

ATMOSFER KÖKENLİ AĞIR METAL DEPOZİSYONUNUN EKOTOKSİK ETKİLERİ

Sibel Ç. ÇİZMECİOĞLU^{1(*)}, Ayşe BOZLAKER¹, Aysen MÜEZZİNOĞLU²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova/İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Buca/İzmir

ÖZET

Bu çalışmada, atmosferde bulunan bazı ağır metallerin su ve toprak ortamına kuru çökme ile geçtiği düşünülen miktarının bu ortamlarda meydana getireceği toksik etki düzeyi araştırılmıştır. Bu amaçla İzmir atmosferinde tespit edilmiş olan kuru depozisyon akıları kullanılarak hesap edilen su içi konsantrasyonlarına sahip sentetik metal çözeltilerine LUMISTox[®] toksisite testi uygulanmıştır. Böylece İzmir’de havadan çökme yoluyla gelebilecek ağır metal seviyelerinin neden olabileceği toksik etkiler, bu ağır metallere ait EC₅₀ değerleri yardımıyla belirlenmiştir. Sonuçlar, atmosfer kökenli olan krom, kadmiyum, bakır, kurşun, çinko, nikel ağır metalleri arasında su ortamında en çok zehirlilik etkisinin kromdan ve en az etkinin ise nikelden ileri geldiğini göstermiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Ekotoksosite, ağır metaller, toksik hava kirleticiler, LUMISTox[®], kuru çökme.

ABSTRACT

In this research, synthetic water solutions simulating the water bodies receiving dry depositions of some airborne heavy metals were tested for the toxic effects using LUMISTox[®] toxicity procedure in Izmir. The deposition fluxes of the six heavy metals tested were previously determined. These metals are chromium, cadmium, copper, lead, zinc and nickel. EC₅₀ values of these heavy metals were determined individually in separate synthetic solutions. Results indicated that the most and least toxic heavy metals depositing from the air in Izmir onto water and soil bodies are chromium and nickel, respectively.

KEYWORDS: Ecotoxicity, heavy metals, toxic air pollutants, LUMISTox[®], dry deposition.

GİRİŞ

Bu araştırma kapsamında, İzmir havasının taşıdığı bazı ağır metallere dayalı olan toksik etkiler araştırılmaktadır. Dünyada yapılmış olan çevresel ekotoksosite çalışmaları daha çok su ve toprak örneklerini esas almaktadır. Bu nedenle havadan gelen etkilerin saptanarak ekotoksikoloji alanındaki bilgi birikimine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

* sibalcukurlu@hotmail.com

Atmosfer kökenli toksik kirleticilerin başlıcaları ağır metaller, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, poliklorlu bifeniller, dioksin ve difuranlar, pestisitler ve diğer organik bileşikler olarak sıralanabilir.

Bu kirletici maddeler, atmosferden su veya toprak ortamına kuru ya da ıslak depozisyon mekanizmalarıyla çökeltmektedir. Kuru çökeltme kara ya da su yüzeylerine difüzyon, gravite ve yapışma yoluyla meydana gelmektedir. Kuru çökeltme miktarları nem ve yağış başta olmak üzere meteorolojik şartlar, atmosferdeki konsantrasyonlar, yüzey şekli, yüzey şartları ve parçacıkların çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri ile belirlenir (Golomb vd., 1994).

Ağır metaller madencilik, imalat sanayi ve yağlayıcı madde üretimi gibi çeşitli işlemler sonucunda oluşarak çevreye salınmaktadır. Petrol kökenli ürünler ve ham petrol, bozunmalarının güç olması ve endüstriyel alanda çok yaygın olarak kullanılmalarından dolayı çevresel toksisitenin önemli bir kaynağıdır. Özellikle metal tuzlarına ve petrol kalıntılarına günümüzde doğrudan kirlenme etkisi altında bulunmayan ortamlarda bile rastlanmaktadır (Landis ve Yu, 1999).

İzmir atmosferinde ağır metal konsantrasyonunun çok yüksek düzeyde olduğu bugüne dek yapılmış olan çalışmalarla belirlenmiştir. Örneğin, İzmir'in Aliğa Sanayi Bölgesi'ndeki bir demir çelik fabrikası çevresindeki topraklarda kurşun, kadmiyum, çinko, krom, mangan ve demir konsantrasyonunu belirlemek üzere yapılan analizler sonucunda örneklerin çoğunda metal düzeyleri kabul edilebilir sınırların ve/veya doğal değerlerin üzerinde bulunmuştur. Sonuçlar, demir-çelik fabrikasının 2,5 km çevresini kapsayan çalışma alanının oldukça kirli olduğunu göstermiştir (Henden vd., 1997). Bayram ve arkadaşları (1997) tarafından yine Aliğa Sanayi Bölgesi'nde atmosferde bulunan parçacık (partikül) maddelerdeki demir, çinko ve bakır gibi bazı ağır metallerin konsantrasyonlarını tespit etmeye yönelik olarak yapılan bir çalışma; havada demirin en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu, bu metali sırasıyla çinko ve bakırın izlediğini göstermiştir. Benzeri bir tespit 2002 yılında tamamlanan ve İzmir-Buca'daki Kaynaklar Kampusu'nda yapılan ağır metal ölçümlerinde de bulunmuştur (Bozlaker, 2002).

