

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel
rehberi

YASAL UYARI

Bu belge, kullanıcılara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik uyarınca yükümlülüklerini yerine getirmelerine yardımcı olma amaçlı bir dizi rehber belgeden biridir. Bununla beraber, söz konusu Yönetmeliğin tek gerçek referans olduğu ve işbu belgede yer verilen bilgilerin yasal tavsiye niteliğinde olmadığı hatırlatılır. Bilgilerin kullanımı tamamen kullanıcının sorumluluğundadır. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı işbu belgenin içindeki bilgilerin kullanımından açığa çıkabilecek hiçbir yükümlülük kabul etmemektedir.

Bu rehber, Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency-ECHA) tarafından REACH Tüzüğü'nün uygulanmasına ilişkin hazırlanan "Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.7b: Endpoint specific guidance" adlı rehberden Türkçe'ye çevrilmiş ve Türkiye'deki mevzuata göre uyarlanmıştır. Rehberin İngilizce orijinal metnine ECHA'nın web sitesinden erişilebilir (<https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>).

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Bu Rehber dokümana ilişkin sorularınız ya da yorumlarınız varsa (yorumlarınızın olduğu dokümanın referans numarasını, yayınlanma tarihini, bölüm ve/veya sayfa numarasını belirterek), Kimyasallar Yardım Masasındaki soru formunu kullanarak gönderebilirsiniz. Geri bildirim formuna Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kimyasallar Yardım Masasında aşağıdaki linki kullanarak doğrudan ulaşabilirsiniz.

<https://kimyasallar.csb.gov.tr/rehber-dokumanlar/18>

Çevre ve Şehircilik Bakanlığı

Mustafa Kemal Mahallesi Eskişehir Devlet Yolu (Dumlupınar Bulvarı) 9. km. No: 278
Çankaya / Ankara | Tel: +90 (312) 474 03 37

ÖNSÖZ

Bu belge Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında madde özellikleri, maruz kalma, kullanım ve risk yönetim önlemleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmesine ilişkin bilgi gerekliliklerini açıklamaktadır. Tüm paydaşlara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında yükümlülüklerini yerine getirmek için yaptıkları hazırlıklarda yardım etmeyi amaçlayan bir dizi rehberden biridir. Bu rehberlerde temel Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik süreçleri ile sanayi ya da yetkili kurumlar tarafından Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik kapsamında kullanılması gereken belirli bazı bilimsel ve/veya teknik yöntemlere detaylı bir şekilde yer verilmektedir.

Rehberler, Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Kimyasallar Yardım Masası (<https://kimyasallar.csb.gov.tr>) internet sitesi üzerinden sağlanabilir.

Bu belge, 23/06/2017 tarihli ve 30105(mükerrer) sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren Kimyasalların Kaydı, Değerlendirmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmeliğe ilişkindir.

BELGENİN TARİHÇESİ

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1	İlk baskı	Mayıs 2008
Versiyon 1.1	Ek 7.8-5 "Endokrine ve diğer ilgili etkilere ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi" bölümündeki kayıp başlıkların yeniden açıklanması	Ağustos 2008
Versiyon 1.2	Düzeltilme: (i) 27092 sayılı yönetmeliğin referanslarının SEA referansları ile değiştirilmesi; (ii) diğer küçük içerik değişiklikleri/düzeltilmeleri.	Kasım 2012
Versiyon 2.0	İkinci baskı. KKDİK Yönetmeliği, Ek 8'de (15 Mart 2011 tarihli (AB) 253/2011 sayılı Komisyon Yönetmeliğine göre, OJ L 69 7 16.3.2011) yapılan değişikliğin ardından <u>BG ve KGD Rehberi'nin</u> R.11 Bölümünün revize edilmiş versiyonunun (2.0) dikkate alınmasına ilişkin belgenin kısmi revizyonu. Rehber belgedeki ana değişiklikler aşağıdakileri içermektedir: <ul style="list-style-type: none"> Güncellenen Bölüm R.11'e referanslar eklenmiştir ve ilgili metin güncellenmiştir; Tekrarlanan Şekil R.7.8-1 silinmiştir; Şekillerin, Tabloların ve Eklerin numaralandırılmasındaki hatalar düzeltilmiştir. Özellikle: Şekil R.7.8-8 Tablo R.7.8-4'te yeniden etiketlenmiştir; Şekil R.7.8.-9 ve Şekil R.7.8-10 sırasıyla Şekil R.7.8-8 ve Şekil R.7.8-9 ile değiştirilmiştir; Tablo R7.8-4 ve Tablo R.7.8-5 sırasıyla Tablo R.7.8-5 ve Tablo R.7.8-6 ile değiştirilmiştir; Ek R.7.8-4 ve Ek R.7.8-5 sırasıyla Ek R.7.8-3 ve Ek R.7.8-4 ile değiştirilmiştir; ilgili çapraz referanslar güncellenmiştir. Bazı hatalı çapraz referanslar düzeltilmiştir; Belge, ÇSB'nin güncellenmiş kimliğine göre yeniden şekillendirilmiştir. 	Kasım 2014
Versiyon 3.0	Yalnızca çökelti ortamıyla ilgili metni kapsayan rehberin güncellenmesi. Ana değişiklikler özellikle şunları içermektedir: K _{ow} /K _{oc} destekli olmayan çökelti değerlendirmesi için olası tetikleyicilerin göstergelerinin eklenmesi.	Şubat 2016

- Uzun süreli çalışmaların kısa süreli çalışmalara göre daha iyi hale getirilmesi.
- En son gelişmelerin ardından en ilgili OECD, ASTM, US EPA ve ISO standartlarının referanslarının ve açıklamalarının R.7.8.9.1 Bölümüne ek; Standart dışı yöntemler için raporlama ihtiyaçları hakkında daha fazla ayrıntı; Tür seçimi ve maruz kalma yolları hakkında daha fazla bilgi; Denge dağılım yöntemi hakkında daha fazla açıklama.
- Bilginin değerlendirilmesinde türlerin ve organizmaların seçimi hakkında Bölüm R.7.8.10.1'de daha fazla açıklama; test çökeltisinin bileşimi üzerine metnin yeniden düzenlenmesi ve yapay ve doğalın artıları ile eksileri hakkında ek açıklamalar; testlerde yaşlanmanın etkisine ilişkin hususların eklenmesi; test tasarımı bölümünde Pasif Numune Alma Cihazlarının kullanımına referans eklenmesi.
- İzleme verilerinin ve sahada maruz kalma verilerinin ve bunların kullanılabilirliğinin rolü için Bölüm R.7.8.10.2'de daha fazla ayrıntı.
- Organik maddeler için biyoyararlanıma ilişkin değerlendirmeye ilgili Bölüm R.7.8.10.3'te daha fazla ayrıntı.
- Tür hassasiyeti dağılımı ve çökelti toksisitesinin değerlendirilmesindeki rolü üzerine yeni bir Bölüm R.7.8.11'in eklenmesi; EFSA Opinion 2015'e referansın eklenmesi.
- Belirsizliklerle ilgili R.7.8.12 bölümünün daha fazla geliştirilmesi.
- $RKO > 1$ olduğunda kutuların birleştirilerek Şekil 7.8-8'in güncellenmesi.
- Bölüm R.7.8.14.2'de, lipofiliklik tarafından tetiklenmeyen yüzeye tutunma/bağlanma davranışına sahip maddeler için RKO'ya ek bir 10 faktörünün uygulanmasının gerekebileceği açıklanmıştır. OECD, ISO, US EPA, ASTM ve OSPAR standardını kapsayacak şekilde en yaygın bentik test türlerine ilişkin Tablo R.7.8-6'nın güncellenmesi; her tür için ilgili testlerin bulunduğu bir sütunun eklenmesi.

	<p>İlave olarak, belge boyunca bazı hatalı çapraz referanslar düzeltilmiştir.</p>	
	<p>Bölüm R.11'in güncellenmiş sürümünü dikkate almak için PBT/vPvB amaçlarıyla ilgili olarak belgenin kısmi revizyonu. Rehber belgedeki ana değişiklikler aşağıdakileri içermektedir:</p> <ul style="list-style-type: none">• Bozunma/biyobozunma verileri için bilgi kaynaklarına ilişkin Bölüm R.7.9.3.1'in güncellenmesi;• Bozunma/biyobozunma verilerinin değerlendirilmesine ilişkin Bölüm R.7.9.4.1'in güncellenmesi;• PBT/vPvB değerlendirmesi için bozunma/biyobozunma verilerinin uygunluğu ile ilgili sonuca ilişkin Bölüm R.7.9.5.2'nin güncellenmesi;• Bölüm R.11'in revize edilmiş bölümlerine yönelik çapraz referansların ve bağlantıların güncellenmesi.	

KKDİK ve SEA Yönetmeliklerinden alıntı yapılması için kurallar

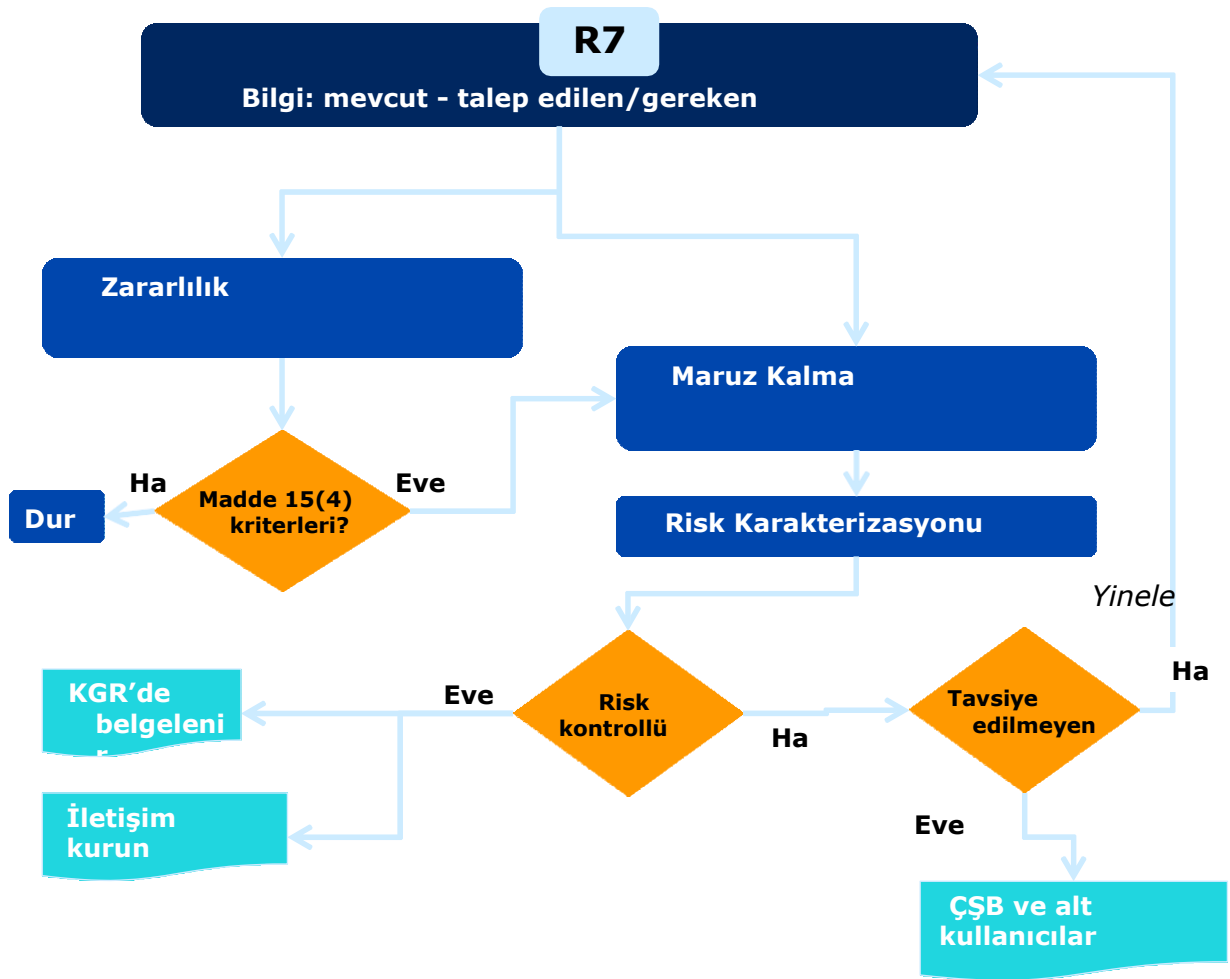
KKDİK ve SEA yönetmeliklerinden birebir olarak alıntı yapılması halinde, tırnak işareti içinde italik olarak belirtilir.

Terimler ve Kısaltmalar Tablosu

Bölüm R.20'ye bakınız.

Yol gösterici

Aşağıdaki şekil Bölüm R.7(b)'nin Rehber Doküman içerisindeki yerini göstermektedir



İçindekiler

R.7.8	Sucul toksisite; çökelti organizmalarında uzun süreli toksisite	12
R.7.8.1	Sucul pelajik toksisiteye giriş	12
R.7.8.1.1	Sucul pelajik toksisitenin tanımı	12
R.7.8.1.2	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin rehberin amacı	13
R.7.8.2	Sucul pelajik toksisite için bilgi gereklilikleri	14
R.7.8.3	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin bilgi kaynakları	16
R.7.8.3.1	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin veriler	16
R.7.8.4	Sucul pelajik toksisite ile ilgili mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	20
R.7.8.4.1	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin veriler	21
R.7.8.4.2	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin kalan belirsizlik	36
R.7.8.4.3	Sucul pelajik toksisite gerekliliklerine ilişkin maruz kalma hususları	37
R.7.8.5	Sucul pelajik toksisite ve bütünleşik test stratejisine (BTS) ilişkin sonuçlar	38
R.7.8.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	50
R.7.8.5.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	54
R.7.8.5.3	Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesine İlişkin Sonuçlar (PNEC Türetimi)	54
R.7.8.5.4	Genel sonuç	58
R.7.8.6	Sucul pelajik toksisiteye ilişkin referanslar	61
R.7.8.7	Çökelti organizmalarının toksisitesine giriş	135
R.7.8.7.1	Çökelti organizmalarında toksisite tanımı	135
R.7.8.7.2	Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin rehberin amacı	135
R.7.8.8	Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin bilgi gereklilikleri	136
R.7.8.9	Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin bilgi kaynakları	136
R.7.8.9.1	Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin veriler - bilgi kaynakları	137
R.7.8.10	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	142
R.7.8.10.1	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin veriler - bilgilerin değerlendirilmesi	142
R.7.8.10.2	Çökelti organizmalarına ilişkin saha verileri, izleme ve mezokozma verileri	151
R.7.8.10.3	KKDİK Eklerine göre kurallar ve çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin hususlar	152
R.7.8.11	Tür Hassasiyeti Dağılımları	154
R.7.8.12	Kalan belirsizlik	154
R.7.8.13	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin sonuçlar	155

R.7.8.13.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	155
R.7.8.13.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	156
R.7.8.13.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	156
R.7.8.14	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	156
R.7.8.14.1	Amaç / Genel ilkeler.....	156
R.7.8.14.2	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin test stratejisi	158
R.7.8.15	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin referanslar	162
R.7.8.16	AAT mikroorganizmalarının toksisitesine giriş.....	166
R.7.8.16.1	AAT mikroorganizmalarında toksik etkinin tanımı	166
R.7.8.16.2	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin rehberin amacı.....	166
R.7.8.17	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin bilgi gereklilikleri...166	
R.7.8.18	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin bilgi kaynakları	167
R.7.8.18.1	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ve kaynaklarına ilişkin laboratuvar verileri	167
R.7.8.18.2	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ve kaynaklarına ilişkin saha verileri	169
R.7.8.19	AAT mikroorganizmalarında toksisiteye ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	170
R.7.8.19.1	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin laboratuvar verileri ..	170
R.7.8.19.2	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin saha verileri.....	172
R.7.8.19.3	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin maruz kalma hususları	172
R.7.8.19.4	AAT mikroorganizmalarında toksik etki için kalan belirsizlik.....	173
R.7.8.20	Atık su arıtma tesisi mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin sonuçlar .173	
R.7.8.21	AAT mikroorganizmalarında toksik etki için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	174
R.7.8.21.1	Amaç / Genel ilkeler.....	174
R.7.8.21.2	Ön hususlar	174
R.7.8.21.3	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test stratejisi	175
R.7.8.22	AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin referanslar	178
R.7.9	Bozunma / biyobozunma	182
R.7.9.1	Giriş.....	182
R.7.9.1.1	Bozunma/biyobozunma tanımı	182
R.7.9.1.2	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin rehberin amacı.....	185

R.7.9.2	Bozunma/biyobozunmaya ilişkin bilgi gereklilikleri	186
R.7.9.2.1	Ek 7 (Kayıt tonajı > 1 ton/yıl - <10 ton/yılton/yıl)	186
R.7.9.2.2	Ek 8 (Kayıt tonajı ≥ 10 ton/yıl)	187
R.7.9.2.3	Ek 9 (Kayıt tonajı ≥ 100 ton/yıl)	188
R.7.9.2.4	Ek 10 (Kayıt tonajı ≥ 1000 ton/yıl)	190
R.7.9.3	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin bilgi kaynakları	191
R.7.9.3.1	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin veriler	191
R.7.9.3.2	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin saha verileri	198
R.7.9.4	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	200
R.7.9.4.1	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin veriler	200
R.7.9.4.2	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin saha verileri	225
R.7.9.4.3	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin maruz kalma hususları	226
R.7.9.4.4	Bozunma/biyobozunma için kalan belirsizlik	227
R.7.9.5	Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin sonuçlar	228
R.7.9.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	228
R.7.9.5.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	234
R.7.9.5.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	234
R.7.9.5.4	Bilgilerin yeterli olmaması	237
R.7.9.6	Bozunma/biyobozunma için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	243
R.7.9.6.1	Sınıflandırma ve etiketleme	245
R.7.9.6.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesi	246
R.7.9.6.3	PBT/vPvB değerlendirmesi	248
R.7.9.7	Biyobozunurluğa ilişkin referanslar	248

Ek R.7.b Bölüm R7b (Sonlanma noktası özel rehberi) için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1.....281

1	NANOMALZEMELER İÇİN EKOTOKSİKOLOJİK SONLANMA NOKTALARINA İLİŞKİN TAVSİYELER:	282
1.1	Nanomalzemelerin ekotoksosite ve davranış testlerinin nasıl yapılacağına dair Genel Tavsiyeler	282
1.1.1	Test dışı veriler	284
1.2	Sonlanma noktaları için özel tavsiye	284
1.2.1	Sucul pelajik toksisite	284
1.2.1.1	Sucul toksisite için özel test rehberleri	286
1.2.2	Çökelti organizmaları için toksisite	287
1.2.2.1	Çökelti toksisitesi için test rehberleri	289
1.2.3	Bozunma/Biyobozunurluk/Dönüşüm	291
1.2.3.1	Biyobozunurluk	292
1.2.3.2	Abiyotik bozunma	292

1.2.3.3	Dönüşüm.....	15
1.2.3.4	Bozunma/dönüşüm testinde yüzey kimyası	16
1.2.3.5	Bozunma/biyobozunurluk için test rehberleri	16

Şekiller

Şekil R.7.8—1	Sucul toksisiteye ilişkin düzenleyici adımlar	14
Şekil R.7.8—2	<i>Kanıt Ağırlığı</i> yaklaşımı için tavsiye.....	40
Şekil R.7.8—3	Sınıflandırma ve Etiketleme için Karar Şeması	53
Şekil R.7.8—4	Kimyasal güvenlik değerlendirmesindeki sonuca (PNEC Türetimi) ilişkin karar şeması	59
Şekil R.7.8—5	Zor maddeler ile ilgili hususlar.....	77
Şekil R.7.8—6	Çok bileşenli maddelere ve karışımlara ilişkin hususlar	88
Şekil R.7.8—7	Organik kimyasalların sekiz kategorisine maruz kalan balıklar için farklı akut ve kronik toksisite sonlanma noktaları ile ilişkili hesaplanan vücut yükleri (mmol/L cinsinden).	110
Şekil R.7.8—8	Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	157
Şekil R.7.8—9	AAT mikroorganizmalarındaki toksik etkiye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi	177
Şekil R.7.9—1	Kolay biyobozunurluk için geçiş seviyeleri	211
Şekil R.7.9—2	Bozunurluk Değerlendirmesine İlişkin <i>Kanıt Ağırlığı</i> Yaklaşımı	238
Şekil R.7.9—3	Çevresel zararlılık sınıflandırması, PBT/vPvB değerlendirmesi ve risk karakterizasyonunda kullanım için maruz kalma değerlendirmesi ile ilgili üç düzenleyici ihtiyacın bozunmaya ilişkin genel karar şeması	244
Şekil R.7.9—4	S&E'de bozunma verilerinin kullanımına ilişkin BTS.	245

Tablolar

Tablo R.7.8—1	OECD geçerlilik kriterlerinin özel sucul toksisite amaçları	34
Tablo R.7.8—2	Sucul toksisitenin test edilmesine ilişkin kritik parametreler	68
Tablo R.7.8—3	Zor maddelerin test edilmesine ilişkin hususların özeti.....	78
Tablo R.7.8—4	KKDİK gerekliliklerinin dışındaki mevcut bilgilerin değerlendirilmesine bağlı olarak sucul organizmalardaki potansiyel endokrin aktivitesinin bütünlük değerlendirmesi.....	132
Tablo R.7.8—5	OECD, ISO, ABD EPA, ASTM ve OSPAR rehberlerinden en yaygın bentik test türlerinin karakterizasyonu	160
Tablo R.7.9—1	Bozunmaya ilişkin terimler sözlüğü	183
Tablo R.7.9—2	Kolay Biyobozunurluk ve Kolay Olmayan Biyobozunurluk Arasındaki QSAR Eşik Değerleri	202
Tablo R.7.9—3	Biyobozunurluğa ilişkin BTS için gerekli test verileri	246
Tablo R.7.9—4	PEC değerlendirmeleri için uygun biyobozunurluk çalışmalarının seçimi	248

Ekler

Ek R.7.8—1	Sucul toksisitenin test edilmesine ilişkin kritik parametreler	67
Ek R.7.8—2	Bilgi ve kaynakları: <i>in vivo</i>	89
Ek R.7.8-3	Sucul etkilerin değerlendirilmesinde vücut yükü yaklaşımlarına ilişkin metodoloji	109
Ek R.7.8-4	Endokrin ve diğer ilgili etkilere ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	114
Ek R.7.9—1	Biyobozunurluğun Değerlendirilmesine ilişkin Uluslararası Rehber	255
Ek R.7.9—2	Raporlama Gereklilikleri	265
Ek R.7.9—3	Suda Çözünürlüğü Düşük Olan Maddelerin Biyobozunurluğunun Test Edilmesi	269
Ek R.7.9—4	Biyobozunurluk için Çok Bileşenli Maddelerin (örneğin UVCB Petrol Maddeleri) Test Edilmesine İlişkin Rehber	274

R.7.8 Sucul toksisite; çökelti organizmalarında uzun süreli toksisite

R.7.8.1 Sucul pelajik toksisiteye giriş

Sucul toksisite ile ilgili bilgiler, su kolonunda yaşayan tatlı su ve deniz suyu organizmalarının zararlılık ve riski değerlendirmesi için kullanılır. Buna ilave olarak, tatlı su türleri üzerinde yapılan testlerden elde edilen veriler, deniz suyu ortamındaki etkilerin değerlendirilmesi ile ölçülen etkilerin sucul ekosistemdeki (örneğin, çökelti) ve topraktaki diğer ortamlara uyarlanması için de temel oluşturabilir.

İlgili sonlanma noktaları, (i) toksikolojik çalışmalarda elde edilen endokrin aktivitesi hakkındaki bilginin balıklar için de geçerli olabileceği yerlerde memeli uzun süreli/üreme toksisitesi ve (ii) temel bileşiğin zararlılık değerlendirmesinde metabolitlerin dahil edilmesine yol açabilecek olası (hızlı) birincil bozunmaya ilişkin bilginin olduğu yerde bozunma.

R.7.8.1.1 Sucul pelajik toksisitenin tanımı

Sucul toksisite, bir maddeye kısa süreli ve/veya uzun süreli maruz kalınması durumunda organizma için zararlı olabilecek maddenin kendine özgü özelliğini ifade eder.

Genel olarak, sucul toksisitenin esas olarak bir maddenin su kaynaklı maruz kalması ile ilgili olduğu ve bu maddenin test suyundaki harici konsantrasyonu olarak ifade edildiği varsayılır. Gıda alımının baskın maruz kalma yolu (yani lipofilik maddeler için) olduğu durumlar olabilir. Bu etkiler diyet çalışmalarının kullanılmasıyla ölçülür.

Toksik etkileri, maruz kalan organizmalardaki maddelerin iç konsantrasyonları ile ilişkilendirmek için vücut yükü yaklaşımının kullanılması gibi bazı girişimlerde bulunulmuştur. Bu yaklaşım, düzenleyici amaçlarla uygulanmadan önce daha fazla geliştirilmeli ve doğrulanmalıdır (ayrıntılar için bkz. [Ek R.7.8-3](#)).

Su kaynaklı maruz kalmaya ilişkin **akut toksisite** genellikle test organizmalarının %50'si için öldürücü olan konsantrasyon (öldürücü konsantrasyon, LC₅₀), test organizmalarının %50'si için ölçülebilir olumsuz etkilere neden olan konsantrasyon (örneğin, *Idafnidlerin* hareketsizleşmesi) veya saatlerce ya da günlerce süren maruz kalmanın ardından kontrol (uygulama yapılmamış) organizmalarının cevaplarından test (uygulama yapılmış) organizmalarının cevaplarında %50 azalmaya yol açan etkili konsantrasyon (EC₅₀) cinsinden ifade edilir.

Su kaynaklı maruz kalma ile ilgili **kronik toksisite**, organizmanın yaşam döngüsü ile ilişkili olarak belirlenen maruz kalmalar sırasında maddenin suda yaşayan organizmalar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilecek potansiyel veya gerçek özelliklerini ifade eder. Bu tür kronik etkiler genellikle bir dizi ölümcül olmayan sonlanma noktalarını içerir ve genellikle NOEC (Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon), LOEC (Etki Gözlemlenen En Düşük Konsantrasyon), ECx veya MATC (Kabul Edilebilir Maksimum Toksik Madde Konsantrasyonu) cinsinden ifade edilir. Bu terimlerle ilgili daha fazla rehberlik Bölüm R.10'da verilmektedir.

Kronik çalışmalarda gözlemlenebilir sonlanma noktaları tipik olarak sağkalımı, büyümeyi ve/veya üremeyi içerir. Kronik toksisite maruz kalma süreleri, ölçülen sonlanma noktasına ve kullanılan test türlerine bağlı olarak büyük ölçüde değişebilir.

Standart toksisite testlerinden (uluslararası uyumlaştırılmış test rehberleri) elde edilen veriler tercih edilmekle birlikte, sucul ortamdaki olumsuz etkiler diğer bilgi kaynaklarından da tahmin edilebilir.

R.7.8.1.2 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin rehberin amacı

Temel amaç, kayıt ettirenlere sucul pelajik toksisite testi konusunda rehberlik sağlamak ve PNEC_{su} değerinin (Su için Öngörülen Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon) oluşturulmasını ve sınıflandırma ve etiketlemedeki kullanımı ile PBT değerlendirmesinde toksisite (T) kriterinin belirlenmesi için çevresel zararlılık değerlendirmesine izin veren maddeler hakkında sucul toksisite için veri ve bilgi toplamayı amaçlayan bir Bütünleşik Test Stratejisi (BTS) geliştirmektir. PNEC_{su}, maddeye maruz kalınması sonucunda pelajik organizmalar için herhangi bir riskin olup olmadığına karar vermek amacıyla suda Öngörülen Çevresel Konsantrasyon (PEC_{su}) ile karşılaştırılır.

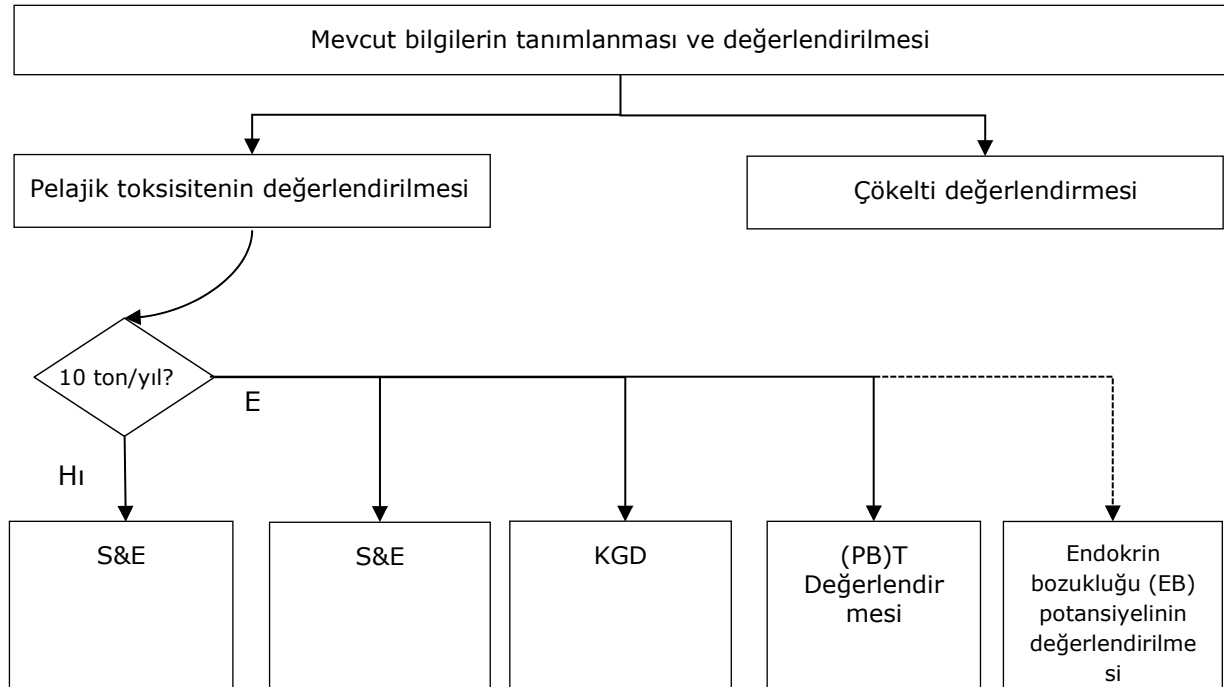
Maddenin kendine özgü özelliklerine ve mevcut maruz kalma bilgilerine bağlı olarak, sucul ekosistem ile ilgili ek olası olumsuz etkilerin incelenmesi gerekli olabilir:

- Çökelti üzerinde birikme veya çökeltide önemli ölçüde soğurulma potansiyeline sahip maddeler, çökeltide yaşayan organizmalar için toksisite açısından değerlendirilmelidir. İlave olarak, deniz sularında kalıcı olduğu bilinen ve zamanla çökeltide birikebilecek maddeler için deniz çökeltisi etkilerinin değerlendirilmesi gereklidir. Çökelti organizmaları üzerindeki toksik etkilerin değerlendirilmesine ilişkin rehberlik Bölüm R.7.8.7'de sağlanmıştır.
- İlave olarak, mevcut bilgilerin değerlendirilmesi sırasında bir maddenin suda yaşayan organizmalarda endokrin bozucu bir etki şeklini sergilediği doğrulanır veya belirtilirse, bu durum gelişme veya üreme üzerindeki potansiyel olumsuz etkilere ilişkin daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği konusunda endişe uyandırabilir. Ciddi seviyedeki olumsuz etkiler ile endokrin etki şeklinin arasında açık bir bağlantının kurulabildiği durumlarda madde, *endokrin bozucu özelliklere sahip maddeler gibi*, Madde 47(e) hükümlerine dahil edilebilir ve CMR, PBT veya vPvB maddelerinin *insan sağlığı veya çevre üzerinde neden olduğu endişeye eşdeğer seviyede bir endişeye neden olan olası ciddi etkilere ilişkin bilimsel kanıtların mevcut olması halinde*, izne tabi maddeler için Ek 14'e dahil edilebilir. Dahil etmeye, Yetkili Makamlar tarafından bir Ek 15 dosyası hazırlandıktan sonra duruma göre karar verilecektir. Bu tür bilgiler, KKDİK Ek 7 ve Ek 10'da (aşağıya bakınız) belirtilen standart bilgi gerekliliklerinin bir parçası olmadığından, rehberin bu bölümü mevcut bilgilerin değerlendirilmesine bağlıdır. Endokrin aktivitesi ile ilgili mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin rehberlik Ek R.7.8-4'te sağlanmaktadır.

Şekil R.7.8-1, sucul toksisiteye ilişkin genel düzenleyici adımları özetlemektedir. Mevcut bilgilerin değerlendirilmesiyle başlar ve bu bilgilere dayanarak, su kaynaklı maruz kalmanın değerlendirilmesinin yeterli olup olmadığı veya çökeltide yaşayan organizmalar için toksisite değerlendirmesinin dahil edilip edilmemesi gerektiği sonucunavarıdır.

Zararlılık değerlendirmesinde ikinci bir adım olarak sınıflandırma ve etiketlemenin (S&E) belirlenmesi (yılda 10 tondan az ve yılda 10 tondan fazla imal edilen/ithal edilen maddeler için) ve PBT değerlendirmesi ile Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi (KGD) (yılda 10 ton veya daha fazla miktarda imal edilen/ithal edilen maddeler için) çerçevesinde PNEC_{su} değerinin belirlenmesi gerekir. Bu adımlar için bilgi toplamaya ve değerlendirmeye ilişkin rehberlik bu belgede sağlanmaktadır. Çökelti toksisitesinin değerlendirilmesine ilişkin rehberlik ayrı bir belgede sağlanmıştır. Mevcut bilgilere dayanarak, bir maddenin endokrin bozucu aktivitesi sergilediğinden şüpheleniliyorsa maddenin endokrin bozucu potansiyelinin değerlendirilmesi gerekebilir. Bu adım için rehberlik, bu belgenin Bölüm R.7.8.13'ünde sağlanmıştır.

Şekil R.7.8—1 Sucul toksisiteye ilişkin düzenleyici adımlar



R.7.8.2 Sucul pelajik toksisite için bilgi gereklilikleri

KKDİK Yönetmeliği, Ek 6'da açıklandığı üzere, belirli bir sonlanma noktası için testin özel bir tonaj seviyesinde gerekli olup olmadığına bakılmaksızın mevcut tüm bilgiler toplanmalı ve zararlılık değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır. Asgari bilgi gereklilikleri Ek 7 - Ek 10'da belirtilmiştir. Ek 7 - Ek 10'da gerekli olan bilgi mevcut değilse, Ek 11'de açıklanan genel kurallara göre değişikliğin mümkün olmadığı durumda testin yapılması gerekir. Gerekli test (ekotoksikolojik bilgilerle ilgili olarak) Ek 9 veya Ek 10 ile ilgiliyse, bir test önerisi hazırlanmalı ve ÇŞB'ye sunulmalıdır. Ek 11'de açıklanan genel kurallarla ilgili daha fazla bilgi Bölüm R.5 ve Başlık R.7.8.4.1'de verilmektedir. Aşağıdaki paragraflar, Ek 7 - Ek 10'a göre gereklilikleri özetlemektedir.

KKDİK Yönetmeliği, Ek 7 kapsamındaki maddeler için, omurgasızlar (tercihen Dafniya) üzerinde kısa süreli toksisite testi ve sucul bitkiler (tercihen alg) üzerinde büyüme inhibisyonu çalışması gereklidir. Bununla birlikte, sucul toksisitenin meydana gelme olasılığının düşük olduğunu gösteren hafifletici faktörler varsa (örneğin, maddenin suda çözünürlüğü çok az veya maddenin biyolojik membranlardan geçme olasılığı düşükse) bu kısa süreli çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekli değildir.

Buna ilave olarak, omurgasızlar üzerinde uzun süreli bir sucul toksisite çalışması mevcutsa veya çevresel sınıflandırma ve etiketleme hakkında yeterli bilgi mevcutsa, omurgasızlar üzerinde kısa süreli testlerin gerçekleştirilmesi gerekli değildir.

Maddenin suda çözünürlüğü az ise, uzun süreli toksisite testi (KKDİK Ek 9'a göre) dikkate alınmalıdır (Potansiyel olarak azaltıcı faktörlerin daha ayrıntılı açıklaması için, Bölüm R.7.8.5'in yorumlanabilmesi amacıyla Ek R.7.8-1'e bakınız) .

KKDİK Yönetmeliği, Ek 8 kapsamındaki maddeler için balıklar üzerinde kısa süreli toksisite testleri de gereklidir. KKDİK Yönetmeliği, Ek 7'de gerekli testlere benzer şekilde, sucul toksisitenin meydana gelme olasılığının düşük olduğunu gösteren hafifletici faktörler varsa (örneğin, maddenin suda çözünürlüğü çok az ise veya maddenin biyolojik membranlardan geçme olasılığı düşükse) bu testin gerçekleştirilmesine gerek yoktur.

Bununla birlikte, Ek 1'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesi, suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerin daha fazla araştırılması gerektiğini gösteriyorsa, KKDİK Yönetmeliği, Ek 10'da açıklanan uzun süreli testler dikkate alınmalıdır. Uzun süreli testler, maddenin suda çözünürlüğü az ise de düşünülmelidir. Açıklama ve yorumlama için maruz kalma hususları bölümüne bakınız.

[R.7.8.4.3](#)

KKDİK Yönetmeliği, Ek 1'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesi, suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerin daha fazla araştırılması gerektiğini gösteriyorsa, **KKDİK Yönetmeliği, Ek 9** kapsamındaki maddeler için omurgasızlar (tercihen Dafniya) ve balıklar üzerinde uzun süreli toksisite testi gereklidir. Daha fazla testi tetikleyen vakaların örnekleri, maruz kalma hususları ile ilgili olarak Başlık R.7.8.4.3'te sunulmuştur.

Balıklar üzerinde uzun süreli toksisite testinin gerçekleştirilmesi durumunda, aşağıdaki çalışmalardan biri hakkında bilgi sağlanmalıdır: (açıklama için KGD'deki ilgili verilerin uygunluğu hakkındaki Başlık R.7.8.5'e bakınız).

- Balık Erken Yaşam Evresi (FELS) toksisite testi (OECD TG 210): Revize edilmiş OECD Test Rehberi 210, KKDİK kapsamında balıkların uzun süreli testleriyle ilgili bilgi gerekliliklerini ele almak için en uygun test rehberi olarak görülmelidir.
- Balık, yavru büyüme testi (OECD Test Rehberi 215): Bu test, değerlendirilen madde için balıklarda büyüme inhibisyonunun en ilgili etki olduğunu gösteren ve sağlam temellere dayanan gerekçelerin olması halinde duruma göre kabul edilebilir/önerilebilir.

OECD Test Rehberi 210'un üreme sonlanma noktalarını kapsamadığı ve bu nedenle, endokrin bozucu kimyasallar için veya erken balık gelişimi kapsamına girmeyen diğer etkilerin önemli olmasının özellikle beklendiği durumlarda diğer OECD Test Rehberlerinin dikkate alınması gerekir.

KKDİK Yönetmeliği, Ek 10 kapsamındaki maddeler için pelajik sucul toksisite amacıyla ek bilgi gerekliliği yoktur.

Yukarıda belirtildiği gibi veriler, maddelerin çevresel zararlılık değerlendirmesi (yani sınıflandırma, PNEC'nin oluşturulması) ve (PB)T değerlendirmesi (sonlanma noktasına ilişkin sonuç için bkz. Bölüm R.7.8.5) için oluşturulur.

Kayıt ettirenin ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde kesin bir sonuca (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB değerlendirmesi kriterlerini karşılamaktadır") ulaşamaması halinde KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 2.1 uyarınca tonaj bandından bağımsız olarak bu sonuçlardan birinin elde edilebilmesi için gerekli bilgiler üretilmelidir (daha fazla ayrıntı için Bölüm R.11 *Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi'ne* (BG ve KGD) bakınız). Böyle bir durumda, diğer gerekli bilgileri test etmekten veya üretmekten kaçınmanın tek yolu, maddeyi "bir PBT veya vPvB gibi" ele almaktır (ayrıntılar için Bölüm R.11'e bakınız).

R.7.8.3 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin bilgi kaynakları

Suda yaşıyan organizmalardaki toksisitenin değerlendirilmesi ile ilgili farklı bilgi türleri aşağıda sunulmuştur. Bu, yasal amaçlarla ilgili sucul toksisite hakkında bilgi üreten mevcut testleri (*in vitro* ve *in vivo*) ve test dışı yöntemleri ((Q)SAR, çapraz okuma ve kategoriler) içerir.

R.7.8.3.1 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin veriler

Sucul pelajik toksisiteye ilişkin test verileri

***In Vitro* veriler**

Şu anda, sucul toksisite ile ilgili *in vitro* testler için AB/OECD rehberi bulunmamaktadır.

Gelecekte akut sucul toksisite için bir test stratejisinde faydalı olabilecek *in vitro* yöntemlerin geliştirilmesi ve doğrulanması için devam eden çabalar vardır (örneğin, sitotoksikite testlerinin optimizasyonuna ilişkin ECVAM çalışması ve balık hücreleri hatları ile balık embriyolarını kullanarak akut balık toksisitesi testini değiştirmeyi amaçlayan CEFIC LRI çalışması ECO 8).

Balık hücrelerinin çevresel toksikolojideki kullanımı ECVAM çalıştayında (Castano ve ark., 2003, ECVAM çalıştay raporu 47) ve ECETOC (2005)'de gözden geçirilmiştir.

Birincil hücreler: Birincil hücreler, çeşitli dokulardan yeni izole edilmiş hücrelerdir: karaciğer, solungaç epitelyumu, eşeyssel bezler, böbrek makrofajları, deri epiteli, endokrin dokuları, kas hücreleri ve beyaz kan hücreleri. Birincil hücreler, canlı hayvanların kullanılmasını gerektirir. Kaynak dokularının farklılaşmış hücresel yapılarının ve işlevlerinin çoğunu ifade ederler ve özellikle hücreye özgü toksik madde davranışı ve durumu üzerine mekanik olarak yönlendirilmiş çalışmalar için uygundur.

Balık hücreleri hatları: 150'den fazla kalıcı balık hücreleri hattı mevcuttur, bunların çoğu fibroblast veya epitel benzeri olup, salmonidlerin ve sazangillerin dokularından türetilmiştir. Kalıcı hücre hatları (tek katmanlılar veya süspansiyon kültürleri) ile yapılan testlerin çoğu, kimyasal maddelerin bazal sitotoksik etkilerini ölçer.

Memeli sistemlerine bağlı olarak *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçlar, endokrin aktivitesinin değerlendirilmesinde ilgi odağı olabilir (bkz. Bölüm R.7.8.13).

***In vivo* veriler (tek tür)**

Sucul toksisite ile ilgili bilgiler, mevcut ulusal ve uluslararası rehberlere göre yapılan çalışmalardan ve sucul toksisitenin farklı yönlerinin incelendiği bilimsel literatürden elde edilebilir. Mevcut rehberler, su kaynaklı maruz kalmalar nedeniyle maddelerin olumsuz etkilerinin ölçülmesine odaklanmıştır. Pelajik türlerde beslenme çalışmaları için uluslararası uyumlaştırılmış bir rehberin bulunmaması sebebiyle, oral yolla maruz kalmanın değerlendirilmesinde kullanılan testler duruma göre tasarlanmıştır.

Genel olarak, pelajik sistem için test rehberlerinin çoğu, yalnızca tatlı su veya tuzlu su türlerinin test edilmesi için geliştirilmiştir. Bununla birlikte, her iki sucul sistemdeki türlerin test edilmesi için uygun işlemler sağlayan rehberler vardır (bkz. [Ek R.7.8-2'](#)deki Tablolar).

AB/OECD Test Rehberleri

AB/OECD test rehberleri, çevresel etkiler için uluslararası kabul görmüş test yöntemlerini içerir. Bu rehberlerin kullanılmasıyla gerçekleştirilen testler hem risk değerlendirmesi hem de sınıflandırma amaçları için yararlıdır. OECD test rehberine uygun olarak yürütülen bir testten elde edilen veriler, verilerin karşılıklı kabulü (MAD) ilkesi ile kapsanarak, yapılması gereken testlerin sayısını hem hayvanlardan hem de maliyetten tasarruf ederek azaltır.

Mevcut bir dizi test rehberi vardır. Su kaynaklı maruz kalma nedeniyle suda yaşayan türlerde (hem tatlı suda hem de deniz suyunda) kısa süreli ve uzun süreli toksisiteye ilişkin bilgi sağlarlar. Omurgalı hayvan testlerine potansiyel alternatif yöntemler de dahil olmak üzere birçok yeni test yöntemi şu anda geliştirme ve doğrulama aşamasındadır. Hem mevcut test rehberleri hem de geliştirilmekte olan test yöntemleri, [Ek R.7.8-2'](#)de sunulmuştur.

