

# Kıyı Atıksu Arıtma Tesisleri Deşarjının Yüzeysel Suların Toksisitesine Etkisinin Belirlenmesi: İstanbul Örneği

## Determining the Effect of Discharge of the Coastal Wastewater Treatment Plants on the Toxicity of Surface Waters: A Case Study in İstanbul

Vildan Zülal Sönmez<sup>®</sup>, Ceyhan Akarsu<sup>®</sup>, Nüket Sivri<sup>®</sup>

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

**Atıf/Cite as:** Sönmez VZ, Akarsu C, Sivri N. Kıyı atıksu arıtma tesisleri deşarjının yüzeysel suların toksisitesine etkisinin belirlenmesi: İstanbul örneği. Turk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derg. 2023;53(1):35-46.

### Öz

**Amaç:** Son 50 yıldır denizel ekosistemlere sahip ülkeler, evsel ve endüstriyel deşarj kaynaklı kirlilik, aşırı avlanma, yerli olmayan türlerin tehdidi ve iklim değişikliği, sucul ekosistemlerde pH değişimleri gibi antropojenik baskılarla ve çevresel problemler ile karşı karşıyadır. Farklı kaynaklardan gelen ksenobiyotik bileşikler, toksik olan/olmayan maddeler ile kimyasal etkileşim (sinerjistik/antagonistik ters/toplam) içerisinde olup, toksisiteyi meydana getirmektedir. Yüzeysel sularda tespit edilen makro kirleticilerin yanı sıra, mikro kirleticilerin varlığı ve oluşturdukları toksisite son yıllarda giderek artan bir önem kazanmıştır. Evsel ve endüstriyel atıksular aracılığıyla arıtma tesislerine gelen bu kirleticiler ortalama %80 oranlarında giderilebilmektedir. Ancak, özellikle nüfus yoğunluğunun yüksek olduğu büyükşehirlerin atıksu debisi dikkate alındığında, artan yükün giderim verimleri üzerine baskısı sonucunda bu kirleticilerin yüzeysel sulara deşarj yoluyla ulaştığı bilinmektedir. Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı İstanbul yüzeysel sularında özellikle dere yolu ile deşarj yapan ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularına karıştığı alanlardan alınan su numunelerinde akut toksisite seviyelerinin belirlenmesidir.

**Yöntem:** Biyoluminesans bakteri (*Aliivibrio fischeri*) ile akut toksisite testi gerçekleştirilmiş ve sonuçların yorumlanması için analitik yöntemler kullanılmıştır.

**Bulgular:** Bu istasyonlardan elde edilen sonuçlarda genel olarak "hormesis" verisine rastlanılmıştır. Ambarlı istasyonu yüzeysel sularının toksisite seviyesinde "aşırı derecede toksik" ve Ataköy istasyonu yüzeysel sularında "çok toksik" seviyelerine ait sayısal sonuçlar dikkat çekicidir.

**Sonuç:** Kanalizasyon sistemine kaçak deşarj yapan endüstriyel kuruluşların atıksularının içerdiği bazı kirleticiler ve atıksu arıtma tesislerine gelen öncelikli mikrokirleticiler yüzeysel sular ile bulunduğu noktada, su kalitesini ekotoksikolojik açıdan olumsuz etkileyebilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Akut toksisite, atıksu arıtma tesisleri, *Aliivibrio fischeri*

### ABSTRACT

**Objective:** In addition to macro-pollutants detected in surface waters, micro-pollutants in water bodies and the toxicity of these pollutants have become increasingly important in recent years. The removal efficiency of these pollutants reaching domestic and industrial wastewater and wastewater treatment plants has increased to up to 80%. However, considering the wastewater throughput of metropolitan cities, it is known that these pollutants reach surface waters with the discharge at the end of the plant, as the increased load presses on the removal efficiency. Our aim in this study is to determine the acute toxicity in water samples from surface waters in İstanbul.

**Methods:** The study was conducted primarily in areas where effluent from advanced biological treatment plants discharged via the stream mixes with surface waters.

**Results:** An acute toxicity test with bioluminescent bacteria (*Aliivibrio fischeri*) was performed and the results were interpreted using analytical methods. "Hormesis" data were generally found in the results from these stations. Noteworthy are the numerical results of the "extremely toxic" values in the surface water of the Ambarlı station and the "very toxic" values of the Atakoy station.

**Conclusion:** Pollutants and micropollutants contained in the effluents of industrial facilities that illegally discharge into the sewerage system and enter the treatment plant can ecotoxicologically affect water quality at the point where they mix with surface waters. Rapid, sensitive and microscale toxicity tests are recommended as a promising tool for integrated environmental quality assessment.

**Keywords:** Acute toxicity, wastewater treatment plants, *Aliivibrio fischeri*

**Alındığı tarih / Received:**  
21.09.2022 / 21.September.2022

**Kabul tarihi / Accepted:**  
10.01.2023 / 10.January.2023

**Yayın tarihi / Publication date:**  
24.03.2023 / 24.March.2023

### ORCID Kayıtları

V. Z. Sönmez 0000-0002-7488-2996  
C. Akarsu 0000-0002-0168-9941  
N. Sivri 0000-0002-4269-5950

✉ zulal.sonmez@iuc.edu.tr

## GİRİŞ

Denizel ortamlara yeterli seviyede arıtmadan deşarj edilen atıksular, özellikle kıyısız alanların su kalitesi üzerindeki kirletici baskılarını arttırmaktadır. Ne yazık ki, kentsel atıksuların karakterizasyonu evsel, endüstriyel, ticari ve kurumsal kaynaklardan gelen kirleticilerin çeşitliliği nedeniyle oldukça heterojen olabilmektedir. Buna bağılı olarak, hanelerde, endüstriyel tesislerde ve kentsel alanlarda yaygın olarak kullanıldığı tahmin edilen 900 ila 30.000 arasındaki ksenobiyotik bileşiklerin analizi zor olmaktadır<sup>(1)</sup>. Ayrıca bu analizlerin maliyeti yüksek olup, her zaman klasik yöntemler ile analiz edilememektedir. Özellikle ileri analiz gerektiren kirleticiler için genellikle AR-GE amaçlı olarak sınırlı sayıda kirletici varlığı ve konsantrasyonunu araştıran testler yapılmaktadır. Öte yandan, piyasaya giren yeni kimyasal maddelerin sayısı her geçen gün arttığından, kimyasal analizin potansiyel olarak tüm ksenobiyotik bileşikleri kapsadığından da emin olmak imkansızdır<sup>(2)</sup>. Yürürlükteki mevzuat kapsamında artırılmış atıksu deşarjları temel fizikokimyasal parametrelere dayandırılmakta, ilaç kalıntıları, hormonlar, nanomalzemeler gibi önemli mikrokirleticiler bakımından kontrol edilmemektedir<sup>(3,4)</sup>. Bu nedenle, atıksu deşarj standartları, konvansiyonel ve kolektif parametrelerin ölçülen konsantrasyonlarının mevzuat tarafından belirlenen sınır konsantrasyonlara uygunluğundan oluşmaktadır.

Atıksuların karakterizasyonunda bulunan tüm kirleticilerin analizi gerçekleştirilemeyeceği gibi, fizikokimyasal analizler ksenobiyotik bileşiklerin arasındaki sinerjistik veya antagonistik etkileşimleri ifade edemez<sup>(5)</sup>. Oysa ki, tek başlarına suda bulunma durumlarında dahi giderimleri kompleks olan mikrokirleticilerin, birden fazla kirleticinin etkileşim halindeki giderimi daha da kompleks hale gelebilmektedir<sup>(2)</sup>. Bazen de sucul ekosistemlerdeki toksisite, besi maddesi artışına bağılı olarak baskın hale gelen zararlı alglerin aşırı çoğalmasına (Harmful Algal Bloom) bu organizmaların oluşturduğu toksinlere bağılı olarak değişebilmektedir<sup>(6)</sup>. Sonuçta hem antropojenik kaynaklı ksenobiyotik bileşikler hem de mikroorganizmalardan kaynaklı toksinler, yüzeysel suların toksisite seviyesini belirlemektedir.