Ağır metaller özellikle sulu çözeltilerdeki iyonik formlarında toksik etkiye sahip olmaktadır. Ağır metaller bu proses sırasında yapısal proteinler, enzimler, nükleik asitler gibi canlı hücresel bileşenlere bağlanmakta ve onların fonksiyonlarına engel olabilmektedir. İnsanlarda bu metallerin bazıları çok düşük miktarlarda dahi çeşitli sağlık etkilerine neden olabilmektedir. Bununla birlikte bakır ve çinko gibi bazı metaller aynı zamanda gerekli besin maddeleridir ve biyolojik etkileri su içindeki seviyelerine bağlı olup ayrıca belirlenmelidir (Landis ve Yu, 1999).

Atıkları ve çevredeki etkileri değerlendiren çeşitli toksisite testleri mevcuttur. Bunlar, akut toksisite testleri, sub-letal toksisite testleri, letal toksisite testleri, yenileme testleri ve mutasyon testleri olarak ele alınır. Toksisiteyi izlemek üzere, çoğunlukla, düşük maliyetli, kısa ömürlü ve test kimyasallarına karşı aktifliği yüksek olan mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Maddelerin toksisitesi, organizma popülasyonlarının LC₅₀, EC₅₀ ya da IC₅₀ ile ifade edildiği gibi (Conneli ve Miller, 1984), son zamanlarda toksisite indeksi (TI) adı verilen bir gösterge yardımı ile değerlendirilmektedir (Mowat ve Bundy, 2002). LC₅₀; su içerisindeki madde konsantrasyonunun test organizmalarının %50'sinin ölümüne neden olan konsantrasyonların medyan değerini; EC₅₀; su içerisindeki madde konsantrasyonunun test organizmalarının %50'sini öldürerek ya da

öldürmeden etkileyen konsantrasyonların medyan değerini, IC₅₀ ise yeniden yapılanma, büyüme ve soluma gibi değişiklikleri ölçmek için kullanılan ve %50 etkiyi gösteren inhibisyon konsantrasyonunu tanımlamaktadır. TI çözeltide bulunan madde konsantrasyonunun o maddenin EC₅₀ değerine oranıdır.

Ekotoksikolojik testlerden biri olan LUMISTox[®] testi, endüstriyel ve evsel atıkların, sızıntı sularının, yüzey sularının karışım bölgelerinin, kimyasalların, sediment ve topraktan açığa çıkan kirlenici maddelerin toksisitelerinin belirlenmesi için uygundur. LUMISTox[®]; düşük maliyetli, kısa sürede sonuç alınabilen ve güvenilir sonuçlar veren bir biyosınama yöntemidir (Dr. Lange, 1994). Toksikiteyi belirlemek üzere geliştirilen Microtox[®] testi ve LUMISTox[®] sistemleri test organizması olarak *Photobacterium phoshoreum* veya diğer adıyla *Vibrio fischeri* adlı luminesant (ışık veren) bakteriyi kullanmaktadır. Bu bakteriler deniz ortamında yaşayan ve ışık saçan canlılardır. Ölüm halinde ise ışık saçılması durmaktadır.

Mowat ve Bundy (2002) Microtox[®] yöntemiyle ağır metallerle yaptıkları çalışma sonunda, 15 dakikalık maruziyet sonrasında buldukları EC₅₀ değerlerine bakarak; en toksik ağır metalin civa(II) olduğunu ve bu metali sırasıyla kurşun(II), çinko(II), bakır(II), bakır(I), arsenik(III), arsenik(V), kadmiyum(II), krom(VI) ve krom(III)'ün izlediğini belirlemişlerdir. Test mikroorganizması olarak *Photobacterium phoshoreum*'un kullanıldığı bir diğer çalışmada ise, ağır metallerin toksisite yönünden en yüksekte en düşüğe doğru bakır, çinko, kurşun, nikel, krom ve kadmiyum şeklinde sıralandığı belirlenmiştir (Isenberg ve Bulich, 1994). Codina ve arkadaşları (1998) tarafından anaerobik çürütme prosesindeki ağır metal toksisitesini belirlemek üzere çeşitli organizmalar değerlendirilmiş, en yüksek duyarlılığı *Pseudomonas fluorescens* büyüme inhibisyonu testleri göstermiştir. Bu çalışmada Microtox[®] testi kullanılarak yapılan çalışma sonucunda metallerin toksisite sıralamasının bakır>çinko>kadmiyum> krom> nikel şeklinde olduğu belirlenmiştir. Üç Avrupa komşu ülkesinde tek, karışım ve endüstriyel atıkların toksisitesini belirlemek üzere yapılan değerlendirmelerde ağır metallerden krom, kadmiyum, bakır ve çinkonun IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda en duyarlı test organizmalarının *Vibrio fischeri* olduğu tespit edilmiştir. Microtox[®] test sistemi ile yapılan toksisite testi ile elde edilen bilgiler en toksik ağır metalin bakır olduğunu, bu metalden sonra çinko, kadmiyum ve krom şeklinde toksisitenin azaldığını göstermiştir (Dalzell vd., 2002). İnce ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada ayırık halde ve kombinasyonlar halinde çinko, bakır, kobalt ve krom iyonlarının toksisitesini belirlemek için, Microtox[®] ve duckweed testleri ve test organizması olarak ise sırasıyla *Vibrio fischeri* ve *Lemna minor* kullanılmıştır. Her bir test kombinasyonunda etkileşimlerin şekli değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda Microtox[®] testine göre en toksik ağır metalin bakır olduğu, bu metali sırasıyla çinko, kobalt ve kromun izlediği belirlenmiştir. Demir(III), kadmiyum, bakır, civa, kurşun ve çinko üzerinde DTPA ve EDTA'nın neden olduğu kompleksleşmenin etkisini incelemek üzere yapılmış olan bir başka çalışmada biyo-luminesans esasına dayanan Microtox[®] testinde mikroorganizma olarak *Photobacterium phoshoreum* toksisite göstergesi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda adı geçen şelatlaştırıcıların etkisi ile demirin toksisitesinin arttığı, bakır, kadmiyum ve civanın toksisitesinin pek değişmediği, çinko ve kurşunun toksisitesinin ise önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda ağır metallerin toksisite yönünden sıralamasının çinko>kadmiyum>kurşun>civa>kurşun>demir şeklinde olduğu görülmüştür (Sillanpaa ve Oikari, 1996). Görüldüğü gibi aynı test ile yapılan farklı çalışmalarda farklı EC₅₀ değerleri bulunmuş,