KKDİK'in bilgi gereklilikleri, prensip olarak, halihazırda kabul edilen OECD test rehberlerine göre yürütülen çalışmalarla karşılanmaktadır. Bununla birlikte, daha ileri bir değerlendirme için gerekli olması halinde, ek (daha yeterli) testler (örneğin, OECD test rehberlerine dahil edilmeyen organizmalar üzerinde) diğer düzenleyici kurumlar tarafından geliştirilen rehberlerin listelerinden seçilebilir (bkz. [Ek R.7.8-2²](#)).

Diğer test rehberleri

OECD test rehberlerine kabul edilebilir alternatifler OPPTS, US-EPA, çeşitli AB ülkeleri (ulusal standart yöntemler) ve ASTM, ISO gibi kuruluşlar tarafından yayınlanmaktadır (mevcut rehberlerin ayrıntılı listesi için [Ek R.7.9-1'](#)e bakınız).

² Eko-toksikoloji alanındaki gelişmeleri takiben yeni test rehberleri geliştirilir ve mevcut test yöntemleri üzerinde değişiklik yapılır. İşlemleri revize edilebilir veya bazı rehberler daha iyi testlerle değiştirilebilir. Bu nedenle, mevcut tüm test rehberlerini derlemeyi amaçlayan her tablo yakında kullanılmaz hale gelecektir. [Ek R.7.8-2'](#)deki tablo 1998'deki durumu göstermektedir (OECD 1998). Bu nedenle, kullanıcının seçilen mevcut rehberlerin durumu için bu rehberleri yayınlayan kuruluşa danışması önerilir (kuruluşların adresleri [Ek R.7.8-2'](#)de sunulmuştur).

Rehber dışı çalışmalar

Rehber çalışmalarından elde edilen sonuçlara ilave olarak, rehber dışı ve İLU dışı çalışmaların sonuçları da mevcut olabilir. Çalışmalar standart test rehberlerine göre süre, ölçülen sonlanma noktaları, maruz kalan türler bakımından değişebilir. Test performansındaki değişkenliğe rağmen, sonuçlar zararlılık değerlendirmesi (örneğin, PNEC hesaplamasında doğrudan veya *Kanıt Ağırlığı* uygulamasında dolaylı olarak) için faydalı olabilir. Bununla birlikte, bu veriler, yeterlilikleri (güvenilirlik ve uygunluk) ve eksiksizlikleri (ayrıntılar için *in vivo* test verilerinin değerlendirilmesine ilişkin kriterlerin bulunduğu Başlık R.7.8.4.1'e bakınız) açısından özellikle değerlendirilmelidir.

Bilgi kaynakları

Sucul türler için toksisiteyi ölçen farklı testlerden (test rehberlerine ve standart olmayan işlemlere göre yapılan testlerin sonuçları) elde edilen veriler farklı veri tabanlarında toplanabilir. Tüm veritabanları, veritabanına dahil edilmeden önce verilerin kalite kontrolünü rutin olarak yapmaz. Veri kalitesi bilinmediği sürece, kullanıcının bu verilerin elde edildiği orijinal bilimsel makaleye başvurması önerilir. Sucul toksisite verileri, bilimsel raporlarda da incelenebilir. Bu veri tabanlarına ve belgelere yapılan referanslar Ek R.7.8-2'de sunulmaktadır.

***In vivo* - çoklu tür (saha verileri)**

DeneySEL ekosistem çalışmaları, ekolojik birleştirmenin daha yüksek aşamalarında hem davranışı hem de etkileri anlamayı amaçlamaktadır. Herhangi bir çalışmanın tasarımı hedeflere bağlıdır ve şunları içerir:

- ekosistemin yapısı ve işlevi hakkında daha fazla bilgi edinmek (ve böylece daha iyi ekosistem modellerinin geliştirilmesine yardımcı olmak);
- farklı yükleme hızlarında NOEC değerlerini, ECx değerlerini veya etki seviyelerini tanımlayabilmek için belirli bir deneysel ekosistemdeki kimyasal davranışa ilişkin yeterli bilgi ile kimyasal etki için öngörücü modeller geliştirmek ve doğrulamak;
- uyarılma yoluyla laboratuvar toksisitesi verilerinden elde edilen çevresel kalite standartlarını değerlendirmek (uyarlama modellerinin geliştirilmesi ve iyileştirilmesi);
- kimyasal bozunmadan sonra yenilenme için gereken zaman açısından ekosistemlerin dayanıklılığını incelemek; ve,
- doğal ekosistemlerdeki davranışı ve/veya etkileri değerlendirmeye yönelik düzenleyici amaçlar için gerekli verileri elde etmek (Crossland ve ark., 1992).

Model ekosistem testlerini yürütmek için farklı hedefler bulunduğundan, tüm test sonuçları, özellikle düzenleyici amaçlar açısından eşit derecede faydalı olmayabilir.

Son 20 yılda tüm paydaşları kapsayan deneysel ekosistem çalışmalarının geliştirilmesine ve tasarımına ilişkin çok sayıda uzman toplantısı yapılmıştır. Dış mekan mikrokozmaları ve mezokozmaları şeklinde temsil edilmiş tatlı su lenitik (durgun su) testlerinin yürütülmesi için bir OECD rehberi mevcuttur (OECD 2006a).

DeneySEL bir ekosistem çalışması sırasında ölçülecek sonlanma noktalarının seçimi kapsamlı olmamalı ve tercihen daha düşük davranış ve etki değerlendirmesinden geliştirilen bilgilere bağlı olarak hedeflenmelidir.

Bununla birlikte, deneySEL ekosistemler tür çeşitliliği, trofik yapı, tür etkileşimleri vb. gibi daha düşük kademelerde dikkate alınamayan (ve doğası gereği PNEC uyarlamasında ele alınan) ekolojik özellikleri ele alma avantajı sunduğundan, bunlar bir çalışmayı tasarlarırken, yürütürken ve yorumlarırken dikkate alınması gereken hususlar açısından faydalı olabilir (OECD 2006a).

Sucul pelajik toksisiteye ilişkin test dışı veriler

(Q)SAR sonuçlarının ve kimyasal gruplama yaklaşımlarının kullanımına ilişkin genel bir rehberlik BG ve KGD Rehberi Bölüm R.6'daki R.6.1 ve R.6.2 Başlıklarında sağlanmaktadır. Aşağıdaki bölüm, (Q)SAR tahminleri için farklı bilgi kaynaklarına ve sucul toksisitenin değerlendirilmesine özgü gruplama yaklaşımlarına genel bir bakış sağlar. Ek, daha genel bilgi kaynakları BG ve KGD Rehberi'nin R.4 Bölümünde özetlenmiştir. Bu yaklaşımların sonuçlarının değerlendirilmesi için gereken rehberlik Bölüm R.7.8.4.1'de sağlanmaktadır.

QSAR

QSAR ile ilgili genel rehberlik BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.6, Başlık R.6.1'de sağlanmıştır ve çevre toksisitesinin tahmin edilebilmesi için QSAR hakkında daha özel bir rehberlik Bölüm R.10'da sağlanmıştır.

Mevcut (Q)SAR yöntemleri aşağıdaki kategoriler kullanılarak özetlenebilir:

- Bir bileşiğin etki şekli/yapısal sınıfının tahmini için düzenlemeler (temel toksisite, aşırı toksisite)
- Yapısal uyarılardan nitel bilgiler
- Ayrı modellerden QSAR tahminleri (ör. narkoz, diğer etki şekilleri, metaller ve inorganik metal bileşikler için Nicel İyon Karakteri-Aktivite İlişkileri (QICAR) ve Nicel Katyonik Aktivite İlişkileri (QCAR))
- Uzman sistemlerinden Nicel Yapı Aktivite İlişkileri (QSAR) öngörülleri
- (Q)SAR öngörülleri veritabanları
- Aktivite-aktivite ilişkileri (QAAR) tahminleri

Gruplama yaklaşımları

Gruplama yaklaşımlarına ilişkin genel rehberlik Bölüm R.6.2'de sağlanmıştır ve çevresel toksisiteyi tahmin etmek için QSAR hakkında daha özel bir rehberlik Bölüm R.10'da sağlanmıştır.

R.7.8.4 Sucul pelajik toksisite ile ilgili mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Toplanan bilgilerin değerlendirilmesi için aşağıdaki kriterler sunulmuştur. Toplanan bilgilerin birleştirilmesi, maddenin toksik profilinin, potansiyel maruz kalma yollarının, etki mekanizmasının ve çevrede dağılım potansiyelinin anlaşılmasını sağlamalıdır.

Sucul ortamdaki maddelerin toksik etkileri (i) maddelerin içsel fiziksel ve kimyasal özellikleri ile (ii) sucul (testler) sistemlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile ilgilidir. Sucul pelajik toksisite ile ilgili mevcut bilgiler değerlendirilirken bu iki bilgi dikkate alınmalıdır.

Maddelerin ve test sistemlerinin özellikleri

Çoğu organik kimyasal için, sudan alımın baskın alım yolu olduğu düşünülmektedir (çok hidrofobik veya çok emici maddeler için gıdalardan alım önemli hale gelir). Suda çözünen ve organizmalar tarafından alınan maddelerin belirli bir iç konsantrasyona kadar birikebileceği ve bunun da olumsuz etkilere neden olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, biyokonsantrasyonu etkileyen faktörler, suda yaşayan türler üzerindeki toksisiteyi de etkiler. Molekül ağırlığı, suda çözünürlük ve maddelerin log Kow değeri bu tür faktörlerdendir. Bu faktörler Ek R.7.8-1'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Ayrıca bozunma gibi maddeyle ilgili diğer faktörler de bu bölümde açıklanmaktadır.

Toksisite açısından, sucul (test) sistemlerin özellikleri olası olumsuz etkilerin kaydedilmesi için en uygun koşulları yaratabilir veya yaratmayabilir. Bu nedenle, toksisite çalışmaları değerlendirilirken dikkate alınması gereken önemli kalite parametrelerindedir. Toksisite testini etkileyen su kalitesi parametreleri ayrıca Ek R.7.8-1'de açıklanmaktadır.

Metaller ve inorganik metal bileşikleri için su aracılığıyla maruz kalma da en yaygın yoldur. Birçok metal için biyoyararlanım ve detoksifikasyon mekanizmalarının hem birikimi hem de toksisiteyi modüle ettiği bilinmektedir (McGeer ve ark., 2002).

Maddelerin fiziko-kimyasal özellikleri ile ilgili bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin kriterler BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.7a, Başlık R.7.1'de verilmiştir. Ayrıca, kararlı ve/veya toksik bozunma ürünlerine neden olup olmadığı değerlendirilen maddenin biyotik veya abiyotik olarak parçalanıp parçalanmayacağına da dikkat edilmelidir. Değerlendirme, böyle bir bozunmanın meydana gelebileceği durumlarda ortaya çıkabilecek ürünlerin özelliklerine (toksik etkiler dahil) gereken önemi vermelidir.

Diğer hususlar

Uygulanacak sucul pelajik testlere karar verirken maruz kalmayla ilgili bilgiler de dikkate alınmalıdır. Maruz kalma verileri, kullanılmadan önce temsil edilebilirlikleri, bütünlükleri, uygunlukları ve güvenilirlikleri açısından doğrulanmalıdır.

Mevcut veri değerlendirmesi için, tüm çalışma bilgilerinin yukarıdaki tüm hususları ayrıntılı bir şekilde eksiksiz olarak değerlendirmesi amacıyla mevcut olmaması yaygındır. Bununla birlikte, çalışma iyi kalitede olabilir ve çalışma sonucunun yine de *Kanıt Ağırlığının* bir parçası olarak kullanılması gerektiği düşünülebilir. Bu koşullar altında, temel verilerin iyi kalitede olduğuna dair güvenin sağlanabilmesi için anahtar bilgiler mevcut olmalıdır. Bu tür koşullar mevcut olduğunda, testin standartlaştırılmış test rehberlerine göre yapıldığını bilmek çok önemlidir.

Çalışma yöntemi rapor edilmelidir. İlave olarak, temel çalışma bilgileri de teknik dosyada sağlanmalıdır (daha fazla bilgi, *Kayıt Rehberi*, Bölüm 8'de verilmektedir). Bunlar 1) test maddesinin tanımlanması, 2) numunenin saflığı, 3) test türleri ve 4) test süresidir. Bu bilgilerin ve diğer temel çalışma bilgilerinin veya aynı sonlanma noktası için başka çalışmaların olmadığı durumlarda belirli bir çalışmanın sonucunun tek başına kullanımını gerektirendirmek son derece zordur. Çalışma, *Kanıt Ağırılığı* yaklaşımının bir parçası olarak diğer verilerle birlikte kullanılabilir (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.4, Başlık R.4.4'e bakınız)

Diğer programlar/ikincil veri kaynakları

Ayrıca rapor edilen değerlerin SIDS programı gibi bir tarama sürecinden veya AB'nin mevcut madde risk değerlendirmesinden (<http://esis.jrc.ec.europa.eu/>) geçtiği durumlar da vardır. Böyle bir durumda, sorunların ilgili çalışma(lar) ile vurgulanmış olduğu varsayılarak, veriler daha fazla değerlendirme gerektirmeyecek şekilde yeterli bir şekilde gözden geçirilebilir. Meslektaş incelemesinden geçmiş diğer risk değerlendirmesi programlarının (örneğin HERA (<http://www.heraproject.com/>) ABD EPA HPVC Zorlama Programı) bir parçası olarak bildirilen veriler de bu şekilde düşünülebilir, ancak bunun için bir uzman görüşü ile bu programların kalitesinin değerlendirilmesine ve program verilerinin kullanımına ilişkin daha fazla gerektirendirmeye ihtiyaç duyulabilir.

R.7.8.4.1 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin veriler

Sucul pelajik toksisiteye ilişkin test verileri

In vitro veriler

In vitro verilerin *in vivo* verilere uyarlanması literatürde tartışılrsa da bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (ECETOC, 2005) ve şu anda *in vitro* verilerden *in vivo* verilere uyarlama için rehberlik sağlayacak yeterli bilgi bulunmamaktadır. Çeşitli yayınlar, *in vivo* sonuçlarla ilişki için test edilen maddelerin *in vitro* biyoyararlanımının dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (Guelden ve Seibert, 2005; Bernard ve Dyer, 2005; Schirmer, 2006).

Şu anda, doğrulanmış balık hücreleri sistemleri mevcut değildir. Bununla birlikte, *in vitro* çalışmalardan elde edilen bilgiler, belirli veri kalitesi amaçlarını karşılamaları ve Ek 11 kriterlerine uymaları koşuluyla, bir *Kanıt Ağırılığı* yaklaşımında değerlendirilebilir.

Ek 11, uygun *in vitro* yöntemlerin iyi bir şekilde geliştirilmesini ve belirli kriterleri karşılaması gerektiğini belirtir (örneğin, bir ön doğrulama çalışmasına giriş için ECVAM kriteri) (Curren ve ark., 1995). Bunlara bağlı olarak, çalışmaya veya yönetime ilişkin aşağıdaki bilgiler yararlı olacaktır:

- veri kaynağı adlandırılmalıdır (örneğin yayın, çalışma raporu, kurum içi veriler, laboratuvarlar arası çalışma)
- balık hücreleri sistemi:
 - birincil hücreler (izolasyon için kullanılan doku)
 - balık hücreleri hattı ve varsa geçiş numarası
 - her ikisi için de kültür koşulları (örneğin, serum bulunan ortam, serum bulunmayan ortam)

- kullanılan protokol (örn. inkübasyon sıcaklığı, maruz kalma süresi, tekrarlar, ölçülen sonlanma noktası, pozitif ve negatif kontroller, veri analizi ve yorumlama, sınırlamalar, vb.)
- protokolün standardizasyon durumu
 - şirket içinde onaylanır (tekrarlanabilirlik kanıtı)
 - diğer laboratuvarlarda kullanılır (tekrarlanabilirlik kanıtı)
 - nominal veya ölçülen konsantrasyon
 - diğer *in vitro* / *in vivo* testlerle karşılaştırma
 - yöntemle test edilen diğer maddelere ilişkin veriler

Birincil hücreler, özel toksik etkinin (örneğin; karaciğer toksisitesi ve metabolizma için izole edilmiş hepatositler veya solungaç bariyeri etkinliği ile toksik madde alımı ve metabolizma üzerindeki etkiler için izole edilmiş solungaç epitelyumu) değerlendirilmesi hususunda daha uygundur. Ancak, canlı hayvanların kullanılmasını gerektirirler. Balık hücre hatları kullanılarak yapılan sitotoksikite testlerinin akut toksik etkileri gösterme olasılığı daha yüksektir, ancak bunların metabolizma dahil gerçekçi toksikokinetiklerden yoksun olabileceğinin dikkate alınması gerekir.

Devam eden standardizasyon ve doğrulama çabaları, daha sonra test stratejilerine dahil edilecek doğrulanmış yöntemler sağlayabilir.

İn vivo veriler (tek tür)

İLK GÜVENİLİRLİK TARAMASI

Değerlendirilmek üzere en güvenilir değerlerin filtrelenebilmesi amacıyla verilerin güvenilirliğinin ilk incelemesi yapılmalıdır. Mevcut birçok madde için mevcut test verileri, standart protokoller ve İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) oluşturulmadan önce elde edilecektir. Eski veri tabanlarında veri kalitesindeki potansiyel değişkenliğin ele alınabilmesine ilişkin çeşitli olası yaklaşımlar mevcuttur. Bunlar, bu rehber dokümanın Bölüm R.4'ünde tanımlanan ve açıklanan OECD (2000a), ABD EPA (2002), Hobbs ve ark. (2005) veya Klimisch ve ark. (1997) tarafından kullanılmış yöntemlere benzer yöntemler içerir. Yapısal olarak benzer maddeler hakkında daha fazla veri mevcut olabilir ve bunlar, araştırılan maddenin toksisitesine veya ekotoksikite profiline katkıda bulunabilir.

Klimisch ve ark. (1997) standart olmayan bir testin kalitesini değerlendirmek için dikkate alınması gereken parametreleri açıklamaktadır. Bununla birlikte yazarlar, genel bir kalite değerlendirmesini belirlemek için bu farklı parametrelerin raporlanmasındaki güçlü ve zayıf yönlerin birleştirildiği uzman değerlendirmesi sürecini açıklamazlar. Bu sınırlamayı ele almak için, Klimisch ve ark. (1997) tarafından geliştirilen aşağıdaki kalite kriterleri seti, dikkate alınmalıdır (daha fazla ayrıntı için aşağıya bakınız):

- Test maddesinin tanımı.
- Maruz kalma süresi dahil olmak üzere test işleminin açıklaması.
- Test türleri ve test edilen bireylerin sayısı ile ilgili veriler.
- Ölçülen parametrelerin, gözlemlerin, sonlanma noktalarının açıklaması.

- Rehberlere göre kontrol verileri mevcuttur ve kabul edilebilirdir. Çevresel toksisite testlerinde kullanılan bazı türler için rehberler mevcut değildir ve bu durumda taksonomik olarak en yakın eşdeğer türler için rehber kullanılmalıdır.
- NOEC/ECx'i belirleyen sınır testleri dışında, bir konsantrasyon cevabı oluşturulmuştur.
- Elde edilen maruz kalma konsantrasyonları test ortamında veya taşıyıcıda ölçülmüştür. Sucul toksisite testleri için, ölçümler en az t0'da yapılmalı ve ölçülen konsantrasyonlar nominal konsantrasyonun %20'si dahilinde olmadığı sürece ölçülen geometrik ortalama konsantrasyonlar cinsinden hesaplanmalıdır; bu durumda nominal konsantrasyonlar kullanılabilir.

Mevcut veriler kalite standartlarına uymuyorsa, mevcut koşullar altında bunlardan herhangi birinin kabul edilebilir olup olmadığını ve özellikle toksisiteyi daha az gösterip göstermeyeceğini belirlemek için veriler yeniden değerlendirilmelidir. Örneğin, test ortamında ölçülen konsantrasyonların olmaması sebebiyle çevresel toksisite testindeki veriler kabul edilmemiş olabilir, ancak bu veriler fiziksel/kimyasal özellikleri biyobozunmaya/uçuculuğa/soğurmaya ilişkin düşük potansiyel öneren test maddeleri için kabul edilebilir.

Verilerin tüm kalite kriterlerini karşılayıp karşılamadığına bakılmaksızın, verilerin:

- belirli bir madde için büyük bir veri setinde aykırı değerler olup olmadığı;
- diğer ilgili maddelerin toksisitesine ilişkin bilinenlerle uyumlu olup olmadığı dikkate alınmalıdır.

Kontrol listesi

Bir ilk taramadan sonra, odaklanması gereken bir dizi çalışma taranacak ve muhtemelen ikinci bir tarama aşaması gerekli olacaktır. İdeal bir dünyada bu, esasen karşılanması gereken asgari kriterler dizisini dikkate alır. Aşağıdaki hususlar, bu ikinci taramadaki sucul toksisite testiyle ilgilidir:

Test maddesi/test maddesinin tanımlanması

Test edilen maddenin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi önemlidir. Bu, test maddesinin yeterli bir tanımını içermelidir. İdeal olarak bu, CAS numarası gibi uluslararası kabul görmüş bir tanımlayıcıyı içermelidir. Bununla birlikte, CAS numarası her zaman bir maddeye özgü değildir ve bu nedenle, açıklama net bir tanımlamaya izin verecek kadar ayrıntılı olduğu sürece bir kimyasal tanımlama yeterli olabilir. Örneğin, bir halka yapısı etrafındaki belirli kısımların konumlandırılması (eko)toksisite açısından önemli olabilir, bu nedenle dikloro-'nun 1,3-diklor vb. şeklinde tanımlanması gerekir. Bir başka örnek, tam bir zincir uzunluğunun açıklanması gerektiğinde alkil teriminin kullanıldığı yer olabilir.

Test edilen test malzemesinin gerçekten kayıt altına alınan maddeyle tutarlı olmasını sağlamak çok önemlidir. Örneğin, test edilen malzeme, kaydedilen CAS numarasından farklı bir dağılım gösteren homolog zincir uzunluklarının bir karışımı olabilir.

Bu kabul edilebilir olabilir. Ancak, bu bilgiler açıkça tanımlanmalı ve bu tür verilerin neden kullanılabileceği gerekçelendirilmelidir.

Kimyasal saflık ile birlikte mümkün olduğu durumlarda safsızlığın da tanımlanması gerekir. Safsızlık önemli olabilir, düşük seviyelerde mevcut olsa bile bir numunenin gözlenen toksisitesinin çoğundan sorumlu olabilir. Çalışmaların, yapılarında kasıtlı olarak bileşen/safsızlık (koruyucular gibi) bulunduran test malzemeleri üzerinde gerçekleştirildiği durumlar vardır. Bazı durumlarda bu çalışmalar, kullanılan/satılan asıl malzemeyi daha yakından tekrar etmek için bu karışım üzerinde kasıtlı olarak gerçekleştirilmiş olabilir. Verileri değerlendirirken bu faktör dikkate alınmalıdır.

Suda çözünürlük ideal olarak rapor edilmelidir. Suda çözünürlük sınırının üzerinde meydana gelen sonuçlar daha ayrıntılı olarak ele alınmalıdır - bkz. [Ek R.7.8-1](#).

Test Organizmaları

Çalışmada kullanılan organizmaların taksonomik kimliğinin ayrıntıları, cinsi ve türleri içerecek şekilde açıklanmalıdır. Bazı durumlarda, bu cinsin tüm üyelerinin benzer hassasiyete sahip olduğu bilindiğinde, cins tek başına yeterli bilgi sağlayabilir.

Daha önce açıklanan OECD rehberleri gibi standart metodolojilere yönelik çalışmalar yürütüldüğünde, bunlar genellikle test yönteminin ilgili olduğu standart organizmaları listelemiştir. Standart dışı türler de kabul edilebilir. Ancak, test yönteminin uygunluğunu sağlamak için bu türler uygun şekilde tanımlanmalı ve karakterize edilmelidir.

Test yapısı

Test sistemi yeterince tanımlanmalı ve test, mümkün olan her yerde uluslararası kabul görmüş bir rehberine uygun olmalıdır. Standart dışı yöntemler kabul edilebilir ancak yöntemlerin net bir şekilde tanımlanması gerekir. Standart dışı bir yöntem tanımlanırsa veya standart bir yöntem izlenirse ve yönteme uyulup uyulmadığı konusunda bir yargıya varılırsa, aşağıdakiler dikkate alınmalıdır:

Test işlemleri ve koşulları; standart/tanımlanmış prosedürleri, izlenen uygun alıştırma prosedürlerini ve kaydedilen belirli koşulları (test sıcaklığı, çözünmüş oksijen seviyeleri, pH, aydınlatma ve konum etkilerinden kaçınmak için test ünitelerinin yerlerinin değiştirilmesi gibi) içerecek şekilde rapor edilmelidir.

Test süresi. Bu, bir çalışmanın güvenilirliğine karar verilmesinde kritik bir bilgidir ve rapor edilmelidir. Bunlar sonlanma noktasına/çalışmaya göre çeşitlilik gösterir. Anahtar değerler daha önce Rehber Çalışmaları altında açıklanmıştır. Bu rehberlerden sapmalar, bu çalışmalar kaliteli olsa bile diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırmayı zorlaştıracaktır (örneğin, *Dafniya sp* EC50 sonuçları, standart 48 saate kıyasla 24 saatte rapor edilir).

Standart rehberlerden sapmalar. Standart rehberlerden sapmalar olduğunda, bunlar açıkça tanımlanmalıdır. Bu tür çalışmalar varsayımlardan Klimisch altında güvenilirlik 1 olarak puanlanmayacaktır. Ancak, çalışmalar açık belgelerle güvenilirlik 2 olarak sınıflandırılabilir. Çalışma, bu tür açıklamaların olmadığı durumlarda güvenilirlik 3 veya güvenilirlik 4 olarak puanlanabilir ve her ikisi de olumlu çalışma sonuçlarından daha azını gösterir.

Maruz kalma yolu/türü: Test maddesinin uygulanması, test organizmalarının uygun şekilde maruz kalmasını sağlamak için dikkate alınması gereken kritik bir faktördür. Algler için statik testler yaygındır. Dafniya çalışmaları için statik veya yarı statik testler yaygındır ve balıklar için statik, yarı statik ve sürekli akış çalışmaları yaygındır. Maddenin çözünürlük, yüksek yüzeye tutunma, çökme vb. gibi ilgili fiziko-kimyasal özelliklerinin uygulanan test maddesi üzerindeki potansiyel etkisi de belgelenmelidir.

Bazı çalışmalarda, maruz kalma süresi boyunca gıda dahil edilir (örneğin, yeşil algler bir Dafniya üreme testinde gıda olarak eklenir). Bu gibi durumlarda, alglerde yüzeye tutunan maddeler için gıda yoluyla maruz kalma da meydana gelebilir.

Test ortamının ve seyreltme suyunun bir açıklaması, örneğin doğru bir şekilde, belirtilen sertlik ve tuzluluk aralığında vb. yapıldığından emin olmak için dahil edilmelidir. Toplam organik karbon, iyonize edilmemiş amonyak gibi diğer ilgili kalite kriterleri de uygun şekilde dahil edilmelidir. Tüm abiyotik faktörlerin test organizmalarının tolerans sınırları dahilinde olmasını sağlamanın yanı sıra, türleşmeyi (yani bulunabilirliği) yöneten ve daha sonra belirli kimyasalların alımını etkileyebilecek çözünmüş organik karbon konsantrasyonu (DOC), katyonlar ve anyonlar gibi diğer abiyotik parametrelerin uygun bir açıklaması da dahil edilmelidir. Özellikle bazı metallerin ve inorganik metal bileşiklerinin biyoyararlanımı üzerindeki abiyotik faktörlerin etkisi araştırılmıştır ve bu kimyasalların bazıları için biyoyararlanım için düzeltme mümkün ve uygundur. Biyoyararlanım terimi³ hem türleşme olayı hem de biyolojik/fizyolojik faktörlerden etkilenen biyoerişilebilirlik nedeniyle metallerin bulunabilirliğini (değişkenliği azaltmak için kimyasal türleşme modellerinin birinci kademe olarak kullanılabilmesi) organizmadan bağımsız olan bir kısım tanımlamak için kullanılan metallerin çevresel risk değerlendirmesi kapsamındadır.

Ayrıca, temel metallerin ve metal bileşenlerinin test edilmesi durumunda, kültür ortamına eklenen veya mevcut olan temel metallerin ve inorganik metal bileşiklerinin seviyesiyle ilgili kültür koşullarının uygun bir açıklaması alıştırma gibi konularda değerli bilgiler sağlayabilir. Metaller ve inorganik metal bileşikleri için sucul etkilerin değerlendirilmesinde biyoyararlanımın nasıl göz önünde bulundurulacağı, metallerle ilgili rehberde daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Test konsantrasyonları/doz seviyeleri ile konsantrasyonların sayısı bilinmeli ve mümkünse test süresi boyunca konsantrasyonların korunduğuna dair kanıt sağlanmalıdır. Bu nedenle ölçülen konsantrasyonlar, nominal (ölçülmemiş) konsantrasyonlara tercih edilir. Ölçülen konsantrasyon nominal konsantrasyonların < % 80'i ise, etki değerleri ölçülen ortalama konsantrasyonlarla ilişkilendirilmelidir.

³ Metallerin biyoyararlanımı: Bir metal, bir organizma tarafından alım için serbest olduğunda ve bir toksisite cevabı ile sonuçlandığında biyoyararlanılabilir olarak kabul edilir (Newman ve Jagoe, 1994; Campbell ve ark., 1988). "Biyoyararlanım" kavramının arkasındaki ana fikir, bir metalin toksik etkisinin yalnızca o metalin ortamdaki toplam (veya çözünmüş) konsantrasyonuna değil, fiziko-kimyasal faktörlere, dikkate alınan serbest metal iyonuna, metalin bağlandığı biyolojik ligand arasındaki karmaşık etkileşime ve maruz kalan organizmanın toksik cevabına da bağlıdır. Başka bir deyişle, aynı toplam metal konsantrasyonu, tüm çevresel koşullar altında bir organizma üzerinde aynı seviyede toksik etkiye neden olmaz.

Sürekli akış çalışmaları için ölçülen konsantrasyonların aritmetik ortalaması hesaplanmalıdır, statik veya yarı statik testler için ise ölçülen konsantrasyonların geometrik ortalaması hesaplanmalıdır(bkz. Ek R.7.8-1). Yalnızca nominal konsantrasyonların sağlandığı bazı durumlarda, test konsantrasyonlarının sürdürülüp sürdürülmediğine karar vermek için uzman kararı gerekebilir. Bu tür durumlar aşağıdaki durumlarda ortaya çıkabilir:

- Çalışma sırasında konsantrasyonların korunduğu sonucuna varılabilmesi için malzemenin abiyotik ve biyotik olarak kararlı olduğu (örn. OECD 111, OECD 113, OECD 301A-F, OECD 310, OECD 302A-C gibi test rehberlerine göre gerçekleştirilen sudaki kararlılık/biyobozunurluk çalışmalarından) bilinmektedir.
- Test maddesi çözünürdür, çözünürlük sınırının oldukça altındadır;
- Uçucu değildir;
- Uygulama cihazında veya maruz kalma kaplarında düşük yüzeye tutunmaya sahiptir.

Metaller ve inorganik metal bileşikleri için ölçülen verilerin kullanılması amacıyla güçlü bir tercih vardır, çünkü doğal temel, analitik hatalar ve bazı metaller ile inorganik metal bileşiklerinin sınırlı çözünürlüğü ile ilgili potansiyel sorunlar mevcuttur. Rapor edilen toksisite değerlerinin ölçülen konsantrasyonlara bağlı olup olmadığı belirtilmemişse, bunlar nominal konsantrasyonlar olarak düşünülmelidir. Ölçülen verilerin bulunmadığı durumlarda, nominal konsantrasyonlar kullanılabilir. Metalin temel konsantrasyonunun, etki seviyelerine kıyasla genellikle çok düşük olduğu yapay bir ortamda testlerin çözünür metal tuzlarına bağlı olması halinde nominal konsantrasyonlar kullanılabilir. Yapay test ortamı yerine doğal suların kullanıldığı durumlarda türetilmiş NOEC/EC10 değerlerinin kullanılan doğal suyun rapor edilen temel değerlerine yakın olması halinde nominal değerlerin kullanımına ilişkin bir endişe olabilir çünkü bu konsantrasyonlar potansiyel olarak gözlemlenen toksisiteye önemli ölçüde katkıda bulunabilir ve sonuç olarak, nominal değerlerin kullanılması toksisitenin olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilir.

Bununla birlikte, doğal sularda metalin temel değerlerine ilişkin bilgilerin çoğunun kendiliğinden var olmadığı vurgulanmalıdır. Ayrıca, metaller için doğal temel konsantrasyonlar büyük ölçüde değişebilir ve antropojenik metal konsantrasyonlarından kolayca ayırt edilemeyebilir. Az çözünen metaller için güvenilir toksisite testi verileri elde etmek amacıyla her zaman çözünmüş oran⁴'in üzerinde ölçülen veriler gereklidir. Çözünürlük aşılırsa, test sonucu güvenilir olarak değerlendirilmelidir. Görsel bir çökeltmenin gözlemlendiği testlerden elde edilen sonuçlar dahil edilmemelidir. Görsel bir çökeltmenin olmaması, test sonuçlarını etkileyebilecek kolloidlerin varlığının göz önünde bulundurulmayacağı anlamına gelmemelidir. Daha özel bir rehberlik için Ek R.7.8-1'deki zor maddeler bölümüne bakınız.

⁴ Çözünmüş oran için farklı tanımlar mevcuttur. Çözünmüş oran, çoğunlukla ekotoksisite testlerinde 0.45 µm'lik bir filtreden geçen oranı ifade eder. Bununla birlikte, bu tanımın mutlaka çözüntideki metallere atıfta bulunamayacağına dikkat edilmelidir. 0.01-0.45 µm aralığında askıda kalmış kolloid inert tanecikler mevcut olabilir.

Bazı durumlarda, çözüldürücülerin kullanımına ilişkin çalışmalar gerçekleştirilecektir. Bu koşullarda, test maddesinin biyoyararlanımındaki değişikliği ve ayrıca çözüldürücünün potansiyel etkisini dikkate almak önemlidir.

Çözeltiler/çözümler olmadan gerçekleştirilen çalışmalar, çözümlerle yapılan çalışmalara tercih edilir. Çözelti konsantrasyonları tüm uygulamalarda ve kontrollerde aynı olmalıdır. Çözümlerin kullanımıyla gerçekleştirilen çalışmaların yorumlanmasına ilişkin daha fazla rehberlik OECD'de (2000c) sağlanmaktadır.

Maruz kalma konsantrasyonunun makul bir tahmininin belirlenemediği durumlarda test sonucu, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olmadığı sürece dikkatle değerlendirilmelidir.

Kontroller: Tüm çalışmaların kontrolleri olmalıdır. Bir çözelti kullanılırsa, çözeltinin kontrolleri de gereklidir.

Sonlanma noktaları ve bildirilen verilerin test edilmesi. Doz veya konsantrasyon cevabının açık olması ve İLU gibi bazı veri kalitesi ölçütlerinin izlendiğinin bildirildiği durumlarda, bir çalışmanın güvenilirliğine olan güven artırılabilir. Bir test sonucunun belirtilen değerden *daha düşük* (<) bir değer olarak bildirildiği durumlarda bu kullanılamaz. Belirtilen değerden daha büyük (>) olarak bildirilen sonuçlar ek bilgi olarak kullanılabilir ve bazı durumlarda tam olarak açıklanmış bir sonucun yerine doğrudan kabul edilebilir. Ancak bu sonuç, test tasarımı ve fiziko-kimyasal özellikler gibi sonucu etkileyebilecek hususlarla gerekçelendirilmelidir.

İstatistiksel analizler. LC50, EC50, IC50, NOEC değerleri gibi değerlerin türetilmesi için istatistiksel yöntemler rapor edilmelidir. Mümkün olduğunda, bunlar ilgili güvenilirlik kriterleriyle birlikte sunulmalıdır. Bununla birlikte, bunların yokluğunda yöntemin bir açıklaması kabul edilebilir olarak düşünülebilir.

Test tasarımı: Çalışmalar, kontroller ve test içeriği çözeltileri arasında yeterli istatistiksel farklılıkların belirlenebilmesini sağlayacak şekilde tasarlanmalıdır. Tekrar sayısına, tekrar başına test organizması sayısına, güvenilir bir ECx ve/veya NOEC/LOEC tespiti için gerekli konsantrasyon sayısına ilişkin daha fazla rehberlik, farklı OECD test rehberlerinde bulunabilir.

Hormez Etkisi: Organik maddelerde olduğu gibi metaller için de hormez gözlemlenmiş ve indüklenen stresin düşük seviyelerindeki (= daha düşük test konsantrasyonlarında) performans artışı ile ilişkilendirilmiştir. Bu gibi durumlarda, nötr kontrol verilerini bir referans olarak kullanmak veya hormez durumlarını modellemek için tasarlanmış özel modelleri kullanmak gerçekten önemlidir (Brain ve Cousens, 1989, Van Ewijk ve Hoekstra, 1993; Schabenberger ve ark., 1999; Cedergreen ve ark., 2005). Bir ECx türetilirken aktive edici kısmın dikkate alınması ihtiyacı, uygun olduğu durumlarda dikkate alınmalıdır.

Metaller ve özellikle temel metaller için, hormez gözlemi aynı zamanda kontrol ortamında bir metal eksikliğine işaret edebilir ve bundan kaçınılması gerekir (bakınız - test ortamının açıklaması). Test edilen en düşük konsantrasyonun yanı sıra hesaplanan EC10 değerleri değerlendirilirken, temel besinler için gözlemlenen bir hormez etkisinin olasılığı dikkate alınmalıdır.

Tatlı su türleri için özel test türleri rehberi

Aşağıdaki uygulamalı rehber, standart dışı ekotoksosite testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi için sağlanmıştır.

Algler ve sucul bitkiler üzerinde gerçekleştirilen büyüme inhibisyonu testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi (OECD 201 (2006c), 221 (2006d) ve diğer standart ve standart dışı testler):

Yaygın olarak kullanılan ve tercih edilen test türleri *Pseudokirchneriella subcapitata* (daha önce *Selenastrum capricornutum* olarak adlandırılmıştır), *Scenedesmus subspicatus* ve *Chlorella vulgaris*'tir. Tercih edilen bu türlerin tümü, eşit derecede kabul edilir.

Alg testi, hem akut hem de kronik sonlanma noktaları sağlamasına rağmen kısa süreli bir testtir. Bu çalışmada tercih edilen gözlemsel sonlanma noktası, test tasarımına bağlı olmadığı için alg büyüme hızı inhibisyonu, biyokütle hem test türlerinin büyüme hızına hem de test süresi ile test tasarımının diğer unsurlarına bağlıdır.

Çoğunlukla hem akut büyüme hızı EC_{50} (ErC_{50}) hem de biyokütle (EbC_{50}) sonlanma noktaları rapor edilir, ancak ikincisi kullanılmamalıdır. Bunun nedeni, biyokütle konsantrasyonunun logaritmik dönüşüm olmadan doğrudan kullanımının, üstel büyümedeki bir sistemden elde edilen sonuçların analizine uygulanamamasıdır. Yalnızca EbC_{50} 'nin rapor edildiği ancak birincil verilerin mevcut olduğu durumlarda, ErC_{50} 'yi belirlemek için verilerin analizi yeniden yapılmalıdır. *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak diğer destekleyici verilerin mevcut olduğu durumlarda, yalnızca EbC_{50} değeri rapor edilirse bu değeri dikkate almak mümkün olabilir. Ancak, yalnızca bir EbC_{50} rapor edilirse, birincil veriler mevcut değilse ve özellikle algler etki değerlendirmesi için en uygun türse, geçerli bir ErC_{50} ve NOEC veya ErC_{10} elde etmek için yeni bir alg çalışmasının gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmelidir.

Bu çalışma için tipik test süresi 72 saattir. Bununla birlikte, 96 saat de yaygın olarak rapor edilmektedir. Bu eşit derecede kabul edilebilir bir değer olarak kullanılmalıdır. Mevcut maddeler için genellikle > 96 saat süreli alg testleri mevcuttur. Alglerin tüm maruz kalma süresi boyunca üstel çoğalma aşamasında olduğu varsayılmayacağından, mevcut ham veriler kontrollerin monoton üstel çoğalmasını göstermedikçe bu tür testlerden elde edilen sonuç kullanılamaz. Bu aynı zamanda rapor edilen kronik NOEC değerleri için de geçerlidir. Bunun yaygın örnekleri 7 günlük ve 14 günlük olarak bildirilen değerlerdir.

Bazen test, standart test rehberlerine göre gerçekleştirildiğinde test süresinin bitiminden önce kontrolde üstel çoğalmanın durduğu da görülür. Benzer şekilde, bu etki testin geçerlilik kriterlerinin karşılanmadığı (pH artışı vb.) veya testin sonunda maruz kalma konsantrasyonlarında alg çoğalmasının arttığı (örneğin test maddesinin test sisteminden kaybolması nedeniyle) durumlarda gözlemlenebilir. Bu gibi durumlarda, testin yalnızca üstel çoğalmanın meydana geldiği ve kontroller için geçerlilik kriterlerinin karşılandığı kısımdan elde edilen veriler kullanılmalıdır. Birçok durumda bu, hesaplanan ErC_{50} ve NOEC veya ErC_{10} değerlerinden son test gününe ait verilerin çıkarılmasıyla elde edilebilir.

Alg çalışması ölçümleriyle ilişkili yaygın sorunlar, renkli test malzemelerinden ve bu malzemelerin belirli tanecik boyutundan kaynaklanır (bkz. [Ek R.7.8-1](#)).

Sucul toksisite testleri için en yaygın kullanılan damarlı bitkiler su mercimekleridir (*Lemna gibba* ve *Lemna minor*). Lemna testi, hem akut hem de subkronik sonlanma noktaları sağlamasına rağmen kısa süreli bir testtir. Testler 14 güne kadar sürer ve algler için kullanılabenzer besin açısından zenginleştirilmiş ortamlarda gerçekleştirilir, ancak gücü artırılabilir.

Test tasarımı statik, yarı statik veya sürekli akış olabilir. Yaprak sayısı birincil ölçüm değişkenidir. Diğer ölçüm parametreleri yaprağın toplam alanı, kuru ağırlığı/yaş ağırlığıdır. ECx/NOEC büyüme hızıyla ilişkilendirilmelidir.

Omurgasızlar üzerinde gerçekleştirilen kısa süreli toksisite testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi (OECD 202 (2004b) ve diğer standart ve standart dışı testler):

Dafniya magna'ya ek olarak *Dafniya pulex*, *Ceriodaphnia affinis* ve *C. dubia* yaygın olarak test edilen türlerdir. *D. magna* ve *D. pulex*'in hassasiyetinde genel olarak önemli bir fark yoktur. Her üç türün de akut toksisite testleri arasında iyi bir ilişki bildirilmiştir (ECETOC 2003c). Tercih edilen bu türlerin tümü, eşit derecede kabul edilir.

Kabuklularla yapılan akut testler genellikle < 24 saatlik ilk dönem yavrularıyla başlar. Kullanılan test organizmaları > 24 saat ise, hassasiyetleri daha düşük olabilir ve test yalnızca mevcut diğer verilerle bağlantılı olarak kabul edilebilir.

Dafnidler için 48 saatlik bir test süresi standarttır. Ancak, bu çalışma için genellikle 24 saatlik LC50 veya EC50 değerleri rapor edilir. 24 saatlik değerler, sonuçların tekrarlanabilirliğinde önemli değişkenliğe sahip olabilir ve 48 saatlik değerlerle karşılaştırılmamalıdır. Bu nedenle, rapor edilen standart 48 saatlik değerler 24 saatlik değerlere tercih edilir. 24 saatlik değerler, yalnızca kaliteli 48 saatlik değerlerin yokluğunda ve diğer mevcut tarihlerle (test dışı, çapraz okuma, zamana bağlı etkilere ilişkin bilgiler vb.) bağlantılı olarak dikkate alınmalıdır. Mysidalar veya diğer kabuklular için tipik olarak 96 saatlik bir süre geçerlidir.

Kısa süreli omurgasız testleri için gözlemsel sonlanma noktası, mortaliteye ilişkin net bir karar vermek oldukça zor olduğundan, mortalitenin bir vekili olarak hareketsizleşmedir (EC50). Hareketsizleştirme, hafifçe dürtmeye cevap vermeyen olarak tanımlanır.

Çalışmalar genellikle, çalışma sırasında test çözeltilerinin belirli aralıklarla (genellikle 24 saat sonra) yenilediği yarı statik koşullar altında yürütülür. Bu, çalışma süresi boyunca test konsantrasyonunun korunmasına yardımcı olur. Bu çalışmalar, test malzemesinin hızlı bir şekilde (biyotik veya abiyotik olarak) bozunduğunun bilindiği durumlarda veya test malzemesinin yüzeye tutunma süreçleri gibi bilinen özelliklerinin konsantrasyonun azalmasına neden olabileceği durumlarda, statik koşullar altında yürütülen çalışmalara tercih edilir. Sürekli akış çalışmalarından elde edilen sonuçlar, test süresi açıklandığı takdirde kullanılabilir.

