

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**BİSFENOL S'e MARUZ KALAN *Daphnia magna*'da ANTIÖKSİDAN
YANITIN ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi
Gül den TATAR**

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şule TATAR YOLCULAR**

**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Yeliz ÇAKIR SAHİLLİ**

TUNCELİ – 2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİSFENOL S'e MARUZ KALAN *Daphnia magna*'da ANTİOKSİDAN
YANITIN ARAŞTIRILMASI

Gülden TATAR
(210020002)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Şule TATAR YOLCULAR

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Yeliz ÇAKIR SAHİLLİ

TUNCELİ- 2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**BİSFENOL S'e MARUZ KALAN *Daphnia magna*'da ANTİOKSİDAN
YANITIN ARAŞTIRILMASI**

**Gül den TATAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 03/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Doç. Dr.
Şule TATAR YOLCULAR
(Munzur Üniversitesi)

Dr. Öğr. Üyesi
Erdal ÖBEK
(Fırat Üniversitesi)

Doç. Dr.
Mehmet Yavuz PAKSOY
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

BAŞKAN

Bu tez, Enstitümüz: Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Altuğ KAZAR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Güliden TATAR

Danışman
Doç. Dr. Şule TATAR YOLCULAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince tezin oluşum ve yapım aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesinden istifade ettiğim değerli hocam Sayın Doç. Dr. Şule TATAR YOLCULAR'a ve II. Danışmanım Sayın Doç. Dr. Yeliz ÇAKIR SAHİLLİ'ye,

Yaşantım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak her türlü desteklerini üzerimde hep hissettiğim, hep yanımda olan ve hayatım boyunca minnettar kalacağım sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

**Gülden TATAR
TUNCELİ-2024**



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLOLAR LİSTESİ	V
RESİMLER LİSTESİ	VI
KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Yapılan Çalışmanın Amacı ve Önemi.....	2
1.2. Endokrin Bozucu Maddeler (EBM)	3
1.2.1. Endokrin Bozucu Maddelerin Sınıflandırılması.....	4
1.2.2. Endokrin Bozucu Maddelerin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerine Etkileri	5
1.2.3. Bisfenol S (BPS)	7
1.3. Biyoindikatörler.....	8
1.3.1. <i>Daphnia magna</i> (Cladocera, Crustacea)	8
1.3.2. <i>Daphnia magna</i> 'nın sistematığı	10
1.3.3. <i>Daphnia sp</i> 'nin morfolojisi ve fizyolojisi	10
1.3.4. <i>Daphnia magna</i> 'nın sucul ekosistemler için ekolojik önemi.....	11
1.4. Enzimatik Antioksidanlar.....	13
1.4.1. Katalaz (KAT).....	13
1.4.2. Glutasyon S-transferaz (GST)	13
1.5. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	13
1.5.1. Malondialdehit (MDA).....	13
2. MATERYAL VE METOT	14
2.1. Model Organizma <i>Daphnia magna</i>	14
2.2. BPS Temini	15
2.3. Akut Toksikite Deneyi (LC ₅₀)	15
2.4. Subletal BPS Konsantrasyon Uygulamaları.....	15
2.5. Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Ölçümü	15
2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümü.....	16
2.6.1. Katalaz (KAT) Aktivitesinin Ölçümü	16
2.6.2. Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesinin Ölçümü	16
3. BULGULAR	17
3.1. Enzimatik Antioksidan Değerleri.....	17
3.1.1. GST seviyesi.....	17
3.1.2. KAT seviyesi.....	18
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Değerleri	18
3.2.1. MDA seviyeleri	18
4. TARTIŞMA.....	20
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	22
6. KAYNAKLAR.....	23

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. BPS'nin yapısı.....	7
Şekil 1.2. <i>D. magna</i> 'nın genel yapısı	11
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan <i>D. magna</i> 'da GST aktivitesindeki değişiklikler	17
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan <i>D. magna</i> 'da KAT aktivitesindeki değişiklikler	18
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan <i>D. magna</i> 'da MDA seviyesindeki değişiklikler.....	19



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. BPS'nin genel özellikleri.....	7
Tablo 3.1. BPS'nin <i>D. magna</i> üzerindeki akut toksisite değerleri	17



RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Stok <i>D. magna</i> akvaryumları	14
Resim 2.2. BPS uygulama.....	144



KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

AB	: Avrupa Birliği
ASTM	: Amerikan Standartları Birliği
BPA	: Bisfenol A
BPAF	: Bisfenol AF
BPF	: Bisfenol F
BPS	: Bisfenol S
DDT	: Dikloro difenol trikloroethan
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EBM	: Endokrin bozucu madde
GR	: Glutasyon redüktaz
GP_x	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
KAT	: Katalaz
Kg	: Kilogram
L	: Litre
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Serbest süperoksit radikal anyonu
OECD	: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
°C	: Santigrat derece
PVC	: Polivinilklorür
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SOD	: Süperoksit dismutaz
US EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Bisfenol S (BPS), yakın zamanda sık olarak kullanılan bir bisfenol türevidir. BPS yüksek ısı stabilitesi ve güneş ışıklarına karşı dirençli olduğu için epoksi reçineleri, termal fatura kâğıtları, kutu içecekler, konserve ve hazır yemek kutuları, bagaj etiketleri, el ilanı ve gazete malzemesi gibi birçok endüstriyel üründe bisfenol A (BPA)'nın alternatifi olarak kullanılmaktadır. BPS gibi bisfenol türevleri BPA kadar ciddi yasal düzenlemelere tabi tutulmadıklarından, kontrollü kullanımları için daha fazla veri ve bilgiye gerek duyulur. BPS'nin yaygın olarak kullanılmaya başlanması, yoğun bir şekilde çevreye dağılımına ve dolayısıyla da yüksek insan maruziyetine sebep olmaktadır. Akutik organizmalardaki antioksidan savunma sistemi ve oksidatif stresi baskılama kapasitesi hakkında çok az bilgi vardır. BPS bir yandan prooksidan bir yandan da antioksidan görevi yapabilmektedir. Bu çalışmada BPS maruziyetindeki *Daphnia magna*'da antioksidan enzimlerden Katalaz (KAT), Glutasyon-S- transferaz (GST) aktivitelerinde ve lipid peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyelerinde değişikliklere sebep olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla canlı materyalini oluşturan *D. magna* örnekleri farklı konsantrasyonlarda pestisit içeren ortamlarda 48 saat süre ile çalışılmıştır. Çalışmanın sonunda GST aktivitesi artarken, düşük konsantrasyonlarda BPS'ye maruz bırakılan *D. magna* bireylerinde KAT aktivitesi ve MDA seviyesinde değişim olmamıştır.

48 saat boyunca subletal BPS konsantrasyonlarına maruz bırakılan *D. magna*'larda, KAT aktivitesi değişmeden kalmış, ancak, bu organizmaların yaklaşık %50' sinin öldüğü 50 mg/L'de azalmıştır (48-h EC₅₀ 52.80 mg/L). Glutasyon S-transferaz aktivitesi, 10 mg/L'de önemli ölçüde artmış ve artan BPS dozu ile artmaya devam etmiştir. BPS maruziyetindeki organizmaların lipid peroksidasyon düzeyleri, kontrol bireylerindeki farklı olmamıştır. En yüksek maruz kalma konsantrasyonunda protein içeriklerinde önemli ölçüde artış gözlenmiştir. Bu da protein sentezinin arttığına işaret etmektedir.

Enzim aktivitelerinin farklı konsantrasyonlara bağlı olarak değişim gösterdiği saptanmıştır. BPS'ye karşı *D. magna* dokularında KAT ve GST enzimleri ile MDA düzeylerinde meydana gelen değişiklikler, bu parametrelerin bu tür çalışmalarda yararlı birer biyobelirteç olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Daphnia magna*, Antioksidan yanıt, Bisfenol S, Enzim

ABSTRACT

Investigation of Antioxidant Response in *Daphnia magna* Exposed to Bisphenol S

Bisphenol S (BPS), recently widely used, is a derivative of bisphenol. BPS is used as an alternative to bisphenol A (BPA) in many industrial products such as epoxy resins, thermal receipt papers, canned beverages, canned and ready-to-eat food containers, luggage tags, flyers, and newspaper materials because of its high heat stability and resistance to sunlight. Since bisphenol derivatives like BPS are not subject to as strict legal regulations as BPA, more data and information are needed for their controlled use. The widespread use of BPS leads to its extensive distribution in the environment and, consequently, high human exposure. There is very little information about the antioxidant defense system in aquatic organisms and their capacity to suppress oxidative stress caused by BPS. BPS can act as both a prooxidant and an antioxidant. In this study, it was investigated whether BPS exposure causes changes in the antioxidant enzymes Catalase (CAT) and Glutathione-S-transferase (GST) activities, as well as in the levels of malondialdehyde (MDA), an indicator of lipid peroxidation, in *Daphnia magna* exposed to BPS. For this purpose, *D. magna* samples that make up the live material were studied for 48 hours in environments containing different concentrations of pesticides. At the end of the study, while GST activity increased, there was no change in CAT activity and MDA levels in *D. magna* individuals exposed to low concentrations of BPS.

In *D. magna* exposed to sublethal BPS concentrations for 48 hours, CAT activity remained unchanged, but it decreased at 50 mg/L where approximately 50% of these organisms died (48-h EC₅₀ = 52.80 mg/L). Glutathione S-transferase activity significantly increased at 10 mg/L and continued to increase with increasing BPS dose. Lipid peroxidation levels of organisms exposed to BPS did not differ from those of control individuals. There was a significant increase in protein content at the highest exposure concentration, indicating an increase in protein synthesis.

It has been determined that enzyme activities vary depending on different concentrations. Changes in CAT and GST enzymes and MDA levels in *D. magna* tissues in response to BPS demonstrate that these parameters can be used as useful biomarkers in such studies.