Ancak yüzeysel sularının toksisitesini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır<sup>(7-11)</sup>. Yüzeysel suların toksisitesinin tespiti için kullanılacak yöntemin çok hassas ve kesin sonuç vermesi beklenmektedir. Çünkü yüzeysel sularda toksisiteye sebep olan kirletici konsantrasyonları neredeyse ppb seviyelerinde gözlemlenmektedir. Sonuç olarak, ortamdaki canlılar üzerindeki mikro/nano yapıların etkilerinin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi için bilgilendirici, tutarlı ve birleştirici bir platform oluşturulması gerekmektedir<sup>(12)</sup>.

Farklı trofik seviyelerinde organizmalar ile gerçekleştirilen akut toksisite testlerinde, fazla zaman gerektiren ve genel olarak uygulanabilirliği düşük birçok test mevcuttur. Çoğu zaman bu deneylerde, test organizması olarak yüksek yapılı organizmaların kullanılması; etik olarak da uygun görülmemektedir<sup>(13)</sup>. Ayrıca, balık, su piresi, mikroalg gibi farklı trofik seviyelerdeki canlılarla yapılan toksisite testlerinde, organizma standardizasyonu, özel ekipman gereksinimi, uzun test süreleri ve yeniden üretebilirliğin eksikliği bu biyodeneylelerin başlıca dezavantajlarını oluşturmaktadır<sup>(5,14)</sup>. Besin ağının farklı seviyelerindeki herhangi bir besin/yiyecek/av dengesinin değişmesi, daha yüksek trofik seviyelerde yer alan türler üzerinde dolaylı bir "alt-üst" etkiye neden olabilmektedir<sup>(15)</sup>. Bu sebeple, güncel literatüre en hassas toksisite testi olarak geçen ve ayrıştırıcılar trofik seviyesine ait biyoluminesans bakterisi (*Aliivibrio fischeri*) ile toksisite testi literatürde dikkat çekmektedir<sup>(15)</sup>. Bu testte esas olan, biyoluminesansı bir fizyolojik test parametresi olarak dikkate alıp, karmaşık girdilerin olduğu ortamlarda su örneğinin toksisitesini izlemektir<sup>(16-18)</sup>. Biyoluminesans bakterisi ile akut toksisite testi, testin kolay oluşu, yüksek hassasiyet, yüksek verim kapasitesi ve biyoluminesansın belirlenmesinde cihazın varlığı başta olmak üzere büyük avantajlara sahiptir<sup>(19,20)</sup>.

*Aliivibrio fischeri*, sucul ekosistemlerdeki besin döngüsü ve enerji akışında aktif rol oynayan ayrıştırıcı grubundadır. *A. fischeri*'nin farklı toksik maddelere maruz kalma ihtimallerine verdikleri tepkinin belirgin ve adaptasyonlarının düşük oluşu nedeniyle; gerçek ölüm nedeninin toksik maddelere bağılı olma ihtimali

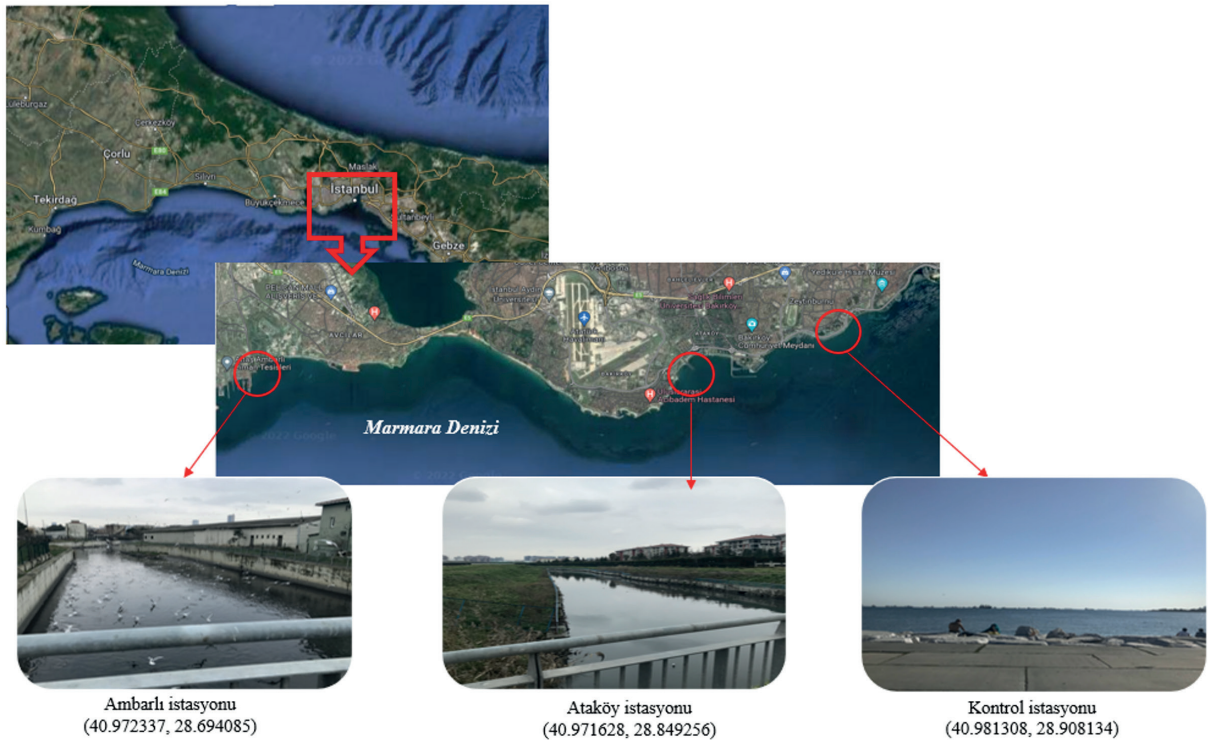
yüksektir. Liyofilize olmuş bakteri kültürü sayesinde kısa sürede aktifleşen organizmaların deney süresi ve deney prosedüründe olası aksaklıkların kolaylıkla tespiti sayesinde; testlerin tekrarlanabilirliği kolaydır. Diğer toksisite testlerine göre ekonomik olmadığı öngörülse de aslında tekrarlanabilirlik, örnek hacmi, kullanılan ekipman, verim/süre gibi parametreler dikkate alındığında katma değeri yüksek ve sonuçları belirgin bir testtir. *A. fischeri* ile yapılan toksisite testi, mevzuatta bulunan balık biyodenyeyine kıyasla hem ülkemizde hem de uluslararası çalışmalarda kimyasalların ve/veya endüstriyel atıksuların toksisitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>(14,21-25)</sup>.