üstelik hangi metalin diğerlerinden daha çok toksik olduğu konusunda bile uzlaşmaya varılamamıştır.

Bu konuyla ilgili son yapılan yayınlarda EC₅₀ değerinin ortamdaki pek çok değişkene ama en çok ağır metalin kendi konsantrasyonuna bağlı olduğu ortaya konmaktadır. Yüksek sayılabilecek ppm seviyeli konsantrasyonlar (ki bunlar atıksu ve toprak sızıntı sularında bulunur) büyük olasılıkla Microtox® testinde suya eklenen yüksek klorürlerin etkisiyle klorür çökmesine uğrayarak ortamdaki uzaklaşmakta, böylece çözünürlük çarpanı küçük olan metal klorürler daha az toksik gibi davranabilmektedir (Tatara vd., 1999). Kadmiyum gibi bazı ağır metallere karşı ise bu bakterilerin özel bir savunma mekanizması geliştirdiği ve yüksek toksisiteye karşı bir metal iyonu çeperi yaratarak difüzyonu engellediği, bu yüzden yüksek kadmiyum seviyelerinde beklenmeyen düşük toksisite ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Villaescusa vd., 1996).

Ortamdaki ağır metal konsantrasyonlarının havadan depozisyonla gelenlerin yarattığı gibi eser miktarda olması halinde bol klorürlü ortamda bile klorür çökmesi görülmeyeceği belirlenmiştir. Bu nedenle ppb mertebelerinde ağır metal içeren test uygulamalarında bulunan EC₅₀ değerlerinin olsun, bunlara bakarak oluşturulan toksisite listesinin olsun gerçeğe daha uygun olacağı düşünülmüştür.

MATERYAL ve METOD

Kuru Depozisyon Akısına Dayalı Ağır Metal Çözelti Konsantrasyonlarının Tespiti

İzmir'de daha önce yapılan bir çalışmada havadan gelen ağır metallerin akıları belirlenmişti (Bozlaker, 2002). Bununla ilgili örnekleme İzmir'in yaklaşık olarak 10 km güneydoğudaki Kaynaklar Yerleşkesi'nde bulunan Dokuz Eylül Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nün 4 katlı binasının çatısında yapılmıştı. Bölgenin 2 km güneybatısında yerleşim alanları ve 0,5 km güneyinde ise otoyol bulunmaktadır. Bahsi geçen çalışmada alınan 24 kuru depozisyon örneği Eylül 2000 ve Haziran 2001 döneminde toplanmıştır. Tüm örnekler gündüz saatlerine aittir ve ortalama örnekleme süresi 8 saattir. Kış dönemindeki örnekler, hafta içi gündüz saatlerinde binanın kalorifer bacasının etkisinden kurtulabilmek için hafta sonu günlerde alınmıştır. Örnekleme yağışsız günlerde yapılmıştır.

Parçacık fazına ait kuru çökme akısı bir kuru çökme plakası kullanılarak ölçülmüştür. Kullanılan plaka polivinilklorürden (PVC) yapılmıştır. Bu plaka 22,2 cm uzunluğa, 7,5 cm genişliğe, 0,5 cm kalınlığa ve rüzgar gülü aracılığıyla rüzgara yöneltilmiş sivri bir uca (<10⁰) sahiptir. Beş kuru çökme plakası ve şerit (toplam 378 cm² yüzey) kullanılmıştır. Plaka üzerine yerleştirilen Mylar şerit şeklinde kesilmiş (12,8*7,5 cm), sonra şeritler %5 nitrik asit ve deiyonize su ile çalkalanmıştır. Temizlenmiş Mylar şeritleri küçük bir boya fırçası kullanılarak Apezion L gresle kaplanmıştır. Şeritin greslenmiş kısmının boyutu 12,8*5,9 cm'dir. Şeritler kuru çökme plakasına monte edilmiştir.

