Diklofenak için Biyokonsantrasyon Faktörleri (BCF), maruz kalınan konsantrasyonlara bağlı olarak balık ciğerinde 10-2700 ve böbreğinde 5-1000 arasındadır (63). Biyokonsantrasyon Faktörü (L/kg), bir organizma içindeki madde konsantrasyonunun, denge durumu aşıldığı zamandaki sudaki konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanabilir (statik BCF) ya da denge olmadığı durumda, alım ve temizleme oranı sabitinin katsayısı olarak tanımlanabilir (dinamik BCF). Statik ve dinamik BCF'ler, mevzuat amaçları için eşit olarak kullanılabilir. Bu parametre, bir maddenin potansiyel birikiminin bir göstergesini verir.

İçme sularında (64) ve yer altı sularında (24,65) tespit edilen ilaçlarla ilgili çok az rapor vardır. İlaçların etkili arıtma yöntemleri arasında ozonlama, granül aktif karbon ve ileri oksidasyon tercih edilmektedir. Çoğu laboratuvar denemesinde, içme sularındaki diklofenak bileşiğinin giderimi için bu yöntemler tercih edilirken, klofibrinik asit ve ibuprofen bileşikleri için ozon/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yöntemi tercih edilmiştir(66).

**Tablo 3. Antienflamatuvar İlaçların farklı ülkelerde, farklı mevsimlerde ve farklı donanımlarla ölçülmüş giriş ve çıkış konsantrasyonları, maksimum giderimleri (%), referanslar.**

Bileşik	Giriş Konsantrasyonu (µg/L)	Çıkış Konsantrasyonu (µg/L)	Maksimum giderim (%)	Referanslar
Asetil salisilik asit	3,20	0.6	81	(55)
Salisilik asit	57	0,05	99	(67)a, (52)
Diklofenak	3	2,5	17	(53)
	n.r	n.r	69	(1)b
	0,33-0.49	n.r	75(10-75)	(68)c
	[5]	[1,5]	53-74	(69)a
	1,3	n.r		(67)a
	0,47-1,9	0,4-1,9	0	(70)c

	0,35	0,17-0,35	9-60	(56)c
	1	0,29	71	(58)a
İbuprofen	3		96	(35)
	38,7	4	>90	(67)a
	9,5-14,7	0,01-0,02	99	(57)
	[0,54]	[0,08-0,28]22-75		(67)c
	2,6-5,7	0,9-2,1	60-70	(52)a
	5,7	0,18	97	(71)b
	28	3	98	(58)a
	2-3	0,6-0,8	53-79	(70)c
	13,1	0-3,8	78-100	(56)c
Ketoprofen	0,41-0,52	0,008-0,023	98	(57)
	[0,55]	[0,18-0,3]	48-69	(51)b
	5,7	n.r		(67)a
	0,47	0,18	62	871)b
	0,25-0,43	0,15-0,24	8-53	(70)c
	2	0-1,25	51-100	(56)c
Naproksen			66	(1)b
	40,7	12,5	40-100	(67)a
	10,3-12,8	n.d-0,023	100	(57)
	[0,6]	[0,1-0,54]	15-78	(51)b
			93(42-93)	(68)c
	1,8-4,6	0,8-2,6	40-55	(52)a
	0,95	0,27	71	(71)b
	4,9	0,15-1,9	55-98	(56)c
Parasetamol	6,9	0	100	(58)a

\*Grafiksel verilerden hesaplanan veriler köşeli parantez içine alınmıştır.

n.r: rapor edilmemiş

a: Orta konsantrasyonlar ya da yüzde

b: Ortalama konsantrasyonlar ya da yüzde

c: Maksimum konsantrasyonlar ya da yüzde

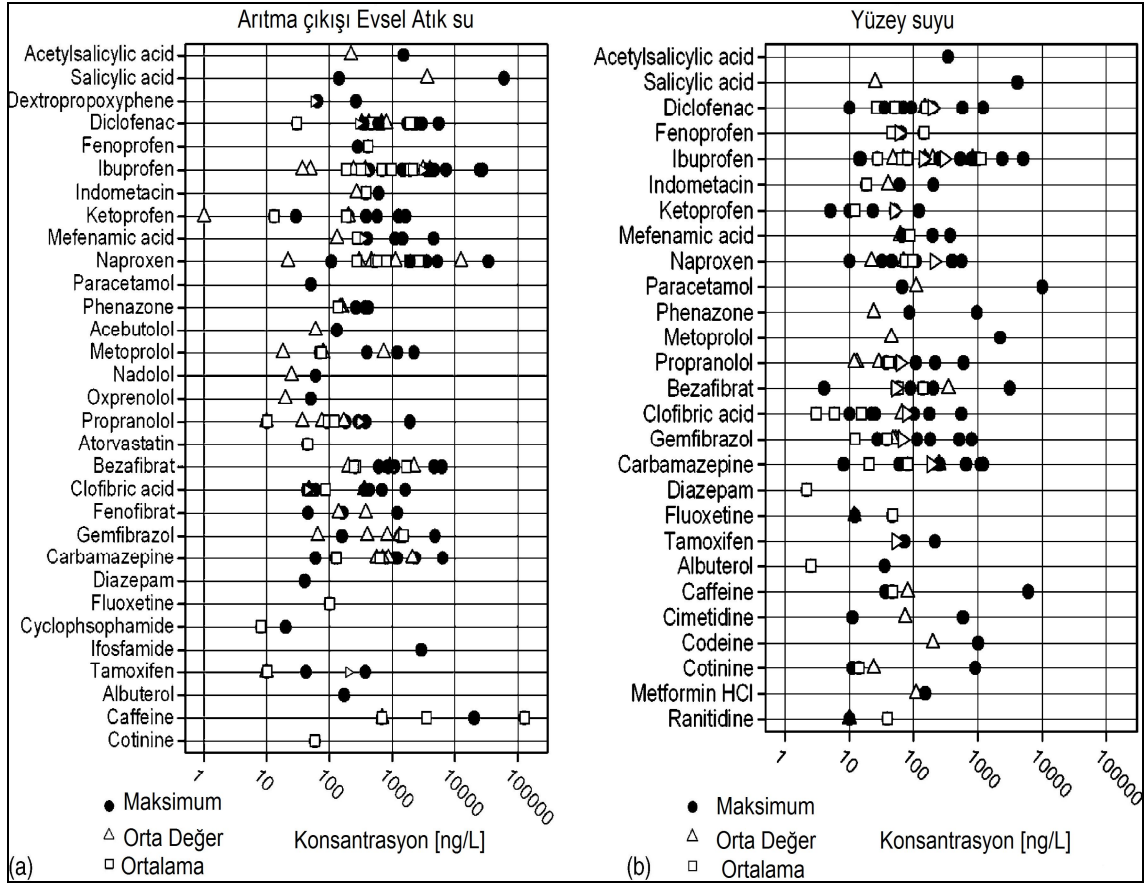
## TIBBİ İLAÇLARIN ÇEVREDEKİ KONSANTRASYONLARI

ABD de arıtılmış atıksularda klofibrin asit oranları 0.8-2 µg/l olarak bulunduğunda ilaçların varlığı ilk defa rapor edilmişti (72). Ardından 1981'de İngiltere de ilaçlar nehirlerde 1µg/l olarak tespit edilmiş (73) ve Kanada da atıksularda ibuprofen ve naproxen tespit edilmiştir (74). Son birkaç yılda ilaçların çevredeki varlığı hakkındaki bilgiler, eser miktardaki polar bileşikler için kullanılan yeni analitik tekniklerin gelişimiyle büyük oranda artmıştır. Bu teknikler aynı zamanda balıklardaki biyolojik etkilere bağlı olarak 17α-etinilestradiol (EE2) gibi kontraseptiv haplardaki steroid hormonları için de geçerlidir (75,76).

Son 10 yıllık çalışmalarda, 80 ila 100 değişik ilaç türünün (antiinflamatuar, beta-blokerler, semptomimetikler, anti epileptikler, lipid düzenleyiciler, antibiyotikler v.b) ve bunların bazı metabolitleri pek çok ülkenin arıtılmış atık su, nehir, dere, deniz suyu, yer altı suyu hatta içme sularında konsantrasyonları rapor edilmiştir. Ternes, Almanya'da şehir EAAT (evsel atıksu arıtma tesisi) çıkış sularında, nehirlerinde ve kaynak sularında değişik tıbbi sınıfa ait 32 çeşit ilacın varlığını rapor etmiştir. 20 değişik ilacın ve 4 metabolitin içinde ağrı kesiciler (salisilik asit, diklofenak, ibuprofen, indometasin, naproksen), lipid düzenleyiciler (bezafibrat, gemfibrozil, klofibrin asit, fenofibrin asit), beta blokerler (metoprolol, propranolol) ve karbamazepin'nin dere ve nehir sularında ng/l sınırlarında varlığı tespit edilmiştir. ABD'de şehir merkezine yakın 139 nehirden akıntı yönünde alınan numunelerde 95 mikrokirletici konsantrasyonları tespit edilmiştir (34). Bazı bölgelerde hedeflenen 95 bileşikten 38 kadarı tek bir su numunesinde tespit edilmiştir (bir örnekte bileşiklerin ortalama sayısı 7 idi). En sık tespit edilen bileşikler arasında steroidler, böcek kovucu olan N,N-dietiltoluamid, kafein, triklosan (antimikrobiyal bileşik), antibiyotikler, yangın söndürücü, 4-nonylfenol ve bazı ilaçlar vardır. Almanya'da Elbe nehrinde farklı ilaçların dağılımlarının analizleri ve Hamburg şehri ile arasındaki kollarının çıktığı kaynaklarda yapılan analizler pek çok ilacın varlığını göstermiştir. Bulunan başlıca maddeler diklofenak, ibuprofen, karbamazepin, çeşitli antibiyotikler ve lipid düzenleyicilerdir (77). Benzeri bir kirlenme İtalya'da Po ve Lambro (31) nehirlerinde bulunmuş olup bütün numunelerde atenolol, bezafibrat, furosemide ve antibiyotikler bulunmuş ranitidine, klofibrin asit, diazepam sıklıkla tespit edilmiştir. Kolpin ve arkadaşları (34), ABD de Iowa ve kasabalarında su örneklerini akış yönünde ve akıntıya karşı ve de yüksek, normal ve düşük akış hızı şartları sırasında toplamış, derelerde değişik akış şartları içinde organik atık su kirleticileri ve ilaç



konsantrasyonlarını yerleşim merkezlerindeki dağılımını tespiti çalışmışlardır. Reçeteli ilaçlar düşük akış hızı şartlarında sık sık tespit edilmiştir. Pek çok ülkede sıklıkla EAAT yakınlarındaki bölgelerde yüzey suları ve EAAT çıkış suyunda ilaçların çevresel konsantrasyonları rapor edilmiştir (34,45,78,79). İngiltere’de Tyne haliç inde seçilmiş ilaçların varlığı 4 ila 2370 ng/l aralığında konsantrasyonlarında rapor edilmiştir. Şekil 4’ de bugüne kadar atık su ve yüzey sularında en sık rastlanılmış ilaçların konsantrasyonlarının özeti verilmiştir. EAAT çıkış suyunda değişik sayıda ilaçlar genellikle ng/l ila µg/l aralığındaki konsantrasyonlarda oluşur. Nehir, göl ve deniz sularında bunlar ng/l aralığındadır (34,35,78,80,81). Daha kalıcı antiepileptik karbamazepin, ve klofibrin asit, yağ düşürücü ajanların metaboliti klofibrat, etofibrat ve etofilin klofibrat, birkaçı dışında STP çıkış sularında, taze sularda (nehir ve göl) hatta deniz suyunda tespit edilmiştir (35,80). Yüzey sularında karbamazepinin maksimum konsantrasyonu 1.2 µg/l (77) ve klofibrin asit için 0.55 µg/l (1) konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Karbamazepin kirlenmesi geniş çaptadır. ABD’de 44 nehirde suda ortalama 60 µg/l, sedimentte ortalama 4.2µg/l’dir (28). Sıklıkla ağrı kesici ibuprofen ve metabolitleri STP çıkış suyunda (1,35,80) ve yüzey sularında 1 µg/l ye kadar (34) ve deniz suyunda (77,81) tespit edilmiştir. İngiltere de bir izleme çalışmasında propranolol (orta seviyesi 76 ng/l) STP çıkış suyunda her örnekte tespit edilmiştir. halbuki diklofenak (orta seviye 424 ng/l) örneklerin %86’sında, ibuprofen (orta seviye 3086 ng/l) %84’ünde, mefenamik asit (orta seviye 133 ng/l) %81’inde, dekstropoksifen (orta seviye 195 ng/l) %74’ünde ve trimetoprim (orta seviye 70 ng/l)% 65’inde tespit edilmiştir (78). Nehir gibi alıcı su ortamlarında daha az sayıda bileşik daha düşük seviyelerde bulunmuştur.



**Şekil 4. Atıksu (muamele edilmiş) (a) ve yüzey sularındaki (b) ilaçların konsantrasyonları (1,25,30,31,34,44,56,58,67,68,70,71,79-82).**

Bazı içme suları (39,64,83-85), yer altı suları (24,65) ve sızıntı suları (24) ng/l aralığında hatta bazı durumlarda  $\mu\text{g/l}$  aralığına kadar ilaç içerebilir. Almanya'da Berlin civarından toplanan içme suyu örneklerinde fenazon, propiphenazon ve klofibrik asit bulunmuştur (36,86). Birkaç polar ilaç olarak klofibrik asit, karbamazepin gibi ilaçlara yer altı sularında rastlamak mümkündür.

## NON-STERÖİD ANTİENFLAMATUVAR İLAÇLAR (NSAİİ)

En yaygın kullanılan non-steroid antiienflamatuvar ilaçlar (ibuprofen, naproksen, diklofenak, asetilsalisilik asit ve bazı metabolitleri (hidroksi-ibuprofen ve karboksi-ibuprofen, salisilik asit) çok sık kanalizasyon ve yüzey sularında tespit edilmektedir. Ternes (1), ABD de şehir atıksularında bu ilaçları  $1 \mu\text{g/l}$  yi geçen seviyelerde ve geleneksel EAAT atıklarında (mekanik temizleme ve biyolojik arıtma)  $0.1 \mu\text{g/l}$  yi geçen veya yaklaşan konsantrasyonlarda

rapor etmiştir (79). Asetilsalisik asitin daha aktif formu olan salisilik asite şehir atıksularında 4.1 µg/l (1), 13 µg/l (42,53), hatta 59.6 µg/l seviyelerinde rastlanmıştır (67). Asetilsalisilik asite benzer olarak acetaminophen (paracetamol) EAAT den gayet iyi arıtılabilir. Bununla birlikte ABD derelerinden alınan örneklerin % 24 ünde asetaminofen (paracetamol) 10 µg/l ye kadar (ortalama 0.11 µg/l) bulunmuştur (34). Ağrı kesici kodeine, örneklerin % 7 sinde ortalama 0.01 µg/l konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

Pek çok ülkede diklofenak atıksularda µg/l oranlarında ve yüzeysularında daha düşük seviyelerde sıkça tespit edilmiştir (1,35,36,42,51,53,87). Bu seviyeler aynı zamanda ibuprofen içinde geçerlidir (1,36,51,88). Bazen 85 µg/l (42) veya 24.6 µg/l (ortalama 4 µg/l) gibi yüksek seviyelerde EAAT çıkışında tespit edilmiştir (67). Norveç'te ibuprofen ve metabolitleri bütün atıksu numunelerinde ve deniz suyunda 0.1-20 µg/l (ibuprofen ve metabolitlerinin toplamı) aralığındaki konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (81). İngiltere'de nehirler de maksimum konsantrasyon 0.93 µg/l (ortalama 0.05µg/l) tespit edilmiştir. İbuprofen, atıksuların arıtımında önemli ölçüde giderilir ve hidroksi-ibuprofen gibi metabolitleri EAAT çıkışında bulunabilir. Kolpin ve arkadaşları (34), ibuprofeni dere numunelerinin %10'unda maksimum 1 µg/l (ortalama 0.2 µg/l) konsantrasyonlarında tespit etmişlerdir. İki yağmur suyu kanalında ibuprofen 674ng/l ve naproksen 145 µg/l seviyelerine kadar yükselmiştir (89). Naproksen, Kanada STP çıkışlarında daha yüksek seviyelerde ortalama 12.5 µg/l ve maksimum 33.9 µg/l seviyelerinde tespit edilmiştir (67). Dahası birçok diğer ağrı kesiciler yüzey suları ve atıksularda, hatta yer altı ve içme suları numunelerinde tespit edilmiştir.

**Tablo 4. Non-Steroid Antienflamatuvar, Analjezik ve Antipiretik ilaçların çevrede bulunuşları**

MADDE	MİKTAR	BULUNDUĞU YER	REFERANS
Asetil salisilik asit (ASA)	0.22 µg/L	Kanalizasyon çıkışı	(1)
	max 1.5 µg/L	Arıtma tesisi çıkışı	(85)
	max. 0.34 µg/L	Yüzeysel su	
Diklofenak	Ort 3.02 µg/L	EAAT çıkış	(90)
	Ort 2.51 µg/L	EAAT çıkış	
	0.81 µg/L	Arıtma tesisi çıkışı	(1)
	0.15 µg/L	Nehir	
	max. 380 ng/L	Yer altı suyu	(60)
	max 7.1 µg/L	EAAT giriş	(53)
	max. 4.7 µg/L	EAAT çıkış	

Gentisik asit (ASA metaboliti)	4.6 µg/L	Kanalizasyon girişi	(1)
	0.59 µg/L	Çıkış suyu	(5)
	1.2 µg/L	Yüzeysel su	
İbuprofen	0.87-85 µg/L	Kanalizasyon çıkışı	(42)
	2.7 µg/L	Yüzeysel su	
	max. 3.4 µg/L	Çıkış suyu	(5)
	max. 0.53 µg/L	Yüzeysel su	(45)
	max.12 µg/L	Çöktürme tankı çıkışı	
	< 5-41 ng/L	Farklı nehirler	(60)
	17-139 ng/L	Yer altı suyu	(53)
	max. 200 ng/L	EAAT çıkış	(84)
	0.1 µg/L	Nehir suyu	
	90.6-92.4 ng/L	Nehir suyu	
	1-4 ng/L	Nehir sedimenti	
	220 ng/kg	EAAT çıkış	
	medyan 121.2 ng/L	Lambro nehri	
	medyan 20 ng/L	Po nehri	
	medtan 13 ng/L		
Naproksen	max.0.52 µg/L	Çıkış suyu	(5)
	max. 0.39 µg/L	Yüzeysel su	
	0.44 µg/L	EAAT giriş	
	0.08 µg/L	EAAT çıkış	
Salisilik asit (ASA metaboliti)	54 µg/L	Kanalizasyon girişi	(1)
	max. 54 µg/L	Arıtma tesisi çıkışı	(5)

\*EAAT = Evsel Atıksu Arıtma Tesisi

## EKOTOKSİSİTE TESTLERİ

Ekotoksosite testlerinin ortaya çıkması ve yaygınlaşması ile su kirlenmesi kontrolünde bu testler kimyasal analizler kadar önem kazanmaya başlamıştır. Bu testlerde genellikle prokaryotik ve ökaryotik organizmalar kullanılmaktadır. Bunlardan bitkiler, algler, bakteriler ve kabuklu organizmalar zehirlilik testlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (91,92). Bitki biyodenyelerinde genellikle *Avena sativa*, *Brassica compestris* ve *Letuce sativa* genel

olarak kullanılan türlerdir. Alg biyodeneylelerinde ise, *Selenastrum capricornutum*, *Phadactylum tricornutum* ve *Dunaliella tertiolecta* gibi mikroalg türleri kullanılmaktadır. Bu tip hayvan ve bitki türleri ile yapılan biyodeneylelerin dezavantajları, standardizasyon problemleri, uzun zaman ihtiyacı ve tekrarlanabilirlik problemlerine sahip olmalarıdır. Bundan dolayı son yıllarda zehirliliğin ölçümü için bakteriler sıklıkla kullanılmaktadır. Bakteriler de ekosistemin bir parçasıdır ve bu testler kolay, ucuz ve hızlıdır. Ayrıca birçok kimyasalın etkisi hücrelerdeki proseslerin engellenmesiyle görülebilmektedir. Bakteriyel biyodeneylelerin popülaritesi, organizmanın ekosistemin bir parçası olup olmasına ve biyodeneyleyin hızlı ve basit olup olmasına bağlıdır (93,94). Biyotestlerde zehirliliğin ölçümü için kullanılan bakteriyel aktivite genellikle aşağıdaki şekillerde ölçülmektedir (95):

- Çoğalma hızı (hücre çoğalması, substrat alımı)
- Enzim aktivitesi (dehidrojenaz ATP)
- Bakteriyel luminesans (ışık yayma) (Microtox, Biotox vb.)
- Metabolik ısı üretimi(mikrokalorimetrik teknikler)
- Respirasyon hızı

Son yıllarda bakterilerin kullanıldığı biyotestlerden biyoluminesans bakteri ile yapılanlara ilgi artmıştır. Bunun nedeni, zehirlilik mekanizmaları ne kadar farklı olsa da, herhangi bir organizmaya zehirli etki yapan bir maddenin diğer organizmalara da benzer etki yaptığının belirlenmesidir. Böylece luminesans inhibisyonunun belirlenmesi, daha yüksek yapılı canlılara etkiyi temsil edebilmektedir (96,94).

Biyoluminesans inhibisyonu için kullanılan organizmalar genellikle *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*), *Vibrio harveyi* ve *Pseudomonas fluorescens*. Bunların arasında en popüler olanı *Photobacterium phosphoreum* olarak da bilinen *Vibrio fischeri* test organizması ile yapılan testtir. *Vibrio fischeri* gram negatif bir deniz bakterisidir ve diğer akut testlerden daha ucuzdur (94).

Sucul (akuatik) zehirlilik testlerinde test türleri seçilirken genellikle küçük, laboratuvarında kolaylıkla üretilebilen ve çabuk sonuç veren testlerin kullanımı tercih edilmektedir. Kullanılan türlerin etkileri; ölüm, hareketsizlik (immobilizasyon) ve ışık verme (bioluminesans) gibi tepkilerle, kısa zaman aralıklarında vermeleri ve hassasiyetlerinin yüksek olması istenmektedir. Bu profile uyan ve bu amaçları sağlayabilecek *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*, *Pimephales promelas* (fethead minnow) gibi birçok organizma mevcuttur. Zehirlilik testlerinde yaygın olarak kullanılan bazı türler Tablo 5’de verilmiştir (97).

**Tablo 5. Ekotoksosite testlerinde kullanılan bazı türler (97).**

Gruplar	Türler	Tepki	Süre	Özellikler
<u>Bakteriler</u>				
Işık yayan bakteri	<i>Vibrio fischeri</i>	Işık yayma özelliğinin azalması	5-30 dk	Ticari olarak üretilmiş test paketleri, çabuk sonuç veriyor, diğer testlerle uyumlu sonuçlar.
Karışık mikrobiyal kültür	Aktif çamur	O <sub>2</sub> alımı, CO <sub>2</sub> üretimi, nitrifikasyon inhibisyonu	30 dk- 100sa	Respirometri, arıtma tesislerine deşarj edilen atıksuların zehirliliğinin ölçümü.
<u>Bitkiler/Algler</u>				
Deniz algleri	<i>Skeletonoma costatum</i>	Çoğalmanın azalması	72 sa	Fitozehirliliğın işareti
Tatlı su algleri	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Çoğalmanın azalması	72 sa	Fitozehirliliğın işareti
Tatlı su bitkisi	<i>Lemna minor</i>	Köklerin çoğalmasının azalması	72 sa	Küçük, çok yaygın, yüzücü, temsil edici, renkli atıksular için uygun
<u>Kabuklular</u>				
Tatlı su türleri	<i>Daphnia magna</i>	İmmobilizasyon	48 sa	Küçük, hassas, uluslararası standart, laboratuvarında üretilebilir, larvalar için önemli bir zinciri temsil eder.
Haliç karidesleri	<i>Crangon crangon</i>	Ölüm	96 sa	Yaygın bir tür, birçok kabukluyu temsil eder.
Tuzlu su kabukluları	<i>Tigriopus brevicornis</i>	Ölüm	48 sa	Çok küçük, hassas, laboratuvarında üretilebilir, larvalar ve yetişkinler kullanılabilir.
Tuzlu su kabukluları	<i>Tisbe battagliai</i>	Ölüm	48 sa	Çok küçük, hassas, uluslararası standart.
<u>Balık</u>				
Yetişkin tatlı su	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Ölüm	96 sa	Uluslararası standart,

---

---

balıkları				temsil edici, bahar ve yazın bulunur.	
Yetişkin balıkları	tuzlu su	<i>Scophthalmus maximus</i>	Ölüm	96 sa	Yaygın türleri temsil eder, tüm yıl içinde bulunabilir.

---

---

### **Biyoluminesans İnhibisyon Testi**

Biyoluminesans (ışık yayan) bakteriler su ve atıksu numunelerinde, sedimentlerde ve toprak numunelerinde zehirliliğin belirlenmesi için yaygın şekilde kullanılmaktadır (98-102). Bu testin hızlı, hassas, tekrarlanabilir ve ayrıca çok küçük hacimlerde çalışılabilir olması çeşitli avantajlarındandır. Bu biyodeneysel, patojenik olmayan bir bakteri zincirinin, toksiklere maruz kalması sonucu bakteriden yayılan ışığın azalmasının ölçümüne dayanır (103-104).

Işık yayan organizmalarda ışık emisyonları lusiferaz enzimi, indirgenmiş flavin ve oksijen varlığında uzun zincirli aldehytler ve hücre elektron taşınım sisteminin birlikte çalışmasıyla oluşur. Işık yayılımı bu elektron akışlarına bağlıdır ve metabolik aktivitenin değişimi ve organizmanın sağlığını etkileyen herhangi bir etki ışık yayılımını etkilemektedir. Işık yayılımındaki bu değişikliklerin belirlenmesi için kullanılan bir fotometre ile herhangi bir toksik madde için EC<sub>50</sub> değerleri belirlenebilmektedir (103,105).

Biyoluminesans bakteri olarak bu testte *Photobacterium phoshoreum* (*Vibrio fischeri* olarak bilinen NRRLB 11177 zinciri) deniz bakterisi yaygın olarak kullanılmaktadır. *Vibrio fischeri* bakterisinin kullanımı ilk olarak 1979'da gerçekleşmiştir. Toksik maddelerin varlığında ışık yayılımını azaltan *Vibrio fischeri* bakterisinin yaydığı ışık spektrumu 420-630 nm arasında değişmekte 490 nm'de maksimum yoğunluğa ulaşmaktadır. Işık yoğunluğu, pH, tuzluluk, toksik madde konsantrasyonu, süre, bakteri yaşı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu bakteri ile yapılan test, hava kirliliğinin, biyolojik toksinlerin, biyoreaktivitenin, içme suyu kalitesinin, endüstriyel ve evsel atıksuların, zararlı atıkların, toprak ve sediment zehirliliğinin analizinde kullanılmaktadır (103,106).

Bu tip biyodeneysel kimyasalların zehirlilik mekanizması çok çeşitli şekillerdedir ve karmaşıktır. Zehirlilik hücre duvarının alıcılarının etkilenmesinden, hücre membranının bozulmasından, hücre içindeki çeşitli reaksiyonlardan veya enzim sistemlerinin inhibisyonundan kaynaklanabilmektedir. Buna göre antagonistik ve sinerjistik etkileşimler hücre içinde ve dışında toksik etkilere sebep olabilmektedir. Biyoluminesans inhibisyon

testlerinde zehirlilik, bakteri tarafından yayılan ışık üretiminin inhibe olması (azalması) ile ölçülür. *Vibrio fischeri*'nin kullanıldığı biyoluminesans inhibisyonu testinde akut zehirliliğin belirlenmesi için Microtox, Biotox, Lumistox, Toxalert gibi test kitleri kullanılmaktadır (105).