Keywords: *Daphnia magna*, Antioxidant response, Bisphenol S, Enzyme

1. GİRİŞ

Bisfenol A (BPA), genotoksitesisi, üreme toksitesisi, endokrin bozucu etkileri ve nörotoksitesisi nedeniyle Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Çin ve diğer birçok ülkede kısıtlanmış veya yasaklanmıştır (Liu ve ark., 2021). Bisfenol S (BPS), BPA'nın ana alternatifi olarak geliştirilmiş olup gıda ambalajı, besleme şişeleri ve termal kağıt üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Choi ve Lee, 2017; Mustieles ve ark., 2020). Avrupa Kimyasallar Ajansı'ndan elde edilen verilere göre, BPS üretimi Avrupa'da yılda 1000-10.000 tonu aşmıştır (ECHA, 2015). Moleküler yapı açısından, BPS, BPA'nın yapısındaki iki fenol halkasının metil grubunu sülfonla değiştirerek daha uzun süreli kalıcılığa, birikim riskine ve özgül toksisite mekanizmasına yol açmaktadır (Chen ve ark., 2016; Usman ve Ahmad, 2016). Şu anda, BPS'nin çevresel ortamlarda tespit sıklığının ve konsantrasyonunun artmasıyla (Liu ve ark., 2021), ekolojik güvenliği daha fazla incelemeye değer görünmektedir.

BPS, gıdalarda, kağıt ürünlerinde, kapalı mekan tozunda, yüzey suyunda, sediment örneklerinde, çamurda, atık suda, sucul organizmalarda ve insan idrarında yaygın bir şekilde tespit edilmiştir (Sun ve ark., 2017; Vasiljevic ve Harner, 2021). Yüzey sularında BPS konsantrasyonları genellikle onlarca ng/L ile yüzlerce ng/L arasında değişirken (Catenza ve ark., 2021), bu BPA ile karşılaştırılabilir seviyelerdir, ancak sediment örneklerindeki BPS konsantrasyon seviyelerinin BPA'nınkinden çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Wu ve ark., 2018).

BPS üzerindeki toksikolojik çalışmalar genellikle endokrin bozulma, bağışıklık sistemi bozuklukları, nörotoksisite ve üreme gelişme etkilerine odaklanmıştır (Mokra ve ark., 2017; Qiu ve ark., 2019). BPS'nin üreme gelişimi ve nörotoksisite üzerindeki toksik etkileri, BPA, Bisfenol AF (BPAF) ve BPF gibi bisfenollerin etkilerinden daha düşüktür (Liu ve ark., 2021).

Serbest radikaller, organizmalarda her zaman oluşurlar ve bu moleküller antioksidan savunma sistemi sayesinde giderilirler. Bu radikallerin oluşumu ve antioksidan sistemle giderilmesi arasında oksidatif bir denge bulunmaktadır. Dengenin olmadığı durumlarda organizmalar, bu serbest radikallerin olumsuz etkileriyle hasara uğrar. Bu dengenin sağlanamaması, yani serbest radikal oluşumunun artması ya da antioksidan savunma mekanizmasının yeterli olmaması durumunda oksidatif stres oluşur (Kayış, 2010). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ile antioksidan savunma sistem tarafından

bunların giderilmesi arasında önemli bir denge bulunmaktadır. ROS'lar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından uzaklaştırılır (Serdar, 2019). BPA'ya maruz kalan organizmalarda ROS oluşumu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Kabuto ve ark., 2003; Wu ve ark., 2011; Jemec ve ark., 2012). Hücreler oksidatif stres altında olduğunda genellikle süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi antioksidan enzimlerin seviyelerini arttırmaları (Valavanidis and Vlachogianni, 2010; Serdar ve ark., 2018).

Aerobik organizmaların enzimatik ve nonenzimatik (enzimatik olmayan) savunma sistemleri vardır. Bu sistemler farklı çevresel etkiler sonucunda ya da organizmaların normal metabolik faaliyetleri süresince oluşan toksik oksijen ara ürünlerden kaynaklanan oksidatif hasarların önlenmesini sağlamaktadır.

Stres koşulları altında meydana gelen bu O₂ radikallerine karşı oluşturulan enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR)'dır (Ketterer, 2001). Enzimatik olmayan antioksidanlar ise redükte glutatyon (GSH; L-γ-glutamil-L-sisteinil-glisin), karotenoidler ve flavonoidlerdir (Çaylak, 2011).

Tatlı su ekosistemlerinin önemli bir bileşeni olan *Daphnia* gibi zooplanktonlar, kendilerinden daha büyük avcılar için önemli bir besin kaynağı olmakla birlikte fitoplanktonların birincil avcılarıdır. Ömürlerinin kısa olması, hızlı üreyebilmeleri, kendilerine geniş yaşam alanı bulmaları, kolay kültürlenmesi ve kirletici maddelere karşı hassasiyeti gibi benzersiz özellikleri, bu canlıları sucul organizmaların ekolojisi, fizyolojisi ve toksikolojisini araştırmak için uygun bir model organizma haline getirmiştir (Liu ve ark., 2020). *Daphnia*'lar, OECD, ASTM ve US EPA gibi uluslararası çevre koruma kuruluşları tarafından da çeşitli akut ve kronik toksisite testlerinde model organizma olarak kabul edilmektedir (Sousa ve Nunes, 2020).

1.1. Yapılan Çalışmanın Amacı ve Önemi

BPS, düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle, daha önce kullanılan BPA'nın bir alternatifi haline gelmiştir. Bununla birlikte, BPS'nin varlığı ve ekolojik etkisi son zamanlarda artan ilgi çekmektedir, çünkü BPS'nin sucul organizmalar üzerindeki yaşam döngüsü veya çok nesil maruziyetinin toksikolojik etkisi hala soru işaretleri taşımaktadır. Özellikle, *D. magna*'nın üreme fonksiyonu, ekolojik davranışı ve popülasyon sağlığı

açısından temiz su ortamında tek nesil iyileşme yoluyla normal seviyelere geri dönmesi zordur. Bu nedenle, düşük konsantrasyonlarda BPS'ye çok nesil maruz kalma, kısa üreme döngülerine sahip sucul organizmaların popülasyon sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilir ve kronik BPS maruziyetinin ekotoksikolojisinin değerlendirilmesinin kamu sağlığı için gerekliliğini ortaya çıkarır (Yixuan ve ark., 2023).

Sosyo-ekonomik, kültürel ve teknoloji alanlarında gerçekleşen değişimlerin meydana gelmesi ve bunun giderek de artması nedeniyle toprak ve hava kirliliği yanında su kirliliği problemleri de önem kazanmaktadır. Su kirliliği probleminin nedenleri arasında; kanalizasyon ve sanayi atıkları, tarımsal alanda kullanılan maddeler sayılabilir (Cook ve ark., 1995; Alberdi ve ark., 1996).

Yapılan bu tez çalışmasının amacı, BPS'in farklı dozlarına maruz kalan *D. magna*'da ortaya çıkabilecek oksidatif stresin düzeyinin belirlenmesidir. Bununla birlikte, strese karşı oluşan savunma sistemlerinde MDA nonenzimatik antioksidan miktarındaki değişimler ve enzimatik antioksidanlardan KAT ve GST aktivitelerindeki değişiklikler belirlenerek kirliliğin birer biyobelirteci olarak söz konusu biomarkırların kullanılabilirlikleri de çalışmanın amaçlarından biridir.

Bu tez çalışması sonucunda; sentetik olarak hazırlanmış suya eklenen BPS'nin, *D. magna*'nın MDA düzeyleri ile KAT ve GST enzim aktivitesi üzerinde etkisinin olup olmadığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ile bu alanda yapılacak çalışmalar için ve alınacak önlemler konusunda bir ön çalışma olacak ve kaynak sağlayacaktır.

1.2. Endokrin Bozucu Maddeler (EBM)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), endokrin bozucu madde (EBM)'leri, "dışsal bir madde veya karışımın endokrin sistem işlevlerini değiştiren ve bu nedenle sağlam bir organizma veya soyunda veya onun alt popülasyonlarında negatif sağlık sorunlarına sebebiyet veren madde veya karışımlar" olarak tanımlamaktadır (Street ve Bernasconi, 2020).

EBM'ler, hormon sistemi ile etkileşim yoluyla olumsuz etkilere neden olan kimyasallardır, örneğin bir hormon reseptörünün aktivasyonu veya inhibisyonu yoluyla veya hormonların sentezi, metabolizması veya taşınması ile müdahale ederek. Endokrin sistemin homeostazını bozmak, özellikle fetal gelişim, çocukluk ve ergenlik gibi hassas

dönemlerde maruziyet söz konusuysa, potansiyel olarak ciddi veya kalıcı etkilere yol açabilir (Street ve Bernasconi, 2020).

Doğal EBM'ler (fitoöstrojenler), doğal hormon yapısında olduklarından dolayı, kolayca yıkılan, yarı ömürleri kısa, dokularda birikme yapmadan kolaylıkla vücuttan atılan endokrin bozuculardır. Bu sebeplerle de önemli yan etkileri yoktur (Çetinkaya, 2009).

Sentetik EBM'ler ise özellikle zirai ürünler, besin maddeleri ve östrojen ve androjen etki gösteren ilaçların bünyesinde bulunabilirler. Deterjanlar gibi temizlik malzemeleri, pestisitler, fungusitler, herbisitler ve fitalat, boyalar, BPA, plastik ve çözücü maddeler gibi organik kimyasallar EBM'ler arasında sayılabilir (Hachfi ve ark, 2012). İnsan metabolizması neticesinde ortaya çıkan ürünler, biyosidaller, farmasötik maddeler ve evsel kaynaklı ürünler atıksu arıtma tesisi çıkış suları ile birlikte nehirler gibi alıcı ortamlara deşarj olurlar (Bjorkblom ve ark, 2011).

Şu ana kadar, insan sağlığına muhtemelen ciddi etkileri olduğuna dair bilimsel kanıtlar bulunan endokrin bozucu özelliklere sahip ve kimyasal maddelerin kullanımını ve dağıtımını düzenleyen bir AB düzenlemesi olan “Kimyasalların Yetkilendirilmesi ve Sınırlanması (REACH)” kapsamında on kimyasal madde bulunmaktadır. Bu kimyasallardan biri de Bisfenol A (BPA) olarak bilinir ve hem insan sağlığı hem de çevre açısından ayrı ayrı değerlendirmelere dayanarak bir EBM olarak kabul edilir. BPA, polikarbonat plastiklerin, epoksi reçinelerin ve polivinilklorür (PVC)'ün üretiminde kullanılan yüksek üretim hacmine sahip bir kimyasal maddedir ve diş fırçası kaplaması ve tıbbi cihazlar gibi ürünlerde de kullanılmaktadır (Geens ve ark., 2019; Rochester, 2019). Ancak 2011 yılından bu yana AB'de polikarbonat bebek biberonlarında BPA kullanımı yasaklanmıştır (Avrupa Komisyonu, 2011) ve Ocak 2020'den itibaren termal kâğıtlarda da kullanımı yasaklanmıştır (Avrupa Komisyonu, 2016). Maruziyeti neticesinde olası olumsuz sağlık etkileri nedeniyle, BPA birçok tüketici ürününde kademeli olarak kaldırılmakta ve örneğin bisfenol F (BPF), Bisfenol S (BPS) gibi analoglarıyla değiştirilmektedir.