Bu akut çalışma için genellikle bir NOEC rapor edilir. Bu değer, OECD Rehberi 211'de bildirildiği gibi kronik NOEC için vekil değer olarak kullanılamaz.

Omurgasızlar üzerinde gerçekleştirilen uzun süreli toksisite testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi (OECD 211 (1998b) ve diğer standart ve standart dışı testler):

Kabuklularla yapılan kronik testler de genellikle ilk dönem yavrularıyla başlar ve olgunlaşma ve üreme boyunca devam eder. Maruz kalma süresi boyunca en az 3 kuluçka üretilmelidir. Dafnidlerde olgunlaşma ve 3 kuluçkanın üretilmesi için 21 günlük bir süre yeterlidir. Mysidalar için 28 gün gereklidir, *Ceriodaphnia dubia* ise 7 gün içinde 3 kuluçka üretir. Gözlemsel sonlanma noktaları ilk kuluçka dönemini, dişi başına üretilen yavru sayısını (üreme), büyümeyi ve sağkalımı (öldürücülük) içerir. Üreme ve öldürücülük en hassas sonlanma noktalarıdır. Hangi sonlanma noktasının dikkate alınacağına belirsiz olduğu durumlarda, rapor edilen en düşük değer kullanılmalıdır.

Test süresinden dolayı, test süresi boyunca test malzemesi konsantrasyonu kaybı için daha yüksek potansiyel vardır. Bu nedenle, mevcut olan durumlarda analitik destekli çalışmalar tercih edilir. Bu tür verilerin mevcut olmadığı durumlarda, bu verilerin mevcut olduğu durumlarda test malzemesinin konsantrasyonuna ilişkin şüpheye yol açabilecek diğer özellikler dikkate alınmalıdır. Çözünürlüğe ek olarak bunlar, biyotik ve abiyotik bozunmayı ve test malzemesinin yüzeye tutunma potansiyelini (cam eşya/yem vb. faktörlerin test edilmesine yönelik kayıplarla sonuçlanır) içerir.

Tipik olarak 21 günlük bir çalışma, sağkalım veya üreme sonlanma noktaları için ECx/NOEC değerlerini bildirebilir. En düşük değer, üreme için ECx/NOEC oluşturmak amacıyla kullanılmalıdır, ancak uygulamada iki sonlanma noktasının sonucu birbirine yakın olma eğilimindedir.

Balıklar üzerinde gerçekleştirilen kısa süreli toksisite testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi (OECD 203 (1992a) ve diğer standart ve standart dışı testler):

Bir dizi türün birden fazla OECD Test Rehberinde kullanılması tavsiye edilmektedir. Ek R.7.8-2, OECD Test Rehberleri 203'e göre yaygın olarak kullanılan ve tavsiye edilen türleri belirtir: Balık, Akut Toksikite Testi; 204 Balık, Uzun Süreli Toksikite Testi: 14 günlük Çalışma; 210: Balık, Erken Yaşam Evresi Toksikite Testi; 212: Balık, Embriyo ve Yavru Balık Kesesi Aşamalarında Kısa Süreli Toksikite Testi ve 305: biyokonsantrasyon: Sürekli Akış Balık Testi. Tercih edilen bu türler, eşit derecede kabul edilir.

Balık türlerinin hassasiyetlerindeki farklılıklar bazı durumlarda önemli olabilir. Bu, genellikle tür hassasiyetindeki doğal farklılıklardan ziyade test malzemesinin toksisitesindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Genellikle, toksisitesi yüksek olan maddeler farklı türlerde yüksek toksisiteye neden olmaktadır. Akut testler genellikle 0.1-5 gr ağırlığındaki yavru balıklarla 96 saatlik bir sürede gerçekleştirilir. Ağırlığı bu aralıktan daha yüksek olan balıklar genellikle daha az hassastır.

Değerlerin daha kısa test süresiyle bildirildiği durumlarda, bunlar dikkatle ele alınmalı ve çapraz okuma gibi yalnızca diğer verilerle (test dışı) birlikte kullanılmalıdır, çünkü 96 saatten kısa olan maruz kalma aşamaları genellikle daha yüksek etki değerlerine yol açar.

Test malzemesinin kolay biyobozunur olduğu ve nominal test konsantrasyonunun düşük olduğu (< 10 mg/l) durumlarda yürütülen çalışmalar değerlendirilirken de dikkatli olunmalıdır. Bu gibi durumlarda, test konsantrasyonlarının nominal konsantrasyonlardan daha düşük olma olasılığı yüksektir.

Bu testlerdeki gözlemsel sonlanma noktası mortalitedir (LC₅₀).

Çalışmalar genellikle test çözeltilerinin belirli aralıklara (genellikle 24 saat sonra) veya çalışma sırasında sürekli olarak yenilediği yarı statik koşullar veya sürekli akış koşulları altında gerçekleştirilir. Bu, çalışma süresi boyunca test konsantrasyonunun korunmasına yardımcı olur. Bu çalışmalar, test malzemesinin hızlı bir şekilde (biyotik veya abiyotik olarak) bozunduğunun bilindiği durumlarda veya test malzemesinin yüzeye tutunma süreçleri gibi bilinen özelliklerinin konsantrasyonun azalmasına neden olabileceği durumlarda, statik koşullar altında yürütülen çalışmalara tercih edilir.

Balıklar üzerinde gerçekleştirilen uzun süreli toksisite testlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi (OECD 210, 212, 215 ve diğer standart ve standart dışı testler):

Sadece bu tür çalışmalar, hassas yaşam evrelerinin (yavrular, yumurtalar, larvalar) maruz bırakıldığı uzun süreli balık testi olarak kabul edilebilir. Bu nedenle, OECD 204 (Balık, Uzun Süreli Toksikite Testi: 14 Günlük Çalışma (OECD 1984)) veya benzer rehberlere göre gerçekleştirilen testler, uzun süreli testler olarak uygun kabul edilemez. Bu çalışmalar, incelenen ana sonlanma noktası olarak balık mortalitesine ilişkin geçerli uzun süreli çalışmalardır. En ilgili uzun süreli balık testleri aşağıda açıklanmıştır.

OECD Test Rehberi 210 (1992b) Balık, Erken Yaşam Evresi (FELS) Toksikite Testi:

Test için aşağıdaki tatlı su türleri tavsiye edilir: *Brachydanio rerio*, *Pimephales promelas*, *Oryzias latipes* ve *Oncorhynchus mykiss* ile tuzlu su türlerinden *Cypridon variegatus*. Mevcut olan standartlaştırılmış test yöntemlerinin arasında FELS toksisite testi, balık testlerinin en hassas olanı olarak kabul edilmektedir. Yeni döllenmiş yumurtadan büyümenin ilk aşamalarına kadar balıkların çeşitli yaşam evrelerini kapsar ve aynı zamanda biyobirikimin potansiyel toksik etkilerini incelemek için şu anda mevcut olan tek uygun testtir. Gerekli test süresi türe bağlıdır: Gökkuşuğu alabalığı için kuluçka sonrası 60 gün veya sıcak su balığı için yaklaşık 30 gün. Gözlemsel sonlanma noktaları arasında kuluçkadan çıkma başarısı, sağkalım ve büyüme yer alır.

OECD Test Rehberi 212 (1998a) Balık, Embriyo ve Yavru Balık Kesesi Aşamalarında Kısa Süreli Toksikite Testi:

Test için aşağıdaki tatlı su türleri önerilmektedir: *Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Cyprinus carpio*, *Oryzias latipes* ve *Oncorhynchus mykiss*. Bu test, yeni döllenmiş yumurtadan yavru balık kesesi aşamasının sonuna kadar hassas erken yaşam evrelerini ölçer. FELS toksisite testinden önemli ölçüde daha kısadır ve dolayısıyla daha ucuzdur, ancak daha az hassas olduğu da kabul edilir. Yöntem, $\log K_{ow}$ değeri 4'ten az olan maddeler için FELS toksisite testine bir alternatif sunar.

OECD Test Rehberi 215 (2000b) Balık, Yavru Büyüme testi:

Oncorhynchus mykiss, test için tavsiye edilen tatlı su türüdür, ancak *Danio rerio* ve *Oryzias latipes* de kullanılabilir. Bu test, yavru balıkların belirli bir süre boyunca büyümesini ölçer ve hassas bir toksisite göstergesi olarak kabul edilir. Balıkların yaşam döngüsündeki tüm hassas noktaların incelenmesi için yeterli sürenin olmadığı düşünülse de, $\log K_{ow} < 5$ olan maddeler için FELS testine daha kısa ve daha ucuz bir seçenek sunar.

Çalışmalar iyi belgelendirilmişse ve kritik noktalarda (maruz kalma süresi, çalışılan sonlanma noktaları) rehberlere uygunsa, benzer yöntemler kullanan standart dışı testler kabul edilebilir. Çalışmalar tercihen sürekli akış koşulları altında veya uygun olan yarı statik koşullar altında gerçekleştirilmelidir.

Deniz türleri

Standartlaştırılmış birkaç deniz türü protokolü mevcuttur (bkz. [Ek R.7.8-2](#)).

Genel olarak, tatlı su testleri için açıklanan kriterlerin aynısı, deniz türleri için gerçekleştirilen testlerin değerlendirilmesi için uygulanmalıdır. Maddenin çözünürlüğünün tuzluluktan etkilenebileceği gerçeğine ayrıca dikkat edilmelidir (daha fazla ayrıntı için [Ek R.7.8-1](#)'e bakınız).

Zor maddeler

Önemli sayıda kimyasal, OECD (2000c) sınıfının sucül toksisitelerini belirlemek amacıyla test edilmesi zor olan 'zor maddeler' olarak tanımlanmaktadır. Zor maddelerin tipik özellikleri şunları içerir:

- Test sırasında madde konsantrasyonunun korunmasındaki zorluk, örneğin test ortamında bozunma veya ortamdan madde kaybı (örn. emilim veya buharlaşma)
- Test ortamındaki çözünürlüğün veya çözünürlüğü değişen çok bileşenli bir maddenin neden olduğu maddenin çözünmesindeki zorluk
- Analitik bir yöntem geliştirmedeki problemler veya yine çok bileşenli maddeler nedeniyle madde konsantrasyonunun ölçülmesindeki zorluk

Bu tür özellikler ve bunların geçerli testlerin yürütülmesi ve yorumlanmasında neden olduğu sorunlar Ek R.7.8-2'de ve daha ayrıntılı olarak OECD ile ECETOC (ECETOC 2003a) tarafından yayınlanan yayınlarda açıklanmaktadır. Bunlar aynı zamanda bu tür sorunlarla başa çıkmanın pratik yollarını da tanımlar. Test edilmesi zor olan bir maddenin olasılığı, genellikle suda çözünürlük, uçuculuk, biyobozunum, hidroliz ve ışıkla bozunum gibi fiziko-kimyasal özelliklerinden belirlenebilir. Bu, yeni bir test yapılmadan veya bir test raporunu gözden geçirmeden önce bu parametreleri bilmenin ne kadar önemli olduğunu yeniden vurgular.

İn vivo - çoklu tür (saha verileri)

Model ekosistemler, zararlılık ve davranış değerlendirmesi süreçlerindeki en yüksek deneysel kademeyi temsil eder. Testler iyi tasarlandığında, çevresel organizmaların kimyasallara maruz bırakılması, model ekosistem testlerinde uygulanan yolla doğrudan ilişkili olabilir. Organizmaların çeşitliliği ve etkileşimleri, daha basit laboratuvar tek tür testlerinde yeterince modellenemez, bu nedenle biyotanın davranışı ve etki cevapları hakkında değerli bilgiler elde edilebilir. Test sistemleri, hedeflere ulaşmak için yeterli miktarda karmaşık grup içermelidir. Çevrenin korunmasında yararlı olması için, sonuçların istatistiksel olarak güvenilir olması ve cevap modellerini belirleyebilmesi gerekir.

Veri Birleştirme Kavramı ve İstatistikler

Model ekosistem testlerinden geliştirilen sonuçlar, ölçülen sonlanma noktalarının tek değişkenli ve çok değişkenli istatistiksel analizlerinin bir kombinasyonunu kullanan uzman görüşüne dayanmaktadır.

Model ekosistem verilerinin açık bir şekilde değerlendirilmesi sistematik olmalıdır. Test sırasında toplanan ölçümler her ikisine de uygunsa, hem tek değişkenli hem de çok değişkenli analizlerin kombinasyonları tercih edilir. Etkiler kalıcı olsun veya olmasın, zaman içinde gözlemlenen etkiler ve önemli sonlanma noktaları için maruz kalma-cevap ilişkisinin doğası araştırılmalıdır. OECD (2006a), durgun su çalışmaları için raporlama gerekliliklerini sağlar, ancak akan su çalışmaları için de benzer hususlar mevcuttur. Bunlar test maddesiyle ilgili bilgileri, test sisteminin kapsamlı tanımını, deneysel tasarımı, ölçülen verileri ve verilerin nasıl değerlendirildiğini içerir. Ek R.7.9-2'de açıklandığı gibi, bir çalışmanın fiili raporlaması büyük ölçüde çalışmanın amaçlarına bağlı olacaktır.

Verilerin değerlendirilmesi

Mezokozmlar genel kimyasallar için yaygın olarak kullanılmamaktadır, çünkü kullanılan dozlama yöntemleri bu kimyasalların çevreye ulaşma şeklini (akıntı veya akıntı yoluyla göletlere, hendeklere veya nehirlerle ulaşabilen pestisitlerin aksine) temsil etmeyebilir. Başka bir neden de, bu kadar yüksek kademeli pahalı testleri yürütmek için yalnızca birkaç endüstriyel kimyasal kaynağının mevcut olmasıdır. Bazı istisnai durumlarda (özellikle atık kimyasallarda) lotik mezokozm verileri en kullanışlı veriler olabilir. Bununla birlikte, su konsantrasyonlarının ve mezokozmın, çöktürülen denge konsantrasyonlarına ulaşmasına yetecek kadar uzun bir süre korunabilmesi halinde, sonuçlar bireysel türler üzerindeki laboratuvar testlerine ek olarak oldukça ilgili olabilir.

Avrupa Birliği'ndeki Mevcut Maddeler Tüzüğü dahilinde, sadece birkaç madde için mezokozm çalışmalarından elde edilen sonuçlar mevcuttur (örneğin, çinko ve kadmiyum gibi metaller, akrilamid, nonilfenol).

Özetle, ana sonuçlar mezokozm verilerinin aşağıdaki dezavantajlardan bazıları ile ilişkilidir:

- Gözlem aralıkları çok uzun olabilir.
- Yorumlamayı zorlaştıran diğer kirleticilerle (örneğin metaller) örtüşme olabilir.
- Analitik tutarsızlıklar meydana gelebilir.
- Maruz kalma konsantrasyonlarının uzun süreli korunması ve konsantrasyonun belirlenmesi (örneğin nehir akış hızlarıyla ilişkili olarak) ile ilgili zorluklar olabilir.
- Bazı potansiyel hassas yaşam evreleri (örn. larva aşamaları), sonlanma noktaları veya türler dahil edilmeyebilir.
- Bu tür test sistemlerinde bulunan doğal çeşitlilik göz önüne alındığında, kontrol popülasyonlarındaki çeşitliliğe kıyasla popülasyon yoğunluğundaki çok büyük değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olabilmesi için meydana gelmesi gerekebilir.
- Ölçülen sonlanma noktalarının sayısı, güvenilir sonuçların elde edilmesi için yetersiz olabilir veya net bir konsantrasyon-etki ilişkisi eksik olabilir.

Sucul pelajik toksisiteye ilişkin test dışı veriler

Test dışı verilerin değerlendirilmesi için genel rehberlik *BG ve KGD Rehberi*'nin Bölüm R.6'sında sağlanmaktadır (ortak QSAR rehberi). Aşağıdaki bölüm, sucul toksisitedeki test dışı verilerin güvenilirliğinin değerlendirilmesi için özel bilgileri içerir.

QSAR sonuçlarının değerlendirilmesi

BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.6, Başlık R.6.1'de belirtildiği gibi, test dışı bir sonucun güvenilirliğinin değerlendirilmesi iki adımı içerir:

1. Modelin veya uzman sistemin geçerliliğinin değerlendirilmesi

Bir modelin geçerliliği, QSAR değerleri için OECD doğrulama ilkelerine göre değerlendirilmelidir (OECD 2004a). Uzman sistemlerin değerlendirilmesi için sırasıyla kullanılabilirler. OECD ilkelerinin derinlemesine bir yorumu Worth ve ark. (2005) ve *BG ve KGD Rehberi*'nin R.6 Bölümünde (ortak QSAR rehberi). Tablo R.7.8-1, suda yaşayan organizmalardaki toksisite sonlanma noktalarının değerlendirilmesi için belirli hususları özetlemektedir.

Tablo R.7.8-1 OECD geçerlilik kriterlerinin özel sucul toksisite amaçları

OECD İlkesi	Sucul toksisite değerlendirmesine ilişkin belirli hususlar
İlke 1: tanımlanmış bir sonlanma noktası	QSAR modeli deneysel verilere dayanıyorsa aşağıdakilerle tanımlanmış bir sonlanma noktası varsayılır a) ölçülen tek bir biyolojik sonlanma noktası (örneğin, belirli bir balık türünün mortalitesi) b) karşılaştırılabilir maruz kalma koşulları (örn. maruz kalma süresi, test organizmalarıyla aynı yaş) ve c) istatistiksel olarak türetilmiş tek bir sonlanma noktası (örneğin LC ₅₀)
İlke 2: kesin bir algoritma	Özel kabuller yoktur. Tek tanımlayıcı olarak logK _{ow} kullanan doğrusal regresyonlara bağlı modellerin kesin bir algoritmaya sahip olduğu kabul edilir. (Q)SAR modellerinin bilimsel doğrulaması için genel hususlar Başlık R.6.1.3'te açıklanmaktadır.
İlke 3: tanımlanmış bir sonlanma noktası	Tanımlanmış bir uygulanabilirlik alanı şunlara dayanabilir a) modelin tanımlayıcı alanının tanımı (yani eğitim setinin log K _{ow} aralığı) b) modelin yapısal alanının tanımı (örneğin, modelin kapsadığı parçaların ve fonksiyonel grupların tanımı) c) modelin mekanik alanının tanımı
İlke 4: uygun uyum iyiliği, sağlamlık ve tahmin gücü ölçütleri	Sucul toksisite değerlendirmesi için özel bir husus yoktur. (Q)SAR modellerinin bilimsel doğrulaması için genel hususlar Başlık R.6.1.3'te açıklanmaktadır.
İlke 5: mekanik bir yorumlama (mümkünse)	QSAR modeli, aynı etki şekline sahip olduğu varsayılan kimyasallara (örneğin, polar veya polar olmayan narkoz modelleri) veya bilinen bir etki şekline sahip kimyasal sınıflara (örn. karbamatlar) dayanıyorsa, mekanik bir yorum mümkündür.

Analizin sonucu basit bir evet/hayır cevabı olmayabilir ve kararın düzenleyici bağlamını dikkate almadan modelin geçerliliği hakkında bir sonuca varmak mümkün olmayabilir. Ancak analizin sonuçları şeffaf bir şekilde rapor edilmelidir. QSAR modeli raporlama formatları (QMRF) olarak adlandırılan şablonlar, BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.6, Başlık R.6.1.9'da verilmiştir.

2. Bir tahminin sonucunun güvenilirliğinin değerlendirilmesi

Model tahminlerinin değerlendirilmesi için genel rehberlik BG ve KGD Rehberi Bölüm R.6, Başlık R.6.1.3'te sağlanmaktadır. Değerlendirmenin sonucu ayrıntılı olarak rapor edilmelidir. QSAR tahmini raporlama formatları (QPRF) olarak adlandırılan şablonlar, BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.6, Başlık R.6.1.10'da sağlanmıştır.

Etki şekillerinin belirlenebilmesi için şemaların sonucunun değerlendirilmesi

Bir etki şekli tahmininin sonucunun değerlendirilmesi, esas olarak şemanın temeline (mekanik alan) göre tahminin olası kısa sonuçlarının bir analizi ile bağlantılıdır. Şemalardan bazıları, olası yapısal uyarıların/yapısal sınıfların tanımlanmasına odaklanan kuralları içerirken, diğerleri narkoz yoluyla hareket eden kimyasalların aktif olarak tanımlanmasına odaklanır (örn. Verhaar ve ark., 1992). Farklı şemaların temellerine ilişkin bazı bilgiler BG ve KGD Rehberi (Ek 1), Bölüm R.10'da verilmektedir.

Genel olarak aşağıdaki hususlar dikkate alınmalıdır:

- Karakterizasyon, belirli yapısal özelliklerin belirlenmesine bağlı mı? Örneğin; kimyasal yapısı nedeniyle ya da sadece şemada tanımlanan herhangi bir sınıfa uymadığı için narkotik olarak tanımlanan bir madde midir?
- Kimyasal, karakterizasyon şemasının uygulanabilirlik alanı içinde mi? Örneğin; kimyasal, şemalar tarafından bilinmeyen alt yapıları içeriyor mu? Şemanın aşırı toksisiteden sorumlu olabilecek alt yapıların tanımlanmasına dayanması halinde bu giderek daha da önemli hale gelir. Şema, kimyasalın bir altyapısı şema tarafından bilinmiyorsa bu alt yapının aşırı toksisite yaratıp yaratmayacağını değerlendiremeyebilir.

Yapısal uyarılar için bir araştırmanın sonucunun değerlendirilmesi

BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.7c, Başlık R.7.8.3 ve Başlık R.10.2.2.2'de açıklanan yapısal uyarılar, maddenin sucül toksisitesini artırabilecek alt yapıların varlığını gösterir. Bu nedenle, belirli bir madde için yapısal bir uyarı tanımlanmışsa, maddenin aşırı toksisite sergilediği varsayılabilir. Öte yandan, yapısal uyarıların listelerinin kapsamlı olmaması sebebiyle, yapısal bir uyarının olmaması aşırı toksisitenin olmadığını göstermez. Bu nedenle, yapısal bir uyarı araştırmasının sonuçları yalnızca aşırı toksisitenin bir teyidi veya kanıtı olarak kullanılabilir. Hiçbir uyarının tanımlanmaması halinde diğer bilgileri göz ardı edemez. Yapısal uyarı araştırmasının güvenilirliğini değerlendirmek için yukarıda açıklanan aynı kriterler uygulanmalıdır.

Bir QSAR/QAAR tahmininin sonucunun değerlendirilmesi

Sucul toksisite sonlanma noktaları için bir QSAR/QAAR tahmininin güvenilirliğinin değerlendirilmesi, esas olarak maddenin modelin tahmin alanı içinde olup olmadığı sorusuyla bağlantılıdır. Değerlendirme için rehberlik, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.6, Başlık R.6.1'de sağlanmaktadır. Güvenilirlik hakkında ek bilgi, modelin mekanik alanının maddenin varsayılan etki şekli ile karşılaştırılması sonucunda elde edilebilir.

Gruplama yaklaşımıyla elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi

Gruplama yaklaşımıyla elde edilen sonuçların güvenilirliği büyük ölçüde uygun analogların ve kimyasal sınıfların seçimine bağlıdır. Güvenilirliğin değerlendirilmesi ve gruplama yaklaşımlarının uygulanabilirliği için genel rehberlik, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.6, Başlık R.6.2'de sağlanmaktadır. Sucul toksisite ile ilgili olarak, aşağıdaki ek hususlar dikkate alınmalıdır:

Gruplama yaklaşımı için kullanılan maddeler, alt yapılara göre karşılaştırılabilir midir (örneğin, yapısal uyarılar tüm maddeler için mevcut mu)?

Tüm maddeler için benzer bir etki şekli/yapısal sınıf varsayılabilir mi?

Sucul toksisiteyi etkileyen fiziko-kimyasal özellikler (örn. karşılaştırılabilir lipofiliklik) açısından karşılaştırılabilir maddeler midir?

Maddelerin metabolik yolu karşılaştırılabilir mi? Örneğin, metabolik aktivasyonun metil grupları içermeyen benzer bileşiklerden farklı olabilmesi sebebiyle, metil grupları olan maddelere özellikle dikkat edilmelidir.

Çapraz okuma ve kimyasal kategoriler için kimyasalların seçimi güvenilir bir belgeyle birleştirilmelidir. Raporlama formatları, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.6, Başlık R.6.2.6'da verilmiştir.

R.7.8.4.2 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin kalan belirsizlik

Genellikle, pelajik ortam için diğer çevresel ortamlardan daha fazla test mevcuttur. Bununla birlikte, pelajik organizmalar üzerindeki etki değerlendirmesi için bile, pelajik ekosistemin (PNEC) yapısını ve işlevini etkilemeyecek bir konsantrasyonun tahmin edilmesi hususunda genellikle ve normal olarak önemli bir belirsizlik kalacaktır.

Genellikle, pelajik organizmalar üzerindeki birkaç tek tür laboratuvar testinin ekosistemdeki daha karmaşık etkileşimleri göz önünde bulundurmaması sebebiyle bu laboratuvar testleri, belirsizliğe neden olan pelajik ortam için bir PNEC değerine uyarlanır. Yalnızca akut testlerin gerçekleştirildiği durumlarda, akut etki konsantrasyonlarının kronik etki gözlemlenmeyen konsantrasyonlara uyarlanması da belirsizlik anlamına gelir çünkü kısa süreli veriler, uzun süreli etki gözlemlenmeyen konsantrasyonlar için yalnızca sınırlı tahmin değerine sahiptir (Ahlers ve ark., 2006).

Kronik çalışmalar ne kadar fazlaysa hassas türlerin temsil edilme olasılığı o kadar yüksektir ve dolayısıyla kalan belirsizlik daha azdır. PEC/PNEC oranı 1'e yakın olduğunda, ideal olarak yaşam döngüsü maruz kalması dahil olmak üzere, pelajik türler hakkında mümkün olduğunca çok kronik veri içeren sağlam bir veri tabanına sahip olunması istenir.

Kalan belirsizlik, mevcut tüm bilgiler dikkate alınarak bütünleşik bir değerlendirme yapılırken (örneğin standart ve standart dışı testlerden elde edilen pelajik organizmalara ilişkin toksisite bilgileri dahil olmak üzere alternatif test yöntemleri ile test dışı bilgilerden elde edilen sonuçların dikkate alınmasıyla) birçok durumda azaltılabilir.

R.7.8.4.3 Sucul pelajik toksisite gerekliliklerine ilişkin maruz kalma hususları

KKDİK tarafından önerildiği üzere bir madde için bilgi gereklilikleri, maruz kalma hakkındaki bilgilere bağlı olarak değiştirilebilir (örn., başka bir testin başlatılması veya bir testten feragat edilmesi). Bu bölüm, yalnızca diğer veri gereksinimlerinin tetiklenmesini ele almaktadır (Sütun 2 uyarınca standart bilgi gereksinimlerinin uyarlanması için kurallar). Maruz kalmaya bağlı feragat konusundaki özel rehber başvurulmalıdır (Bölüm R.5.1). Genel olarak, KGD, suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerin daha fazla araştırılması gerektiğini belirtirse, bu da KKDİK Yönetmeliği, Ek 7 ve Ek 9 kapsamındaki maddeler için balıklar ve *Dafniya* üzerinde uzun süreli testlerin gerekli olduğu anlamına gelirse daha ileri testler önerilir. Daha fazla test yapma ihtiyacı, aşağıdaki durumlarda tetiklenebilir, örneğin:

- i. PEC/PNEC > 1 olduğu nicel bir değerlendirmeden elde edilen sonuçlar
- ii. Olası bir riskin doğrulanmasının/reddedilmesinin gerektiği nitel bir değerlendirmeden elde edilen sonuçlar (örn. bir maddenin suda çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle kısa süreli toksisite testlerinde herhangi bir toksisite gözlenmediğinde, uzun süreli testler gerçekleştirilir);
- iii. Belirli bir etki şekli ve bir grup organizmanın incelenen maddeye ilişkin beklenmedik hassasiyeti hakkında bilgi;
- iv. Sucul ortamda bir maddenin oluşumunu gösteren izleme verileri.

Başka testlere ihtiyaç duyulması halinde, omurgalı testleri için alternatiflere ilişkin Ek R.7.8-2'de verilen hususlar dikkate alınmalıdır.

PBT/vPvB değerlendirmesi bağlamında, daha fazla T testinin dikkate alınmasından önce P ve B özelliklerine ilişkin bir sonuca varılmalıdır. Maddenin hem P hem de B olduğu tespit edilirse, kronik toksisite çalışması gereklidir (SEA Yönetmeliği) uyarınca maddenin kanserojenite, mutajenite, üreme sistemi toksisitesi veya kronik toksisiteye ilişkin sınıflandırma kriterlerini karşılamasının dışında; bkz. KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 1.1.3'ün (b) ve (c) maddeleri). Normalde, kronik verilerle ilgili T'ye bağlı bir sonuca ilişkin test dizisi *Dafniya* ve ardından balıktır. T kriterinin kronik alg veya *Dafniya* verileri tarafından karşılandığı durumlarda kronik balık testi gerekli değildir ve bu nedenle omurgalı hayvanlar üzerinde gereksiz testlerden kaçınmak için yapılmaması gerekir.

R.7.8.5 Sucul pelajik toksisite ve bütünleşik test stratejisine (BTS) ilişkin sonuçlar

Bölüm [R.7.8.3](#) (bilgi kaynakları), farklı türlerde (*in vivo* test, *in vitro* test, test dışı) mevcut bilgilerin toplanması veya yeni bilgilerin elde edilme olasılıkları hakkında genel bir bakış sunar. Bölüm [R.7.8.4](#), bu farklı kaynaklardan gelen her bir bilgi parçasının yeterliliğinin, yani güvenilirliğinin ve uygunluğunun nasıl değerlendirilebileceği ve derecelendirilebileceği konusunda rehberlik sağlar. Bölüm [R.7.8.5](#)'in, mevcut bilgilerin toplam miktarının düzenleyici kararlar için uygun olduğu ve doldurulması gereken veri boşluklarının olduğu durumlarda maddenin toksisitesinin değerlendirilmesi hususunda rehberlik sağlaması beklenmektedir.

KKDİK'in genel amacı, insan ve çevre için yüksek düzeyde koruma sağlamaktır. Bunu başarmak için, kimyasal maddelerle ilişkili potansiyel zararlılıkların değerlendirilmesi gerekir ve bu amaçla, her bir kimyasalın kendine özgü özellikleri hakkında bilgi gereklidir. Aynı zamanda, KKDİK yönetmeliğine göre, omurgalı hayvan testleri mümkün olduğu durumlarda sınırlandırılmalıdır. KKDİK, Ek 7 ila Ek 10, Sütun 1, minimum bilgi gereklilikleri olarak kabul edilenleri belirtir. Ek 7 – Ek 10, Sütun 2 ve Ek 11, bu gerekliliklerin değiştirilme olasılıklarını belirtir. Ön koşul, a) standart testlerle elde edilecek sonuçlara eşdeğer ve b) üç düzenleyici sonlanma noktası için yeterli olan diğer bilgilerin mevcudiyetidir: Sınıflandırma ve Etiketleme, PBT değerlendirmesi ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi. Eşdeğerlik ve yeterlilik, mevcut tüm bilgilerden en iyi şekilde yararlanılarak, bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı ile doğrulanmalıdır.

Kanıt Ağırlığı, Bütünleşik Test Stratejileri (BTS) ile yakından bağlantılıdır, çünkü mevcut kanıtlar daha sonraki test aşamalarının belirlenmesine yardımcı olabilir. Daha sonraki testlerden elde edilen sonuçlar *Kanıt Ağırlığı*ni etkiler, bu da daha fazla teste ihtiyaç olup olmadığı konusunda yeni bir karara yol açar. BTS, özellikle esneklik ve durum özgüllüğü ile karakterize edilir. Genel bir BTS geliştirilemez, ancak duruma göre bir karar her zaman gerekli olacaktır. Bireysel bir BTS'nin nasıl geliştirileceğine ilişkin rehber, kullanıma hazır işlemlerin yerine karar verme kriterlerine ve temelde yatan hususlara odaklanmalıdır.

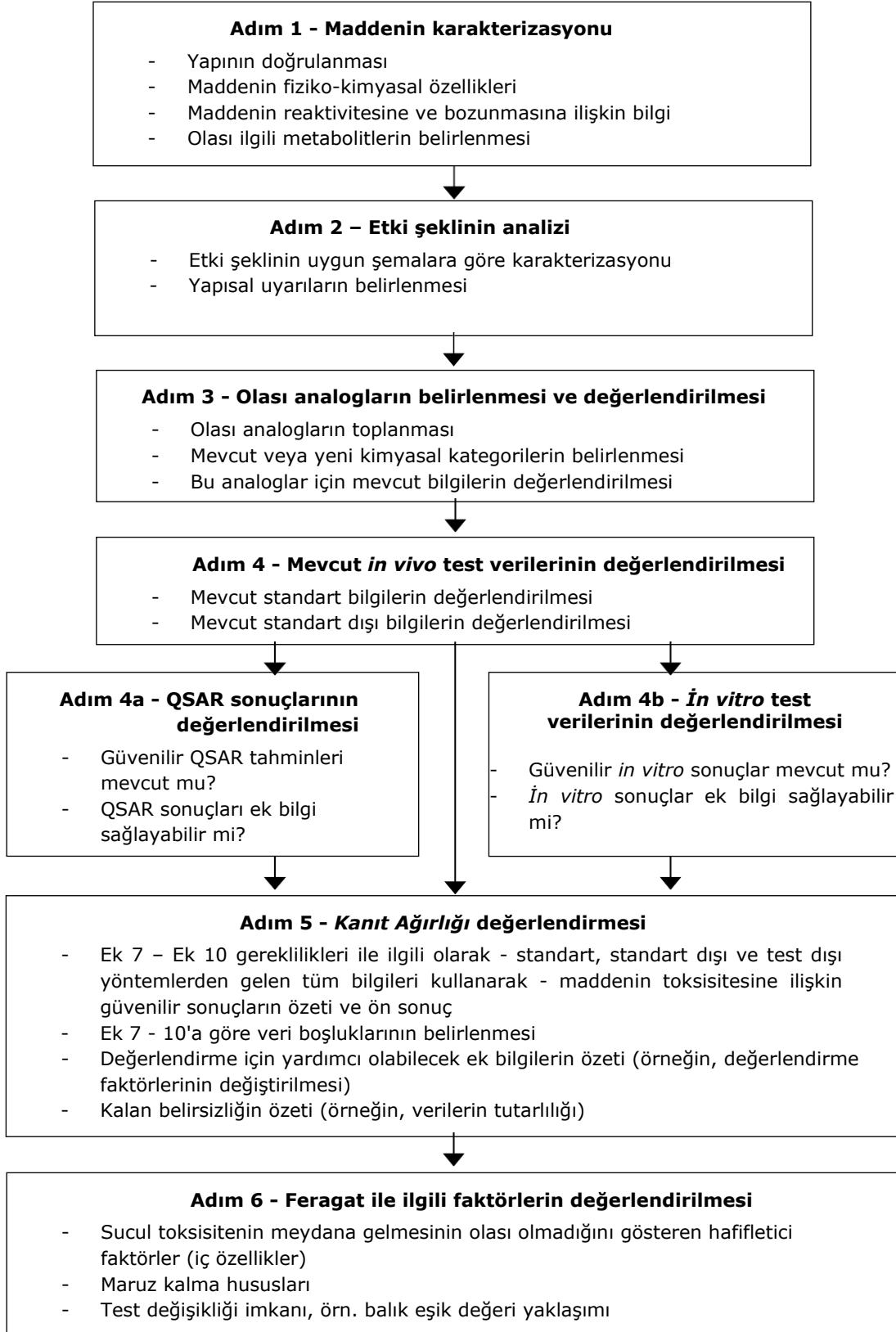
[Şekil R.7.8—2](#), bir *Kanıt Ağırlığı* kararına ilişkin tüm mevcut verilerin nasıl kullanılacağına ilişkin sistematik bir yaklaşımın ana hatlarını çizmektedir. Genel bir sonuca varmaya yardımcı olabilecek farklı bilgi türlerinin değerlendirilmesi için aşamalı bir işlem sağlar. Şema, sıralaması verilerin kalitesine ve miktarına bağlı olan değiştirilebilir esnek bir adımlar dizisi önerir, örn. yeterli kalitede *in vivo* verilere sahip bir madde için 2, 3 numaralı adımlar ile 4a ve 4b adımlarının gerçekleştirilmesi gerekli olmayabilir. Öte yandan, 2 ve 3 numaralı adımlar, veri kalitesinin değiştiği durumlarda; 4a ve 4b adımları, yeterli verinin bulunmadığı durumlarda özellikle yararlı olabilir. Mevcut bilgilerin değerlendirmesinden ziyade fiziko-kimyasal özelliklerle ilgili bilgilerin toplamı olan Aşama 1, diğer bilgilerin daha fazla değerlendirilebilmesi için bir ön koşuldur. Tüm aşamalar, üç farklı faaliyetle ilişkilidir:

- i. bilgilerin toplanması (Başlık [R.7.8.3](#)'teki ayrıntılı rehberine bakınız),
- ii. bir test raporu veya bir QSAR sonucu (Başlık [R.7.8.4](#)'teki ayrıntılı rehberine bakınız) gibi farklı bir bilgi parçasının kalitesinin değerlendirilmesi ve son olarak

- iii. bu bölümün odak noktası olacak tüm mevcut bilgilerin genel değerlendirmesi. *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının genel yönleri hakkında ek rehberlik Bölüm R.4'te sağlanmaktadır.

Kanıt Ağırlığı, farklı kaynaklardan gelen bilgilerin birleştirilmesini ve belirsizliğin çeşitli yönlerine bağlı olarak bir maddenin toksisitesi hakkında sonuca varmayı amaçlayan bir karar verme eylemidir. Genellikle uzman görüşü gerektirir. Bu uzman görüşünü şeffaf ve anlaşılır kılınabilmesi için kullanılan tüm bilgilerin, değerlendirme sürecinde gerçekleştirilen tüm adımların ve çıkarılan tüm sonuçların eksiksiz belgelendirilmesi ve gerekçelendirilmesi esastır.

Şekil R.7.8—2 **Kanıt Ağırlığı yaklaşımı için tavsiye**



* Şema, sırası verilerin kalitesi ile miktarına bağlı olan ve değiştirilebilen esnek bir adım dizisi önerir.

Aşama 1:

Bu adım, aşağıdaki hususların dikkate alınmasını içerir:

- Değerlendirme için temsili yapının seçimi (bkz. Başlık R.6.1.7.3)

Bu adım, bir maddenin etki şeklinin değerlendirilmesi ve test dışı tekniklerin (örn. QSAR modelleri) potansiyel kullanımı için gereklidir. Çok bileşenli kimyasal maddeler söz konusu olduğunda tek bir temsili yapının yeterli görülmediği durumlarda iki veya daha fazla yapının dikkate alınması gerekebilir.

- Alım ve davranışın ön analizi

Beklenen alımın, toksisitenin ve davranışın bir ön değerlendirmesi şu ana kadar toplanan bilgilerin (kimyasal yapı, kimyasal ve fiziksel özellikler, bozunma modeli, ana bileşiği içeren abiyotik ve biyotik reaksiyonlar ve diğer bilgiler) temelinde gerçekleştirilir.

Bu aşamada maddenin moleküler yapısını ve kararlılığını değerlendirmek ve ilgili metabolitleri tanımlamak önemlidir. Bu, mevcut *in vivo* testlerin değerlendirilmesi başta olmak üzere (örneğin, analitik verilerin bulunmadığı durumlarda test süresi boyunca test konsantrasyonunun sürdürülüp sürdürülmediğini değerlendirmek için) bir maddenin genel zararlılık değerlendirmesinde ve ayrıca QSAR sonuçlarının kullanımında (bir metabolite ilişkin QSAR modellerinin ana bileşik yerine kullanılmasının gerekli olup olmadığına karar vermek için) temeldir.

Daha fazla rehberlik Başlık [R.6.1.7.4](#)'te sağlanmıştır.

Aşama 2:

Başlık [R.7.8.3](#)'te açıklandığı gibi, bir maddenin olası akut etki şekli hakkında bilgi elde etmek ve yapısal uyarıları tanımlamak için çeşitli şemalar ve programlar mevcuttur. Başlık [R.7.8.4](#)'te bu yöntemlerin sonuçlarının değerlendirilmesi için bazı yardımlar sağlanmaktadır. Sonuçlar, etki şeklinin genel değerlendirmesi için QSAR tahmini raporlama formatları (QPRF) cinsinden mevcuttur. İlave olarak, yapısal uyarıların varlığına ilişkin bilgiler de mevcut olacaktır (daha fazla bilgi için bkz. Başlık [R.7.8.4](#)).

Akut etki şeklinin genel değerlendirmesi aşağıdaki soruları dikkate almalıdır:

- Kimyasal madde yapısal uyarılar içeriyor mu?
- Farklı araçların karakterizasyonu, etki şekline göre tutarlı mı?
- Farklı sınıflandırma şemalarının sonuçlarının farklı olması halinde, bu duruma ilişkin makul bir açıklama mevcut mu?
- Sonuçlardan ek bilgiler elde edilebilir mi?

Çoğu durumda, fotosentezin inhibisyonu gibi belirli bir etki şeklini belirlemek zor olacaktır. Bu nedenle değerlendirme, maddenin temel toksisite gösterme olasılığının olup olmadığı veya temel toksisiteyi aşma olasılığının olup olmadığı sorusuna odaklanmalıdır.

Bu sorunun cevabı, QSAR tahminleri ile deneysel verilerin güvenilirliğinin ve ilgili türlerin hassasiyetlerinin değerlendirilmesinde yardımcı olacaktır. Değerlendirme için aşağıdaki hususlar yardımcı olabilir:

Yapısal uyarılar

Yapısal bir uyarının varlığı, incelenen maddenin toksisitesinin, incelenen akut sonlanma noktasına (örneğin akut balık toksisitesi) bağlı olarak temel toksisiteyi aştığına dair güçlü bir gösterge sağlar. Öte yandan, yapısal bir uyarının olmaması, maddenin temel toksik olarak sınıflandırılmayabileceği anlamına gelmemektedir.

Etki şeklinin karakterizasyonu için farklı şemaların tutarlılığı

Başlık R.7.8.3 ve Başlık R.7.8.4'te özetlendiği üzere, farklı karakterizasyon şemalarının algoritması ve sonuçları (belirli etki şekillerinin veya aşırı toksisitenin belirlenmesi) farklılık gösterir. Farklı programların bazı avantajları ve dezavantajları Başlık R.7.8.4'te özetlenmiştir. Maddenin temel toksisite gösterip göstermediği sorusu ile ilgili olarak, farklı araçlar birleştirilmelidir.

Maddeyi temel toksik olarak karakterize eden farklı algoritmalara bağlı olarak farklı araçların mevcut olması ve yapısal uyarıların tanımlanamaması durumunda temel toksik olarak nitelendirilen maddenin karakterizasyonunun güvenilir olduğu kabul edilir. Yüksek bir güvenilirlik için, temel toksisiteyi aktif olarak tanımlayabilen karakterizasyon araçlarının (örneğin, Verhaar, 1992'ye göre) dahil edilmesi önemlidir. Bununla birlikte, genel değerlendirmede molekülün tüm kısımların göz önünde bulundurulup bulundurulmadığı veya değerlendirilmemiş alt yapıların mevcut olup olmadığı dikkatle değerlendirilmelidir.

Farklılıkların açıklaması

Farklı şemaların sonuçlarının farklı olması sebebiyle değerlendirme sonucunun güvenilirliği düşükse, aşağıdaki hususlar yardımcı olabilir:

- Fark, araçların algoritmalarındaki farklılıklar ile açıklanabilir mi?
Örneğin, temel toksik olarak ele alınan karakterizasyonun temel toksisiteyi aktif olarak tanımlamayan araçlara bağlı olması halinde maddenin şekilde (örneğin ECOSAR) karakterize edilememesi olasılığı nedeniyle daha yüksek bir belirsizlik varsayılabilir.
- Fark, değerlendirme için molekülün farklı kısımlarının dikkate alındığı durumlarda açıklanabilir mi?
Bu durumda karakterizasyon, genellikle en tutarlı sonuca (örneğin, temel toksisiteden ziyade aşırı toksisite) dayanmalıdır.

İlave bilgi

2. aşamanın sonuçları, yeni bir test için uygun test koşullarının seçilmesi hususunda karar vermede yardımcı olabilir. Örn.: Madde reaktif olarak sınıflandırılırsa, statik bir test yerine yarı statik veya sürekli akış testi yapmak mantıklı olabilir.

Teknolojinin şu anki durumunda, kimyasalların kronik etki şekillerine bağlı karakterizasyonuna ilişkin yeterli bilginin bulunmadığına dikkat edilmelidir.

Araçlar kullanılabilir bir hale getirildikten sonra değerlendirme için kullanılacaksa, karakterizasyonun akut veya kronik etkiler için geçerli olup olmadığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

Değerlendirme sonucunun raporu ideal olarak aşağıdaki bilgileri içermelidir

- Mümkünse etki şeklinin açıklaması veya maddenin temel toksik veya aşırı toksik olarak karakterize edilip edilemeyeceğinin açıklaması.
- Sonucun güvenilirliği
- Olası aykırı değerler ve nedenleri.