Kuru çökme plakaları taşıma sırasında dış hava ile temasa izin verilmeksizin kendi kaplarında alana taşınmıştır. Örneklemeden sonra kullanılan plakalar alüminyum kaplı kutulara yerleştirilmiştir. Sonra saklama kutusu taşıma sırasında hava ile temasa izin verilmeden kendi örtüsü ile örtülmüştür. Örnekler laboratuvara götürülmüş ve analiz edilinceye kadar oda

sıcaklığında ve karanlıkta saklanmıştır. Plakalar temizlenmiş ve sonraki örnelemeye kadar kaplarında korunmuştur.

Örnek hazırlama ve ekstraksiyon için kullanılan tüm malzemeler herhangi bir iz element kirlenmesini önlemek amacıyla kullanılmadan önce deterjanla yıkanmış, saf su ile çalkalanmış, birkaç saat %5'lik nitrik asit çözeltisi içerisinde bekletilmiş, deiyonize su ile çalkalanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Şerit örnekleri VARIAN 220 FS grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrofotometresinde analiz edilmiştir.

LUMISTox® Testi İçin Ağır Metal Çözeltilerinin Hazırlanması

Ağır metal çözeltileri yüksek saflıklı ağır metal tuzlarından hazırlanmıştır (Tablo 1). Metallerin stok çözeltileri 1 L'lik balonlarda 1 g metal tuzunun distile suda çözülmesiyle hazırlanmış, bunlardan gerekli seyreltmelerle istenen çözeltiler elde edilmiştir.

Tablo 1. Ağır metal çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan ağır metal tuzlarının özellikleri

Kirletici	Ağır metal tuzu	Kaynak	Saflık
Krom	$K_2Cr_2O_7$ (Potasyum dikromat)	Hopkin&Williams	%99,7
Kadmiyum	$CdCl_2.H_2O$ (Kadmiyum klorür)	Riedel-De Haen Ag	%99
Bakır	$CuCl$ (Bakır(I) klorür)	Merck	-
Kurşun	$Pb(NO_3)_2$ (Kurşun(II) nitrat)	Merck	%99
Çinko	$ZnCl_2$ (Çinko klorür)	Merck	-
Nikel	$NiSO_4.7H_2O$ (Nikel(II) sülfat)	Merck	%97

Tablo 2'de görülen ağır metal kuru çökeltme seviyeleri, toksisite deneyinde kullanılan değerler için esas alınmıştır. Bu kuru çökeltme akıları ($mgm^{-2}gün^{-1}$), su yüzeyi örnekleycisinin (Odabaşı, 1998) yüzey alanı (m^2) ve bu örnekleycide sirküle edilen 2,5 L su hacmi esas alınarak bir günlük bir numuneye ait çözeltideki mgL^{-1} birimine dönüştürülmüştür. Bu değerlerden bir maksimum, bir orta ve bir minimum konsantrasyon değeri, toksisite testinde kullanılmak üzere belirlenmiştir. Ayrıca literatürde yer alan konsantrasyon aralıkları dikkate alınarak yüksek konsantrasyonlu ağır metal çözeltileri hazırlanmış ve her bir ağır metal için bir maksimum, bir orta ve bir minimum konsantrasyon seçilerek toksisite testi uygulanmıştır.

Tablo 2. Kuru çökeltme plakaları kullanılarak belirlenen ağır metal kuru çökeltme akıları (ort ± SS) (Bozlaker, 2002)

Ağır Metal	Kuru çökeltme akısı, $\text{mgm}^{-2}\text{d}^{-1}$
Krom	0,016±0,017
Kadmiyum	0,024±0,029
Bakır	0,124±0,090
Kurşun	0,220±0,210
Çinko	1,910±0,860
Nikel	0,129±0,104

LUMISTox® Test Prosedürü

Bu çalışmada krom, kadmiyum, bakır, kurşun, çinko ve nikelin havadan gelebilecek konsantrasyonlarının toksisiteyi LUMISTox® testi kullanılarak bulunmuştur. LUMISTox® Test Sistemi'nde örneklerin toksisitesini belirlemek üzere deniz bakterisinin özel bir cinsi olan sıvılaştırılmış-kurutulmuş formda *Photobacterium phosphoreum* diğer adıyla *Vibrio fischeri* kullanılmaktadır. Bu bakteri, normal metabolik prosesi sonucunda yeterli oksijene sahip ortamda enzimatik reaksiyonlarla sürekli olarak mavi-yeşil ışık yaymakta ve bu ışık özel şartlar altında fotosensörler yardımı ile ölçülebilmektedir. LUMISTox® luminesant bakteri *Photobacterium phosphoreum*, Almanya'daki Dr.Lange şirketinden sağlanmıştır. Bakterilerin getirilmesi, saklanması ve raf ömrü ilgili olarak firmanın önerilerine aynen uyulmuştur. Sistem fonksiyonlarının doğru olarak çalışıp çalışmadığını kontrol etmek üzere her bir bakteri paketinin 30. dakika sonunda vermesi beklenen bir inhibisyon oranı bulunmaktadır. Çalışılan bakteri paketi için bu oranın 4 mgL^{-1} lik $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ referans çözeltisi kullanıldığında %42 olması öngörülmüş olup, çalışma sonucunda bu oranın yaklaşık olarak %45 olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin tuz içeriği 15 mL çözelti için 0,3 g NaCl kullanılarak %2'ye ayarlanmıştır. Bir tüp reaktivasyon çözeltisi önce oda sıcaklığında 2 dakika süreyle su banyosunda eritilmiş ve kuvvetli bir şekilde çalkalanmıştır. Bir tüp bakteri 0,5 mL reaktivasyon çözeltisinin eklenmesi ile reaktif hale getirilmiş ve 15 dakikalık bekleme süresinden sonra tüp içerisine geri kalan reaktivasyon çözeltisi ilave edilmiştir. Şahit, metal çözeltileri ve referans çözelti için gerekli sayıda ölçüm küveti hazırlanarak numaralandırılmıştır. Bakteriyel süspansiyondan 0,5 mL bir ölçüm küvetine transfer edilerek inkübasyon gözüne yerleştirilmiş ve 0 dakika ölçümü yapılmıştır. Küvet çıkarıldıktan sonra numara sırasına karşılık gelen 0,5 mL metal çözeltisi, şahit ya da referans çözelti eklenmiştir.