1.2.1. Endokrin Bozucu Maddelerin Sınıflandırılması

Kimyasal yapı ve özellikleri açısından endokrin bozucu maddeler şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Doğal EBM'ler: İnsan ve hayvan gıdalarının bünyesinde bulunan doğal kimyasal maddelerdir (örneğin fitoöstrojenler) (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2009; Yıldız

Fendoğlu ve ark., 2019). Sentetik veya endüstriyel ürünlerde bulunan EBM'lere kıyasla daha kısa bir yarılanma ömürleri vardır. Kolaylıkla bozunarak vücuttan atılmaları nedeniyle canlı organizmada genellikle önemli olumsuz bir yan etkiye neden olmamaktadırlar (Lee, 2007).

- Sentetik EBM'ler: BPA gibi plastikleştiriciler, diklorodifeniltrikloroetan (DDT) gibi pestisitler, vinklozolin gibi fungusitler, dietilstilbestrol (DES) gibi bazı farmasötik ajanlar bu sınıfa girmektedir (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2009; Yıldız Fendoğlu ve ark., 2019). Bunlar, atıksu arıtma tesisi çıkış suları ile nehirlere ve diğer alıcı ortamlara deşarj olur ve balıkların bünyesinde kompleks karışımlar şeklinde biyoakümüle olurlar (Bjorkblom ve ark., 2011). EBM'lerin dozu ve maruz kalma süresi, bu maddelerin organizma bünyesinde zararlı etkiler oluşturmasında göz önünde bulundurulması gereken önemli bir noktadır. Maruz kalma süresi uzadıkça yada doz arttıkça organizmada oluşturabileceği olumsuz etkiler de daha fazla olacaktır (Barthold ve ark., 1999).

1.2.2. Endokrin Bozucu Maddelerin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerine Etkileri

EBM'lerin insan sağlığı üzerindeki etkileri; maruziyet yaşına (Barker, 2004), gecikmiş etkilere, karışım etkilerine, alışılmamış doz-yanıt ilişkisine (Diamanti-Kandarakis, 2009) ve epigenetik ve genotoksik etkilere (Erkekoğlu, 2014) göre değişmektedir.

EBM maruziyetinin ardından oluşan reaktif oksijen türleri (ROS)'ndeki artış, DNA, protein yapısı ile lipit hasarlarına neden olabilir. Oluşan bu hasarlı yapılar kanserin de içinde olduğu birçok hastalığın nedeni olabilir (Swedenborg ve ark., 2009). Ayrıca steroid hormonların metabolizması üzerine etkileri de mevcuttur (Yıldız Fendoğlu ve ark., 2019). EBM'lere maruz kalınca nükleer reseptörlerin uyarılmasında değişimler meydana gelir; metabolik sendrom, obezite ve adiposit farklılaşmaya karşı hassasiyet de artar. Zaten obezitenin kanserin önemli nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir (Grun ve Blumberg, 2006, 2007). Hormonlar, insan vücudunda meydana gelen çoğu reaksiyonu stimüle ve/veya katalize ederler. EBM'ler, hormonların sentezlenmesi ve üretiminde yer alan tüm aşamaları etkileyebilmektedir. Kısacası EBM'ler hormonlara duyarlılığı artırır (You ve ark., 2001). EBM'lerin sadece onlara maruz kalan bireylere ya da nesle değil, daha sonraki nesillere de epigenetik etkileri mevcuttur. Temel olarak bu etkiler, deoksiribo nükleik asit

(DNA)'in yapısında bir değişiklik olmadan, genetik bilgide bir değişim olmasını ifade eder (Casati ve ark., 2015). Yapılan birçok çalışmada EBM'lerin genotoksik etki de gösterebileceğine dair veriler elde edilmiştir (Yıldız Fendoğlu ve ark., 2019).

EBM'ler önceden planlanmamış ve istemsiz olarak üretilen ekzojen sinyallerdir. Hormonlar tarafından kontrol edilen fizyolojik süreçleri bozma potansiyeline sahiptirler. Canlılar için önemli olan bu süreçler: büyüme, gelişme, bağışıklık, eşeysel farklılaşma ve üremedir. Son zamanlarda gerçekleştirilen laboratuvar ve saha çalışmaları sonucu elde edilen verilere göre EBM'ler, biyolojik kaynakları azaltan ve biyoeşitlilikte kayba neden olan potansiyel faktörlerdir. EBM'ler yalnız tatlı sulardaki biotayı etkilemez, ayrıca kıyısız bölgeler, deltalar ve okyanuslar gibi sucul ortamlarda yaşayan canlılar için de potansiyel tehlike oluştururlar (Zhou ve ark., 2009).

EBM'ler, hormonun biyolojik olarak sentezini, vücutta taşınmasını, parçalanmasını ve vücuttan atılma biçimini de değiştirebildikleri gibi, hedef hücredeki fizyolojik etki biçimi ve şeklini de değiştirebilmektedirler. Yani EBM'ler, hormon sistemini, reseptörlere bağlanarak taklit etme, endojen hormonun reseptöre bağlanmasını engelleme ve doğal hormonların metabolizma ve işleyişlerini değiştirme gibi birkaç farklı şekilde etkilerler (Brown ve ark., 2004).

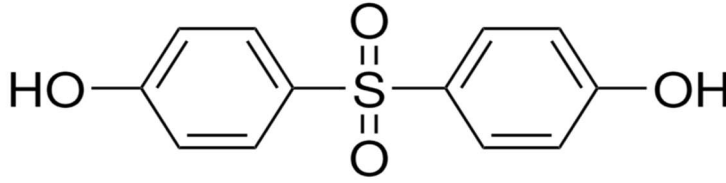
Birçok EBM, organik yapıda olmaları nedeniyle biyolojik yaşam zinciri ve sedimentlerde birikme potansiyelindedir. Oldukça kararlı ve kalıcı bileşikler olduklarından, zaman içerisinde farklı taşınımlar sonucu çevrede dağılırlar. Ancak EBM'lerden en fazla etkilenen ortamlar sucul ortamlardır. Sedimentlerde biriken bu maddeler, o ortamlarda yaşamını sürdüren bentik organizmalar ve balıklar için olumsuz etkiye sahiptirler (Rofer ve ark., 2000).

EBM'ler hava emisyonu yoluyla havaya geçer ve yağmur yoluyla yeryüzüne dönmeden önce atmosfer boyunca kilometrelerce taşınabilir (Allsop ve ark., 1997).

EBM'lerin etkilerine karşı özellikle çocukluk dönemlerinden itibaren gerekli bilgilendirmenin yapılması gerekmektedir. Dayanıklı tüketim malzemelerinin seçiminde ve sebze/meyvelerin pestisit kalıntılarında temizlenmiş olmasına zen gösterilmelidir. Özellikle işlenmiş gıdaları alırken onlarla temas halinde bulunan plastik ve benzeri petrokimyasallardan üretilmiş kapların ve ambalajların seçiminde dikkatli olunmalıdır. Mümkün olduğunca cam şişe ve kavanozlar tercih edilmelidir.

1.2.3. Bisfenol S (BPS)

BPA'nın birçok ülkede kullanımı yasaklanmış veya kullanımının kısıtlanması yoluna gidilmiştir. Özellikle bebekler için üretilen ürünlerde ve su şişelerinde BPA içermeyen plastik ve polikarbonatların kullanımına ağırlık verilmesiyle, bu ürünlerde BPA yerine BPS ve BPF'nin kullanımı başlamıştır (Gramec Skledar et al., 2015). BPS, hem yüksek ısıdaki stabilitesi hem de güneş ışıklarına karşı dirençli olması nedeniyle epoksi reçineleri, konserve ve hazır yemek ambalajları, kutulanmış içecekler, termal fatura kağıtları, bagajlardaki etiketler, el ilanı ve gazete üretim malzemesi olarak birçok endüstriyel üründe BPA'ya alternatif olarak kullanılmaktadır (Vandenberg, 2014). BPS'nin yapısal formülü ve genel özellikleri sırasıyla Şekil 1.1 ve Tablo 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. BPS'nin yapısı (Sur ve ark., 2017)

Tablo 1.1. BPS'nin genel özellikleri (URL-1)

Görünüşü	Beyaz, renksiz, katı; su içinde iğne şeklinde kristalli
Genel Adı	Bisfenol S
Kimyasal Adı	4,4'-Sulfonyldiphenol
Molekül Formülü	C ₁₂ H ₁₀ O ₄ S
Molekül Ağırlığı	250.27 g/mol
Sudaki Çözünürlüğü (25°C)	1100 mg/L
Diğer Çözücülerde Çözünürlüğü	Etanolde çözünebilir
Erime Noktası	245-250 °C
Yoğunluk	1.3663 g/cm ³

1.3. Biyoindikatörler

Sucul ortamlarda oluşan değişikliklerin tespiti ve kirlilik araştırmalarında çoğunlukla geleneksel kimyasal yöntemler ve fiziksel parametreler ölçülmektedir. Oysa biyoindikatör seçilmesi ve onun incelenmesi kimyasal kirliliği ve de habitatta oluşan değişiklikleri göstermesi açısından daha yararlıdır. Organizmalarda oluşan stresi veya değişiklikleri belirlemek için tek bir tür üzerinden değerlendirme yapmak hiçbir zaman yeterli değildir (Dönmez ve Yılmaz, 2015).

İdeal biyoindikatör canlıların, taksonomik olarak kolay sınıflandırılabilir, geniş bir dağılıma sahip, mobilitesi az, ekolojik özellikleri bilinen, bol sayıda, laboratuvar çalışmalarına kolaylıkla adapte edilebilen ve çevresel stres faktörlerine karşı duyarlı türler olması gerektiği ve nehir ekosistemleri için perifiton (sudaki nesnelere tutunabilen canlılar) bentik makrofitler ve balıkların uygun olduğu bildirilmiştir (Li vd., 2010).

Akut toksisite deneylerinden biri olan LC₅₀, belirli bir süre toksik maddenin verildiği bir ortamda bulunan canlıların %50'sinin ölümüyle sonuçlanan madde miktarı olarak ifade edilir. Bu çalışmalar genellikle 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar halinde yapılır (Çetinkaya, 2005).

