

TÜRKİYE ATOM ENERJİSİ KURUMU
ÇEKMECE NÜKLEER ARAŞTIRMA VE EĞİTİM MERKEZİ

Ç.N.A.E.M. A.R- 276

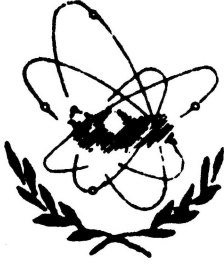
**KARADENİZ'e ATILAN VARİLLERLE İLGİLİ
TOKSİSİTE ÇALIŞMASI¹**

S.Topcuoğlu, N.Saygı, N.Erentürk ve A.M.Bulut

RADYOBİYOLOJİ BÖLÜMÜ

NİSAN 1990

P.K. 1, Hava Alanı, İstanbul



TÜRKİYE ATOM ENERJİSİ KURUMU
ÇEKMECE NÜKLEER ARAŞTIRMA VE EĞİTİM MERKEZİ

Ç.N.A.E.M. A.R- 276

**KARADENİZ'e ATILAN VARİLLERLE İLGİLİ
TOKSİSİTE ÇALIŞMASI¹**

S.Topcuoğlu, N.Saygı, N.Erentürk ve A.M.Bulut

RADYOBİYOLOJİ BÖLÜMÜ

NİSAN 1990

P. K. 1, Hava Alanı, İstanbul

**KARADENİZ'e ATILAN VARİLLERLE İLGİLİ
TOKSİSİTE ÇALIŞMASI'**

S.TOPCUOĞLU, N.SAYGI, N.ERENTÖRK ve A.M.BULUT
Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi

ÖZET

Çok sayıda kimyasal atık içeren varillerin özellikle Batı Karadeniz kıyılarına atıldığı bir gerçektir. Başta DDT ve PCV gibi organik kirleticiler içeren bu varillerden alınan üç ayrı örnekte Pb, Cd, Cu, Co, Mn, Zn, Fe, Ag, Mg ve Cr gibi bazı inorganik atıkların seviyeleri bu araştırma ile ortaya konulmaktadır. Yapılan analizler sonunda kurşunun 518 µg/g, bakırın 76 µg/g, manganın 95 µg/g, çinkonun 320 µg/g, demirin 407 µg/g, ve magnezyumun 50 µg/g'a eriştiği saptanmıştır. Çok sayıdaki varil örneğinde radyoaktivite analizleri de yapılmış ve herhangi bir aktiviteye rastlanmamıştır.

Deniz ortamına giren metal atıklar geniş yüzey/volüm oranına sahip olan ve biyolojik kütlede en büyük bölümünü içeren fitoplankton organizmalar tarafından çok hızlı bir şekilde alınmaktadır. Belli bir konsantrasyondan sonra bu organizmaların çoğalmaları durmakta ve letal etkiler görülebilmektedir. Fitoplankton organizmalarının hızla azalmaları veya ölmeleri zooplankton organizmalarının çoğalmasını önlemektedir. Sonuçta ekonomik değeri olan balıklarımız besin bulamayarak ya iyi gelişmemekte veya yeterince çoğalamamaktadır.

Biz bu çalışmamızda ayrıca bazı fitoplankton türlerinde varillerden çıkan kimyasal atıkların öldürücü konsantrasyonlarını (LC₅₀) da ortaya koymaktayız.

ABSTRACT

It is clear that considerable number of barrels including chemical wastes are especially dropped into the Black sea. In this study, the levels of inorganic wastes such as Pb, Cd, Cu, Co, Zn, Fe, Ag, Mg and Cr were determined in three different samples taken from these barrels mainly contain organic pollutants like DDT and PCV. The amounts of Pb, Cu, Mn, Zn, Fe, and Mg have been measured as 518 µg/g, 76 µg/g, 95 µg/g, 320 µg/g, 407 µg/g and 50 µg/g respectively. Radioactivity measurements have also been investigated on the many barrel samples and no activity were observed.

These metals introduced into the marine environment are taken rapidly by phytoplanktonic organisms whose large s/v ratio and the biggest part of biological mass. Reproduction of these organisms do cease and some lethal effects can be seen over the certain concentration. Rapid decreasing or dying of phytoplanktonic organisms prevent the reproduction of zooplanktonic organisms. Consequently fish in the sea are not able to grow properly and reproduce due to lack of food.

In addition to that, we have tried to put the lethal levels of concentration of chemical wastes in the barrels on the phytoplanktonic organisms.