Test kimyasallarının eklenmesinden sonraki 5.,15. ve 30. dakikalardaki ışık yoğunluğundaki azalmalar, kimyasalların eklenmediği paralel test tüpleriyle kıyaslanarak toksisitenin bir ölçüsü olarak değerlendirilmektedir (Dr. Lange, 1994). Bu çalışma kapsamında ışık yoğunluğundaki azalmalar LUMISmini ölçüm cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm cihazının kalibrasyonu otomatik olarak yapılmaktadır. Toksikite testlerinin yapılması sırasında kullanım kılavuzunda yer alan test prosedürü izlenmiştir (Dr.Lange, 1994). Deney sırasında öngörülen ortam sıcaklığı $15 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ 'dir.

LUMISTox[®] toksisite testine tabi tutulacak olan örnekler için önerilen pH, 5,5-8,0 aralığındadır. Bu çalışmada toksisite testi uygulanan örnekler 5,5-6,0 pH değerine sahip olduğundan pH ayarlaması yapılmamıştır. Ren ve Frymier (2002), pH ayarlamasının bazı ağır metallerin çökmesine neden olduğunu ve bu nedenle ekotoksikite testini bozduğunu belirtmektedir. Metal çözeltilerinin test sırasında doğru iyonik formda olup olmadığını ve değerliklerinin değişip değişmediğini belirleyebilmek amacıyla Eh ve pH değerleri kullanılarak metal klorürlerin çözünürlükleri tespit edilmiştir. Hiç bir metalin metal klorür çökmesi riskinin bulunmadığı anlaşılmıştır.

EC₅₀ Hesaplama Yöntemi

Işık emisyonunda bir test maddesinin yüzde inhibisyonunun hesaplanması amacıyla Dr.Lange (1994) tarafından verilen prosedür izlenmiştir. İnhibisyon (%H) 5.,15. ve 30. dakikalara ait maruz kalma sürelerinden sonra şu şekilde hesaplanmaktadır:

$$\%H = [(I_{ct} - I_{ts}) / I_{ct}] \times 100 \quad (1)$$

burada I_{ct} test çözeltisinin düzeltilmiş ışık yoğunluğu ve I_{ts} 5.,15. ve 30. dakikaların sonunda ağır metal çözeltisinden yayılan ışıktır. Düzeltme, fK ile gösterilen ve I_{tb}/I_{ob} şeklinde ifade edilen düzeltme faktörü kullanılarak yapılmaktadır. Burada I_{ob} sıfır anında ve I_{tb} ise t anında kontrol çözeltisi tarafından yayılan ışıktır. I_{ct} ise şu şekilde hesaplanmaktadır:

$$I_{ct} = fK \times I_{os} \quad (2)$$

Burada I_{os} test çözeltisinin sıfır anındaki ışık emisyonudur.

EC₅₀ değerlerini hesaplamak amacıyla öncelikle gamma (Γ) değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Literatürde Jennings vd. (2002) ve Mowat ve Bundy (2002) tarafından önerilen iki farklı gamma formülü ve gamma-konsantrasyon denklemi bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında her iki formül de kullanılarak elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Jennings ve arkadaşları (2002) tarafından tanımlanan Γ formülü denklem 3'te gösterilmektedir. Her bir deney için elde edilen ışık okumaları, denklem 1 ile hesaplanan yüzde inhibisyon verileri kullanılarak Γ değerlerine dönüştürülmektedir. Mowat ve Bundy (2002) tarafından önerilen gamma denklemi ise denklem 4'te tanımlanmaktadır.

$$\text{gamma} = \%H / (100 - \% H) \quad (3)$$

$$\text{gamma} = (I_0 - I_t) / I_t \quad (4)$$

Burada I_0 başlangıçtaki ışık miktarı ve I_t maruz kalınan t süresi sonunda kalan ışıktır.

EC₅₀ değerinin hesaplanması için Jennings ve arkadaşları (2002) tarafından geliştirilen gamma-konsantrasyon denklemi şu şekilde gösterilmektedir:

$$\text{Ln } y = m \text{ Ln } x + c \quad (5)$$

Burada y gamma değeri, x konsantrasyon, m ve c sırasıyla eğim ve ordinatı kesim değeridir.