Bakterinin ışması ATP üretimi ile alakalıdır ve herhangi bir hücrel aktiviteye etki eden bir inhibitör, ATP üretimini etkileyecek ve buna bağılı olarak ışma seviyesinde bir değışim gerçekteşecektir. Numune ne kadar zehirli ise test karışımındaki bakterilerin biyolojik ışıldamasındaki ışık kaybı da o kadar fazla olacaktır. Bakteriyel ışmanın, hücrel metabolizmanın uygun bir ölçümü olduğu ve aynı zamanda su ortamındaki zehirli kimyasalların etkilerinin ölçümünde güvenilir bir sensör olduğu kanıtlanmıştır (107).

*Vibrio fischeri*'nin kullanıldığı biyoluminesans reaksiyonunda, indirgenmiş flavin mononükleotidi (FMNH<sub>2</sub>) anahtar rolü oynar. Flavin redüktaz enzimi varlığında, indirgenmiş nikotinamid adeninnükleotid fosfat (NAD(P)H) ile FMN, FMNH<sub>2</sub>'ye indirgenir (94). İndirgenmiş FMNH<sub>2</sub> moleküler O<sub>2</sub>, aldehit ve lusiferaz enzimi varlığında FMN ve H<sub>2</sub>O'ya oksitlenir. Bu reaksiyon sırasında dalga boyu 490nm olan mavi-yeşil ışık yayılır (94).



### ***Vibrio fischeri* Bioluminesans İnhibisyon Testi Prosedürü ve Uygulama Alanları**

Standart bioluminesans inhibisyon testi, ISO 11348-3 (108) veya DIN 38412 L34 (109)'e göre yapılmaktadır. Bu standartta herhangi bir atıksuyun, sedimentin veya toprak numunesinin ışık yayan bir bakteri olan *Vibrio fischeri*'ye olan zehirliliğı, numunelerin çeşitli seyreltilerinin 5-30 dk'lık maruz kalma sürelerine bağılı olarak ışık yayma özelliğinin inhibisyonu ölçülerek bulunmaktadır. Standart test belli bir inkübasyon süresi sonunda optik yoğunluğun ölçümü ile çoğalmanın inhibisyonunu belirlemektedir. Zehirlilik prosedüründe, numunelerin %2'lik NaCl içermesi koşuluyla, 500 µl bakteri kültürü 500 µl numuneye maruz bırakılır. Şahit olarak %2'lik NaCl kullanılır. Suda çözünmeyen maddeler için taşıyıcı bir solvent (etanol, metanol, izopropanol, asetonitril vb.) kullanılır. Bu solventin %2'lik NaCl içindeki miktarı %1.5'ten az olmalıdır. Test 15°C'de yürütülür. *Vibrio fischeri* bakterisine çeşitli seyreltiler sonrasındaki inhibisyonlar, lineer regresyon analizi ile belirlenen EC<sub>50</sub> değerleri ile belirlenir. Her seyreltinin inhibisyonu 2 ve 3'deki eşitliklerle hesaplanır ve logaritmik skalaya yerleştirilir. EC<sub>50</sub> değerleri standart lineer regresyon analizi ile belirlenir (94,110):



$$KF = \frac{IC_{15}}{IC_0} \quad (2)$$

$$INH\% = 100 - \frac{IT_{15}}{KF * IT_0} * 100 \quad (3)$$

Bu eşitliklerde;

KF= Düzeltme faktörü

IC<sub>15</sub>= Şahidin 15 dakika maruz kalma süresi sonundaki ışımaya şiddeti

IC<sub>0</sub>= Şahidin ilk ışımaya şiddeti

IT<sub>15</sub>= Numune seyreltilerinin bulunduğu tüpte 15 dk sonraki ışımaya şiddeti

IT<sub>0</sub>= Numune seyreltilerinin konulacağı tüplerde ilk ışımaya şiddetini belirtmektedir.

Biyoluminesans inhibisyon testi birçok tekil maddenin ve organik ve inorganik madde karışımlarının zehirliliklerinin belirlenmesi için kullanılabilir. Bu biyodeneysel birçok numune için; yeraltı suları, yüzeysel sular, kompleks atıksular, sedimentler, topraklar ve evsel atıksular için kullanılabilir (94).

## **TIBBİ İLAÇLARIN EKOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİ**

İlaçlar insanlarda ve hayvanlarda özel metabolik ve moleküler yollar hedeflenerek tasarlanırsa da çoğu önemli yan etkileri de vardır. İlaçların farklı biçimlerde toksik etkileri olabilir; narkoz, polar narkoz, solunum durması, asetilkolin esteraz inhibitörü, membran irritanı, santral sinir sistemi felci (111). Çevredeki hedef olmayan organizmalar ilaçlar ve onların toksik etki şekillerinden etkilenir. Toksik etkinin narkoz biçimi genellikle temel toksisite ya da spesifik olmayan bir biçimi olarak adlandırılır. Narkoz mekanizması;

1-Farklı türler için aşağı yukarı aynıdır,

2-Organizma ölmeden önce toksik maddeye maruz kalma durdurulursa etki geri dönüşümlüdür,

3- Bireysel bileşiklerin oluşturduğu karışım narkotik toksisiteye daha fazla etkilidir (112).

Çevreye atıldıklarında aynı ve benzer hedef organları hücreleri ya da biyomolekülleri olan hayvanlarda benzer yollarla etkili olurlar. Alt grup hayvanlarda (mikroorganizma) özel

toksisite analizlerini yapmak oldukça güçtür. Toksisite deneyleri, hareket tarzlarının benzerliği hipotezine dayanarak alt omurgalı ve omurgasızlarda da, ilaçların özel hedefleri olarak tasarlanmalı ve hedeflenmelidir. Fakat mevcut toksisite testleri bu yolla tasarlanmamıştır (113).

Şimdiye kadar yapılan ekotoksisite testlerinde verilen göstergeler, farklı trofik seviyelerdeki organizmalarda in vivo kısa dönem (akut) etkiye maruz kalmaların ve seyrek olarak uzun dönem (kronik) maruz kalmaların belirtilerini ortaya koymuştur. Bu veriler ekolojik risk değerlendirmesinde kullanılır. Hayvan sağlığı ve taramaları için yapılan in vitro analizler daha önemlidir ancak bileşiklerin toksikolojik projilerini değerlendirmede, özellikle risk analizleri için yeterli değildir. Laboratuvar araştırmalarının ötesinde bazı matematik modeller ekotoksikolojik etkileri hesaplamak ve tahmin etmek için geliştirilmiştir. En sık uygulanan program EPA'nın kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (QSAR-quantitative structure) programı ECOSAR'dır (114). Birçok dezavantajına rağmen program, ilaç taban toksisite tahminlerinde tekrarlanarak uygulanmıştır (25,114,115). Potansiyel toksisiteyi hesaplamakta yada bileşiğin çevredeki davranışını tahmin etmekte yararlıdır, ancak in vivo ve in vitro deneylerin yerini alamaz.

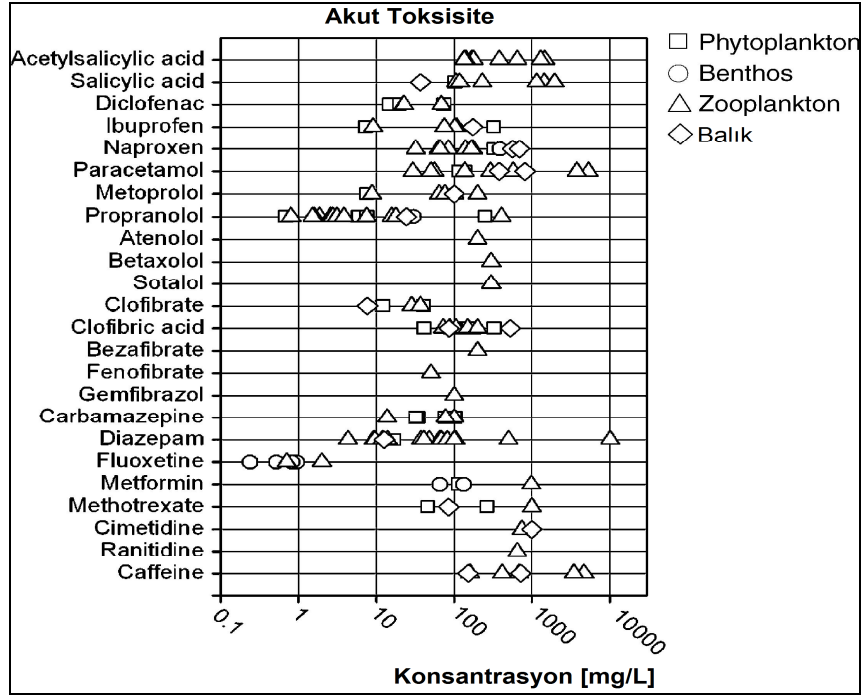
İlaçların ekotoksikolojik etkileri hakkındaki mevcut literatür bilgileri genellikle sudaki organizmalarda akut toksisite testlerine odaklanmaktadır. pH gibi çevresel parametrelerin toksisite üzerine etkisi ya çok az yada hiç araştırılmamıştır. Bu tür çalışmalar örneğin asidik ilaçlar farklı ortam pH'larında farklı toksisiteye sebep olabilir. Ayrıca ilaç metabolitlerinin etkileri hemen hemen hiç araştırılmamıştır. Mesela naproxenin fototransformasyon ürünleri ana bileşikten daha yüksek toksisite göstermiş iken genotoksisitesi bulunmamıştır. Kontamine olmuş bölgelerde bu bileşikler yaşam döngüsüne girerek akuatik hayatı etkilemektedirler. Kronik etkiler daha az araştırılmış hatta göreceli olarak kısa dönemli etkilerine bağlı kalınmıştır. Bununla birlikte doğru bir çevresel risk değerlendirmesi için uzun süreli maruz kalmaya ihtiyaç vardır.

## **NON-STEROİD ANTİENFLAMATUVAR İLAÇLARIN AKUT ETKİLERİ**

İlaçların akut toksisiteleri belirlenmiş laboratuvar organizmaları (alg, zooplankton ve diğer omurgasızlar ve balıklar) ve belirlenmiş geleneksel standart testler (OECD, U.S, EPA, ISO) kullanılarak değerlendirilir. İlaçların akut toksisite verileri Halling-Sorensen ve arkadaşları (44) ve Webb (116) tarafından derlenmiş değişik kaynaklardan 100 ilacın bir

listesi verilmiştir. Webb, farklı trofik seviyeleri karşılaştırarak listedeki ilaçlara alglerin *Daphnia Magna* dan daha hassas olduğunu ve balığın ise daha az hassas olduğunu öne sürmüştür. Farklı sınıftan ilaçların akut toksisite açısından karşılaştırılmasında Webb (116) en toksik sınıftan olan ilaçların; antidepresanlar, antibakteriyeller ve antipsikotikler olduğunu da not etmiştir. Fakat bu kategorilerin herbiri için yanıt aralığı büyüktür.

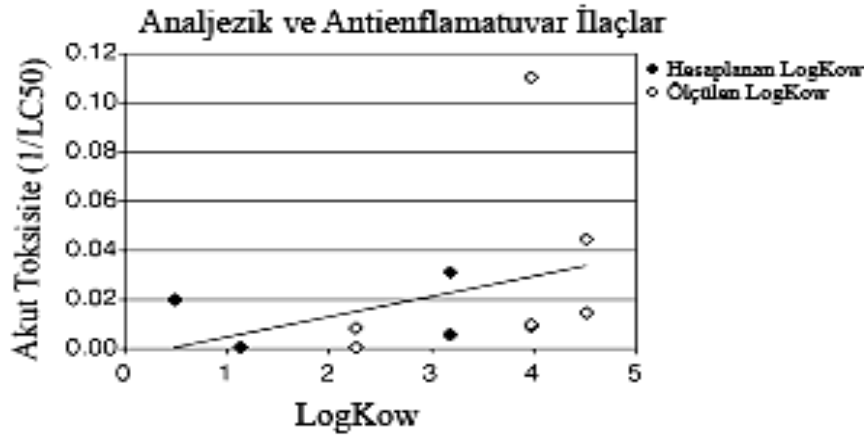
Genelde her ilaç için toksisite verileri değişir. Örneğin diklofenak NSAID sınıfı içinde en yüksek akut toksisiteye sahip bileşik olarak görünür, yapılan bütün testler için etki konsantrasyonları 100 mg/l nin altında olduğu Şekil 5’de görülmektedir. Kısa dönemli akut toksisite alg ve omurgasızlarda analiz edilmiş (116,117) fitoplanktonun [en düşük EC<sub>50</sub> (96 h) = 14.5 mg/L (118)] zooplanktondan [en düşük EC<sub>50</sub> (96 h) =22.43 mg/L (118)] daha hassas davrandığı görülmüştür.



Şekil 5. Değişik terapatik sınıflardaki 24 farklı ilacın organizmalar üzerindeki akut toksisitesi. Farklı organizmalar, farklı bitiş noktaları ve tesir süreleri için EC<sub>50</sub> ve LC<sub>50</sub> için değerleri (44,82,116-133).

Şekil 5’de özetlenen akut toksisite verilerine göre ilaçların %17 sinin 100 mg/lt altında akut toksisite göstermektedir ve fluoksetin için bütün toksisite değerleri 10 mg/lt nin altındadır. Diğer yandan ilaçların %38’i (asetil salisilik asit, betaksolol sotalol, bezafibrate, gemfibrozil, bezafibrate, simetidin ve ranisidin gibi) 100 mg/lt nin üzerinde LC50 değerleri göstermiştir.

Daphnia da akut toksisite ile arasında bir korelasyon yoktur, Log Kow ile lipofilik olduğu görülmektedir (Şekil 6). Genel olarak balıklardaki akut toksisite hakkında fazla bir bilgi yoktur.



Şekil 6. NSAİ ilaçların ( $y = 0.0082x - 0.0034$ ;  $R^2 = 0.1202$ ) akut toksisiteleri (LC50) (45,117-121,123-126, 128-130) ve hesaplanmış octanol-su ayrıştırma katsayıları ( $\text{LogK}_{ow}$ ) arasındaki ilişki (Log Kow ; asetilsalisilik asit (1.13) (113) ; salisilik asit (2.26) (134); diklofenak (4.51), ibuprofen (3.97) (135); naproksen (3.18) (125)).

Son yıllarda oktanol/su ayrıştırma katsayısı olarak adlandırılan Kow, organik kimyasalların çevresel ortamlardaki akıbetleri konusunda yapılan çalışmalarda anahtar parametre haline gelmiştir. Bir maddenin katı maddeye adsorplanma derecesini (kabiliyetini) tahmin etmek için, oktanol/su ayrıştırma katsayısı (Kow) değerleri belirlenmektedir. Kow değeri bir maddenin iki fazındaki (n-oktanol ve su fazı) ayrışma katsayısını (Kd) karakterize etmektedir. Lipofilik maddelerin, sedimentlere, aktif çamura ve özellikle organizmaların yağ dokularına hangi oranlarda adsorplanabileceği hakkında tahminde bulunmayı sağlamaktadır.

Kow değeri çoğu zaman ondalık logaritma log Kow olarak da belirtilmektedir. Kd değerine benzer olarak bileşiklerin yüksek Kow değerleri, bu bileşiklerin aktif katı madde tarafından iyi adsorplanabildiğini, düşük Kow değerlerinin ise bu bileşiklerin genellikle su fazında kaldıklarını ve iyi adsorplanamadıklarını göstermektedir. Genel bir ifade olarak bir kimyasal ne kadar fazla hidrofobik olursa katı madde tarafından adsorpsiyonu o oranda fazla,

ne kadar hidrofilik olursa katı madde tarafından adsorpsiyonu o oranda az olmaktadır. Sorpsiyonun etkinliğini belirleyebilmek için aşağıdaki genel ifadeler, kullanılabilir (25,136).

Log Kow <2,5 düşük adsorpsiyon potansiyelini

Log Kow >2,5 ancak <4,0 orta adsorpsiyon potansiyelini

Log Kow >4,0 yüksek adsorpsiyon potansiyelini göstermektedir

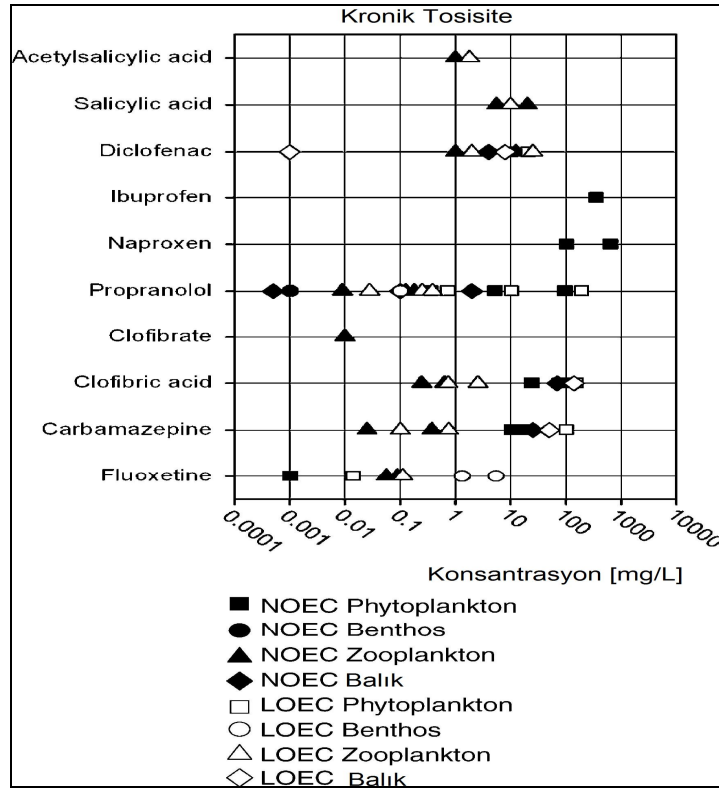
Geleneksel atıksu arıtma tesisleri işletim şartlarında, oktanol/su ayrıştırma katsayısı  $K_{ow} > 100$  olan bileşiklerin kayda değer bir oranda atıksu arıtma tesislerinde adsorpsiyonla giderilebildiği bildirilmiştir (87). Ancak steroid hormonlarında olduğu gibi bazı ilaçlar istisnai olup, bunların Kow değerleri 10.000 olmasına rağmen giderimlerinin son derece az olduğu ve az ilaç türünün bu kriteri sağladığı bildirilmiştir. Yapılan birçok çalışmada deneysel olarak elde edilen Kd değeri ile Kow değeri arasında aşağıdaki fonksiyonel eşitliklerin olduğu bildirilmiştir. Bu eşitliklerden Kd değeri veya Kow değeri deneysel olarak elde edilerek diğeri kolaylıkla tahmin edilebilmektedir. Bununla birlikte uygun şartlarda deneysel olarak ölçülen Kd değerleri her zaman için tahmin edilen değerlere tercih edilmelidir (137).

Değişik sınıftaki ilaçların akut toksisite verileri ile logKow değeri arasında ilişki olduğu görülmektedir. LogKow lipofilikliğini belirlemede membran toksisitesi için önemli bir parametredir. Bununla birlikte belli bir kategorideki ilaçlar yada bütün ilaçların logKow değeri ile ve belli türlerin, bir organizma grubunun ya da hepsinin akut toksisite verileri arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Bir sınıf ilacın ölçülmüş ve hesaplanmış logKow değeri ile *D.magna* için akut toksisite verileri arasındaki en iyi ilişki Şekil 3'te ortaya konmuştur. Verilerin değişkenliğinin sebepleri muhtemelen laboratuvar farklılıkları, nominal konsantrasyon farklılıkları, çoğalma hassasiyet farklılıkları olabilmektedir. Ayrıca ortamın pH'ında önemi büyüktür (136-138).

Sonuç olarak ölçülmüş çevresel konsantrasyonlarda akuatik organizmaların akut toksisiteye uğraması muhtemel değildir. Akut etki konsantrasyonları sulu çevrede bulunan kalıntılardan 100 ile 1000 defa daha yüksektir. Mesela fluoxetine'in en düşük akut etki konsantrasyonu 20 µg/lt iken hesaplanmış en yüksek çevresel konsantrasyon 0.01 mg/lt dir. Salisilik asidin en düşük akut etki konsantrasyonu 37 mg/lt iken en yüksek çevresel konsantrasyon yaklaşık 60 µg/lt dir (139). Bu yüzden ilaçların direk suda ortamlara verilmesi durumunda suda yaşayan canlılara akut toksisite tehdidi oluşturabilir.

## NON-STERÖİD ANTİENFLAMATUVAR İLAÇLARIN KRONİK ETKİLERİ

Akuatik ortamda yaşayan birçok canlı türü ya uzun süreler yada hayatları boyunca mikrokirleticilerin etkisi altındadırlar. İlaç gibi mikrokirleticilerin kronik potansiyellerinden dolayı atılımları önemlidir. Bununla beraber kronik veriler yok veya var ise de kronik toksisite hakkında fazla bilgi yoktur.



Şekil 7. Farklı terapetik sınıflarda ait 10 farklı ilacın kronik toksisite etkileri. Farklı sucul organizmalar için etki sürelerine ve farklı sonuçlarına göre en düşük etki konsantrasyonları (LOEC) ve gözlenmemiş etki konsantrasyonları (NOEC) (63,82,116,118,123-125,127,129,130,140-142).

Tehlike ve risk değerlendirmesinde kimyasalların miktarları akut ve kronik toksisite arasındaki oranla ele alınır. Ekotoksisite testlerinin amacı kimyasal maddelerin kullanılması nedeni ile ortaya çıkabilecek risk yada zararı belirleyebilmektir. İlaçlar için bu güçtür. Çünkü sadece seyrek olarak verilen bir ilacın hem akut hem de kronik toksisitedeki sistematik bir analizi yalnız bir tür için gerçekleştirilir. Kronik toksisite testlerinde doz-yanıt ilişkisinden yararlanarak; Hiçbir etkinin gözlenmediği etki düzeyi (no observed effect level, NOEC) ve Gözlenen en düşük etki konsantrasyonu (lowest observed effect level, LOEC) bulunabilir.

NOEC hiçbir toksik etkinin gözlenmediği konsantrasyon olduğundan, organizma için bir maddenin “zararsız ya da güvenli” düzeyini tayin etmek oldukça kolaydır (Şekil 7).

NSAID’lar, COX üzerinden prostaglandislerin açığa çıkışını ve sentezlerini engeller ve bu bileşikler ilaçların en çok tüketilen kategorisidir. NSAID’lar çoğunlukla sulu ortamda bulunurlar ve pek çok kronik veri rapor edilmiştir. Asetilsalisilik asit *D.longispina*’da ve *D.magna*’da 1.8 mg/lt konsantrasyonlarında (129) üremeyi etkiledi. Diclofenak atıksu ortamında ortalama 0.81µg/l konsantrasyonlarında (1) bulunurken atıksu ve yüzey sularında maksimum konsantrasyonları 2 µg/l ye çıkabilir (1,63,75). Omurgasızlar için diklofenak’ın geleneksel kronik toksisite raporu edilmiştir (118,141).

### İLAÇ KARIŞIMLARININ TOKSİSİTESİ VE TOPLU ETKİLERİ

İlaç kalıntıları sucul çevrede tek başlarına kirletici madde olarak bulunmazlar. Genellikle karışım halinde bulunurlar. Bu nedenle bu kompleks bileşiklerin sucul hayata olan riskini ve organizmaların maruz kalmasını bilimsel olarak değerlendirmemiz gerekmektedir. Ekotoksikologlar, 20 yılı aşkın süredir çeşitli maddelerin karışımlarının kombine etkilerini aydınlatmak ve risk değerlendirmeleri ile ilgili çalışmalar yapmışlardır (143-145).

Genelde karışımın toksisitesini tahmin etmede 2 farklı kavram vardır;

1-Konsantrasyon toplamı,

2-Bağımsız etki’dir.

Konsantrasyon toplamı kavramını Loewe ve Muischnek (146) denklem 4’te matematiksel olarak şu şekilde ifade etmişlerdir;

$$\sum_{i=1}^n \frac{c_i}{EC_{xi}} = 1 \quad (4)$$

Konsantrasyon toplamı ifadesi, kimyasalların “benzer hareket” fikri üzerine kurulmuştur.

Alternatif kavram ise “bağımsız etki”dir. Karışımda bileşiklerin farklı hareketlerini temel alır. Bliss (147) tarafından denklem 5 ve 6’da şu şekilde ifade edilmektedir;

$$E(c_{mix}) = 1-[(1-E(c_1))(1-E(c_2))] \quad (5)$$

ya da genellikle,

$$E(c_{\text{mix}}) = 1 - \left[ \prod_{i=1}^n (1 - E(c_i)) \right] \quad (6)$$

denklemleri ile ifade edilmektedir.

Bir karışımda bulunan bireysel bileşiklerin konsantrasyonları eğer “bileşiklerin konsantrasyon toplamı” kavramına uyuyorsa kombine gösterdikleri etki genellikle yüksek olacaktır. Konsantrasyon toplamı kavramında önemli bir nokta da, maddenin bireysel olarak gözlenmeyen (etkisiz) konsantrasyonlarının altındaki uygulamalarda bile karışımın toplam etkisine bulunabilmesidir. Bu tarz davranabilen bileşiklerin hareket şekilleri ”narkoz” olarak adlandırılmaktadır. Bir kimyasalın narkoza neden olma potansiyeli hidrofobikliğine bağlıdır ve genellikle “n-oktanol-su ayırma katsayısı”(LogKow) ile ifade edilir. Çeşitli yanıtıcı farklı kavramlar “sinerjizm” ve “antagonizm” terimleri ile ilişki kurmaya yönlendirmiştir. Maddeler ve onların hareketleri arasında sinerjistik ya da antagonistik etkiler, benzer ya da farklı hareket biçimlerinin bağımsız olarak ortaya çıkmasına neden olabilir.

İlaç karışımlarının etkilerini inceleyen sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. Cleuver (117,125), antiinflamatuvar ilaçların ekolojik potansiyellerini ve ilaçların çeşitli hareketlerini, farklı sucul organizmalarla yapılan değişik biyotest gruplarında incelemiştir. Bir NSAIİ karışımı (diklofenak, ibuprofen, naproksen, asetilsalisik asit) akut *Daphnia* ve algal testler ile incelenmiştir. Tek bir bileşiğin ya etkisi yok yada sadece küçük bir etkisi varken karışımın toksik olduğu görülmüştür.

İbuprofen ve diklofenak’tan oluşan bir NSAIİ kombinasyonu analiz edildiğinde, alg üzerindeki etkisi konsantrasyon toplamı kavramını izlemiştir. Halbuki *Daphnia* da kombinasyon etkisi daha fazladır. Bu sonuçlar ilaçların akut toksisiteleri için “konsantrasyon toplamı” kavramının kabul edilebileceğini işaret etmektedir (Her bir ilacın kombinasyon etkisine eklenmesi gerekmektedir). Bu da kendi ayrı NOEC lerinden daha düşük konsantrasyonlarda meydana gelmektedir.