Farklılıklarına göre 3 tür biyoindikatör varlığından bahsedilebilmektedir (Gerhardt, 2009).

- Çevresel İndikatörler
- Ekolojik İndikatör
- Biyoçeşitlilik İndikatörü

1.3.1. *Daphnia magna* (Cladocera, Crustacea)

Bilinen hayvan türlerinden en az %95'ini omurgasız canlılar oluştururlar ve ekosistemin yapı ve fonksiyonları açısından oldukça önemlidirler. Yaygın olarak su piresi olarak adlandırılan *D. magna*, ideal bir test organizmasıdır ve toksikolojik çalışmalarda 50 yıldır sıkça kullanılmaktadır (Jemec ve ark., 2007).

D. magna balık çiftliklerinde besin olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle Esoxidae, Cyprinidae ve Percidae familyalarının yavru dönemlerinde yeme ihtiyaç duyarlar (Cirik ve Gökpınar, 1993). Akvaryumda yaşayan balıkların beslenmesinde de

kullanıldıkları gibi tatlı su balıklarından başka farklı böcek türleri tarafından da tüketilirler. Deneysel hayvanı olarak laboratuvarlarda da kullanılmaktadır.

Daphnia'lar bir tatlısu kabuklusu olarak yüksek oranlarda protein ve temel yağ asitlerini içermektedir. Daphnia'ların besin değeri türüne ve yaşına göre farklılık göstermesinin yanında kuru ağırlık olarak yaklaşık %50'si proteinlerden oluşturmaktadır. Genç bireyler ergin bireylere göre daha düşük miktarda yağ asidine sahiptir. Bu nedenle de tatlı su balıkları için besleyici özelliği yüksek kaliteli bir yemdir (Akyıldız 1992; Cirik ve Gökpınar, 1993).

Akuatik ekosistem kirleticilerinin etkisini araştıran birçok bilimsel çalışmada, balıklar, mikroorganizmalar, bitkiler ve omurgasız canlılar gibi birçok farklı model canlı kullanılmıştır (Kado ve ark., 1998). Besin zincirinin orjininde olması ve kimyasallara karşı hassas olmaları nedeniyle zooplanktonlar ekotoksikolojik deneylerde daha çok kullanılmaktadır (Hanazato, 1998). Akuatik ortamlarda besin zincirinde önemli bir halka olan su pireleri, toksikoloji çalışmalarında çok sık kullanılan akuatik test organizmalardır. Toksikoloji çalışmalarında indikatör organizma olarak kullanılan Daphnia türleri hızlı büyümeleri, yüksek üreme potansiyelleri ve kısa yaşam döngüleriyle büyük bir öneme sahiptir (Adema, 1978; Harmon ve ark., 2003; Cooman ve ark., 2005; Altındağ ve ark., 2008).

Hemen hemen dünyanın her yerinde göl ve akarsuların durgun bölgelerinde bulunabilen *D. magna*, genellikle 3 mm'den daha küçük boyuttadır (Tatarazako ve Oda, 2007). Akuatik besin zincirinde kilit bir rol almasının yanı sıra doğal şartlar altında öncelikle bakteri ve alglerle beslenirler (Jonczyk ve Gilron, 2005; Li ve Tan, 2011) ve omurgasızlar (makro eklemli bacaklıların) ve predatör balıkların başlıca besin kaynağıdır. (Tatarazako ve Oda, 2007; Li ve Tan, 2011). Besin zincirinde sahip oldukları önemden dolayı, Daphnia'larda oluşabilecek negatif herhangi bir durum ekosistem düzeyinde yanıtlar verebilmektedir (Flaherty ve Dodson, 2005). Düşük metabolik aktivitelerinden dolayı sıcaklık düşüşü ile yaşam süreleri artmaktadır (Pennak, 1989). 250 °C'de 40, 200°C'de 56 gün kadar yaşayabilmektedirler (Jonczyk ve Gilron, 2005). 6-120 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda Daphnia popülasyonu oldukça artmakta ve litrede 200-500 organizmaya kadar çıkabilmektedir. Yaz ayları boyunca popülasyonlar genellikle azalır, sonbaharda artar ve kış aylarında tekrar azalır (Jonczyk ve Gilron, 2005). Daphnia'nın olgunlaşması için gereken süre 6 ila 10 gün arasındadır ve bu vücut büyüklükleriyle

ilgilidir (Pennak, 1989). Daphnia'ların yumurta, juvenil, adolesan ve yetişkin evre olmak üzere dört önemli safhadan oluşan bir yaşam döngüleri vardır (Jonczyk ve Gilron, 2005).

1.3.1.1. *Daphnia magna* 'nın sistematığı (Ustaoğlu, 2004)

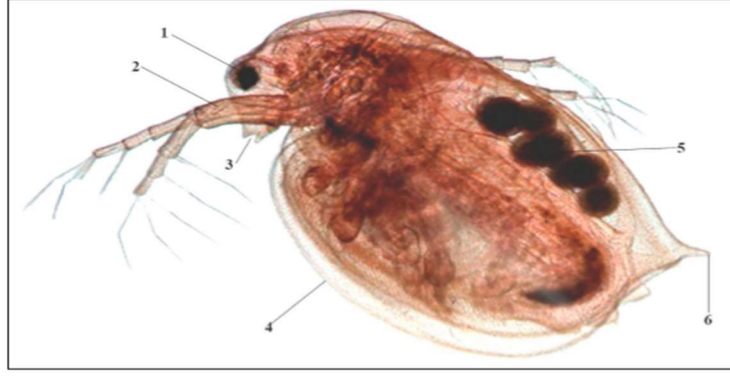
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Crustacea
Sınıf	: Branchiopoda
Alt sınıf	: Phyllopoda
Takım	: Diplostraca
Alt takım	: Cladocera
Familya	: Daphniidae
Cins	: Daphnia
Tür	: <i>D. magna</i> (Straus, 1820)

1.3.1.2. *Daphnia sp*'nin morfolojisi ve fizyolojisi

Daphnia sp. çoğunlukla tatlı sularda yaşar. Bunlar 0,2-3 mm boyutunda, küçük ve ilkel Crustaceae'lardır.

Başları dışarıda kalmak suretiyle vücutları bir kabuk (karapaks) örtüsü ile kaplıdır (Alpbaz ve ark., 1992). Arka kısmı genellikle mevsimsel olarak uzayıp kısalabilen kuyruk şeklindedir ve üzeri dişli bir çıkıntıya sahiptir (Barnes, 1974) (Şekil 2.2).

Daphnia sp.'nin vücudu bir gövde ve 5 ekstremiteli baştan oluşmuştur. 1. çift seksüel dimorfizm antenleridir. 2. çift hareketi sağlayan organel antenleridir. Diğer üç çift ise organizmaya besin alım metabolizmasında yer almaktadır. *Daphnia sp.*'ler dış kabuklarını belirli periyotlarda değiştirirler (Cirik ve Gökpınar, 1993). *D. magna* 'nın genel yapısı Şekil 2.2 de verilmiştir.



Şekil 1.2. *D. magna*'nın genel yapısı (Baykan, 2007)

1. Seksüel dimorfizm anten, 2. Hareketi sağlayan organik antenler, 3. Antenül, 4. Karapaks, 5. Yumurtalar, 6. Spin

1.3.1.3. *Daphnia magna*'nın sucul ekosistemler için ekolojik önemi

Göller, göletler ve havuzlar gibi sucul ortamlarda yaşamını sürdürebilen Cladoceranlar ve başta *D. magna* olmak üzere *Daphnia* türleri besin zincirinde büyük öneme sahiptirler: *Daphnia* türlerini balıklar besin maddesi olarak kullanırken, *Daphnia*'lar ise fitoplanktonlarla beslenirler. Bundan dolayı tatlı su ortamlarındaki besin zincirinde, birincil üreticilerden daha yüksek trofik seviyelere enerji transferinde oldukça önemli bir role sahiptirler (Dodson ve Frey, 2001; Dumont ve Negrea, 2002).

Daphnia'lar, yalnızca yaşam sürelerine ait parametrelerin anlaşılmasında değil bununla birlikte çeşitli besin, predasyon ve sıcaklık şartlarına sahip şartları kıyaslamak için de kullanılan uygun model canlı olarak da bilinirler (Gliwicz, 2003).

Daphnia'yı uygun model canlı yapan özellikler:

- Coğrafik açıdan yeryüzünde büyük bir alana dağılmışlardır. Bu nedenle de dağılım ve filocoğrafya çalışmalarında tercih edilen bir canlı türüdür.
- Larval dönemleri olmadığından hızlı ve direk gelişimle ürerler. Böylece kısa zaman içerisinde çevresel değişimlere çok hızlı cevap verebilen büyük populasyonlar oluşturulabilir (Ersoy, 2005).
- Kolaylıkla kültürlenebilirler.
- Oldukça saydam bir yapıya sahiptirler, içteki organların çalışmaları dışardan izlenebilir. Bu da onları morfolojik ve fizyolojik çalışmalara uygun bir canlı yapar.

- Yumurtalarını bir kuluçka kesesi içerisinde taşırlar; böylelikle yaşam döngüsü ve popülasyon dinamiği unsurlarını kolaylıkla hesaplama imkanı sağlar.

- Hernekadar milimetrik boyda küçük bir yapıya sahiplerse de yine de elle çalışma imkanı sağlayan bir büyüklükleri vardır. Bu nedenle de mezokozm ve mikrokozma deneyleri için uygun canlılardır (Demirel, 2011).

- Genellikle partenogenetik ürerler ve uzun periyotlu laboratuvar çalışmalarında klonları oluşturulabilir. Seleksiyon birimleri çalışmaları yürütmek için popülasyon genetiği çalışmalarında bu klon ile çalışmak mümkündür.

- Bazı şartlarda seksüel olarak üreyebilen döngüsel partenojendirler. Seksüel üreme ürünleri, gelişimleri bir süreliğine durmuş yumurtalardır. Böylelikle, zor koşullar altında yıllarca dayanabilirler. Bu özellikleri aseksüel ve seksüel üremenin sonuçlarını çalışmayı mümkün kılar.

- Sucul besin zincirinde birincil üreticileri tüketerek ve predatörler tarafından tüketilerek merkezi bir pozisyonda görev alırlar. Bu da trofik seviyelerdeki etkileşimleri çalışmayı mümkün kılar. Çoğu göl ortamlarında nicel olarak büyük bir öneme sahiptirler ve anahtar türlerdir.