Aşama 3:

Bu aşama aşağıdakileri içermektedir:

Deneysel ve test dışı verilerin doğrulanması için analogların tanımlanması

Olası analogların tanımlanması, mevcut verilerin güvenilirliğinin değerlendirilmesi için yararlı bir araç olduğundan, analogların ve kategorilerin tanımlanması, veri kalitesinin değişken olduğu durumlarda özellikle yardımcı olabilir.

Başlık R.6.2.3 ve Başlık R.10.2.2.2'de analogların tanımlanmasında yardımcı olabilecek araçlar açıklanmaktadır. Olası analogların ve kategorilerin üzerinde nasıl sonuçlanacağına dair rehberlik Başlık R.7.8.4'te sağlanmaktadır.

Yeni testler için yer değiştiricilerin analizi

Belirli durumlarda, bir gruba ilişkin bilgilerin mevcut olması durumunda teknik olarak gerçekleştirilmesi çok zor olabilecek çalışmalar için sonuçları tahmin etmek mümkün olabilir. Yani, bir maddenin hidrofobikliğinin çok yüksek olduğu veya çözünürlüğünün bir test konsantrasyonunun sürdürülebilmesi veya ölçülmesi için çok düşük olduğu durumlarda, grubun çözünürlüğü daha yüksek olan üyelerinin üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar olası sonlanma noktası değerinin tahmin edilebilmesi amacıyla kullanılabilir.

Aşama 4 - *in vivo* verilerin değerlendirilmesi:

Bireysel *in vivo* testlerden elde edilen bilgilerin kalitesinin nasıl değerlendirileceğine dair rehberlik Başlık R.7.8.4'te sağlanmaktadır. Aşağıdaki paragraflar, *in vivo* testlerden elde edilen tüm mevcut bilgilerin genel değerlendirmesi için gerekli yaklaşımları açıklamaktadır. Bu, aşağıdaki sorunların değerlendirilmesini içerebilir:

Çakışan verilerle nasıl başa çıkılır?

Aynı tür (biliniyorsa suş), sonlanma noktası, süre, yaşam döngüsü ve test koşulu hakkında birden fazla veri seti olduğunda, en büyük ağırlık en güvenilir ve ilgili olana verilir. Aynı güvenilirlik derecelendirmesine sahip birden fazla veri seti olduğunda, belirli bir nedenin farkı açıklayıp açıklayamayacağını görmek için çalışma raporlarında daha fazla ayrıntıya bakmak gerekebilir. Hiçbir açıklama bulunamazsa ve sonuçlar birbirlerinden birden fazla ondalık hanelik fark göstermiyorsa, geometrik bir ortalama ile uyumlu hale getirilebilirler. Aralarındaki fark bir ondalık haneden fazlaysa, bu şüpheli olabilir. Sonlanma noktası düzenleyici kararın sonucu için kritik ise, özellikle omurgasızlar üzerindeki testler için çalışmanın tekrarlanması bazen en kolay ve en etkili çözüm olabilir. Eğer belirli bir sonucu destekleyecek şekilde belirgin bir eğilim gösteriyorsa, mevcut ilave verilere (örn. daha düşük bir güvenilirlik seviyesine sahip çalışmalardan veya test dışı yöntemlerden) dayanılarak da bir karara varılması mümkün olabilir.

Yalnızca ikincil veri kaynakları mevcut

Normalde, ikincil bir kaynaktan elde edilen veriler yeterli bir güvenilirlik derecelendirmesi için gerekli kriterlerin birçoğundan yoksundur ve bu nedenle, düzenleyici sonuçlarda kullanımı kabul edilemez. Buna bir istisna olarak, bu veriler daha önce veri güvenilirliği için yeterli inceleme süreçleri içeren genel kabul görmüş/gerekçelendirilmiş programlar kapsamında değerlendirildiğinde düzenleyici sonuçlarda kullanılabilirler.

Kendi başlarına yeterli olmayan mevcut veriler, kombinasyon halinde kullanıldığında yeterli bilgi sağlayabilir mi?

Bu konuyla ilgili genel rehberlik Bölüm R.4'te sağlanmaktadır. Bu aynı zamanda, çoklu çalışmalardan birleştirilmiş verilerin analizinde kullanılan istatistiksel bir araç olarak meta-analiz tekniğinden de bahseder. Bu tür verilerin toplanması, belirli bulguların istatistiksel gücünü artırabilir. Bununla birlikte verilerin toplandığı çalışmaların test koşulları, tasarımı, sonlanma noktaları ve bildirilmeleri gibi kritik parametreler açısından yeterince benzer olmasını gerektirir.

Aynı sonlanma noktası için aynı test maddesinin tamamen güvenilir olmadığı kabul edilen birkaç çalışma olabilir. Bununla birlikte, çalışma sonuçları toplu olarak kullanıldığında yaklaşık olarak aynı konsantrasyonda ve zamanda bir etki gösterebilir. Bu gibi durumlarda, belirli bir sonlanma noktasına varmak için tüm çalışmaların toplu olarak kullanılmasında bir gerekçe olabilir.

Örnekler:

- Geçerli balık toksisitesi verileri yalnızca kısa bir maruz kalma rejimi (örn. 24 saat) için mevcuttur. 96 saatin üzerindeki testler mevcut olabilir ve bu testler (örn. yetersiz dokümantasyon nedeniyle) güvenilir olarak değerlendirilemeyebilir. Ancak, ana etkinin ilk 24 saat içinde meydana geldiğine dair bir bilgi sağlayabilir. Bu durumda 24 saatlik değer kullanılabilir.
- 72 saatlik bir testten birkaç zaman noktası için toksisite verileri mevcuttur. Bu durumda, zaman-etki eğrisi 96 saatlik bir değer uyarlanmasına izin verebilir.

Mevcut veriler yarı nicel bir sonucun türetilmesine izin verir mi?

Bu değerlendirme, verilen etki değerleriyle ilgili olarak geçerlidir, örneğin:

- Mevcut akut balık testlerinden bir LC₅₀ değeri hesaplanamaz çünkü mortalite gözlenmemiştir, ancak test edilen konsantrasyonlar alg veya Dafniya için belirlenen EC₅₀ değerinin üzerindedir (geriye dönük eşik yaklaşımı).
- Bir EC/LC₅₀ değeri türetilemez çünkü test konsantrasyonları çok yüksek veya çok düşüktür, ancak PBT değerlendirmesinde LC₅₀'nin S&E kriterleri veya T kriteri gibi ilgili bir özel düzenleyici tetikleme değerinin üstünde veya altında olduğu söylenebilir.

Mevcut *in vivo* çalışmalardan toplanan bilgilerin özeti aşağıdakileri içermelidir:

- Tüm trofik seviyeler için standart testlerin sonuçları mevcut mu?
- Tüm trofik seviyeler için standart dışı testlerin güvenilir sonuçları mevcut mu?
- Farklı çalışmaların bir araya getirilmesinden elde edilen güvenilir sonuçlar mevcut mu?
- Güvenilir yarı nicel sonuçlar mevcut mu?
- Mevcut ilave bilgilerin, bu bilgilerin güvenilirliğinin ve kullanım amacının açıklaması mevcut mu?

Aşama 4a:

QSAR sonuçlarının genel değerlendirmesi, etki şekline ilişkin bilgiler ve analoglara ilişkin deneysel sonuçlar gibi ek bilgilerin varlığına bağlıdır. Bu nedenle, bu adım kullanılırsa, 2. ve 3. adımlarda üretilen bilgiler ideal olarak mevcut olmalıdır.

Başlık R.7.8.3'te açıklandığı üzere, test dışı verilerin türetilmesinde gerekli modelleri ve uzman sistemleri içeren çeşitli QSAR modelleri ve programları mevcuttur. Sonuçların genel değerlendirmesi için, farklı QSAR modellerinin analiz sonuçları (QSAR tahmini formatları (QPRF) olarak sağlanır) dikkate alınmalıdır.

Aşama 4a aşağıdaki soruları cevaplamayı amaçlamaktadır:

- Veri boşluklarının olması halinde deneysel verilerin yerine kullanılacak güvenilir QSAR sonuçları mevcut mu?
- Ek bilgi, testlerden feragat edilmesine ilişkin bir gerekçe sağlayabilir mi?
- Ek bilgiler, belirli ek testlerin performansı için bir gerekçe sağlayabilir mi?

Güvenilir QSAR sonuçları

Genel olarak, test dışı verilerin kullanımında düzenleyici deneyimin gelişimi nedeniyle, bu noktada rehberlik oldukça geçicidir. Test dışı verilerin tek başına veya karar vermede deneysel verilerle birlikte kullanımına ilişkin sonuç, durum bazında bir tartışmadan yararlanacaktır. Uygun bir mekanizma ile sürekli olarak güncellenebilen, revize edilebilen ve iyileştirilebilen bir deneyim rehberinin geliştirilmesi öngörülmektedir. Bu rehber, KKDİK kapsamında (Q)SAR kullanımının geçerliliği ve kabulüne ilişkin uygulama deneyimini sürekli büyüyen bir KKDİK QSAR rehberliğine dönüştürecektir.

Bununla birlikte, aşağıdaki hususlar sonuç için yardımcı olabilir:

- Mevcut durumda daha yüksek güvenilirlik, kronik etkiler için QSAR modellerine kıyasla akut etkiler için QSAR modellerine dayanmaktadır. Bu nedenle, QSAR tahminleri akut etkilere odaklanmalıdır, ancak kronik etkiler için QSAR sonuçları çoğu durumda oldukça güvenilmez olacaktır.
- Genel olarak, belirli etki şekillerine veya temel toksisiteden daha fazlasını gösteren kimyasal sınıflara bağlı QSAR tahminlerine kıyasla temel toksisiteye bağlı QSAR tahminleriyle daha yüksek güven sağlanır.

Bu nedenle, bir madde için 2. aşamaya göre temel toksik olarak oldukça güvenilir bir sınıflandırma ve maddenin uygulanabilirlik alanına uyduğu geçerli bir QSAR modeli varsa, tahmine duyulan güven yüksek olabilir.

- Yakın bir analog mevcutsa ve bu analoglar için deneysel sonuçlar QSAR tahminine uyuyorsa sonucun güvenilirliği artabilir.

Testten feragat edilmesi

Genel olarak, 1 - 6 arasında bir log K_{ow} değerine sahip çoğu madde için, akut temel toksisiteye ilişkin güvenilir bir QSAR modeli mevcut olacaktır. Bu nedenle, çoğu durum için maddenin temel toksisitesini hesaplamak mümkün olacaktır. Temel toksisite için hesaplanan akut etki konsantrasyonu halihazırda düzenleyici bir kararı tetikliyorsa (örneğin, sınıflandırma ve etiketleme için temel toksisite < 1 mg/L), bu sonuç kullanılabilir. Ancak, maddenin gerçek toksisitesinin daha özel bir etki şekli nedeniyle çok daha yüksek olabileceği gerçeğine dikkat edilmelidir.

İlave olarak, bir maddenin belirli bir etki şekline sahip olarak sınıflandırıldığı ve bu özel etki şekli için geçerli bir modelin mevcut olduğu durumlar olabilir. Tahminin sonucu kesin bir risk değerlendirmesi için yeterince güvenilir olmasa da, en kötü durum kararı olarak kararı sonuçlara dayandırmak mümkün olabilir (bkz. Aşama 5).

Mevcut QSAR modellerinden toplanan bilgilerin özeti aşağıdakileri içermelidir:

- QSAR tahminlerinin güvenilir sonuçları mevcut mu?
- Yarı nicel bilgiler mevcut mu?
- Ek bilgilerin açıklaması mevcut mu?
- Bilginin güvenilirliğinin ve kullanım amacının açıklaması mevcut mu?

Aşama 4b:

Mevcut *in vitro* testler ve bunların düzenleyici karar için kullanımı Bölüm R.3 ve R.4'te açıklanmaktadır. Mevcut durumda, *in vivo* verilerin yerini alabilecek hiçbir *in vitro* test mevcut değildir. Bununla birlikte, *in vitro* veriler, bir maddenin etki şekline ilişkin daha fazla fikrin edinilmesine yardımcı olabilir:

Bazı kalıcı hücre hatları, kaynak dokularının/organlarının belirli özelliklerini/işlevlerini ifade edebilir. Daha özel etki şekilleri için kullanımları değerlendirilmelidir. Özel etki şekillerinin birincil hücre kültürleri ile tespit edilmesi daha olasıdır. Örneğin birincil hepatositler, metabolizma hepatoksisite, genotoksisite ve vitogellin indüksiyonu için; izole edilmiş solungaç hücreleri bronşiyal epitel üzerindeki etkilerin incelenmesi için kullanılır. Maddelerin östrojenik etkilerini tespit etmek için transfekte edilmiş kalıcı balık hücresi hatları kullanılmıştır.

Aşama 5:

Aşama 5'te, maddenin toksisite modelini anlamak için farklı aşamalardan elde edilen tüm mevcut veriler maddenin toksisite değerlendirmesine uyarlanmalıdır:

DeneySEL veriler (özellikle standart testler), çeşitli sonlanma noktalarına (S&E, PBT değerlendirmesi, PNEC'nin oluşturulması) ilişkin sonuçların elde edilmesi gerektiğinde en yüksek önceliğe sahiptir. Test dışı veriler ile standart dışı veya *in vitro* veriler, standart deneySEL verilerin eksik olduğu ve bu verilerin güvenilir veya tutarlı olmadığı durumlarda deneySEL verilerin doğrulanması ve değerlendirmenin geçersiz veriler temelinde gerçekleştirilmesinden kaçınılması hususunda önemlidir (örneğin, akut balık toksisitesi testleri iki farklı LC₅₀ değeri verir (örneğin, balık akut toksisitesi testi iki farklı LC₅₀ değeri verir (örneğin, 10 mg/L ve 100 mg/L) ve söz konusu kimyasalın LC₅₀'nin 120 mg/L olduğu uygun bir QSAR sonucu ile polar olmayan narkoz göstermesi halinde 100 mg/L ile sonuçlanan LC₅₀ değeri daha fazla güven sağlayabilir). Test dışı veriler, deneySEL veriler mevcut olsa bile, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında deneySEL verilere ek bilgi olarak da düşünülebilir. Ayrıca, daha yüksek kademeli testler için bir test tasarımının detaylandırılması veya akut testlerin yerine kronik testlerin yapılmasına ilişkin kararda kullanılabilirler.

İdeal olarak, sonunda mevcut tüm bilgiler (test verileri ve test dışı bilgiler), sonlanma noktası (çoklu görev değerlendirmesi) hakkında kapsamlı bir sonuca varılması amacıyla kullanılmalıdır. Bu sonuç metinde doğrulanmalı ve açıklanmalıdır. Bu tür sonuçlara varmak için gerekli bilgi miktarı, düzenleyici sonlanma noktasına bağlı olarak kesinlikle farklı olacaktır. S&E için belirli durumlarda sınır testleri yeterli olabilir, çünkü toksisitenin belirli bir tetikleme değerinin altında olup olmadığına ilişkin bir karara varılması gerektiğinde, PNEC'nin oluşturulması için nicel bir rakam verilmesi gerekir. İkinci durumda PNEC'nin oluşturulması ekosistemlerin yapısının ve işlevinin sürdürülmesi amacıyla birkaç tek tür laboratuvar testinden uyarılma yapılması gerektiği anlamına gelmesi sebebiyle mevcut tüm bilgilerin kullanımı özellikle önemlidir. Özellikle akut toksisiteden kronik toksisiteye uyarılma pek mümkün değildir. Yeni ve mevcut kimyasallar hakkında çok sayıda doğrulanmış verinin analizi, akut verilerin sucül ekosistemlerdeki uzun süreli etkiler için yalnızca sınırlı tahmin değerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Akut/kronik oranı, akut toksisite ve log K_{ow} aracılığıyla modellenen temel toksisite ile ilişkili değildir ve trofik seviyelerde hiçbir akut/kronik oranı (ACR) ilişkisi bulunmaz, bu da Dafniya'dan, balık ACR'sinden veya alg ACR'sinden bir sonuca varmanın genellikle mümkün olmadığı anlamına gelir (Ahlors ve ark., 2006).

Yalnızca içsel özelliklere dayanan S+E ve PBT değerlendirmesinin aksine, PNEC'nin oluşturulması için maruz kalma temelli kararlar (PEC/PNEC oranı) da dikkate alınmalıdır. Örn.: Algler ve *Dafniya* için EC₅₀ değerleri mevcuttur. Ayrıca, balıklar için QSAR hesaplamaları yapılmıştır. Bu verilerden yüksek veya düşük bir PEC/PNEC oranı oluşturulmuştur. İlk durumda kronik bir balık testi düşünülmelidir. İkinci durumda ek veri gerekmektedir.

Aşama 6:

İçsel fiziko-kimyasal özellikler

KKDİK, Ek 7 ve Ek 8'in 2. sütunu, sucül toksisitenin, örneğin maddenin suda veya maddede yüksek oranda çözünür olmadığı durumda meydana gelme veya biyolojik zarlardan geçme olasılığının olmadığını gösteren hafifletici faktörler varsa, akut çalışmaların yürütülmesinin gerekli olmadığı hükmünü içerir.

Öte yandan KKDİK, maddenin suda çözünürlüğünün zayıf olması durumunda kayıt ettirenden uzun süreli çalışmayı göz önünde bulundurmasını talep eder.

Toksisitenin meydana gelme olasılığının olmadığı çözünürlük sınırının altındaki bir değerin tanımlanmasına ilişkin bilimsel temel bulunmamaktadır. Testin gerçekleştirilmesi hususunda teknik zorluklar (örn. test konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılan analitik yöntemin hassasiyeti) olabilir. Bu tür zorluklar ve önerilen çözümler açık bir şekilde belgelenmelidir. Çözünürlük sınırının üzerindeki testlerden elde edilen sonuçlar pelajik toksisite olarak değil, fiziksel etkilerin bir sonucu olarak yorumlanmalıdır. Daha fazla ayrıntı için Ek R.7.8-1'deki zor maddeler testine bakınız.

Aynı şekilde, bir maddenin biyolojik zarlardan geçme olasılığını ortadan kaldıracak moleküler özellikleri tanımlamanın da bilimsel bir temeli bulunmamaktadır.

Bu nedenle, şu anda bu azaltma faktörleri için bilimsel temelli hiçbir sınırlama kriteri sağlanamamaktadır. Yine de, duruma göre karar vermek mümkün olabilir, suda çok düşük çözünürlüğe sahip olmaları ve biyolojik zarlardan geçme olasılıklarının düşük olması sebebiyle sucul toksisitenin meydana gelme olasılığı düşüktür. Bu bağlamda dikkate alınabilecek hususlar, yüksek biyobirikim potansiyeli (Bölüm R.11) olasılığının düşürülmesi amacıyla kullanılan göstergelerdir.

Bu tür göstergeler suda yaşayan organizmalara ilişkin toksisite testinde azalmayı tetikleme kapsamında kullanıldığında daha dikkatli bir yaklaşım kullanılmalıdır. Bunun nedeni, yüksek bir biyobirikim potansiyeli eksikliğinin suda yaşayan organizmalar için kesin olarak toksisite eksikliği anlamına gelmemesidir.

Her durumda, standart test koşullarından sapmaya ilişkin tüm öneriler bu maddeye atıfta bulunularak dikkatli bir şekilde gerekçelendirilmelidir. Suda çözünürlüğü zayıf olan (örneğin, suda çözünürlüğü 1 mg/L'nin veya test maddesinin analitik yönteminin tespit sınırının altında) maddeler için, feragat etme olasılıkları göz önünde bulundurularak uzun süreli bir testin yerine akut bir testin gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmelidir (KKDİK Ek 7 ve Ek 8, 9.1).

Balıklarda toksisite testi için eşik yaklaşımı

Bu yaklaşım, balıklar üzerinde bir testin gerçekleştirilmesi gerektiğinde akut sucul toksisite testinde kullanılacak balık sayısını önemli ölçüde azaltma imkanı sunar. Düzenleyici amaçlar için üç trofik seviyedeki türlerde akut toksisitenin yalnızca en düşük değerinin dikkate alındığı göz önünde bulundurulur.

Bu yaklaşım başlangıçta Hutchinson ve ark. (2003) tarafından farmasötikler için eşik/azaltma yaklaşımı olarak tanımlanmıştır. Birkaç yazar, bu yaklaşımı uygulayarak kimyasal maddelerin akut sucul toksisite verilerini geriye dönük olarak değerlendirmiştir (Jeram ve ark., 2005; Hoekzema ve ark., 2006). ECVAM ve ECB, mevcut rehberleri dikkate alarak ve sınır testi gerekliliklerini yansıtarak eşik yaklaşımını daha da geliştirmiştir (OECD Test Rehberi 203, Ek 5, C.1). ECVAM Bilimsel Danışma Komitesi (ESAC), ESAC akran değerlendirmesi panelinin tavsiyesini takiben eşik yaklaşımının bilimsel geçerliliğini onaylamıştır.

Mevcut durumda bu yaklaşım OECD test rehberleri programı (Proje 2.23: Akut Balık Toksikitesi Testi için bir Sınır Testi olarak Azaltma Yaklaşımının (veya Üst Eşik Konsantrasyonunun) Uygulanmasına İlişkin Yeni Rehber Dokümanı) için döngüsel çalışma planının bir parçasıdır.

Algler ve *Dafniya* için elde edilen iki EC50 konsantrasyonundan en düşük olanı (Üst Eşik Konsantrasyonu, UTC) ile OECD Test Rehberi 203'e göre 7-10 test ve 7-10 kontrol balığı kullanılarak bir sınır testi gerçekleştirilir. Mortalitenin gözlenmediği durumda başka testler yapılmaz ve akut balık toksisitesi sonucunun (LC₅₀), UTC değerinden *büyük* (>) olduğu rapor edilir. Mortalitenin gözlenmesi halinde, tam bir LC₅₀ testi yapılmalıdır.

Toksisite testi için balık yerine balık embriyolarının veya erken yaşam evrelerinin kullanıldığı durumlarda da aynı ilke uygulanabilir.

Bütünleşik Testten Bütünleşik Değerlendirmeye

Kanıt Ağırlığı yaklaşımı yukarıda açıklandığı gibi sonuçlandırıldığında, doğrulanmış bilginin miktarı bazı durumlarda KKDİK Eklerinde yer alan minimum bilgi gereksinimlerini büyük ölçüde aşabilir ve bu nedenle, tek tür laboratuvar testlerinden ekosistemlerin yapısına ve işlevine uyarlama yapıldığında ortaya çıkan belirsizlikleri azaltabilir. PNEC'nin oluşturulmasına gelince, bu belirsizlikler değerlendirme faktörleri tarafından kapsanacaktır, bu faktörlerin değişen belirsizlik derecesine göre daha esnek bir şekilde kullanılması düşünülebilir; (değerlendirme Tür Hassasiyeti Dağılımı (SSD) ve mezozozma ile saha çalışmalarına ve ayrıca narkotik etki şekli için QSAR kullanımına dayandığında, değerlendirme faktörleri üzerindeki bu tür esnekliklerin önceden öngörüldüğü belirtilmelidir).

Bu tür çok kriterli bir değerlendirme, yukarıda bahsedilen bilgilerin yanı sıra şunları da kapsamalıdır:

- Test edilen türlerin sayısı ve temsili
- Standart dışı testlerin kalitesi
- Toksisitenin zamana bağlılığı
- Konsantrasyon/etki eğrilerinin dikliği
- Memeli toksisitesinden elde edilen bilgiler normalde standart değerlendirmelerde kullanılmaz.

Endokrin etki şekilleri aracılığıyla potansiyel üreme veya gelişimsel toksisite ile ilgili olarak bu yaklaşıma ilişkin özel rehberlik Ek R.7.8-4'te sağlanmaktadır.

Sonunda, standart durumlarda tanımlanan ve Başlık R.10.3'te sağlanan belirli değerlendirme faktörleri ile temsil edilen belirsizlik derecesinden gerçekleştirilen türetme tam olarak kanıtlanmalıdır.

Burada sunulan tavsiye, insan sağlığını ve çevreyi zararlı kimyasallardan korumak amacıyla mevcut tüm bilgilerin kullanımında optimal bir olasılıktır.

R.7.8.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç⁵

Bir maddenin çevresel sınıflandırması ve etiketlemesi genellikle balıklar, omurgasızlar ve algler üzerinde gerçekleştirilen kısa süreli testlerden elde edilen verilere dayanmaktadır. Diğer testlerden elde edilen bilgiler güvenlik ağı koşulları altında yani maddelerin temel kriterler setine girmediği, ancak toksisite ile ilgili mevcut kanıtlara bağlı olarak yine de sucül ekosistemlerinin yapısı ve/veya işleyişi için bir zararlılığa neden olduğu durumlarda kullanılabilir. Bu sınıflandırma için tanımlanmış bir kriter yoktur; gelişme veya üreme üzerinde olumsuz etkilere neden olan maddelere olası uygulaması Ek R.7.8-4'te tartışılmıştır.

KKDİK'e kayıtlı tüm maddeler için sınıflandırma ve etiketleme yapılmalıdır. Aşağıdaki strateji, farklı seviyelerdeki bilginin mevcut olması durumunda bir maddenin çevresel toksisiteye göre nasıl sınıflandırılacağına dair rehberlik sağlar (ayrıca bkz. Şekil R.7.8-3).

İlk adım olarak, maddeye ilişkin tüm mevcut bilgiler Başlık R.7.8.5 ve Bölüm R.3'te açıklandığı gibi toplanmalı ve değerlendirilmelidir.

- Üç trofik seviyenin tümü için akut etki değerleri mevcutsa, mevcut en düşük etki değerine göre sınıflandırma yapılır ve uygun olması halinde (toksikite < 0.1 mg/L) belirli konsantrasyon sınırları (M faktörü) türetilir.
- 1 - 10 ton/yıl tonajlı maddeler için Ek 7, omurgasızların ve alglerin/sucül bitkilerin kullanıldığı akut toksisite testlerini gerektirir:
 - a. Omurgasızlar ve algler/sucül bitkiler için EC₅₀ değerinin mevcut olması halinde maddenin Ek 7 uyarınca en düşük etki değerine göre sınıflandırılması gerekir; B R.7.8.5'in adım 4a'sı uyarınca balıklara ilişkin güvenilir bir QSAR sonucunun veya ek bilginin (örneğin, çapraz okuma kullanılarak sağlanabilir) mevcut olması halinde bu değer sınıflandırma için dikkate alınır. Özel konsantrasyon sınırları (SCL) (M faktörü), ilgiliyse (GHS ve *SEA Kriterlerinin Uygulanmasına İlişkin Rehber*) türetilmelidir.
 - b. Omurgasızlar ve/veya algler/sucül bitkiler için akut veriler mevcut değilse, öncelikle, azaltıcı faktörlerin (suda çözünürlük, molekül büyüklüğü) geçerli olup olmadığı kontrol edilmelidir:
 - bu durumda, madde için akut testlerin yapılması gerekli değildir. Davranış verilerine (bozunma ve biyobirikim) bağlı güvenlik ağı sınıflandırması yine de dikkate alınmalıdır.
 - *Azaltıcı faktörler uygulanabilir değilse, Ek 7'nin gerekliliklerini yerine getirmek için akut Dafniya ve akut alg testinin gerçekleştirilmesi gereklidir. Balıklar için güvenilir bir QSAR tahmini yapılabiliyorsa, sınıflandırma için bu değeri göz önünde bulundurunuz. Özel konsantrasyon sınırları (M faktörü), ilgiliyse türetilmelidir.*

⁵ Daha güncel bilgiler için lütfen SEA Kriterleri Uygulama Rehberi, Bölüm 4 ve SEA Yönetmeliği, Ek 1 ve Ek 4'e bakınız.

- Ek 8, 10 ton/yıl'den yüksek tonajlı maddeler için ek bir akut balık testini gerektirir. Bununla birlikte, buna yönelik KKDİK hükümleri yerine getirilirse, standart bilgi gerekliliklerinde istisnalar yapılabilir. Aşağıda, sınıflandırma ve etiketlemede mevcut sucul toksisite verilerinin kullanımına ilişkin rehberlik sağlanmıştır:
 - a. Omurgasızlar ve algler/sucul bitkiler üzerinde akut toksisite verileri mevcuttur ve bu türlerin en az biri için $EC_{50} < 1$ mg/l'dir. Bu durumda, karışımlarda kullanılmayan maddeler için akut balık çalışmasına gerek yoktur, çünkü mevcut etki değeri/değerleri Sucul Akut 1, H400 olarak sınıflandırmayı tetiklemektedir. Bununla birlikte, akut balık testi yine de, karışımlarda kullanılan maddeler için maddeyi içeren karışımların sınıflandırılması amacıyla özel konsantrasyon sınırlarının (SCL, M faktörü) belirlenmesinde bir ön koşul olabilir.
 - b. Omurgasızlar ve algler/sucul bitkiler ile ilgili akut toksisite verileri mevcuttur ve her iki tür için $EC_{50} > 1$ mg/l'dir. Bu durumda, balıklarda sucul toksisitenin sınıflandırmayı gerektirip gerektirmediğine karar vermek için balıklarda akut toksisiteye ilişkin bilgi gereklidir. Bu nedenle, güvenilir bir QSAR ile balıklar için bir LC_{50} hesaplamasının veya balıkların omurgasızlardan ve/veya algler/sucul bitkilerden daha az hassas olabileceğine ilişkin bir tahminin mümkün olup olmadığı kontrol edilmelidir (bkz. Başlık [R.7.8.5](#)) . Gerektiğinde özel konsantrasyon sınır değerleri (SCL) (M faktörü) türetilmelidir.
 - Bu mümkünse, bu bilgi sınıflandırma amacıyla omurgasızlar ve algler/sucul bitkiler üzerindeki mevcut etki verileriyle birlikte kullanılabilir.
 - Bu mümkün değilse, balıklarla yapılan bir akut toksisite testi, sınıflandırma amacıyla kullanılacak verileri sağlayacaktır. Bununla birlikte, akut balık toksisitesi için alternatif ve yeterli test yöntemleri mevcutsa, bunun yerine sınıflandırma için kullanılması düşünülebilir (bkz. [Şekil R.7.8-3](#)). Örneğin, akut balık toksisitesi testine alternatif olarak balık embriyo testinin (FET) kullanılması tavsiye edilmiştir ve şu anda OECD Rehberi programında değerlendirilmektedir (bkz. [Ek R.7.8-4](#)). Daha fazla bilgi için lütfen *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi*'ne bakınız.
 - Uygun alternatif test yöntemlerinden elde edilen veriler mevcut değilse, OECD Test Rehberi 203'e göre omurgasızlar ve algler/sucul bitkiler üzerinde gerçekleştirilen akut testlerdeki maruz kalma konsantrasyonu olarak en düşük EC_{50} 'yi kullanan bir balık sınır testi gerçekleştirilebilir. Mortalite gözlenmiyorsa, bu durum, balıkların omurgasızlardan ve alglerden/sucul bitkilerden akut toksisite açısından daha hassas olmadığına bir göstergesidir. Bu nedenle sınıflandırma, mevcut en düşük EC_{50} değerine (omurgasızlar ve algler/sucul bitkiler için) bağlı olabilir.

Balık sınır testinde mortalitenin meydana gelmesi durumunda, OECD Test Rehberi 203'e göre akut balık toksisite testinden elde edilen veriler, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin ihtiyaçlarına göre sağlanmalıdır ve LC₅₀ (balık), sınıflandırma (GHS ve *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi*) dayanağı olarak omurgasızlar ve algler/damarlı bitkiler için elde edilen EC₅₀ değerleri ile birlikte kullanılabilir.

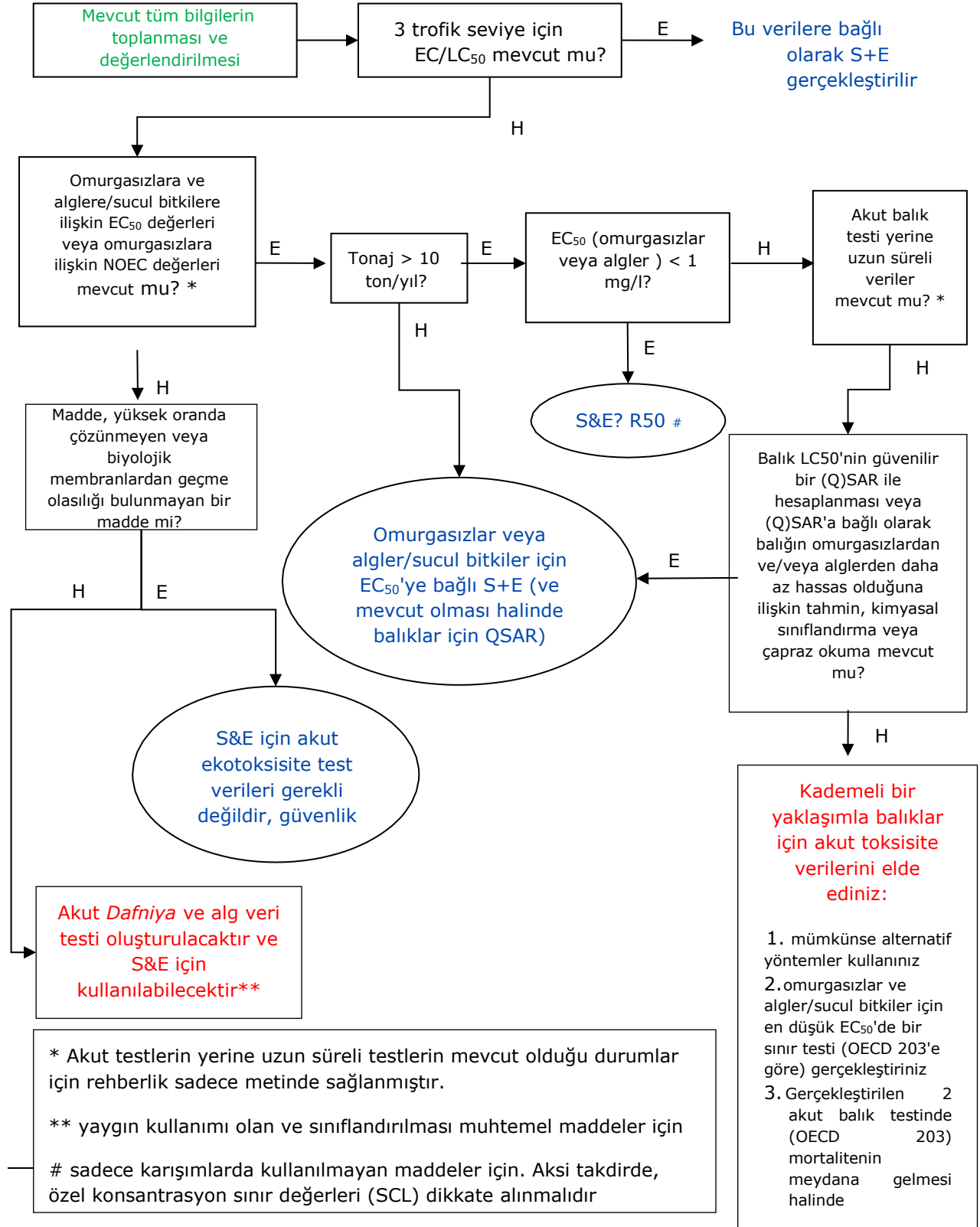
Aşağıda, akut omurgasız/balık testleri yerine uzun süreli omurgasız/balık testlerinin mevcut olduğu özel durumlar için rehberlik sağlanmaktadır (Ek 7 ve Ek 8, Sütun 2). Bu tür durumların yaygın olarak görülmemesi çok muhtemeldir ve bu nedenle rehberlik akış şemasında değil, yalnızca metinde sağlanmaktadır.

1. 1 - 10 ton/yıl arasındaki tonajlı maddeler (Ek 7): Akut omurgasız testi yerine EC₅₀ alg/sucul bitkiler ve omurgasızlar üzerinde *uzun süreli* testler mevcuttur.
2. 10 ton/yıl tonajlı maddeler (Ek 8): Akut balık testi yerine EC₅₀ omurgasızlar ve alg/sucul bitkiler ile balıklar üzerinde *uzun süreli* testler mevcuttur.

Yukarıdaki her iki nokta için:

- a. Mevcut olan EC₅₀ değerlerinden en az biri < 1 mg/l'dir: Bu durumda, karışımlarda kullanılmayan maddelerin sınıflandırılmasına ilişkin başka akut verilere ihtiyaç yoktur, çünkü bu değer Sucul Akut 1, H400 olarak sınıflandırmayı tetiklemektedir. Bununla birlikte, karışımlarda kullanılan maddeler için akut toksisiteye ilişkin daha fazla bilgi maddelerin sınıflandırma amaçları hususunda yine de yararlı olabilir. Bunun nedeni, yüksek seviyedeki belirli akut toksisitenin, madde için özel bir konsantrasyon sınırının (SCL, M faktörü) belirlenmesi gerektiği anlamına gelebilmesidir.
- b. Mevcut EC₅₀ > 1 mg/l: Bu durumda, uzun süreli çalışmalardan akut EC₅₀ türetilmesinin mümkün olup olmadığı kontrol edilmelidir (örneğin, çalışmanın ham verileri mevcutsa ve test edilen konsantrasyon aralığında ana omurgasızların hareketsizliği dahil ise (OECD Test Rehberi 202, Başlık 2) balıkların mortalitesi (OECD 215) > ebeveyn test hayvanlarının %50'sidir). Bu etki değeri, mevcut EC₅₀ değerleri ile birlikte sınıflandırma amacıyla kullanılabilir.
Bu mümkün değilse, maddenin sınıflandırılması amacıyla kullanılacak geçerli QSAR modellerine sahip balıklara ve omurgasızlara ilişkin EC₅₀'nin güvenilir tahminlerinin mümkün olup olmadığı kontrol edilmelidir. İlave bir seçenek de sınıflandırmanın akut toksisite ile ilgili verilerin eksik olduğu türlere ilişkin grupta yaklaşımına bağlı olarak düşünülüp düşünülemediğinin kontrol edilmesidir. Akut toksisite testi verilerinin bulunmadığı suda yaşayan organizmalar için akut toksisiteye ilişkin tahmin mümkün değilse, suda yaşayan organizmalara ilişkin diğer mevcut verilere bağlı olarak yapılan sınıflandırma dikkate alınmalıdır.

Şekil R.7.8—3 Sınıflandırma ve Etiketleme için Karar Şeması ⁶



⁶ Daha güncel bilgiler için lütfen SEA Kriterleri Uygulama Rehberi, Bölüm 4 ve SEA Yönetmeliği, Ek 1 ve Ek 4'e bakınız.

R.7.8.5.2 PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç

PBT/vPvB değerlendirmesinin uygunluğuna ilişkin rehberlik, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'de sağlanmaktadır.

R.7.8.5.3 Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesine İlişkin Sonuçlar (PNEC'nin oluşturulması)

Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi (KGD) mevcut tüm toksisite bilgilerine bağlıdır. Bilgiler en az üç trofik seviyedeki türleri kapsamalıdır: alg/sucul bitkiler, omurgasızlar (*Dafniya* tercih edilir) ve balık. Aşağıdaki strateji, farklı bilgi seviyelerinin mevcut olması halinde kimyasal güvenlik değerlendirme için bir maddenin pelajik toksisitesinin nasıl değerlendirileceğine dair rehberlik sağlar (ayrıca bkz. *Şekil R.7.8-4*).

İlk kabul dizisi, esas olarak KKDİK, Ek 7 ve Ek 8'de (birleşik) belirtilen kısa süreli toksisite verilerinin mevcudiyetine bağlıdır. Zararlılık değerlendirmesinden veya risk karakterizasyonundan elde edilen sonuçlar daha fazla araştırma yapılması gerektiğini gösteriyorsa, uzun süreli toksisite verileri daha sonraki değerlendirmelerde dikkate alınacaktır.

Kısa süreli toksisite verileri

1. Standart testlerden elde edilen mevcut verileri kontrol ediniz:

Algler: OECD 201'e göre bir büyüme inhibisyonu çalışmasından 72 saatlik bir ErC₅₀ değeri veya bir büyüme inhibisyonu çalışmasından 96 saatlik bir ErC₅₀ değeri mevcutsa, bu doğrudan PNEC değerlendirmesi için kullanılabilir. Mümkün olması halinde, 72 saatlik büyüme hızının 96 saatlik testlerin test raporundaki verilerine bağlı olarak hesaplanması önerilir.

Omurgasızlar: *Dafniya sp.* üzerinde OECD 202'ye göre gerçekleştirilen kısa süreli toksisite testinden 48 saatlik bir EC₅₀ değeri veya OECD 211'e göre gerçekleştirilen uzun süreli toksisite testinden bir NOEC/EC_x değeri veya eşdeğer test rehberlerini kullanan testlerin sonuçları mevcutsa, bu değerler PNEC değerlendirmesi için doğrudan kullanılabilir.

Balık: Balıklar üzerinde OECD 203'e göre gerçekleştirilen kısa süreli toksisite testinden bir LC₅₀ değeri veya OECD 215'e (yavru balık büyüme testi) veya OECD 210'a (balık erken yaşam evresi testi) veya OECD 212'ye (yumurta ve yavru balık kesesi testi) göre gerçekleştirilen uzun süreli toksisite testinden bir NOEC değeri veya eşdeğer test rehberlerini kullanan testlerin sonuçları mevcutsa, bu değerler PNEC değerlendirmesi için doğrudan kullanılabilir.

2. Mevcut diğer verileri kontrol ediniz - standart test verileri aşağıdakilerden biri ile değiştirilebilir:

Algler: ErC₅₀, standart bir büyüme inhibisyonu (OECD 201) çalışmasından tercih edilen daha anlamlı bir değerdir. Bunun mevcut olmadığı/bildirilmediği, ancak bir EbC₅₀'nin mevcut olduğu/bildirildiği durumlarda, özellikle algler etki değerlendirmesi için en uygun türse, yeni bir alg çalışmasının gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmelidir. Mümkün olması halinde, 72 saatlik değerlerin 96 saatlik testlerin test raporundaki verilerine bağlı olarak hesaplanması önerilir.

Omurgasızlar: *Dafniya sp.* üzerinde OECD 202'ye göre gerçekleştirilen kısa süreli toksisite testinden 24 saatlik EC₅₀ değeri mevcuttur, ancak bu değer yalnızca *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak diğer verilerle (örneğin zamana bağlı toksisite) birlikte kullanılmalıdır.

Algere/sucul bitkilere, omurgasızlara veya balıklara ilişkin **diğer güvenilir deneysel veriler** (örn. standart dışı çalışmalardan veya organizmalardan elde edilen veriler).

Güvenilir QSAR sonuçları (QSAR sonuçlarının değerlendirilmesi için bkz. Başlık [R.7.8.4.1](#)).

Yapısal olarak ilgili bir maddeye ilişkin mevcut deneysel verilerden güvenilir çapraz okuma yapılır.

Alglerin/sucul bitkilerinin büyüme inhibisyonu için veya omurgasızlarda veya yukarıda listelenen kaynakların herhangi birinden balıklarda kısa süreli toksisite için elde edilen yeterli bir değer, PNEC değerlendirmesi için doğrudan kullanılabilir.

3. Bağıl tür hassasiyetinin tahmini için olasılıklar kontrol edilir:

Balıkların omurgasızlara ve algere göre hassasiyeti aşağıdakilerden biriyle tahmin edilebilir:

- Standart çalışmalardan elde edilen deneysel veriler
- Diğer deneysel veriler (ör. standart dışı çalışmalardan veya organizmalardan elde edilen veriler)
- QSAR modelleriyle oluşturulan veriler
- Yapısal olarak ilgili bir maddeye ilişkin mevcut deneysel verilerden çapraz okuma yapılır.

Balıklar için belirlenen değer omurgasızlar veya algler için belirlenen değerlerden yaklaşık 10 kat daha az hassas olduğunu gösteren bu yöntemlerin kullanıldığı ikna edici kanıtların mevcut olması halinde akut balık testi için başka gereklilik bulunmamaktadır. Test için (örneğin, bir test sonucunun kimyasal bir kategori için veri tabanı oluşturulmasında veya veri tabanının iyileştirilmesinde yardımcı olması halinde) başka hususlar olabilir. Kronik test ihtiyaçları da dikkate alınmalıdır (örneğin, test konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için aralık bulma verilerine ihtiyaç olup olmadığı vb.)

4. Standart bilgi gereksinimlerinin uyarlanmasına ilişkin olasılıklar kontrol edilir:

Bölüm [R.7.8.5](#)'te belirtildiği üzere sucul toksisitenin meydana gelmesinin olası olmadığını gösteren hafifletici faktörlerin mevcut olması halinde, algler/sucul bitkiler üzerinde büyüme inhibisyonu çalışmasının veya omurgasızlar ile balıklar üzerinde kısa süreli toksisite çalışmasının gerçekleştirilmesine gerek yoktur (sütun 2, Ek 7 ve Ek 8).