Mowat ve Bundy (2002) tarafından ise EC_{50} değerinin hesaplanmasında aşağıdaki ifade kullanılmıştır:

$$\log C_i = m_i \log \Gamma_i + \log EC_{50i} \quad (6)$$

Burada C_i (i) ağır metalinin konsantrasyonunu, Γ_i gamma değerini ve m_i ise eğimi ifade etmektedir.

Yukarıda 5 ve 6'da verilen denklemlerin ışığında konsantrasyona karşılık gamma değerleri için çizilen eğrilerden her bir ağır metale ait EC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

SONUÇLAR

Tablo 3, LUMISTox[®] toksisite testi aracılığıyla saptanan EC_{50} değerlerini ve %95 güven aralığındaki korelasyon katsayılarını göstermektedir. Hesaplarda kullanılan iki ayrı formüle göre hesaplanan gamma değerleri arasında bir fark olmamasına karşılık, hesaplanan EC_{50} değerleri arasında görülen farkın bazı ağır metallerin gamma ve konsantrasyon değerleri arasındaki istatistiksel ilişkinin zayıf olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Tablo 3. İki farklı formüle göre hesaplanan altı ağır metale ait EC_{50} değerleri

Ağır Metal	Çalışılan konsantrasyon aralığı, mgL^{-1}	EC_{50} , mgL^{-1} (Jennings vd., 2002 EC_{50} formülü)	r	EC_{50} , mgL^{-1} (Mowat ve Bundy, 2002 EC_{50} formülü)	r
Krom	0,002-0,0125	0,015	0,98	0,015	0,98
Kadmiyum	0,0025-0,025	0,055	0,89	0,050	0,90
Bakır	0,0025-0,04	0,130	0,74	0,070	0,73
Kurşun	0,001-0,1	0,190	0,67	0,080	0,67
Çinko	0,08-1,0	7,050	0,92	5,190	0,91
Nikel	0,02-0,125	20,310	0,99	21,690	0,99

Çalışma sonucunda elde edilen EC_{50} değerleri en toksik olandan en az toksik olana doğru sıralandığında, toksisite sıralamasının krom>kadmiyum>bakır>kurşun>çinko>nikel şeklinde olduğu görülmektedir.

SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada kuru çökeltme akıları belirlenen altı ağır metalin meydana getirebileceği toksik etkiler LUMISTox[®] toksisite testi kullanılarak test edilmiş, çalışma sonucunda en toksik ağır metalin krom ve en az toksik ağır metalin ise nikel olduğu belirlenmiştir. Bu bilgi genelde bilinen metal toksisite bilgilerine uygundur. Ayrıca EC_{50} değerlerinin hesaplanmasında ağır metallerin

çalışılan konsantrasyon aralıklarının dikkatle seçilmesi gerektiği ve tercihen düşük konsantrasyonlarla çalışmanın uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışma sonuçlarını değerlendirebilmek amacıyla ağır metallerin toksisitesi ile ilgili olarak yapılmış olan çalışmalar sonucunda elde edilen EC₅₀ değerleri ve çalışılan konsantrasyon aralığındaki değerler kullanılmıştır (Tablo 4). Ağır metaller için literatürde LUMISTox[®] testi uygulaması bulunmadığından, sonuçlar Microtox[®] test sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4. Literatürde yer alan ağır metal konsantrasyon aralıkları ve EC₅₀ değerleri

Ağır Metal	Konsantrasyon aralığı, mgL ⁻¹	Literatürden alınan EC ₅₀ değerleri, mgL ⁻¹	Kaynak
Krom	50-500	47,60	Codina vd., 1998
	10-1000	66,40±8,05	Mowat ve Bundy, 2002
	60-80	35,20	Ince vd., 1999
	20-60	39,00 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
Kadmiyum	50-500	40,80	Codina vd., 1998
	10-1000	59,30±6,92	Mowat ve Bundy, 2002
	1-4	1,91 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
	0,2-1	0,30	Sillanpaa ve Oikari, 1996
	Belirtilmemiş	34,4	Chen vd., 1996
Bakır	50-500	0,6	Codina vd., 1998
	0,5-2	0,3	Ince vd., 1999
	10-1000	2,74±1,26	Mowat ve Bundy, 2002
	3-15	9,53 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
	Belirtilmemiş	1,02	Sillanpaa ve Oikari, 1996
Kurşun	10-1000	0,427±0,178	Mowat ve Bundy, 2002
	4-30	3,73 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
	Belirtilmemiş	0,37	Sillanpaa ve Oikari, 1996
	Belirtilmemiş	1,84	Chen vd., 1996
Çinko	50-250	14,50	Codina vd., 1998
	2-8	1,62	Ince vd., 1999
	10-1000	2,62±0,24	Mowat ve Bundy, 2002
	2-5	1,89 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
	Belirtilmemiş	0,26	Sillanpaa ve Oikari, 1996
Nikel	3-20	96,25 (5 min)	Ren ve Frymier, 2003
	50-1000	170,80	Codina vd., 1998
	Belirtilmemiş	8,00	Isenberg ve Bulich, 1994