Bu çalışmada amaç, İstanbul ili özelinde ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularla karıştığı alanlardan alınan su numunelerinde, akut toksisite seviyelerinin belirlenmesidir. Bu amaçla alınan su örneklerinde, kısa sürede sonuç alınabilen ve alanın toksisitesine dair yorum yapılabilen bakteriyal biyoluminesans akut toksisite testi (*A. fischeri*) ile toksisite seviyeleri tespit edilmiştir. Mikro ölçekli organizmalardan makro organizmalara kadar

her trofik seviyede gözlenebilecek olası hasarların kısa sürede yorumlanabilmesi ve böylece kıyısız alanların su kalitesinde ekotoksikolojik testlerin önemi vurgulanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekleme Alanı: İstanbul, 16 milyonu aşkın nüfusu ile günde 5 milyon m<sup>3</sup>'ten fazla atıksu, atıksu arıtma tesislerinde (AAT) arıtılarak doğrudan veya dolaylı olarak denize deşarj edilmektedir<sup>(26)</sup>. Bu çalışmada, İstanbul'un en yüksek atıksu debilerine ve farklı arıtma kademelerine sahip atıksu arıtma tesislerinin (AAT) deşarj sularının denizel alana döküldüğü yerler örnekleme alanı olarak seçilmiştir (Şekil 1). Buna göre, Ambarlı ve Ataköy istasyonları sırasıyla 400.000 m<sup>3</sup>/gün ve 620.000 m<sup>3</sup>/gün kapasiteye sahip, ileri biyolojik atıksu arıtımı yapan AAT'lerin deşarj noktalarına yakın olmak üzere temsilen seçilmiştir<sup>(26)</sup>. Her iki tesisin atıksuları arıttıktan sonra dere yoluyla Marmara Denizi'ne deşarj edilmektedir. Ayrıca, İstanbul kıyısız alanında AAT deşarjlarının etkisi altında olmayan bir adet kontrol istasyonu seçilmiştir.



Şekil 1. Çalışma alanı ve istasyonlara ait genel bilgiler (Google Haritalar'dan uyarlanmıştır.)

Belirlenen istasyonlardan, Ekim 2020 ve Eylül 2021 tarihleri arasında aylık olarak numune alınmıştır. Çalışma alanından örnekler, 100 ml olacak şekilde önceden temizlenmiş amber cam özellikteki geniş ağızlı şişeler ile seçilen istasyonların yüzey suyu (0-20 cm derinlikte) örnekleri doldurularak toplanmıştır.

Biyolüminesans Bakteri ile Akut Toksikite Testi: Biyolüminesans Bakteri ile Akut Toksikite Testi için iki farklı prosedür uygulanmıştır. Önce tüm numuneler için, Microtox® Temel Test prosedürü tercih edilmiştir. Bu prosedür, toksisitesi belli olmayan numuneler için kullanılmaktadır. Microtox® Temel test, biyolüminesans bakteriler tarafından üretilen biyolüminesans değişikliklerini ölçerek yüzeysel su, yeraltı suyu, atıksular, sızıntı sularından alınan numunelerin akut toksisitesini belirlemeye yardımcı olmaktadır<sup>(27)</sup>. Test genellikle, sulu çözeltiler için standart prosedür olarak kabul görmektedir.

Microtox® Temel testin toksisite aralığına uygun olmayan numuneler için ise, çok daha hassas olan Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi prosedürü uygulanmıştır. Buna göre, ay farkı gözetmeksizin Ambarlı ve Ataköy istasyonlarından alınan yüzey suyu numuneleri için Microtox® Temel Test, kontrol istasyonundan alınan yüzey suyu numuneleri için ise Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi yapılmıştır.

Microtox® akut toksisite testlerinde, denizel biyolüminesans bakterisi olan *A. fischeri* (NRRL B-11177)'ye göre akut toksisite tespiti, Microtox® Model 500 Analizörü ile ilgili testin üretici protokolüne göre yapılmıştır. Toksik maddeye maruz kaldığında, denizel bakteri hücrelerinin metabolizmasında ve/veya yapısında, doğal biyolüminesanslarının azalmasıyla sonuçlanan değişiklikler meydana gelmektedir<sup>(28,29)</sup>.

Literatürde tüm kimyasalların, atıksuların ve doğal numunelerin akut toksisitelerinin değerlendirilmesi için standart olarak 15 dakikalık maruziyet süresi geniş çapta kabul görmüş olup, Microtox® testlerinde standart (norm) olarak uygulanmaktadır<sup>(30)</sup>. Bu nedenle, testlerde 15 dakikalık inhibisyon süresinin

sonuçları verilmiştir<sup>(27)</sup>. Her iki prosedür de, pozitif kontrol olarak formaldehit kullanılmıştır<sup>(31)</sup>. Çalışmada kullanılan numunelere analiz öncesinde bir seyreltme yapılmamıştır.

Microtox® Temel Test: Test organizması olarak, rehidrasyon yöntemi kullanılarak (dondurularak kurutulmuş)  $10^8$  bakteri/vial kültürü içeren *A. fischeri* kullanılmıştır. Prosedüre göre<sup>(27)</sup>, %45 Basic Test seçilmiş olup; 10 µl bakteri kültürü %2'lik NaCl içeren 500 µl numunenin seyreltme serisine maruz bırakılmıştır. Prosedür gereği, negatif kontrol olarak %2'lik NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Metot gereği, biyolüminesans bakterinin toksik madde ile karşılaştıktan sonraki ışık çıkışı ile numune içermeyen %2'lik NaCl şahitin ışık çıkışı kıyaslanarak ölçüm yapılmaktadır. Şahit ve numunenin ışık çıkışı arasındaki fark, numunenin organizma üzerindeki etkisine dayanmaktadır. Testler, üç seri ve üç tekrar olarak yürütülmüştür.

Microtox Temel Test Prosedürü sonucunu elde etmek için gama değerleri, Denklem 1 ve Denklem 2'deki gibi hesaplanmaktadır. Düzeltme Faktörü ( $R_t$ ), negatif kontrolün (şahit) t süresinden sonra yayılan biyolüminesans ile negatif kontrolün (şahit) ilk yaydığı biyolüminesansa bölünmesiyle elde edilmektedir<sup>(27)</sup>.

$$\text{Denklem 1. } R_t = I_t / I_0$$

Gama değeri ( $\Gamma$ ), belirli bir numune konsantrasyonu için t zamanında kaybolan biyolüminesansın t zamanında kalan biyolüminesansa oranıdır<sup>(27)</sup>.

$$\text{Denklem 2. } I_t^- = (R_t \times I_0 - I_t) / I_t$$

Biyolojik inhibisyon teorisi, organizmanın toksik maddeye verdiği yanıtın gama değerleri cinsinden ölçülmesi sonucu toksik bir maddenin konsantrasyonu ile duyarlı bir organizmanın tepkisi arasında basit bir matematiksel ilişki öngörmektedir (Denklem 3). Bu denklem, b eğimine ve log a kesişimine sahip bir çizgiyi tanımlamakla birlikte, buradaki C konsantrasyonu ve  $\Gamma$  karşılık gelen gammayı temsil etmektedir.

**Denklem 3.**  $\log C = b \log I^{-1} + \log a$

$\log C$  ve  $\log I^{-1}$ , testin son noktası olan ortalama etkili konsantrasyon ( $EC_{50}$ ) tahmin etmek için kullanılmaktadır.  $EC_{50}$ , gamma 1'i temsil etmektedir.  $\log 1$  sıfır olduğundan, eğimin etkisi (b katsayısı) iptal edilmekte ve  $\log C$  tahmini  $\log a$  ile eşitlenmektedir.  $EC_{50}$ , deneysel koşullar altında, ölçülebilir %50'lik biyölüminsans azalmasını meydana getiren konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır<sup>(32)</sup>. Çalışılan numunelerin doz-yanıt eğrileri ve %95 güven aralığındaki  $EC_{50}$  değerleri Microtox Omni Yazılımı kullanılarak elde edilmektedir<sup>(33)</sup>.

Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi: Prosedüre göre, bu test referans numuneye karşı bilinmeyen bir numunenin göreceli akut toksisitesini değerlendirmektedir<sup>(11)</sup>. Karşılaştırma Testi, temel bir test kullanılarak bir  $EC_{50}$  değeri belirlenemediği durumlarda, düşük toksisiteye sahip numuneleri test etmek için en iyi protokoldür (Microtox Manual, 1992). Sonuç, deniz suyu/nehir ağzı numunesinin (bilinmeyen toksisite) ve referans numunenin (toksik olmayan numune) ışımaya değerleri arasındaki fark olarak ortaya çıkmaktadır. Referans numunenin tuzluluğu ile deniz suyundan alınan numunenin tuzluluğu aynı olmalıdır<sup>(27)</sup>.

Karşılaştırma Testi, iki numune arasında önemli bir fark olup olmadığını belirlemek için bir numunenin tek bir dilüsyonunu referans bir numuneyle karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Hem referans hem de numune 5 dilüsyon olacak şekilde bir sette analiz edilmiştir. Bir set 3 tekrar halinde çalışılmıştır. Her maruz kalma süresi için, referans numune ve numune için düzeltilmiş biyölüminsans değerleri ile aradaki ışımaya farkı hesaplanmaktadır (Denklem 4, 5 ve 6). Tahmini varyanslar ve bunlara karşılık gelen standart sapmalar ile birlikte istatistiksel yaklaşım belirlenerek, %95 güven aralığı hesaplanmaktadır. Farkın pozitif bir sayı olarak belirtilmesi, numunenin referans numuneden daha fazla toksik olduğunu, farkın negatif bir sayı olarak belirtilmesi ise; numunenin kontrolden (veya karşılaştırıldığı numuneden) daha az toksik olduğunu göstermektedir.

$X_c, X_s$  = Referans numune ( $X_c$ ) ve numune ( $X_s$ ) için t zamanındaki analizörde bireysel ışımaya okumaları

$\sum X_c, \sum X_s$  = Analizörde okunan ışımaların toplamları

$\bar{X}_c, \bar{X}_s$  = Analizörde okunan ışımaların ortalamaları,  
 $\sum X/n, n=5$

**Denklem 4.**  $CF = 1 + (1 - \bar{X}_s / \bar{X}_c)$

Denklem 4'te CF Düzeltme faktörünü ifade etmektedir. t=0 için düzeltme faktörü hesaplanmaktadır.

**Denklem 5.** Işımadaki fark =  $\bar{X}_c - (CF \times \bar{X}_s)$

**Denklem 6.** Işımadaki fark (%) =  $(Işımadaki fark / \bar{X}_c) \times 100$

Testin sonucu, bir referans numuneye kıyasla ortalama yüzde fark (Denklem 6) olarak rapor edilmektedir. Biyölüminsans değerlerinden hesaplanan ortalama ışımaya farkı değerleri (%), Microtox Omni Yazılımı kullanılarak elde edilmektedir. Microtox® Temel Testin son noktası olan  $EC_{50}$  farklı olarak, referans numune ve numuneler arasındaki ışımadaki yüksek farklılık, numunenin daha yüksek bir toksisite seviyesinde olduğu anlamına gelmektedir.

## BULGULAR

Bir yıllık örnekleme periyoduna ait Ambarlı, Ataköy ve kontrol istasyonunun, akut toksisite testi sonuçları değerlendirilmiştir. Şekil 2'de Ambarlı istasyonu yüzey sularının akut toksisite değerleri ( $EC_{50}$ ) aylara bağlı olarak verilmiştir. Ambarlı istasyonundan alınan yüzey suyu örneklerinde, ağırlıklı olarak "hormesis" sonucu elde edilmiştir. Farklı çalışmalarda, düşük dozlu eksojen bileşiklere bakteri tepkilerinin "hormesis" modeline karşılık geldiği ortaya konmuş ve bu çalışma ile benzer bulgular tespit edilmiştir. Echols ve ark.<sup>(34)</sup> tarafından yapılan çalışmada, uyarıcı etki olarak negatif sonuçlar bulunmuştur. Mattson<sup>(35)</sup> tarafından, hormesis, "kimyasal ya da çevresel faktörün yüksek dozları zararlı olan ama düşük dozda maruz kalmanın hücre veya organizma üzerinde

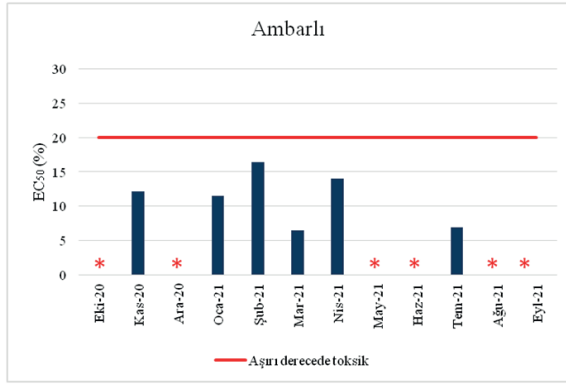
Tablo 1. Microtox® Temel Test ve Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi parametreleri<sup>(27)</sup>

Parametreler	Microtox® Temel Test (%45)	Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi
Kullanılan bakteri	<i>A. fischeri</i> (NRRL B-11177)	<i>A. fischeri</i> (NRRL B-11177)
Bakteri kültürü hacmi	10 µl	100 µl (seyreltilmiş)
Numune hacmi	500 µl	1500 µl
Ortam sıcaklığı	15°C	15°C
İnhibisyon süresi	15 dk	15 dk
Negatif Kontrol	%2'lik NaCl çözeltisi	Yok
Pozitif Kontrol	Formaldehit	Formaldehit
Referans numune	Yok-hazırlanmaz	Numune ile aynı tuzluluğa ait toksik olmayan numune hazırlanır
Çalışılabilen numune özellikleri	Akut toksisitesi bilinmeyen/orta ve/veya çok toksik olduğu öngörülen atıksu, su, kimyasal maddeler vb.	Akut toksisitesinin çok düşük olduğu öngörülen hassas su numuneleri, lagün, deniz suyu numuneleri vb.
Testin son noktasının hesaplanabilirliği	Bakteri ilk olarak negatif kontrole maruz kalmakta ve yaptığı ışımaya ölçülmektedir. Daha sonrasında bakteri, numuneye maruz bırakılmakta ve belirlenen inhibisyon süresi sonunda yaptığı ışımaya ölçülmektedir. Ölçümler, bir doz yanıt eğrisi oluşturmak için kullanılmakta ve EC <sub>50</sub> değeri hesaplanmaktadır.	Bakteri ilk olarak negatif kontrole maruz kalmakta ve yaptığı ışımaya ölçülmektedir. Daha sonrasında bakteri, hem referans numuneye hem de numuneye maruz bırakılmakta ve belirlenen inhibisyon süresi sonunda yaptığı ışımaya ölçülmektedir. Testin sonucu, bir referans numuneye kıyasla ortalama yüzde fark olarak rapor edilmektedir.
Testin son noktası	Ortalama etkili konsantrasyon EC <sub>50</sub> (mg/L veya %)	İşimada yüzde fark
Sonucun hesaplanmasın kullanılan yazılım/program	Microtox Omni Yazılım	Microtox Omni Yazılım
Sonucun yorumlanması	EC <sub>50</sub> (mg/L veya %) değeri ne kadar düşük ise, akut toksisite o kadar yüksektir. Testin sonunda elde edilen, 100 mg/L'nin üzerindeki EC <sub>50</sub> değerine sahip numuneler toksik olmayan numune özelliği sergilemektedir.	İşimada yüzde farklılık, çalışılan numunenin hazırlanan toksik olmayan referans numuneye karşı akut toksisitesindeki farklılığını yansıtmaktadır. Testin sonunda elde edilen değerler, %0-99 arasında değişmektedir.

adaptif yararlı bir etki yarattığı süre” şeklinde ifade edilmektedir. Toksikolojide hormesis, klasik J-şeklinde veya ters U-şeklinde eğrilerle sonuçlanan, düşük dozda fizyolojik stimülasyon ve daha yüksek dozda inhibisyon ile karakterize edilen bir doz-yanıt olgusudur. Genel olarak, düşük stres etkenlerine maruz kalma durumlarına olumlu biyolojik tepkiler olarak yorumlanır<sup>(12,36,37)</sup>.