- Farklı düzeylerdeki matematiksel modellemeler için uygundur.

- Genotipik ve fenotipik değişkenlikleri ile filogenileri oldukça iyi tanımlanmıştır (Lampert, 2006).

- Daphnia'lar fitoplanktonlar üzerinde beslenerek, hem su berraklığını artırır hem de bu sayede fitoplankton büyümesini kontrol ederler (Schriver ve ark., 1995; Jeppesen ve ark., 1999; Scheffer, 1999). Böylelikle suyun berraklığı artar ve birçok sucul canlı için önemli yaşam ve korunma alanı olan sazlıklar gibi makrofitlerin büyümesine fırsat verir.

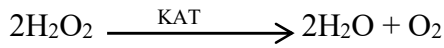
- Daphnia'ların suyun berraklığının korunmasındaki bu önemli rolleri sayesinde göl ekosistemlerindeki biyoçeşitlilik korunmuş olur.

Tüm bu özelliklerinden dolayı Daphnia, tatlısu ekosistemlerindeki ekolojik risk değerlendirme çalışmalarında iyi bir biyomarkır olarak kullanılabilir (Edmondson ve Litt, 1982).

1.4. Enzimatik Antioksidanlar

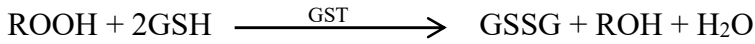
1.4.1. Katalaz (KAT)

KAT, bitki hücreleri, hayvanlar ve aerobik bakterilerin bünyesinde bulunan bir enzimdir. KAT enziminin başlıca görevi; hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya dönüştürmektedir (Kayış, 2010). KAT, SOD tarafından inhibe edilmesi esnasında ortaya çıkan hidrojen peroksinin, moleküler oksijen ve suya parçalanmasını sağlar (Granger ve ark., 1981).



1.4.2. Glutasyon S-transferaz (GST)

Glutasyon (GSH), genellikle bitki ve hayvan dokularındaki herbisit, ksenobiyotik ve pestisit metabolizmasında görev alır. Ksenobiyotik bileşiklerle beslenen canlı organizma, GST'in konjugasyonu ile metabolize edilir (Yıldırım, 2017). Çoğu organik hidroperoksitlerin formuna ve H_2O_2 'e karşı aktif bir özelliği bulunmaz (Sun, 1990). GST'in detoksifiye özelliği, elektrofilik substratları ile redükte glutatyonun konjugasyonunu katalizlemesiyle meydana gelir (Reid ve Jahoor, 2001).



1.5. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

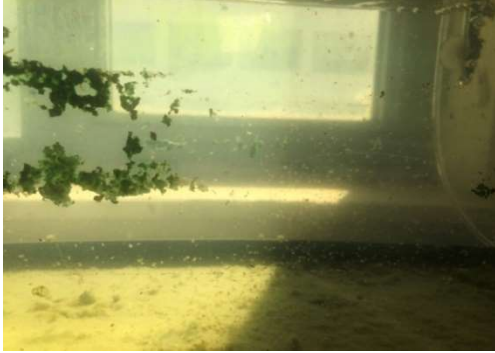
1.5.1. Malondialdehit (MDA)

MDA, lipid peroksidasyonu sonucu doğal olarak ortaya çıkan oksidatif bir indirgenme ürünü olmakla birlikte biyolojik membrandan geçerek oksidatif hasarın ortaya konmasında önemli bir belirleyicidir (Strmac ve Braunbeck, 2002). Uzun bir yaşama sahip olan Aldehit yapıları bileşiklerdir. Aynı zamanda hücre membranlarından geçiş yapabilirler ve bundan kaynaklı olarak lipid peroksidasyonunun etkileri organizmada çıkabilir (Çobanoğlu ve ark., 2011). Peroksidasyon sonucu oluşan MDA, üç veya daha fazla çift bağı bünyesinde bulunduran bir dialdehittir (Masella vd. 2005).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Model Organizma *Daphnia magna*

Çalışmada kullanılan test organizmaları *D. magna*, Elazığ ilindeki akvaryumculardan alınmıştır. Laboratuvar ortamına getirilerek 15 günlük adaptasyon süresi uygulanan canlıların spontan ölümleri en düşük seviyeye getirilmiştir. Canlıların, yaşam faaliyetleri boyunca herhangi bir olumsuzlukla karşılaşmaması için günlük olarak kuru spirulina tozu ve ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) karışımı ile düzenli olarak yemlemeleri yapılmış ve her bir akvaryum, içerisindeki çözülmüş oksijen miktarının hayati tehlike oluşturacak kadar azalmaması için bir hava pompasıyla düzenli olarak havalandırılmıştır. Ayrıca fotoperiyot (16:8 saat ışık/karanlık) uygulanmıştır ve sıcaklık 20 ± 1 °C’de sabit tutulmuştur. Stok *D. magna* akvaryumları Resim 2.1’de; BPS uygulaması ise Resim 2.2’de verilmiştir.



Resim 2.1. Stok *D. magna* akvaryumları



Resim 2.2. BPS uygulama

2.2. BPS Temini

Çalışmada kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır. BPS solüsyonları testlerden hemen önce hazırlanmış ve tüm uygulamalar aynı çevresel koşullarda (16:8 saat ışık/karanlık ve 20 ± 1 °C) gerçekleştirilmiştir.

2.3. Akut Toksikite Deneyi (LC₅₀)

BPS'nin *D. magna* üzerindeki akut toksisitesini belirlemek için OECD 202 talimatlarına göre akut toksisite testi uygulanmıştır. BPS'ye maruz bırakılacak canlılar içerisinde 24 saatten küçük olan test organizmaları seçilmiştir. Hazırlanan tüm konsantrasyon ortamlarına 20'şer birey konulmuş ve deneyler 3 kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. 48 saat süren akut toksisite testi uygulaması esnasında, canlılara herhangi bir besleme yapılmamış ve tüm uygulamalar fotoperiyot (16: 8 saat ışık/karanlık, 20 ± 1 °C) şartlarında yürütülmüştür. Ortalama LC₅₀ değerleri hesaplanmış ve 55 mg/L olarak belirlenmiştir. Belirlenen LC₅₀ değeri, daha sonra yapılan testlerde en yüksek konsantrasyon değeri olarak kullanılmıştır.

2.4. Subletal BPS Konsantrasyon Uygulamaları

BPS'nin organizmalar üzerindeki LC₅₀ değerlerinin belirlenmesinin ardından biyobelirteçler üzerindeki değişimlerin tespit edilmesi için konsantrasyonlar 10 (A), 20 (B); 30 (C); 40 (D); 50 (E) mg/L olarak belirlenmiştir. Hazırlanan kontrol ve tüm konsantrasyon ortamlarına 20 birey konulmuş ve deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. 48 saatlik maruziyetin ardından lipid peroksidasyon seviyeleri ve enzim aktiviteleri ölçülmüştür.

2.5. Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Ölçümü

Ortega-Villasante ve ark. (2005)'nın modifiye ettikleri yöntemle göre lipid peroksidasyonu belirlenmiştir. Bu metodun temeli, MDA (lipid peroksidasyonunun aldehid ürünlerinden biri) ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluştururken çözelti

absorbansı 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonunun derecesi belirlenmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

Canlıların BPS’ye maruziyetinden 48 saat sonra enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Ölçülen tüm enzim aktiviteleri için 20 birey kullanılmış ve uygulamadan sonra test organizmaları ependorf tüplerine alınarak 2 ml fosfat tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Homojenizasyon işleminden sonra 12.000 rpm ve +4 °C sıcaklıkta 20 dk süreyle santrifüj edilmiştir.

2.6.1. Katalaz (KAT) Aktivitesinin Ölçümü

KAT aktivite tayini Aebi (1984) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemde elde edilen süpernatantların üzerine hidrojen peroksit ve fosfat tamponu ilave edilmiştir. 240 nm dalga boyunda, 0. ve 30. saniyelerdeki absorbans farkları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

2.6.2. Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesinin Ölçümü

GST aktivitesi Habig (1974)’e göre tayin edilmiştir. Bu yöntem 1-kloro-2,4-dinitrobenzen, GST enzimi ve glutasyonun reaksiyonu sonucu oluşan 2,4-dinitrofenil glutasyon konjugatının 340 nm’de absorpsiyonunun ölçülmesine dayanır.

3. BULGULAR

Tablo 3.1’de, BPS’nin *D. magna* toksisite test sonucu 48 saat sonra okunan akut toksisite değerleri, Tablo 3.2’de ise, Glutasyon S-transferaz (GST) ve Katalaz (KAT) enzim aktiviteleri ile Malondialdehit (MDA) düzeyleri verilmiştir.

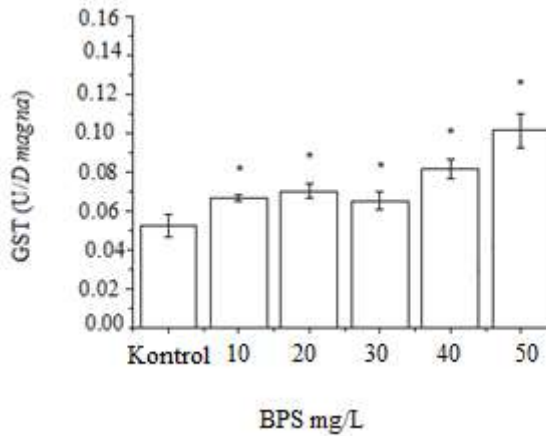
Tablo 3.1. BPS’nin *D. magna* zerindeki akut toksisite değerleri

	LC ₅₀ (µg/L)	Alt Seviye (µg/L)	st Seviye (µg/L)
48 saatlik	55	5	70

3.1. Enzimatik Antioksidan Değerleri

3.1.1. GST seviyesi

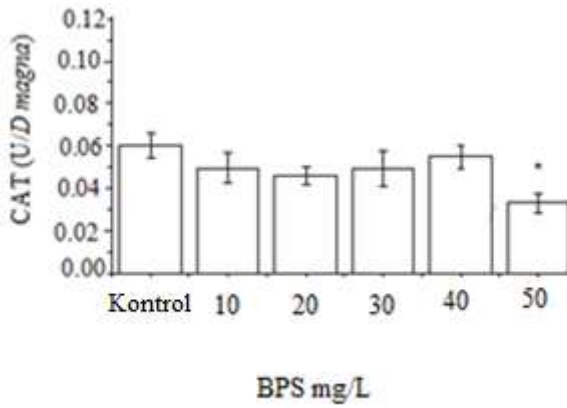
Farklı konsantrasyonlarda BPS’ye maruz kalan *D. magna*’da GST düzeyleri araştırılmış olup sonuçlar Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Glutasyon S-transferaz aktivitesi, A grubunda önemli lde artmış ve artan BPS maruziyeti ile tüm gruplarda daha da artmaya devam etmiştir.



Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda BPS’ye maruz kalan *D. magna* ’da GST (U/organizma) aktivitesindeki değişiklikler

3.1.2. KAT seviyesi

Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan *D. magna*'da KAT aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Şekil 3.2'de gösterilmiştir. 48 saat boyunca subletal BPS konsantrasyonlarına maruz kalan *D. magna*'lardaki KAT aktivitesi, E grubu hariç tüm gruplarda değişmeden kalmış, ancak, bu organizmaların yaklaşık %50'sinin öldüğü E grubunda azalmıştır.

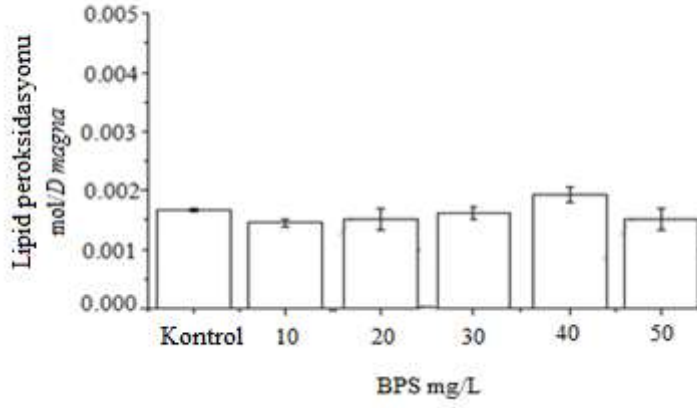


Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan *D. magna* 'da KAT (U/organizma) aktivitesindeki değişiklikler

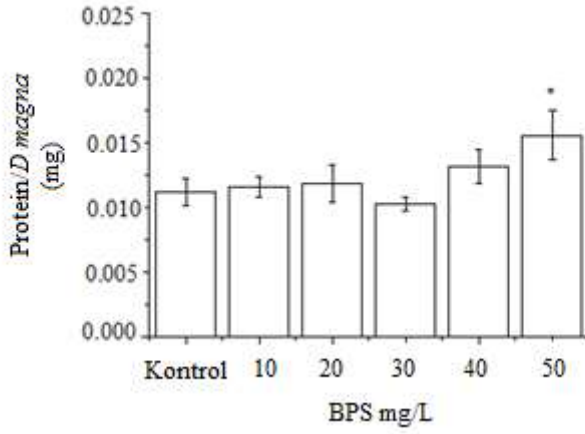
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Değerleri

3.2.1. MDA seviyeleri

Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan *D. magna*'da MDA aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Şekil 3.3'de gösterilmiştir. BPS'ye maruz kalan organizmaların lipid peroksidasyon düzeyi kontrolle kıyaslandığında hiçbir grupta değişmediği gözlenmiştir.



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan *D. magna*'da MDA (mol/organizma) seviyesindeki değişiklikler



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda BPS'ye maruz kalan *D. magna*'da protein (mg/organizma) seviyesindeki değişiklikler

4. TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada, BPS'ye 48 saat maruziyet sonrasında, *D. magna*'nın KAT aktivitesi, GST aktivitesi ve lipit peroksidasyonu gibi hücresele düzeydeki bir dizi değişikliklere bakılmıştır. 48 saatlik maruziyet süresinin ardından, KAT ve GST'in aynı şekilde değiştii görülmüştür. Antioksidan enzimlerden KAT aktivitesi ve lipit peroksidasyon seviyesi, BPS'in ölümcül olmayan konsantrasyonlarında herhangi bir şekilde değişmemiştir. Bu düzeylerde BPS, faz II detoksifikasyon enzimleri GST'lerin aktivitesini arttırmıştır. BPS'e akut olarak maruz bırakılan canlılardaki en büyük hücresele değişiklik, BPS'in bu detoksifikasyon enzim grubu yoluyla metabolize olduğunu gösteren GST aktivitelerinin indüksiyonu olmuştur. Uygulama sonunda lipit peroksidasyon düzeylerinin değişmediği göz önüne alındığında, GST aktivitelerinin indüksiyonu, lipit peroksidasyon yan ürünlerinin detoksifikasyonundan dolayı değil de muhtemelen BPS detoksifikasyonundan kaynaklanmıştır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, 15 gün boyunca 1 mg/L BPA'ya maruz kalan tatlı su salyangozu *Bellamyia purificata* (Li ve ark., 2008) ve 24 saat boyunca 0.01-10 mg/L BPA'ya maruz kalan *Midge larva Chironomus Riparius*'un Midge Larvae (*Chironomus riparius*)'nın solungaçlarında ve sindirim bezlerinde GST aktivitesinin indüklendiği bildirilmiştir (Lee ve Choi, 2007).

Kontrol ile karşılaştırıldığında, antioksidan enzimlerden KAT aktivitesi ve lipit peroksidasyonu seviyeleri, subletal BPS konsantrasyonlarına maruz bırakılan canlılarda değişmemiştir. Bu durum olası şekilde yüksek düzeylerde H₂O₂'in bulunmadığını gösterir, çünkü KAT, ekseriyetle yüksek H₂O₂ seviyelerinin detoksifikasyonunda rol oynayan bir enzimdir (Hermes-Lima, 2004). Daha önce yapılan çalışmalar ROS türlerinin KAT aktivitesini inhibe edebileceği bildirilmiştir (Kono ve Fridovich 1982; Escobar ve ark, 1996). Faheem ve Parvez Lone (2017), *Ctenopharyngodon idella* üzerinde yaptıkları çalışmada BPA'nın KAT aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Subletal BPS konsantrasyonlarına karşılık gelen KAT ve GST aktivitelerinde inhibisyon gözlenmiştir. Ortaya çıkan bu durum, BPS'in enzimler üzerinde direkt bir inhibe edici etkisinin olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte öldürücü konsantrasyonlarda canlı organizmanın genel olarak bozulmuş fizyolojik durumunun bir neticesi olarak da açıklanabilir. BPS ile yapılmış çok çalışma yoktur ancak BPA ile yapılan çalışmalarla bizim elde ettiğimiz sonuçlar uyumludur. Daha önce yapılan çalışmalarda, çok düşük konsantrasyonlarda dahi BPA'ya maruziyetten sonra KAT aktivitesinde inhibisyon

gözlenmiştir. KAT aktivitesinin, *Daphnia*'larda 3-30 mg/L, *C. riparius*'da 5-500 mg/L (Park ve Choi, 2009) ve zebra balığı *Danio rerio*'da 1-1000 mg/L BPA uygulamasıyla (Wu ve ark., 2011) azaldığı tespit edilmiştir.

BPA maruziyetinin ardından lipit peroksidasyonunun oluşmasıyla ilgili literatürde bulunan veriler büyük ölçüde çelişkilidir. Lipit peroksidasyonunun *Daphnia*'larda 3 mg/L BPA'nın üzerinde azaldığı ve *C. riparius*'ta 500 mg/L'nin üstünde arttığı bildirilmiştir. 5 gün süresince 25 ve 50 mg/kg/gün konsantrasyonlarında BPA'ya maruz bırakılan farelerde lipit peroksidasyonu, böbreklerde azalırken karaciğer, testis ve beyinde değişmemiştir (Park ve Choi, 2009). Tavuk embriyolarına BPA uygulaması yapılan bir çalışmada MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (Sravani ve ark., 2015). Tatlı su balığı üzerinde yapılan bir çalışmada da çalışmamızdakine benzer şekilde uygulama sonunda artan MDA seviyeleri bulunmuştur (Faheem ve Parvez Lone, 2017). *Gammarus pulex* ile yapılan bir başka çalışmada 96 saat boyunca BPA'ya maruz bırakılan canlı organizmalarda KAT aktivitesinin azaldığı, MDA'nın bir göstergesi olan TBARS seviyesinin ise arttığı gözlenmiştir (Tatar ve Türkmenoğlu, 2020).

Pestisitler ve metaller gibi bazı çevresel kirleticiler ile karşılaştırıldığında BPA'nın, *Daphnia*'lar için yüksek ölçüde toksisiteye sahip olamdığı bildirilmiştir (Jemec ve ark., 2007, 2008). Bununla birlikte bazı atık sular (atık depolama alanlarından çıkan sızıntı suları başta olmak üzere), *Daphnia*'larda üreme toksisitesine sebebiyet verecek derecede yüksek BPA seviyelerini bünyelerinde barındırabilmektedirler. Mesela, Batı Almanya'da bulunan kentsel atık depolama alanlarının ham sızıntı sularında 3.61 mg/L (Coors ve ark., 2003) ve Japonya'daki atık depolama alanlarındaki sızıntı sularında ise 17.2 mg/L'ye kadar BPA bulunduğu bildirilmiştir (Yamamoto ve ark., 2001). Bu nedenle BPA'nın atık su sızıntılarından giderilmesi ve kirliliğin önlenmesi oldukça önemli bir konudur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, *Daphnia*'ların BPS'e 48 saat maruziyetinin ardından gözle görülür en belirgin değişim GST enzim aktivitelerindeki artış olmuştur. Bununla birlikte, aynı maruziyet koşullarında, KAT enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu düzeyleri değişmemiştir. Oksidatif stresin ölçüsü, diğer antioksidan enzimlerle de araştırılmaya devam edilmelidir. BPS'in *Daphnia*'lardaki toksik etkisi, muhtemelen, *Daphnia*'ların üreme sistemlerine etki etmesi neticesinde meydana gelmektedir.

Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; daha çok plastik endüstrisinde kullanılan BPS maddesinin *D. magna* üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve BPS'dan kaynaklanan kirliliğin çevre için büyük bir risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda BPS uygulanan model canlı *D. magna*'da, kontrolle karşılaştırıldığında MDA miktarları değişim göstermemiştir. Malondialdehit miktarındaki artış lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Böylece BPA ile yapılan çalışmalarla kıyaslandığında BPS'nin daha az toksik olduğunu söylemek mümkündür.