## **ÇEVRESEL KONSANTRASYONLARLA EKOTOKSİKOLOJİK ETKİ KONSANTRASYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Bir maddenin çevreye vereceği potansiyel risk sıklıkla, tahmini çevresel konsantrasyon (PEC) ile tahmini etkisiz konsantrasyonun (PNEC) karşılaştırması ile karakterize edilir. İlaçların PEC değeri sıklıkla satış rakamları, ya da kullanım alanları nüfus yoğunluğu, atıksu ürünleri ya da seyreltileri ve su havzalarındaki yüzey sularındaki olası konsantrasyonları tahmin ederek hesaplanır (25,44,89,133,148). İlaçların ekotoksitesitesi üzerine yeterli deneysel veri (özellikle kronik) olmadığından PNEC in hesaplanması ve risk ve tehlike değerlendirmesi zor, hatta imkansızdır. Literatür ya da veri tabanlarında ilaçların %1' inden daha azı için veri mevcuttur ve çok az sayıda yeni ilacın ekotoksikolojik testler kullanılarak risk değerlendirmeleri yapılabilmektedir. Deneysel verilerin olmaması durumunda bilgi kantitatif yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) tahminleri, örneğin EPA'nın ECOSAR programı kullanılarak bulunur (25,44,133).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### ÇALIŞMA ALANININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Türkiye'deki endüstrileşme hareketleri sonucu, 1973 yılından itibaren Trakya'da organize sanayi bölgeleri kurulmaya başlanmış ve bunun sonucu olarak, özellikle Ergene Havzası ve çevresinde önemli boyutlara ulaşan çevre kirliliği ortaya çıkmıştır. Havzada I.-II.-III. sınıf tarım arazileri üzerinde sanayi bölgeleri oluşturulmuştur. Bu sanayilerin büyük bir çoğunluğu da tarıma dayalı ve çok su tüketen sanayilerdir. Buradan kaynaklanan endüstriyel atıksular Ergene Nehri ve yan kolları olan derelerle Saroz-Enez'e kadar uzanmakta ve tarım topraklarında tuzluluk ve çoraklaşmaya neden olmaktadır. Ayrıca bu atıksular yer altı su kaynaklarını kirletme potansiyeline de sahiptirler. Ergene Havzası Trakya'da Kuzey Marmara Havzası, Meriç Havzası ve Bulgaristan sınırı ile çevrilidir. Havzanın toplam alanı 11 325 km<sup>2</sup> olup coğrafi yapısı bakımından denize kapalı bir havza şeklindedir (149).

Ergene Havzası'nın en önemli yerüstü su kaynağı Ergene Nehri ve yan kollarıdır. Havzanın ortasından geçmekte olan Ergene Nehri, Tekirdağ'ın Saray ilçesinin Taşpınar tepesi civarındaki kaynaklardan doğar ve Ergene Deresi olarak güneye doğru akarken, Çerkezköy ilçesinden gelen Çorlu Suyu ile birleştikten sonra Ergene Nehri adını alarak batıya doğru akışını sürdürür. Ergene Nehri, Edirne'nin Uzunköprü ilçesinin 40 km güneybatısında Meriç-Adasarhanlı köyü yakınında Meriç Nehri ile birleşmektedir. Ergene Deresi Yıldız dağlarındaki mambadan Çorlu Suyu ile birleşim yerine kadar 91 km, Ergene Nehri adını aldıktan sonra Meriç Nehri ile birleştiği yere kadar ise 194 km olmak üzere toplam nehir

uzunluğu 285 km'dir. Ergene Nehrinin drenaj alanı 10730 km<sup>2</sup> olup, yıllık ortalama debisi yaklaşık olarak 28 m<sup>3</sup> /sn'dir (150).

Ergene Havzası'nda genellikle kara iklimi hüküm sürer. Kışları soğuk ve yağışlı, yazları sıcak ve kuraktır. Aralık ve Ocak yılın en yağışlı, Temmuz ve Ağustos ise en kurak aylardır (151).

Trakya Üniversitesi ve DSİ'nin yaptığı incelemeler sonucunda 132 200 dekar tarım alanının kirlilikten etkilendiği ve sulama yapılamadığı ve halen işletmede olan DSİ sulamalarından Altinyazı-Karasaz, Sultanköy, Karpuzlu sulamalarının da bu kirlilikten etkilenecek bölgede yaklaşık 700 000 dekar arazinin bu kirliliğin etkisi altında kalacağı neticesi ortaya çıkmıştır (149).

Ergene Havzası'nda özellikle Tekirdağ sınırları içerisindeki derelerin debi ve rejimleri düzensiz olup yağış miktarı ve rejimiyle orantılıdır. Bu derelerin yazın suları azalarak kurumakta, kışın ise yağış ve kar erimeleriyle çoğalmaktadır. İl sınırları içindeki dereler yağmur ve kar suları taşımaktadır, bunları besleyen ayrıca bir kaynak bulunmamaktadır (152).

### **Numune Alma Bölgesi ve Noktaları**

Havzada son yıllarda sanayi çok hızlı bir şekilde gelişmiştir. Ergene Nehri'ne deşarj yapan endüstrilerin 979'u Tekirdağ'da, 30'u Kırklareli'nde ve 13'ü Edirne'de bulunmaktadır. Çerkezköy'de organize sanayi sitesinde tekstil, beyaz eşya, elektronik eşya, kozmetik, ilaç, boya fabrikaları bulunmaktadır. Çorlu ile Lüleburgaz arasındaki D100 kara yolunun etrafında yer alan ağır organize sanayinde tekstil, cam, kağıt, metal, yağ, gıda, ilaç, deri ve kimya fabrikaları bulunmaktadır. Havzada yer alan endüstriler atıklarını Ergene Nehri ve kollarına deşarj etmektedirler. Bu sanayi kuruluşlarından günlük olarak 228 250 m<sup>3</sup> su arıtılarak veya arıtılmaksızın Ergene Nehri'ne deşarj edilmektedir (149).

Alıcı ortamdaki numune alma yerleri Çorlu Deresi üzerinde Çerkezköy organize sanayi bölgesinin arıtma çıkışına en yakın nokta olan Velimeşe istasyonu, Çorlu-Lüleburgaz D 100 karayolu üzerinde bulunan Eczacıbaşı-Zentiva Sağlık Ürünleri Sanayi ve Tic. A.Ş'nin atık sularının deşarj edildiği noktaya yakın olan Seyitler mevkiinden geçen Ergene Nehri istasyonu ve evsel atık su numunesi olarak Çorlu hastane ve evsel atıksuları karakterize edecek 3 kanalizasyon çıkışı belirdi. Numune alma noktaları S1-S5 arasında numaralandırıldı. Numune alma noktalarından olan S1, S2 ve S3 istasyonları Çorlu evsel atıksuları, S4 Ergene Nehrinin en önemli kollarından biri olan ve Çorlu ve Çerkezköy'deki

endüstrilerin deşarjlarını toplayan Çorlu Deresi üzerinde Velimeşe mevkii olarak seçildi. S5 istasyonu Ergene Nehri'ne deşarj yapan endüstrileri ve evsel atıksuları temsil etmesi amacıyla Seyitler mevkiisi seçildi. Çalışma bölgesinin haritası Şekil 8'de ve numune alma noktaları Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 8. Ergene Nehri ve Kolları (153).



Şekil 9. Numune alma noktaları (154).

### **Evsel Atıksu (Noktasal) İstasyonları**

Çorlu'da 130 yatak kapasitesi ile Çorlu Devlet Hastanesi, 400 yatak kapasitesi ile Askeri Hastane, 34 yatak kapasitesi ile Özel Vatan Hastanesi ve 50 yatak kapasitesiyle Özel Şifa hastanesi hizmet vermektedir. Çorlu imar planı sahasının topografik yönden farklı yöne eğimli olması nedeniyle, mevcut kanal sistemi kuzeyde ve güneyde farklı ana kanallara toplanarak Çorlu çevresindeki derelere deşarj yapılmaktadır. Güneyde Ø500 ve 600'lük ana kanallara Lahana ve Küçük Çarak Dereleri'ne, kuzey ve kuzey batıda yine Ø500 ve 600'lük hatlarla Çorlu Deresi'ne deşarjlar mevcuttur. Çorlu merkezinin dışında kalan bölgelerde ise herhangi bir altyapı tesisi mevcut değildir. Atıksular en yakın dere yatağına deşarj edilmektedir. Tablo 6'de 2010 yılı için hesaplanan evsel debi ve yükleri verilmiştir (155).

**Tablo 6. 2010 Yılı için Evsel ve Hastane Atıksu Miktar ve Yükleri (155).**

Bölgeler	Nüfus	Debi	BOİ <sub>5</sub>	KOI	AKM	TKN
		m <sup>3</sup> /gün	mg/l	mg/l	kg/gün	mg/l
<b>Edirne</b>	69699	11120	2780	5212	3475	466
<b>Çerkezköy</b>	1500	240	60	113	75	10
<b>Türkgücü-Önerler</b>	181401	29024	7256	13605	9070	1215
<b>Tekirdağ</b>	119950	19192	4798	8996	5998	804
<b>Merkez</b>	290249	46440	11610	21769	14512	1945
<b>Seymen</b>	5000	800	200	375	250	34
<b>Toplam</b>	667599	106816	26704	50070	33380	4473

Bu çalışmada Çorlu ilçesini evsel ve hastane atıksuyu bazında temsil edebilecek 3 evsel atıksu (EA) çıkışından numune alınmıştır. Birinci istasyon (S1) Vatan Hastanesi atıksuları ve yakınındaki evlerden çıkan evsel atıksuları, ikinci istasyon (S2) Devlet ve Askeri Hastaneleri ile yakınındaki evlerden çıkan evsel atıksuları, üçüncü istasyon (S3) ise Şifa Hastanesi atıksuları ve yakınındaki evlerden kaynaklanan evsel atıksuları içermektedir. Evsel ve hastane atıksuları Çorlu deresine oradan da Ergene Nehrine deşarj edilmektedir.

### **Çorlu Deresi Yüzey Suyu İstasyonu**

Çorlu, Ergene Havzası'nda ve Trakya'nın merkezi bir yerinde bulunmakta olup Yıldız (Istranca) Dağları'ndan taşınan ve akarsulardan sürüklenen tortuların depolandığı bir dolgu bölgesidir. Çorlu'daki yer altı suyu potansiyelinin 274 hm<sup>3</sup>/yıl'ı, Ergene Havzası'ndan kaynaklanmaktadır. Tekirdağ'ın kullandığı su miktarı toplam suyun %42'sini oluşturmaktadır. Bu miktarın %61'inin (51.72 hm<sup>3</sup>/ yıl) Çorlu ilçesine ait olması dikkat çekicidir. Ayrıca Çorlu ilçesinin içme, kullanma ve sanayi amaçlı çektiği su miktarının, sulama suyundan daha fazla olduğu görülmektedir (156). Çorlu iç kesimde yer alması nedeniyle Trakya'da en az yağış alan bölgedir. Yöre önemli ölçüde yağış kış ve bahar mevsiminde alır. Yıllık yağış miktarı 545 mm (kg/m<sup>3</sup>)'tür (157).

Çorlu Deresi, Yıldız Dağları'nın doğu yamaçlarından beslenir ve birçok mevsimlik dereyi kendine bağlar. Ergene Nehri'nin en önemli kollarından biri olan Çorlu Deresi Çerkezköy, Veliköy, Velimeşe, Çorlu ve Muratlı Belediyeleri'nin evsel atıksuları ile Çerkezköy, Çorlu ve Muratlı ilçeleri dahilindeki değişik sektörlerle ait 610 adet sanayi

kuruluşlarının evsel ve endüstriyel arıtılmış ve/veya arıtılmamış atıksularını toplamaktadır. Tekirdağ İl Çevre Müdürlüğü'nden alınan bilgilere göre 2000 yılı itibariyle Çorlu Deresi'ne evsel ve endüstriyel kökenli günde ortalama 60 000 m<sup>3</sup> atıksu deşarj edilmektedir (158).

Bölgede halen çalışır durumda; Çerkezköy Organize Sanayi Bölgesi (ÇOSB), Deri Organize Sanayi (DOSB) (1-2) olmak üzere 3 adet OSB. bulunmaktadır. DOSB'de Yeni Deri ve Eski Deri olmak üzere 2 adet arıtma tesisi mevcuttur. Buradan günde toplam 6500 m<sup>3</sup>/gün arıtılmış atıksu Çorlu Deresi'ne, ÇOSB'den ise günde ortalama 26 000 m<sup>3</sup>/gün arıtılmış atıksu Çorlu Deresi'ne deşarj edilmekte olup, toplam 32 500 m<sup>3</sup>/gün arıtılmış atıksu deşarj edilmektedir (159). Tablo 7'de 2010 Yılı için Endüstriyel Atıksu Miktar ve Karakterizasyonun Bölgesel Dağılımı (155).

**Tablo 7. 2010 Yılı için Endüstriyel Atıksu Miktar ve Karakterizasyonun Bölgesel Dağılımı (155).**

Bölgeler	End.	End.	Debi	BOİ <sub>5</sub>		KOİ		AKM		TKN	
	Adedi	Alanı		kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l
Çorlu- Edirne	250	1250	127980	67180	525	295110	2306	71725	560	39	0,3
Güzergahı		ha	m <sup>3</sup> /gün	kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l	kg/gün	mg/l
Çorlu- Çerkezköy	97	485	47270	25120	531	54550	1154	15170	321	6,8	0,1
Güzergahı											
Türkgücü- Önerler Güzergahı	190	950	73700	46000	624	94360	1280	30900	419	48	0,7
Çorlu-Tekirdağ	38	190	10310	6300	611	13050	1266	4275	415	5,9	0,6
Güzergahı											
Çorlu Merkez	10	10	180	453	2517	700	3889	425	2361	2	11,1
Seymen köyü civarı	85	425	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam	670	3310	259440	145053		457770		122495		101,7	

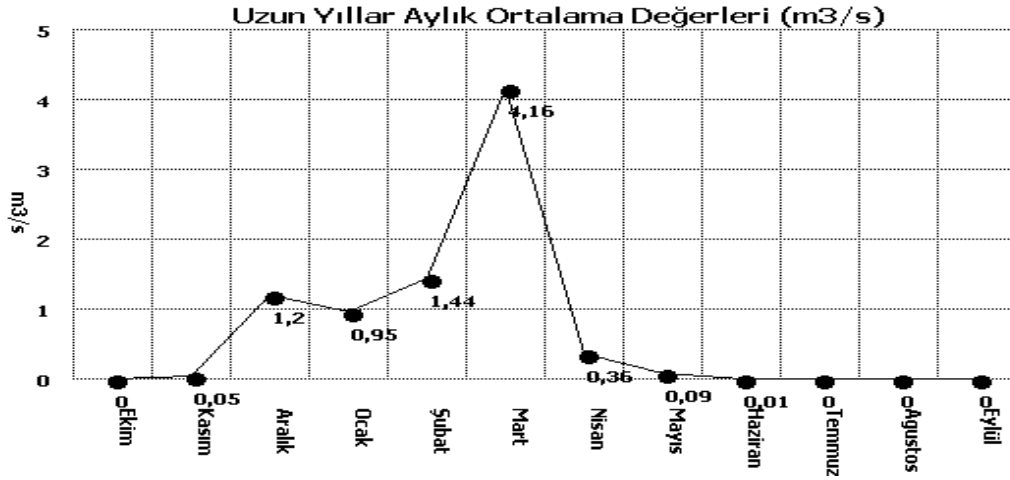
Çorlu Deresi'ne deşarj yapan en önemli noktasal kaynaklardan biri Çerkezköy Organize Sanayi Bölgesi (ÇOSB) diğeri ise Çorlu'da bulunan deri endüstrisi atıksularını toplayan Deri Organize Sanayi (DOSB) bölgesidir. ÇOSB'nin atıksularının %90'ını sanayi atıksuları kalan kısmının büyük çoğunluğunu da evsel atıksu oluşturmaktadır. Sanayi atıksularını ve evsel atıksuları birlikte barındıran bu arıtma tesisi bölgedeki birçok sanayinin atıksularını temsil ettiğinden arıtma çıkışına yakın olan Velimeşe mevki numune alma noktalarından biri olarak seçilmiştir. Velimeşe istasyonu fotoğrafları Şekil 10'de verilmiştir.



**Şekil 10. Çorlu Deresi Velimeşe İstasyonu**

Çorlu'da yoğun sanayi bölgeleri dolayısıyla yeraltı su seviyesi oldukça derinlere inmiştir. Yağışın çok az olduğu kurak mevsimlerde ortalama aylık debiler oldukça düşmektedir. DSİ'nin Çorlu Deresi'nde Velimeşe noktası akım istasyonlarındaki ölçüm sonuçları Şekil 11'de verilmektedir. Çerkezköy'de bulunan S4 istasyonundaki veriler incelenirse Mayıs-Kasım arasında debinin oldukça düştüğü Temmuz-Eylül arasında ise nehrin doğal koşullarda kuru olduğu görülmektedir. Fakat sanayinin yoğun olduğu bu bölgede nehrin kuru olduğu dönemlerde deşarjlar hala sürmekte olduğundan nehrin suyu tamamen deşarjlardan oluşmaktadır.





**Şekil 11. Çorlu Deresi S4 istasyonu uzun yıllar aylık ortalama debi değerleri (160).**

### **Ergene Nehri İstasyonu**

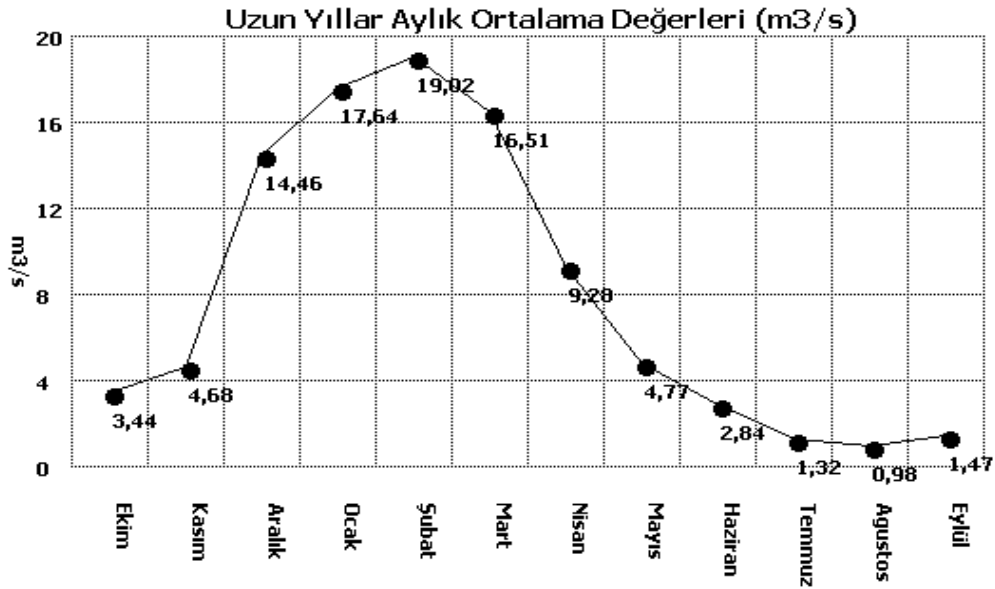
Meriç Nehri'nin en önemli kolu olan ve Ergene Havzası'nda yer alan Ergene Nehri, Ergene Deresi adıyla Tekirdağ Saray ilçesinin kuzeyinde Yıldız dağlarının 312 rakımlı Taşpınar Tepesi civarındaki Güneşkaya mevkiindeki kaynaklardan doğar ve güneye doğru iner. İnanlı yakınlarında Çorlu Deresi'ni alarak Ergene Nehri adı altında kuzeybatıya döner. Uzunköprü ilçesinin 40 km güneybatısında Meriç Nehri ile birleşir (149,152).

Ergene Nehri'ndeki S5 istasyonunun fotoğrafı Şekil 12'de verilmektedir. Ergene Nehri, Trakya Bölgesinde çiftçilerin yaklaşık olarak 300 000 dekarlık 1., 2. ve 3. sınıf önemli tarım alanlarının beslendiği en önemli akarsudur. Diğer taraftan, Ergene Nehri, uluslararası su niteliğinde olan Meriç Nehrinin en önemli kolu durumundadır. Ergene Nehri, Trakya Bölgesinde, Meriç Nehri'ne doğrudan karışan en büyük akarsudur (149).



**Şekil 12. Ergene Nehri S5 istasyonu.**

Ergene Nehri ve kolları (Çorlu Deresi-Hayrabolu Deresi) devamlı su tutmakta ise de havzaları dar ve taşıdığı su miktarları azdır (152). Havzanın su taşıma potansiyelinden fazla sanayiye izin verilmesi dolayısıyla özellikle yeraltı su kullanımının arttığı yaz aylarında nehirdeki kirlilik çok üst seviyelere çıkmaktadır. DSİ veya EİE tarafından Ergene Deresi, Ergene Nehri ve kollarında debi ölçümleri sürekli bir şekilde yapılmaktadır. Ergene Nehri'nin Lüleburgaz istasyonunda (Seyitler,S5 istasyonu) ölçülen uzun yıllardaki ortalama debi değerleri de Şekil 13'de verilmektedir. Şekil'den de görüldüğü gibi Mayıs-Ekim ayları arasında debi değerleri düşmektedir. En düşük debi 0.98 m<sup>3</sup>/sn ile Ağustos ayında ölçülmüştür (159,160).



**Şekil 13.Ergene Nehri S5 istasyonu uzun yıllar aylık ortalama debi değerleri (160).**

## NUMUNE ALMA YÖNTEMLERİ

Çorlu ve civarında evsel atıksular arıtma yapılmadan deşarj edilmektedir. Numuneler alınmadan önce, 1 lt'lik amber renkli cam şişeler asitle yıkanarak 450 °C'de 6 saat boyunca kurutuldu. Atıksu numuneleri tekil numuneler olarak 1 lt toplandı. Evsel atıksu noktasal olarak 3, Yüzey suyu olarak da Çorlu Deresi Velimeşe ve Ergene Deresi Seyitler mevkiinden olmak üzere toplam 5 ayrı noktadan Şubat 2009 ve Mayıs 2009 aylarında kış ve bahar dönemini temsilen numune alındı. Tüm numuneler alındıktan sonra aynı gün filtre edildi. 4°C'de buzdolabında standart yöntemlere göre ertesi gün analize kadar korunarak saklandı ve

analiz edildi (161).

## **NUMUNELERİN KARAKTERİZASYONU**

### **Fizikokimyasal Parametrelerin Ölçümü**

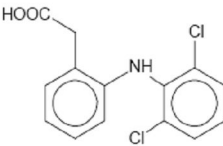
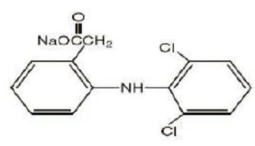
Numunelerde pH, çözünmüş oksijen (ÇO), iletkenlik ve sıcaklık Hach-Lange Marka HQ 40D çift kanallı multimetre, bulanıklık ise Hach-Lange Marka 2100P portatif bulanıklık ölçüm cihazı ile numune alma noktalarında arazi ölçekli aletlerle yapıldı. Tübitak MAM Çevre Laboratuvarlarında, Toplam organik karbon (TOK), Biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ<sub>5</sub>), Kimyasal Oksijen ihtiyacı (KOİ), Askıda katı madde (AKM) ve Adsorbe olabilen organo ksenobiyotikler (AOX) ölçümleri standart metodlara (162) göre yapıldı.

## **KULLANILAN İLAÇLAR VE ÖZELLİKLERİ**

### **Diklofenak (DİK)**

COX-1/COX-2'nin non-selektif inhibitörüdür. COX-1 üzerine daha etkili ya da her iki izoform üzerine eşdeğer etkilidir. Propiyonik asit türevidir. Diklofenak ve Diklofenak Sodyum'un özellikleri ve kimyasal yapısı Şekil 14'de verilmiştir.

**Diklofenak-Diklofenak-Sodyum**

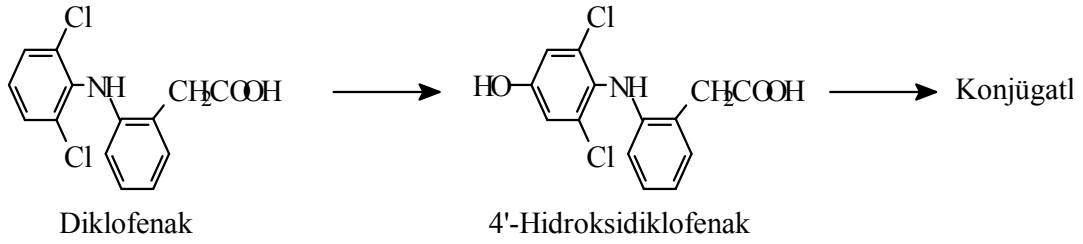
	<b>Diklofenak</b>	<b>Diklofenak Sodyum</b>
İlaç Sınıfı	Nonsteroidal, Antipiretik ve Analjezik	
CAS Numarası	15307-86-5	15307-79-6
Kimyasal İsmi	2-[2-(2,6-diklorofenil) aminofenil] asetik asit-monosodyum tuzu	
Kimyasal Formülü	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> -Na
Yapısal Formülü		
Moleküler Ağırlığı [g/mol]	296,16	318,14
Sudaki Çözünürlüğü [mg/L]	2,37	21.300
Erime Noktası [ C <sup>0</sup> ]	156-158	283-285
Henry Yasası Sabiti [atm·m <sup>3</sup> /mol]	4,73*10 <sup>-12</sup>	-
Buhar Basıncı [mm Hg]	6,14*10 <sup>-8</sup>	
Log K <sub>ow</sub>	1,10-4,51	1,10-4,51
pKa	4-4,2	-
Plazma Yarılanma Ömrü [sa]	1-2	1-2
UV Spektrumu (Dalga boyu) (λ <sub>max</sub> ) nm	254-282	254-282
Çözünürlüğü	Metanolde kolay,suda az çözünür	Metanolde kolay,suda az çözünür
Fiziksel Görünümü	Kristalize toz	Kristalize toz
Kokusu	Kokusuz	Kokusuz
Biyolojik Dönüşümü	Kolayca Biyolojik Dönüşüme Uğramaz	Kolayca Biyolojik Dönüşüme Uğramaz

**Şekil 14. Diklofenak'ın Özellikleri ve Kimyasal Yapısı (163)**

### Biyotransformasyon

Diklofenak biyotransformasyonu kısmen intakt molekülün glukuronidasyonu ile, fakat esas olarak tek ve çoğul hidrosilasyon ve metoksilasyon ile oluşur ve hemen hepsi glukuronid konjügasyon ürünlerine dönüşen, birçok fenolik metabolit (3'-hidroksi-, 4'-hidroksi-, 5'-hidroksi-, 4',5'-dihidroksi- ve 3'-hidroksi-4'-metoksi- diklofenak) meydana gelir. Bu fenolik metabolitlerin ikisi, diklofenak'a kıyasla daha az olmakla birlikte biyolojik etkinliğe sahiptir (164).

İnsanlardaki ana metaboliti 4'-hidroksi türevidir (Şekil 15).



Şekil 15. Diklofenak'ın 4-Hidroksi metabolitine dönüşümü (165).