Sayısal sonuç olarak elde edilen EC<sub>50</sub> değerlerinin ise, %6.44 ile %16.41 arasında değişiklik gösterdiği görülmektedir. Bilindiği üzere, EC<sub>50</sub> değeri ne kadar düşük ise, toksisite seviyesi o kadar yüksektir<sup>(38-40)</sup>. Biyoluminesans bakteri ile akut toksisite seviyelerinin EC<sub>50</sub> değeri 1-19 aşırı derecede toksik; 20-39 çok toksik; 40-59 toksik; 60-79 orta derecede toksik;

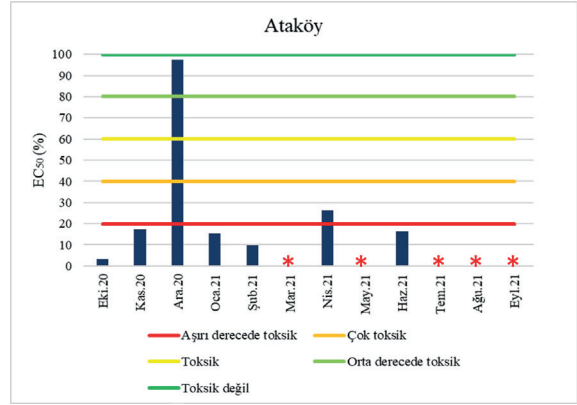
80-99 az toksik; >100 toksik olmayan olarak sınıflandırılmaktadır<sup>(27)</sup>. İstasyonda hormesis sonucu haricinde, EC<sub>50</sub> değeri elde edilen ayların ortalama akut toksisite değeri ise, %11.22±6.43 olarak hesaplanmıştır. Ambarlı istasyonunun yüzey sularında çalışma periyodunun 12 aylık döneminin yarısında, “aşırı derecede toksik” seviyesi tespit edilirken, diğer yarısında “hormesis” sonucu elde edilmiştir. Ramirez-Morales ve ark.<sup>(41)</sup>, Kosta Rika’da domuz çiftliklerinde kullanılan farmasötiklerin bölgedeki yüzeysel su alanlarında sebep olabileceği toksisiteyi belirlemek amacıyla hem çiftlik atıksularında hem de bölgedeki yüzeysel sulardan aldıkları örneklerde Microtox® ile ekotoksikolojik test gerçekleştirmişlerdir. Çalışılan numunelerin %21’lik bölümü çok toksik olarak sınıflandırılmıştır.



**Şekil 2.** Ambarlı istasyonunun aylara bağlı olarak Microtox® Temel Testi akut toksisite değerleri (EC<sub>50</sub> (%)) ("Hormesis" sonucu sayısal bir değere karşılık gelmediği için grafiklerde %0 olarak kabul edilmiş olup, " \* " işareti ile vurgulanmıştır.)

Ataköy istasyonu yüzey sularının akut toksisite değerleri (EC<sub>50</sub>) aylara bağlı olarak değişimi Şekil 3'te verilmiştir. Ataköy istasyonundan alınan yüzey suyu örneklerinde, en yüksek toksisite Ekim '20 ayında (EC<sub>50</sub> değeri %9.78) tespit edilmiştir. En düşük toksisite ise, %97.59 EC<sub>50</sub> değeri ile Aralık '20 ayında bulunmuştur. Boluda ve ark.<sup>(42)</sup> tarafından yapılan çalışmada Microtox® testine 15 dakika maruz kaldıktan sonra elde edilen sulama kanalları numunelerinin akut toksisite sonuçları %90'ın üzerinde bulunmuş olup, herhangi bir toksik etki göstermediği şeklinde yorumlanmıştır. Zadorozhnaya ve ark.<sup>(40)</sup> Katalonya'nın 54 farklı bölgesinden aldıkları su örneklerinde Microtox® testi ile su toksisite seviyelerini belirleme çalışması gerçekleştirmiştir. Analiz sonuçları doğrultusunda yüksek EC<sub>50</sub> değerine bağlı olarak toksisite seviyesi düşük olarak yorumlanmıştır. Bununla birlikte bölgelerdeki endüstriyel faaliyetlere bağlı olarak toksisitesi belirlenmek istenilen kirleticiler de değişiklik gösterebilmektedir. Ambarlı istasyonuna benzer olarak, diğer aylarda ise, "hormesis" sonucu bulunmuştur. Yine Ambarlı istasyonuna benzer olarak, Ataköy istasyonunun yüzey suları çalışma periyodunun yarısından fazlasında "çok toksik" seviyesinde tespit edilirken, diğer dönemlerde "hormesis" olarak kayda geçmiştir.

Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testine göre, akut toksisite testi gerçekleştirilen kontrol istasyonuna ait yüzeyel su örneklerinde, ay farkı gözetmeksizin sayısal bir sonuç elde edilebilecek herhangi bir ışımaya



**Şekil 3.** Ataköy istasyonunun aylara bağlı olarak Microtox® Temel Testi akut toksisite değerleri (EC<sub>50</sub> (%)) ("Hormesis" sonucu sayısal bir değere karşılık gelmediği için grafiklerde %0 olarak kabul edilmiş olup, " \* " işareti ile vurgulanmıştır.)

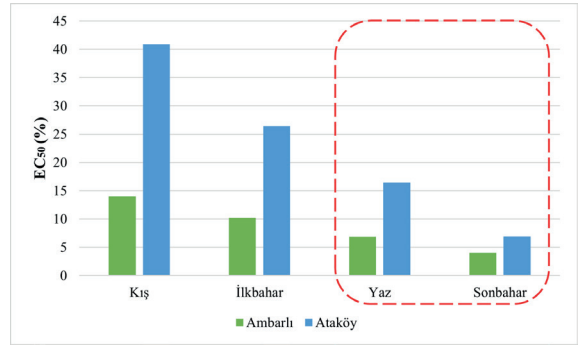
farkı bulunamamıştır. Diğer toksisite testlerinde olduğu gibi, bakterinin numuneye karşı verdiği tepki, mazuriyet süresine bağlı olarak test edilen spesifik bileşik veya numunenin kimyasal yapısı ile ilişkilidir<sup>(30)</sup>. Uygun prosedürün seçimi, numunenin tipine ve fiziksel özelliklerine, numunenin nispi toksisitesine, test amaçlarına bağlıdır. Sucul toksikoloji üzerine yapılan çalışmalarda bilinen çevresel toksikolojik yanıtların haricinde, *A. fischeri* ile yapılan farklı prosedürler ile de karşılaşılmaktadır. Sönmez ve Sivri<sup>(11)</sup> tarafından Küçükçekmece Lagünü su kalitesi indeksinin belirlendiği çalışmaya da benzer olarak, Microtox® Deniz ve Nehir Ağzı Numuneleri için Karşılaştırma Testi farklı karakterizasyondaki su örneklerine (deniz, göl ve lagün) uygulanmış ve "hormesis" sonucu alınmıştır.