5. Yeterli verinin ve sucul toksisitenin meydana gelmesinin olası olmadığını gösteren hafifletici faktörlerin bulunmaması durumunda, OECD 201'e göre algler üzerinde bir büyüme inhibisyonu çalışması ve *Dafniya sp.* üzerinde OECD 202'ye göre kısa süreli bir toksisite çalışması veya OECD 211'e göre (Ek 7, sütun 2 uyarınca madde suda zayıf bir şekilde çözünüyorsa, yani çözünürlüğü < 1 mg/L ise, TRD 2003) uzun süreli bir toksisite çalışması gerçekleştirilir. Alternatif olarak, maruz kalmayı ve dolayısıyla riski yeterince azaltan risk yönetimi önlemleri düşünülebilir.

6. Balık: Kabul edilen alternatif yöntemlerin kullanılabilirliği kontrol edilir

Balıklarda toksisiteye ilişkin yeni verilerin elde edilmesine ihtiyaç duyulması halinde ve *in vivo* balık testi yerine kabul edilen alternatif bir yöntemin olduğu durumlarda, alternatif testi gerçekleştiriniz. Mevcut durumda *in vivo* balık çalışmasına alternatif olarak hiçbir alternatif yöntem kabul edilmemiştir.

Olası bir alternatif olan balık embriyosu toksisite testi şu anda OECD Rehberi programında değerlendirilmektedir (bkz. Bölüm R.7.8.3.1 ve Ek R.7.8-2).

7. Balık: Bağlı hassasiyet belirlenir

In vivo balık testinden yeni toksisite verileri oluşturmanın bir alternatifi yoksa, omurgasızlardan veya alglerden elde edilen en düşük EC₅₀ kullanılarak OECD 203'te açıklandığı gibi bir sınır testi gerçekleştirilmelidir. Balıkların omurgasızlardan veya alglerden daha az hassas olduğunu gösteren sınır testinde mortalitenin meydana gelmediği durumlarda kısa süreli balık testi için başka bir gereklilik yoktur.

8. Balık: Sınır testinde mortalite meydana gelirse, OECD 203'e göre balıklarda kısa süreli bir toksisite çalışması veya uygun şekilde uzun süreli bir toksisite çalışması yapılır (ayrıntılı rehberlik için aşağıdaki uzun süreli toksisite testine bakınız) (sütun 2, Ek 8 uyarınca, maddenin suda çözünürlüğü düşükse (yani, çözünürlük < 1 mg/L, TRD 2003) uzun süreli bir çalışma dikkate alınacaktır). Alternatif olarak, maruz kalmayı ve dolayısıyla riski yeterince azaltan risk yönetimi önlemleri düşünülebilir.

Normalde, bir Balık Erken Yaşam Evresi testinin (OECD 210), uzun süreli balık toksisitesinin incelenmesi için uygun olduğu kabul edilir. Bununla birlikte, balık, yavru büyüme testi (OECD 215) ($\log K_{ow} < 5$ olan maddeler için) veya yumurta ve yavru balık kesesi testi (AB Ek 5 C., OECD 212) ($\log K_{ow} < 4$ olan maddeler için) ayrıca düşünülebilir. Gelişimsel etkilere veya üreme etkilerine ilişkin standart dışı testlerden elde edilen mevcut verilerin değerlendirilmesi hususunda özel rehberlik Bölüm R.7'de sağlanmaktadır.

9. Önceki adımlarda belirtilen veriler kullanılarak, PNEC değeri üç trofik seviyenin tümünden elde edilen sonuçlar dikkate alınarak türetilebilir.

Maddenin KKDİK Yönetmeliği, Madde 15(4)'de listelenen zararlılık sınıflarından veya kategorilerinden herhangi 7'sindeki sınıflandırma kriterlerini karşılaması halinde, yani:

- zararlılık sınıfları 2.1 - 2.4, 2.6 ve 2.7, 2.8 tip A ve B, 2.9, 2.10, 2.12, 2.13 kategori 1 ve 2, 2.14 kategori 1 ve 2, 2.15 tip A - F;
- zararlılık sınıfları 3.1 - 3.6, 3.7 cinsel fonksiyon ve doğurganlık veya gelişim üzerindeki olumsuz etkiler, 3.8 narkotik etkiler dışındaki etkiler, 3.9 ve 3.10;
- zararlılık sınıfı 4.1;
- zararlılık sınıfı 5.1;
- veya PBT veya vPvB olarak değerlendirilirse,

kimyasal güvenlik değerlendirmesi, bir maruz kalma değerlendirmesi ile risk karakterizasyonu içermelidir.

⁷ Çevreye ilişkin zararlılık sınıf(lar)ı için lütfen Başlık B, Bölüm 8, Maruz Kalma Değerlendirmesinin Kapsamı'na bakınız.

Bu sınıflar, kategoriler ve özellikler bundan böyle "Madde 15(4) zararlılık sınıfları, kategorileri veya özellikleri⁸" olarak tanımlanacaktır.

KGD herhangi bir risk belirtmiyorsa, sucul toksisite testi için başka gereklilik yoktur. KGD, suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerin daha fazla araştırılması gerektiğini gösteriyorsa, uzun süreli toksisite testleri dikkate alınacaktır. Bu hususlar > 10 ton miktarındaki tüm maddeler için aynı şekilde geçerlidir.

KGD'den kaynaklanan bir risk belirlenir

- PEC/PNEC > 1 ise
- Log K_{ow} > 3 (veya BCF > 100) ve PEC_{yerel} veya $PEC_{bölgesel}$ > suda çözünürlüğün 1/100'ü olan maddeler için.

Uzun Süreli Test

1. Standart uzun süreli testlerden elde edilen mevcut veriler kontrol edilir:

Omurgasızlar: *Dafniya sp.* üzerinde OECD 211'e göre gerçekleştirilen uzun süreli toksisite testinden elde edilen bir NOEC değerinin veya eşdeğer test rehberlerini kullanan testlerin sonuçlarının mevcut olması halinde, bu değerler doğrudan PNEC değerinin iyileştirilmesi için kullanılabilir.

Balık: OECD 215, OECD 210 veya OECD 212'ye göre balıklar üzerinde yapılan uzun süreli toksisite testlerinden bir NOEC değerinin veya eşdeğer test rehberlerini kullanan testlerin sonuçlarının mevcut olması halinde, bu değerler PNEC değerinin iyileştirilmesi için doğrudan kullanılabilir.

2. Mevcut diğer verileri kontrol edilir:

Standart test verileri aşağıdakilerden biri ile değiştirilebilir:

- Sucul omurgasızlara veya balıklara ilişkin diğer güvenilir deneysel veriler (örn. standart dışı çalışmalardan veya standart dışı organizmalardan elde edilen veriler)
- Güvenilir QSAR sonuçları⁹
- Yapısal olarak ilgili bir maddeye ilişkin mevcut deneysel verilerden güvenilir çapraz okuma

Omurgasızlarda veya balıklarda uzun süreli toksisite için yukarıda listelenen kaynakların herhangi birinden elde edilen yeterli bir değer, PNEC değerinin iyileştirilmesi için doğrudan kullanılabilir.

3. Bağıl tür hassasiyetinin tahmini için olasılıklar kontrol edilir:

Balıkların algilere ve omurgasızlara göre hassasiyeti aşağıdakilerden biriyle tahmin edilebilir:

- Standart çalışmalardan elde edilen deneysel veriler

⁸ Bu bağlamda "özellikler", PBT ve vPvB'yi ifade eder.

⁹ Kronik toksisite için güvenilir QSAR modelleri çok az sayıdadır ve bu nedenle güvenilir QSAR sonuçlarının elde edilebilme olasılığı düşük olacaktır. Bununla birlikte, kronik toksisiteye ilişkin QSAR modellerinin gelecekte mevcut olması halinde, bu modellerin Başlık R.7.8.4.1'de açıklanan akut toksisite QSAR modellerine eşdeğer olarak değerlendirilmesi gerekir.

- Diğer deneysel veriler (örn. standart dışı çalışmalardan veya organizmalardan elde edilen veriler)
- QSAR modelleriyle oluşturulan veriler
- Yapısal olarak ilgili bir maddeye ilişkin mevcut deneysel verilerden çapraz okuma yapılır.

Balıklar için belirlenen değerin omurgasızlar veya algler için belirlenen değerlerden yaklaşık 10 kat daha az hassas olduğunu gösteren bu yöntemlerin kullanıldığı ikna edici kanıtların mevcut olması halinde balık testi için başka gereklilik bulunmamaktadır. Test için (örneğin, bir test sonucunun kimyasal bir kategori için veri tabanı oluşturulmasında veya veri tabanının iyileştirilmesinde yardımcı olması halinde) başka hususlar olabilir.

Yukarıda ayrıntılı bir şekilde açıklanan hususlar, omurgasızların alglere ve balıklara göre hassasiyeti için de geçerlidir; yani, omurgasızlar için belirlenen değerin algler veya balıklar için belirlenen değerlerden yaklaşık 10 kat daha az hassas olduğunu gösteren bu yöntemlerin kullanıldığı ikna edici kanıtların mevcut olması halinde akut balık testi için başka gereklilik bulunmamaktadır.

4. Omurgasızların balıklardan ve alglerden daha hassas olma ihtimali varsa veya omurgasızların bağıl hassasiyeti tahmin edilemiyorsa, Bakanlığa sunulmak üzere OECD 211 uyarınca *Dafniya sp.* üzerinde uzun süreli bir toksisite çalışmasının gerçekleştirilmesi için test önerisi hazırlanır. Alternatif olarak risk yönetimi önlemleri düşünülebilir.
5. Balıkların omurgasızlardan ve alglerden daha hassas olma ihtimali varsa veya balıkların bağıl hassasiyeti tahmin edilemiyorsa, Bakanlığa sunulmak üzere aşağıda listelenen OECD test rehberlerinden birine göre balıklar üzerinde uzun süreli bir toksisite çalışmasının gerçekleştirilmesi için test önerisi hazırlanır. Alternatif olarak, maruz kalmayı ve dolayısıyla riski yeterince azaltan risk yönetimi önlemleri düşünülebilir.

Normalde, bir Balık Erken Yaşam Evresi testinin (OECD 210), balık toksisitesinin incelenmesi için uygun olduğu kabul edilir. Bununla birlikte, balık, yavru büyüme testi (OECD 215) ($\log K_{ow} < 5$ olan maddeler için) veya yumurta ve yavru balık kesesi testi (AB Ek 5 C.) ($\log K_{ow} < 4$ olan maddeler için) ayrıca düşünülebilir. Gelişimsel etkilere veya üreme etkilerine ilişkin standart dışı testlerden elde edilen mevcut verilerin değerlendirilmesi hususunda özel rehberlik Bölüm R.7'de sağlanmaktadır.

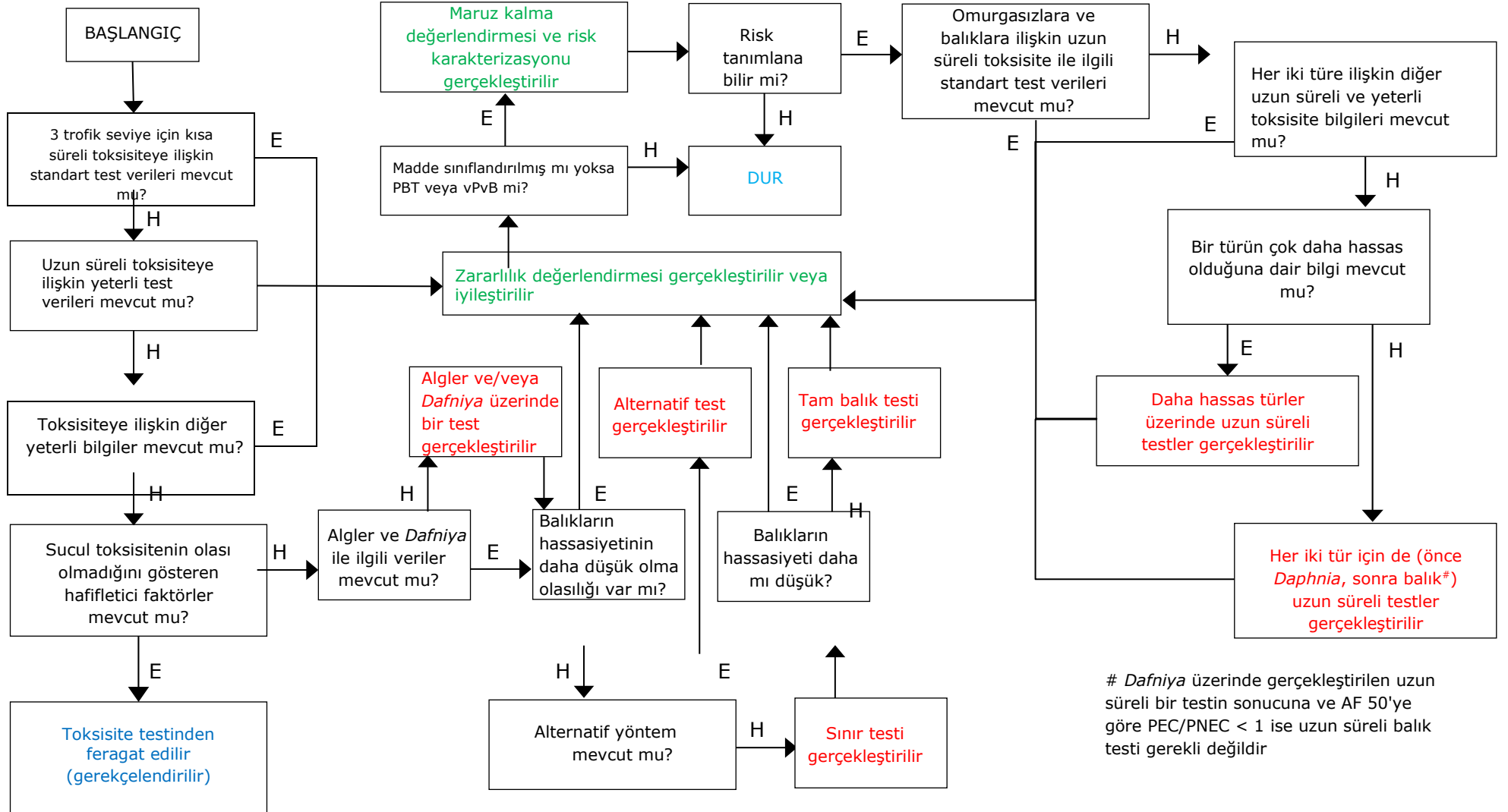
Risk değerlendirmesinin iyileştirilmesi için diğer olası yöntemler (örn. Tür Hassasiyeti Dağılımlarının kullanımı) düşünülebilir.

R.7.8.5.4 Genel sonuç

Başlık R.7.8.5'te, maddenin toksisite modelini anlamak için toplanan tüm bilgilerin nasıl birleştirileceğine ve PNEC'nin oluşturulması da dahil olmak üzere farklı düzenleyici sonlanma noktalarına, Sınıflandırma ve Etiketleme'ye ve PBT/vPvB Değerlendirmesi'ne ilişkin genel sonuçlara nasıl varılacağı hakkında rehberlik sağlar. Bu değerlendirmelerin önemli bir özelliği esneklik ve uzman kararı olacaktır. Sonuçlar kapsamlı bir şekilde doğrulanmalı ve iletilmelidir.

Şekil R.7.8—4 Kimyasal güvenlik değerlendirmesindeki sonuca (PNEC'nin oluşturulması) ilişkin karar şeması

Şema



Farklı sonlanma noktalarına ilişkin sonuçlar için genellikle değişken miktarlarda bilgi gerekir ve bunun sonucunda önerilen test stratejileri farklılık gösterebilir. Örneğin, sınıflandırma ve etiketleme için bir sınır testi yeterli olabilir, ancak aynı madde için KGD değerlendirmesi kronik bir balık testini gerektirir.

Bu nedenle, gereksiz testlerden kaçınmak için testin sonunda farklı stratejiler eleştirel bir şekilde karşılaştırılmalıdır. Bununla birlikte, birkaç kurala uyulması gerekmektedir:

PBT/vPvB değerlendirmesi: kronik balık toksisitesi testi genellikle sadece P ve B kriterleri karşılandığında gereklidir (Daha fazla bilgi için *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'e bakınız).

Gelecekteki araştırmalar için öncelikler

Farklı sonlanma noktalarında doğrulanmış sonuçların elde edilebilmesi için mevcut araçların daha da geliştirilmesi gerekir. Daha fazla araştırma için diğerleri arasında aşağıdaki hususlar dikkate alınmalıdır:

1. Mekanik yaklaşımlar
 - a. Gelecekteki KGD'lerin teknik ilerlemeye uyarlanabilmesi için etki şekilleri hakkında bilgi geliştirilir.
 - b. Tahmin göstergeleri olarak ölümcül olmayan akut sonlanma noktaları kullanılır. Etki Şekli tahminlerinde bulunmak için kronik toksisite testlerinden ve toksikokinetiklerden elde edilen bilgiler daha iyi bir şekilde kullanılır. Yapısal uyarılar hakkındaki bilgileri artırmak için elde edilen verileri kullanılır.
2. Pelajik organizmalara ve çökelti organizmalarına ilişkin kronik toksisite için QSAR modellerinin doğrulamasını ve uygulanabilirlik alanını içeren açıklama geliştirilir.
3. Pelajik organizmalar üzerinde gerçekleştirilen besleme çalışmaları için doğrulanmış Test Rehberleri geliştirilir.
4. Kritik vücut yüklerine ilişkin bilgiler geliştirilir, veri tabanları derlenir ve çeşitli şekilleri ile bağlantılar kurulur ve iyileştirilir.
5. Tatlı sudan deniz suyu organizmalarındaki toksisiteye ilişkin yapılan çapraz okuma iyileştirilir ve deniz suyu türleri (filum) için veritabanı geliştirilir.
6. İnsan Sağlığı verilerinden ve mümkün olması halinde biyobozunurluk verilerinden çevresel risk değerlendirmesine (örneğin, biyodönüşüm anlayışını ve ilgili metabolitlerin tanımını geliştirmek için) çapraz okumanın nasıl gerçekleştirileceğine ilişkin anlayış geliştirilir.
7. Laboratuvardan saha çalışmalarına uyarılama yapmak için tahmine bağlı teknikler geliştirilir.
8. Popülasyon dinamiklerinin ekotoksikolojiye nasıl dahil edilebileceği dikkate alınır.
9. *In vitro* testler geliştirilir, doğrulanır ve buna bağlı olarak *in vitro* testlerin nasıl kullanılacağına ilişkin rehber geliştirilir.
10. Genomik bilginin ("omik") nasıl kullanılacağı konusunda Rehber geliştirilir.

11. Çok kriterli değerlendirme için rehber geliştirilir; bu, değerlendirme faktörlerinin esnekliği de dahil olmak üzere, bir PNEC'nin oluşturulmasına ilişkin mevcut tüm bilgilerin nasıl kullanılacağı anlamına gelir.

R.7.8.6 Sucul pelajik toksisiteye ilişkin referanslar

Ahlers J, Riedhammer C, Vogliano M, Kühne R-U ve Schüürmann G (2006) Acute to Chronic Ratios in Aquatic Toxicity – Variation across Trophic Levels and Relationship with Chemical Structure (Sucul Toksikitede Akut Kronik Oranlar - Trofik Seviyelerde Çeşitlilik ve Kimyasal Yapı ile İlişkisi). *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:2937-45.

Bernard MJ ve Dyer S (2005) Fish critical cellular residues for surfactants and surfactant mixtures (Yüzey aktif maddeler ve yüzey aktif madde karışımları için balık kritik hücresel kalıntıları). *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 1738-44.

Brain P ve Cousens R (1989) An equation to describe dose responses where there is a stimulation of growth at low doses (Düşük dozlarda bir büyüme stimülasyonunun olduğu doz cevaplarını açıklayan denklem). *Weed Research* 29:93-6.

Campbell PGC, Lewis AG, Chapman PM, Crowder AA, Fletcher WK, Imber B, Luoma SN, Stokes PM ve Winfrey M (1988) Biologically available metals in sediments (Çökeltilerdeki biyolojik olarak mevcut metallere) (NRCC No. 27694), National Research Council Canada, Ottawa.

Castaño A, Bols N, Braunbeck T, Dierick P, Halder M, Isomaa B, Kawahara K, Lee LEJ, Mothersill C, Pärt P, Repetto G, Riego Sintes J, Rufli H, Smith R, Wood C ve Segner H (2003) The use of fish cells in ecotoxicology (Balık hücrelerinin ekotoksikolojideki kullanımı). *Altern Lab Anim* 31:317-51.

CEC (2003) 2nd Edition of the Technical Guidance Document (TGD) on Risk Assessment of Chemical Substances following European Regulation and Directives (Avrupa Yönetmeliği ve Direktiflerini takiben Kimyasal Maddelerin Risk Değerlendirmesine İlişkin Teknik Rehber Dokümanının 2. Baskısı). Nisan 2003. Avrupa Kimyasallar Ajansı (ECB). JRC-Ispra, İtalya. http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/public-health/risk_assessment_of_Biocides/doc/tgd.

Cedergreen N, Ritz C, Streibig JC (2005) Improved empirical models describing hormesis (Hormezi tanımlayan geliştirilmiş deneysel modeller). *Environ. Toxicol. Chem.* 24:3166-72.

Crossland NO, Heimbach F, Hill IR, Boudou A, Leeuwangh P, Matthiessen P ve Persoone G (1992) Summary and recommendations of the European Workshop On Freshwater Field Tests (EWOFFT) (Tatlı Su Alan Testlerine İlişkin Avrupa Çalıştayının (EWOFFT) özeti ve tavsiyeleri). Potsdam, Almanya, 25-26 Haziran 1992. s. 37.

Curren D, Southee JA, Spielmann H, Liebsch M, Fentem JH ve Balls M (1995) The Role of Prevalidation in the Development, Validation and Acceptance of Alternative Methods (Alternatif Yöntemlerin Geliştirilmesinde, Doğrulamasında ve Kabulünde Ön Doğrulamanın Rolü). ECVAM Ön doğrulama Çalışma Kolu Raporu 1. *Altern Lab Anim* 23:211-7.

ECETOC (1997) The Value of Aquatic Model Ecosystem Studies in Ecotoxicology (Ekotoksikolojide Sucul Ekosistem Modeli Çalışmalarının Değeri). Teknik Rapor No. 73. ss. 123. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel.

ECOTOC (2000) Comparative Ecotoxicity of Chemicals to Freshwater and Saltwater Organisms (Kimyasalların Tatlı Su ve Tuzlu Su Organizmalarına Karşı Karşılaştırmalı Ekotoksitesitesi). Deniz Risk Değerlendirmesi üzerine teknik rehber doküman çalışma grubuna sağlanan arka plan belgesi. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel.

ECETOC (2003a) Environmental Risk Assessment of Difficult Substances (Zor Maddelerin Çevresel Risk Değerlendirmesi). Teknik Rapor No. 88. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi, Brüksel, Belçika.

ECETOC (2003b) (Q)SAR: Evaluation of the commercially available software for human health and environmental endpoints with respect to chemical management applications. (Kimyasal yönetim uygulamaları açısından insan sağlığı ve çevre sonlanma noktaları için piyasadaki mevcut yazılımın değerlendirilmesi).

Teknik Rapor No. 89. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel, Belçika.

ECETOC (2003c) Aquatic Hazard Assessment II (Sucul Zararlılık Değerlendirmesi II). Teknik Rapor No. 91. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel, Belçika.

ECETOC (2005) Alternative Testing Approaches in Environment Safety Assessment (Çevre Güvenliği Değerlendirmesinde Alternatif Test Yaklaşımları). Teknik Rapor No. 97. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel, Belçika.

Escher BI ve Hermens JLM (2002) Modes of toxic action in ecotoxicology: their role in body burdens, species sensitivity, QSARs, and mixture effects (Ekotoksikolojide toksik etki modları: vücut yüklerindeki rolleri, tür hassasiyeti, QSAR değerleri ve karışım etkileri). Environ. Sci. Technol. 36: 4201-17.

Giddings JM, Solomon KR ve Maund SJ (2002) Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: II. Aquatic mesocosm and field studies (Pamuk piretroidlerin olasılıksal risk değerlendirilmesi: II. sucul mezokozma ve saha çalışmaları). Environ. Toxicol. Chem. 22:1862-9.

Gombar VK ve Enslein K (1995) Use of predictive toxicology in the design of new chemicals (Yeni kimyasalların tasarımında öngörücü toksikolojinin kullanılması). ACS Symp. Ser. 589:236-49.

Gulden M ve Seibert H (2005) Impact of bioavailability on the correlation between *in vitro* cytotoxic and *in vivo* acute fish toxic concentrations of chemicals (Biyoyararlanımın, kimyasalların *in vitro* sitotoksik ve *in vivo* akut balık toksik konsantrasyonları arasındaki ilişki üzerine etkisi). Aquat. Toxicol. 72:327-37.

Hobbs DA, Warne MSJ ve Markich SJ (2005) Evaluation of Criteria Used to Assess the Quality of Aquatic Toxicity Data (Sucul Toksikite Verilerinin Kalitesinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Kriterlerin Değerlendirilmesi). Integr. Environ. Assess. Manag. 1:174-80.

Hoekstra JA ve Van Ewijk PH (1993) Alternatives for the no-observed-effect level (Etki gözlemlenmeyen seviye için alternatifler). Environ. Toxicol. Chem. 12:187-94.

Hoekzema C, Murk JA, van de Waart BJ, van der Hoeven JCM ve de Roode DF (2006) Alternative approaches can greatly reduce the number of fish used for acute toxicity testing (Alternatif yaklaşımlar, akut toksisite testi için kullanılan balık sayısını büyük ölçüde azaltabilir). *Environ. Toxicol. Chem.* 22:1322-5.

Hutchinson TH, Barrett S, Buzby M, Constable D, Hartmann A, Hayes E, Huggett D, Länge R, Lillicrap AD, Straub JO ve Thompson RS (2003) A strategy to reduce the numbers of fish used in acute ecotoxicity testing of pharmaceuticals (İlaçların akut ekotoksikite testinde kullanılan balık sayısını azaltmak için bir strateji). *Environ. Toxicol. Chem.* 22:3031-6.

Jaworska JS, Hunter RS ve Schultz TW (1998) Quantitative structure-toxicity relationships and volume fraction analyses for selected esters (Seçilen esterler için nicel yapı-toksikite ilişkileri ve hacim oranı analizleri). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 29:86-93.

Jeram S, Riego Sintes JM, Halder M, Baraibar Fentanes J, Sokull-Klüttgen B ve Hutchinson TH (2005) A strategy to reduce the use of fish in acute ecotoxicity testing of new chemical substances notified in the European Union (Avrupa Birliği'nde bildirilen yeni kimyasal maddelerin akut ekotoksikite testinde balık kullanımını azaltmak için bir strateji). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 42:218-24.

Klimisch HJ, Andreae M ve Tillmann U (1997) A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. (DeneySEL toksikolojik ve ekotoksikolojik verilerin kalitesini değerlendirmek için sistematik bir yaklaşım). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 25:1-5.

Lipnick RL (1991) Outliers: their origin and use in the classification of molecular mechanisms of toxicity (Aykırı değerler: kökenleri ve moleküler toksisite mekanizmalarının sınıflandırılmasında kullanımı). *Sci. Total. Environ.* 109-110:131-53.

Mc Geer JC, Brix KV, Skeaff JM ve DeForest DK (2002) The use of bioaccumulation criteria for hazard identification of metals (Metallerin zararlılığının belirlenmesi için biyobirikim kriterlerinin kullanımı). Çevresel risk değerlendirmesine ilişkin bilgi formu. Uluslararası Madencilik ve Metaller Konseyi (ICMM) tarafından yayınlanmıştır

Mekenyan OG, Dimitrov S, Pavlov TS and Veith GD (2004) A systems approach to simulating metabolism in computational toxicology (Bilgisayarlı toksikolojide metabolizmayı simüle etmeye yönelik bir sistem yaklaşımı). I. The TIMES heuristic modelling framework (I. TIMES sezgisel modelleme çerçevesi). *Curr. Pharm. Des.* 10:1273-93.

MERAG. 2006. Metallerin Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Rehber Doküman. www.euras.be/merag

Moore DRJ, Breton RL ve MacDonald DB (2003) A comparison of model performance for six quantitative structure- activity relationship packages that predict acute toxicity to fish (Balıklarda akut toksisiteyi öngören altı kantitatif yapı-aktivite ilişkisi paketi için model performansının karşılaştırması). *Environ. Toxicol. Chem.* 22:1799-809.

Newman MC ve Jagoe CH (1994) Ligands and the Bioavailability of Metals in Aquatic Environments (Ligandlar ve Sucul Ortamlarda Metallerin Biyoyararlanımı). *Kaynak: Hamelink JL, Landrum PF, Bergman HL, Benson WH (Eds.) Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions (Biyoyararlanım: Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Etkileşimler)*, Lewis Publishers, Boca Raton, ABD, s. 39-61.

Newsome LD, Johnson DE and Nabholz JV (1993) Validation and upgrade of a QSAR study of the toxicity of amines to freshwater fish (Tatlı su balıklarında aminlerin toksisitesine ilişkin bir QSAR çalışmasının doğrulanması ve yükseltilmesi). *Kaynak: WG Landis, JS Hughes ve MA Lewis (Eds.) Çevresel Toksikoloji ve Risk Değerlendirmesi, ASTM Özel Teknik Yayını, STP 1179, Philadelphia, ABD, ss.413-426.*

OECD (1984) Kimyasalların test edilmesine yönelik 204 sayılı Rehber. Balık, uzun süreli toksisite testi; 14 günlük çalışma. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1992a) Kimyasalların test edilmesine yönelik 203 sayılı Rehber. Balık, akut toksisite testi Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1992b) Kimyasalların test edilmesine yönelik 210 sayılı Rehber. Balık, erken yaşam evresi toksisite testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1995) Environment Monographs No. 92. Sucul etkilerin değerlendirilmesine ilişkin rehber dokümanlar. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1996) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD rehberleri. 305. Biyokonsantrasyon: Sürekli akış balık testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1998a) Kimyasalların test edilmesine yönelik 212 sayılı Rehber. Embriyo ve yavru balık kesesi aşamalarındaki balıklarda kısa süreli toksisite testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (1998b) Kimyasalların test edilmesine yönelik 211 sayılı Rehber. *Dafniya magna* üreme testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2000a) SIDS (Güvenilirlik, Uygunluk ve Yeterlilik) Dosyalarına İlişkin Verilerin Kalitesinin Belirlenmesine Yönelik Rehber, Interim Manual, Haziran 2000.

OECD (2000b) Kimyasalların test edilmesine yönelik 215 sayılı Rehber. Balık, yavru büyüme testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2000c) Zor Maddelerin ve Karışımların Sucul Toksisite Testine İlişkin Rehber Doküman, ENV/JM/MONO (2000)6. Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 23, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2004a) (Nicel) Yapı-Aktivite İlişkilerinin [(Q)SAR] Doğrulanmasına İlişkin Prensipler hakkında (Q)SAR Uzman Grubundan Rapor. ENV/JM/TG(2004)27/REV. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, 17pp.

OECD (2004b) Kimyasalların test edilmesine yönelik 202 sayılı Rehber. *Dafniya sp.* akut hareketsizlik testi Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2006a) Simüle Edilmiş Tatlı Su Lenitik Alan Testlerine İlişkin Taslak Rehber Doküman (Diş Ortam Mikrokozmaları ve Mezokozmaları). s. 26.

OECD (2006b) Ekotoksosite Verilerinin İstatistiksel Analizindeki Güncel Yaklaşımlara İlişkin Rehber Doküman: Uygulama Rehberi. Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 54, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2006c) Kimyasalların test edilmesine yönelik 201 sayılı Taslak Rehber. Tatlı Su Algleri ve Siyanobakterileri, Büyüme İnhibisyonu Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2006d) Kimyasalların test edilmesine yönelik 221 sayılı Taslak Rehber. *Lemna sp.* İnhibisyon Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

Ownby DR, Newman MC. 2003. Advances in Quantitative Ion Character-Activity Relationships (QICARs) using metal-ligand binding characteristic to predict metal toxicity (Metal toksisitesinin öngörülmesi için metal ligand bağlanma karakteristiğini kullanan Nicel İyon Karakteri-Aktivite İlişkilerinde (QICAR) gelişmeler).

Pack S (1993) A review of statistical data analysis and experimental design in OECD aquatic toxicology test guidelines (OECD sucul toksikoloji test rehberlerinde istatistiksel veri analizi ve deneysel tasarımın bir incelemesi). Shell Research, Sittingbourne, İngiltere, OECD için hazırlanmıştır.

Roberts DW and Costello JF (2003) Mechanisms of action for general and polar narcosis: a difference in dimensions (Genel ve polar narkoz için etki mekanizmaları: boyutlarda bir fark). QSAR Comb. Sci. 22:226-33.

Russom CL, Anderson EB, Greenwood BE ve Pilli A. (1991) ASTER: An integration of the AQUIRE database and the QSAR system for use in ecological risk assessments (ASTER: Ekolojik risk değerlendirmelerinde kullanılmak üzere AQUIRE veritabanı ve QSAR sisteminin entegrasyonu). Sci. Total. Environ. 109/110:667-70.

Russom CL, Bradbury SP, Broderius SJ, Hammermeister DE ve Drummond RA (1997) Predicting modes of action from chemical structure: Acute toxicity in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) (Kimyasal yapıdan etki şekillerinin öngörülmesi: Yassı kafalı golyan balığında (*Pimephales promelas*) akut toksisite). Environ. Toxicol. Chem. 16: 948-67.

Schabenberger O, Tharp BE, Kells JJ ve Penner D (1999) Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response (Herbisit doz cevabında hormon ve etkili dozajlar için istatistiksel testler). Agronomy J 91:713-21.

Schirmer K (2006) Proposal to improve vertebrate cell cultures to establish them as substitutes for the regulatory testing of chemicals and effluents using fish (Omurgasız hücre kültürlerini yer değiştiriciler olarak tanımlamak ve bu hücre kültürlerini geliştirmek amacıyla balıkların kullanıldığı kimyasalların ve akışkanların düzenleyici testlerine ilişkin öneri). Toxicology 224:163-83.

Schüürmann G, Kühne R, Kleint F, Ebert R-U, Rothenbacher C ve Herth P (1997). A software system for automatic chemical property estimation from molecular structure (Moleküler yapıdan otomatik kimyasal özellik tahmini için bir yazılım sistemi). *Kaynak:* Chen F, Schüürmann G, ed., Quantitative Structure-Activity Relationships in Environmental Sciences (Çevre Bilimlerinde Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri) – VII. SETAC Press, Pensacola, FL, ABD, s. 93-114.

Seth R, Mackay D ve Muncke J (1999) Hidrofobik Kimyasallar için Organik Karbonun Dağılım Katsayısının ve Değişkenliğinin Tahmini. J. Environ. Sci. Technol. 33:2390- 94.

ABD EPA (1994) ECOSAR: Yapı-aktivite ilişkilerine bağlı olarak endüstriyel kimyasalların ekotoksitesini öngörmek üzere bir bilgisayar programı. EPA-748- R-002. Kirlilik Önleme ve Toksik Maddeler Ofisi, Ulusal Çevresel Yayınlar ve Bilgi Merkezi, Cincinnati, OH, ABD.

ABD EPA (2002) ECOTOX kullanıcı rehberi: ECOTOXology veri tabanı, sürüm 3.0. www.epa.gov/ecotox

Urrestarazu RE, Vaal MA ve Hermens JLM (2002) Interspecies sensitivity in the aquatic toxicity of aromatic amines (Aromatik aminlerin sucul toksisitesine karşı türler arası hassasiyet). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 11:149-58.

Vaes WHJ, Urrestarazu RE, Verhaar HJM ve Hermens JLM (1998) Acute toxicity of nonpolar versus polar narcosis: is there a difference? (Nonpolar narkoz ile polar narkozun akut toksisitesi: bir fark var mı?) *Environ. Toxicol. Chem.* 17:1380-4.

Van Ewijk PH ve Hoekstra JA (1993) EC50'nin ve güven aralığının hesaplanması. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 25:25-32.

Veith GD, Call DJ ve Brooke LT (1983) Structure-toxicity relationships for the fathead minnow, *Pimephales promelas*: narcotic industrial chemicals (Yassı kafalı golyan balığı, *Pimephales promelas* için yapı-toksosite ilişkileri: narkotik endüstriyel kimyasallar). *Can J. Fish Aquat. Sci.* 40:743-8.

Verhaar HJM, Van Leeuwen CJ ve Hermens JLM (1992) Classifying environmental pollutants. 1: structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity (Çevresel kirleticilerin sınıflandırılması. 1: sucul toksisitenin öngörülmesi için yapı-aktivite ilişkileri). *Chemosphere* 25:471-91.

Von der Ohe PC, Kühne R, Ebert R-U, Altenburger R, Liess M ve Schüürmann G (2005) Structural alerts - a new classification model to discriminate excess toxicity from narcotic effect levels of organic compounds in the acute Daphnid assay (Yapısal uyarılar - akut Daphnid testinde aşırı toksisiteyi organik bileşiklerin narkotik etki seviyelerinden ayırmak için yeni bir sınıflandırma modeli). *Chem. Res. Toxicol.* 18:536-55.

Walker JD, Enache M ve Dearden JC (2003) Quantitative Cationic-Activity relationships for predicting toxicity of metals (Metallerin toksisitesinin öngörülmesi için Nicel Katyonik Aktivite ilişkileri). *Environ. Toxicol. Chem.* 22:1916-35.

Worth AP, Bassan A, Gallegos A, Netzeva TI, Patlewicz G, Pavan M, Tsakovska I ve Vracko M (2005) The Characterisation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships: Preliminary Guidance ((Nicel) Yapı-Aktivite İlişkilerinin Karakterizasyonu: İlk Rehber). JRC raporu EUR 21866 EN. Avrupa Kimyasallar Bürosu, İspra, İtalya. Erişim adresi: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/information-sources/qsar-document-area

R.7.8.1 - R.7.8.6 Bölümlerine Ekler

- Ek R.7.8—1** **Sucul toksisitenin test edilmesine ilişkin kritik parametreler**
- Ek R.7.8—2** Bilgi kaynakları: in vivo
- Ek R.7.8—3** **Sucul etkilerin değerlendirilmesinde vücut yükü yaklaşımlarına ilişkin metodoloji**
- Ek R.7.8—4** **Endokrine ve diğer ilgili etkilere ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi**

Ek R.7.8—1 Sucul toksisite testi için kritik parametreler (Maddelerin ve (test) sistemlerin özellikleri ile sucul toksisite değerlendirmesini etkileyen diğer faktörler)

Aşağıdaki tablo, sucul ortamdaki toksisite testini ve potansiyel olarak test stratejisini etkileyen kritik parametreleri özetlemektedir. Tablo iki ana başlığa ayrılmıştır: Test ile ilgili parametreler ve Madde ile ilgili parametreler. Her ikisi de mevcut çalışmaların geçerliliğini değerlendirilmesi hususunda kullanışlıdır, ancak maddeyle ilgili parametreler aynı zamanda yeni çalışmaların başlatılmasından önce edinilmesi gereken bilgilerle de ilgilidir. Daha ayrıntılı bilgi için okuyucunun OECD'ye (2000) ve ECETOC'a (2003) başvurması istenir. Bu belge, inorganik bileşiklere ve metallere ilişkin bazı hususlarda temel rehberlik sağlamaktadır. Van Gheluwe (2006)'da daha kapsamlı rehberlik bulunabilir.