### Naproksen (NAP)

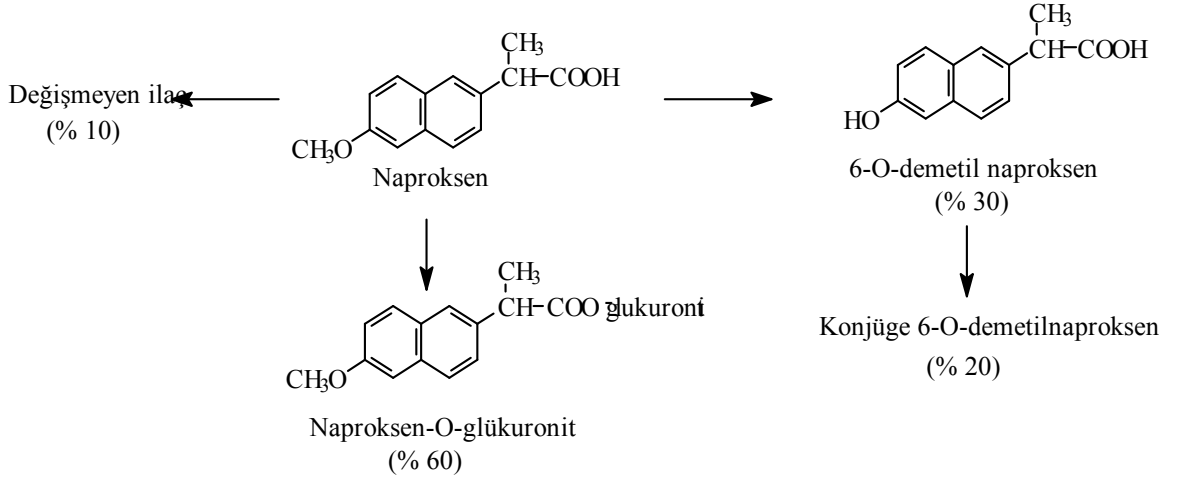
COX-1/COX-2'nin non-selektif inhibitörüdür. COX-1 üzerine daha etkili ya da her iki izoform üzerine eşdeğer etkilidir. Propiyonik asit türevidir. Naproksen'in özellikleri ve kimyasal yapısı Şekil 16'da verilmiştir.

Naproksen	
İlaç Sınıfı	Antienflamatuar ve Antipiretik
CAS Numarası	22204-53-1
Kimyasal İsmi	2-(6-metoksinaftalin-2-yl)propiyonik asit
Kimyasal Formülü	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
Yapısal Formülü	
Moleküler Ağırlığı [g/mol]	230,27
Sudaki Çözünürlüğü [mg/L]	16
Erime Noktası [C <sup>0</sup> ]	153
Henry Yasası Sabiti [atm·m <sup>3</sup> /mol]	3,39*10 <sup>-10</sup>
Buhar Basıncı [mm Hg]	-
Log K <sub>ow</sub>	2,8-3,2
pKa	4,2
pH	-
Plazma Yarılanma Ömrü [sa]	12-15
UV Spektrumu (Dalga boyu) (λ <sub>max</sub> ) nm	240-280 (262)
Çözünürlüğü	Etanol, Aseton gibi organik çözücülerde kolayca çözünür suda çözünmez.
Fiziksel Görünümü	Beyaz kristalize toz
Kokusu	Kokusuz
Biyolojik Dönüşümü	Biyolojik olarak ayrışmaz
Metabolitleri	O-Desmetil-Naproksen

Şekil 16. Naproksen'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı (163).

## Biyotransformasyon

Naproksen, büyük oranda karaciğerde biyotransformasyona uğrar. İlacın tamamına yakını böbrekler yoluyla (% 97.5-99), çok küçük bir kısmı ise feçesle atılır. Dozun % 10'undan daha azı değişmeden atılır (Şekil 17). Metabolizmanın iki ana yolağı 6-metoksi konumundaki demetilasyon ve glükuronik asit konjugasyonudur.

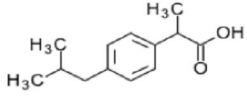


Şekil 17. Naproksen'in metabolizasyonu (165).

## İbuprofen (İBU)

COX-1/COX-2'nin non-selektif inhibitörüdür. COX-1 üzerine daha etkili ya da her iki izoform üzerine eşdeğer etkilidir. Propiyonik asit türevidir. İbuprofen'in özellikleri ve kimyasal yapısı Şekil 18'de verilmiştir.

### İbuprofen

İlaç Sınıfı	Analjezik, Antienflamatuar ve Antipiretik
CAS Numarası	15687-27-1
Kimyasal İsmi	2-[4-(2-metilpropil)fenil]propanoik asit
Kimyasal Formülü	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Yapısal Formülü	
Moleküler Ağırlığı [g/mol]	206,29
Sudaki Çözünürlüğü [mg/L]	21
Erime Noktası [ C <sup>0</sup> ]	75-78
Henry Yasası Sabiti [ atm·m <sup>3</sup> /mol]	1,50*10 <sup>-7</sup>
Buhar Basıncı [mm Hg]	1,86*10 <sup>-4</sup>
Log K <sub>ow</sub>	2,8-4,5
pKa	4,4-5,7
pH	-
Plazma Yarılanma Ömrü [sa]	1,8-2
UV Spektrumu (Dalgaboyu) (λ <sub>max</sub> ) nm	258-272
Çözünürlüğü	Etanol, Aseton gibi organik çözücülerde kolayca çözünür suda çözünmez.
Fiziksel Görünümü	Beyaz kristalize toz
Kokusu	Karakteristik meyve kokusunda
Biyolojik Dönüşümü	Kolayca biyolojik olarak ayrışır
Metabolitleri	Ibuprofen-OH, Ibuprofen-COOH

**Şekil 18. İbuprofen'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı (163).**

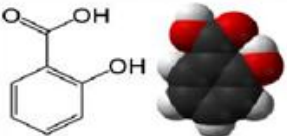
#### Biyotransformasyon

İbuprofen, etil 4-izobutilfenilasetatın, sodyum etoksit ve dietilkarbonatla kondenzasyonu sonucu oluşan ürün 4-izobutilfenil malonatın, metil iyodürle metillenmesi ve dekarboksilasyonu sonucu elde edilir.

İbuprofen büyük oranda karaciğerde biyotransformasyona uğrar ve dozun % 10'dan daha azı değişmeden idrarla atılır. Metabolitlerin hiçbirinin farmakolojik etkisi yoktur (165).

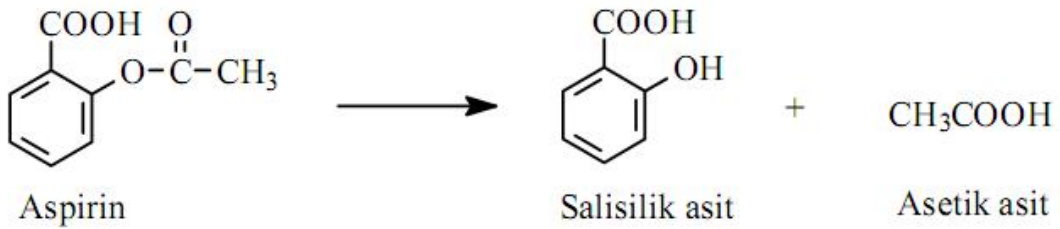
#### Salisilik Asit (SA)

Asetil salisilik asit COX-1/COX-2'nin non-selektif inhibitörüdür. Asetilsalisilik asit absorpsiyondan sonra hızla ayrışarak salisilik asit oluşmasına neden olur. Karboksilik asit türevidir. Salisilik asit'in özellikleri ve kimyasal yapısı Şekil 19'da verilmiştir.

Salisilik Asit	
İlaç Sınıfı	Nonsteroidal antiinflamatuvar, Analjezik ve Antipretik
Kimyasal Adı	2-Hidroksibenzoik asit
Kimyasal Formülü	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Yapısal Formülü	
Molekül ağırlığı	138,123 g/mol
Yoğunluk	1,44 g/cm <sup>3</sup> (20 °C'de)
Erime Noktası (C°)	159
Kaynama Noktası (C°)	211

**Şekil 19. Salisilik Asit'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı (163).**

Asetil salisilik asit, asetil grubu (-CH<sub>3</sub>-CO-) vericisi gibi etkir (Şekil 20). Asetil grubu endojen bir proteinin aminoasidi üzerine (örneğin serin'in alt grubu) bağlanır. Bunun sonucunda siklooksijenazı irreverzibl bir şekilde inhibe eder ve fibrinojenin aktivitesini azaltır.



**Şekil 20. Asetil salisilik asitin metabolizasyonu sonucu Salisilik asit oluşumu (165).**



## Kafein (KAF)

Bazı ilaçların (özellikle ateş düşürücü ve ağrı kesici özellikte olanların) içeriğinde kafein bulunmaktadır. Kafein, adenosin molekülünün beyne giden kan damarlarını açıcı etkisini de ortadan kaldırarak, kan damarlarında daralmaya ve rahatlamaya neden olur.

Belirli ilaç gruplarında doz başına aşağıdaki miktarlarda kafein bulunur:

Kilo kontrol hapları, idrar söktürücüler ve uyku açıcı haplar 100 -200 mg,

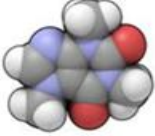
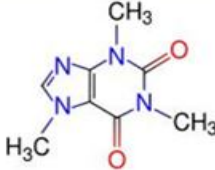
Ağrı kesiciler 32 -100 mg,

Alerji hapları 16 -30 mg,

Soğuk algınlığı tabletleri 30 -50 mg (166).

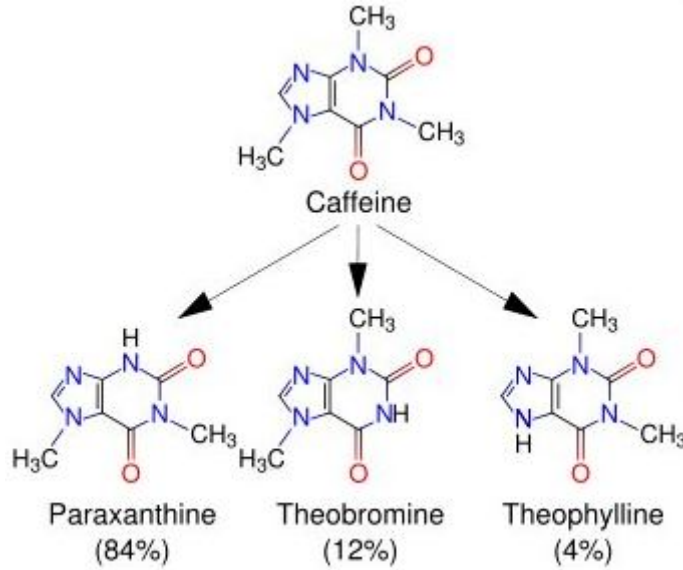
Psikostimülan olarak santral uyarıcıdır. Adenosin'in A<sub>1</sub> reseptörlerini ve fosfodiesteraz enzimini inhibe ederler ve hücre içinde s AMP konsantrasyonunu arttırmırlar.

Kafein'in özellikleri ve kimyasal yapısı Şekil 21'de verilmiştir.

KAFEİN	
Sistemik (IUPAC) Adı	1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione
Kimyasal Adı	1,3,7-trimethylxanthine, trimethylxanthine, theine, methyltheobromine
Kimyasal Formülü	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
Yapısal Formülü	 
Molekül Ağırlığı	194,19 g/mol
Yoğunluk	1,2 g/cm <sup>3</sup>
Erime Noktası	237 °C
Kaynama Noktası	178 °C
pKa	-0,13-1,22

Şekil 21. Kafein'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı (163)

Kafein ve teofilin, ryanodine reseptörlerini aktive ederek, iskelet kaslarının ve kalp kasının sitoplazmasında  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunu yükselterek kasılma gücünü artırırlar. Kafein, milimolar konsantrasyonlarda IP3 reseptörleri'nin inhibitörüdür (selektif değildir). Bu etkileriyle kafein kardiyak ve psişik uyarı oluşturmaktadır. Kafeinin metabolitleri; Paraxanthine (84%), Theobromine (12%), Theophylline (4%) (Şeki 22).



Şekil 22. Kafein'in Metabolitleri (167).

## İNKDS (İBUPROFEN, NAPROKSEN, KAFEİN, DİKLOFENAK, SALİSİLİK ASİT) BİLEŞİKLERİNİN TESPİTİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER

### İNKDS Bileşiklerinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Optimum Çalışma Şartlarının Tespiti

Hedef bileşiklerin GC analizleri sırasında “base-line separation” elde edebilmek için, 0.0241 g/100 ml'lik Kafein, 0.0156 g/100 ml'lik Salisilik asit, 0,0210 g/100 ml'lik İbuprofen, 0.0244 g/100 ml'lik Naproksen ve 0.0312 g/100 ml'lik Diklofenak stok çözeltileri etanol-su (1:1) ile hazırlanarak kullanıldı ve GC-MS için optimum çalışma şartları (sıcaklık programı, taşıyıcı gaz akış hızı, vb.) belirlendi.

## **İNKDS Bileşiklerinin Optimum pH Tespiti**

Hazırladığımız stok çözeltilerden bütün bileşenlerin karışımının standart çözeltisi hazırlandı. Bunun için stok çözeltilerden 50 µl alınarak 50 ml (etanol-su 1:1) ile tamamlanarak derivatizasyona hazır hale getirildi. 5 ve 10 kat seyreltme için 500 µl ve 1000 µl standart çözelti vialer alındıktan sonra evaporatörde uçuruldu. Derivatizasyon için 125 µl piridin+250 µl HMDS+ 30 µl TFAA (top. hacim 405 µl) ajanları ile sililerek 70 °C 90 dk reaksiyon gerçekleştirildi. Daha sonra 5 kat seyrelttiğimiz numuneden ise 20, 50 ve 100 kat seyreltmeler HMDS ile yapıldı. Hazırlanan numunelerden 500 µl saf suya 2500 µl spike edilerek 3 farklı pH aralığı ayarlandı. Ekstraksiyon öncesi su örnekleri 3 farklı pH değerine (2, 4, 7) NaOH (1 mol/L) ve HCl (1 mol/L) kullanılarak ayarlandı. Adsorban olarak Oasis HLB (1 g) kartuş seçildi. GC-MS’de analizleri gerçekleştirildi. Optimum pH aralığı 2 olarak tespit edildi.

## **İNKDS Bileşiklerinin SPE Metodu ile Optimum Çalışma Şartlarının Tespiti**

Katı faz ekstraksiyonu (solid phase extraction, SPE) yöntemi, sıvı-sıvı ekstraksiyon (liquid-liquid extraction, LLE) yöntemine göre; kullanılan kimyasal miktarının az olması, daha kısa sürede uygulanabilmesi ve daha yüksek geri kazanım oranına sahip olmasından dolayı tercih edildi (168-172).

Katı faz ekstraksiyonu (SPE, Solid Phase Extraction), 3 farklı kartuş Oasis HLB (1 g), Oasis MCX (60 mg) ve C18 kullanılarak ve farklı konsantrasyonlarda analitlerin saf suya spike edilmesi ile geri kazanım % oranları tespit edildi (Tablo 13).

Hazırladığımız standart çözeltilerden 1000 µl alınarak 500 ml saf suya spike edildi. Ekstraksiyon öncesi su örnekleri pH 2 değerine NaOH (1 mol/L) ve HCl (1 mol/L) kullanılarak ayarlandı. Waters HLB kartuş kullanım kolaylığı ve tıkanma sorunu yaşanmaması nedeniyle tercih edildi (Şekil 23).

Ekstraksiyon kartuşunun, kullanımından önce, temizlenmesi ve şartlandırılması için sırası ile 5 mL hekzan, 5 ml etil asetat, 5 ml metanol ve 10 mL saf su (pH 2) kartuştan geçirildi (Tablo 8). Daha sonra kartuş kurumadan su numunesi ekstrakte edilmeye başlandı (173).



**Şekil 23. Oasis HLB Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)**

**Tablo 8. Katı Faz ekstraksiyon kartuşlarının şartlandırılması ve elüsyonu.**

Şartlandırma ▼	Elüasyon ▼
5ml n-hekzan	5ml n-hekzan
5 ml etil asetat	5 ml etil asetat
5ml metanol	10ml metanol
10ml su (pH2)	

Kartuşların verimini tespit edebilmek için ilk olarak saf su ile kontrol edildi ve daha sonra evsel atık su ve yüzey suyu denemeleri yapıldı. Bunun için hazırladığımız 0.0210 g/(100 ml etanol:su) konsantrasyonunda İbuprofen, 0.0244 g/(100 ml etanol:su, 1:1) konsantrasyonunda Naproksen, 0.0312 g/(100 ml etanol:su, 1:1) konsantrasyonunda Diklofenak, 0.0156 g/(100 ml etanol:su, 1:1) konsantrasyonunda Salsilik asit, 0.0241 g/(100 ml etanol 1:1) konsantrasyonunda Kafein içeren İNKDS (ibuprofen, naproksen, kafein, diklofenak, salisilik asit) stok çözeltilerinden, ayrı ayrı 200 µL çekilerek 50 ml'ye etanol:su (1:1) karışımı ile tamamlandı. Hazırlamış olduğumuz bu standarttan 1000 µL'yi şırınga vasıtası ile çekerek 500 ml su numunesine (pH 2) spike edildi. Ekstraksiyon kartuşları sırası ile 5 ml n-hekzan, 5 ml etilasetat, 5 ml metanol ve 10 ml saf su (pH 2) ile şartlandırması yapıldı (Tablo 8). Su numuneleri vakum uygulanarak ekstraksiyon kartuşundan 12-15 ml/dak akış hızında su vakumunda geçirildi. Numunenin tamamı ekstrakte edildikten sonra kartuş hava vakumunda 1-2 saat boyunca kurutuldu ve 20 mL hacmindeki değişik solventlerle (n-heksan, etil asetat, metanol) elüsyon denemeleri yapıldı (Tablo 8). Elüe edilen numunelerin çözücüleri evaporatörde uçurulduktan sonra derivatizasyon için silileme reaksiyonuna hazır hale getirildi. Mikrodalga Fırında reaksiyona sokulduktan sonra GC-MS'de kantitasyonları yapıldı. Aynı işlemler evsel atıksu ve yüzey suyu numunelerinde de uygulandı. Söz konusu bileşiklerin geri kazanım oranlarına ve kullanım kolaylıklarına göre hazır Oasis HLB (1 g)

SPE kartuşlarının su ve atık su ortamındaki İNKDS bileşiklerinin tayini için kullanılabilirliği uygun bulundu.

### **İNKDS Bileşiklerinin Derivatizasyonu için Silileme ve Mikrodalga Fırın Optimum Çalışma Şartlarının Tespiti**

Evaporatörde uçurma işlemi yapılan viallerdeki numunelere 3 tip silileme işlemi yaparak derivatizasyon için optimum silileme ve mikrodalga şartları tespit edildi. Bunun için 3 farklı derivatizasyon ajan seçildi.

- 125 µL piridin, 250 µL HMDS (heksametil disilazan), 30 µL TFAA (triflorasetik asit) reaktifleri (405 µL)
- 150 piridin+ 250 µL BSTFA (N,O-Bis(trimetil)triflora asetamid) (400 µL )
- 150 piridin+ 250 µL MSTFA (N-Metil-N (trimetilsily) trifluoroasetamid) (400 µL)

Hazırlamış olduğumuz standart çözeltilerden (İbuprofen, Diklofenak, Naproksen, Kafein, Salisilik asit karışımından (200 µL/50 ml)) 3 ayrı vialle 125 µL şırınga ile çekilerek evapore edildi. Bu 3 numune yukarıda belirttiğimiz 3 ayrı silileme işlemi yapılarak CEM, Matthews marka mikrodalga fırında (Şekil 24) 70 °C'de sırasıyla 60, 90 ve 120 dk'da derivatize edildi (174).



**Şekil 24. Mikrodalga Fırın**

## İNKDS BİLEŞİKLERİNİN EKOTOKSİSİTE ÇALIŞMA ŞARTLARININ TESPİTİ

Naproksen, İbuprofen, Diklofenak ve Salisilik Asit 100 mg/l tekil numuneler hazırlandı. Ayrıca bu konsantrasyonda aynı etken maddelerin (Naproksen, İbuprofen, Diklofenak, Salisilik Asit) bulunduğu karışım halinde numune hazırlanarak %80, %50, %25, %12.5, %6.75, %3.2 ve %0.8 seyreltmeleri yapıldı. TÜBİTAK MAM Çevre Araştırma Laboratuvarında Merck Toxalert 100® cihazı kullanılarak *Vibrio fisheri* ile yapılacak akut toksisite ölçümüne hazır hale getirildi.

Toxalert 100® hızlı, hassas, tekrarlanabilen standart bir zehirlilik test sistemidir. Dünya çapında su ortamındaki zehirliliğin ölçülmesinde bir standart test olarak kabul görmüş ve kullanılmaktadır. Toxalert 100® test sistemi numunelerin ve saf maddelerin akut zehirliliğinin ölçülmesi için kullanılan biyolojik testtir. Zehirlilik testinde dondurulup havası alınmış ışık saçan deniz bakterisi *Vibrio fisheri* (*Photobacterium phosphoreum*) test bakterisi olarak kullanılır ve saçtığı ışık miktarındaki değişmeye göre numunenin zehirliliği belirlenir. Bu testte kirletici bir ajanın varlığında *Vibrio fisheri*'nin doğal ışığa seviyesi düşer ve zehirlilik ilk ışıldama değerinden yüzde 50'lik bir düşüş sağlayan kirletici konsantrasyonu (EC50) olarak tanımlanır. Işıma seviyesindeki herhangi bir düşüş ışık üretimini etkileyen bir durum olduğunun göstergesidir (107).

### *Vibrio Fisheri* ile Merck ToxAlert 100®'de İNKDS Bileşenlerinin Akut Toksisitenin Tespiti

100 mg/l konsantrasyonundaki (Naproksen, İbuprofen, Diklofenak, Salisilik Asit) tekil numuneler ve aynı etken maddelerin (Naproksen, İbuprofen, Diklofenak, Salisilik Asit) her birinden 100 mg alınarak 1 L'ye tamamlanmış karışım halindeki numune (117,125) korumalı bir ortamda en kısa sürede laboratuvara taşınmıştır (Tablo 9).

**Tablo 9. ToxAlert 100®'de akut toksisite ölçümü için hazırlanan numuneler.**

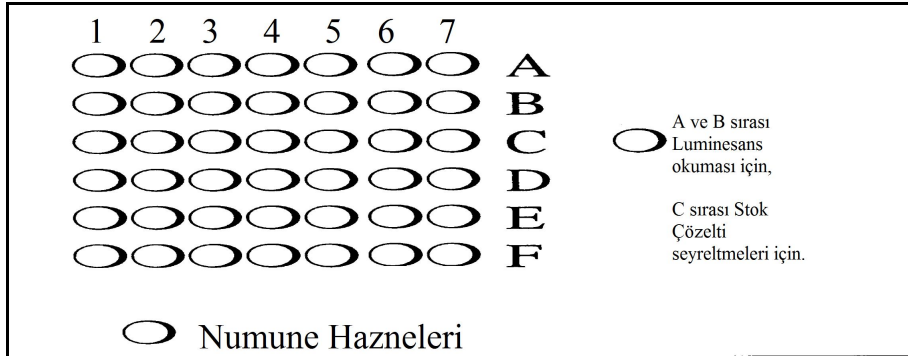
NAP (mg/l)	İBU (mg/l)	DİK (mg/l)	SA (mg/l)	NAP+İBU+DİK+SA (mg/l)	Deneysel Yaklaşım
100	100	100	100	100	Toxalert 100 Merck

İlaçların sudaki çözünürlüğü düşük olduğundan Lüminesent bakteri için etkili olmayan çözünürlükte %1 etanol/su solusyonunda stok çözeltiler hazırlandı. Zehirlilik testinin 6-8 arasında bir pH'da ve %20 veya daha fazla tuzluluk içeren bir sodyum klorür çözeltisiyle yapılması tavsiye edilmektedir (175). Bu nedenle her stok çözeltinin pH değeri 0.1 N NaOH ve 0.1 N HCl kullanılarak mikroorganizma için optimum aralık olan 6-8 arasına ayarlanmıştır. Test organizmaları için gerekli osmotik basıncın sağlanması için NaCl ile stok çözeltinin tuz konsantrasyonu %2'ye ayarlanmıştır. Toxalert 100® Merck kitleri ile ölçümler yapılmıştır (Şekil 25).



Şekil 25. Toxalert 100® Merck.

Hazırlanan stok çözeltiler %80, %50, %25, % 12,5, %6,75, %3,2, %0,8 oranında seyreltildi. Oda sıcaklığına getirilmiş “Reaktivasyon Solutionu” iyice karıştırılarak cihazın haznesine yerleştirilen Microquant vial içerisine 12.5 mL ilave edilerek, en az 15 dakika beklendi.



Şekil 26. Toxalert 100® Merck için hazne pozisyonları

-20° C ‘ den çıkarılan “Liquid Dried Bacteria” vial’ı cihazdaki uygun hazneye yerleştirilerek, 2 dakika beklendi (Şekil 26). Cihaz haznesindeki “Reaktivasyon Solution”dan 0.5 mL alınarak “Liquid Dried Bacteria”ye ekleyip ve hafifçe çalkalandıktan sonra 15 dakika beklendi. Bakteri solusyonu “Reaktivasyon Solution” içine aktarıldıktan sonra, birkaç kez “Reaktivasyon Solution’ dan bakteri vial’ına az miktarlarda eklenerek bakterinin iyice aktarılması sağlanarak ve iyice karıştırıldı. Bakteri ve seyrelmeler test için hazır hale getirildi. Tüm testler duplike çalışıldı.

Deneylede susuzlaştırılmış ve dondurulmuş, önceden *Photobacterium phosphoreum* olarak bilinen ışık saçan bakteri, *Vibrio fischeri*, kullanıldı. Çözeltilerin inhibisyon etkisi, 30 dakikalık maruz kalma süresinde zehirlilik içermeyen serbest kontrol numunesiyle kıyaslanarak yüzde inhibisyon 7’deki eşitliğine göre hesaplandı.

Biyoluminesans inhibisyon;

$$\% = [1 - (\text{seyreltilmiş numunelerin ışığı} / \text{kontrol ışığı})] \times 100 \quad (7)$$

İşıldamadaki yüzde 50’lik bir düşme sağlayan numune konsantrasyonu efektif konsantrasyon (EC50) olarak tanımlandı. Numunelerin EC50 değeri, numunelerin yüzde inhibisyon değerinin seyreltme faktörüne karşı gelecek bir eğri oluşturularak, bu eğri üzerinden hesaplandı (176). Ayrıca probit analizleri yapılarak EC50 değerleri karşılaştırıldı. EC50’leri hesaplanan numunelerin değerlendirmeleri Toksik Birime (TUs) göre yapıldı.



## BULGULAR

### Yüzey Suyu ve Atıksu Numunelerinin Fiziko-Kimyasal Parametreleri

S1, S2, S3, S4 ve S5 istasyonlarından toplanan numunelerin pH, çözünmüş oksijen, iletkenlik, bulanıklık ve sıcaklık ölçümleri arazi ölçekli cihazlarla anlık ölçüldü. BOI<sub>5</sub>, KOI, AKM, AOX ve TOK ölçümleri için numuneler aynı gün TÜBİTAK MAM Çevre Laboratuvarına ulaştırıldıktan sonra ölçümleri yapıldı (Tablo 10).