Ambarlı ve Ataköy istasyonları için uygulanan "Microtox® Temel Test - Microtox® Basic Test" prosedürü, yüzeyel su kalitesi açısından daha kötü olan sularda sonuç verilebildiği aşikardır. Çünkü, Ambarlı ve Ataköy AAT'leri deşarjlarının tamamını kıydan Marmara denizi üst tabakasına vermektedir. Bu AAT'ler başta evsel olmak üzere, hastane, tekstil sanayi, kağıt fabrikası ve lojistik hizmetleri gibi sanayilere ait atıksuları da arıtmaktadır<sup>(43,44)</sup>. Ancak bazı endüstriyel kuruluşlar AAT yatırımı yapmaktan kaçınmakta veya kurulu AAT'yi uygun şekilde işletmemektedir. Kanalizasyon sistemine kaçak deşarj yapan endüstriyel kuruluşlar kentsel AAT yükünü artırmakta ve bu nedenle hedeflenen çıkış suyu kalitesi sağlanamamaktadır<sup>(43)</sup>. Örneğin,

Küba'daki bakır madeninde oluşan bir çukur gölü olan El Cobre Blue Lagünü'nün ekotoksitesitesi Microtox® Temel Test yardımı ile tespit edilmiştir. Çalışılan tüm su numunelerinde metal konsantrasyonları yüksek olduğu için, sonuçların %2.4-4.4 oranında değiştiği ve yüksek toksisite seviyelerinde olduğu bulunmuştur<sup>(45)</sup>. Bir başka çalışma olan, Bothnia Körfezi'ndeki nehir ağızlarından alınan yüzeysel su örneklerine *A. fischeri* ile akut ve kronik toksisite testleri uygulanmıştır<sup>(46)</sup>. Yüksek metal konsantrasyonları tespit edilen numunelerde, %0.03 ile %9.34 değerleri arasında değişen yüksek toksisite değerleri saptanmıştır. Phyu ve ark.<sup>(38)</sup> tarafından Upper Colo Nehri (Sidney, Avustralya) yüzeysel suyu ve sedimentinden aldığı örneklerde bölgeye deşarj edildiği düşünülen herbisitlerin toksisite seviyesini test etmişlerdir. Sonuçlar, su ve sediment numuneleri için düşük EC<sub>50</sub> değerine (sırasıyla 1.8-3.6 mg/L ve 1.3-4.2 mg/L) bağlı olarak yüksek toksisiteyi işaret etmiştir. Wei ve ark.<sup>(47)</sup> ise, liman bölgesindeki yüzeysel sularında (Hong Kong, Çin) bir grup antibiyotik'in toksisitesini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaların sonucunda da düşük EC<sub>50</sub> değerine bağlı olarak yüksek toksisite tespiti yapılmıştır.

Zamana bağlı olarak toksisite sonuçları değerlendirildiğinde, istasyonlar arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak, her iki istasyonun dönem dönem "aşırı derecede toksik" veya "çok toksik" seviyede iken, dönem dönem hormesis seviyesinde olması, özellikle AAT'ye gelen ani, değişken kirletici yükleri ve kirleticilerin kimyasal etkileşimleri ile açıklanabilmektedir. Özellikle organik mikrokirleticilerin çevresel etkileri bazı prosesler ile azaltılabiliyorken, bazı mikrokirleticiler için çoğu prosesler ile daha toksik hale dönüştürebilmektedir<sup>(48,49)</sup>. Mikrokirleticilerin oluşturacağı toksisite, çevresel sularda bulunan mikro ya da nanoplastikler sebebiyle de artabildiği bilinmektedir<sup>(3,50,51)</sup>.

İstasyonlara ait toksisite sonuçları mevsimsel olarak değerlendirildiğinde, tüm istasyonların yüzeysel suyu düşük toksisiteden yüksek toksisiteye doğru kış < ilkbahar < yaz < sonbahar şeklinde olduğu görülmektedir (Şekil 4). Ancak hormesis sonucunun sayısal bir ifade karşılığı olmadığından ortalamaya dâhil edilememiştir. Bu doğrultuda, Ataköy istasyonu



Şekil 4. İstasyonların yüzeysel suyu toksisitesinin mevsimlere bağlı değişimi (Kurak sezon kırmızı çerçeve ile gösterilmiştir.)

özelinde Aralık ayında tespit edilen sonuçta, yağışlı dönemde meydana gelen seyrelmenin etkili olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, Ambarlı ve Ataköy istasyonlarından mevsimlere bağlı olarak elde edilen veriler arasında pozitif yönde yüksek korelasyon bulunmuştur (r=0.998). İstanbul ili için belirlenen kurak sezonda (Mayıs ve Ekim ayları arası) toksisite seviyesinin, yağışlı sezona göre daha yüksek seviyede (düşük EC<sub>50</sub> değerleri) olduğu görülmektedir. Uzun ve kuru bir yaz mevsiminde toksik özellik gösteren kirleticilerin fazla seyrelmemesi nedeniyle, alınan yüzeysel su örneklerinde yüksek toksisitenin tespitine neden olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer olarak, Selanik yüzeysel sularında tespit edilen toksisitenin ilkbahar mevsiminde analiz edilen toksisitenin, sonbahar başlarına göre daha düşük olduğu görülmüştür<sup>(2)</sup>.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, İstanbul ili özelinde ileri biyolojik atıksu arıtma tesisleri çıkış sularının yüzeysel sularla karıştığı alanlardan alınan su numunelerinin akut toksisite seviyelerinin "aşırı derecede toksik" ile "hormesis" arasında geniş bir yelpazede olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında ise özellikle yağışlı dönemlerde, seyrelmenin etkisi ile yüzeysel sularının toksisite açısından su kalitesinde iyileşme olduğu görülmektedir.

Microtox® testi ile yüzeysel suyu kalitesinin takibi ve toksisitesinin belirlenmesi, çevresel kontrolün önde gelen trendi olarak değerlendirilmektedir<sup>(40)</sup>. Bilindiği üzere yüzeysel suları bölgelerin kendine özgü dinamikleri dolayısıyla farklı su karakteristiğine



sahip olmakta, beraberinde farklı kirleticilere maruz kalabilmektedir<sup>(52)</sup>. Bununla paralel bu dinamiklerin sebep olduğu etkileri belirlemek amacıyla literatürde Microtox® testi ile suların toksisite seviyesini belirlemeye yönelik gerçekleştirilmiş birçok çalışma mevcuttur. Ayrıca, su kalitesi ve kontrolünü sağlayabilmek adına, analizi gerçekleştirilebilen çevresel kirleticilerin bir arıtma tesisi aracılığıyla giderimi sağlandıktan sonra arıtılmış suyun alıcı ortama verilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda yapılan son çalışmalarda yüksek toksisiteye sahip kirleticilerin alternatif arıtım metotları ile giderimi sonrası toksisite testlerinin yapılması iş planlarına dahil edilerek akademik yayınlarda sıklıkla yer verilmektedir<sup>(53-55)</sup>.