Tablo R.7.8—2 Sucul toksisitenin test edilmesine ilişkin kritik parametreler

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
Test ile ilgili parametreler			
Genel		Su kalitesi	<p>Tüm ekotoksikolojik testler, genel su kalitesini etkileyen, besiyerinin test edilen organizmaları desteklemeye uygunluğunu ve test maddelerine maruz kalmanın çevredeki koşullara benzer şekilde meydana gelme olasılığını gösteren temel parametrelere ilişkin bilgileri içermelidir. Ölçüm sıklığı da belirtilmelidir.</p> <p>Test yöntemi tarafından belirtilmiş aralığın dışında kalan herhangi bir parametre, çalışmanın geçerliliğine ilişkin derinlemesine bir sorgulamayı ve sonuçların uygunluğunun dikkatli bir şekilde değerlendirilmesini tetiklemelidir.</p>
Oksijen			<p>Oksijen gereklilikleri organizmaya bağlıdır (örneğin gökkuşağı alabalığı çok yüksek oksijen seviyelerine (%50'den az mortalite sonuçlanabilir) ihtiyaç duyarken, bentik organizmalar ihmal edilebilir oksijen seviyelerinin olduğu durumlarda hayatta kalabilir). Bununla birlikte, çökelti testlerinde peribentik katmanda su kolonuna göre çok daha düşük konsantrasyonlar olabileceğinden oksijen her zaman çökeltiye yakın ölçülmelidir.</p> <p>Bazı durumlarda (örneğin, test maddesinin veya üçüncül çözücünün biyobozunurluğunun yüksek olması halinde) uçucu olmayan kimyasallarla oksijen konsantrasyonunu artırmak için test sisteminde doğrudan bir havalandırma sağlanabilir. Bu bazı organizmalarda (örneğin, dafnidlerde) fiziksel hasara ve önemli ölçüde strese neden olabilir ve bu gibi durumlardan kaçınılmalıdır.</p>
pH			<p><i>Pelajik</i> - pH genellikle 6.5 - 9 aralığında kabul edilebilir ancak bu organizmaya bağlıdır. Örneğin alg testleri, büyüme hızı üzerinde herhangi bir kayda değer etki olmadığı sürece pH 10'a ulaşabilir. Bununla birlikte, belirli durumlarda, özellikle iyonlaştırıcı organiklerde ve metallerde, pH'ın türleşme ve dolayısıyla toksisite üzerinde etkisi vardır. Bu gibi durumlarda, kullanılacak test stratejisi ve testlerdeki kabul edilebilir pH aralığı hakkında bir karar verilmesi gerekir. Tamponların veya değiştirilmiş test stratejilerinin kullanılması (örneğin, başlangıç hücre sayısının azaltılması), test sırasında oluşabilecek önemli pH değişikliklerinin önlenmesinde yardımcı olabilir.</p> <p><i>Çökelti</i> - Çökeltilerin pH değeri çalışma sırasında değişebilir. Bu, çökeltide yaşayan organizmalar üzerinde bir etkiye sahip olabilir, ancak iyonlaştırıcı maddeler için, substratın iyon değiştirme kapasitesini değiştirebilir, test maddesinin biyoyararlanımını ve gözenek suyu konsantrasyonlarını artırabilir veya azaltabilir. Bu tür değişiklikler mümkünse izlenmeli ve kontrol edilmelidir.</p>

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
Sıcaklık			<p>Rehberlerin birçoğunda, organizmaların stres altında olma veya sonuçların geçerliliğinin tavsiye edilen sınırlar dışında elde edilememesi olasılıklarının bulunması sebebiyle, sıcaklık standart bir fiziksel parametre olarak ele alınır (örneğin, 18 °C'nin altında, OECD 211'de önerildiği üzere 21 gün içinde yetişkin başına sağ kalan > 60 yavru dafnidin geçerlilik kriterinin elde edilmesi zor olabilir). Bununla birlikte, test sırasında sıcaklıkta meydana gelebilecek değişiklik de aynı derecede önemlidir. Balıkların, sıcaklık şokuna neden olabilecek zamana bağlı sıcaklık değişimlerine karşı hassasiyeti oldukça yüksektir.</p> <p>Herhangi bir testte ortam sıcaklığındaki değişim de kritiktir ve alıştırma odalarının hem sıcak hem de soğuk noktalar içermesi sebebiyle oksijenin en azından en büyük uzaysal ayrıma sahip test sistemlerinde ölçülmesi gerekir. Gruplar arasında sıcaklıkta sistematik farklılıkların meydana geldiğine dair herhangi bir tavsiye, çalışmanın geçerliliğinin dikkate alınmasına yol açmalıdır.</p>
Sertlik/İletkenlik			<p>Optimum iyon ihtiyacı ve bileşimi türden türe değişir ve bunlar genellikle test yönteminde belirtilir. Sertlik, belirli test maddelerinin (metaller ve metal bileşikleri gibi) biyoyararlanımını etkileyebilir ve bu durumlarda bu parametrenin ölçümü önemlidir. Örneğin, Biyotik Ligand Modelleri (BLM) gibi biyoyararlanım modellerinde, metaller için rekabet etkilerini tanımlamak amacıyla sertlik kullanılır.</p>
Alkalinite			<p>Karbonat iyonları metallerin türünü değiştirebilir. Bu nedenle, alkaliniteye ilişkin bilgiler test ortamında metal türleşmesinin doğru bir şekilde anlaşılması hususunda test sonuçlarını daha iyi anlamamızı sağlayabilir.</p>
Klorürler/tuzluluk			<p>Tuz etkilerinin test sonuçları üzerinde belirgin bir etkisi olabilir. Çoğu organizma, 500 mg/L'ye kadar olan klorür seviyelerini tolere eder. Bu eşiğin üzerinde, test edilen organizmalara bağlı olarak ozmotik stres meydana gelebilir ve test sonuçlarında sapmaya neden olabilir. Ag gibi bazı metaller için klorür komplekslerinin oluşumu da biyoyararlanımını etkileyebilir.</p>
NH ₃ /NH ₄			<p>Amonyakın oldukça toksik ve daha az toksik amonyum iyonu ile dinamik dengede olması sebebiyle, pH değerinden ve bir dereceye kadar olan sıcaklıktan etkilenir. Balıkların da dahil olduğu birçok tür, solungaçlar ve dışkı yoluyla suya ve statik sistemlere doğrudan amonyak salgılar veya stok yoğunluğunun yüksek olduğu testlerde çalışma sırasında amonyak konsantrasyonunun artması muhtemeldir. Bu, uzun süre boyunca statik olabilen çökelti bazlı sistemler için özel bir problem olabilir.</p> <p>Amonyakın bir soruna neden olabileceği çalışmalarda, ölçümler genellikle metodolojiye dahil edilir, ancak daha az doğrulanmış yöntemler için amonyak konsantrasyonunun sonuçları etkileyip etkilemeyeceği düşünülmeğe değerdir.</p>

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
DOC			Bazı çalışmalarda, özellikle de doğal suyun kullanıldığı yerlerde çözünmüş organik karbon mevcut olabilir. Bu gibi durumlarda DOC ölçümü gereklidir. Yüze tutunan birçok madde, çözünmüş organik karbona iyonik veya hidrofobik olarak bağlanır ve bu, test maddesinin biyoyararlanımını artırabilir veya azaltabilir. DOC aynı zamanda metaller için çoğu biyoyararlanım modeline dahil edilen önemli bir parametredir. Örn.: WHAM VI gibi türleşme modellerini kullanan Biyotik Ligand Modelleri.
TOC			<i>Çökelti:</i> Çökeltilerin Toplam Organik Karbonu (TOC), çalışmada kullanılan çökeltinin türüne bağlı olarak değişecektir. Bu, çökeltide yaşayan organizmalar üzerinde bir etkiye sahip olabilir, ancak hem organik maddelerin hem de metal/metal bileşiklerinin biyoyararlanımını etkileyebilir.
AVS			<i>Çökelti-metaller:</i> Asit Uçucu Sülfidler (AVS) metallerin ve metal bileşiklerinin biyoyararlanımını etkileyebilir. Yapay çökeltilerdeki AVS konsantrasyonları çok düşüktür ve çoğu zaman tespit sınırının altındadır. Bununla birlikte, saha çökeltilerinin kullanıldığı durumlarda metal-çökelti toksisitesi verilerinin test sonuçlarının doğru bir şekilde yorumlanmasını sağlamak amacıyla AVS konsantrasyonları ölçülebilir.
Madde ile ilgili parametreler			
Moleküler ağırlık ve boyut			Moleküler ağırlık ve boyut, maddenin biyoyararlanımını ve alımını etkileyebilir.
Suda çözünürlük		Genel	<p>Suda çözünürlük, ekotoksikolojik testlerde önemli bir parametredir ve veriler herhangi bir sucul etki test edilmeden önce mevcut olmalıdır. Aksi takdirde çözünürlük sınırının üzerinde gerçekleştirilen bir test, sonuçların yanlış yorumlanmasına yol açabilir.</p> <p>Az çözünür maddeler, OECD (2000) tarafından çözünürlük sınırı < 100 mg/l olan maddeler olarak tanımlanır, ancak teknik problemlerin TRD'de (1996) tanımlandığı üzere < 1 mg/l'de ortaya çıkması daha olasıdır.</p> <p>Çok düşük suda çözünürlük (yani düşük µg/l aralığında), standart bir testin önemli ölçüde değiştirilmesinde veya tercihen pelajik olmayan organizmaların test edilmesinde bir neden olarak kullanılabilir (daha fazla bilgi için bkz. Tablo R.7.8-3).</p> <p>Mümkün olması halinde pelajik testlerin, besiyerindeki test maddesinin sudaki çözünürlük değerinde veya bu değer altında yapılma gerekir.</p>

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
			<p>Üçüncül çözücüler genellikle stok çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılır, böylece test çözeltilerinin sağlanabilmesi amacıyla daha fazla seyreltilebilirler. İzin verilen maksimum konsantrasyonda (100 mg/l) kullanılan çözücüler, test maddesinin çözünürlüğünü bazı durumlarda önemli ölçüde artırabilir ancak fiziksel etkilere neden olabilecek emülsiyon oluşumuna da yol açabilir. Pelajik testler için mümkün olduğunda çözücülerden kaçınılmalı ve kullanılıyorsa, (bazı durumlarda) hızlı bozunmaları nedeniyle biyokimyasal oksijen ihtiyacında (BOD) artışa yol açmamalarına dikkat edilmelidir. Ayrıca çökeltinin eklenmesi amacıyla kullanılırlar ve bu gibi durumlarda genellikle kullanılmadan önce havayla kurutulularak çökeltiden uzaklaştırılırlar. Bununla birlikte, içerdikleri kontamine edici maddelerin kalıntıları kalabilir ve ayrıca organik çözücü, organik karbon oranını yeniden dağıtarak veya değiştirerek kullanılan çökelti üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir. Çözücüler genellikle test maddesini ortamda oluşmayacak bir şekilde alt tabakaya dağıtır ve bu nedenle teknik dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır.</p> <p>Dağıtıcılar, çözücülere benzer şekilde kullanılmıştır, ancak maddenin stok çözelti içinde çözülmesinden ziyade kararlı bir dağılımın elde edilebilmesi amacıyla kullanılmaktadır. OECD (2000), incelemeye tabi tutulan maddelerin (örneğin, deterjanlar veya yağ dağıtıcı maddeler) doğal özelliklerinden olmadığı sürece dağıtıcıların test edilmesini genel olarak savunmamaktadır.</p> <p>OECD, test maddesinin kendisinden daha yüksek çözünürlüğe sahip ve safsızlık içermeyen zayıf çözünür katılar için kolon üretici yönteminin kullanılmasını önerir.</p>
		Çok bileşenli maddeler (UVCB)	Çok bileşenli maddeler, farklı çözünürlüklere ve fiziko-kimyasal özelliklere sahip bireysel maddelerin karmaşık bir karışımını oluşturur. Çoğu durumda, belirli bir karbon zinciri uzunluğuna/sayısına veya yer değiştirme derecesi aralığına sahip homolog bir madde dizisi olarak karakterize edilebilirler. Genellikle, bu maddeleri test etmek ve değerlendirmek zordur. Daha fazla bilgi için Tablo R.7.8-3'e bakınız.
	Tatlı su		Doğal tatlı su; inorganik iyonlar, çözünmüş organik karbon (DOC) ve askıda madde içerir. Yapay ortam, doğal tatlı suda bulunan birçok bileşiği içerir, ancak bazen bazı mikro besinlerin biyoyararlanımını tamponlamak veya sürdürmek için başka maddeler de kullanılır. Öte yandan, standart çözünürlük testleri genellikle deiyonize suda gerçekleştirilir. Sucul testlerde maksimum çözünürlükte ölçülen değerlerin çözünürlük testi sonucundan farklı olması alışılmadık bir durum değildir. Genellikle, bir maddenin yapay ortamdaki maksimum çözünürlüğü, çözünürlük testi sonucunun gösterdiği değerden daha düşüktür, ancak bu her zaman böyle değildir.

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
			Bu, testin test maddesinin çözünürlük sınırına yakın bir değerde gerçekleştirilmesine ilişkin bir tavsiyede bulunulduğunda şelatlar gibi belirli kimyasal gruplar için genellikle dikkate alınmalıdır. Güçlü bir şekilde yüzeye tutunan kimyasallar askıda katı maddelerin yüzeyine tutunabilir ve yüzey aktif maddeler gibi iyonlaşabilen organikler için çözünmüş organik karbona bağlanma meydana gelebilir. Bu nedenle de, gerçekten çözünmüş oranların değerlendirilmesi zor olabilir. Bu gibi durumlarda toplam yük rapor edilebilir veya daha uygulanabilir bir sonlanma noktası olarak kullanılabilir. Bu gibi durumlarda çözünmüş organik karbon (DOC) ve askıda madde (SS) konsantrasyonlarının bilinmesi önemlidir. Daha fazla bilgi için Tablo R.7.8-3'e bakınız.
	Deniz		Deniz ortamında tuzluluk oranının çok yüksek olması sebebiyle çoğu maddenin çözünürlüğü azalır ve tuzla uzaklaştırıldığı bilinen bir işlemle çökme meydana gelebilir. Çözünürlükteki azalma, nötr polar olmayan maddeler için yaklaşık %10- %50 olarak hesaplanmıştır. Çözünen organik maddenin molar hacminin bir fonksiyonu olarak deniz suyundaki tuzlanma faktörüne ilişkin basit bir ilişki, çözünürlüğün 1.36 kat azaldığının düşünülmesidir (ECETOC, 2001). İyonlaştırıcı maddeler için pH bağımlılığı, deniz suyunun pH değerinin (yaklaşık 8) pKa değerine yakın olduğu durumda bilinmelidir. Test ile ilgili hususlar yukarıda belirtildiği gibi (tatlı su) dikkate alınmalıdır.
	Az çözünür	Fiziksel etkiler	Bunlar genellikle yalnızca çözünürlüğü çok düşük olan zor maddeler için geçerlidir. Bazı maddeler, çok düşük konsantrasyonlarda (100 µg/l veya daha az) bile su ile karıştırıldığında misel oluşturabilir veya suda yaşayan organizmaları kaplayan ve bu organizmaları potansiyel olarak tıkayan bir yüzey filmi oluşturabilir. Bu etkilerin işaretleri, dafnidlerin test çözeltilerinin yüzeyinde sıkışıp kaldığı (her zaman rapor edilmez) veya aynı konsantrasyonun tekrarları arasındaki etkilerde büyük farklılıkların olduğu durumlarda dikkate alınabilir.
Renkli maddeler			Zor maddeler için Tablo R.7.8-3'e bakınız
Soğurma:	Genel		Soğurma/yüzeyden sıyrılma testleri, uygun ortam için K_{oc} (organik karbonun normalize edilmiş yüzeye tutunma katsayısı) ve K_d (dağılım katsayısı) hakkında bilgi sağlar. Birçok kimyasal için, bu tür çalışmalar (veya K_{ow} Nicel Yapı Aktivite İlişkilerinden türetilen K_{oc} değerleri), sucul çalışmalarda olası ortam davranışlarına ilişkin yararlı bilgiler sağlar, ancak bazı kimyasallar için (özellikle yüzey aktif maddeler ve metaller) bu tür çalışmalardan türetilen standart Freundlich izotermelerinin uygun olmadığı not edilmelidir.
	Nötr (hidrofobik) ($\log K_{ow}$ olarak ifade edilir)	Test sistemind en madde kaybı	Son derece lipofilik maddeler ($\log K_{ow} > 4$, OECD 2000), suda çözünürlüklerinin düşük olmasının beklenmesi ve cam eşyalar, tüpler, gıdalar ve van der Waals kuvvetleri tarafından bağlanan test organizmaları gibi hidrofobik yüzeylere tutunma eğilimleri sebebiyle test sırasında sorun yaratabilir. Test çözeltilerindeki kayıp, test organizmalarındaki biyokonsantrasyon nedeniyle de beklenebilir.

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
			Bu nedenlerle organizmanın stok yoğunluğu yeterince düşük olmalı ve test sisteminin hacmi yeterince yüksek olmalıdır, böylece test maddesinin konsantrasyonu çalışma boyunca korunabilir. Doğal olarak, statik sistemler bu tür maddeler için uygun olma eğilimindedir. Mümkün olduğunda sürekli akış tercih edilir, ancak bu tür koşullar altında yeterli bir stok çözeltisinin elde edilmesi zor olabilir.
	İyonik	Test sisteminden madde kaybı	Örneğin, katyonik yüklü maddelerin negatif yüklü hümitik asitlere, killere, cam eşyalara ve mikroorganizmalara ve anyonik bileşiklerin pozitif yüklü Si, Al veya Fe oksitlerine bağlandığı durumlar gibi zıt yüklü substratlara bağlanan negatif veya pozitif yüklü organik veya inorganik bileşikler olabilir. Yüzeğe tutunma esas olarak test konsantrasyonları 1 mg/l'nin altında olduğunda bir sorun haline gelir. Bağlanma bölgelerini en aza indirmek ve mümkünse bunları çalışmada kullanılacak benzer test kimyasalı konsantrasyonlarına önceden maruz bırakarak doyurmak için girişimlerde bulunulmalıdır.
Yüzey aktif		Test sisteminden madde kaybı	Yüzey aktif maddeler, daha önce bahsedilen iyonik maddelerin bir alt kümesidir ve katyonik, anyonik, iyonik olmayan veya amfoterik olabilir. Her durumda, K_{oc} 'un tahmin edilmesine ilişkin ek zorluklar ortaya çıkar ve K_{ow} yöntemi kullanılamaz.
İyonlaştırıcı		pH ile biyoyararlanım değişikliği	pKa bilgisi, bu tür maddelerin test suyundaki iyonlaşma derecesinin tahmin edilmesine izin verecektir. İyonize olmayan organik türlerin iyonize formlardan daha hidrofobik olma eğiliminde olması sebebiyle, maddenin çözünürlüğü ve biyoyararlanımı, pH'a bağlı olarak ortamlar arasında önemli ölçüde değişebilir. Çözünürlüğün daha düşük ancak toksisitenin iyonize formdan daha yüksek olması olasılığı sebebiyle testte kullanılacak uygun pH değerlerine dikkat edilmelidir.
Bozunma			OECD, Ana bileşiğin kaybolma Süresi 50 (DT50 > 3 gün) , DT50 < 1 saat için bozunma ürünlerinin ve bu aralıktaki her maddenin duruma göre test edilmesini önerir. DT50'si 4 saat olan maddeler için hacmin günde 6 kez yenilenecek nominal ana madde konsantrasyonunun % 50'si korunabileceğinden, sürekli akış testi önerilir. ECETOC (2003) ve TRD, ana bileşiğin sürekli akış sisteminde % 80 ve kısa süreli testte >% 1 korunmasına izin veren maksimum yarı ömre bağlı olarak 12 saate kadar düşük bir DT50 ile test edilmesini önermektedir. Bununla birlikte, böyle bir durum bu tür bir çalışmanın gerçekleştirilmesinin teknik uygulanabilirliğine bağlı olarak duruma göre düşünülmelidir.

Parametre	Alt parametre	Konu	Tavsiye
	Işıkla bozunum		Işıkla bozunum, ışığın emilmesinden sonra bir kimyasalın reaksiyonu, artan reaktivitesi ve ardından dönüşümü ile elektronik olarak uyarılmış bir duruma yol açar. Işıkla bozunum, doğrudan (maddenin doğrudan uyarılma yoluyla dönüştürülmesi) veya dolaylı (ışığa duyarlı başka bir molekülden enerji aktarımı nedeniyle başka bir kimyasalın dönüştürülmesi) olabilir. Kinetik ışıkla bozunum deneysel olarak belirlenir.
	Hidroliz		Hidroliz, reaksiyon merkezinde bir OH ve X grubunun net değişimi ile bir maddenin suyla reaksiyonu ($RX + H_2O \rightarrow ROH + HX$) olmak üzere, çevredeki yaygın bir bozunma yoludur. Reaksiyon genellikle hidrojen veya hidroksit iyonları tarafından katalizlendiğinden hidroliz genellikle pH'a bağlıdır. Hidroliz kinetikleri genellikle deneysel olarak belirlenir ve test tipini ve ana veya bozunma ürününün test edilip edilmeyeceğini değerlendirmek için kullanılmalıdır.
	Biyobozunum		Kolay biyobozunur maddeler söz konusu olduğunda, biyobozunurluk o kadar hızlı olabilir ki çalışma boyunca test konsantrasyonlarını korumak zor olabilir. Bu tür durumların muhtemel olması halinde, steril veya neredeyse steril koşullar altında stok çözeltilerinin test edilmesi ve hazırlanması sırasında test kaplarının düzenli olarak temizlenmesi veya değiştirilmesi göz önünde bulundurulmalıdır.
Uçuculuk			Buhar basıncı, bir maddenin yoğunlaşmış ve buhar fazları arasındaki dengenin bir ölçüsüdür. Henry Kanunu sabiti (H) bir madde için ideal çözelti fazı ile buhar fazı arasındaki dengenin bir ölçüsüdür. Bu nedenle, maddenin buharlaştırma yoluyla çözeltiden uzaklaştırılma potansiyelinin bir ölçüsüdür. <i>H</i> yaklaşık olarak 100 Pa.m ³ /mol'den büyükse, maddenin % 50'den fazlası su fazından 3-4 saat içinde kaybolabilir (Mackay, 1992). Çalışma sırasında maddenin test çözeltisinden buharlaşabileceğine ilişkin bir kanıt varsa, kapalı sistemler kullanılarak veya üst boşluk azaltılarak kaybi azaltmaya yönelik adımlar atılmalıdır.

Referanslar:

OECD, 2000a. Zor Maddelerin ve Karışımların Sucul Toksikite Testine İlişkin Rehber Doküman, ENV/JM/MONO (2000)6. Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 23, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

ECETOC (2003). Aquatic Hazard Assessment II (Sucul Zararlılık Değerlendirmesi II). Teknik Rapor No. 91. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel, Belçika.

Zor Maddeler

Geçerli sucul toksisite testleri, test maddesinin rehberde önerilen koşullar altında sucul ortamda çözünmesini ve test süresince biyoyararlanılabilir maruz kalma konsantrasyonunun korunmasını gerektirir. Bu gerekliliklerden birinin veya her ikisinin gerçekleştirilmesi veya uygulamada bazı madde türlerine ilişkin ölçümlerin gerçekleştirilmesi zor olabilir, bu tür maddeler *zor maddeler* olarak adlandırılır. Bu, testlerin hem performansını hem de yorumlanmasını etkileyebilir ve özellikle eski çalışmalardan elde edilen mevcut veriler dikkate alındığında soruna neden olabilir. Bu tür veriler tipik olarak, bir test raporunda geçerliliğe ilişkin bir kararın verilmesi için yeterli bilginin mevcut olup olmadığını ve ayrıca sonucun düzenleyici kullanım için uygun olup olmadığını belirlemek amacıyla uzman yargısı gerektirir.

Şekil R.7.8—5, zor bir madde göz önünde bulundurulduğunda izlenmesi gereken düşünce süreçlerini göstermektedir. Genel olarak, maddenin bileşiminin olabildiğince iyi bir şekilde tanımlanmış olması önemlidir. Bazı durumlarda, verilerin kullanımına ilişkin bir karar vermek nispeten kolay olabilir. Bununla birlikte, bir maddenin çeşitli açılardan 'zor' olabileceği (örneğin, hem çok bileşenli bir madde olabilir hem de kararsız olabilir) ve her özelliğin uzmanlar için bile karmaşık zorluklar oluşturabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, her durumda geçerli olabilecek basit tavsiyelerde bulunmak mümkün değildir.

Bununla birlikte, OECD, bu tür maddeler için standart yöntemlerin nasıl ayarlanacağına dair ayrıntılı rehber (OECD, 2000) ve sınıflandırma için veri yorumlamasına ilişkin başka bir rehber (OECD, 2001) hazırlamıştır. Tablo R.7.8-3, daha ayrıntılı bilgi için başvurulması gereken bu önemli kaynaklarda tanımlanan ana konuların bir özetini sunmaktadır.


Zor maddeler için temel konulardan biri, test organizmalarının test maddesine gerçek maruz kalmasını ölçebilme yeteneğidir. Genel olarak, test sonuçları mümkün olduğu kadar ortalama ölçülen konsantrasyonlar cinsinden ifade edilmelidir (ancak hem ölçülen konsantrasyonların hem de nominal etki konsantrasyonlarının belirtilmesinde fayda vardır). Aşağıdaki genel ilkeler geçerlidir:

- Konsantrasyonların nominalin %80'i - %120'si aralığında kaldığı statik, yarı statik ve sürekli akış testleri için, etki konsantrasyonları nominal veya ölçülen konsantrasyonlara göre ifade edilebilir.
- Konsantrasyonların nominalin %80'i - %120'si aralığında kalmadığı statik testler için, etki konsantrasyonları testin başında ve sonunda ölçülen konsantrasyonların geometrik ortalamasına göre ifade edilmelidir.

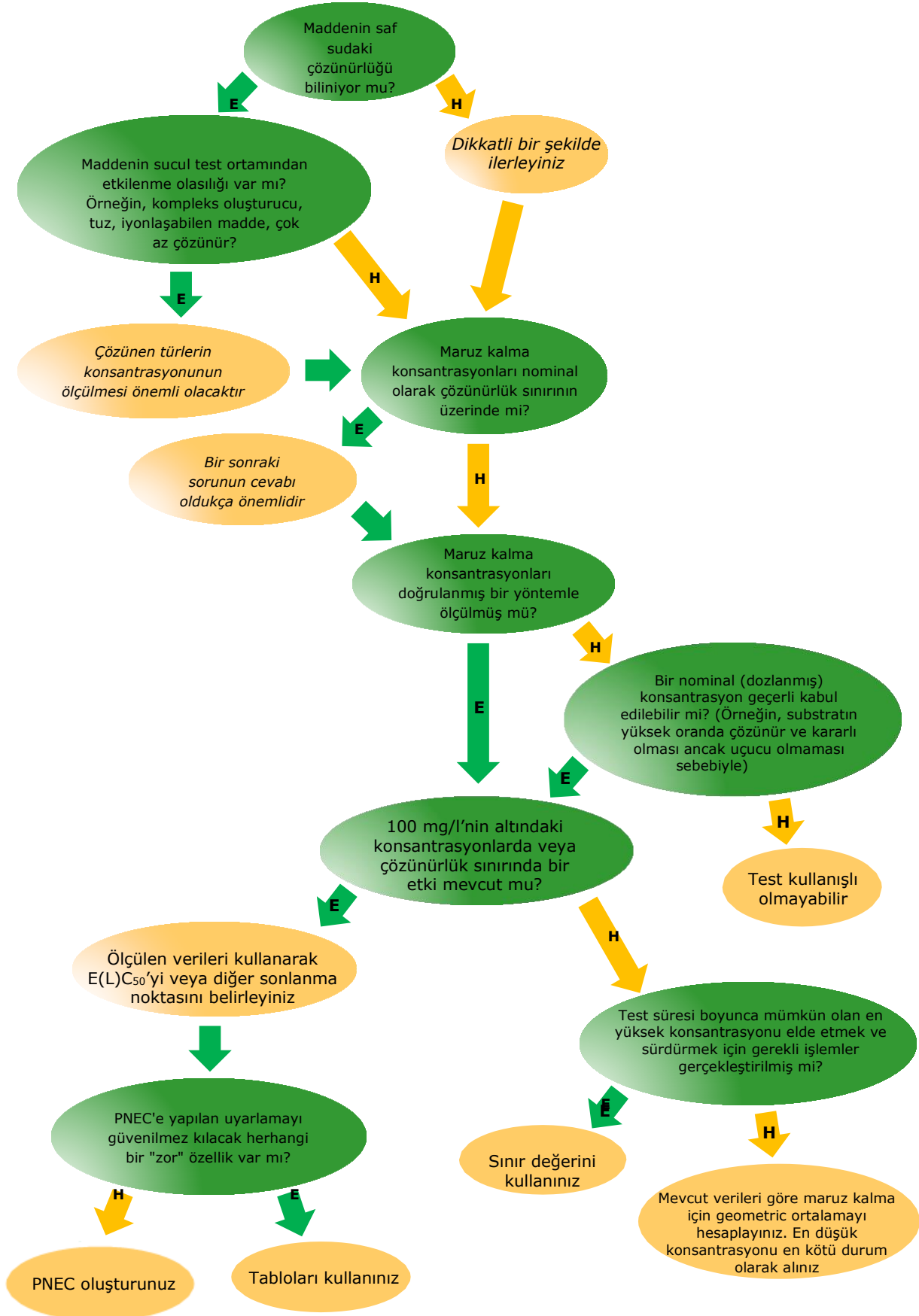
- Konsantrasyonların nominalin %80'i - %120'si aralığında kalmadığı yarı statik testler için etki konsantrasyonları, başlangıçta ve her bir ortamın yenilenmesinden sonra ölçülen konsantrasyonların geometrik ortalamasından hesaplandıktan sonra tüm maruz kalma süresi boyunca ortalama konsantrasyona göre ifade edilmelidir.
- Konsantrasyonların nominalin %80'i - %120'si aralığında kalmadığı sürekli akış testleri için etki konsantrasyonları belirlenmeli ve konsantrasyonun aritmetik ortalamasına göre ifade edilmelidir.
- Analitik yöntemlerle miktarı belirlenemeyen kimyasallarla etkilere neden olan konsantrasyonlarda yapılan testler için, etki konsantrasyonu nominal konsantrasyonlara göre ifade edilebilir. Ancak bu, toksisitenin eksik tahmin edilmesine neden olabilir ve analitik yöntemlerle nicel bir ölçümün neden mümkün olmadığı gerekçelendirilmelidir.

Kayıp süreçlerinin çok hızlı olduğu durumlarda, düşüşten sonra ölçülen konsantrasyonların medyanı, bir vekil olarak ortalama maruz kalma konsantrasyonu için daha uygun olabilir. Uygun bir analitik yöntemin yokluğunda, maruz kalma konsantrasyonlarının hedef değerlerle uyumlu olmasını sağlayabilmek amacıyla yarı statik bir yenileme veya sürekli akış rejimi gerekli olabilir.

Maruz kalma süresinin sonunda ölçülen bir konsantrasyonun bulunmadığını veya maddenin tespit edilmediğini gösteren durumlarda, testin geçerliliği yeniden teyit edilmelidir. Nihai konsantrasyon, maddenin tespit edilmemesi durumunda ortalama bir maruz kalma konsantrasyonunun hesaplanabilmesi amacıyla kullanılan yöntem için tespit sınırı olarak alınabilir. Madde tespit edildiğinde ancak miktarı belirlenemediğinde, ölçüm sınırının yarısının kullanılması iyi bir uygulamadır. Bunu belirlemek amacıyla çeşitli yöntemlerin mevcut olma olasılığı sebebiyle, ortalama ölçülen konsantrasyonların belirlenebilmesi için test sonuçları raporlanırken seçilen yöntemin açıkça belirtilmesi gerekir.

- 
- a. KKDİK uygulamasının ilk aşamalarında kayıt gerektirmemeleri sebebiyle polimerler de dikkate alınmaz.
 - b. Son olarak, bazı maddeler üretim serileri arasında orantılı ve/veya kimyasal doğası nedeniyle değişebilen safsızlıklar içerebilir. Safsızlıkların toksisitesinin ve suda çözünürlüğünün ana maddeden daha yüksek olduğu durumlarda yorumlama problemleri ortaya çıkabilir. Bu durum mevcut belgede ele alınmamaktadır, ancak kayıtlı maddenin kimliğiyle yakından bağlantılıdır.

Şekil R.7.8—5 Zor maddeler ile ilgili hususlar



Zor maddelerin test edilmesine ilişkin hususların özeti

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
Madde çok sayıda bileşen içerir	<p>Birden fazla bileşen, analitik izlemeyi imkansız hale getirebilir.</p> <p>Bileşenler arasındaki dağılım davranışı ve suda çözünürlükteki farklılıklar, test ortamına doğrudan eklenerek homojen bir çözelti elde etmeyi zorlaştırabilir (örneğin, bazı bileşenler yüksek oranda çözünür değilse).</p> <p>Bu aynı zamanda yorumlama ile ilgili sorunlara da yol açabilir. Örneğin, hangi bileşenlerin gözlenen herhangi bir olumsuz etkiye neden olduğunu bilmek mümkün olmayabilir.</p>	<p>Şekil R.7.8—6, bu tür maddelerin dikkate alınmasına ilişkin genel bir yol göstermektedir.</p> <p>Maddenin tüm bileşenleri, test konsantrasyonları aralığında ortamda tamamen çözünür ise, standart test yöntemleri uygundur. Bazı bileşenlerin, kayıpların kontrol edilmesine ilişkin adımların atılmasını gerektiren farklı özellikleri (örneğin, bozunabilirlik, uçuculuk, vb.) olabilir (aşağıya bakınız).</p> <p>Maddenin yalnızca kısmen çözünür olması halinde bileşenler tanımlanmalı ve bunlarla ilgili mevcut bilgiler kullanılarak toksisite tahmin edilmelidir. Örneğin, yapısal ve fiziko-kimyasal benzerliklere sahip bileşenler gruplandırılmalı ve tüm "blok" tek bir bileşikmiş gibi ele alınmalıdır. Bu yaklaşım, özellikle petrol hidrokarbonları için geliştirilmiştir ve 'hidrokarbon blok yöntemi' olarak bilinir (Benzin için AB'nin Mevcut Madde Tüzüğü (ESR) risk değerlendirmesi taslağına ve CONCAWE aracılığıyla sağlanan rehberine bakınız). Her "blok" genellikle oktanol-su dağılım katsayısı, Henry Kanunu sabiti, biyobozunurluk ve toksisite gibi PEC ve PNEC hesaplamalarının sonucunu etkileyecek özellikler temelinde bir araya getirilir. Her bloğun özellikleri, temsili yapılar ve ölçülmüş mevcut veriler için test dışı yöntemlerin bir kombinasyonu kullanılarak tahmin edilebilir.</p> <p>Bu mümkün değilse, suya bağlı oranlar (WAF) kullanılarak testler gerçekleştirilebilir. Suyu bağlı oranı hazırlamak için kullanılan yöntem, dengeye ulaşmasına ve mümkünse zaman içindeki bileşimsel kararlılığına ilişkin kanıtlarla birlikte test raporunda tam olarak açıklanmalıdır. Suyu bağlı oranlar yalnızca bir stoğun suya bağlı oranının seri seyreltmesi ile değil, ayrı ayrı hazırlanır. Çözücülerden de kaçınılmalıdır ve jeneratör sistemleri uygun değildir.</p>	<p>Test sırasında bileşenlerden birinin analiz edilmesi mümkün olabilir. Bu yaklaşım, uzun süreli sucul çalışmalardan biri için İngiltere CCRMP tetrapropenil fenol değerlendirmesinde kullanılmıştır.</p>

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
		<p>Suya bağlı oranlarla elde edilen test verileri, bir bütün olarak çok bileşenli kimyasal maddeler için geçerlidir. Maruz kalma genellikle suya bağlı oranı (WAF) hazırlamak için kullanılan "yükleme hızı" (maddenin ortamdaki kütlelerinin hacmine oranı) olarak ifade edilir. Suya bağlı oranda (WAF) test maddesinin ölçülen kütlesi de (konsantrasyon olarak) kullanılabilir.</p> <p>Suya bağlı oranlarla elde edilen test verileri için, madde suda çözünürlük açısından geniş bir aralıkta bileşenler içeriyorsa aşağıdakiler geçerlidir: akut test verileri daha çözünür bileşenlerin toksisitesine karşılık gelirken, kronik test verileri daha az çözünür bileşenlerin toksisitesini karşılık gelir.</p> <p>Akut öldürücü yükleme seviyesi (genel olarak E(L)L₅₀ olarak ifade edilir), çözünürlük aralıklarında test edilen saf maddeler için belirlenmiş L(E)C₅₀ değerleriyle karşılaştırılabilir. Bu nedenle doğrudan sınıflandırma için kullanılabilir. Ancak, bir PNEC türetmek için kullanılamaz, çünkü ortamdaki dağılım, bir PEC ile karşılaştırmayı anlamsız hale getirecektir. Kronik testlerden elde edilen Etki Gözlemlenmeyen Yüklem Hızı (NOELR) değerleri, bileşenlerin çoğunun çözündüğü seviyeyle (veya PEC değeriyle) aynı sırada olacak kadar düşük olabilir, bu durumda PNEC'nin oluşturulması için kullanılabilirler. PBT/vPvB değerlendirmesi için, suya bağlı oranların (WAF) testlerinden elde edilen sonuçlar yalnızca kanıt ağırlığı yaklaşımında kullanılabilir (örn. modelleme ile birlikte).</p> <p>Besiyerinin doğrudan dozajı gerçekleştirilebilirse (örn. çözücülerin test rehberinin izin verdiği sınırlar dahilinde kullanılmasıyla), veriler bileşenlerin toplamının zararlılığını temsil edecek ve E(L)C₅₀ bir PNEC'nin oluşturulması için kullanılabilir hale gelecektir (yine de hangi bileşenlerin etkilere neden olduğu bilinmeyecektir).</p>	

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
<p>Maddenin test ortamındaki çözünürlüğü zayıftır (suda çözünürlük genel olarak < 1 mg/L)</p> <p>[Maddenin test ortamında analiz edilmesi zorsa benzer sorunlar geçerli olabilir]</p>	<p>Çözünürlüğün belirlenmesi zor olabilir ve sıklıkla analitik tespit sınırının altında kaydedilir.</p> <p>Maddeyi bir test çözeltisinde çözmek, konsantrasyonları korumak ve doğrulamak zor olabilir.</p> <p>Ölçülebilir en düşük konsantrasyonun altındaki konsantrasyonlarda toksisite gözlemlenebilir.</p> <p>Sonuçlar, test ortamındaki maddenin gerçek çözünmüş konsantrasyonunu aşabilecek nominal konsantrasyon cinsinden ifade edilebilir. Bu, eski çalışmalar için özel bir sorundur.</p> <p>Test konsantrasyonu suda çözünürlüğün önemli ölçüde üzerinde ise fiziksel etkiler (örn. sıkışma) meydana gelebilir.</p> <p>Dağılım davranışının yorumlanması, su ve oktanoldeki zayıf çözünürlüğün analitik yöntemde yetersiz hassasiyetle birleştirilebildiği durumlarda da bir sorun haline gelebilir.</p>	<p>İdeal olarak, uygun çözme tekniklerini kullanan ve suda çözünürlük aralığı içinde doğru olarak ölçülen konsantrasyonlara sahip testler kullanılmalıdır. Bu tür test verilerinin mevcut olduğu yerlerde, diğer verilere tercih edilerek kullanılmalıdır. Bununla birlikte, bazı teknikler dikkate alınması gereken bazı dezavantajlar sunabilir. Örneğin, herhangi bir çözücünün etkisinin belirlenmesi gerekir ve çözücüler, çözücü kullanımının bir veya daha fazla bileşenin tercih edilen çözünmesini sağlayabildiği karışımlar için uygun değildir (bu, safsızlıklar için de geçerli olabilir). OECD (2000) daha fazla örnek sağlar.</p> <p>Çözünmemiş test malzemesinin (örneğin, damlacıklar veya yüzey tabakası) varlığını belirten göstergeler için çalışma raporu dikkatlice okunmalıdır. Durumun böyle olması ve etkilerin gözlenmesi halinde, sonuçlar geçersiz olarak değerlendirilmelidir.</p> <p>Nominal olarak suda çözünürlüğün yüksek olduğu veya analitik yöntemin tespit sınırının altındaki konsantrasyonlarda toksisite gözlemlenebilir. Orijinal çözünürlük tahmini belirsiz olabileceğinden ve çözelti uygun şekilde hazırlanmış olabileceğinden (örneğin, çözünmemiş herhangi bir maddenin testten önce çıkarılması sağlanır) bu tür veriler otomatik olarak geçersiz değildir. Fiziksel etkilerin açık olmadığı durumlarda gerçekçi bir en kötü durum olarak, en düşük etki konsantrasyonu analitik yöntemin suda çözünürlük sınırından veya tespit sınırından hangisi daha düşükse ona bağlı olabilir.</p> <p>Suda çözünürlük sınırına kadar olan konsantrasyonlarda herhangi bir toksisite ifade edilmiyorsa, sonucun geçerli olarak kabul edilip edilemeyeceği konusunda karar verilmelidir. Zararlılık olduğundan fazla tahmin edilmemelidir ve yorum, alınması gereken tedbirleri vurgulamalıdır. Maksimum çözünmüş konsantrasyona ulaşmak için kullanılan teknikler dikkate alınmalıdır. Bunların yetersiz olduğu durumlarda, test geçersiz sayılmalıdır.</p>	<p>PNEC bir üst sınırı temsil ediyorsa, risk değerlendirmesinin ardından daha fazla test yapılması gerekebilir. Bu, daha uygun bir yöntemi veya hassas bir analizi (örn. radyo etiketli test bileşiğinin kullanılması) gerektirebilir.</p> <p>Suda çözünürlük sınırlarında akut toksik olmayan maddeler için risk değerlendirmesinin gerekli olması halinde (çözünürlüğün 100 mg/L'den az olması koşuluyla) kronik test ihtiyacının ele alınması gerekir.</p> <p>Çözünürlük sınırlarında suda yaşayan organizmalar için kronik olarak toksik olmayan maddeler bazı durumlarda daha fazla dikkate alınmalıdır.</p> <p>Test edilecek maddenin bir kimyasal kategorinin üyesi olması halinde veya analog maddelerin mevcut olduğu durumlarda, daha yüksek çözünürlüğe sahip analog maddenin test</p>

edilmesi ve bu testten elde edilen sonuçların söz konusu maddeye uyarlanma olasılığı vardır. Dekabromodifeniletene ve orta zincirli klorlu parafinlere (MCCP) ilişkin sonlanma noktası çalışma kaydına (ESR) bakınız.

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
Madde iyonlaşabilir bir madde veya tuzdur.	<p>İyonizasyon derecesi, pH'a veya ortamdaki karşı iyonların seviyesine göre değişebilir ve nispeten küçük değişiklikler, ayrılmış ve ayrılmamış türler arasındaki dengeyi önemli ölçüde değiştirebilir.</p> <p>Ayrılmış ve ayrılmamış türler, farklı suda çözünürlüklere ve dağılım katsayılarına ve dolayısıyla biyoyararlanıma ve toksisiteye sahip olabilir. Bu da tatlı su ve deniz suyu ortamlarında farklı toksisitelerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Tuzlar için hem anyonik hem de katyonik başlıkların dikkate alınması gerekir.</p>	<p>Zararlılık ve risk değerlendirmesi için, veriler ortamla ilgili koşullar altında elde edilmelidir. İyonizasyon işlemi için ilgili ayrışma sabiti (pKa değeri) mevcutsa (100 ton/yıl'de tedarik edilen maddeler için gereklidir), bu değer hangi kimyasal türlerin bulunduğunu belirlemek amacıyla test raporunda bildirilen pH ile karşılaştırılmalıdır. Kullanılan herhangi bir analitik yöntemle hangi kimyasal türlerin izlendiğini kontrol etmek de önemli olabilir. Bu bilgilerin yokluğu, sonuçların yorumlanmasını imkansız hale getirebilir.</p> <p>Kesin test, kontrol organizmalarının sağlığını korumak için gerekli aralık içinde kalırken maddenin daha toksik formuyla tutarlı bir pH'ta gerçekleştirilmelidir. Maddenin ayrılmış ve çözünmemiş formları arasındaki dengenin korunmasını sağlamak için kararlı bir pH önemlidir.</p> <p>Bir tuza ilişkin hiçbir veri yoksa, etkiler anyon veya katyondan hangisi daha toksik bir etkiye sahipse ona göre çapraz okuma gerçekleştirilebilir. Etki iyonlardan yalnızca biriyle ilgiliyse, tuzun sınıflandırmasında etki konsantrasyonunun tuz:iyonun moleküler ağırlığı oranı ile çarpılması gerekir.</p>	<p>Test maddesi önemli ölçüde iyonlaşarsa, hem anyonik hem de katyonik türlerin toksisitesinin belirlenmesi gerekli olabilir.</p> <p>İlgili olan farklı bir pH'ta çözünürlük belirlenmeli ve test sırasında pH ve madde konsantrasyonu analiz edilmelidir. Bu sorunun dikkate alındığı bir örnek, tetrabromo-bisfenol A'nın sonlanma noktası çalışma kaydı (ESR) değerlendirmesindedir.</p>

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
	<p>Yasal amaçlar için çözünürlük ölçümleri genellikle distile suda (pH 6-9) yapılırken, test ortamının pH'ı genellikle 7-8'dir. Bu, özellikle 5 ile 9 arasında pKa'ya sahip maddeler için çözünürlüğü önemli ölçüde etkileyebilir.</p>	<p>Bir maddenin test ortamının pH'ında bir değişikliğe neden olduğu durumlarda (örn. güçlü asitler ve bazlar), pH uygun bir teknik kullanılarak test için belirtilen aralıkta olacak şekilde ayarlanmalıdır. Bunun maddenin uzaklaştırılmasına (örneğin çökeltme ve/veya bozunma yoluyla) yol açmamasına dikkat edilmelidir. Tampon kullanımı, özellikle algler için test sonucunu etkileyebilir.</p> <p>Alg testi kültürlerinin büyümesi, bikarbonat iyonlarının tüketimine bağlı olarak pH artışına neden olabilir. Bu iyonların konsantrasyonunu korumak ve dolayısıyla pH kaymalarını azaltmak için gerekli stratejiler OECD'de (2000) tartışılmıştır.</p>	
<p>Madde kompleks oluşturu bir maddedir.</p>	<p>Türleşme, katyonların (örneğin Ca, Mg) ve anyonların (ör. SO₄, PO₄), yardımcı kompleks oluşturu maddelerin varlığında ve pH gibi ortamın diğer özelliklerine bağlı olarak değişebilir. Bu, maddenin çözünürlüğünü, biyoyararlanımını ve toksisitesini etkileyebilir. Ayrıca, temel besin maddelerinin mevcudiyetini de azaltabilir (bu, doğrudan kimyasal bir toksisite değil, yalnızca ikincil bir etkidir).</p> <p>Çökelti yüzeyine tutunma kolay bir şekilde tahmin edilemez - bu tür maddeler için yüzeye tutunma genellikle güçlüdür.</p>	<p>Bu sorun genellikle sucul bitkilerin büyüme testleri için en önemli bir husustur. Mümkünse test ortamında şelatlı ve şelatsız oranları ve hangi etkilerin kimyasal toksisitenin doğrudan bir sonucu olduğunu (biyoyararlanabilir orana bağlı olarak) ayırt etmek önemlidir. Türleşme modelleri bu amaç için yardımcı olabilir.</p> <p>Karmaşıklığın sonuç üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğuna karar verilen testlerden elde edilen veriler, düzenleyici kullanım için muhtemelen sorgulanabilir değere sahip olacaktır.</p> <p>Su kalitesi parametrelerine telafi ayarlaması (örneğin, temel iyonların konsantrasyonu) veya test maddesinin uygun bir tuzunun test edilmesi, geçerli bir test sonucunun elde edilmesi hususunda yardımcı olabilir ancak standart işlemlerdeki değişiklikleri içeren protokoller, düzenleyici yetkili tarafından kullanılmak üzere doğrulanmalı ve onaylanmalıdır.</p> <p>Sorun, EDTA'nın sonlanma noktası çalışma kaydı (ESR) değerlendirmesinde ve ayrıca alg çalışmalarının yorumlanmasına yönelik diğer kompleks oluşturu maddelerde ortaya çıkmıştır.</p>	<p>Toksik etkilerin kompleksleştirilmeden kaynaklandığına inanılırsa, bu, kompleksleştirme kararlılık sabitlerinin ölçülmesiyle doğrulanabilir. Ek besinin sağlandığı testler (karmaşık oranı telafi etmek için) bazı durumlarda yardımcı olabilir. OECD (2000), maddenin hem standart alg büyüme ortamında hem de daha yüksek sertliğe sahip değiştirilmiş bir ortamda ve kalsiyum tuzunda test edilmesini önermektedir. UBA (Federal Çevre Ajansı) rehberine bakınız.</p>

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
		Zenginleştirilmiş besin ortamı, azaltılmış madde konsantrasyonu veya test tamamlandığında besin ilavesi kullanılarak gerçekleştirilen ek testler ve ardından çalışmanın genişletilmesi kullanılan bir yaklaşımdır. Bu, 24. Kuzey Amerika SETAC toplantısında sunulan bir bildiriye açıklanmıştır: PW070 Demir ve Mikro Besinli Metallerin Şelatör Varlığında Alg Büyümesi Üzerindeki Etkileri	
Madde yüzey aktiftir.	<p>Yüzey aktif maddeler ve deterjanlar, dikkatli bir çözelti hazırlamayla bile biyoyararlanılabilirliğin tespit edilmesinin zor olduğu dispersiyonlar veya emülsiyonlar oluşturabilir.</p> <p>Misel oluşumu, görünürde "çözeltiler" oluştuğunda bile biyoyararlanılabilir oranın fazla tahmin edilmesine neden olabilir. Bu, yorumlamada önemli sorunlara neden olmaktadır.</p> <p>K_{ow} değerinin genellikle ölçülememesi sebebiyle QSAR modellemesi potansiyel olarak çok zordur.</p>	<p>Dispersiyonlar ve emülsiyonlar için toksik etki konsantrasyonları, suda çözünürlük sınırından ziyade sudaki bir maddenin dağılılırılık sınırı (yani, faz ayrımının gerçekleştiği sınır) veya kritik misel konsantrasyonu (CMC) ile karşılaştırılmalıdır. Biyoyararlanılabilen konsantrasyon, daha yüksek doz seviyelerinde bile kritik misel konsantrasyonunun (CMC) üzerinde değişmez. En yüksek test konsantrasyonu, hangisi daha düşükse, 1000 mg aktif bileşen/litre veya dağılılırılık sınırı/CMC olmalıdır. Sonlanma noktası çalışma kaydı (ESR) programında, bir dizi yüzey aktif madde (DODMAC ve alkilaminler) değerlendirilmiştir.</p> <p>Bunlar için temel ve zor olan özelliklerden biri, test kapları veya organik malzemeler gibi yüzeylere güçlü bir şekilde tutunma eğilimlerinde olmalarıdır.</p> <p>Veriler, E(L)C50 veya NOEC(L) değerlerinin CMC değerinin altında olması halinde sınıflandırma ve bir PNEC oluşturulması amacıyla olması gerektiği gibi ele alınabilir. Madde CMC'de toksik değilse, CMC tedbirli bir PNEC türetmek amacıyla NOEC olarak kullanılabilir. CMC'nin üzerindeki konsantrasyonlarda bir testin yapılması ve etkilerin görülmesi halinde fiziksel etkilerin meydana geldiğine ilişkin bir kanıt olmadığı sürece, en kötü durum olarak etki konsantrasyonunun CMC olarak ayarlanması gerekir.</p> <p>Çökeltiler için yüzeye tutunma katsayısının tercihen ölçüm yoluyla bilinmesi çok önemlidir. Yüzey aktif maddeler için düşük güvenilirliğe sahip olmasına rağmen tahmini bir K_{ow} değeri yardımcı olabilir. Uygun K_{ow} ölçümü yöntemlerinin seçimine ilişkin rehberlik, <i>BG ve KGD Rehberi</i>, Başlık R.7a, Bölüm R.7.1.8'de sağlanmaktadır.</p>	Su kolonu ile temas korunurken test organizmalarını çözünmemiş malzemeden fiziksel olarak ayırmaya yönelik teknikler, fiziksel etkilerin önemli olma olasılığının bulunduğu yerlerde düşünülmelidir.