**Tablo 10. Su numunelerinin fiziko-kimyasal parametreleri**

Numune İstasyonları	BOI <sub>5</sub> mg/l	KOI mg/l	AKM mg/l	AOX mg/l	TOK mg/l	Bulanıklık	pH	İletkenlik 25 <sup>0</sup> C (EC,µS/cm)	Ç.O mg/l	Sıcaklık (T <sup>0</sup> C)
S1	168	427	603	0,077	121,8	322	8,02	1130	1,38	15,8
S2	239	743	262	0,082	203,7	286	8,41	1242	5,44	16,3
S3	162	469	98	0,14	139,7	126	7,51	1198	1	16,2
S4	58	163	69	0,121	35	111	8,84	5240	0,2	16,1
S5	90	255	176	0,114	52,2	120	7,83	4851	1,2	15,7

### İNKDS Bileşiklerinin Optimum GC-MS Çalışma Şartları

Daha önce ifade edildiği gibi, çalışmanın ilk aşamasında, hedef bileşiklere (Diklofenak, Naproksen, İbuprofen, Salisilik asit ve Kafein) ait standart çözeltiler kullanılarak GC-MS sistemleri için optimum çalışma şartları tespit edildi. Kullanılan GC-MS cihazına ait özellikler ve tespit edilen optimum çalışma şartları aşağıda belirtildi.

Diklofenak, Naproksen, İbuprofen, Salisilik asit ve Kafein Bileşiklerinin Tayini İçin Tespit Edilen Optimum GC-MS Şartları;

**Enjeksiyon hacmi:** 1 µL

**Enjektör sıcaklığı:** 280°C

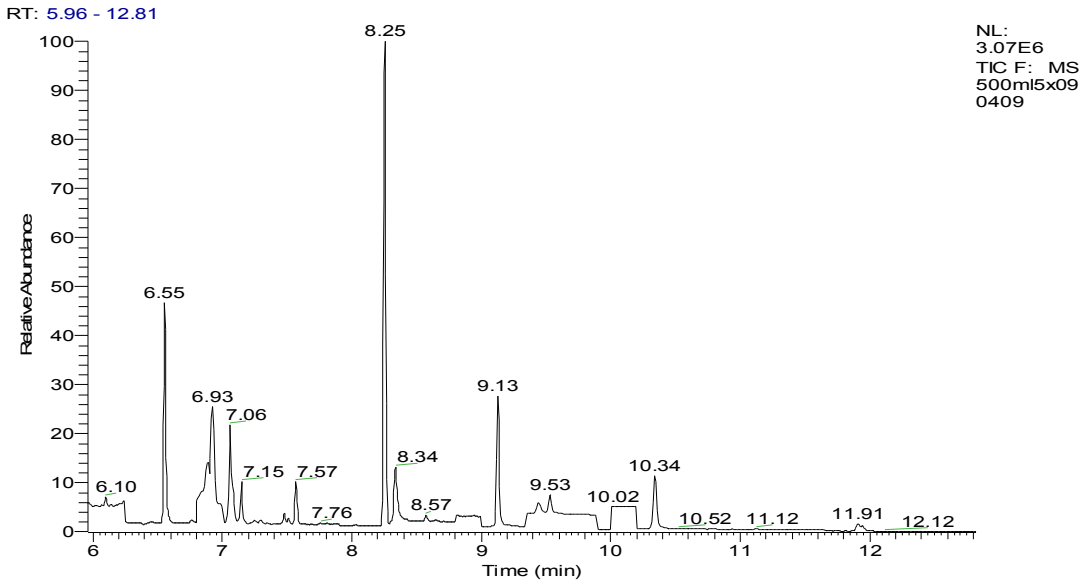
**Hareketli faz :** Helyum (akış hızı : 1 mL/dakika)

**Kolon sıcaklığı:** 100°C

**Kolon sıcaklık programı:** (100°C/dk) → (15°C/dk)/280 °C ) → (280 °C- 5dk tutulma).

**MS dedektör:** Quadropole analizler, SIM modu

**İyon kaynağı:** Electron Impact



**Şekil 27. Optimum GC-MS şartlarında İbuprofen ( $R_T$ ;7,06) , Naproksen ( $R_T$ ;9,03), Kafein ( $R_T$ ;8,32), Diklofenak ( $R_T$ ;10,35) ve Salisilik asit ( $R_T$ ;6,56) bileşiklerinin derivatizasyon sonrası toplam iyon kromatogramı (SIM modu).**

Trimetil silli türevlendirme sonucu elde edilen İbuprofen, Naproksen, Kafein, Diklofenak ve Salisilik asit bileşikleri için alıkonma zamanları ( $R_T$ ) sırasıyla 7.06, 9.03, 8,32, 10,35, 6,56 dk olarak belirlendi (Şekil 27).

Hedef bileşikler için GC-MS belirleme sınırı (LOD) ve kantitasyon sınırı (LOQ) hesaplandı. Kromatografik analizlerde kullanılan dedektörün konsantrasyona karşı cevabı, dedektörün hassasiyetine ve fiziki yapısına bağlıdır. Başka bir deyiş ile, dedektörün eski veya yeni olması, bakımı vb. gibi faktörler, bileşiklere olan duyarlılığını etkilemektedir. Örneğin laboratuvar ortamındaki hava ve nemin GC sistemine sızması, dedektör duyarlılığını etkileyen

faktörlerin başında gelmektedir (177). Bu sebepten dolayı, LOD kavramının göreceli bir kavram olduğu ve kullanılan teknik imkanlara bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. Taylor (1987)'a (178) göre, numune içindeki hedef bileşiklerin tayin edildiği minimum konsantrasyonu ifade eden LOQ ise LOD değerleri arasında;  $LOQ = 3.33 \times LOD$  bağıntısı bulunduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda, İbuprofen, Naproksen, Kafein, Diklofenak ve Salisilik asit bileşikleri için elde edilen LOD ve LOQ değerleri Sebök ve ark.(2009)'nın (174) yapmış oldukları çalışmadan elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında, sonuçların birbirleri ile uyumlu olduğu görüldü. Öyleki, Sebök ve ark. (2009)'nın (174) İbuprofen, Naproksen, Kafein, Diklofenak ve Salisilik asit bileşikleri için tespit ettikleri LOD değerleri yaklaşık olarak 1–5.8 pg/μL arasında değişmektedir. Buna bağlı olarak LOQ değerleri de 2.93–10,8 pg/μL arasında tespit edildi. Yapmış olduğumuz çalışmada, İbuprofen, Naproksen, Kafein, Diklofenak ve Salisilik asit bileşiklerine ait LOD ve LOQ aralıkları ise sırasıyla, 2.59 – 6 pg/μL ve 6.3 – 14.8 pg/μL arasında bulundu. Ardışık 6 injeksiyon için göreceli standart sapma (%RSD) %6.1 ile 12.4 aralığında tespit edilmiştir (Tablo 11).

**Tablo 11. Çalışma bileşenlerinin çeşitli verileri (tayin sınırları, kantitasyon sınırı, alıkonma zamanı, moleküler ağırlık, derivatizasyon sonrası m/z oranları, lineerlik)**

Etken madde	MA (g/mol)	*LOD, pg (enj.edilen)	*LOQ	RSD(%)	R <sup>2</sup> (Korelasyon katsayısı)	R <sub>T</sub>	m/z [M-Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup> [ M-15] <sup>+</sup>
İbuprofen	206	2,59	6,3	6,1	0,9997	7,06	73,160,234,263,278
Naproksen	230	6	6,6	6,9	0,9984	9,13	185,243,287,302
Kafein	194	5,95	14,8	12,4	1	8,32	109,194
Diklofenak	295	3,85	14,6	6,6	1	10,35	214,242,277,352,367
Salisilik asit	138,12	2,7	9,5	6,4	0,9998	6,56	73,267

\*LOD ve LOQ için S/N (sinyalin gürültüye oranı) ≥ 10

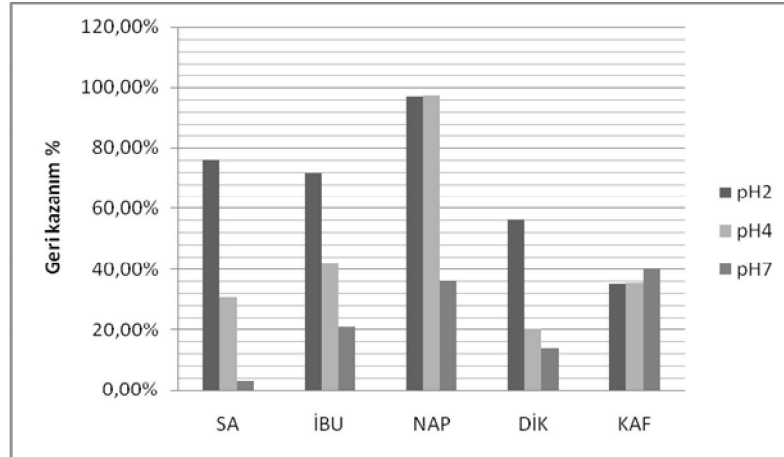
## İNKDS Bileşiklerinin Optimum pH'sı

Ekstraksiyon öncesi İNKDS bileşiklerinin farklı pH'larda geri kazanımlarını tespit etmek için 5, 50 ve 100 kat seyreltilmiş numunelerden 2500 µl alınarak 500 ml saf suya spike edildi. Hazırlanan örneklerin pH'ları sırasıyla 2, 4 ve 7'ye ayarlandı. Ekstraksiyondan sonraki üç farklı pH için geri kazanım oranları Şekil 28'de verilmiştir. Asidik bileşikler için pH 2'de en iyi geri kazanım oranları sağlandı (%56-97 arasında). Kafein için en iyi geri kazanım oranı, pH 7'de tespit edildi (%35-40 arasında).

**Tablo 12. İNKDS Bileşenlerinin farklı pH'larda geri kazanım oranları.**

İlaç Bileşenleri	pH2	pH4	pH7
SA	75,92%	30,60%	3,00%
İBU	71,42%	41,80%	21%
NAP	97,00%	97,40%	36%
DİK	56%	20%	13,70%
KAF	35%	35,50%	40%

Asidik ilaçlar olan ibuprofen (%71,42), naproksen (%97,00), diklofenak (%56,00) ve asetil salisilik metaboliti salisilik asit (% 75,92) için en iyi pH değeri 2 olduğu tespit edildi. Kafein için nötral pH 7'de en fazla geri kazanım tespit edildi (%40) (Şekil 28). Bu çalışma sonucu asidik ilaçların ve nötral ilaçların farklı pH'larda ekstraksiyon çalışmaları yapılması gerektiği belirlendi.



**Şekil 28. Farklı pH'larda geri kazanım oranları (%).**

## İNKDS Bileşiklerinin Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Manoli ve ark. (1999) (179) ve diğer pek çok araştırmacı tarafından, apolar ve orta derecede polar bileşiklerin ekstraksiyonunda en yaygın kullanılan çözücü türlerinin, n-heksan ve sikloheksan olduğu belirtilmektedir. Ekstraksiyon çalışmalarında çözücü olarak artan polarite sırasına göre, n-heksan, etilasetat ve metanol kullanıldı (174).

Ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan çözücü hacimleri Tablo 8’de belirtilen şekilde ayarlanmıştır. Çözücü hacimlerini bu şekilde tespit ederken, Lerch ve ark., (2000) tarafından tavsiye edilen “*organik faz hacmi/numune hacmi*”nin 1/20’den küçük olmamasına dikkat edildi. İNKDS bileşiklerinin ekstraksiyonu sırasında saf suyun pH’ı 2’ye ayarlandı (180-181).

**Tablo 13. İNKDS bileşiklerinin pH 2’de farklı katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanılarak elde edilen geri kazanım % oranları (n=3).**

<b>Etken madde</b>	<b>Supelco C-18</b>	<b>Oasis HBL</b>	<b>MCX</b>
<b>İbuprofen (2074 pg/500ml)</b>	%16,50±6	%72,84±10	%121,30±2
<b>Naproksen (2410 pg/500ml)</b>	%6,50±4	%84,90±13	%115,00±3
<b>Kafein (2410 pg/500ml)</b>	%65,30±5	%74,50±6	%69,10±12
<b>Diclofenak (3081 pg/500 ml)</b>	%62,45±6	%89,17±11	%100,20±7
<b>Salisilik asit (1600 pg/500ml)</b>	%25,65±12	%83,05±14	%74,56±10

İNKDS bileşiklerinin geri kazanımlarını tespit etmek için 2074 pg/500ml İbuprofen, 2410 pg/ml Naproksen, 2410 pg/500 ml Kafein, 3081 pg/500 ml Diklofenak ve 1600 pg/500 ml Salisilik asit standartı spike edilmiş saf su SPE kartuşlarında ekstrakte edildi. İbuprofen, Naproksen ve Diklofenak bileşiklerinin geri kazanım oranlarını en iyi MCX adsorbanı sağladı (sırayla, %121.3, 115.00, 100.20). Salisilik asit ve Kafein için en iyi adsorban ise Waters Oasis HLB olarak tespit edildi (sırayla, %83.05-74.5) (Tablo 13).

SPE metodunun atıksu üzerinde uygulanması çalışmalarında en çok karşılaşılan sorun atık suda bulunan süspansiyon halindeki katı maddelerin kartuşu tıkanması ve bunun sonucunda kartuşların kullanılmaz hale gelmesidir. MCX ve C18 kartuşlarında bu sorunlarla sıkça karşılaşıldığından Oasis HLB kartuşlar atıksu numunelerinde tercih edildi.

Ekstraksiyondan önce atık su numuneleri filtre kağıdından geçirildi. Ancak bu esnada bileşiklerin kayba uğradığı düşünüldüğünden, SPE metodunun süspanse haldeki katı madde içeriği düşük olan ve atıksuya göre daha temiz olan yüzeysel suların ekstraksiyonunda oldukça kullanışlı olabileceği (182), fakat atıksu için kullanılabilirliğinin sınırlı olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda saf suya spike edilmiş numunelerde herhangi bir sorun yaşanmadı.

### İNKDS Bileşiklerinin Derivatizasyon Şartları

Stok çözeltilerden 200µl alınarak 50 ml etanol:su ile hazırlanan standart çözeltiden 125 µl çekilerek üç ayrı vialde aktararak evapore edildikten sonra 125 µl piridin (TMS derivasyonu) +250 µl HMDS + 30 µl TFAA; 150 µL piridin + 250 µl BSTFA ve 150 µL piridin + 250 µl MSTFA ile reaksiyona sokuldu. Derivatizasyon için optimum silileme şartları 70°C 90 dk 125 µl piridin + 250 µl HMDS + 30 µL TFA (katalizör olarak) olarak belirlendi.

**Tablo 14. İbuprofen, Naproksen ve Diklofenak bileşiklerinin derivatizasyonu için çeşitli silileme reaktiflerinin ve reaksiyon şartlarının etkinlikleri.**

Silileme ▼ şartları	Entegre alan▶	İbuprofen (259pg/µL)	Naproksen (301pg/ µL)	Diclofenak (385pg/ µL)
I-1(HMDS:70°C-60dk)		2,25E+3	1,09E+3	3,52E+3
I-2(BSTFA: 70°C-60dk)		7,76E+3	1,31E+4	4,28E+3
I-3(MSTFA:70°C-60dk)		1,78E+3	4,63E+3	1,94E+3
II-1(HMDS:70°C-90dk)		3,08E+4	5,27E+3	1,81E+3
II-2(BSTFA: 70°C-90dk)		3,28E+3	5,43E+3	1,07E+3
II-3(MSTFA:70°C-90dk)		3,12E+3	5,34E+3	1,66E+3
III-1(HMDS:70°C-120dk)		3,23E+3	5,18E+3	1,05E+3
III-2(BSTFA: 70°C-120dk)		5,61E+3	5,94E+3	2,14E+3
III-3(MSTFA:70°C-120dk)		3,28E+3	5,28E+3	2,05E+3

Farklı üç reaksiyon şartı ve silileme reaktifleri kullanıldığında, Naproksen için 70°C-60 dk ve 70°C-120 dk'lık reaksiyon şartlarından sonra GC-MS ile belirlenen entegrasyon alanlarına göre derivatizasyon için en iyi sonuç 150 µL piridin + 250 µl BSTF olarak elde edildi. İbuprofen için ise en iyi derivatizasyon şartı, 150 µL piridin + 250 µl HMDS, 70°C-90 dk olarak tespit edildi (Tablo 14). Çalışmada derivatizasyon için HMDS reaktifi ve 70°C-90 dk reaksiyon şartı seçildi.

## Evsel Atıksu ve Yüzey Sularında Tespit Edilen İNKDS Bileşikleri

Kış ve bahar dönemlerinde 5 noktadan alınan numunelerde ilaç bileşenleri tespit edildi. En düşük ve en yüksek konsantrasyon İbuprofen için, 0.0034-1.23 ng/l, Naproksen için, 0.0015-10.48 ng/l, Kafein için, 0.61-121.2 ng/l, Salisilik asit için, 0.02-3.74 ng/l, Diklofenak ise tespit edilmedi (Tablo 15).

**Tablo 15. Evsel atık su ve yüzey sularındaki İNKDS Bileşikleri (n=3).**

	S1 (ng/l)	S2 (ng/l)	S3 (ng/l)	S4(ng/l)	S5 (ng/l)
<b>Kış</b>					
İbuprofen	1.23±6.8	0.0064±2.9	0.0038±0.6	T.E	0.19±4.1
Naproksen	0.1±1.3	0.0015±2.1	0.0074±6.8	13.58±1.5	0.002±0.7
Kafein	T.E	4.8±3.8	3.4±5.5	121.2±8.1	22.4±3.5
Diklofenak	T.E	T.E	T.E	T.E	T.E
Salisilik asit	T.E	0.0321±3.1	1.1±0.1	5.74±8.3	0.374±5.1
<b>Bahar</b>					
İbuprofen	0.45±1.1	0.0034±8.9	T.E	T.E	T.E
Naproksen	0.0064±0.5	T.E	2.12±5.3	10.48±2.3	1.22±3.2
Kafein	12.3±5.8	2.5±3.2	0.61±8.5	95.13±7.4	T.E
Diklofenak	T.E	T.E	T.E	T.E	T.E
Salisilik asit	T.E	0.256±5.3	0.90±2.1	3.74 ±3.3	0.02±0.7

## İNKDS Bileşiklerinin Merck Toxalert 100® ile *Vibrio fisheri*'de Akut Toksisiteleri

Bu çalışmada akut toksisite değerlendirmesi, her standart maddenin ve karışımlarının belli konsantrasyon aralıklarında tuzlu çözeltide hazırlanmasıyla *Vibrio fisheri*'yi kullanan Merck Toxalert 100® biyotesti sonucu elde edilen % İnhibisyonlarına karşılık gelen EC50 değerlerinden Toksik Birimleri (Toxic Unit, TUs) belirlenerek yapıldı (42) (Tablo 16).

**Tablo 16. İlaç bileşenlerinin Regresyon ve Probit Analizi sonucu EC50 ve TUs değerleri**

<b>İlaç Bileşenleri</b>	<b>EC50 (mg/l) (Regresyon Analizi)</b>	<b>TUs</b>	<b>EC50 (mg/l) (Probit Analizi)</b>	<b>TUs</b>
İBU	39.93	2.5	39	2.56
NAP	47.07	2.03	53.35	1.87
DİK	16.31	6.1	11.79	8.48
SA	52.64	1.89	54.39	1.83
İNSD	5.13	19.49	7.09	14.10

Sprague ve Ramsay (1965)'in formülüne göre, Standart madde için Toksik Birim;  $(TUs)=(EC50)^{-1} \times 100$  formülü kullanılarak hesaplandı. Numunelerin zehirliliklerine göre değerlendirilmesi için (TUs)'lara göre belirlenen bir skala kullanıldı. Bu skalaya göre (42);

- TUs= 0 ise numune toksik değil (nt),
- TUs<1 ise numune az toksik (st),
- $1 < TUs < 10$  ise numune toksik (t),
- $11 < TUs < 100$  ise numune çok toksik (vt),
- TUs>100 ise numune oldukça toksiktir (et).

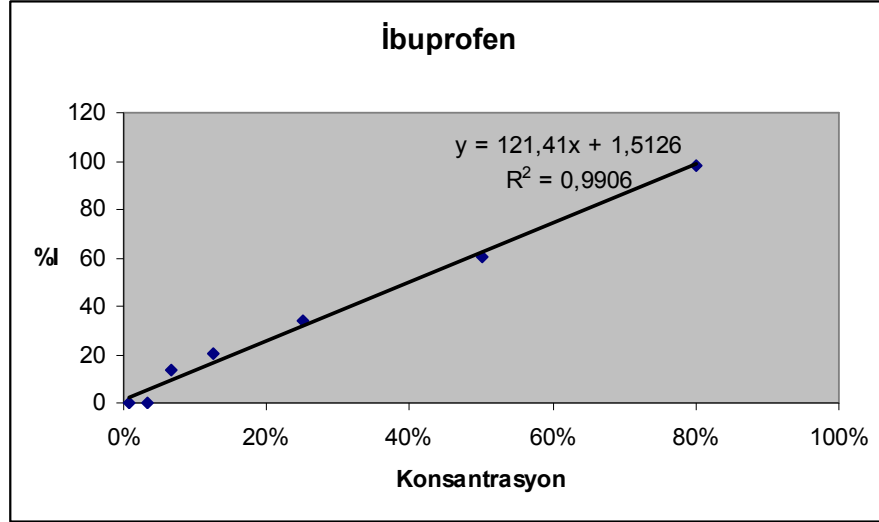
Regresyon katsayıları olan R ve R<sup>2</sup> değerleri bire ne kadar yakınsa parametreler arasında o kadar anlamlı bir ilişki söz konusudur. Genellikle 0.5'ten büyük R<sup>2</sup> değerleri iyi olarak kabul edilmektedir (183).

Hazırlanan sentetik numunelerin her biri için % Seyreltmelere karşılık % İnhibisyon grafikleri çizilmiştir. Regresyon denklemi ve probit analizi kullanılarak sonucunda EC50 değerleri hesaplandı. Hazırlanan tüm numunelerde EC50 değerlerine karşılık Toksik Birim (TUs) değerleri belirlendi.

Şekil 29'de İbuprofen bileşiği için % konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Regresyon denklemine göre EC50 39,93 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 2.5 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

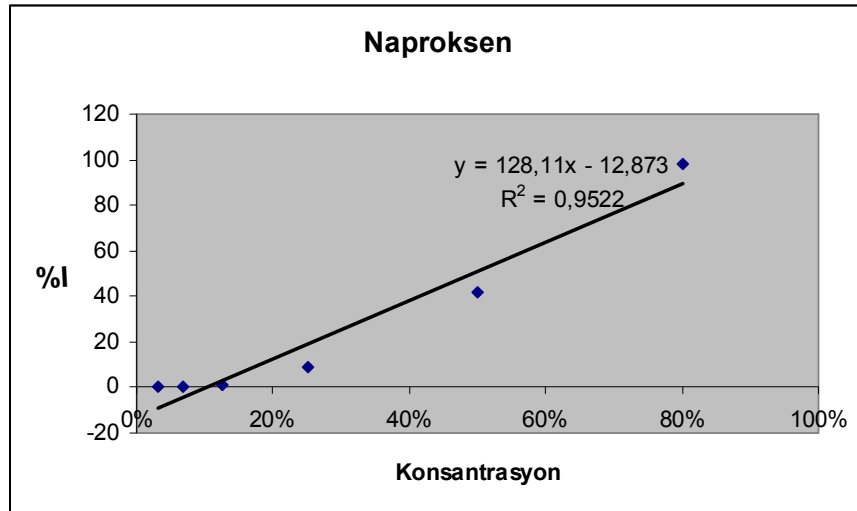


Şekil 29. ToxAlert 100® kullanılarak İbuprofen bileşiğinin % biyölüminesans inhibisyon grafiği.



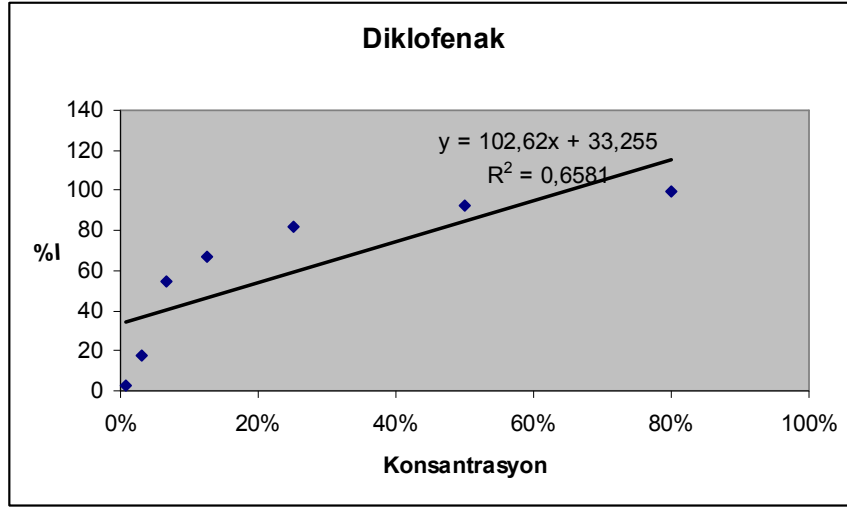
Şekil 30'de Naproksen bileşiği için % konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Regresyon denklemine göre EC50 49.07 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 2.03 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 30. ToxAlert 100® kullanılarak Naproksen bileşiğinin % biyölüminesans inhibisyon grafiği.



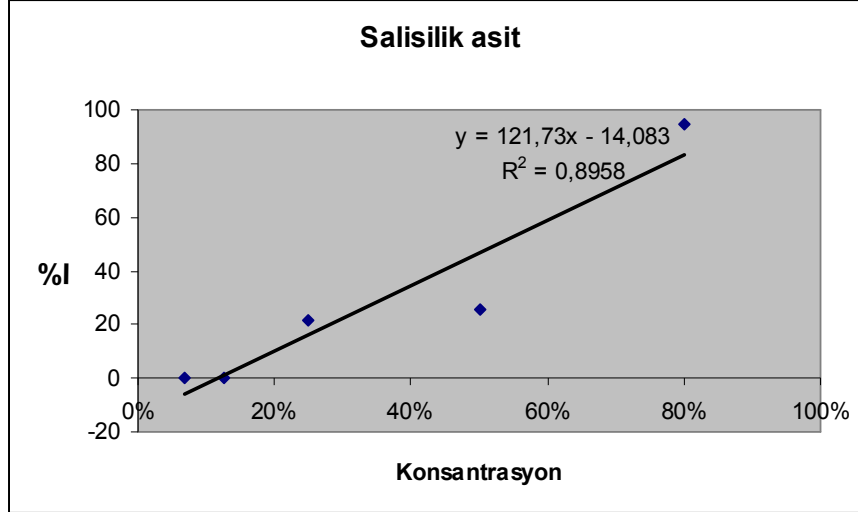
Şekil 31'de Diklofenak bileşiği için % konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Regresyon denklemine göre EC50 16.31 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 6.1 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 31. ToxAlert 100® kullanılarak Diklofenak bileşiğinin % biyolüminesans inhibisyon grafiği.



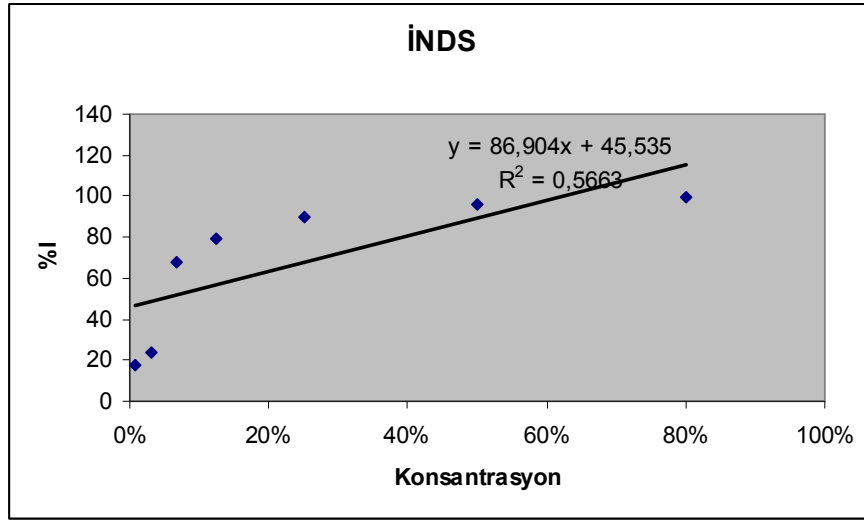
Şekil 32’de Salisilik asit bileşiği için % konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Regresyon denklemine göre EC50 52.64 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 1.89 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 32. ToxAlert 100® kullanılarak Salisilik asit bileşiğinin % biyolüminesans inhibisyon grafiği.