Atıksuların yönetimi ve alıcı ortama deşarjı ile ilgili ulusal ve uluslararası otoriteler tarafından çıkarılan çok sayıda düzenleyici kanunun amacı, hem insan sağlığını hem de bir ekosistemde yaşayan organizmaları korumaktır. Akut toksisite testleri, kirliliğe sebep olan kimyasal maddeleri ölçmese de test organizmaları üzerindeki toksik etkiyi doğrudan ölçebilirler. Biyoluminesans bakterisi ile akut toksisite testi, araştırmacılar tarafından ekotoksikolojik çalışmalarda tercih edilen farklı trofik seviyelerdeki organizmalar ile yapılan toksisite testleri ile yüksek korelasyon göstermektedir. Diğer testlere nazaran sunduğu avantajlar nedeniyle, biyoluminesans bakterisi ile akut toksisite testi, farklı karakterizasyondaki kıyasal alanın su kalitesini değerlendirmede çok faydalı bir araç olabilir. Bu çalışma, standartlaştırılmış Microtox® yöntemlerinin birçok prosedürü olmasına rağmen kapsam, içerik, deney düzeneği, protokol türleri ve test sonuçları uygulamaları açısından birbirlerinden biraz farklı oldukları vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, standartlaştırılmış Microtox® yöntemlerinin ve prosedürlerinin kullanılması, testin sonucunun kesinliğine katkı sağlamaktadır.

Kıyasal alan suyu kalitesinin değerlendirilmesi için, su kütlesinin ekolojik kalitesini belirlemek ve su deşarjlarının su yaşamına etkisini değerlendirmek için biyoanalizler kimyasal analiz testleri ile birleştirilmelidir. Hızlı, hassas ve mikro ölçekli toksisite testlerinin, entegre çevresel kalite değerlendirmesi

için umut verici araç olarak önerilmektedir. Yüzeysel suların toksisite profili, bilim adamlarının ve su yöneticilerinin, izleme programlarında hedeflenmeyen seçili öncelikli kirleticiler dışındaki kimyasalların (potansiyel) zararlı etkilerini değerlendirmelerine, kaynakları belirlemelerine ve kirleticiler ile ekolojik etkiler arasında bir ilişki kurmaya yardımcı olacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma birinci yazarın “Yüzeysel suların toksisitesinde mikroplastiklerin rolü ve giderim alternatiflerinin değerlendirilmesi” (İÜC Lisansüstü Eğitim Enstitüsü - Çevre Mühendisliği ABD) başlıklı doktora tezinden üretilmiştir. Ayrıca, çalışmanın bir kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 121Y073 no’lu proje ile desteklenmiştir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansman:** Çalışmanın bir kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 121Y073 no’lu proje ile desteklenmiştir.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Funding:** A part of the study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBİTAK 121Y073).

## KAYNAKLAR

1. Şişman-Aydın G, Oral R. Investigation of the hormesis/toxicity potential of Manisa (Turkey) urban wastewater treatment plant by using *Selenastrum capricornutum* Printz. Fresen Environ Bull. 2014;23(5):1183-9.
2. Kungolos A, Samaras P, Koutseris E. Using bioassays for testing seawater quality in Greece. J Environ Sci Health A. 2003;38(3):533-44. <https://doi.org/10.1081/ESE-120016915>
3. Dogruel S, Gurel M, Pehlivanoglu Mantas E. Mikrokirleticiler: Tanım, mevzuat ve ülkemizde atıksularda ve yerüstü sularında mevcudiyetleri. Çevre, İklim ve Sürdürülebilirlik. 2022;23(2):133-44.

4. Szklarek S, Kiedrzyńska E, Kiedrzyński M, Mankiewicz-Boczek J, Mitsch WJ, Zalewski M. Comparing ecotoxicological and physicochemical indicators of municipal wastewater effluent and river water quality in a Baltic Sea catchment in Poland. *Ecol Indic.* 2021;126:107611. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107611>
5. Sonmez VZ, Sivri N, Dokmeci AH. Determination of the toxicity of different discharge waters using acute toxicity tests approved for national pollutant discharge permit in Turkey. *Biosci Biotech Res Asia.* 2016;13(2):609-14. <https://doi.org/10.13005/bbra/2076>
6. Balkis N, Balci M, Giannakourou A, Venetsanopoulou A, Mudie P. Dinoflagellate resting cysts in recent marine sediments from the Gulf of Gemlik (Marmara Sea, Turkey) and seasonal harmful algal blooms. *Phycologia.* 2016;55(2):187-209. <https://doi.org/10.2216/15-93.1>
7. Isidori M, Parrella A, Piazza CML, Strada R. Toxicity screening of surface waters in southern Italy with Toxkit microbiotests. In: *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring.* Boston, MA: Springer; 2000:289-93.
8. Niemirydz E, Nichthausen J, Staniszewska M, Nałęcz-Jawecki G, Bolałek J. The Microtox® biological test: Application in toxicity evaluation of surface waters and sediments in Poland. *Oceanol Hydrobiol Stud.* 2007;36(4):151-63. <https://doi.org/10.2478/v10009-007-0030-5>
9. Radić S, Stipaničev D, Cvjetko P, et al. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2011;74(2):182-7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.06.011>
10. Ho KT, Konovets IM, Terletska AV, et al. Contaminants, mutagenicity and toxicity in the surface waters of Kyiv, Ukraine. *Mar Pollut Bull.* 2020;155:111153. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111153>
11. Sönmez VZ, Sivri N. Temporal changes in water quality index of polluted lagoon ecosystems: a case study on the Küçükçekmece Lagoon. *Environ Monit Assess.* 2022;194(1):16. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09632-8>
12. Yehia MR, Smolyarova TE, Shabanov AV, Sushko ES, Badun GA, Kudryasheva NS. Adaptation of a bacterial bioluminescent assay to monitor bioeffects of gold nanoparticles. *Bioengineering (Basel).* 2022;9(2):61. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9020061>
13. Farré M, García MJ, Tirapu L, Ginebreda A, Barceló D. Wastewater toxicity screening of non-ionic surfactants by Toxalert® and Microtox® bioluminescence inhibition assays. *Anal Chimica Acta.* 2001;427(2):181-9.
14. Parvez S, Venkataraman C, Mukherji S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environ Int.* 2006;32(2):265-68. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.08.022>
15. Sönmez VZ, Akarsu C, Sivri N. The ecotoxicological effects of microplastics on trophic levels of aquatic ecosystems. In: Hashmi MZ, editor. *Microplastic Pollution. Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies.* Springer, Cham; 2022:389-428.
16. Muneeswaran T, Kalyanaraman N, Vennila T. Rapid assessment of heavy metal toxicity using bioluminescent bacteria *Photobacterium leiognathi* strain GoMGM1. *Environ Monit Assess.* 2021;193:109. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-08860-2>
17. Ismailov AD, Aleskerova LE. Photobiosensors containing luminescent bacteria. *Biochemistry (Mosc).* 2015;80(6):733-44. <https://doi.org/10.1134/S0006297915060085>
18. Kudryasheva NS, Kovel ES. Monitoring of low-intensity exposures via luminescent bioassays of different complexity: Cells, enzyme reactions and fluorescent proteins. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4451. <https://doi.org/10.3390/ijms20184451>
19. Rozhko TV, Nogovitsyna EI, Badun GA, Lukyanchuk AN, Kudryasheva NS. Reactive oxygen species and low-dose effects of tritium on bacterial cells. *J Environ Radioact* 2019;208-209:106035. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.106035>
20. Yamauchi M, Sakuma S. Development of bioassay system for evaluation of materials for personal protective equipment (PPE) against toxic effects of ionizing radiations. *Ind Health.* 2017;55(6):580-3. <https://doi.org/10.2486/indhealth.2017-0128>
21. Sönmez VZ, Sivri N. The toxic effects of commonly used antibiotics in Turkey on aquatic organisms. *J Anatol Environ Animal Sci.* 2020;5(2):154-60. <https://doi.org/10.35229/jaes.687327>
22. Sönmez VZ, Sivri N. Change of acute toxicity of dyestuff wastewaters. *Pol J Environ Stud.* 2020;29(1):491-8. <https://doi.org/10.15244/pjoes/102371>
23. Yildiz S, Sönmez, VZ, Uğurlu Ö, Sivri N, Loughney S, Wang J. Modelling of possible tanker accident oil spills in the Istanbul Strait in order to demonstrate the dispersion and toxic effects of oil pollution. *Environ Monit Assess.* 2021;193:538 <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09339-w>
24. Amariei G, Jiménez-Jiménez S, García MÁ, Marina ML, Boltes K. First eco-toxicological evidence of ivabradine effect on the marine bacterium *Vibrio fischeri*: A chiral view. *Sci Total Environ.* 2022;838(Pt 4):156617. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156617>