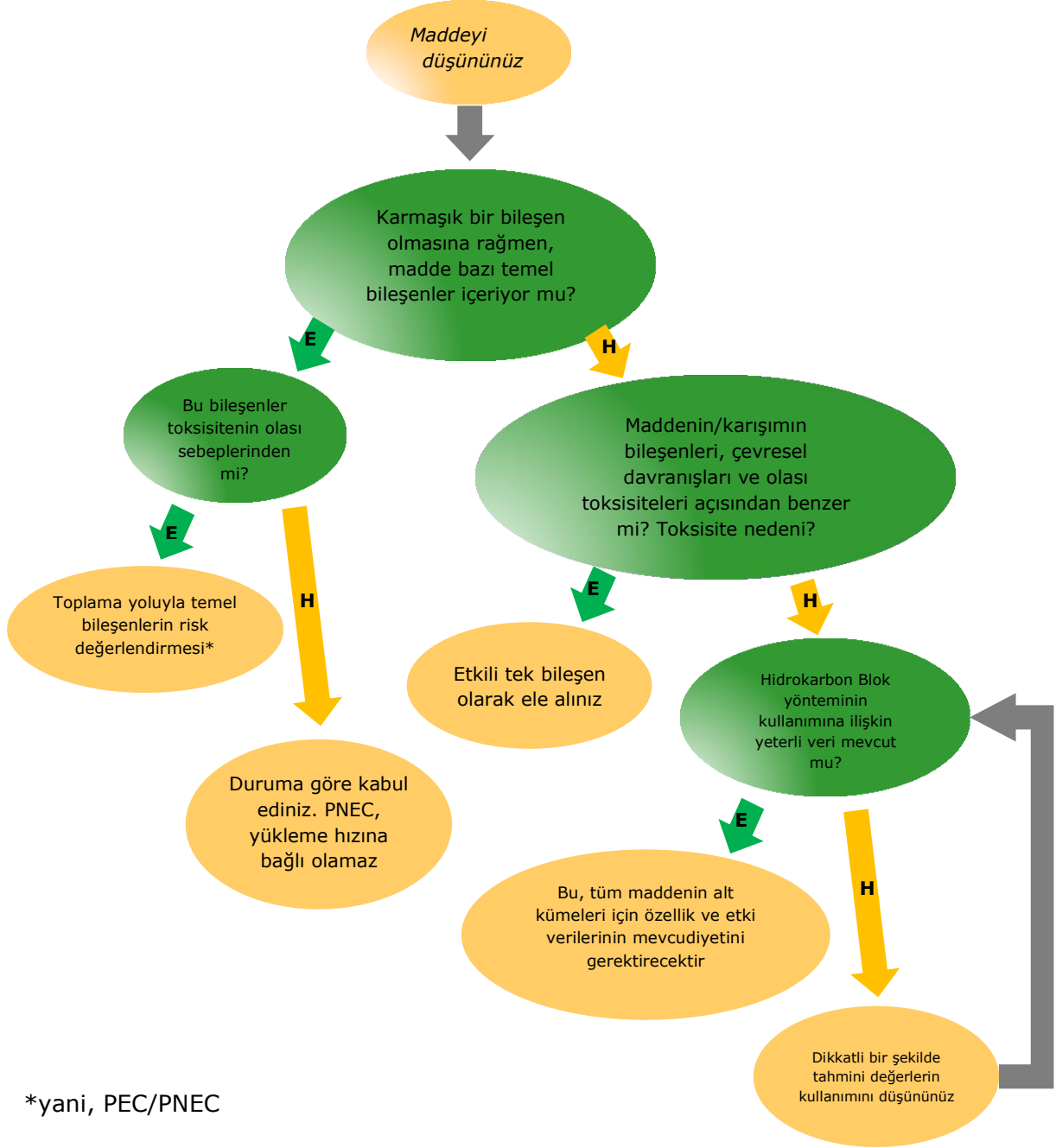
Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
Madde renklendirilmiştir .	<p>Işığın ilgili dalga boylarında emilmesi, fotosentezi engelleyerek sucul bitkilerin büyümesi üzerinde dolaylı bir etkiye neden olabilir.</p> <p>Güçlü renkli çözeltiler, hayvanlardaki etkilerin gözlemlenmesini zorlaştırabilir.</p>	<p>Emilen ışık miktarı çözelti konsantrasyonuna göre değişeceğinden, yüksek konsantrasyonda görülen etkilerin ortamla ilgili olması gerekmez. Düzenleyici kullanıma ilişkin sonlanma noktası bu nedenle doğrudan toksik etkilere dayanmalıdır. Test, gözlenen herhangi bir etkinin ışık sınırlamasından kaynaklanıp kaynaklanmadığını gösterecek şekilde tasarlanmamışsa, sonuçlar kullanılamaz.</p> <p>Erken alg çalışmaları, ışık emiliminin etkisini dikkate almamış olabilir ve bu nedenle, gözlemlenen tüm inhibisyonun doğal toksisite olduğu varsayılmıştır. 90'ların sonlarında ETAD yöntemi olarak bilinen bir yaklaşım kullanılmıştır. Bu, test maddesinin alglerle doğrudan ve dolaylı temasını, yalnızca ışık inhibisyonunu değerlendirmek için kullanılan dolaylı temasla karşılaştırmaya çalışmıştır. Her deneyden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, etkilerin sadece ışık inhibisyonundan kaynaklandığı yorumlanmıştır. Böyle bir sonuç, sınıflandırmada veya PNEC türetmede alg sonuçlarının kullanılmamasını gerektiren amacıyla kullanılabilir. Daha yakın zamanlarda, ETAD yönteminin bu değerlendirme için oldukça basit olduğu düşünülmüştür ve bunun yerine Karar El Kitabı, aşağıda ayrıntıları verilen değiştirilmiş alg/Lemna yaklaşımı ile güncellenmiştir:</p> <p>Standart alg büyüme inhibisyonu testi, Ek 3, yöntem C.3 (veya OECD rehberi 201) için aşağıdaki düzeltmeler uygulanmalıdır:</p> <ul style="list-style-type: none">• Işınlama (ışık yoğunluğu) C.3 yönteminde (veya (taslak revize) OECD rehberi 201) öngörülen aralığın en yüksek ucunda olmalıdır: 120 µE/m².s veya üzeri. <p>Işık yolu, test çözeltilerinin hacminin azaltılmasıyla (5 - 25 ml aralığında) kısaltılmalıdır.</p>	<p>OECD (2000), renkli maddelerle alg testi gerçekleştirmek için bir dizi seçenek sunar. Sol taraftaki son etki şekli kararına bakınız.</p> <p>7 günlük Lemna büyüme testi, yaprakların suyun yüzeyinde büyümesi sebebiyle sorunu önler.</p>

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar	Yorumlamaya ilişkin tavsiye	Olası iyileştirmeler
		<ul style="list-style-type: none">Alglerin kültürün yüzeyinde yüksek ışınlamaya maruz kalma sıklığının yüksek olması için yeterli çalkalama (örneğin orta derecede çalkalama ile) yapılmalıdır.	
Maddenin su kolonundan kaybolması muhtemeldir.	<p>Madde uçucudur; test açık bir sistem kullanılarak gerçekleştirildiğinde kayıplar özellikle önemli olabilir. Buhar basıncı ve daha özel olarak Henry Kanunu sabiti (H), potansiyel sorunların göstergesidir. $H > 100 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ ise, maddenin $>50\%$ su fazından 3-4 saat içinde kaybolabilir. Test sistemindeki diğer faktörler (örn. damar şekli, havalandırma hızı, vb.), kayıp oranını etkileyebilir. Buharlaşma kayıpları, şiddetli karıştırma koşulları altında $1-10 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ aralığında H içeren maddeler için de önemli olabilir. Genel bir kural olarak, hazırlama ve maruz kalma sırasında kaplar kapatılmalı ve üst boşluk minimumda tutulmalıdır. Kapalı kapların kullanımıyla ilgili sorunlar OECD'de (2000) özetlenmiştir. AB Mevcut Maddeler Tüzüğü (ESR) kapsamında, uçucu maddelerden stiren ve 1,3 bütadien değerlendirilmiştir. İkincisi için, çevresel verileri sağlamak amacıyla nicel yapı aktivite ilişkileri (QSAR) ve çapraz okumanın bir kombinasyonu kullanılmıştır; 1,3 bütadien de bilinen bir CMR'dir, bu nedenle laboratuvar çalışanlarının maddeye maruz kalımından kaçınmak ek bir husustur. Stirenin kolay biyobozunur olması nedeniyle ekotoksosite testi ortamındaki bozunmanın test organizmalarındaki oksijen seviyelerini düşürmesi başka bir sorundur. Normalde bu, ilave oksidasyon sağlayarak hafifletilebilir, ancak uçuculuk nedeniyle bunun madde kaybını artırması muhtemeldir. Bozunmanın en aza indirilebilmesi amacıyla çalışmalarda adımlar atılmıştır (örneğin, kap sterilizasyonu) ve test boyunca analizle desteklenen bir sürekli akış sistemi kullanılmıştır. Test sonuçlarını desteklemek amacıyla nicel yapı aktivite ilişkileri (QSAR) de kullanılmıştır.</p> <p>Bu madde cam eşyaların, gıdanın ve/veya test organizmalarının yüzeyine tutunur. Hidrofobik kimyasalların genellikle organik fazlara (yani $\log K_{ow} > 4$ veya biyokonsantrasyon faktörü > 500 olan maddeler) dağılmayı tercih etmeleri sebebiyle, bu özellik genellikle düşük suda çözünürlüğe eşlik eder. Bunun meydana geldiği yerde, konsantrasyon kaybı genellikle hızlıdır ve maruz kalma en iyi şekilde testin sonundaki konsantrasyon ile karakterize edilebilir. Yüzeye tutunmanın diğer nedenlerinden biri, test kabının veya biyolojik malzemenin negatif yüklü yüzeylerinde iyonik veya hidrojen bağlarının oluşması olabilir. Tetrapropenilfenol ve tris[2-kloro-1-(klorometil)etil]fosfatın (TDCP) ESR değerlendirmeleri, maddenin yüzeye tutunmasının dikkate alındığı iyi örnekler sağlar.</p> <p>Madde test süresi boyunca kararsızdır (yani abiyotik, biyotik veya fotolitik olarak bozunur veya reaksiyona girer). Kayıp, maddenin test edilmesini engelleyecek kadar hızlı olabilir ve/veya dikkate alınması gereken özel bozunma ürünleri oluşabilir. Maruz kalma konsantrasyonlarının yorumlanabilmesi için aşağıdaki notlara bakınız.</p> <p>Madde çöker (örneğin, görünürde tanecik olmamasına rağmen gerçekten çözünmediği ve test sırasında aglomerasyon meydana geldiği için). Bu durumlarda, L(E)C50'nin sınıflandırma amaçları için testin sonundaki konsantrasyona dayandığı kabul edilebilir.</p>		

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar Olası iyileştirmeler	Yorumlamaya ilişkin
	<p>Çökeltme, bozunmanın bir sonucu olarak meydana gelebilir (örneğin, çözünür olmayan bir hidroliz ürünü veya test maddesinin oksidasyonu, diğer nedenler arasında ortam tuzları ile kompleks oluşturma, pH değişimi ve oksidasyon yer alır). Bazı maddelerin, bu şekilde test edilebilecek bir emülsiyon/dispersiyon oluşturabileceğine dikkat ediniz - yukarıdaki yüzey aktif maddeler ile ilgili tartışmaya bakınız.</p> <p>Madde test organizmalarında biyobirikimlidir. Bu, suda çözünürlüğün düşük olduğu durumlarda özellikle önemli olabilir. L(E)C₅₀, sınıflandırma amaçları için testin başlangıcındaki ve sonundaki test konsantrasyonlarının geometrik ortalamasına göre hesaplanabilir.</p> <p>Uygun metodolojinin kullanılıp kullanılmadığını belirlemek gerekir (OECD (2000), bu özelliklerin etkisini en aza indirmek için çeşitli yöntemleri açıklar). Genel olarak, test konsantrasyonları nominalin %80'inin altına düşerse, testin geçerli sayılması için düşüşü azaltmak amacıyla önlemler alınmış olmalıdır. Bu, test malzemesinin yenilenmesini sağlayan maruz kalma rejimlerini gerektirebilir (yarı statik veya sürekli akış koşulları tercih edilir) ve test konsantrasyonlarının test boyunca uygun zaman noktalarında analitik olarak ölçülmesi istenir (uçucu, yüzeye tutunan kararsız maddeler için ikincisi önemlidir). Test verilerinin geçerliliğine karar verirken bu faktörler dikkate alınmalıdır. Yarı statik ve sürekli akış rejimlerinin organik kalıntıların birikmesine ve aşırı mikrobiyal popülasyonların gelişmesine neden olabileceği unutulmamalıdır. Temizlik işleminin gerçekleştirilmesi halinde test organizmaları baskı altında kalabilir. Genellikle statik testler olan alg testleri ile ilgili özel sorunlar ortaya çıkmaktadır. Test koşullarında test maddesinin kararlılığının bir göstergesini sağlayan veriler, maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerine ilişkin mevcut verilerin gözden geçirilmesinden veya bir ön kararlılık çalışmasından elde edilebilir (daha fazla ayrıntı için OECD (2000)'e bakınız) .</p> <p>Ayrıca, testin başında ve sonunda analitik olarak ölçülen konsantrasyonların olmaması durumunda geçerli bir yorum yapılamaz ve bu durumda test geçersiz kabul edilmelidir.</p> <p>Sınıflandırma, ilgili ve mümkün olması halinde test sırasında meydana gelen madde kaybını göz önünde bulundurmalıdır. Örneğin, bozunmanın meydana gelmesi halinde test edilenin madde mi yoksa bozunan mı olduğunu ve elde edilen verilerin ana maddenin sınıflandırmasıyla ilgili olup olmadığını belirlemek gerekir. Ana malzemenin ölçülen konsantrasyonları ve tüm önemli toksik bozunmalar istenir.</p> <p>Mevcut test verileri, bozunmanın hızlı olduğu durumlarda (örneğin, yarı ömür <1 saat) test edilenlerin bunların olması sebebiyle bozunma ürünlerinin zararlılığını çoğu durumda tanımlayacaktır. Bu veriler, ana maddeyi normal bir şekilde sınıflandırmak için kullanılabilir.</p> <p>Bozunmanın daha yavaş olduğu durumlarda (örneğin, yarı ömür > 3 gün), ana maddeyi test etmek ve böylece uygun bir yenileme rejimi kullanarak zararlılık verilerini olması gerektiği gibi oluşturmak mümkün olabilir. Akut zararlılık sınıfının mı yoksa kronik zararlılık sınıfının mı geçerli olacağını belirlemede sonraki bozunma dikkate alınabilir.</p> <p>Bozunma oranlarının bu ikisi arasında kaldığı durumlarda test edilen maddeler ve/veya bozunanlar duruma göre değerlendirilmelidir.</p>	

Zor özellik	Standart test işlemleriyle ilgili olası sorunlar Olası iyileştirmeler	Yorumlamaya ilişkin
	<p>Bir maddenin daha zararlı veya kalıcı bir ürüne yol açacak şekilde bozunabileceği durumlar olabilir (bu, ön testlerden veya test dışı yöntemlerden belirlenebilir). Ana maddenin bir stok veya test çözeltisini maddenin 6 yarı ömrüne eşit bir süre boyunca bırakmak, genellikle ortamın yalnızca bozunma ürünlerini içermesinin sağlanması hususunda yeterli olacaktır ve bunlar daha sonra toksisite testi için kullanılabilir. Bu koşullarda, ana maddenin sınıflandırmasında bozunma ürününün zararlılığı ve normal çevre koşulları altında oluşma hızı dikkate alınmalıdır.</p> <p>Risk değerlendirmesi için PEC ve PNEC değerleri aynı bileşik(ler) ile ilgili olmalıdır. Örneğin, bozunmaya ait yarı ömür, emisyon süresi ve emisyonun alıcı suya ulaşması için geçen süre ile karşılaştırılmalıdır. Bozunma hızlı ise, sadece bozunma ürün(ler)i önemlidir. Maddenin bozunmasının yavaş olduğu durumlarda bozunma ürünleri ana maddeden daha az zararlıysa, bu ürünler risk değerlendirmesinde önemsiz olarak kabul edilebilir. Bu iki sonlanma noktası arasında, madde etkili bir şekilde çok bileşenli bir karışım haline gelir. Mevcut verilerin yorumlanmasında, ana madde ile bozunma ürünleri arasındaki etkilerin ve özelliklerin dikkatli bir şekilde tayin edilmesi gerekecektir. Test dışı yaklaşımlar, özellikle ürünlerin özelliklerinin ayrı ayrı ölçülmediği durumlarda bu kararın alınması hususunda yardımcı olabilir. Bazı durumlarda, olası aşırılıkların (yani, 'bozunmanın olmadığı' ve 'tam bozunmanın olduğu durumlar') öneminin incelenmesi için iki risk değerlendirmesi gerekebilir. Bu tür bir analiz, özelliklerin öneminin ve riskin kapsamının anlaşılabilmesi için hangi ek ölçümlerin gerekli olduğu hususunda rehberlik sağlayabilir.</p> <p>Bazı maddeler organik maddenin yüzeyine K_{ow}'dan beklenenden daha güçlü bir şekilde tutunur (örneğin anilin, çökelti bileşenleriyle tersinir olmayan bir şekilde reaksiyona girer). Ek olarak, inorganik maddenin (temel toprak ve çökelti bileşeni) yüzeyine tutunma metaller, boyar maddeler, katyonik maddeler, kompleks oluşturucular ve yüzey aktif maddeler dahil olmak üzere çeşitli madde türleri için önemli bir husustur.</p>	

Şekil R.7.8—6 Çok bileşenli maddelere ve karışımlara ilişkin hususlar



Referanslar

OECD (2000). Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 23, Zor Maddelerin ve Karışımların Sucul Toksikite Testine İlişkin Rehber Doküman, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) için Çevre Müdürlüğü Kuruluşu, Paris, Eylül 2000.

OECD (2001). Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 27, Sucul Ortam için Zararlı Kimyasalların Sınıflandırılması Hakkında Uyumlaştırılmış Sistemin Kullanımına İlişkin Rehber Doküman, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) için Çevre Müdürlüğü Kuruluşu, Paris, Mart 2001.

Ek R.7.8—2 Bilgi kaynakları: *in vivo* Test rehberleri

a. Sucul pelajik toksisiteye ilişkin kabul edilen OECD test rehberleri

Organizma	F/S	Test Tipi	Test rehberi (Yıl)	Maruz kalma
Alg	F	Büyüme inhibisyonu	201 (2006)	72 saat
Lemna sp.	F	Büyüme inhibisyonu	221 (2006)	14 güne kadar
<i>Dafniya sp.</i>	F	Akut hareketsizlik	202 (2004)	48 saat
<i>Dafniya</i>	F	Üreme	211 (1998)	21 gün
Balık	F	Akut toksisite	203 (1992)	96 saat
Balık	F	Uzun süreli toksisite	204 (1984)	14 gün
Balık	F/S	Balıklarda erken yaşam evresi toksisitesi (FELS)	210 (1992)	türe bağlı olarak 30-60 gün
Balık	F/S	Embriyo ve yavru balık kesesi aşamalarında kısa süreli toksisite testi	212 (1998)	Türe bağlı
Balık	F	Yavru büyümesi	215 (2000)	28 gün

b. Pelajik sucul toksisiteye ilişkin önerilen OECD test rehberleri

Organizma	F/S	Test Tipi	Proje no	Maruz kalma	Ek
<i>Dafniya</i>	F	Gelişmiş üreme	2.8	21 gün	Endokrin sonlanma noktaları
Kopepod	S	Üreme ve gelişme	2.1	20-26 gün	
Mysid	S	Yaşam evresi toksisitesi	2.13	60 gün veya daha uzun	Endokrin sonlanma noktaları
Amfibi	F	Tiroid toksisitesi	2.19	21 gün	Endokrin sonlanma noktaları
Balık	F	Balık embriyo toksisitesi	2.7	6 güne kadar	
Balık	F/S	Yaşam evresi toksisitesi	2.12	Türe bağlı	Endokrin sonlanma noktaları
Balık	F	Cinsel gelişim	2.14	60-90 gün	Endokrin sonlanma noktaları
Balık	F	Tarama	2.18	21 gün	Endokrin sonlanma noktaları

F = Tatlı su organizması

S = Tuzlu su organizması

Proje 2.1 Kopepod (eklem bacaklılar, kabuklular) Üremesi ve Gelişimi

Test, kimyasalların harpacticoid kopepodlarından *Nitocra spinipes*, *Tisbe battagliai*, *Amphiascus tenuiremis* ve calanoida kopepodu *Acartia tonsa*'nın gelişimi ve çoğalması üzerindeki etkisini değerlendirir. Kuluçkadan çıkan larvalar (nauplia/metanauplia olarak adlandırılır), suya çeşitli konsantrasyonlarda eklenen test maddesine maruz bırakılır. Test süresi genellikle 21 gündür; bu, kontrol hayvanlarının yetişkinliğe ulaşması, ilk yumurta kesesi dişilerinin tek tek izole edilmesi ve 2 veya 3 yavru elde edilmesi için yeterli süredir. Kopepod gelişimi üzerindeki etkiler, naupliinin ilk kopepodit aşamasına ulaşması için geçen süre ile ölçülür. Testin sonunda canlı ebeveyn hayvan başına elde edilen toplam canlı yavru sayısı değerlendirilir. Ebeveyn hayvanların sağkalımı ve ilk yavru üretimine kadar geçen süre de rapor edilebilir. Maddeyle ilişkili üreme üzerindeki diğer etkiler (örn. kuluçka boyutu, ardışık kuluçkalar arasındaki zaman aralığı) ve muhtemelen içsel artış oranı da incelenebilir.

Proje 2.7 Balık Embriyo Toksikite testi

Yeni döllenmiş zebra balığı (*Danio rerio*), yassı kafalı golyan balığı (*Pimephales promelas*) veya Japon pirinç balığı (*Oryzias latipes*) yumurtaları 48 saat boyunca kimyasallara maruz bırakılır. Gecikmiş toksisite kanıtı olması durumunda, test süresi toplam 6 güne (zebra balıkları için), yani kuluçkadan çıktıktan sonraki 2 güne uzatılmalıdır. Test, 24 kuyulu çoklu plakalarda, 10 embriyo/test konsantrasyonunda ve en az 5 konsantrasyonda gerçekleştirilir. Madde başına 2 - 3 bağımsız çalışma önerilir. 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra, akut ölümcül toksisitenin göstergeleri olarak dört apikal sonlanma noktası kaydedilir: döllenmiş yumurtaların pıhtılaşması, somit oluşumunun yokluğu, kuyruk tomurcuğunun yumurta içinde ayrılması ve kalp atışının olmaması. Bu sonlanma noktalarından birinin pozitif olarak kaydedilmesi halinde embriyolar ölü kabul edilir.

Almanya'da karşılaştırılabilir bir test standart hale getirilmiştir (DIN 38415/A1; DIN 2001) ve rutin çıkış suyu testi için geleneksel balık testinin yerini almıştır. Bir ISO rehberi oluşturulma sürecindedir.

Proje 2.8 Gelişmiş *Dafniya magna* Üremesi

Bu, "*Dafniya magna* Üreme Testi"nin geliştirilmiş bir versiyonudur (Test Rehberi 211; OECD 1998). Yavru cinsiyeti oranı ve tüy dökülmesinin inhibisyonu yeni sonlanma noktaları olarak değerlendirilir. Yeni doğanların cinsiyeti, bir stereo mikroskop altında ilk antenin uzunluğu ve morfolojisi ile ayırt edilebilir. Tüy dökülmesinin inhibisyonu, bir stereoskopik mikroskop altında doğrudan gözlemlenir ve aynı zamanda, tüy dökülenlerin sayısı ve/veya tüy dökme süreleri arasının kontrol grubu (grupları) ile karşılaştırılmasıyla incelenebilir.

Proje 2.12 Balık Yaşam Evresi Testi

Tavsiye edilen bir balık tam yaşam evresi testi (FLCT) ile iki nesilli balık testinin (TGT) karşılaştırması yapılmaktadır. Bu rehberin yassı kafalı golyan balığı (*Pimephales promelas*), pirinç balığı (*Oryzias latipes*), mahkum balığı (*Cyprinodon variegatus*) ve zebra balığı (*Danio rerio*) için geçerli olması amaçlanmıştır.

Balık tam yaşam evresi testi döllenmiş yumurtalarla (P veya F0 nesli) başlatılır ve balıkların üreme olgunluğu boyunca sürekli maruz bırakılmasının ardından F1 neslinin erken gelişimi değerlendirilir. Bunun aksine, balıkların iki nesilli balık testine maruz kalması olgun erkek ve dişi balıklarla (P veya F0 nesli) başlatılır: yumurtalar toplanır ve F1 nesli; embriyo oluşumu, gelişim, cinsel olgunlaşma ve üreme açısından değerlendirilir.

F2 neslinin canlılığı da değerlendirilir. FLCT ve TGT arasındaki temel fark, tam yaşam evresi testinde bir kez ve iki nesilli balık testinde iki kez incelenen kimyasalların anneden gelen aktarımının etkisinin değerlendirilmesine ilişkin bağlı potansiyelleridir. Gonadasomatik indeksi (GSI), gonadal histoloji ve vitellogeninin plazma veya tüm vücut konsantrasyonları dahil olmak üzere, üreme endokrin sisteminin durumunu yansıtan hem P hem de F1 nesillerindeki bir dizi sonlanma noktasından ölçümler yapılır. Ek olarak plazma cinsiyet steroidleri (17 β -estradiol, testosteron, 11-ketotestosteron) ve tiroid hormonları (T3/T4) da ölçülebilir.

Proje 2.13 Mysid Yaşam Evresi Toksikite Testi

Bu test, F0 nesillerinin kuluçkadan yeni çıkmış (<24 saat) bireylerinden başlatılıp F1 neslinin ilk iki kuluçka dönemine (F2 nesli) kadar devam ettirilerek iki ardışık mysida neslinde (tercihen *Americamysis bahia*) üreme uygunluğunu değerlendirir. Testin süresi normalde 60 gündür veya 60 günden daha uzundur. Gözlemsel sonlanma noktaları; büyüme, olgunlaşma süresi, ilk kuluçkanın bırakılmasına kadar geçen süre, kuluçkalar arası süre, yavru sayısı ve cinsiyet oranını içerir.

Proje 2.14 Balık Cinsel Gelişim Testi

Bu yöntem, vitellogeninin üretimine ve cinsel gelişime, yani gonadların histolojik incelemesiyle belirlenen cinsiyet oranına odaklanan, mevcut OECD Test Rehberi 210 (1992) Balık, Erken Yaşam Evresi (FELS) Toksikite Testinin bir uzantısıdır. Test, yaşam evrelerinin çok hassas bir aşamasında organizmalarda östrojen, androjen veya aromataz inhibitörü olarak işlev gören maddeleri tespit etmeyi amaçlamaktadır. Test döllenmiş yumurtalarla başlar ve cinsel farklılaşma tamamlanana kadar (örneğin, balığın türüne bağlı olarak kuluçkadan çıktıktan 60 - 90 gün sonra) sürer.

Proje 2.18 Balık Tarama Testleri

Yassı kafalı golyan balığı (*Pimephales promelas*), pirinç balığı (*Oryzias latipes*) ve zebra balığı (*Danio rerio*) türlerinin üreme açısından aktif dişi ve erkekleri 5 erkek ve 5 dişiden oluşan gruplar halinde barındırılır ve 21 gün boyunca test kimyasalına maruz bırakılır. Endokrin bozucu aktivitenin göstergeleri olarak temel sonlanma noktaları, cinsel açıdan dimorfik türlerde genel morfoloji (yani ikincil cinsel özellikler) ile serumdaki veya karaciğerdeki vitellogenin seviyeleridir. Ek olarak, yumurtlama durumu tüm gruplarda günlük olarak kontrol edilir ve bazılarında miktarı belirlenir. Gonadal histoloji incelemesi isteğe bağlıdır, ancak ilk taslak Test Rehberi'nde doğrulanmış sonlanma noktası olarak dahil edilmeyecektir.

Proje 2.19 Amfibilere İlişkin Yöntemler

Amfibi Metamorfoz Testi'nde birincil amaç, her bir test bileşiğinin tiroid sistemini bozan aktivitelerinin değerlendirilmesidir. *Xenopus laevis*'in embriyonik gelişimi sonrası (metamorfoz) ve bu süreç sırasında tiroid hormonlarının (TH) oynadığı düzenleyici rol iyi bir şekilde karakterize edilmiştir. Deneyde, *X. laevis* kurbağa larvalarının maruz kalması, 51. gelişim aşamasında başlatılır ve toplam 21 gün boyunca sürdürülür. Arka uzuvların uzunluk ölçümü için maruz kalmanın 7. gününde uygulama tankı başına 5 kurbağa yavrusundan oluşan bir alt örnekleme gerçekleştirilir. Kurbağa yavruları, 4 farklı konsantrasyondaki bir test maddesine ve bir seyreltme suyu kontrolüne maruz bırakılır. Maruz kalma süresi boyunca apikal morfolojik sonlanma noktaları (gelişme evresi, arka bacak uzunluğu, tüm vücut uzunluğu) uygulamaya bağlı olarak normal gelişimde meydana gelen sapmalar açısından değerlendirilir ve test organizmalarından alınan kafa dokusu numuneleri ile tiroid bezi dokusunun histolojik analizi yapılır. Kimyasal maruz kalma, sürekli akış aracılığıyla maruz kalma rejiminin kullanılarak elde edildiği sulu yolla yapılır.

Diğer test rehberleri - Ulusal ve Uluslararası standart yöntemler ve bunların yayıncıları

OECD testlerine ilişkin kabul edilebilir alternatifler (yukarıda açıklanmıştır) OPPTS, AB (Resmi Gazete), ABD EPA ile ISO ve ASTM gibi kuruluşlar tarafından da yayınlanmaktadır:

Standart	Yayıncı	Ağ	Adres
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü	http://www.oecd.org	OECD 2, rue André Pascal F-75775 Paris Cedex 16, Fransa
AB	Avrupa Toplulukları Resmi Gazetesi. Ek 5	http://ec.europa.eu/environment/arc_hives/dansub/annex_v_table_default_en.htm	Avrupa Kimyasallar Ajansı TP582. Sağlık ve Tüketicuyu Koruma Enstitüsü Ortak Araştırma Merkezi, Ispra Avrupa Komisyonu Fermi üzerinden 1 I-21020 Ispra (VA), İtalya
ISO	Uluslararası Standartlar Organizasyonu.	http://www.iso.org	ISO Merkez Sekreterliği: Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) 1, rue de Varembé, Postale 56 CH-1211 Geneva 20, İsviçre
AFNOR	Association Française de Normalization	http://www.afnor.fr	AFNOR Association Française de Normalization 11, rue Francis de Pressensé 93571 La Plaine Saint-Denis Cedex, Fransa
ASTM	Amerikan Test ve Materyaller Topluluğu.	http://www.astm.org	ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA, 19428-2959 ABD

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

94

Standart	Yayıncı	Ağ	Adres
BSI	İngiliz Standartları Enstitüsü	http://www.bsi-global.com	BSI İngiliz Standartları 389 Chiswick High Road Londra W4 4AL, Birleşik Krallık
CAN	Environment Canada, Çevre Koruma Serisi	http://www.ec.gc.ca	Environment Canada, Inquiry Centre 70 Crémazie St. Gatineau, Quebec K1A 0H3, Kanada
DIN	Deutsches Institut für Normung	http://www.din.de	DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Stabsstelle Kommunikation Burggrafenstraße 6 10787 Berlin, Almanya
DS	Dansk Standard (Danimarka Standartlar Kuruluşu)	http://www.ds.dk	Dansk Standard Kollegievej 6 2920 Charlottenlund, Danimarka
NEN	Nederlands Normalisatie Instituut	http://www.nen.nl/	NEN Postbus 5059 2600 GB Delft, Hollanda
NS	Norges Standardiseringsforbund	http://www.standard.no	Standard Norge Postboks 242 1326 Lysaker, Norveç
ÖNORM	Österreichisches Normungsinstitut	http://www.on-norm.at	ON Österreichisches Normungsinstitut Heinestraße 38 1020 Viyana, Avusturya

Standart	Yayıncı	Ağ	Adres
OPPTS	ABD-Çevre Koruma Ajansı Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi	http://www.epa.gov/oppts/index.htm	ABD EPA Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi MC 7101M 1200 Pennsylvania Avenue, N.W. Washington, DC 20460, ABD
SFS	Suomen (Finland) Standardisoimisliitto	http://www.sfs.fi	Suomen Standardisoimisliitto SFS PL 116, 00241 HELSINKI, Finlandiya
SIS	İsveç Standartlar Enstitüsü	http://www.sis.se	SIS, İsveç Standartlar Enstitüsü Sankt Paulsgatan 6 118 80 Stockholm, İsveç

Ulusal ve uluslararası standart yöntemler / Rehberler (OECD, 1998):

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
Alg	Tatlı su	<i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Kısa süreli / Büyüme hızı (Kronik)	ABD EPA 1994 (40 CFR 797.1060, 40 CFR 797.1075, 40 CFR 797.1050)
	Tuzlu su	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Thalassiosira pseudonana</i> <i>Isochrysis galbana</i>		
	Tatlı su	<i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Kısa süreli / Büyüme hızı (Kronik)	ASTM (E 1218-90), FIFRA (§122-2), OECD (201), ISO (8692), NF (T90-304), DIN (38412 Teil 33), BS (6068: Bölüm 5.10:1990), NEN (6506), SFS (5072), CAN (1/RM/25, 1992), AB (L 384 A Cilt 35 C.3)
	Tuzlu su	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Kısa süreli / Büyüme hızı (Kronik)	ISO (10253), BS (91/56211 DC), NEN (6506), SFS (5072)
Makrofitler	Tuzlu su	<i>Champia parvula</i>	Kısa süreli / Üreme (Kronik)	ABD EPA (EPA/600/4-87/028)
Bitkiler	Tatlı su	<i>Lemna gibba</i>	Kısa süreli / EC50 (Akut)	ASTM (E-1415-91), FIFRA (§123-2), ABD EPA (1994)(40 CFR 797.1160)

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
Kabuklular	Tuzlu su	<i>Mysidopsis bahia</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E 1463-92), FIFRA (§72-3 c), ABD EPA (EPA/600/4-90/027), ABD EPA (1994): 40 CFR 797.1930)
	Tuzlu su	<i>Artemia salina</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ABD EPA (EPA/600/4-90/027)
	Tuzlu su	<i>Penaeus aztecus</i> <i>Penaeus duorarum</i> <i>Penaeus setiferus</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ABD EPA (1994) 40 CFR Bölüm 1 (7-1-92) Başlık 797.1970)
	Tuzlu su	<i>Nitocra spinipes</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	SS (028106), DS (2209), ISO/TC 147/SC 5/WG 2N56
	Tuzlu su	<i>Acartia tonsa</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ISO/TC 147/SC 5/WG 2N56
	Tuzlu su	<i>Tisbe battagliai</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ISO/TC 147/SC 5WR 2N56
	Tatlı su	<i>Dafniya magna</i> <i>Dafniya pulex</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ABD EPA (EPA/600/4-90/027), OECD (202), ASTM (E 729-88a), FIFRA (§72-2), ISO (6341), NF (T90-301), DIN (38412 Teil 11), BS (6068: Bölüm 5,1:1990), NEN (6501), ONORM (M 6264), SFS (5052), SS (028180), DS (ISO 6341), CAN (EPS 1/RM/11, 1990), ABD EPA (1994) (40 CFR 797-1300), AB (L 384 A cilt 35 C.2)
	Tatlı su	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E 1295-89), ABD EPA (EPA/600/4-90/027)
	S/F	<i>Gammarus fasciatus</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ABD EPA (1994) (40CFR 795.120), CAN (EPS1/-

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

98

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
		<i>Gammarus pseudolimnaeus</i> <i>Gammarus lacustris</i>		RM/26, 1992)
	Tuzlu su	<i>Mysidopsis bahia</i>	Uzun süreli / sağkalım, büyüme, doğurganlık (Subkronik)	ABD EPA (EPA/600/4-87/028)
	Tuzlu su	<i>Mysidopsis bahia</i> <i>Mysidopsis bigelowi</i> <i>Mysidopsis almyra</i>	Uzun süreli / yaşam evresi (Kronik)	ASTM (E-1191-90), ABD EPA (1994) (40 CFR 797.1950)
	Tatlı su	<i>Dafniya magna</i>	Kısa süreli / üreme (Subkronik)	ABD EPA (1994) (40 CFR 797.1330), OECD (202), NEN (6502)
	Tatlı su	<i>Dafniya magna</i>	Uzun süreli / yaşam evresi (Kronik)	ASTM (E-1193-87), FIFRA (§72-4 C), ABD EPA (1994) (40 CFR 797.1350)
	Tatlı su	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Kısa süreli / üreme (Subkronik)	CAN (EPS 1/RM/21, 1992), ABD EPA (EPA/600/4-89/001)
Böcekler (sivrisinek)	Tatlı su	<i>Wyemyia Smithii</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E-1365-90), FIFRA (§142-1)
Rotiferler	Tatlı su	<i>Brachyonus</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E-1440-91)
Bakteriler	Tuzlu su	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Kısa süreli / Işık emisyonu (Akut)	NF (T90-320), DIN (38412 Teil 34), ONORM (M 6609), ISO/TC 147/SC 5/WG 1, CAN (EPS/1/RM/24, 1992)

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
	Tatlı su	<i>Pseudomonas</i>	Kısa süreli / Büyüme (Kronik)	DIN (38412 Teil 8), NEN (6509 2e Ont w) ISO (DIS 10712. N133)
	Tatlı su	<i>Aktif çamur</i>	Kısa süreli / soluma İnhibisyon (Akut)	OECD (209), AB (L 133 cilt 31 s. 118), ISO 9509
Amfibiler	Tatlı su	<i>Xenopus</i>	Kısa süreli / teratogenez (Subkronik)	
Balık	Tatlı su	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Pimephals promelas</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Poecilia reticulata</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Lepomis cyanellus</i> <i>Salmo gairdneri</i> <i>Oncorhynchus kistutch</i> <i>Salvelinus fontinalis</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E-729-88a), FIFRA (§ 72-1), ABD EPA (EPA/600/4-90/027 + ABD EPA (1994) 40 CFR 797.1440), OECD (203), ISO (7346-1-3), NF (T90- 303+305), DIN (38412 Teil 15+20), BS (6068: Başlık 5,2; 5,3; 5,4:1985), SFS (3035+5073), DS (ISO 7346/1-3), CAN (EPS 1/RM/9), AB (L 383 A cilt 35 C.1)

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

100

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
		<i>Carassius auratus</i> <i>Ictalurus punctatus</i> <i>Leuciscus idus</i>		
	Tatlı su	<i>Poecilia reticulata</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	NEN (6504)
	Tatlı su	<i>Abassis macleayi</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	OFR 54
	Tuzlu su	<i>Sheepshead minnow</i> <i>Fundulus heteroclitus</i> <i>Menidia sp.</i> <i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Lagodon rhomboides</i> <i>Leiostomus xanthurus</i> <i>Cymatogaster aggregate</i> <i>Oligocottus maculosus</i> <i>Citharichthys stigmaeus</i> <i>Paralichthys dentatus</i> <i>Paralichthys lethostigma</i> <i>Platichthys stellatus</i> <i>Parophrys vetulus</i>	Kısa süreli / LC50 (Akut)	ASTM (E729-88a), FIFRA (§72-3 a), ABD EPA (EPA/600/4-90/027), SS (028189), CAN (EPS 1/RM/10)

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
		<i>Clupea harengus</i>		
Balık (devamı)	Tatlı su	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Pimephals promelas</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Poecilia reticulata</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Salmo gairdneri</i> (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Uzun süreli / büyüme (Subkronik)	OECD (204), ISO (10229-1), BS (93/500175 DC)
	Tatlı su	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Carassius auratus</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Pimephales promelas</i>	Kısa süreli / yumurta ve yavru balık kesesi aşamaları (Subkronik)	OECD (212)
	Tuzlu su	<i>Menidia peninsulæ</i>		

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

102

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
		<i>Clupea harengus</i> <i>Gadus morhua</i>		
	Tatlı su	<i>Pimphales promelas</i>	Kısa süreli / erken yaşam evresi testi (Subkronik)	CAN (EPS 1/RM/22, 1992, ABD EPA (600/4-89/001)
	Tatlı su	<i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Salmo gairdneri</i> <i>Salvelinus fontinalis</i> <i>Esox Lucius</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Catostomus commersoni</i> <i>Ictalurus punctatus</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Morone saxatilis</i>	Uzun süreli / erken yaşam evresi testi (Subkronik)	ASTM (E-1241-92), FIFRA (§72-4 a), ABD EPA (1994) (40 CFR 797.1600), SS (SS 028193), NS (4763), SFS (5501), CAN (EPS 1/RM/28, 1992)
	Tuzlu su	<i>Opsanus beta</i> <i>Cyprinodon variegatus</i> <i>Menidia menidia</i>		
Balık (devamı)	Tatlı su	<i>Mogunda mogunda</i>	Uzun süreli / erken yaşam evresi testi (Subkronik)	OFR 52

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
	Tuzlu su	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Uzun süreli / sağkalım, teratojenite (Subkronik)	ABD EPA (EPA/600/4-87/028)
	Tuzlu su	<i>Cyprinodum variegatus</i> <i>Menidia beryllina</i>	Uzun süreli / sağkalım, büyüme (Subkronik)	ABD EPA (EPA/600/4-87/028)
	Tatlı su	<i>Salmo gairdneri</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Brachydanio rerio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Oncorhynchus kisutch</i> <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> <i>Salmo trutta</i> <i>Salvelinus fontinalis</i> <i>Salvelinus namaycush</i> <i>Esox lucius</i> <i>Catostomus commersoni</i> <i>Lepomis macrochirus</i>	Uzun süreli / kuluçkadan çıkma, sağkalım, büyüme, malformasyonlar, davranış (Subkronik)	OECD (210)
	Tuzlu su	<i>Ictalurus punctatus</i> <i>Jordanella Florida</i>		

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

104

Taksonomik grup	Tatlı su/Tuzlu su	Tür	Maruz kalma süresi / sonlanma noktası	Rehber
		<i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Cyprinodon variegatus</i> <i>Menidia menidia</i> <i>Menidia peninsulae</i>		
Ekinodermiler	Tuzlu su	<i>Arbacia punctulata</i>	Kısa süreli / döllenme (Subkronik)	ABD EPA (EPA/600/4-87/038), CAN (EPS1/RM/27, 1992)
Midye	Tuzlu su	belirtilmemiştir	Kısa süreli / LC ₅₀ (Akut)	ASTM (E-724-89), FIFRA (§72-3 b)
	Tuzlu su	<i>Crassostrea virginica</i>	Kısa süreli / kabuk büyümesi (Akut)	ABD EPA (1994)(40 CFR 797.1800)

* Kısa süreli < 14 gün, Uzun süreli > 14 gün

Veritabanları

Sucul toksisite sonlanma noktası için Ecotox veritabanı, IUCLID, ECETOC veritabanı ve N sınıfı veritabanı yararlı bilgi kaynakları olabilir. Diğer yararlı bilgi kaynakları, ESIS, HERA ve OECD HPV programı (SIDS) gibi mevcut risk değerlendirmesi veya veri değerlendirmesi programları aracılığıyla bulunabilir. Veritabanlarından alınan verilerin kapsamının anlaşılabilmesi için orijinal bilimsel makaleye başvurulması tavsiye edilir.