1. Bu çalışma 5. Ulusal Nükleer Tıp ve Biyolojik Bilimler Kongresinde sunulmuştur.

GİRİŞ

Son 1-2 yıl içinde özellikle Batı Karadeniz kıyılarında çok sayıda varillere rastlanmıştır. Bu varillerin büyük bir bölümü boşalmış olarak veya çok az miktarda kimyasal atık madde içerir şekilde bulunmuştur. Diğer bir bölümünde dolu olarak kıyılarda bulunarak muhafaza altına alınmıştır. Bu varillerin ortaya çıkması ile ilk akla gelen konu, radyoaktif madde içerip içermediği hususudur. Bu amaçla da çıkan varillerin hemen hemen tamamında radyoaktivite ölçümleri ve analizleri yapılmıştır. Radyoaktivite ölçüm sonuçları göstermiştir ki, varillerden çıkan bütün kimyasal atık örnekleri herhangi bir radyonüklid veya radyasyon içermemektedir.

Başta denizel alg türlerinde olmak üzere çeşitli balık örneklerinde radyoaktivite analizleri merkezimizde özellikle Çernobil nükleer kazası sonrası sürekli ve periyodik olarak yapılmış ve yapılmaktadır (1,2). Çevre Genel Müdürlüğü Karadeniz sahillerine vuran varillerle ilgili analiz sonuçlarını ve bu maddelerin insan ve çevre sağlığı üzerindeki etkilerini bir basın bülteni olarak açıklamıştır. Bu açıklamada, DDT ve türevleri, benzenin klorlu türevleri, toluen, etil-asetat, benzoik-asit, metil-siklo-pentanon, trimetil-benzon, boya ve tekstil atığı gibi maddelere yer verilmiştir. Bu kimyasal kirletici atık maddelerin konsantrasyonları hakkında elimizde bir bilgi mevcut değildir.

Biz bu araştırmamızda, bu varillerden alınan üç ayrı örnekte Pb, Cd, Cu, Co, Mn, Zn, Fe, Ag, Mg ve Cr gibi bazı inorganik atıkların seviyelerini ortaya koymaya çalıştık. Ayrıca bazı fitoplankton türlerinde varillerden çıkan üç ayrı kimyasal atığın toksisitesini araştırarak öldürücü konsantrasyonlarını (LD_{50}) da ortaya koymaktayız.

DENEYSEL YÖNTEM

Örnekler Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi için porselen kroze içinde tartıldıktan sonra, uçucu element kaybını önlemek için %10 w/v (etanolda) $Mg(NO_3)_2$ çözeltisi ilave edilerek hot-plate üzerinde ısıtılmıştır. Daha sonra muffle fırına konularak sıcaklık $700^\circ C$ 'ye kadar kademeli olarak yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta bir gece bekletilmiştir. Örnekler tamamen kül haline geldikten sonra 6 N HCl ile çözeltiye alınmıştır. Analizlerde Pelkin-Elmer (model 403) cihazı kullanılmıştır.

Toksisite deneyinde kullanılan fitoplankton türleri Thalassiosira pseudonana ve Phaeodactylum tricornutum dur. Fitoplankton türleri laboratuvarımızdaki kültürasyon kolonunda aseptik şartlarda f/2 medyumu kullanılarak yetiştirilmiştir (3). Fitoplankton kültürlerinin çoğalmaları ve deney ortamı $20 \pm 4^\circ C$ sıcaklık sağlanarak ve $350 \mu Em^{-2} s^{-1}$ olacak şekilde "cool-white" floresans lambalar kullanılarak alttan ışıklandırma ile oluşturulmuştur. Hem deneylerde ve hem de kültürasyon için kullanılan bu kabin 10 saat karanlık ve 14 saat aydınlık olacak şekilde periyodik ışık altında sürekli olarak tutulmuştur. F/2 medyumunda yetiştirilen ve logaritmik çoğalma fazında bulunan fitoplanktonlar ana kültürden alınarak $1.2 \mu m$ gözenekli milipor filtrelerden süzülmuş ve filtre üzerinde kalan fitoplankton hücreleri steril deniz suyu ile yıkanmıştır. Daha sonra zenginleştirici içermeyen deniz suyuna

alınan bu türler deney kaplarına taksim edilmiştir.

Deneyde kullanılan deniz suyu, bakteri kontaminasyonunu ve diğer yabancı maddeleri izole etmek amacıyla 0.22 µm gözenek genişliği olan milipor filtreden süzülmüştür. Deney başlangıcındaki hücre sayısı Fuchs-Resenthal Heamocytometre kullanılarak tesbit edilmiştir.