25. Hu Y, Lei D, Wu D, Xia J, Zhou W, Cui C. Residual  $\beta$ -lactam antibiotics and ecotoxicity to *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* of pharmaceutical wastewater in the treatment process. *J Hazard Mater*. 2022;425:127840. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127840>
26. İstanbul Su ve Kanalizasyon İdaresi (İSKİ). Atık Su Aritma Tesisleri. 2022. [<https://www.iski.istanbul/web/tr-TR/kurumsal/iski-hakkinda1/iski-tesisleri/atik-su-aritma-tesisleri3>] (Erişim tarihi: 19.09.2022).
27. Microtox Kılavuzu. Microbics Corporation. Carlsbad, California. 1992.
28. Bond GP, Martin J. Microtox. In: Wexler P, editor. *Encyclopedia of Toxicology*. 2nd ed. New York: Elsevier; 2005:110-1.
29. Domínguez CM, Ventura P, Checa-Fernández A, Santos A. Comprehensive study of acute toxicity using Microtox® bioassay in soils contaminated by lindane wastes. *Sci Total Environ*. 2023;856(Pt 2):159146. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159146>
30. Qureshi AA, Bulich AA, Isenberg DL. Microtox\* Toxicity Test Systems - Where they stand today. In: Wells PG, Cairns J Jr, Lee K, et al. editors. *Microscale Testing in Aquatic Toxicology*. Boca Raton: CRC Press; 2018:185-99. <https://doi.org/10.1201/9780203747193-13>
31. Sönmez VZ, Sivri N. Interlaboratory precision of acute toxicity tests using reference toxicant formaldehyde. *J Anatol Environ Animal Sci*. 2016;1(3):96-9. <https://doi.org/10.35229/jjaes.277868>
32. Fulladosa E, Murat JC, Martínez M, Villaescusa I. Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fischeri* bacteria. *Chemosphere*. 2005;60(1):43-8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.026>
33. Turek M, Różycka-Sokołowska E, Owsianik K, Marciniak B, Bałczewski P. Modification of the Microtox® Basic Solid Phase Test: A new application for the ecotoxicological studies on poorly soluble antihypertensive drugs. *J Hazard Mater*. 2020;399:122839. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122839>
34. Echols BS, Smith AJ, Gardinali PR, Rand GM. Acute aquatic toxicity studies of Gulf of Mexico water samples collected following the Deepwater Horizon incident (May 12, 2010 to December 11, 2010). *Chemosphere*. 2015;120:131-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.048>
35. Mattson MP. Hormesis defined. *Ageing Res Rev*. 2008;7(1):1-7. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.08.007>
36. Kaiser J. Hormesis: Sipping from a poisoned chalice. *Science*. 2003;302(5644):376-9. <https://doi.org/10.1126/science.302.5644.376>
37. Calabrese EJ. Hormetic mechanisms. *Crit Rev Toxicol*. 2013;43(7):580-606. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.808172>
38. Phyu YL, Warne MSJ, Lim RP. Effect of river water, sediment and time on the toxicity and bioavailability of molinate to the marine bacterium *Vibrio fischeri* (Microtox). *Water Res*. 2005;39(12):2738-46. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.04.051>
39. Cao SDS, Fontoura GAT, Dezotti M, Bassin JP. Combined organic matter and nitrogen removal from a chemical industry wastewater in a two-stage MBBR system. *Environ Technol*. 2016;37(1):96-107. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1063708>
40. Zadorozhnaya O, Kirsanov D, Buzhinsky I, et al. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sens Actuators B Chem*. 2015;207:1069-75. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.08.056>
41. Ramírez-Morales D, Masis-Mora M, Beita-Sandí W, et al. Pharmaceuticals in farms and surrounding surface water bodies: Hazard and ecotoxicity in a swine production area in Costa Rica. *Chemosphere*. 2021;272:129574. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129574>
42. Boluda R, Quintanilla JF, Bonilla JA, Sáez E, Gamón M. Application of the Microtox® test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain). *Chemosphere*. 2002;46(2):355-69.
43. Öztürk İ, Şeker M. Marmara Denizi'nin ekolojisi: Deniz salyası oluşumu, etkileşimleri ve çözüm önerileri. Ankara: TUBA; 2021.
44. Sönmez VZ, Cumbul Altay M. Mikroplastik sıcak noktalarına (Hot-Spots) atıksu artıma tesislerinin potansiyel etkisi: İstanbul örneği. İstanbul, Türkiye: TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı; 2022.
45. Gámez OR, Laffont-Schwob I, Prudent P, et al. Assessment of water quality from the Blue Lagoon of El Cobre mine in Santiago de Cuba: A preliminary study for water reuse. *Environ Sci Pollut Res*. 2019;26(16):16366-77. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05030-3>
46. Wallin J, Karjalainen AK, Schultz E, Järvisjö J, Leppänen M, Vuori KM. Weight-of-evidence approach in assessment of ecotoxicological risks of acid sulphate soils in the Baltic Sea river estuaries. *Sci Total Environ*. 2015;508:452-61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.073>
47. Wei CJ, Li XY, Xie YF, Wang XM. Direct photo transformation of tetracycline and sulfanamide group antibiotics in surface water: kinetics, toxicity and site modeling. *Sci Total Environ*. 2019;686:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.041>

48. Chen L, Wang Z. Effects of chlorination, ultraviolet and ozone disinfection on the biotoxicity of triclosan. *Water Supply*. 2019;19(4):1175-80. <https://doi.org/10.2166/ws.2018.175>
49. Li L. Toxicity evaluation and by-products identification of triclosan ozonation and chlorination. *Chemosphere*. 2021;263:128223. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128223>
50. Yu Y, WY Mo, Luukkonen T. Adsorption behaviour and interaction of organic micropollutants with nano and microplastics – A review. *Sci Total Environ*. 2021;797:149140. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149140>
51. Sönmez VZ, Akarsu C, Cumbul Altay M, Sivri N. Extraction, enumeration, and identification methods for monitoring microplastics in the aquatic environment. In: Hashmi MZ, editor. *Microplastic Pollution. Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies*. Springer, Cham; 2022:21-66.
52. Ntajal J, Falkenberg T, Kistemann T, Evers M. Influences of land-use dynamics and surface water systems interactions on water-related infectious diseases - A systematic review. *Water*. 2020;12(3):631. <https://doi.org/10.3390/w12030631>
53. Pogorzelec M, Piekarska K. Toxicity assessment of water at different stages of treatment using Microtox assay. In: *E3S Web of Conferences, EDP Sciences*, 2017;17:00076.
54. Araújo CV, Nascimento RB, Oliveira CA, Strotmann UJ, da Silva EM. The use of Microtox to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil). *Chemosphere*. 2005;58(9):1277-81. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.036>
55. Rodríguez-Loaiza DC, Ramírez-Henao O, Peñuela-Mesa GA. Assessment of toxicity in industrial wastewater treated by biological processes using luminescent bacteria. *Act Biol*. 2016;38(105):211-6. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v37n105a08>