Literatürde rastlanan sonuçlara göre ağır metallerin toksisite sıralaması kurşun>bakır>çinko>nikel>kadmiyum>krom şeklindedir. Bu sıralamaya göre krom ve kadmiyumun en az zehirli ağır metaller olduğu görülmektedir. Oysa bu doğru olamaz; tüm çevresel kirleticiler içerisinde en toksik olduğu bilinen krom ve kadmiyum için böyle bir değerlendirme hatalı olur. Microtox[®]

testi için yüksek kadmiyum konsantrasyonuna sahip çözeltiler kullanan araştırmacıların elde ettiği sonuçlar, beklenmedik bir şekilde bakteriler üzerinde oldukça düşük toksik etkiler olduğunu göstermektedir. Bazı yazarlar ise Microtox[®] testinin, *Pseudomonas fluorescens* gibi diğer mikrobiyal testler kadar kadmiyuma karşı duyarlı olmadığını savunmaktadırlar (Codina vd., 1998). Kadmiyumun toksisitesindeki azalma, gram-negatif bakterinin en dış tabakasında yer alan ve kadmiyumu adsorplayan özel koruyucu bir bölgesi bulunan ekzopolisakkaritlerin (EPS) varlığı ile açıklanabilmektedir. Bu nedenle kadmiyum, bakterinin iç ve dış duvarları arasındaki koruyucu hidrofobik alanda yüksek konsantrasyonlarda birikmektedir. Bu da hücre içerisindeki alanlar doygun hale geldiğinden ve daha fazla adsorpsiyon önlediğinden, gram-negatif bakteriyi çevresel ortamlarda kadmiyuma karşı daha dayanıklı hale getirmektedir (Mowat ve Bundy, 2002).

Literatürde yer alan konsantrasyon aralıkları dikkate alınarak hazırlanan yüksek konsantrasyonlu ağır metal çözeltilerine LUMISTox[®] toksisite testi uygulanması sonucunda belirlenen EC₅₀ değerleri, düşük konsantrasyon aralığında çalışılarak hesaplanan ve Tablo 4'te yer alan EC₅₀ değerleri ile karşılaştırılmıştır. Tablo 5, gamma ve konsantrasyon arasındaki ilişkinin derecesini gösteren korelasyon katsayıları ile birlikte bu çalışmada kullanılan düşük ve yüksek konsantrasyonlu çözeltilerden elde edilen ağır metal toksisite değerlerini özetlemektedir. Sonuçlar, Tablo 5'te verilen yüksek düzeyli %50 inhibisyon konsantrasyonlarının literatürde yer alan EC₅₀ değerlerine yakın olduğunu göstermektedir.

Tablo 5. Yüksek ve düşük konsantrasyonlu çözeltiler için bu çalışmada elde edilen EC₅₀ değerleri

Ağır Metal	Konsantrasyon aralığı, mgL ⁻¹	EC ₅₀ değerleri, mgL ⁻¹	r
Krom	Düşük aralık: 0,002-0,0125	0,015	0,98
	Yüksek aralık: 60-80	10,34	0,92
Kadmiyum	Düşük aralık: 0,0025-0,025	0,05	0,90
	Yüksek aralık: 10-100	389,96	0,99
Bakır	Düşük aralık: 0,0025-0,04	0,10	0,74
	Yüksek aralık: 1,00-2,00	81,16	0,99
Kurşun	Düşük aralık: 0,001-0,1	0,14	0,67
	Yüksek aralık: 2,00-30,00	azalan çizgi	negatif korelasyon
Çinko	Düşük aralık: 0,08-1,00	6,12	0,92
	Yüksek aralık: 4,00-8,00	56,86	0,88
Nikel	Düşük aralık: 0,02-0,125	21,00	0,99
	Yüksek aralık: 5,00-20,00	uygun olmayan eğim	0,34

Krom ve kadmiyum için bu çalışmada yüksek konsantrasyonlu çözeltiler hazırlanarak belirlenen EC₅₀ değerleri tıpkı literatürdeki gibi inandırıcı olmayan düşük toksisite göstermiştir. Bakır, düşük aralıklı konsantrasyona sahip çözeltilerle çalışıldığında daha fazla toksik, literatürle karşılaştırıldığında ise yüksek aralıklı konsantrasyonlarda daha az toksik bulunmuştur. Kurşunun toksisitesini değerlendirmek üzere düşük konsantrasyon aralıklı çözeltiler kullanıldığında literatürde yer alan değerlerle iyi bir uyum olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada kurşun, yüksek

konsantrasyon aralığında artan konsantrasyonlarla çalışıldığında ise azalan bir eğime sahip olmuştur. Çinko düşük konsantrasyonlu testlere göre dahi literatürde verilenden çok daha az toksik ve bu çalışmada kullanılan yüksek aralıklı testlere göre daha az toksik bulunmuştur. Nikel literatür datası aralığında oldukça güvenilir bir toksisiteye sahiptir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda inhibisyona karşı konsantrasyon ilişkisinin korelasyon katsayısı değeri çok düşüktür.