Toksisite deneyleri ağızları pamuk tıpa ile kapalı 100 ml 'lik deney kapları içinde Karadeniz suyu kullanılarak yapılmıştır. 1 ve 2 numaralı sıvı örneklerden 1 ml/l, 0.1 ml/l ve 0.01 ml/l olacak şekilde varil atıkları iki ayrı seri olarak deney kaplarına ilave edilmiştir. Her dört seri için de ayrı bir kontrol örneği hazırlanmış ve bütün kaplara aynı sayıda fitoplankton hücreleri ilave edilmiştir.

Bu deneyde sonuçlar Beckman UV spektrofotometresi kullanılarak 530 mµ dalga boyunda optik densite ölçümü ile fitoplankton hücrelerindeki çoğalma hızı takip edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Her üç varil atığındaki Pb, Cd, Cu, Co, Mn, Zn, Fe, Ag, Mg ve Cr gibi inorganik kirleticilerin seviyeleri Tablo 1 'de görülmektedir. Yapılan analizler sonucunda, kurşunun 1518 µg/g, bakırın 76 µg/g, manganın 95 µg/g, çinkonun 320 µg/g, demirin 1407 µg/g ve magnezyumun 50 µg/g 'a eriştiği saptanmıştır. Her üç örnekte toksik elementlerin içeriği bakımından oldukça farklı bulunmaktadır. Örnek 1 'de en fazla çinko bulunurken örnek 2 'de kurşun çok yüksek ve örnek 3 'de ise demir ve kobalt konsantrasyonları yüksektir.

Tablo 1. Batı Karadeniz'den çıkan varil atıklarındaki bazı toksik element konsantrasyonları (sonuçlar ppm olarak verilmiştir).

Element	Pb	Cd	Cu	Co	Mn	Zn	Fe	Ag	Mg	Cr
Örnek 1	1	0.23	2.8	5.3	0.14	320	13	0.11	5.3	---
Örnek 2	1518	0.15	76	0.4	0.19	80	26	0.02	4.4	0.5
Örnek 3	2.5	0.38	1.8	856	95	38	1407	0.04	50	2.0

Toksisite testi için değişik konsantrasyonlarda varil atıklarında *P.tricornutum* ile *T.pseudonana* hücrelerinin çoğalmaları incelenmiştir. Elde edilen bulgular tablo 2 'de verilmiştir. Görüldüğü gibi 1 ml/l konsantrasyonda fitoplankton hücrelerinde çoğalma olmazken, hücrelerin sayısı 7 gün içinde oldukça azalmıştır. Yani bu konsantrasyonda büyük oranda ölüm olmuştur. 3 numaralı örneğin diğer iki örnekten çok daha toksik olduğu görülmektedir. 3 nolu örnekte hücre sayısının %50 den daha fazlası ilk 7 gün içinde azalmıştır. Buna karşılık 1 nolu örneğin en az toksik olduğu görülmektedir. Çünkü *T.pseudonana* hücreleri 0.1 ve 0.01 ml/l konsantrasyonlarda bir artış göstermişlerdir. Özellikle 0.01 ml/l konsantrasyondaki artış kontrolü bile geçmiştir. Bunun iki nedeni olabilir; ya bu örnek belli konsantrasyonlarda besleyici görev yapmaktadır ya da ölçümlerimizde bir hata vardır. Aynı durum *P.tricornutum* hücrelerinde görülmemiştir.

Bu durumda bize *P.tricornutum* hücrelerinin *T.pseudonana* hücrelerine göre daha hassas olduğunu göstermektedir. Buna benzer diğer bir bulgu da, toksik element birikiminde *P.tricornutum* hücrelerinin *T.pseudonana* hücrelerine göre daha fazla element biriktirdiği şeklinde literatürde verilmektedir (4,5). Bu birikim farklılığına neden olarak da, fitoplankton türlerine göre hücre zarlarındaki permeabilite ayrımı belirtilmiştir.

1 nolu örnekde *T.pseudonana* hücresi dışında, diğer örneklerde 0.1 ve 0.01 ml/l 'lik konsantrasyonlarda hücre çoğalması hemen hemen tamamen durmuştur. Bu durumda bize her üç konsantrasyonda da bu atıkların fitoplanktonlar için toksik olduğunu göstermektedir. Bizim tesbit ettiğimiz toksik element seviyelerine göre deneylerde uyguladığımız konsantrasyonlar fitoplankton organizmalar için bulunan toksisite seviyelerinin oldukça altındadır (6,7,8). Yalnız metal birikiminde metallerin birbiri üzerinde veya çözünebilen organik metallerin antogonistik ve sinerjistik etkilerini de unutmamak gerekir. Örneğin Break ve arkadaşları (9) *Skeletonema costatum*'da çinko iyonlarının kadmiyum toksisitesini azalttığını bulmuşlardır.