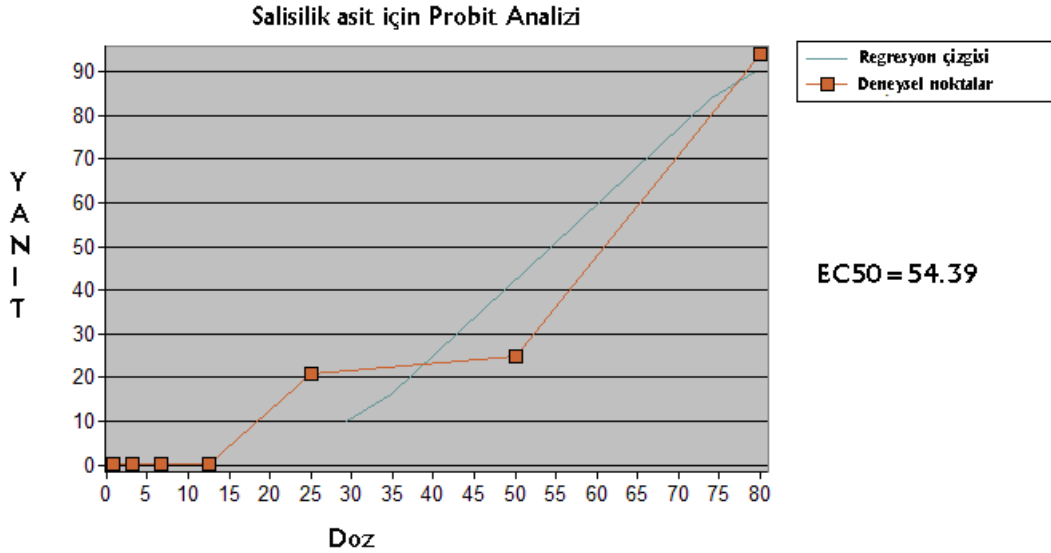
Şekil 33’de İNDS bileşikleri için % konsantrasyona karşı % inhibisyon grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Regresyon denklemine göre EC50 5.13 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 19.49 hesaplandı ve çok toksik olarak sınıflandırıldı.

**Şekil 33. ToxAlert 100® kullanılarak İNDS (İBU+NAP+DİK+SA) bileşiğinin % biyölüminesans inhibisyon grafiği**



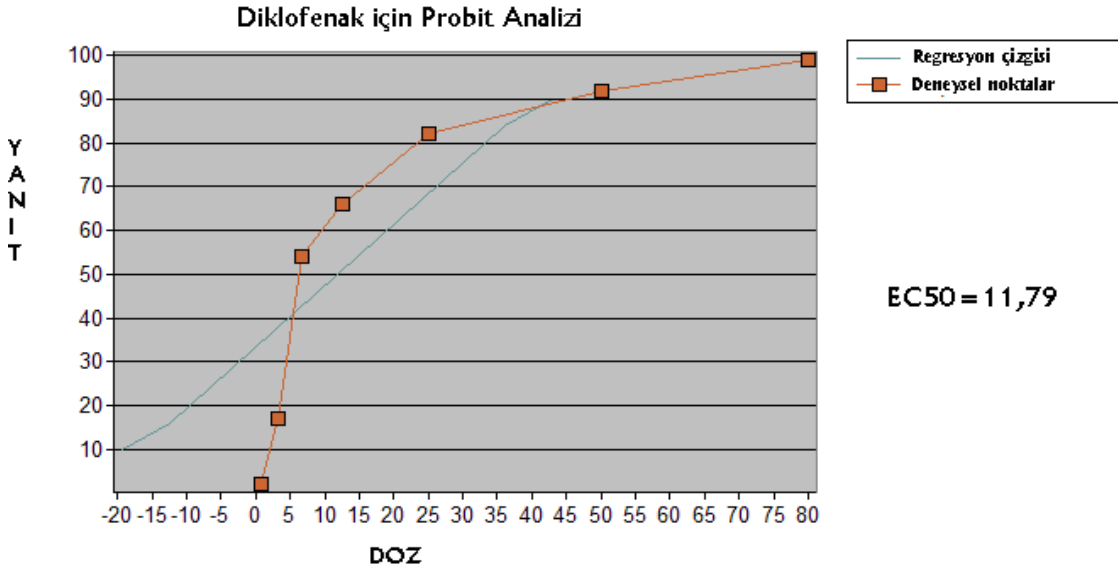
Şekil 34'de Salisilik asit bileşiği için Doz-Yanıt grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Probit Analizine göre EC50 54.39 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 1.83 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

**Şekil 34. ToxAlert 100® kullanılarak Salisilik asit bileşiğinin Probit Analizi**



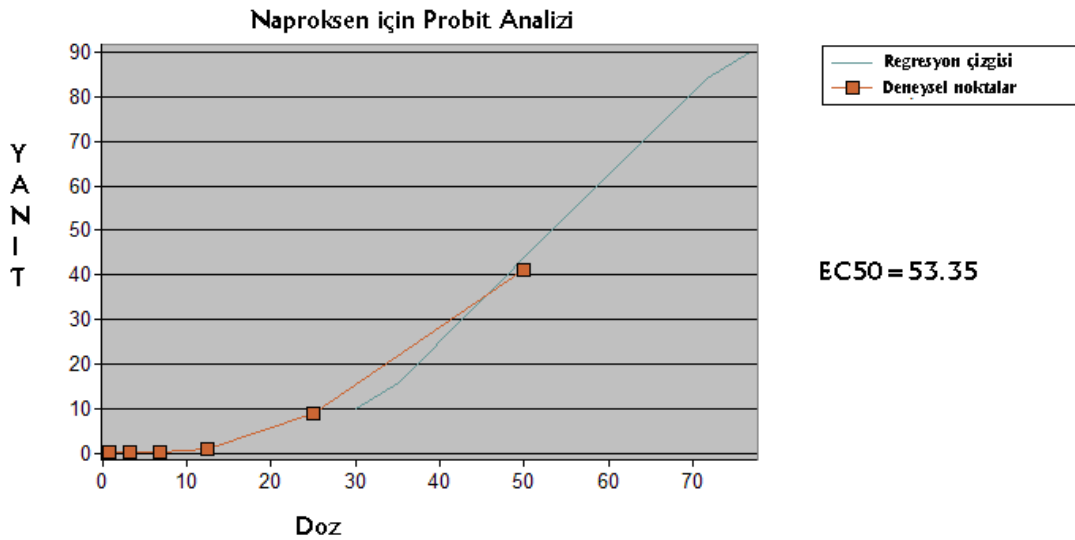
Şekil 35'de Diklofenak bileşiği için Doz-Yanıt grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Probit Analizine göre EC50 11.79 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 6.1 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 35. ToxAlert 100® kullanılarak Diklofenak bileşiğinin Probit Analizi



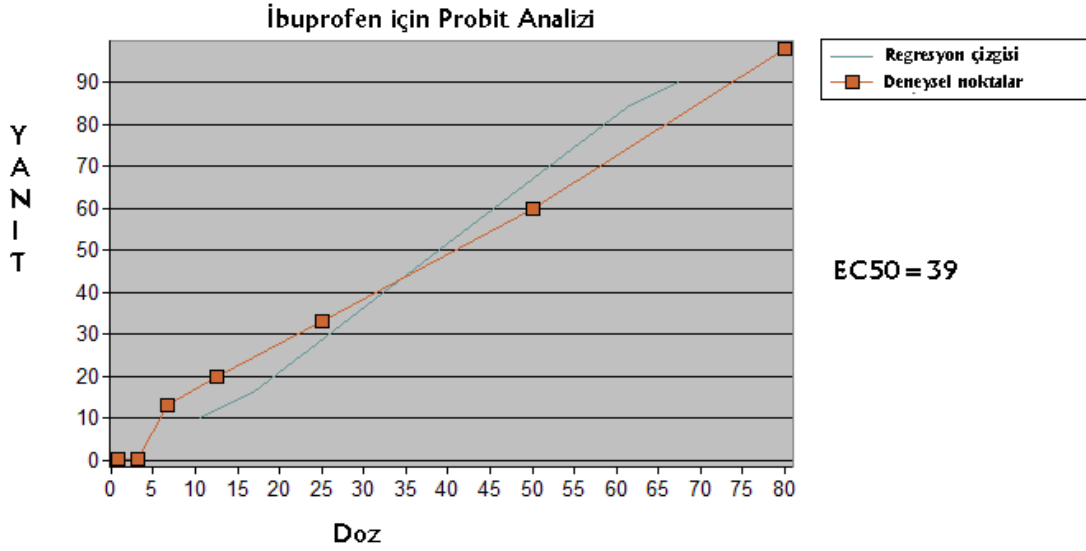
Şekil 36'de Naproksen bileşiği için Doz-Yanıt grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Probit Analizine göre EC50 53.35 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 1.87 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 36. ToxAlert 100® kullanılarak Naproksen bileşiğinin Probit Analizi



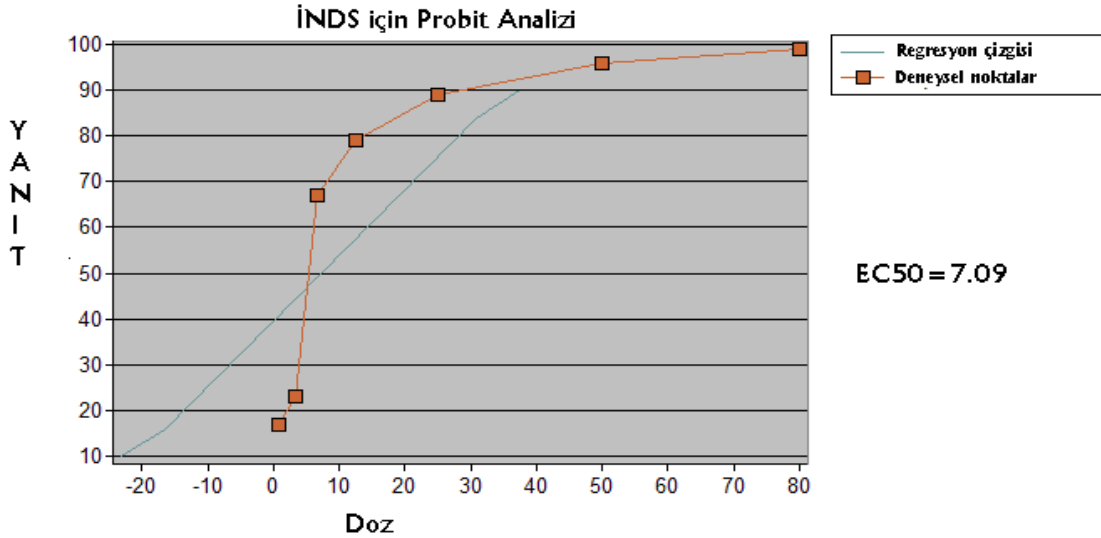
Şekil 37'de İbuprofen bileşiği için Doz-Yanıt grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Probit Analizine göre EC50 39 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 2.56 hesaplandı ve toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 37. ToxAlert 100® kullanılarak İbuprofen bileşiğinin Probit Analizi



Şekil 38’de İNDS bileşikleri için Doz-Yanıt grafiği çizilerek EC50 değeri hesaplandı. Probit Analizine göre EC50 7,09 mg/l olarak hesaplandı. TUs değeri ise formüle göre 14.10 hesaplandı ve çok toksik olarak sınıflandırıldı.

Şekil 38. ToxAlert 100® kullanılarak İNDS bileşiğinin Probit Analizi



Yapılan iki analiz sonucunda TUs değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Toksikite değerlendirmesinde bireysel bileşenler toksik, karışım ise çok toksik olarak bulundu.

## TARTIŞMA

Literatürde evsel atıksu, endüstriyel atıksu ve yüzeysel sularda en çok karşılaşılan ve hemen hemen birçok ülkede en fazla tüketilen antiinflamatuvar ilaçlar olan diklofenak, ibuprofen, naproksen, salisilik asit (asetil salisilik asidin metaboliti) ve stimulant olarak kullanılan kafein'in tespiti ve bu bileşiklerin *Vibrio fisheri* üzerine toksik etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır.

İlaç kalıntılarının sucul çevrenin çeşitli kompartmanında düşük konsantrasyonlarda (ng-µg/l) bulunduğu yapılan birçok çalışma sonucu gösterilmiştir (1,5,34,44,82,84). İlaç ve metabolitlerinin belirlenmesinde derivatizasyon, SPE-GC-MS, SPE-LC-MS/MS, SPE-HPLC-UV gibi çeşitli analitik metodlar geliştirilmiştir (65). SPE-GC-MS, yüksek hassasiyeti avantajından dolayı su ve yüzey suyu numunelerinin ilaç kalıntısı tespitinde tercih edildi (36). Seçilen 4 ilaç (İbuprofen, Salisilik asit, Naproksen ve Diklofenak) asidik özellikte olduklarından uygun pH 2 seçildi. Lin ve arkadaşları (184) SPE-GC-MS optimizasyonu için Oasis HLB kartuşların çok etkili olduklarını ve geri kazanım oranlarının (50-108%) yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Asidik, bazik ve nötral ilaçların yüzey sularında katı faz ekstraksiyonu (SPE) için Oasis HLB kartuş kullanım kolaylığı ve yüksek geri kazanımları (72.8-89.17%) nedeniyle tercih edilmiştir (80). Bileşikler trimetilsili ester/etheri ile sililenecek, HMDS ve TFA ile 70 °C 90 dk ısıtılarak derivasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (174).

İlaç kalıntıları sucul ortamda tek başlarına bulunmazlar. Birçok farklı ilaç kalıntısı sucul organizmalar için sinerjistik ya da toplamsal toksisiteye neden olabilir. Bu etkilerini endokrin sistemi baskılayarak gösterebilirler. Toksikite testlerinde düşük

konsantrasyonlardaki ilaçların kombine etkileri, tek başlarına ölçülen etkilerinden çok daha güçlü olduğunu göstermiştir. Tek başlarına etkileri ya yok ya da çok zayıf olarak gözlemlendi (117,125). Yapılan akut toksisite testlerinde, sucul organizmalara akut etki yapan konsantrasyonların, ilaç kalıntılarında dolayı çevresel ortamlarda bulunan konsantrasyonlardan 100-1000 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Örneğin salisilik asitin en düşük akut toksisitesi (EC50) 37 mg/l iken, sucul ortamda tespit edilen en yüksek konsantrasyonunun 60 µg/l olduğu bildirilmiştir (140). Bu nedenle ilaçların doğrudan sucul ortamlara deşarjı durumunda sucul organizmalara akut toksisite oluşturacağı söylenebilir.

İbuprofenin yıllık tüketimi yüzlerce ton olarak tahmin edilmektedir (185). Tablet başına ise 200-800 mg arasında kullanılır. Birçok araştırma sonucu İbuprofenin antiromatizmal ilaç gurubu için temsilci ilaç olduğuna kanaat getirilmiştir (77). Çalışmalar tüketilen İbuprofenin %14'lük kısmını hiç değişime uğramadığını göstermektedir (46,186). 2001 yılında Kanada da tüketimi 126 ton hesaplanmıştır (67). İbuprofen atıksu arıtma tesisi çıkışı, yüzey ve yer altı sularında tespit edilmiştir. Avrupa'dan alınan neredeyse bütün numunelerde bu etken madde tespit edilmiştir, bunun nedeni ise reçetelerde çok sık kullanılması ve kullanım alanının geniş olmasıdır (59,187). Boyd ve arkadaşları (188) Amerika'da yüzey sularında 1.75 ng/l, Buser ve arkadaşları (88) İsviçre nehir ve göllerinde 1.2-7.8 ng/l arasında, Metcalfe ve arkadaşları (189) Peterborough atık su arıtma çıkışında 0.0018 ng/l, Hamilton limanı yüzey suyunda 0.00093 ng/l, Burlington atıksuyu arıtma çıkışında 0.00079 ng/l, Ternes ve arkadaşları (37) Almanya'da atıksu arıtma çıkışında ortalama 0.00013, maksimum 0.0034 ng/l, Winkler ve arkadaşları (190) Almanya'da yüzey suyunda 0.00087 ng/l olarak tespit edilmiştir. İbuprofen hedeflenen diğer farmasötik bileşiklerden daha belirgin biçimde yüksek konsantrasyonlarda saptanmıştır. İbuprofenin yarılanma ömrünün ( $t_{1/2}$ ) bir günden az olmasına rağmen (73), su sistemlerinde  $t_{1/2}=50$  gün olduğu tespit edilmiştir (88,191). Buser ve arkadaşları (88) İbuprofenin 70-80% oranında ana bileşik ya da metabolit şeklinde atıldığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda kış ve bahar dönemlerinde en yüksek konsantrasyon Vatan hastanesini ve civardaki evsel atıksuları temsilen yüzey suyuna deşarj edildiği nokta olan S1 istasyonunda sırasıyla 1.23- 0.45 ng/l olarak ölçülmüştür. İşlenmemiş atık su istasyonlarına (S1, S2, S3 ve S5) bakıldığında İbuprofen kış döneminde tespit edilmiştir. Çerkezköy organize sanayi bölgesinin atıksu arıtma tesisine yakın S4 istasyonunda ise kış ve bahar dönemlerinde tespit edilememiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında İbuprofen için tespit edilen konsantrasyonların elde ettiğimiz sonuçlara yakın olduğunu söyleyebiliriz.

İbuprofen için *V.fisheri* ile yapılan biyoluminesans inhibisyon testinde, Farré ve arkadaşları (42) EC50'yi 12.1 ve 19.1 mg/l, Jin Sung Ra ve arkadaşları (192) EC 50'yi 37.5 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda probit analizine göre elde ettiğimiz EC50 39 mg/l değeri literatürle istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlıdır ve toksik birime göre bu konsantrasyon organizma için toksik sınıftadır.

Diklofenak bileşiğinin %1'inden azı değişmeden vucuttan atılır. Yarılanma ömrü  $t_{1/2}=4$  saattir. Su ortamına girdiğinde bir günden daha kısa bir sürede fotodegradasyona uğruyarak hızla ayrışır (35,193). Birinci çöktürme, havalandırma ve fosfat giderimi işlemlerinden sonra diklofenak % 69 oranında giderilmektedir (37). Ferrari ve arkadaşları (141) İsviçre'de bir atıksu çıkışında belirlenen ölçüm limitlerinin altında, Metcalfe ve arkadaşları (189) yüzey suyunda belirlenen ölçüm limitlerinin altında, Farré ve arkadaşları (42) İspanya'da atık su arıtma çıkışında 51-484 ng/l olarak tespit etmişlerdir. Diklofenak bileşiğinin çevrede değişken olduğunu söyleyebiliriz. Atık su arıtma tesislerinde düşük konsantrasyonlarda tespit edilirken, atıksu arıtma tesislerinin atıksuyunun deşarj edildiği yüzey suyu numunelerinde tespit edilememiştir (194). Çalışmamızda diklofenak yüzey suyu örneklerinde tespit edilemedi. Bununla birlikte su ortamında hızla fotodegradasyona uğraması olarak öngörülebilir (35).

Diklofenak için *V.fisheri* ile yapılan biyoluminesans inhibisyon testinde, Ferrari ve arkadaşları (141) EC50'yi 11.45 mg/l ayrıca diğer organizmalarla karşılaştırma yaptıklarında diklofenak bileşiğinin *V.fisheri*'de çok hassas olduğunu, Farré ve arkadaşları (42) EC50'yi 13.3 ve 13.7 mg/l, Jin Sung Ra ve arkadaşları (192) EC50'yi 9.7 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda probit analizine göre elde ettiğimiz EC50 11.79 mg/l değeri literatürle istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlıdır. Hedef bileşenlerle karşılaştırıldığında en toksik diklofenaktır. Toksik birime göre bu konsantrasyon organizma için toksik sınıftadır.

Kafein stimulant olarak grip, soğuk algınlığı ve antiinflamatuvar ilaçların içinde bulunmaktadır. Heberer ve arkadaşları (53), yüzey suyunda maksimum 256 ng/l, Metcalfe ve arkadaşları (189) ortalama 14 ng/l, Ternes ve arkadaşları (65), ortalama 530 ng/l, maksimum 880 ng/l olarak tespit etmişlerdir. Paxeus (195), İsveç'te atıksu arıtma tesisi çıkışında 2-3.3 µg/l olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda tespit edilen ilaç bileşenleri arasında en yüksek konsantrasyon kafeine aittir. Velimeşe atıksu arıtma tesisi çıkışına yakın S4 istasyonunda kış ve bahar döneminde en yüksek konsantrasyonlara rastlandı (121.2-95.13 ng/l). Bu istasyon Çerkezköyün hem evsel hemde endüstriyel sularının arıtıldığı Çerkezköy organize sanayinin



atıksu arıtma tesisine yaklaşık 5 km uzaklıktadır. Kışın alınan numune noktalarında yüksek çıkması bu mevsimde soğuk algınlığı ilaçlarının yoğun kullanımından kaynaklanabilir. Poiger (196) tarafından atıksu arıtma tesislerinde kafein için belirlenen 30-9500 ng/l aralığındaki konsantrasyonlara göre kabul edilebilir sonuçlar elde edildi. Atık su arıtma tesisinden tahliye olan kafein yüzey suyunda akıntı yönünde önemli mesafelerde kalıcı olabilmektedir.

Asetilsalisilik asit analjezik ve antienflamatuvar olarak çok sık kullanılan farmasötikler arsındadır. 2000 yılında satışı Avrupa ülkelerinde yılda 1000 ton'a ulaşmaktadır (53,197). İngiltere'de kullanılan miktarı yılda 18 ton'dur (25). Ternes (1) tarafından yapılan çalışmada kanalizasyon sularında 1500 ng/l, yüzey sularında ise 340 ng/l olarak tespit edilmiştir. Atıksu arıtma tesisinde giderim oranı ise %80'dir (1). Salisilik asit ise asetilsalisilik asitin metabolitlerinden biridir. Farré ve arkadaşları (42) İspanya'da yüzey sularında maksimum 8800 ng/l, atık su çıkışında ise 13000 ng/l tespit etmişlerdir. Kafeinde olduğu gibi S4 istasyonunda kış ve yaz dönemlerinde en yüksek konsantrasyonlar (5.74-3.74) tespit edilmiştir. Diğer istasyonlarda ise, kış döneminde alınan numuneler yaz dönemine göre yüksek bulunmuştur. Salisilik asidin çıkış sularındaki kararsız durumu iyi bilinmemektedir (198). Yapılan ölçümlerde S1 istasyonunda iki dönemde de tespit edilememiştir. Diğer istasyonlardaki ölçümlerde ise konsantrasyonlar arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır.

Salisilik asit için *V.fisheri* ile yapılan biyoluminesans inhibisyon testinde, Farré ve arkadaşları (42) EC50'yi 41.3 mg/l, Henschel ve arkadaşları (121) EC50'yi 90 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda probit analizine göre elde ettiğimiz EC50 54.39 mg/l değeri literatürle istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlıdır ve toksik birime göre bu konsantrasyon organizma için toksik sınıfındadır.

Naproksen, hem tıpta hemde veterinerlikte yüksek kullanım oranına sahip reçetesiz satılan antienflamatuvar ilaç grubundadır (189). Vucuttan %60 oranında metabolize olmadan atılır ve çevrede nispeten kalıcıdır (199). Naproksen Kanada da popüler kullanılan antienflamatuvar ilaçlar arasındadır ve yıllık kullanımı 31 ton hesaplanmıştır (189). Bazı çalışmalar naproksenin su sistemlerinde yarılanma ömrünü 50 gün nispeten kalıcı olduğunu (194), başka bir çalışma da ise, yarılanma ömrünü bir günden daha az olduğunu rapor etmişlerdir (73). ABD'de yüzey sularında Boyd ve arkadaşları (200) 37-107 ng/l, Boyd ve Grim (201) maksimum 20 ng/l, Drewers ve arkadaşları (202) atıksu çıkışında 6280 ng/l naproksen tespit etmişlerdir. Almanya'da Heberer ve arkadaşları (53) yüzey suyunda maksimum 95 ng/l, Ternes ve arkadaşları (37) nehir ve derelerde 390 ng/l, 2003 yılında atıksu

çıkışında 100 ng/l, İsviçre’de Ollers ve arkadaşları (203) nehirlerde 10-400 ng/l, atıksu çıkışında 100-3500 ng/l tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kafein ve salisilik asit gibi S4 istasyonunda kış ve yaz dönemlerinde en yüksek konsantrasyonlar (13.58-10.48 ng/l) tespit edilmiştir. Bu istasyonda ilaç bileşenlerinin konsantrasyonlarının yüksek çıkmasının nedeni olarak, Çerkezköy organize sanayi bölgesinde yer alan ilaç firmaları ve bölgede bulunan hastane ve evsel atık suların tek bir atıksu tesisinde toplanarak arıtıldıktan sonra deşarj noktasına yakın bölge olmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Çorlu bölgesinde hastane ve evsel atıksuları temsilen seçilmiş üç noktada çıkan düşük konsantrasyonların nedeni ise bölgenin üçe bölünmüş olması ve seyrelmeler olarak izah edilebilir.

Naproksen için *V.fisheri* ile yapılan biyoluminesans inhibisyon testinde, Farré ve arkadaşları (42) EC50’yi 21.2 ve 35.6 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda probit analizine göre elde ettiğimiz EC50 53.35 mg/l değeri literatürle istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlıdır ve toksik birime göre bu konsantrasyon organizma için toksik sınıftadır.

Karışımın toksisitesine bakıldığında EC50 değerinin diklofenak bileşiğinin tek başına gösterdiği akut etkiye yakın olduğu, diğer bileşenlerin ise çok çok altında olduğu görülmüştür. İbuprofen, naproksen, diklofenak ve salisilik asitin bir arada bulunduğu karışımın EC50’si 7.09 mg/l ve toksik birimi değerlendirildiğinde çok toksik olarak tespit edilmiştir. Hedef bileşenlerin tek başlarına bulunmadığını göz önünde bulundurursak karışımın toksisitesini öncelikli olarak göz önünde bulundurmalıyız. Farmasötiklerin karışımının organizmaya olan sinerjistik ve toplam etkileri, biyobirikimleri, metabolizması ve dağılımları ile ilgili bilgi mevcut değildir. Log Kow>3 olan bileşikler organizmanın dokularında birikme kapasitesi oldukça yüksektir (133). Hedef bileşenlerin Log Kow değerlerine baktığımızda salisilik asit hariç üç bileşeninde Log Kow>3 olduğunu ve bu bileşenlerin organizmada birikebilme özellikte olduğunu söyleyebiliriz.