TARTIŞMA

Ağır metallerin toksik etkileri ile ilgili olarak sulu çözeltilerdeki metallerin iyonik türlerinin farklı toksik özelliklere sahip olduğuna dikkat etmek gerekir. Yüksek ağır metal konsantrasyonu içeren çözeltilerde tuzla birlikte eklenen klorürün ortamdaki fazlalığı metallerin klorür halinde çökmesine neden olabilmektedir. Bu metal klorür ürünlerinin çözeltilerin Eh ve pH değerlerindeki çözünürlük çarpanı aşıldığında bahsi geçen etki çok önemli hale gelmekte, kristallenerek süspansiyon haline gelen veya çökelen ağır metaller çözeltilerdeki toksik etkisini kaybetmektedir. Gümüş ve kurşunun klorür tuzları diğerlerinden daha düşük çözünürlük çarpanına sahip olduğundan, bu metaller için özellikle dikkatli olmak gereği vardır. Ancak bu çalışmada metallerin son derece düşük (ppb mertebesinde) konsantrasyonları kullanılmış olduğundan çözünürlük dengesinin çok altında kalınmış ve böylece bu tür hatalara yol açılmamıştır.

Ayrıca metallerin aynı çözeltilerde birlikte bulunmaları da hem kimyasal, hem toksikolojik açıdan farklı sonuçlar meydana getirebilmektedir. Bu nedenle sentetik çözeltilerin altı metalin hepsini birlikte içerdiği durumlarla ilgili olarak da deneylere devam edilmektedir. Ayrıca çalışmalar, kuru çökme ile su yüzeyine çöken miktarları belirleme ve doğadan doğrudan alınan su yüzeyi örnekleri üzerinde toksisite testleri yaparak da sürdürülmektedir.

KAYNAKLAR

Bayram, A., Yılmaz, Z., Odabaşı, M., Müezzinoğlu, A. Levels of some heavy metals suspended particulate matter in and around Aliğa Industrial Region, Izmir, Turkey. *Air Quality Management at Urban, Regional and Global Scales, Environmental Research Forum*, 7-8 280-285, 1997.

Bozlaker, A. Trace metals in airborne particles and their dry deposition in Izmir. MS Thesis, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey, 2002.

Chen, C.Y., Huang, J.B., Wang, Y.J., Huang, J.C. ve Huang, J.W. An evaluation of the microbial toxicity of effluents from petrochemical plants. 2nd Specialized Conference on Pretreatment of Industrial Wastewaters, 65-72, Athens Greece, 1996.

Codina, J.C., Munoz, M.A., Cazorla, F.M., Perez-Garcia, A., Morinigo, M.A. ve Vicente, A. The inhibition of methanogenic activity from anaerobic domestic sludges as a simple toxicity bioassay, *Water Research*, 32 (4) 1338-1342, 1998.

Conneli, D.W. ve Miller, G.J. Chemistry and Ecotoxicology of Pollution. School of Australian Environmental Studies, Griffith University, 1984.

Dalzell, D.J.B., Alte, S., Aspichueta, E., Sota, A., Etxebarria, J., Gutierrez, M., Hoffman, C.C., Sales, D., Obst, U. ve Christofi, N. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge, *Chemosphere*, 47 535-545, 2002.

Dr. Lange. LUMISTox Operating Manual, Berlin, 1994.

Henden, E., Türkan, İ., Kıvılcım, Ş. ve Çelik, Ü. Investigation of soil pollution levels for lead, cadmium, zinc, chromium, nickel, manganese and iron around iron-steel industry near Izmir, Turkey. *Air Quality Management at Urban, Regional and Global Scales, Environmental Research Forum*, 7-8 295-298, 1997.

Isenberg, D.L. ve Bulich, A. Environmental monitoring use of luminescent bacteria. Chemical Safety, 211-226, VCH, 1994.

İnce, N.H., Dirilgen, N., Apikyan, I.G., Tezcanlı, G. ve Üstün, B. Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: a statistical approach, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 36 4 365-372, 1999.

Jennings, V.L.K., Rayner-Brandes, M.H. ve Bird, D.J. Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): a comparison of three commercial systems, *Water Research*, 35 (14) 3448-3456, 2001.

Landis, W.G. ve Yu, M.H. Introduction to Environmental Toxicology, Impacts on Chemicals Upon Ecological Systems, Lewis Publishers, CRC Press, USA, 1999.

Mowat, F.S. ve Bundy, K.J. Experimental and mathematical/computational assessment of the acute toxicity of chemical mixtures from the Microtox® assay. *Advances in Environmental Research*, 6 547-558, 2002.

Odabaşı, M. The measurement of PAH dry deposition and air-water exchange with the water surface sampler. Ph.D. Thesis, Illinois Institute of Technology, Chicago, IL, 1998.

Ren, S. ve Frymier, P.D. Kinetics of the toxicity of metals to luminescent bacteria, *Advances in Environmental Research*, 7 537-547, 2003.

Sillanpaa, M. ve Oikari, A. Assessing the impact of complexation by EDTA and DTPA on heavy metal toxicity using Microtox bioassay, *Chemosphere*, 32 (8) 1485-1497, 1996.

Tatara, C.P., Newman, M.C., McCloskey, J.T. ve Williams, P.I. Use of ion characteristics to predict relative toxicity of mono- di- and trivalent metal ions: *Caenorhabditis elegans* LC₅₀, *Aquatic Toxicity*, 42 255-269, 1998.

Villaescusa, I., Martinez, M., Pilar, M. ve Murat, J.C. Toxicity of cadmium species on luminescent bacteria, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 354 566-570, 1996.