Literatürde birden fazla metal karışımının fitoplanktonlardaki toksisitesi ile ilgili bir çok çalışma vardır (10,11). Yalnız hem toksik element ve hem de organik kirleticilerin etkilerini, yani toksisitesini araştıran bir çalışma mevcut değildir. Biz bu araştırmamızda hem toksik element ve hem de organik atık içeren bir karışım kullandık.

Sonuç olarak bu varil atıklarının oldukça toksik oldukları ve birbirlerine benzemeyen terkipte oldukları görülmüştür. Eğer bu variller sularımıza döküldülerse fitoplankton çoğalmasında anlamlı etkileri olacaktır. Neticede doğal denge etkilenecek ve balıkçılık üretimimiz büyük zarar görecektir.

Tablo 2. Batı Karadeniz'den çıkan varil atıklarının fitoplankton çoğalması üzerindeki etkileri.

Örnek	Konsantrasyon		P.tricornutum		T.pseudonana	
			t:0	t:7	t:0	t:7
1	1	ml/l	0.038	0.025	0.050	0.036
	0.1	ml/l	0.029	0.022	0.038	0.054
	0.01	ml/l	0.020	0.015	0.036	0.073
	Kontrol		0.019	0.048	0.034	0.068
2	1	ml/l	0.034	0.027	0.062	0.033
	0.1	ml/l	0.025	0.019	0.056	0.045
	0.01	ml/l	0.020	0.015	0.051	0.050
	Kontrol		0.023	0.051	0.044	0.033
3	1	ml/l			0.101	0.044
	0.1	ml/l			0.020	0.020
	0.01	ml/l			0.021	0.028
	Kontrol				0.026	0.060

REFERANSLAR

1. Güven,K.C., Plevneli,M. and Cevher,E. & Topcuoglu,S., Köse,N., Bulut,A.M. and Bayülgen,N. The Radioactivity Level of Black Sea Marine Algae before and after The Chernobyl Accident. (Toxicological and environmental Chemistry), (in press).
- 2.Topcuoglu,S., Onlü,M.Y., Sezginer,N., Sönmez,M., Bulut,A.M., Bayülgen,N., Küçükcezzar,R. ve Köse,N. Karadeniz, Bogaziçi ve Marmara Deniz Ürünlerinde Çernobil Sonrası Yapılan Radyoaktivite Ölçümleri. 3.Nükleer Bilimler Kongresi Tebliği, (Baskıda).
3. Guillard,R.R. and Ryther,J.H. Studies on Marine Planktonic Diatoms, 1.Cyclotella (Hustedt) and Detonula confervacea (Cleve). Gran.Can.J.Mikrobiol., 8:229-239. (1962).
4. Davies,A.G. Pollution Studies with Marine Plankton. 2.Heavy Metals Adv.Mar.Biol., 15:381-508. (1978).
5. Sakaguchi,T., Tsuji,T., Nakajima,A. and Horikoshi,T. Accumulation of Cadmium by Green Microalgae. European Journal Applied Microbiology and Biotechnology., 8:207-215. (1979).
6. Overnel,J. Inhibition of Marine Algal Photosynthesis by Heavy Metals. Marine Biol.(W.Ger.), 38:335. (1976).
7. Braek,G.S. and Jensen,A. Heavy Metal Tolerance of Marine Phytoplankton, 3.Combined Effects of Copper and Zinc Ions on Cultures of Four Common Species. Jour.Exp.Mar.Biol.Ecol.(Neth.), 25:37. (1976).
8. Stewart,J.G. Effects-of Lead on the Growth of Four Species of Red Algae. Phycologia, 16:31. (1977).
9. Braek,G.S., Malnes,D. and Jensen,A. Heavy Metal Tolerance of Marine Phytoplankton, 4.Combined Effect of Zinc and Cadmium on Growth and Uptake in Some Marine Diatoms. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 42:39-54. (1980).
10. Thomas,W.H., Hollubaugh,J.T., Seibert,D.L.B. and Wallance,Jr.G.T. Toxicity of a Mixture of Ten Metals to Phytoplankton. Marine Ecology Progress Series, 2:213-220. (1980).
11. Wong,P.T.S., Chau,Y.K. and Luxon,P.L. Toxicity of a Mixture of Metals on Freshwater Algae. J.Fish.Res.Board Can., 35. (1978).