Türkiye’de farmasötik maddelerin sucul ortamda tespitleri ile ilgili yapılmış bir çalışmanın olmaması, son yirmi yılda özellikle Kuzey Amerika, İngiltere ve Avrupa’da bu çalışmalara artan şekilde ağırlık verilmesi sonucu çalışmamızın önemini arttırmıştır (48). Ağrı kesicilerin ülkemizde kullanım miktarlarına bakıldığında üçüncü sırayı alması yüzey sularında tespiti açısından önemlidir. Bu çalışma sonucunda düşük miktarlarda tespit edilen ilaç konsantrasyonlarının sudaki canlılara tek başlarına akut toksik etki yapacak kadar etkili olmadığı tespit edildi. Ancak ilaçlar ve diğer kimyasal maddeler sucul ortamlarda tek başlarına var olmazlar. İlaçların muhtemel ekotoksikolojik etkileri için karışım halindeki

etkileride araştırılmalıdır. İlaçlar biyolojik aktif bileşikler olarak memeli olmayan hayvanlarda (hatta bitkilerde) memelilerde olduğu gibi benzer kronik etkilerde bulunabilirler. Bu nedenle benzer advers (kronik) etkiler insanlarda ve memelilerde olduğu gibi alt omurgalılarda ve omurgasızlarda araştırılmalıdır. NSAİİ'lerin ekotoksisteleri üzerine gelecekteki araştırmalar tasarlanırken, memeliler için bilinen yan etkilerinin yanında alt organizmalarda prostaglandin sentezini inhibe etmeleri ve COX inhibisyonları da göz ardı edilmemesi gerektiği öngörülebilir. İlaç kalıntılarının atıksu ve yüzey sularındaki ilaç yükünü çözmede bir önemli nokta AAT proseslerini optimize etmektir. Atıksu uygulamalarında daha iyi giderim tekniklerini gerçekleştirmek için ilaçların geleceği ile ilgili bilgilerin arttırılmasına ihtiyaç vardır. Diğer makro ve mikro kirleticiler de dikkate alınarak, AAT proseslerinin optimizasyonu ve gelişmiş teknolojilerin uygulanmasıyla ilaçların atıksulardan giderilmesi mümkün olacaktır.

## SONUÇ

Çorlu ve civarındaki yüzey suyu numunelerinde İbuprofen, Naproksen, Salisilik asit ve Kafein düşük konsantrasyonlarda tespit edildi. Diklofenak ise tespit edilemedi. Bu bileşiklerin (kafein hariç) Toxalert 100<sup>®</sup> ile *V.fisheri* bakterisi üzerine akut etkileri araştırıldığında toksik olduğu görüldü. İNDS karışımının etkisi ise çok toksik gözlemlendi.

İbuprofen yüzey suyu numunelerinde kış ve bahar dönemlerinde 0.045-1.23 ng/l aralığında bulundu. Kış döneminde yapılan ölçümler bahar dönemine göre yüksek çıktı. Bunun nedeni olarak kışın ilaç kullanımının yüksek olması şeklinde değerlendirildi. S4 istasyonunda iki dönemde tespit edilememesi deşarj noktasından uzaklaşıldıkça ibuprofenin seyrelmesi yada metabolitlerine dönüştüğünün göstergesi olabilir şeklinde öngörülebilir. İbuprofen için EC50 değeri 39 mg/l, toksik birime göre değerlendirildiğinde ise organizma için toksik sınıftadır. LogKow değerine göre de organizmada birikebilme özelliğine sahiptir.

Diklofenak iki dönemde de yüzey suyu numunelerinde tespit edilemedi. Hızla fotodegradasyona uğraması, metabolitlerine dönüşmesi ya da seyrelmesi şeklinde değerlendirildi. Hedef bileşikler içinde en toksik olan diklofenaktır. EC 50 değeri 11.79 mg/l ve toksik birime göre organizma için toksik sınıftadır. Organizmada birikebilme özelliğine sahiptir. LogKow değerine göre de organizmada birikebilme özelliğine sahiptir.

Salisilik asit, asetil salisilik asidin metabolitlerinden biri olarak yüzey suyu numunelerinde 0.02-5.74 ng/l aralığında tespit edildi. Her iki dönemde de S1 istasyonunda tespit edilmedi. Diğer istasyonlarda kış döneminde diğer bileşiklerde olduğu gibi yüksek bulundu. En yüksek konsantrasyonlar S4 istasyonunda her iki dönemde de gözlemlendi. EC 50 değeri 54.39 mg/l ve toksik birime göre organizma için toksik sınıftadır. Organizmada

birikebilme özelliğine sahiptir. LogKow değerine göre de organizmada birikebilme özelliğine sahiptir.

Bazı ilaçların içinde stimulant olarak bulunan kafein, yüzey suyu numunelerinde 0.61-121 ng/l aralığında tespit edildi. Kafeinin diğer bileşenlere göre yüksek çıkması hem doğada bulunması hemde gıdalarla vucuda alınarak atılması, ayrıca uzak mesafelerde bile su ortamında kalıcı olabilmesidir. En yüksek konsantrasyonlar her iki dönemde S4 istasyonunda de tespit edildi. Kafein için toksisite değerlendirmesi LogKow değerinin düşük olması ve organizmada birikme özelliğine sahip olmamasından dolayı yapılmadı.

Naproksen yüzey suyu numunelerinde 0.0015-13.58 ng/l aralığında tespit edildi. En yüksek konsantrasyonlar her iki dönemde S4 istasyonunda de tespit edildi. EC değeri 53.35 mg/l ve toksik birime göre organizma için toksik sınıftadır. LogKow değerine göre de organizmada birikebilme özelliğine sahiptir.

Sonuçlara bakıldığında, S4 istasyonunda atıksu arıtması bulunmasına rağmen tüm hedef bileşenlerin (İbuprofen ve diklofenak hariç) yüksek çıkması Çerkezköy bölgesinin tüm evsel ve endüstriyel sularını temsil etmesi şeklinde değerlendirilebilir. Toksisite sıralamasına göre bileşenler; DİK>İBU>SA>NAP şeklinde bulundu. Ancak ilaç bileşenleri tek başlarında toksik olmazken karışım halinde bulduklarında çok toksik olarak sınıflandırılırlar. Bunun sebebi ise “sinerjistik etki” ya da “toplam etki”dir. Akut toksisite için çalışılan konsantrasyonları yüzey suyunda tespit etmek mümkün değildir. Çevresel konsantrasyonlar LC<sub>50</sub> yada EC<sub>50</sub> nin bilinen değerlerinden 10<sup>3</sup> ten 10<sup>7</sup> kat düşüktür. İlaçların sulu sistemlerdeki kalıntıları hakkındaki bilgilerimiz onların tek başlarına akut toksisite için bir risk olmayacaklarının işaretidir.

Bu bileşenlerin tek başlarına bulunmadığını, suda birçok organik ve inorganik kimyasalın olduğunu bildiğimizden atıksu deşarj standartlarında ilaç bileşenlerinin de izlenmesi ve AAT'lerin optimizasyonu gerekmektedir. Karışım halindeki ilaç kalıntılarının uzun dönemli potansiyelleri için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

## ÖZET

### BAZI FARMASÖTİK İLAÇ KALINTILARININ SULARDAKİ TOKSİK ETKİLERİ

**A.Handan DÖKMECİ**

Çevresel analizlerde geleneksel kimyasal maddelerin yanında farmasötiklerinde kirletici sınıfa dahil olduğu yapılan çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. Çalışmamızda kış ve bahar döneminde alınan su numunelerinde İbuprofen, Naproksen, Diklofenak, Salisilik asit (Asetil salisilik asit metaboliti) ve kafein bileşenleri SPE-GC-MS’de derivatize edilerek belirlendi. Bu bileşenler antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik olarak insan sağlığını korumada ve veterinerlikte reçetesiz olarak da sıkça kullanılmaktadır. Bileşenler için uygun pH, derivatizasyon ve SPE şartları tespit edilerek ölçümleri yapıldı. Kafein hariç uygun pH 2 olarak tespit edildi. Waters Oasis, C18 ve MCX kartuşlarının geri kazanım oranları ve kullanım kolaylığı sonucunda Waters Oasis HLB kartuş, ekstraksiyon için tercih edildi. Yüzeysel suyu numunelerinde bu bileşenler 0.0015-121.13 ng/l aralığında tespit edildi. Evsel ve endüstriyel atıksu arıtma tesisinden deşarj edilen ilaçların yüzeysel sularında akıntı yönünde önemli mesafeler boyunca kalıcı oldukları belirlendi. Naproksen, İbuprofen, Diklofenak ve Salisilik asitin akut toksisiteyi *V.fisheri* bakterisi ile ToxAlert 100<sup>®</sup> kullanılarak değerlendirildi. Seçilen maddeler asidik özellikte, çok polar ve reçetesiz sık satılan analjeziklerdir. Doz-yanıt eğrileri çizilerek lineer regresyon analizi ve probit analizleri

yapılarak %50 etkili konsantrasyonları (EC50) 11.79-54.39 mg/l ve toksik birimleri (TUs) 1.83-8.48 aralığında hesaplandı. Sucul ortamlarda farmasötiklerin tek başlarına akut etkilerinin olasılık dışı olduğu belirlendi. Ancak karışımın (İNDS) akut toksisitesi *V.fisheri* bakterisi kullanılarak değerlendirildiğinde EC50 7.09 mg/l ve toksik birim (TUs) 14.10 hesaplanarak organizma için çok toksik olduğu bulundu.

Anahtar kelimeler: Su analizi, GC-MS, SPE, Derivatizasyon, Naproksen, Diklofenak, İbuprofen, Salisilik asit, Kafein, Toksikite, *Vibrio fisheri*.

## **SUMMARY**

### **TOXIC EFFECTS OF SOME PHARMACEUTICALS DRUG RESIDUES IN WATERS**

**A.Handan DÖKMECİ**

It has been determined in our studies that pharmaceuticals besides conventional chemical substances were included in pollution classes in environmental analyses. In our study, in water samples taken during winter and summer periods, Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac, Salicylic acid (metabolite of acetyl salicylic acid) and caffeine components were determined as making derivatization in SPE-GC-MS. These components are used frequently in veterinary and in the protection of human health as anti-inflammatory, analgesic and antipyretic without prescription. By determining appropriate pH, derivatization and SPE conditions for components measurements were done. Appropriate pH was determined as pH 2 except caffeine. In the result of recovery rates of Waters Oasis HLB, C18 and MCX cartridges and usage easiness, Water Oasis HLB cartridge was preferred for extraction. These components were determined in the range of 0.0015-121.13 ng/L In surface water samples. It was determined that drugs, discharged from municipal and industrial wastewater treatment plants, were persistent along important distances in the direction flows in surface waters. Acute toxicities of Naproxen, Ibuprofen, Diclofenac and salicylic acid were evaluated by using ToxAlert<sup>®</sup> 100 toxicity test with *V.fisheri* bacteria. Selected substances have acidic and polar properties and they are analgesics, sold too much without any prescription. The %50 Effective Concentrations (EC50) were calculated in the range of 11.79- 54.39 ng/l and toxic units in the range of 1.83-8.48 ng/l by making linear regression analysis and probite analysis, by drawing dose-response curves. In aquatic environments, acute effects of pharmaceuticals



alone were determined improbable. On the other hand, acute toxicity of the mixture (INDS), calculated EC50 7.9 mg/L and toxic unit (TUs) 14.10, when evaluated by using *V.fisheri* bacteria, was found to be very toxic for organisms.

**Key words:** Water analysis, GC-MS, SPE, Derivatization, Naproxen, Diclofenac, Ibuprofen, Salicylic acid, Caffein, ,Toxicity, *Vibrio fisheri*.

## KAYNAKLAR

- 1-Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32 (11), 3245–3260.
- 2-Ternes, T., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.-J., Haist-Glude, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N., 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3855–3863.
- 3-Löffler, D., Ternes, T.A., 2003. Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography– tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1021, 133–144.
- 4-Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M., 2003. Environmental Organic Chemistry. Second Ed. *Wiley-Interscience*. ISBN 0- 471-35750-2 New Jersey.
- 5-Daughton, C.G. and Ternes, T.A., (1999), Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?, *Environmental Health Perspectives*, 107(6), 907-938.
- 6-Roefer, P., Synder, S., Zegers, R.E., Rexing, D.J., and Fronk, J.L., (2000), Endocrine-Disrupting Chemicals in a Source *Water, Journal of AWWA*, 92(8), 52-58.
- 7-U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), (1997), Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effect Assessment and Analysis, Office of Research and Development, Risk Assessment Forum, Washington, D.C.

- 8-U.S. Environmental Protection Agency (USEPA),** (2001), Welcome to the Global Endocrine Disruptor Research Inventory, [www.epa.gov](http://www.epa.gov), Washington, D.C.
- 9-Sawyer, C. N., Mccarty, P. L.,** 1978. Chemistry For Environmental Engineering. McGraw Hill Inc., Singapore, 519s.
- 10-Center For Bioenvironmental Research (CBR),** (2001), Environmental Estrogens and Other Hormones, [www.som.tulane.edu/ecme](http://www.som.tulane.edu/ecme), Tulane and Xavier University, New Orleans.
- 11-U.S. Environmental Protection Agency (USEPA),** (1998), Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC) Final Report.
- 12-National Research Council (NRC),** (2000), Hormonally Active Agents in the Environment, National Academy Press, Washington, D.C.
- 13-Crews, D., Willingham, E. and Skipper, J.K.,** (2000), Endocrine Disruptors: Present Issues, Future Directions, *The Quarterly Review of Biology*, 75(3), 243-260.
- 14-Witorsch, R.J.,** (2000), Endocrine Disruption: A Critical Review of Environmental Estrogens from a Mechanistic Perspective, *Toxic Substance Mechanisms*, 19, 53–78.
- 15-Foster, P.M.D. and McIntyre, B.S.,** (2002), Endocrine Active Agents: Implications of Adverse and Non- Adverse Changes, *Toxicologic Pathology*, 30(1), 59–65.
- 16-Ying, G.G., Kookana, R.S. and Ru, Y.J.,** 2002, Occurrence and Fate of Hormone Steroids in the Environment, *Environment International*, 28, 545-551.
- 17-Welshons, W.V., Thayer, K.A., Judy, B.M., Taylor, J.A., Curran, E.M., and vom Saal, F.S.,** (2003), Large Effects from Small Exposures. I. Mechanisms for Endocrine-Disrupting Chemicals with Estrogenic Activity, *Environmental Health Perspectives*, 111(8), 994-1006.
- 18-European Commission (EC),** (2000), Toward the Establishment of a Priority List of Substances for Further Evaluation of Their Role in Endocrine Disruption, Rep. No. M0355008/1786Q/10/11/00, Brussels, Belgium.
- 19-Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M.G., and Sumpter, J.P.,** (1995), A Variety of Environmentally Persistent Chemicals, Including Some Phthalate Plasticizers, are Weakly Estrogenic, *Environmental Health Perspectives*, 103(6), 582-587.
- 20-Jouany, J.M.,** (2000), Introduction to Meeting on Endocrine Disruptors, *Ecotoxicology*, 9, 19-20.
- 21-Bowerman, W.W. et al.,** (2000), Assessment of Environmental Endocrine Disruptors in Bald Eagles of the Great Lakes, *Chemosphere*, 41, 1569-1574.

- 22-Kwack, S.J., Kwon, O., Kim, H.S., Kim, S.S., Kim, S.H., Sohn, K.H., Lee, R.D., Park, C.H., Jeung, E.B., An, B.S., and Park, K.L.,** (2002), Comparative Evaluation of Alkylphenolic Compounds on Estrogenic Activity in vitro and in vivo, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65, 419–431.
- 23-Dökmeci, İ.** Farmakoloji İlaçlar ve Etkileri. İlaçların Metabolizasyonu, 109-118. Nobel Tıp Kitapevi , 2007.
- 24-Holm, J.V., Rugge, K., Bjerg, P.L., Christensen, T.H.,** 1995. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic-compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark). *Environ. Sci. Technol.* 29 (5), 1415–1420.
- 25-Jones, O.A., Voulvoulis, N., Lester, J.N.,** 2002. Aquatic environment talassessmentofthetop25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.* 36 (20), 5013–5022.
- 26-Huschek, G., Hansen, P.D., Maurer, H.H., Kregel, D., Kayser, A.,** 2004. Environmental risk assessment of medicinal products for human use according to European Commission recommendations. *Environ. Toxicol.* 19 (3), 226–240.
- 27-Khan, S.J., Ongerth, J.E.,** 2004. Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere* 54 (3), 355–367.
- 28-Thaker,** 2005. Pharmaceutical data elude researchers. *Environ. Sci. Technol.* 139 (9), 193A–194A.
- 29-Sattelberger, R.,** 1999. Arzneimittelrückstände in der Umwelt. Umweltbundesamt, Wien.
- 30-Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L.P., Luthoft, H.C., Halling-Sorensen, B.,** 2000. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40 (7), 783–793.
- 31-Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R.,** 2003. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. *Environ. Sci. Technol.* 37 (7), 1241–1248.
- 32-<http://www.ieis.org.tr/>
- 33-United States Geological Survey,** (2001), Target Compounds for National Reconnaissance of Emerging Contaminants in US Streams, Toxic Substances Hydrology Program.
- 34- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T.,** 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams 1999–2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36 (6), 1202–1211.

- 35- Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D.,** 1998. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. *Environ. Sci. Technol.* 32 (22), 3449–3456.
- 36- Heberer, T., Stan, H.J.,** 1997. Determination of clofibric acid and *N*-(phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage, river and drinking water. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 67 (1–4), 113–123.
- 37- Ternes, T., Hirsch, R., Mueller, J., Haberer, K.,** 1998. Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and alpha2-sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. *Fresen. J. Anal. Chem.* 362 (3), 329–340.
- 38- Mohle E., C. Kempter, A. Kern, J. W. Metzger.,** 1999. Untersuchungen Zum Abbau Von Pharmaka In Kommunalen Kläranlagen Mit HPLC Electrospray m Massenspektrometrie. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica*, Volume 27 Issue 6, Pages430–436
- 39- Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.-D.,** Silvana Vianna Rodrgues Baumann, W., 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.* 225 (1/2), 135–141.
- 40- Werres, F., Stien, J., Balsaa, P., Schneider, A., Winterhalter, P., Overath, H.,** 2000. Automatisierte Bestimmung Polarer Arzneimittelrückstände in Wässern Mittels Festphasen-mikroextraktion (SPME) und Derivatisierung. *Vom Wasser* 94: 135-147.
- 41- Ahrer, W., Schwenk, E., Buchberger, W.,** 2001. Determination of Drug Residues in Water by The Combination of Liquid Chromatography or Capillary Electroporesis with Electrospray Mass Spestrometry. *J. Chromatogr. A* 919: 69-78.
- 42- Farré, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olvella, L., Tirapu, L., Vilanova, M., Barcelo, D.,** 2001. Determination of Drugs in Surface Water and Wastewater Samples by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Methods and Preliminary Results Including Toxicity Studies with *Vibrio fischeri*. *J. Chromatogr. A* 938: 187-197.
- 43- Fatta, D., Nikolaou, A., Achilleos, A., Meric, S.,** 2007. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol.26, No 6, 515-533.
- 44- [Wasser-wissen.de](http://www.wasser-wissen.de),** Das Internetportal für Wasser und Abwasser, Institut für Umweltverfahrenstechnik – Universität Bremen, <http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/m/medikamente.htm>.
- 45- Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten Lutzhoft, H.C., Jorgensen, S.E.,** 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere* 36 (2), 357–393.
- 46- Daughton, C.G., Ternes, T.A.,** 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107 (Suppl. 6), 907–938.
- 47- Ku“mmerer, K., Steger-Hartmann, T., Meyer, M.,** 1997. Biodegrad-ability of the anti-

- tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Res.* 31 (11), 2705–2710.
- 48- Ternes, T., Jos, A., Siegrist, H.,** 2004. Scrutinizing pharmaceutical and personal care products in wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.*, 393–399.
- 49- Urase, T., Kikuta, T.,** 2005. Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Res.* 39 (7), 1289–1300.
- 50- Kreuzinger, N., Clara, M., Strenn, B., Kroiss, H.,** 2004. Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from wastewater. *Water Sci. Technol.* 50 (5), 149–156.
- 51- Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.-D., Silvana Vianna Rodrigues Baumann, W.,** 1999. Polar Drug Residues In Sewage And Natural Waters In The State Of Rio De Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.* 225 (1/2), 135–141.
- 52- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Llompert, M., Garcia-Jares, C., Rodriguez, I., Gomez, M., Ternes, T.,** 2004. Behavior Of Pharmaceuticals, Cosmetics And Hormones In A Sewage Treatment Plant. *Water Res.* 38 (12), 2918–2926.
- 53- Heberer, T.,** 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol. Lett.* 131 (1/2), 5–17.
- 54- Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N.,** 2004. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Res.* 38 (4), 947–954.
- 55- Ternes, T.A., Stumpf, M., Mueller, J., Heberer, K., Wilken, R.- D., Servos, M.,** 1999. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci. Total Environ.* 225 (1/2), 81–90.
- 56- Lindqvist, N., Tuhkanen, T., Kronberg, L.,** 2005. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewage and in receiving waters. *Water Res.* 39, 2219–2228.
- 57- Thomas, P.M., Foster, G.D.,** 2004. Determination of Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, caffeine, and triclosan in wastewater by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Environ. Sci. Health A* 39 (8), 1969–1978.
- 58- Roberts, P.H., Thomas, K.V.,** 2005. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci. Total Environ.*
- 59- Andreozzi, R., Raffaele, M., Nicklas, P.,** 2003b. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50 (10), 1319–1330.
- 60- Scheytt, T., Mersmann, P., Lindstadt, R., Heberer, T.,** 2005. Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and

- ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere* 60 (2), 245–253.
- 61-Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J.I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., Khan, A.A., 2004.** Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427 (6975), 630–633.
- 62-Brooks, B.W., Chambliss, C.K., Stanley, J.K., Ramirez, A., Banks, K.E., Johnson, R.D., Lewis, R.J., 2005.** Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environ. Toxicol. Chem.* 24 (2), 464–469.
- 63-Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., Negele, R.D., 2004.** Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I. Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 68 (2), 141–150.
- 64-Heberer, T., Stan, H.J., 1996.** Occurrence of polar organic contaminants in Berlin drinking water. *Vom Wasser* 86, 19–31.
- 65-Ternes, T., Bonerz, M., Schmidt, T., 2001.** Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J.Chromatogr. A* 938 (1/2), 175–185.
- 66- Zwiener, C., Frimmel, F.H., 2000.** Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. *Water Res.* 34 (6), 1881–1885.
- 67-Metcalf, C.D., Koenig, B.G., Bennie, D.T., Servos, M., Ternes, T.A., Hirsch, R., 2003a.** Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (12), 2872–2880.
- 68- Andreozzi, R., Paxeus, N., Campanella, L., Lyberatos, G., Garric, J., Battilotti, M., 2003a.** Ecotoxicological assessment and removal technologies for pharmaceuticals in wastewater.
- 69- Strenn, B., Clara, M., Gans, O., Kreuzinger, N., 2004.** Carbamazepine, diclofenac, ibuprofen and bezafibrate—investigations on the behaviour of selected pharmaceuticals during wastewater treatment. *Water Sci. Technol.* 50 (5), 269–276.
- 70- Tauxe-Wuersch, A., de Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J., 2005.** Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res.* 39, 1761–1772.
- 71- Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T., 2005.** Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res.* 39, 2654–2664.
- 72- Garrison, A.W., Pope, J.D., Allen, F.R., 1976.** Analysis of organic compounds in domestic wastewater. In: Keith, C.H. (Ed.), *Identification and Analysis of Organic Pollutants in Water*. Ann Arbor Science, Michigan, USA, pp. 517–566.

- 73- **Richardson, M.L., Bowron, J.M.**, 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 37 (1), 1–12.
- 74- **Rogers, I.H., Birtwell, I.K., Kruznyski, G.M.**, 1986. Organic extractables in municipal wastewater of Vancouver, British Columbia. *Water Pollut. Res. J. Can.* 21, 187–204.
- 75- **Stumpf, M., Ternes, T., Haberer, K., Seel, P., Baumann, W.**, 1996. Nachweis von Arzneimittelrückständen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser* 86, 291–303.
- 76- **Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M.**, 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environ. Sci. Technol.* 32 (11), 1549–1558.
- 77- **Wiegel, S., Aulinger, A., Brockmeyer, R., Harms, H., Löffler, J., Reincke, H., Schmidt, R., Stachel, B., Von Tumpling, W., Wanke, A.**, 2004. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere* 57 (2), 107–126.
- 78- **Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K.V.**, 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333 (1–3), 167–184.
- 79- **Gross, B., Montgomery-Brown, J., Naumann, A., Reinhard, M.**, 2004. Occurrence and fate of pharmaceuticals and alkylphenol ethoxylate metabolites in an effluent-dominated river and wetland. *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (9), 2074–2083.
- 80- **Weigel, S., Kuhlmann, J., Huhnerfuss, H.**, 2002. Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. *Sci. Total Environ.* 295 (1–3), 131–141.
- 81- **Thomas, K.V., Hilton, M.J.**, 2004. The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. *Mar. Pollut. Bull.* 49 (5/6), 436–444.
- 82- **Kümmerer, K.**, 2004. *Pharmaceuticals in the Environment*, 2nd ed. *Springer-Verlag*.
- 83- **Putschew, A., Wischnack, S., Jekel, M.**, 2000. Occurrence of triiodinated X-ray contrast agents in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 255 (1–3), 129–134.
- 84- **Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., Fanelli, R.**, 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet* 355 (9217), 1789–1790.
- 85- **Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Henderson, A.K., Reissman, D.B.**, 2004. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Sci. Total Environ.* 329 (1–3), 99–113.
- 86- **Reddersen, K., Heberer, T., Dünnebier, U.**, 2002. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground and drinking water. *Chemosphere* 49 (6), 539–544.



- 87-Sedlak, D.L., Pinkston, K.E.,** 2001. Factors affecting the concentrations of pharmaceuticals released to the aquatic environment. *Water Res.*, 56–64.
- 88- Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D.,** 1999. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 33 (15), 2529–2535.
- 89- Bound, J.P., Voulvoulis, N.,** 2004. Pharmaceuticals in the aquatic environment—a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere* 56 (11), 1143–1155.
- 90- Heberer, Th., Verstraeten, I.M., Meyer, M.T., Mechlunski, A., Reddersen, K.,** 2001. Occurrence, and Fate of Pharmaceuticals During Bank Filtration-Preliminary Results from Investigations in Germany and The United States. *Water Resources Update* 120: 4-17.
- 91-Radix,P., Leonard, M., Papantoniou, C., Roman, G., Saouter, E., Gallotti-Schmitt, S., Thiebaud, H., Vasseur, P.,** 2000. Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria and invertebrates assessed with sixteen chemicals, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47:2, 186-194.
- 92-Castillo,M., Alonso, M.C., Riu, J., Reinke, M., Klöter, G., Dizer, H., Fischer, B., Hansen,P.D., Barcelo, D.,** 2001. Identification of cytotoxic compounds in European wastewaters during a field experiment. *Analytica Chimica Acta*, 426:2, 265-277.
- 93-Cronin, M.T.D. and Schultz, T.W.,** 1998. Structure-Toxicity Relationships for Three Mechanisms of Action of Toxicity to *Vibrio fischeri*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 39:1, 65-69.
- 94-Parvez,S.,Venkataraman, C., Mukherji,S.,** 2006. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, *Environment International*, 32:2, 256-268.
- 95-Gutiérrez, M.,Etxebarria, J., Fuentes, L.,** 2002. Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox<sup>®</sup> and activated sludge oxygen uptake inhibition, *Waste Research*, 36:4, 919-924.
- 96-Ren S., and Frymier P.D.,** 2002. Estimating the toxicities of organic chemicals to bioluminescent bacteria and activated sludge, *Water Research*, 36:17,4406-4414.
- 97- <http://www.envirocentre.ie>
- 98-Pardos, M., Benninhoff, C., Guéguen, C., Thomas, R., Dobrowolski, J., Dominik, J.,** 1999. Acute toxicity assessment of Polish (waste) water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox<sup>®</sup> test, *Science of The Total Environment*, 243, 141-148.
- 99-Reemtsma, T.,Putschew A., Jekel, M.,** 1999. Industrial wastewater analysis: a toxicity-directed approach *Waste Management*, 19:2, 181-188.