BPS maddesinin *D. magna*'da meydana getirdiği toksik etkilerin araştırılmasında kullandığımız biyobelirteçlerden KAT, GST ve MDA'nın yararlı birer biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, antioksidan enzimlerindeki değişiklikler ile lipid peroksidasyonunun, potansiyel olarak çevre içindeki BPS'lerin risk değerlendirmesi için hassas biyolojik belirteç olarak kullanılabilmesi öngörülmektedir.

Ayrıca elde edilen verilere göre uygulama dozundaki farklılıklar model canlı *D. magna*'nın verdiği biyokimyasal yanıtları değiştirmiştir. Antioksidan enzimler ile MDA içeriğindeki değişiklikler, BPS metabolizmasından kaynaklanan streslerin değişebilir olduğunu ve metabolitlerin toksisitesinin antioksidan savunma sistemindeki değişikliklerden yola çıkılarak yorumlanabileceğini göstermiştir. Düşük düzeydeki oksidatif strese karşı telafi edici bir yanıt olarak antioksidan enzim sisteminin indüklenebileceği, aşırı toksik maddelerden kaynaklanan şiddetli oksidatif strese karşı ise; bu enzimlerin aktivitelerini düşürebileceği ve oksidatif hasara neden olabileceği öngörülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adema, D.M.M.**, 1978. *D. magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia*, 59(2), 125-134.
- Aebi, H.**, 1984. Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*. (Colowick S.P, Kaplan N.O, ed) Acad. Press. Florida. 105, 114-121.
- Akyıldız, A.R.**, 1992. Balık yemleri ve teknolojisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1280s.
- Alberdi, J.L., Sáenz, M.E., DiMarzio, W.D., Tortorelli, M.C.**, 1996. İki herbisit, parakuat ve glifosatın *D. magna* ve *D. Spinulata*'ya karşı karşılaştırmalı akut toksisitesi. *Çevresel Kontaminasyon ve Toksikoloji Bülteni*, 57 (2), 229-235.
- Allsopp, M., Santillo, D., Johnston, P.**, 1997. Poisoning the future: impacts of endocrine disrupting chemicals on wildlife and human health, *Greenpeace Research Laboratories*, University of Exeter, UK. (in reports section).
- Alpbaz, A.G.**, 1990. Deniz balıkları yetiştiriciliği. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*, (21), 24-94.
- Altındağ, A., Ergönül, M. B., Yigit, S., Baykan, Ö.**, 2008. The acute toxicity of lead nitrate on *D. magna* Straus. *African Journal of Biotechnology*, 7(23).
- Avrupa Komisyonu**, 2011. Bisphenol A: EU ban on use in baby bottles enters into force next week [Internet]. Brussels.
- Avrupa Komisyonu**, 2016. Commission Regulation (EU) 2016/2235. *Official Journal of the European Union*.
- Barker, D.J.**, 2004. The developmental origins of adult disease. *Journal of the American College of Nutrition*,. 23(6), 588-595.
- Barnes, R.**, 1974. *Invertebrate Zoology*, W.B. Saunders Company, London, 870.
- Barthold, J.S., Kryger, J.V., Derusha, A.M., Duel, B.P., Jendak, R, Skafat, D.F.**, 1999. Effect of an environmental endocrine disruptor on fetal development, estrogen receptor(alpha) and epidermal growth factor receptor expression in the porcine male genital tract, *The Journal of Urology*, 162: 864-871.
- Baykan, Ö.**, 2007. Kurşun nitrat (Pb (NO₃)₂) metal tuzunun *D. magna* (Straus1820)(Cladocera, Crustacea) üzerindeki akut toksik etkisinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 62s.
- Bjorkblom, C., Mustamaki, N., Olsson, P., Katsiadaki, I., Wiklund, T.**, 2011. Assessment of reproductive biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from sewage effluent recipients. *Environmental Toxicology*, 28, 229–237.

- Brown, S.B., Evans, R. E., Vandenbyllardt, L., Finnson, K.W., Palace, V.P., Kane, A.S., Yarechewski, A.Y., Muir, D.,** 2004. Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to co-planar 3,3'4,4',5-pentachlorobiphenyl, *Aquatic Toxicology*, 67(1), 78-85.
- Casati, L., Sendra, R., Sibilía, V., Celotti, F.,** 2015. Endocrine disruptors: the new players able to affect the epigenome, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 18, 3-37.
- Catenza, C.J., Farooq, A., Shubear, N.S., Donkor, K.K.,** 2021. A targeted review on fate, occurrence, risk and health implications of bisphenol analogues. *Chemosphere*, 268, 129273.
- Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y.L., Wu, Y., Widelka, M.,** 2016. Bisphenol analogues other than BPA: environmental occurrence, human exposure, and toxicity a review, *Environmental Science and Technology*, 50 (11), 5438–5453.
- Choi, Y.J., Lee, L.S.,** 2017. Partitioning behavior of bisphenol alternatives BPS and BPAF compared to BPA, *Environmental Science and Technology*, 51 (7), 3725–3732.
- Cirik, S., Gökpinar, Ş.,** 1993. Plankton bilgisi ve kültürü. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*, 47, 131-133.
- Cook, J.L., Baumann, P., Jackman, J.A., Stevenson, D.,** 1995. Pesticide characteristics that affect water quality. *Farm Chemical Handbook*, 95, 429.
- Cooman, K., Debels, P., Gajardo, M., Urrutia, R., Barra, R.,** 2005. Use of *Daphnia* sp. for the ecotoxicological assessment of water quality in an agricultural watershed in South-Central Chile. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 191-200.
- Coors, A., Jones, P.D., Giesy, J.P., Ratte, H.T.,** 2003. Removal of estrogenic activity from municipal waste landfill leachate assessed with a bioassay based on reporter gene expression, *Environmental Science and Technology*, 37, 3430–3434.
- Çaylak, E.,** 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
- Çetinkaya, O.,** 2005. Akuatik toksikoloji: Balık biyodeneyleeri. balık biyolojisi araştırma yöntemleri, *Nobel Yayın Evi*, No: 4, 2. Baskı, Bölüm: 7, 169-218.
- Çetinkaya, S.,** 2009. Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri, *Dicle Tıp Dergisi*, 36, 59-66.
- Çobanoğlu, U., Demir, H., Cebi, A., Sayır, F., Alp, H.H., Akan, Z., Gur, T., Bakan, E.,** 2011. Lipid peroxidation, DNA damage and Coenzyme Q10 in lung cancer Patients –Markers for Risk Assessment?, *Asian Pacific Journal Cancer Prevention*, 12: 1399-1403.

- Demirel, T.**, 2011. Çinkonun *D. magna* (Straus, 1820)(Crustacea: Cladocera) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 54s.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R.**, 2009. Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement, *Endocrine Reviews*, 30(4):293–342.
- Dodson, S.I., Frey, D.G.**, 2001. The Cladocera and other Branchiopoda. In Thorpe, J. E. And Covich, A. P. (eds), *Ecology and Systematics of North American Fresh water Invertebrates*, 2nd edn. *Academic Press*, New York, pp. 849–913.
- Dönmez, A.E., Yılmaz, D.**, 2015. Sucul ortamlarda biyoindikatörler ve biyobelirteçler. *Yunus Araştırma Bülteni*, 3, 53-64.
- Dumont, H.J., Negrea, S.V.**, 2002. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world: *Branchiopoda*. Backhuys, 143p.
- ECHA**, 2015. Bisphenol S Registration Data. *European Chemicals Agency*.
- Edmondson, W.T., Litt, A.H.**, 1982. Daphnia in lake Washington 1. *Limnology and Oceanography*, 27(2), 272-293.
- EPA (Environmental Protection Agency)**, 2009. Types of Pesticides. Washington D.C., USA. Online: <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>. (Erişim Tarihi: 24.03.2021).
- Erkekoğlu, P., Koçer Gümüsel, B.**, 2014. Genotoxicity of phthalates, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 24(9), 616-626.
- Ersoy, M.**, 2005. Farklı besin ortamlarında üretime alınan su piresi (*D. magna*)'nın ürün verimliliği, *Yüksek Lisans Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, 104s.
- Escobar, J.A., Rubio, M.A., Lissi, E.A.**, 1996. SOD and catalase in activation by single toxygen and peroxy radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 285-290.
- Flaherty, C.M., Dodson, S.I.**, 2005. Effects of pharmaceuticals on Daphnia survival, growth, and reproduction. *Chemosphere*, 61(2), 200-207.
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J.P., Goeyens, L., Lecomte, P.**, 2019. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem. Toxicol.*, 50 (10), 3725–3740.
- Gerhardt, A.**, 2009. Bioindicator species and their use in biomonitoring. Boris Stepanovich Maslov (Ed), *Environmental Monitoring*, UNESCO (ed), Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Oxford, EOLSS.

- Gliwicz, Z.M.**, 2003. Between hazards of starvation and risk of predation: the ecology of off shore animals. *Excellence in Ecology*, 12, 1-379.
- Gramec Skledar, D., Troberg, J., Lavdas, J., Peterlin Mašič, L., Finel, M.**, 2015. Differences in the glucuronidation of bisphenols F and S between two homologous human UGT enzymes, 1A9 and 1A10. *Xenobiotica*, 45(6), 511-519.
- Granger, D.N., Rutili, G., McCord, J.M.**, 1981. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology*, 81(1), 22-29.
- Grun, F., Blumberg, B.**, 2006. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology*. 147, 50–55.
- Grun, F., Blumberg, B.**, 2007. Perturbed nuclear receptor signaling by environmental obesogens as emerging factors in the obesity crisis. *Review in Endocrine and Metabolic Disorders*. 161, 161–171.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B.**, 1974. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, 7130–7139.
- Hachfi, L., Couvray, S., Simide, R., Tarnowska, K., Pierre, S., Gaillard, S., Richard, S., Coupé, S., Grillasca, J.P., Prévot-D'Alvise, N.**, 2012. Impact of endocrine disrupting chemicals [EDCs] on hypothalamic-pituitary-gonad-liver [HPGL] axis in fish. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(1), 14-30.
- Hanazato, T.**, 1998. Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of fresh water communities. *Environmental Pollution*, 101(3), 361-373.
- Harmon, S.M., Specht, W.L., Chandler, G.T.**, 2003. A comparison of the daphnids *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia ambigua* for the utilization in routine toxicity testing in the southern United States. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45(1), 0079-0085.
- Jemec, A., Drobne, D., Tišler, T., Trebše, P., Roš, M., Sepčič, K.**, 2007. The applicability of acetylcholinesterase and glutathione S-transferase in *D. magna* toxicity test. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 144(4), 303-309.
- Jemec, A., Tisler, T., Drobne, D., Sepcic, K., Jamnik, P., Ros, M.**, 2008. Biochemical biomarkers in chronically metal-stressed daphnids. *Comp. Biochem. Physiol.* 147, 61–68.
- Jemec, A., Tisler, T., Erjavec, B., Pintar, A.**, 2012. Antioxidant responses and whole-organism changes in *Daphnia magna* acutely and chronically exposed to endocrine disruptor bisphenol A. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 86, 213–218.