- 100- Wang, C., Wang, Y., Kiefer, F., Yediler, A., Wang, Z., Kettrup, A., 2003.** Ecotoxicological and chemical characterization of selected treatment process effluents of municipal sewage treatment plant, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56:2, 211-217.
- 101-Ricco,G., Tomei, M.C., Ramadori, R., Laera, G., 2004.** Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox<sup>®</sup>, *Water Research*, 38:8, 2103-2110.
- 102-Fulladosa, E.,Murat, J.C., Martinez, M., Villaescusa, I., 2005.** Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fisheri* bacteria, *Chemosphere*, 60:1, 43-48.
- 103-Bundy, K.J. and Mowat, F., 1996.** Speciation studies and toxicity assessment of complex heavy metal mixtures, Proceedings of the HSRC/WERC Joint Conference on the Environment ([www.p2pays.org/ref/02/01934.pdf](http://www.p2pays.org/ref/02/01934.pdf)).
- 104-Ren S., and Frymier P.D., 2003.** Kinetics of the toxicity of metals to luminescent bacteria, *Advances in Environmental Research*, 7:2, 537-547
- 105-Jennings, V.L.K., Rayner-Brandes, M., Bird, D.J., 2001.** Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fisheri*): a comparison of three commercial systems, *Water Research*, 35:1,3448-3456.
- 106-Calace, N.,Ciardullo, S., Petronio, B.M., Pietrantonio, M., Abbondanzi, F., Campisi, T., Cardellicchio, N., 2005.** Influence of chemical parameters (heavy metals, organic matter, sulphur and nitrogen) on toxicity of sediments from the Mar Piccolo(Taranto, Ionian Sea, Italy), *Microchemical Journal*, 79:1-2, 243-248.
- 107-AZUR Environmental (1998)** Microtox test Manual. AZUR Environmental Carlsbad, California USA. <http://www.azurenv.com/iback/manual.exe>
- 108- ISO 11348-3 Water Quality—Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischerii* (Luminescent bacteria test) - Part 3: Method using freeze-dried bacteria (April 1999).**
- 109-DIN 38412, 1991.** Determination of the inhibitory effect of wastewater on the light emission of Photobacterium phosphoresum (test using preserved luminescent bacteria), Part 34.
- 110-Hernando, M.D., Fernandez-Alba, A.R., Tauler, R., Barcelo, D., 2005.** Toxicity assays applied to wastewater treatment, *Talanta*, 65:2, 358-366.
- 111-McCarty,LS., MacKay, D.(1993)** Enhancing ecotoxicological modelling and assessment *Environmental Science and Technology* 27, 1719-1728.
- 112-Rand, G.M., Wells, P.G., McCarty, L.S. (1995)** Introduction to aquatic toxicology. In: Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment, Second edition, Rand G.M (ed.) *Taylor&Francis*, Washington D.C. 3-7
- 113-Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D., (2006).** Ecotoxicology of human

- pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 76, 112-159.
- 114- Sanderson, H., Johnson, D.J., Reitsma, T., Brain, R.A., Wilson, C.J., Solomon, K.R.,** 2004. Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surfacewaters. *Regul. Toxicol. Pharm.* 39 (2), 158–183.
- 115- Cleuvers, M.,** 2005. Initial risk assessment for three [beta]-blockers found in the aquatic environment. *Chemosphere* 59 (2), 199–205.
- 116- Webb, S.F.,** 2001. A data based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals II: aquatic risk characterisation. In: Kummerer, K. (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment. Sources, Fate, Effects and Risks. Springer-Verlag, Berlin*, pp. 319–343.
- 117- Cleuvers, M.,** 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.* 142 (3), 185–194.
- 118- Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Frayse, B., Paxeus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., Garric, J.,** 2004. Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (5), 1344–1354.
- 119- Calleja, M.C., Persoone, G., Geladi, P.,** 1994. Comparative acute toxicity of the first 50 multicenter evaluation of in-vitro cytotoxicity chemicals to aquatic non-vertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26 (1), 69–78.
- 120-Lilius, H., Isomaa, B., Holmstrom, T.,** 1994. A comparison of the toxicity of 50 reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 30 (1), 47-60.
- 121- Henschel, K.P., Wenzel, A., Diedrich, M., Fliedner, A.,** 1997. Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. *Regul. Toxicol. Pharm.* 25 (3), 220–225.
- 122-Fong, P.P.,** 1998. Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin reuptake inhibitors. *Biol. Bull.* 194 (2), 143–149.
- 123- Huggett, D.B., Brooks, B.W., Peterson, B., Foran, C.M., Schlenk, D.,** 2002. Toxicity of selected beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43 (2), 229–235.
- 124- Brooks, B.W., Foran, C.M., Richards, S.M., Weston, J., Turner, P.K., Stanley, J.K., Solomon, K.R., Slattery, M., La Point, T.W.,** 2003. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. *Toxicol. Lett.* 142 (3), 169–183.
- 125- Cleuvers, M.,** 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Eco-toxicol. Environ. Safe.* 59 (3), 309–315.
- 126-Villegas-Navarro, A., Rosas-L, E., Reyes, J.L.,** 2003. The heart of *Daphnia magna*: effects of four cardioactive drugs. *Comp. Biochem. Phys. C* 136 (2), 127–134.

- 127- Henry, T.B., Kwon, J.-W., Armbrust, K.L., Black, M.C., 2004.** Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (9), 2229–2233.
- 128- Hernando, M.D., Petrovic, M., Fernandez-Alba, A.R., Barcelo, D., 2004.** Analysis by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for beta-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *J. Chromatogr. A* 1046 (1/2), 133–140.
- 129- Marques, C.R., Abrantes, N., Goncalves, F., 2004a.** Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans. I. Acute and chronic effects of acetylsalicylic acid. *Environ. Toxicol.* 19 (5), 518–526.
- 130-Marques, C.R., Abrantes, N., Goncalves, F., 2004b.** Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans. II. Acute and chronic effects of acetylsalicylic acid metabolites. *Environ. Toxicol.* 19 (5), 527–540. Meissl, H., Ekstrom, P., 1991. Action of gamma-aminobutyric-acid (Gaba) in the isolated photosensory pineal organ. *Brain Res.* 562 (1), 71–78.
- 131-Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L., 2004.** Acute and chronic effects of clofibrate and clofibric acid on the enzymes acetylcholinesterase, lactate dehydrogenase and catalase of the mosquitofish, *Gambusia holbrooki*. *Chemosphere* 57 (11), 1581–1589.
- 132-Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtiera, L., Rubino, M., 2005.** Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Sci. Total Environ.* 348 (1–3), 93–101.
- 133- Sanderson, H., Johnson, D.J., Wilson, C.J., Brain, R.A., Solomon, K.R., 2003.** Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. *Toxicol. Lett.* 144 (3), 383–395.
- 134- Hansch, C., Hoekman, D., Leo, A., Zhang, L., Li, P., 1995.** The expanding role of quantitative structure–activity relationships (QSAR) in toxicology. *Toxicol. Lett.* 79 (1–3), 45–53.
- 135-Avdeef, A., Box, K.J., Comer, J.E.A., Hibbert, C., Tam, K.Y., 1998.** pH-metric logP 10. Determination of liposomal membrane–water partition coefficients of ionizable drugs. *Pharmaceut. Res.* 15 (2), 209–215.
- 136- Rogers, H. R., 1996.** Sources, Behaviour And Fate Of Organic Contaminants During Sewage Treatment And In Sewage Sludges, *Sci. Total Environ.* 185, 3– 26, .
- 137- Poseidon., 2005.** Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products In Sewage and Drinking Water Facilities To Improve The Indirect Potable Water Reuse. Final Report, EU’s Fifth Framework Programme, European Commission, 2005, 58 pp.
- 138- Fent, K., Looser, P.W., 1995.** Bioaccumulation and bioavailability of tributyltin chloride:

- influence of pH and humic acids. *Water Res.* 29 (7), 1631–1637.
- 139- Looser, P.W., Bertschi, S., Fent, K.,** 1998. Bioconcentration and bioavailability of organotin compounds: influence of pH and humic substances. *Appl. Organometall. Chem.* 12 (8/9), 601-611.
- 140- Fent Karl, Weston Anna A. , Camnada Daniel,** 2005. Ecotoxicology of Human Pharmaceuticals A Review *Aquatic Toxicology* 76 (2006) 122–159.
- 141- Ferrari, B., Paxeus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., Garric, J.,** 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 55 (3), 359–370.
- 142- Tribskorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Kohler, H.-R., Schwaiger, J.,** 2004. Toxic effects of the non-steroidal antiinflammatory drug diclofenac. Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 68 (2), 151–166.
- 143- Altenburger, R., Backhaus, T., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L.H.,** 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 2341–2347.
- 144- Backhaus, T., Altenburger, R., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L.H.,** 2000. Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*, *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 2348\_ 2356.
- 145- Faust, M., Altenburger, R., Backhaus, T., Blanck, H., Boedeker, W., Gramatica, P., Hamer, V., Scholze, M., Vighi, M., Grimme, L.H.,** 2001. Predicting the joint algal toxicity of multicomponent s -triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquatic Toxicol.* 56, 13\_ 32.
- 146- Loewe, S., Muischnek, H.,** 1926. U̇ber Kombinationswirkungen. 1. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. Naunyn- Schmiedebergs Archiv fu̇r experimentelle *Pathologie and Pharmakologie* 114, 313\_ 326.
- 147- Bliss, C.I.,** 1939. The toxicity of poisons applied jointly. *Annu. Rev. Appl. Biol.* 26, 585\_ 615.
- 148- Straub, J.O.,** 2001. Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January. *Toxicol. Lett.* 135 (3), 231–237.
- 149-TBMM Raporu,** 2002. Ergene Nehri'ndeki Kirliliğin ve Çevreye Etkilerinin Araştırılarak Alınması Gereken Önlemlerin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan (10/2,6) Esas Numaralı Meclis Araştırması Komisyonu Raporu.
- 150-Mert, E.,** 2007. Ergene havzasında yer altı suyu kirlenmesi ve kaynakta kirliliğin değerlendirilmesi, Bitirme Ödevi Namık Kemal Üniversitesi Çorlu Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çorlu.

- 151-**Göncü,M.,2000.**Ergene havzasında yer alan yüzeysel su ve yer altı sularının mevcut kirlilik durumları ve kirlenmenin önlenmesi yönünde çözüm önerileri, Bitirme Ödevi, T.Ü.Çorlu Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çorlu.
- 152- <http://www.tekirdag-gsim.gov.tr/tekirdag-cografyasi.html>
- 153- [www.hgk.mil.tr/haritalar\\_projeler/tematik\\_har/fiziki.htm](http://www.hgk.mil.tr/haritalar_projeler/tematik_har/fiziki.htm))
- 154- <http://maps.google.com/>
- 155-**Çorlu Çevre Master Plan Raporu**, 1996, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- 156- [www.corlutso.com](http://www.corlutso.com)
- 157- **Orcan,S.F.**, 2003. Sinan dede Deresinin kirlilik profili, Bitirme Ödevi, T.Ü.Çorlu Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çorlu.
- 158-**Dokur, S.S., 2001.** Tekirdağ ili sınırları içinde yer alan sanayi kuruluşlarının havzadaki kirliliğe katkıları bakımından değerlendirilmesi, Bitirme Ödevi, T.Ü.Çorlu Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çorlu.
- 159- **Ergene Havzası Çevre Düzeni Planı**, 2001, Trakya Üniversitesi.
- 160- [www.dsi.gov.tr](http://www.dsi.gov.tr)
- 161-**APHA**,1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 18<sup>th</sup> Ed., *American Public Health Association*, Washington D.C.
- 162-**SM**, Standart Methods For Examination of Water and Wastewater, 21th Edition, 2005.
- 163- [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)
- 164- [http://www.santafarma.com/tr/\\_pdf/DicloflamDraje.pdf](http://www.santafarma.com/tr/_pdf/DicloflamDraje.pdf)
- 165- [www.farma.hacettepe.edu.tr/akademik/meslekbilimleri/farmakimya/dersnotlari/](http://www.farma.hacettepe.edu.tr/akademik/meslekbilimleri/farmakimya/dersnotlari/)
- 166- [www.biltek.tubitak.gov.tr](http://www.biltek.tubitak.gov.tr)
- 167- <http://yosefw.wordpress.com/2008/05/22/256/>
- 168- **Soriano T, Jurado C, Menendez M, Repetto M.** Improved Solid-Phase Extraction Method for Systematic Toxicological Analysis in Biological Fluids. *J Anal Toxicol.*, **2001**; 25: 137-143.
- 169-**Juhler RK.** Optimized method for the determination of organophosphorus pesticides in meat and fatty matrices. *J Chromatogr A*, 1997; 786: 145-153.
- 170-**Kuo TL.** Solid Phase Extraction and Spectrophotometric Determination of Paraquat in

Biological Fluid. *TIAFT/SOFT International Meeting*. USA, 1994: 96-101.

- 171- Lacossie E, Marquet P, Gaulier JM, Dreyfuss MF, Lachatre G.** Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. *Forensic Science International*, 2001; 121: 116-125.
- 172-Söylemezoğlu T, Çeçen ŞŞ.** Katı faz ekstraksiyon yöntemi ve analitik toksikolojide uygulanması. Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Yayını (1), Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi,2003.
- 173-Baker, J.T., 2002,** “Solid Phase Extraction Application Note”, EN-502, USA.
- 174-Sebo’k., A, Vasanits-Zsigrai., A, Helenkar.,A, Zaray., Gy, Molnar-Perl.,I** Multiresidue analysis of pollutants as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 2288–2301.
- 175-Onorati, F., Mecozzi, M., (2003).** “Effects of two diluents in the Microtox toxicity bioassay with marine sediments”, *Chemosphere*, 54, 679-687.
- 176-ASTMD 5660 (1996)** Standard Test Method for Assessing the Microbial Detoxification of Chemically Contaminated Water and Soil Using a Toxicity Test with a Luminescent Marine Bacterium. American Society for Testing and Materials International. 1-9.
- 177- Robards, K., Haddad, P.R., Jackson, R. E., 1994,** “Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods”, Academic Press, London, England.
- 178- Taylor, J. K., 1987,** “Quality Assurance of Chemical Measurements”, Lewis Publisher, Chelsea, England.
- 179- Manoli, E., Samara, C., 1999,** “Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: Sources, occurrence and analysis”, *Trends in Anal. Chem.*, 18 (6), 417-428.
- 180- Lerch, O., Zinn, P., Gotze, H. J., 2000,** *Automation of the GC/MS analysis of mineral oil contaminations in water*“, *Fresen. J. Anal. Chem.*, 367 (2), 195-200.
- 181- Togola., A and Budzinski., H.** Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC-MS. *Anal.Bioanal Chem* 388 (2007) 627-635.
- 182- Miyata, H., Aozasa, O., Ohta, S., 1993,** “Estimated daily intakes of PCDD, PCDF and non-ortho coplanar PCBs via drinking water in Japan”, *Chemosphere* 26 (8) :1527-1536.
- 183- Long, E.R., Sloane, G.M., Carr, R.S., Scott, K.J., Thusby, G.B., Wade, T.L., 1996.**

Sediment Toxicity in Boston Harbor: Magnitude, Extent and Relationships with Chemical Toxicants, 144 pp. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 96, Silver Spring, Maryland.

- 184- Lin, W. C.; Chen, H. C.; Ding, W. H.** Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry *Journal of Chromatography A* 2005, 1065, 279-285.
- 185- Koutsouba, V., Heberer, T., Fuhrmann, B., Schmidt-Baumler, K., Tsipi, D., Hiskia, A.,** 2003. Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 51, 69-75.
- 186- Petrovic, M., Gonzales, S., Barcelo, D.,** 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends Anal. Chem.* 22, 685-696.
- 187-Rodriguez, I., Quintana, J.B., Carpinteiro, J., Carro, A.M., Lorenzo, R.A., Cela, R.,** 2003. Determination of acidic drugs in sewage water by GC-MS as tert-butyldimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr. A* 985, 265-274.
- 188- Boyd, G.R., Palmeri, J.M., Zhang, S., Grimm, D.A.,** 2004. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) in stormwater canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. *Sci. Total Environ.* 333, 137-148.
- 189-Metcalf, C.D., Miao, X.S., Koenig, B.G., Struger, J.,** 2003b. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (12), 2881-2889.
- 190- Winkler, M., Lawrence, J.R., Neu, T.R.,** 2001. Selective Degradation of Ibuprofen And Clofibric Acid in Two Model River Biofilm Systems. *Wat. Res.* 35 (13): 3197-3205.
- 191- Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L.,** 2002. Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environ. Sci. Technol.* 36, 4998-5004.
- 192- Ra, J.S., Oh, S.Y., Lee, B.C., Kim, S.D.** The Effect of Suspended Particles Coated by Humic Acid on The Toxicity of Pharmaceuticals, estrogens and phenolic compounds. *Environment International*, E1-01669;9.
- 193- Ayscough, N.J., Fawell, J., Franklin, G., Young, W.,** 2000. Review of Human Pharmaceuticals in the Environment. R&D Technical Report P390. *Environment Agency*, Bristol.
- 194- Ashton, D., Hilton, M., Thomas, KV,** 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167-184.
- 195- Paxéus N.** 1996. Organic pollutants in the effluents of large wastewater treatment plants



in Sweden. *Water Research* 30: 1115-1122.

- 196- Poiger, T.; Buser, H. R.; Muller, M. D.; Balmer, M. E.; Buerge, I. J.** Occurrence and fate of organic micropollutants in the environment: Regional mass balances and source apportioning in surface waters based on laboratory incubation studies in soil and water, monitoring, and computer modeling *Chimia* 2003, 57, 492-498.
- 197- Dietrich, D.R., Webb, S.F., Petry, T.,** 2002. Hot spot pollutants: pharmaceuticals in the environment. *Toxicol. Lett.* 131, 1-3.
- 198- Brun, G. L.; Bernier, M.; Losier, R.; Doe, K.; Jackman, P.; Lee, H. B.** Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canadian sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic aquatic toxicity *Environmental Toxicology and Chemistry* 2006, 25, 2163-2176.
- 199- Kosjek, T.; Heath, E.; Krbavcic, A.** Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples *Environment International* 2005, 31, 679-685.
- 200-Boyd RG, Reemtsma H, Grirn DA, Mitra S.** 2003. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface water and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *The Science of The Total Environment* 311: 135-149.
- 201- Boyd GR, Grimm DA.** 2001. Occurrence of pharmaceutical contaminants and screening of treatment alternatives for southeastern Louisiana. *Annals of the New York Academy of Sciences* 948:80-89.
- 202-Drewes JE, Heberer T, Reddersen K.** 2002. Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse. *Water Science and Technology* 46:73-80.
- 203- Ollers S, Singer HP, Fksler P, Miiller SR.** 2001. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *Journal of Chromatography A* 911:225-234.

## RESİMLEMELER LİSTESİ

### TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Farklı Ülkeler için öngörölmüş Analjezik, Antipiretik ve Anti-enflamatuar ilaçların tüketim.....	8
<b>Tablo 2.</b> 2007-2008 Yıllarında Tedavi Gruplarına Göre İlaç Tüketimi. ....	9
<b>Tablo 3.</b> Antienflamatuvar İlaçların farklı ölkelerde, farklı mevsimlerde ve farklı donanımlarla ölçölmüş giriş ve çıkış konsantrasyonları, maksimum giderimleri. ....	16
<b>Tablo 4.</b> Non-Steroid Antienflamatuvar, Analjezik ve Antipiretik ilaçların çevrede bulunuşları. . ....	21
<b>Tablo 5.</b> Ekotoksosite testlerinde kullanılan bazı türler. . ....	23
<b>Tablo 6.</b> 2010 Yılı için Evsel ve Hastane Atıksu Miktar ve Yükleri. . ....	39
<b>Tablo 7.</b> 2010 Yılı için Endüstriyel Atıksu Miktar ve Karakterizasyonun Bölgesel Dağılımı. ....	40
<b>Tablo 8.</b> Katı Faz ekstraksiyon kartuşlarının şartlandırılması ve elüsyonu.....	53
<b>Tablo 9.</b> ToxAlert 100®’de akut toksisite ölçümü için hazırlanan numuneler .....	55
<b>Tablo 10.</b> Su numunelerinin fiziko-kimyasal parametreleri.....	58
<b>Tablo 11.</b> Çalışma bileşenlerinin çeşitli verileri (tayin sınırları, kantitasyon sınırı, alıkonma zamanı, moleküler ağırlık, derivatizasyon sonrası m/z oranları, lineerlik).....	60
<b>Tablo 12.</b> İNKDS Bileşenlerinin farklı pH’larda geri kazanım oranları.....	61
<b>Tablo 13.</b> İNKDS bileşiklerinin pH 2’de farklı katı faz ekstraksiyon kartuşları kullanılarak elde edilen geri kazanım % oranları.....	62

<b>Tablo 14.</b> İbuprofen, Naproksen ve Diklofenak bileşiklerinin derivarizasyonu için çeşitli sililleme reaktiflerinin ve reaksiyon şartlarının etkinlikleri. ....	63
<b>Tablo 15.</b> Evsel atık su ve yüzey sularındaki İNKDS Bileşikleri .....	64
<b>Tablo 16.</b> İlaç bileşenlerinin Regresyon ve Probit Analizi sonucu EC50 ve TUs değerleri.....	65

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Organizmada bir ilaç molekülünün olası yazgısı.....	6
<b>Şekil 2.</b> Veterinerlik ve tıpta tıbbi maddelerin sucul çevreye giriş yolları. ....	12
<b>Şekil 3.</b> Bazı farmasötik ilaçların hidrofilik ve hidrofobik sınıflandırması. ....	13
<b>Şekil 4.</b> Atık su (muamele edilmiş)(a) ve yüzey sularındaki (b) ilaçların konsantrasyonları. ....	19
<b>Şekil 5.</b> Değişik terapatik sınıflardaki 24 farklı ilacın organizmalar üzerindeki akut toksisitesi. Farklı organizmalar, farklı bitiş noktaları ve tesir süreleri için EC <sub>50</sub> ve LC <sub>50</sub> için değerleri.....	28
<b>Şekil 6.</b> NSAİ İlaçların akut toksisiteleri (LC50) ve hesaplanmış octanol-su bölme katsayıları (logK <sub>ow</sub> ) arasındaki ilişki . 48 saat sonra Daphnia Magnanın hareketsiz kaldığı durum akut toksisitesi. ....	29
<b>Şekil 7.</b> Farklı terapatik sınıflarda ait 10 farklı ilacın kronik toksisiteleri. Farklı sucul organizmalar için etki sürelerine ve farklı sonlanımları göre en düşük etki konsantrasyonları (LOEC) ve gözlenmemiş etki konsantrasyonları (NOEC).....	31
<b>Şekil 8.</b> Ergene Nehri ve Kolları. ....	37
<b>Şekil 9.</b> Numune alma noktaları .....	39
<b>Şekil 10.</b> Çorlu Deresi Velimeşe İstasyonu.....	41
<b>Şekil 11.</b> Çorlu Deresi S4 istasyonu uzun yıllar aylık ortalama debi değerleri. ....	42
<b>Şekil 12.</b> Ergene Nehri S5 istasyonu. ....	42
<b>Şekil 13.</b> Ergene Nehri S5 istasyonu uzun yıllar aylık ortalama debi değerleri.....	43
<b>Şekil 14.</b> Diklofenak'ın Özellikleri ve Kimyasal Yapısı. ....	45
<b>Şekil 15.</b> Diklofenak'ın 4-Hidroksi metabolitine dönüşümü. ....	46
<b>Şekil 16.</b> Naproksen'ın Özellikleri ve Kimyasal Yapısı. ....	46
<b>Şekil 17.</b> Naproksen'in Metabolizasyonu. ....	47
<b>Şekil 18.</b> İbuprofen'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı. ....	48

<b>Şekil 19.</b> Salisilik Asit'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı.....	49
<b>Şekil 20.</b> Asetil salisilik asitin metabolizasyonu sonucu Salisilik asit oluşumu .....	49
<b>Şekil 21.</b> Kafein'in Özellikleri ve Kimyasal Yapısı.....	50
<b>Şekil 22.</b> Kafein'in Metabolitleri.....	51
<b>Şekil 23.</b> Oasis HLB Katı Faz Ekstraksiyonu .....	53
<b>Şekil 24.</b> Mikrodalga Fırın.....	54
<b>Şekil 25.</b> Toxalert 100 <sup>®</sup> Merck .....	56
<b>Şekil 26.</b> Toxalert 100 <sup>®</sup> Merck için hazne pozisyonları.....	56
<b>Şekil 27.</b> Optimum GC-MS şartlarında İbuprofen (R <sub>T</sub> ;7,06) , Naproksen (R <sub>T</sub> ;9,03), Kafein (R <sub>T</sub> ;8,32), Diklofenak (R <sub>T</sub> ;10,35) ve Salisilik asit (R <sub>T</sub> ;6,56) bileşiklerinin derivatizasyon sonrası toplam iyon kromatogramı (SIM modu).....	59
<b>Şekil 28.</b> Farklı pH'larda geri kazanım oranları (%). .....	61
<b>Şekil 29.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak İbuprofen bileşiğinin % biyoluminesans inhibisyon grafiği.....	66
<b>Şekil 30.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Naproksen bileşiğinin % biyoluminesans inhibisyon grafiği.....	66
<b>Şekil 31.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Diklofenak bileşiğinin % biyoluminesans inhibisyon grafiği.....	67
<b>Şekil 32.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Salisilik asit bileşiğinin % biyoluminesans inhibisyon grafiği.....	67
<b>Şekil 33.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak İNDS (İBU+NAP+DİK+SA) bileşiğinin % biyoluminesans inhibisyon grafiği.....	68
<b>Şekil 34.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Salisilik asit bileşiğinin Probit Analizi.....	68
<b>Şekil 35.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Diklofenak bileşiğinin Probit Analizi .....	69
<b>Şekil 36.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak Naproksen bileşiğinin Probit Analizi.....	69
<b>Şekil 37.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak İbuprofen bileşiğinin Probit Analizi .....	70
<b>Şekil 38.</b> ToxAlert 100 <sup>®</sup> kullanılarak İNDS bileşiğinin Probit Analizi.....	70

## ÖZGEÇMİŞ

01.02.1974 İskilip/Çorum doğumluyum. İlköğretim ve lise eğitimimi İstanbul'da sırasıyla Halil Bedii İlköğretim Okulu ve Kandilli Kız Lisesinde tamamladım. 1996 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldum. 1996 yılında İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü DETAM Moleküler Tıp Anabilim Dalında Yüksek Lisansımı tamamladım. 2001 yılında Trakya Üniversitesi Çorlu Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünde Öğretim Görevlisi olarak göreve başladım. 2005 yılında Trakya Üniversitesi, Çorlu Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünde yüksek lisansımı tamamladıktan sonra 2005 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toksikoloji Anabilim Dalında doktora programına başladım. Halen Namık Kemal Üniversitesi Çorlu Mühendislik Fakültesi Çorlu Mühendislik Fakültesinde Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

## **EKLER**