- Jeppesen, E., Jensen, J.P., Søndergaard, M., Lauridsen, T.,** 1999. Su berraklığı için zooplanktonun rolüne özel vurgu yaparak bulanık ve temiz su göllerinde trofik dinamikler. *Sığ Göller 98*'de (s. 217-231). *Springer*, Dordrecht.
- Jonczyk, E., Gilron, G.U.Y.,** 2005. Acute and chronic toxicity testing with *Daphnia* sp. In Small-scale fresh water toxicity investigations (pp. 337-393). *Springer*, Dordrecht.
- Kabuto, H., Hasuike, S., Minagawa, N., Shishibori, T.,** 2003. Effects of bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues. *Environmental Research*, 93, 31–35.
- Kado, N.Y., Kuzmicky, P.A., Loarca-Piña, G., Mumtaz, M.M.,** 1998. Genotoxicity testing of methyltertiary-butyl ether (MTBE) in the Salmonella micro suspension assay and mouse bone marrow micro nucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 412(2), 131-138.
- Kayış, T.,** 2010. Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimp laturionellae* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri, Çukurova Üniversitesi *Doktora Tezi*, Adana, 109s.
- Kono, Y., Fridovich, I.,** 1982. Inhibition of catalase by superoxide radicals. *In Federation Proceedings*, 41(4), 1207-1207.
- Lampert, W.,** 2006. *Daphnia*: model otobur, yırtıcı ve av. *Polonya ekoloji dergisi*, 54(4), 607-620.
- Lee, M.M.,** 2007. Endocrine Disrupters. *A Current Review of Pediatric Endocrinology*, 109-118.
- Lee, S.B., Choi, J.,** 2007. Effects of bisphenol A and ethynylestradiol exposure on enzyme activities, growth and development in the fourth instar larvae of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 68, 84–90.
- Li, X., Lin, L., Luan, T., Yang, L., Lan, C.,** 2008. Effects of landfill leachate effluent and bisphenol A on glutathione and glutathione-related enzymes in the gills and digestive glands of the freshwater snail *Bellamya purificata*. *Chemosphere*. 70, 1903–1909.
- Li, L., Zheng, B., Liu, L.,** 2010. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: Definitions, approaches and trends. *Procedia Environmental Sciences*, 2, 1510-1524.
- Li, S., Tan, Y.,** 2011. Hormetic response of cholinesterase from *D. magna* in chronic exposure to triazophos and chlorpyrifos. *Journal of Environmental Sciences*, 23(5), 852-859.
- Liu, Z., Cai, M., Wu, D., Yu, P., Jiao, Y., Jiang, Q., Zhao, Y.,** 2020. Effects of nanoplastics at predicted environmental concentration on *Daphnia pulex* after exposure through multiple generations. *Environmental Pollution*, 256, 113506.

- Liu, J., Zhang, L., Lu, G., Jiang, R., Yan, Z., Li, Y.,** 2021. Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment—a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 208, 111481.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R. J.,** 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Masella, R., Benedetto, R.D., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C.,** 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577-586.
- Mokra, K., Kuźminska-Surowaniec, A., Woźniak, K., Michałowicz, J.,** 2017. Evaluation of DNA-damaging potential of bisphenol A and its selected analogs in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food Chem. Toxicol.* 100, 62–69.
- Mustieles, V., d’Cruz, S.C., Couderq, S., Rodríguez-Carrillo, A., Fini, J.B., Hofer, T., Steffensen, I.L., Dirven, H., Barouki, R., Olea, N.,** 2020. Bisphenol A and its analogues: a comprehensive review to identify and prioritize effect biomarkers for human biomonitoring. *Environ. Int.* 144, 105811.
- Ortega-Villasante, C., Rella n-Alvarez, R., DelCampo, F.F., Carpena-Ruiz, R.O., Herna´ ndez, L.E.,** 2005. Cellular damage induced by cadmium and mercury in *Medicago sativa*. *J. Exp. Bot.* 56,2239–2251.
- Pennak, R.W.,** 1989, Fresh-water invertebrates of the United States, *John Wiley & Sons*, New York, 628p.
- Qiu, W., Zhan, H., Hu, J., Zhang, T., Xu, H., Wong, M., Xu, B., Zheng, C.,** 2019. The occurrence, potential toxicity, and toxicity mechanism of bisphenol S, a substitute of bisphenol A: a critical review of recent progress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 173, 192–202.
- Reid, M., Jahoor, F.,** 2001. Glutathione in disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 4(1), 65-71.
- Rochester, J.R.,** 2019. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod. Toxicol.* 42, 132–155.
- Roefler, P., Synder, S., Zegers, R.E., Rexing, D.J., Fronk, J.L.,** 2000. Endocrine-Disrupting Chemicals in A Source Water, *Journal of AWWA*, 92(8): 52-58.
- Scheffer, M.,** 1999. The effect of aquatic vegetation on turbidity; how important are the filter feeders?, *Hydrobiologia*, 408, 307-316.
- Schriver, P.E.R., Bøgestrand, J., Jeppesen, E., Søndergaard, M.,** 1995. Impact of submerged macrophytes on fish-zooplanl phytoplankton interactions: large-scale

enclosure experiments in a shallow eutrophic lake. *Freshwater Biology*, 33(2), 255-270.

Serdar, O., 2019. The effect of dimethoate pesticide on some biochemical biomarkers in *Gammarus pulex*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 21905– 21914.

Serdar, O., Yildirim, N.C., Tatar, S., Yildirim, N., Ogedey, A., 2018. Antioxidant biomarkers in *Gammarus pulex* to evaluate the efficiency of electrocoagulation process in landfill leachate treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 12538–12544.

Sousa, A.P., Nunes, B., 2020. Standard and biochemical toxicological effects of zinc pyrithione in *D. magna* and *Daphnia longispina*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103402.

Street, M.E., Bernasconi, S., 2020. Endocrine-disrupting chemicals in human fetal growth. *Int J. Mol. Sci.* 21 (4).

Strmac, M., Braunbeck, T., 2002. Cytological and biochemical effects of a mixture of 20 pollutants on isolated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53(2), 293-304.

Sun, Y., 1990. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(6), 583-599.

Sun, Q., Wang, Y., Li, Y., Ashfaq, M., Dai, L., Xie, X., Yu, C.P., 2017. Fate and mass balance of bisphenol analogues in wastewater treatment plants in Xiamen City, China. *Environ. Pollut.* 225, 542–549.

Sur, Ü., Oral, D., Erkekoğlu, P., Koçer Gümüsel, B., 2017. Bisfenol Türevleri Daha Güvenli mi? Bisfenol F ve Bisfenol S'in Toksik Etkileri. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 42(3), 225-237.

Swedenborg, E., Rüegg, J., Mäkelä, S., Pongratz, I., 2009. Endocrine disruptive chemicals: mechanisms of action and involvement in metabolic disorders. *Journal Molecular Endocrinology*. 43, 1–10.

Tatar, Ş., Türkmenoğlu, Y., 2020. Investigation of antioxidant responses in *Gammarus pulex* exposed to Bisphenol A. *Environmental Science and Pollution Research*. 27, 12237–12241.

Tatarazako, N., Oda, S., 2007. The water flea *D. magna* (*Crustacea, Cladocera*) as a test species for screening and evaluation of chemicals with endocrine disrupting effects on crustaceans. *Ecotoxicology*, 16(1), 197-203.

URL-1, 2023. Bisphenol S. https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphenol_S.

Usman, A., Ahmad, M., 2016. From BPA to its analogues: is it a safe journey? *Chemosphere*, 158, 131–142.

- Ustaoglu, M.R.**, 2004. A Check-list for Zooplankton of Turkish in land Waters. *Su Ürünleri Dergisi*, 21(3).
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T.**, 2010. Integrated biomarkers in aquatic organisms as a tool for biomonitoring environmental pollution and improved ecological risk assessment. *Science advances on environmental chemistry, toxicology and ecotoxicology issues*, 13p.
- Vandenberg, L.N.**, 2014. Non-monotonic dose responses in studies of endocrine disrupting chemicals: bisphenol a as a case study. *Dose-response*, 12(2), dose-response. 13-020. Vandenberg.
- Vasiljevic, T., Harner, T.**, 2021. Bisphenol A and its analogues in outdoor and indoor air: properties, sources and global levels. *Science Total Environment*, 789, 148013.
- Wu, M., Xu, H., Shen, Y., Qiu, W., Yang, M.**, 2011. Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short-term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture. *Environmental Toxicology Chemistry*. 30, 2335– 2341.
- Wu, L.H., Zhang, X.M., Wang, F., Gao, C.J., Chen, D., Palumbo, J.R., Guo, Y., Zeng, E.Y.**, 2018. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: a short review. *Science Total Environment*, 615, 87–98.
- Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nakasugi, O.**, 2001. Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere*, 42, 415–418.
- Yıldırım, M.**, 2017. *Rheum Ribes L.* Ekstratını içeren sert jelatin kapsüllerin kalite kontrolünün yapılması ve oksidatif stres üzerine etkilerinin incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Mersin Üniversitesi, Mersin, 84s.
- Yıldız Fendoğlu, B., Koçer Gümüsel, B., Erkekoğlu, P.**, 2019. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddelere ve Etki Mekanizmalarına Genel Bir Bakış. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 39(1), 30-43.
- Yixuan, Z., Jianchao, L., Chenyang, J., Guanghua, L., Runren, J., Xiqiang, Z., Chao, H., Wenliang, J.**, 2023. Life history traits of low-toxicity alternative bisphenol S on *Daphnia magna* with short breeding cycles: A multigenerational study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253, 114682.
- Zhou, J., Shan Zhu, X., Cai, Z.H.**, 2009. Endocrine disruptors: an overview and discussion on issues surrounding their impact on marine animals. *Journal of Marine Animals and Their Ecology*, 2(2), 7-17.