EAT (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC) Aquatic Toxicity database (<http://www.ecetoc.org>)

ECETOC Sucul Toksikite (EAT) veritabanı (ECETOC, 1993), yaklaşık 600 kimyasala ilişkin 5450'den fazla kayıt içerir ve 1970-2000 yıllarında bilimsel basında yayınlanan son derece güvenilir ekotoksikite verilerinin en kapsamlı derlemesini sağlar. EAT 3 veritabanı bir Excel elektronik tablosu olarak mevcuttur. Her giriş için madde, test türleri, test koşulları, test açıklaması, sonlanma noktası, sonuçlar ve kaynak referanslarına ilişkin 32 bilgi alanı vardır. Tüm referanslar ECETOC'ta tutulur; ECETOC AISBL, Avenue Edmond Van Nieuwenhuysse 4 Bte 6, B-1160 Brüksel, Belçika.

Ecotox veritabanı (<http://www.epa.gov/ecotox/>)

Veritabanı ABD EPA tarafından tutulur ve yaklaşık 8400 kimyasal için suda ve karada yaşayan canlılara ilişkin tek kimyasal toksisite bilgisi sağlar. Meslektaş incelemesinden geçmiş literatür, veritabanında kodlanan birincil bilgi kaynağıdır. Yazar(lar) tarafından sunulan türler, kimyasallar, test yöntemleri ve sonuçlarla ilgili bilgiler özetlenerek veri tabanına girilir. Çeşitli Amerika Birleşik Devletleri ve Uluslararası resmi kuruluşları tarafından sağlanan bağımsız olarak derlenmiş veri dosyaları, test sonuçlarına ilişkin başka bir kaynaktır. ECOTOX'u kullanmadan önce, bu Web Sitesinin "ECOTOX Hakkında/Yardım" bölümünü ziyaret etmelisiniz.

ESIS (Avrupa Kimyasal Maddeler Bilgi Sistemi) (<http://esis.jrc.ec.europa.eu/>)

ESIS, aşağıdakilerle ilgili kimyasallara ilişkin bilgi sağlayan bir BT Sistemidir:

- EINECS (Avrupa Mevcut Ticari Kimyasal Maddeler Envanteri),
- ELINCS (Avrupa Bildirimi Yapılmış Kimyasal Maddeler Listesi)
- NLP (Artık Polimer Olmayan Maddeler Listesi),
- AB İmalatçı/İthalatçı listeleri dahil HPVC (Yüksek Üretim Hacimli Kimyasallar) ve LPVC (Düşük Üretim Hacimli Kimyasallar),
- S&E (Sınıflandırma ve Etiketleme), Risk ve Güvenlik İbareleri, Tehlike vs.,
- Birbirinden farklı yaklaşık 10.500 maddenin insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkilerine ilişkin bilgileri içeren IUCLID (Uluslararası Standart Kimyasal Bilgi Veritabanı).
- Mevcut Maddeler Tüzüğü (ESR) olarak da bilinen (EEC) 793/93 sayılı Konsey Tüzüğü ile ilgili Öncelikler Listesi, Risk Değerlendirmesi süreci ve izleme sistemi.

HERA (İnsana ve Çevreye İlişkin Risk Değerlendirmesi) (<http://www.heraproject.com>)

HERA, A.I.S.E tarafından başlatılan gönüllü bir endüstri programıdır ve CEFIC ev temizlik ve deterjan ürünlerinin bileşenlerine ilişkin odaklanmış risk değerlendirmelerini yürütür.

HSDB (Zararlı Maddeler Veri Bankası) (<http://toxnet.nlm.nih.gov>)

Bu, Ulusal Tıp Kütüphanesi'nin (NLM) Toksikoloji Veri Ağındaki (TOXNET®) bir toksikoloji veri dosyasıdır. Potansiyel olarak zararlı kimyasalların toksikolojisine odaklanır. İnsanların maruz kalması, endüstriyel hijyen, acil durumları ele alma işlemleri, çevresel davranış, yasal gereklilikler ve ilgili alanlar hakkındaki bilgilerle geliştirilmiştir. Tüm veriler referans alınır ve bir dizi temel kitaptan, resmi belgelerden, teknik raporlardan ve seçilmiş birincil dergi literatüründen elde edilir. HSDB, veri bankası kapsamında ana konulardaki uzmanlardan oluşmuş bir Bilimsel İnceleme Paneli (SRP) komitesi tarafından meslektaş incelemesinden geçirilir. HSDB, ayrı ayrı 5000'den fazla kimyasal kayıtlar halinde düzenlenmiştir.

N sınıfı veritabanı (<http://www.kemi.se/en/Content/Databases/>)

Nordic Council of Ministers Çevresel Zararlılık Sınıflandırması projesinin yönlendirme grubu, N Sınıfı veri tabanının düzenli olarak güncellenmesinden sorumludur. Veri tabanı, çevresel etkilere ilişkin Sınıflandırma ve Etiketleme üzerine Avrupa Komisyonu tarafından tartışılan maddeleri içerir. Çevresel etkilere ilişkin Komisyon çalışma grubu toplantılarında tartışılan ve çeşitli belgelerden toplanan (esas olarak ekotoksisiteyi kapsayan) maddeye özgü veriler, N Sınıfı veri tabanında bulunabilir.

OECD Bütünleşik HPV veritabanı (<http://webnet.oecd.org/hpv/ui/Default.aspx>)

Bu veritabanı, OECD'nin Mevcut Kimyasalların İncelenmesi programındaki araştırma süreci boyunca tüm Yüksek Üretim Hacimli (HPV) kimyasalları izler. OECD'de kararlaştırıldıktan sonra, değerlendirmelerin sonuçlarını, bu sonuçların arkasındaki gerçek raporları ve temel bilgileri gösterir. Veritabanı, Üye ülkeler aracılığıyla Sekreteryaya sağlanan her kimyasala ilişkin ek açıklamalarla birlikte HPV kimyasallar listesini içerir, bunlar ilgili belgelerle bağlantılıdır.

Mevcut bir kimyasalın ilk değerlendirmesi yapılırken, potansiyel zararlılıklarını belirlemek amacıyla minimum bir veri seti gereklidir. OECD, bu tür verilerin mevcudiyetini sağlamak amacıyla SIDS'i (Tarama Bilgi Veri Seti) geliştirmiştir. SIDS, bir kimyasalın daha fazla inceleme gerektirip gerektirmediğini belirlemek için gereken minimum veri unsurlarını ana hatlarıyla belirtir.

Veritabanında aramaların bir dizi kategoride yapılmasına izin veren kapsamlı bir arama özelliği vardır: örneğin; kimyasal adı, CAS numarası, sponsor ülke, inceleme aşaması.

Genel halkın üyeleri veri tabanına "salt okunur" erişime sahiptir ve böylece bir kimyasalın hem değerlendirmesi boyunca hem de sonrasında ilerleyişini takip edebilir. Ayrıca, OECD'de kararlaştırıldıktan sonra farklı kimyasallara ilişkin tamamlanmış değerlendirmelere de ulaşılabilir.

OHMTADS (<http://www.nisc.com/cis/details/ohm-tads.htm>)

Petrol ve Zararlı Malzemeler/Teknik Yardım Veri Sistemi, 1970'lerde ve 1980'lerde ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından hazırlanan GBF benzeri 1.402 bilgi formu içerir. Her bilgi formu bir kimyasal maddeyle ilgilidir. Veritabanı artık güncellenmemektedir ve veritabanındaki bazı malzemeler yasal gerekliliklerdeki değişiklikler nedeniyle zaman içinde hatalı hale gelmiştir. Bununla birlikte, veritabanı hala çok sayıda yararlı veri ve referans içermektedir. Sonuç olarak, her kayıt, veritabanının yaşı ve daha güncel kaynaklar aracılığıyla kritik bilgilerin doğrulanması ihtiyacına ilişkin bir uyarı ile sunulur. Kullanıcılar, CAS Numarası (tercih edilen yöntem), kimyasal adı ve/veya konuya ilişkin terimlere/ifadelere göre kayıtlara ulaşabilir.

Riskline (<http://apps.kemi.se/riskline/>)

Riskline, çevreye ve sağlığa ilişkin meslektaş incelemesinden geçmiş bilgileri içerir. Veritabanı İsveç Kimyasallar Ajansı tarafından oluşturulmaktadır. Riskline'deki her referans, eleştirel bir değerlendirme ile sunulur. Belgede sunulan araştırmanın değerine ilişkin bir grup toksikoloji uzmanının oybirliği ile belirlendiği görüşü temsil eder. Değerlendirme, literatürü inceleyen kuruluşa bağlı olarak değişebilir. Tüm belgeler, element ailesinin tek bir kimyasal elementi etrafında toplanır. Özgün belgelerden elde edilen özetler birim kaydına dahil edilir. Tüm maddeler indekslenmiştir ve kimyasal maddeler CAS numaraları ile tanımlanmıştır.

Japonya Çevre Bakanlığı (<http://www.env.go.jp/en/chemi/>)

Bakanlık, OECD Test Rehberlerine ve İLU'ya uygun olarak kimyasal maddelere ilişkin çok sayıda suçlu toksisite testi gerçekleştirmiştir. Bu testlerin sonuçları belirtilen web sitesinde mevcuttur.

Literatür kaynakları

Hollanda'da Çevresel Risk Sınırları, Raporlar 601640001 Bölüm I, II ve III (1999)

Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü (RIVM) tarafından hazırlanan bu raporda, 'Bütünleşik Çevresel Kalite Standartlarının Belirlenmesi' projesi çerçevesinde son on yıl içindeki su, toprak, çökelti ve havadaki yaklaşık 200 madde için Maksimum İzin Verilebilir Konsantrasyonlar (MPC) ve İhmal Edilebilir Konsantrasyonlar (NC) gibi risk sınırları belgelenir. Amaç, çevre politikasına veya kimyasal maddelerin çevresel risk değerlendirmesine dahil olan ilgili taraflara çevresel risk sınırlarının elde edilmesine ilişkin işlemleri sunmaktır. Bu risk sınırları, Hollanda çevre politikasında kullanılan yasa dışı standartlardır. Raporlar, bir dizi kimyasala ilişkin suçlu toksisite verilerini içerir. Verilerin kalitesi değerlendirilmiştir ve derecelendirilmiştir.

Kanada Çevre Bakanları Konseyi tarafından yayınlanan Kanada Çevre Kalitesi Rehberleri (1999).

Suçlu Yaşamı Korumaya yönelik Kanada Su Kalitesi Rehberleri, toksik kimyasallar, sıcaklık ve asitlik gibi su kalitesini etkileyen maddeler veya koşullar için kabul edilebilir seviyeler belirleyerek göllerde, nehirlerde ve okyanuslarda yaşayan tüm bitki ve hayvanların korunmasına yardımcı olur.

Rehberler, Kanada sularında bulunan en hassas bitki ve hayvan türlerine ilişkin toksisite verilerine dayanmaktadır ve Kanada'daki sucul yaşam türlerinin %100'ünün korunması amacıyla bilime bağlı olarak kıyaslama görevi görür. Rehberler CD-ROM'da mevcuttur ve Kanada Çevre Bakanları Konseyi'nden (<http://www.ccme.org>) satın alınabilir.

Sucul Yaşama İlişkin ABD EPA Su Kalitesi Kriterleri

Sucul yaşam kriterleri, yüzey sularında bulunan bitki ve hayvanlar için koruma sağlar. Bu kriterler, göl ve nehir sularında sucul yaşama zarar vermeyecek şekilde bulunabilen kimyasalların miktarları için sayısal sınırlar olarak geliştirir. Sucul yaşam kriterleri, tatlı su ve deniz suyu organizmalarının potansiyel olarak zararlı kimyasallara akut (kısa süreli) ve kronik (uzun süreli) maruz kalmasının etkilerine ilişkin koruma sağlamak amacıyla tasarlanmıştır. Sucul yaşam kriterleri toksisite bilgilerine dayanmaktadır ve sucul organizmaları ölümden, daha yavaş büyümeden, azalmış üremeden ve bu tür organizmaların tüketicilerini olumsuz etkileyebilecek zararlı seviyelerdeki toksik kimyasalların dokularındaki birikiminden koruyabilmek amacıyla geliştirilmiştir. Geliştirilen kriterler <http://epa.gov/waterscience/criteria/aqlife.html> adresinde bulunabilir.

Referanslar

OECD, 1998, Pestisitler ve Endüstriyel Kimyasallar için Sucul Toksikite Yöntemleri Hakkında Ayrıntılı İnceleme Belgesi, OECD TEST VE DEĞERLENDİRME SERİSİ, Sayı 11, NV/MC/CHEM(98)19/KISIM

ECETOC, 1993. Sucul Toksikite Veri Değerlendirmesi. ECETOC Teknik Rapor No. 56. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel.

Ek R.7.8—3 Sucul etkilerin değerlendirilmesinde vücut yükü yaklaşımlarına ilişkin metodoloji

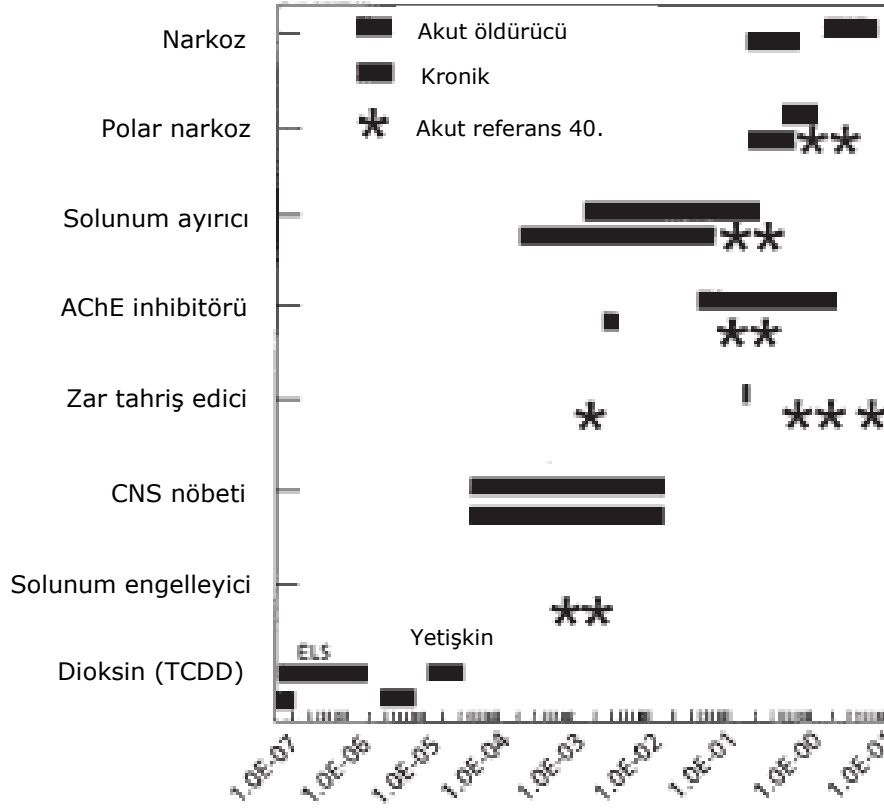
TRD'de açıklanan testler, veri toplamayı akut ve kronik toksisite ile biyobirikim olarak sınıflandırılacak farklı bölümlere ayırır. Veri derlemeleri, uygulamada genellikle farklı türlerin veya suşların kullanılması sonucunda farklı kaynaklardan elde edilir ve farklı ortamlar oluşturur. Risk değerlendirmesine yönelik klasik yaklaşım daha sonra genel bir yoruma ulaşılabilmesi amacıyla bu verileri derler. Bazı durumlarda, aynı deneyde aynı türler üzerindeki biyokonsantrasyonun ve toksisitenin ölçülmesine ilişkin avantajlar olabilir ve standart testler, iç ölçütün analitik ölçümünün dahil edilmesiyle birçok durumda iyileştirilebilir.

Ekotoksikolojik etkileri yalnızca dış konsantrasyonlarla ilişkilendirmenin başlıca dezavantajı, kimyasalların sulu çözünürlüklerinin altındaki sulu konsantrasyonlarda (akut) toksik etkiler göstermemesidir, kronik etkilerde ise; diğer kimyasal olmayan ve kimyasal stres faktörleri ile kombinasyon halindeki gıda ağı ardışık etkileri veya agrega ve karışım etkileri meydana gelebilir. Ayrıca, çözünürlüğü düşük maddeler için harici konsantrasyonların ölçülmesi genellikle çok zordur. Bu nedenle, etkileri ölçmek amacıyla alternatif bir ölçünün kullanımı tercih edilebilir: dahili vücut yükü. Mortalitenin meydana geldiği vücut yükü, Öldürücü Vücut Yükü (LBB) ve öldürücü olmayan sonlanma noktaları için Kritik Vücut Yükü (CBB) olarak bilinir.

Bu kritik vücut yükleri (CBB) kavramı, özellikle narkoz etki şekli aracılığıyla hareket eden kimyasalların akut etkileri ((McCarty ve Mackay 1993); (McCarty 1986)) için oldukça iyi oluşturulmuştur. Bu kavram hakkında bir dizi inceleme yapılmıştır (Barron ve ark., 1997; Barron ve ark., 2002), (Sijm ve Hermens 2000) ve Thompson ve Stewart (2003). (McCarty 1991), Recommended merging acute, chronic and bioaccumulation tests into one to greatly increase the information that could be obtained from a single test (Tek bir testten elde edilebilecek bilgileri büyük ölçüde artırmak için akut, kronik ve biyobirikim testlerinin birleştirilmesine ilişkin öneri). Bu yaklaşımın uygulamayla ilişkili birtakım zorluklarının olmasına rağmen çok az farklı koşullar altında üç standart test gerçekleştirmek ve bunların sonuçlarını birleştirmeye çalışmak yerine, doğrulanmış rehber çalışmaları ilkesine bağlı kalarak öldürücü konsantrasyonun, BCF'nin ve kronik etkilerin bir araya getirilmesi için daha sağlam bir yöntem sağlayabilir.

McCarty ve Mackay (1993), biyolojik etkiyle ilişkili bir kimyasalın dahili konsantrasyonunun, kimyasallar arasındaki toksisiteyi karşılaştırmak ve sıralamak için teknik olarak daha doğru bir temel olduğunu ilk öne süren kişiler arasındadır ve bu daha sonraki yayınlarda desteklenmiştir (Gobas ve ark., 2001 ve Mackay, 2001).

Aşağıdaki [Şekil R.7.8-7](#), orijinal olarak McCarty ve Mackay (1993) çalışmasında tablo haline getirilmiş vücut yüklerinin aralığını vermektedir.



Şekil R.7.8—7 Organik kimyasalların sekiz kategorisine maruz kalan balıklar için farklı akut ve kronik toksisite sonlanma noktaları ile ilişkili hesaplanan vücut yükleri (mmol/L cinsinden).

Benzer L/CBB aralıkları da yayınlanmıştır (Thompson ve Stewart 2003) ve Şekil ile nispeten tutarlı olduğu gösterilmiştir: Etki Şekli I (akut = 1 - 10 mmol/kg, kronik = 0.1 - 1 mmol/kg) ve Etki Şekli II (akut = 0.5 - 2 mmol/kg, kronik = 0.05 - 0.1 mmol/kg).

Diğer etki şekilleri daha düşük ancak tipik olarak (türe ve LBB veya CBB'nin dikkate alınmasına bağlı olarak (bkz. [Şekil R.7.8—7](#))) daha değişken olma eğilimindedir.

Vücut yükü yaklaşımının avantajları ve dezavantajları

Bir LBB veya CBB, biyolojik etkilerin ve kimyasal vücut yüklerinin aynı test organizmalarında ölçüldüğü bir çalışma sırasında doğrudan ölçülebilir veya dolaylı olarak tahmin edilebilir. Dolaylı tahminler, $LBB = LC_{50} \times BCF$ ve $CBB = NOEC \times BCF$ olacak şekilde, farklı çalışmalardan ölçülen biyokonsantrasyon ve kritik harici konsantrasyonlar temelinde olabilir. Alternatif olarak, dolaylı tahminler Nicel Yapı Aktivite İlişkileri (QSAR) tarafından tahmin edilen verilere bağlı olarak yapılabilir, ancak QSAR'ın uygulanabilirlik alanı açıkça gösterilmelidir.

Bu yaklaşım, polar olmayan (Tip I) narkotik maddeler (temel toksisite) ve polar (Tip II) narkotik maddeler için gösterilmiştir (McCarty 1986, McCarty ve ark., 1992, 1993).

Vücut yükünün kullanımının avantajları şunlardır:

CBB, kimyasalların bilinen etki şekillerini sınıflandırmaya yardımcı olacak bir araç olarak kullanılabilirdiğinden, CBB bilgisi risk değerlendirmesindeki belirsizliği azaltmalıdır.

Toksik etkiler bir etki şekli sınıfına dahil edilmelidir çünkü CBB kimyasal yapıdan bağımsızdır, bu nedenle karışımın toksisitesi daha kolay tahmin edilebilir. Ayrıca tüm kimyasalların, bu kimyasalların toksik etki gösterdiği bir seviyenin altında narkotik etki şekline sahip olduğuna dair kanıtlar vardır (Dyer ve ark., 2000).

K_{ow} 'a bağlı Nicel Yapı Aktivite İlişkileri, Etki Şekli I ve Etki Şekli II için kritik vücut yüklerinin tahmin edilmesi amacıyla kullanılabilir (McCarty 1986). Bu nedenle CBB, kimyasal madde sınıfları için kategori yaklaşımlarının oluşturulabilmesi amacıyla bir temel olarak kullanılabilir.

Vücut yükü yaklaşımının teorik yönlerinin özellikle Etki Şekli I ve Etki Şekli II ile kimyasalların neden olduğu akut öldürücü etkiler için deneysel olarak araştırılmasına ve test edilmesine olanak tanıyan veri derlemeleri kullanıma girmektedir.

Potansiyel olarak, vücut yüklerinin çok az çözünen veya yüksek oranda yüzeye tutunan ve biyobirikimli maddeler için harici konsantrasyonlardan ölçülmesi teknik olarak daha kolay bir ölçüdür.

Doğal olarak, mevcut durumda CBB yaklaşımının eksiklikleri de vardır, ancak aşağıdaki eksiklikler hem CBB hem de klasik (harici konsantrasyon) yaklaşımlar için ortaktır:

1. Uzun süre boyunca etki şeklinin belirli kimyasallar için narkotik etki şeklinden narkotik olmayan etki şekline dönüşebilmesi sebebiyle, LBB için belirlenen bir değer CBB tahmini için doğrudan kullanılamaz.
2. Bir kimyasalın kritik vücut yükü türler arasında farklılık gösterebilir, ancak lipid normalizasyonunun kullanımı azalabilir. Sijm ve Hermens'e (2000) göre, yaş ağırlık temeline bağlı olarak kilosu yüksek olan bireylerin etkilenmeden önce daha yüksek toksik madde vücut yükleri biriktirebilecekleri iddia edilebilir. Bu durumda, lipid normalizasyonu tür içi değişkenliği azaltmalıdır ancak literatüre göre değişkenliği yalnızca %50 oranında azaltmaktadır.
3. Cinsiyet, yaşam evresi vb. gibi diğer faktörler de CBB'yi etkileyebilir.
4. CBB genellikle bir test organizmasının tüm vücudunda ölçülür, ancak belirli hedef organların belirli dokularında (örneğin solungaç) ciddi hasara neden olan yüksek konsantrasyonlardan dolayı etkilerin meydana gelmesi beklenebilir. Ancak bu, kimyasalın vücuttaki hareket hızına bağlıdır.

CBB'nin hassas ölçümü ile ilgili teknik sorunlar da vardır:

Testte erken ölen organizmalardan elde edilen vücut yükü verileri, bir testin sonuna kadar sağ kalan organizmalardan elde edilen verilerden daha düşük olabilir. Ancak, bireyler arası değişkenlik nedeniyle LC₁₀'un LC₅₀'den daha erken bir aşamada meydana geldiği klasik testler için benzer bir sorun vardır.

Vücut yükü üzerindeki testler ayrıca bağırsak içeriğini ve omurgasızlar söz konusu olduğunda gerçek vücut yükünü belirlemek için kolayca çıkarılmayan maddenin kütüküler yüzeye tutunmasını da içerecektir. Bununla birlikte, aynı durum standart BCF ve BAF testleri için de geçerlidir ve CBB tespiti için kullanılan yaklaşımlarla etkileşime girme ihtimalinin olmasına rağmen dikkatli bir şekilde düşünüldüğünde bu sorunların önlenmesi genellikle mümkündür.

Klasik olarak test edilmiş omurgasızlar için (örneğin *Lumbriculus* veya *Dafniya*), kaliteli analitik sonuçların elde edilebilmesi amacıyla yeterli biyokütlenin sağlanması zor olabilir. Biyokütle, özellikle biyoabirikimin düşük olduğu durumlarda deneyin gerçekleştirilmesinden önce dikkate alınması gereken önemli bir husustur.

Ana bileşiğin özel olarak ölçülmesinden önce vücut yükünün belirlenebilmesi için toplam radyoaktivitenin kullanılması, biyodönüşümü ve metabolitlerin biyokütleyle potansiyel katılımını göz önünde bulundurmaz. Bu, vücut yükünün olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilir.

Mevcut durumda vücut yüklerini göz önünde bulunduran normalize edilmiş bir çalışma yoktur. Bununla birlikte, deneyimli ekotoksikologların aynı tasarımda hem biyobirikimi hem de toksisiteyi içerecek şekilde mevcut testleri değiştirebilmesi gerekir. Herhangi bir çalışmanın vücut yükünü içermeyen bir çalışmadan daha fazla hayvan kullanması halinde, kullanılan toplam hayvan sayısının azaltılmasına ilişkin olasılıklar mevcuttur.

Bazı veriler, vücut yükü tekniğinin düşük log K_{ow} (<1) değerine sahip olan maddeler için uygun olmayabileceğini göstermektedir. Bunun için daha fazla kanıtı ihtiyaç vardır, ancak daha yüksek log K_{ow} değerlerinde CBB yaklaşımı için çoğu uygulamanın gerçekten yararlı olduğu kabul edilmelidir.

Risk değerlendirmesinde vücut yükü verilerinin kullanımı

Vücut yükü verilerinin oluşturulmasının risk değerlendirmesinde kullanılabilecek sonuçlar sağlayabileceği birçok alan vardır: kimyasal grupların açıklığa kavuşturulmasına, oluşturulmasına ve etki şeklinin belirlenmesine yardımcı olmak; verilere olan güveni artırmak; BCF'nin potansiyel olarak eşzamanlı bir şekilde sağlanması ve toksisiteyi azaltan hayvan kullanımı. Özellikle, zor maddelerin test edilmesi sırasında sucül toksisiteye bağlı standart test tekniklerinin kullanılması da mümkün olmayabilir. Bu gibi durumlarda, Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve/veya daha az zor maddelerden ve kaliteli fiziko-kimyasal verilerden yapılan çapraz okuma ile birlikte kullanılan L/CBB değerleri standart tekniklerden daha güvenilir bir veri seti sağlayabilir. Böyle bir yaklaşımın kullanımı, uygun bir sonuca ulaşılabilmesi için gereken teknik girdi seviyesinin de dikkate alınmasıyla duruma göre gözden geçirilmelidir.

Vücut yükü yöntemlerine ilişkin sonuç

Doküman, bilimin vücut yükü metodolojisine, avantajlarına ve dezavantajlarına ilişkin mevcut durumu ile ilgili genel bir bakış sağlar. Kritik Vücut Yükünün (CBB) en azından akut öldürücü toksisitenin narkotik etki şekline sahip maddeler için nispeten sabit olduğu hipotezini destekleyen iyi deneysel kanıtlar vardır.

CBB yaklaşımının tekli maddelerin risk değerlendirmesinde (Gobas ve ark. (2001) ve Mackay (2001)) kullanılması tavsiye edilmiştir ve bu yaklaşım, kategori yaklaşımları hususunda yardımcı olabilir. Aynı zamanda birden fazla bileşenli bileşiklere ilişkin riskin değerlendirilmesinde yardımcı olabilmesi amacıyla da kullanılabilir.

Bir (sucul) organizmadaki maddenin kritik vücut yüküne ilişkin bilginin mevcut olduğu durumlarda, kimyasalın temel bir narkotik kimyasal olup olmadığı veya daha özel bir etki şekline sahip olup olmadığı ve böylelikle sucul toksisite göstergesi verip vermeyeceğinin belirlenmesi hususunda yardımcı olabilir.

Vücut yüküne ilişkin referanslar

Barron M, Anderson M, Lipton J, Dixon D. 1997. Evaluation of critical body residue QSARs for predicting organic chemical toxicity to aquatic organisms (Suda yaşayan organizmalar için organik kimyasal toksisitenin tahmin edilebilmesi amacıyla kritik vücut kalıntısı nicel yapı aktivite ilişkilerinin değerlendirilmesi). SAR QSAR Environ Res 6:47-62.

Barron M, Hansen J, Lipton J. 2002. Association between contaminant tissue residues and effects in aquatic organisms (Suda yaşayan organizmalardaki kontamine edici doku kalıntıları ve bu kalıntıların etkileri arasındaki ilişki). Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 173:1-37.

Dyer SD, White-Hull CE, Shephard BK. 2000. Assessment of chemical mixtures via toxicity reference values overpredict hazard to Ohio fish communities (Ohio balık toplulukları için zararlılığın olduğundan fazla tahmin edildiği toksisite referans değerleri aracılığıyla kimyasal karışımların değerlendirilmesi). Environmental Science and Technology, 34, 2518-2524

Gobas F, Purdy R, Granville G, Cowan-Ellsbery C, Gannon J, Lewis M, Socha A, Chapman P. 2001. A proposal for hazard identification of organic chemicals based on inherent toxicity (Doğal toksisiteye bağlı olarak organik kimyasalların zararlılık tanımlamasına ilişkin bir öneri). SETAC Globe 2(2):33-34.

McCarty L. 1986. The relationship between aquatic toxicity QSARs and bioconcentration for some organic chemicals (Bazı organik kimyasallar için sucul toksisiteye ilişkin nicel yapı aktivite ilişkileri ve biyokonsantrasyon arasındaki ilişki). Environmental Toxicology and Chemistry 5:1071-1080.

McCarty L. 1991. Toxicant body residues: implications for aquatic bioassays with some organic chemicals (Toksik vücut kalıntıları: bazı organik kimyasallar ile sucul biyotayinlere ilişkin çıkarımlar). Mayes M, Barron M. s. 183-192.

McCarty LS, Mackay D, Smith AD, Ozburn GW, Dixon DG. 1992. Residue-based interpretation of toxicity and bioconcentration QSARs from aquatic bioassays: neutral narcotic organics (Sucul biyotayinlerden elde edilen toksisitenin ve biyokonsantrasyon nicel yapı aktivite ilişkilerinin kalıntı temelli yorumu: nötr narkotik organikler). Environ Toxicol Chem 11:917-930

McCarty LS, Mackay D, Smith AD, Ozburn GW, Dixon DG. 1993. Residue-based interpretation of toxicity and bioconcentration QSARs from aquatic bioassays: polar narcotic organics (Sucul biyotayinlerden elde edilen toksisitenin ve biyokonsantrasyon nicel yapı aktivite ilişkilerinin kalıntı temelli yorumu: polar narkotik organikler). Ecotoxicol Environ Saf 25:253-270.

McCarty L, Mackay D. 1993. Enhancing ecotoxicological modeling and assessment (Ekotoksikolojik modellemenin ve değerlendirmenin geliştirilmesi). Environ Sci Technol 27:1719-1728.

Sijm D, Hermens J. 2000. Dahili etki konsantrasyonları: Organik kimyasallara ilişkin biyobirikim ve ekotoksisite arasındaki bağlantı. Beek B -V-J. Berlin, Almanya: Springer-Verlag, s. 167-199.

Thompson R, Stewart K. 2003. Critical Body Burdens: a review of the literature and identification of experimental data requirements (Kritik Vücut Yükleri: literatürün gözden geçirilmesi ve deneysel veri gereksinimlerinin belirlenmesi). Brixham Environmental Laboratory, AstraZeneca, Brixham, Devon, Birleşik Krallık.

Ek R.7.8—4 Endokrin ve diğer ilgili etkilere ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Bu bölüm, sucul toksisite testine ilişkin ana rehber dokümana dahil edilmiştir. Bir maddenin (potansiyel) endokrin aktivitesine veya suda yaşayan organizmaların gelişimi ve/veya üremesi üzerindeki uzun süreli olumsuz etkilere ilişkin bilgilerin değerlendirilmesi için rehberlik sağlar. Bu tür bilgiler, KKDİK, Ek 7 ve Ek 10'da (aşağıya bakınız) belirtilen standart bilgi gerekliliklerinin bir parçası olmadığından, rehberin bu bölümü mevcut bilgilerin değerlendirilmesine bağlıdır ve tartışılan tarama testleri ile test yöntemlerinden hiçbiri OECD Test Rehberi (Ocak 2007) tarafından tamamen doğrulanmamış veya onaylanmamıştır. Suda yaşayan organizmalardaki (potansiyel) endokrin aktivitesinin değerlendirilmesine ilişkin bilgilere ayrıca *in vitro* çalışmalardan, endokrin aktivitesi için memeli tarama testlerinden ve tekrarlı doz toksisitesi, karsinojenite ile üreme toksisitesi çalışmalarından elde edilen diğer insan sağlığı sonlanma noktalarından ulaşılabilir.

Endokrin bozukluğu rehberi

Tanım

1996'da Weybridge, Birleşik Krallık'ta düzenlenen uluslararası bir çalıştayda varılan geniş çapta kabul görmüş bir fikir birliğine göre (daha sonra OECD uzman grupları tarafından da benimsenmiştir) "*endokrin bozucu, sağlam bir organizmada veya onun soyunda endokrin fonksiyonundaki değişikliklerin sonucu olarak olumsuz sağlık etkilerine neden olan eksojen bir ajandır.*"

"Endokrin bozukluğu" kendi başına toksikolojik bir sonlanma noktası değil, çeşitli moleküler mekanizmaları içerebilen ve bir organizmada veya onun neslinde olumsuz sağlık etkilerine yol açabilen endokrin sisteminin fonksiyonel bir değişikliğidir. Bu rehber belge, bir endokrin etki şeklinin tanımlanması ile diğer toksisite mekanizmalarından da kaynaklanabilecek gelişim ve üreme üzerindeki öldürücü olmayan kronik ve olumsuz etkilerin karakterizasyonu arasında ayırım yapmaktadır; Weybridge/OECD'nin endokrin bozucu tanımının karşılanabilmesi amacıyla endokrin etki şekli ile olumsuz etki arasındaki nedensel bağlantının kurulması gerekir.

Rehberin amacı

Endokrin bozukluğu, bir maddenin endokrin aktivitesinden dolayı suda yaşayan organizmaların gelişimi veya üremesi üzerinde olumsuz etkilerin ortaya çıkmasıdır. Özellikle üreme ve gelişmeyi içeren bu tür olumsuz etkiler, bir maddenin sucul ortam için oluşturabileceği potansiyel zararlılıkların değerlendirilmesiyle yüksek derecede ilgilidir.

Bu bölümdeki rehberin, standart bilgi gerekliliklerinin dışında aşağıdaki mevcut bilgi durumlarını kapsaması beklenmektedir:

- suda yaşayan organizmalardaki (insan sağlığı sonlanma noktalarından, moleküler yapıdan veya standart dışı *in vitro* testlerden) potansiyel endokrin aktivitesini gösteren bilgiler
- suda yaşayan organizmalardaki endokrin etki şekline ilişkin bilgiler

- suda yaşayan organizmaların üremesi veya gelişimi üzerindeki olumsuz etkilere ilişkin bilgiler

Gelişim veya üreme üzerindeki olumsuz etkilere ilişkin mevcut bilgiler, bir maddenin toksisite özelliklerine ilişkin sınıflandırmada, kimyasal güvenlik değerlendirmesinde ve PBT değerlendirmesinde kullanılmak üzere dikkate alınmalıdır.

Ayrıca, ciddi seviyedeki olumsuz etkiler ile endokrin etki şeklinin arasında açık bir bağlantının kurulabildiği durumlarda madde, endokrin bozucu özelliklere sahip maddeler gibi Madde 47 hükümlerine; insan sağlığı veya çevre üzerinde CMR, PBT veya vPvB maddelerinin neden olduğu endişeye eşdeğer düzeyde bir endişeye neden olan ciddi seviyedeki olası sağlık etkilerinin bilimsel kanıtı bulunan maddelerin, izin işlemine tabi maddeler için Ek 14'e dahil edilebileceğini belirten Madde 47 1) (e)hükümleri kapsamında olabilir. Dahil etmeye, İlgili kurumlar tarafından bir Ek 15 dosyası hazırlandıktan sonra duruma göre karar verilecektir.

Bilgi gereklilikleri

Yukarıda belirtildiği gibi, bir kimyasalın kaydı için KKDİK Ek 7 - Ek 10'da bir maddenin endokrin aktivitesine veya suda yaşayan organizmaların üreme veya özel gelişimsel toksisitesine ilişkin bilgi sağlamak için herhangi bir gereklilik bulunmamaktadır.

Bununla birlikte, KKDİK Madde 13'e göre, Ek 7 - Ek 10'da belirtilen bilgiler asgari gereklilik olarak görülmelidir. Teknik dosya, kayıt ettirene ilişkin mevcut olan tüm fiziko-kimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik bilgileri içerecektir. Bu genel gereklilik kimyasal güvenlik raporu ve KKDİK Ek 1, 2 ve 6'daki güvenlik bilgi formları ile ilgili olarak onaylanmıştır.

Mevcut bilgilerin değerlendirilmesi sırasında bir maddenin suda yaşayan organizmalarda endokrin bir etki şeklini gösterdiği belirtilirse, bu durum gelişme veya üreme üzerindeki potansiyel olumsuz etkilere ilişkin daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği konusunda endişe uyandırabilir. Bir kayıt dosyasının madde değerlendirmesi gerçekleştirilirken bu tür çalışmalar duruma göre Bakanlık tarafından talep edilebilir (Madde 41). Bu hüküm, bu Ek'te açıklanan endokrine özgü çalışmalar gibi KKDİK Ek 7 - Ek 10 kapsamında olmayan özel çalışmaların taleplerini içerir.

Bilgi kaynakları

Test dışı veriler

Test dışı veriler, yapı aktivite ilişkilerinden (SAR), nicel yapı aktivite ilişkilerinden (QSAR), çapraz okuma ve kimyasal kategorilerden elde edilen bilgileri içerir. Bu yöntemlerle bilgi üretmenin genel ilkeleri, bu rehber belgenin ana bölümünde açıklanmıştır. Modeller, özellikle östrojen ve androjen reseptör bağlanması için özel endokrin ile ilgili mekanizmalara ilişkin OECD ve ECB programları altında geliştirilmektedir (bkz. Netzeva ve ark., 2006; Saliner ve ark., 2006; modellere yeni bir genel bakış için bkz. Devillers ve ark., 2006; ER bağlanmasına özgü yapısal gereklilikler için bkz. Fang ve ark., 2001; AR bağlanmasına özgü yapısal gereklilikler için bkz. Fang ve ark., 2003; Tamura ve ark., 2006).

Deneysel verilerin mevcudiyeti ve kalitesi nedeniyle, sağlam organizmalardaki endokrin aktivitesine ve uzun süreli yan etkilere göre mekanizma ile ilgili sonlanma noktalar için daha fazla SAR ve QSAR modeli mevcuttur. Bununla birlikte, tasarruf potansiyelleri açısından *in vivo* etkileri tahmin edebilen modellerin geliştirilmesi gelecekte daha önemli bir hale gelebilir. Mekanizma ile ilgili sonlanma noktalarını tahmin eden modeller (yapı aktivite ilişkileri ve nicel yapı aktivite ilişkileri) arasında, androjenik aktiviteye kıyasla östrojenik aktivite için daha fazla model geliştirilmiştir.

Klasik SAR ve QSAR modellerinin yanı sıra, literatürde bir dizi 3D QSAR (Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi, CoMFA'dan türetilen 3D Nicel Yapı Aktivite İlişkileri) ve yerleştirme çalışmaları yayınlanmıştır. Endokrin bozucu etkiler (yani moleküler modellemeye uygun etkileşimler) çoğu kimyasalların özel reseptörlere bağlanmasıyla tetiklendiğinden, son modellerin geliştirilmesine ilişkin iyi bir bilimsel temel vardır.

Ancak, sonuçları farklı biçimde sunulmadığı sürece (örneğin yapısal uyarılara çevrilmedikçe) bu tür modellerin nicel uygulama için aktarılabilirliğinde hala teknik kısıtlamalar mevcuttur.

Endokrin bozukluğu ile ilgili sonlanma noktalarını modellemek için başarıyla uygulanan çok çeşitli hesaplama modelleri vardır. Bunlar, yapısal özellikler ve yapısal uyarılardan¹⁰ (örneğin steroid iskelet, dietilstilbestrol iskeleti veya fenolik halkanın varlığı, bir kimyasalın östrojen reseptörüne bağlanma olasılığını arttırır), farmakofor araştırmalara (örneğin, doğrusal farklılık analiz, k-en yakın komşu modellemesi, karar ağacı analizi, biyofor tipi analiz, ortak reaktivite modeli analizi vb.), yerel (yani benzer) veya geniş çaplı (yani farklı) veri setlerinden oluşturulan potansiyel tahmine ilişkin çeşitli nicel modellere uzanır. Modellerdeki tanımlayıcılar çeşitli hidrofobik, sterik ve elektrostatik tanımlayıcılar aracılığıyla yapısal bölümlerden, CoMFA analizindeki sterik ve elektrostatik alanlara ve yerleştirme çalışmalarındaki enerjilere kadar çeşitlilik göstermektedir. Tanımlayıcıların ve modelleme tekniğinin seçimi büyük ölçüde amaca ve veri dizisine bağlıdır ve tek bir öneri verilemez, ancak çözülecek probleme bağlı olarak modellerin ve temel verilerin oldukça kritik ve gerçekçi bir şekilde değerlendirilmesi gerekir.

Test verileri

Bu Ek boyunca, laboratuvar (deneysel) yöntemleri *tarama deneyleri* ve (doğrulayıcı) testler olarak ikiye ayrılır. Bu anlamda tarama deneyleri, bir maddenin potansiyel endokrin etki şeklinin tanımlanmasına olanak sağlayan *in vitro* veya *in vivo* araştırmalarken; kesin veya doğrulayıcı testler, tarama sonuçlarını doğrulamak ve böyle bir etki şeklinden kaynaklanabilecek her türlü olumsuz etkiyi karakterize etmek için kullanılan daha yüksek kademeli *in vivo* yöntemlerdir. Bu bağlamda *tarama testi* teriminin çok sayıda kimyasalın kör taraması ile ilgili olmadığına dikkat edilmelidir. Aşağıda açıklanan yöntemlerin tümü, yalnızca sınırlı sayıdaki maddeyi ilgilendiren endokrine özgü çalışmalardır.

¹⁰ Yapısal özellik ile yapısal uyarı arasında bir ayrım yapılabilir. Örneğin, bir tert-bütül kısmı ve fenol grubu, östrojen bağlanması için yüksek potansiyel ile ilişkili yapısal özelliklerdir. Bununla birlikte, o konumun reseptör aracılı bir gen aktivasyonuna bağlı olmadığı ancak iki fonksiyonel grubun karşılıklı olarak p pozisyonunda bulunması şartıyla kombinasyon östrojenisite için yapısal bir uyarı olarak görülür.

In vitro tarama verileri

Şu anda, yasal amaçlarla doğrulanmış *in vitro* testler ve uluslararası kabul görmüş Test Rehberleri henüz mevcut değildir. Bununla birlikte, endokrin sistemin moleküler mekanizmaları, özellikle omurgalıların cinsel hormon sistemi iyi karakterize edilmiştir ve bilimsel araştırmalarda çok sayıda *in vitro* deney kullanılmaktadır. Temel ilkeler, suda yaşayan omurgalılar da dahil olmak üzere çeşitli türlerden elde edilen biyolojik malzemeler için uygulanmış olsa da, memeli sistemlerine bağlı deneyler, geçerlilik durumları ile ifade edildiği üzere genellikle gelişimin en ileri aşamasındadır.

Bu deneyler, omurgalı taksonlar arasındaki endokrin sistemlerinin benzerliği göz önünde bulundurulduğunda balıklar başta olmak üzere suda yaşayan organizmalardaki kimyasalların potansiyel endokrin aktivitesinin değerlendirilmesine ilişkin değerli bilgiler sağlayabilir.

Maddelerin olası endokrin aktivitesinin belirlenmesine ilişkin aşağıdaki *in vitro* deneyler, düzenleyici kullanım açısından daha sonraki geliştirmeler için doğrulama amacıyla seçilmiştir. Gelişimin, doğrulamanın ve düzenleyici kabulün farklı aşamalarında; 2006 yılındaki durumları aşağıda belirtilmiştir.

Östrojen ve Androjen Reseptörlerinin Bağlanma Deneyleri

İlke: Bir hormonun sitozoldeki reseptörüne bağlanması, hormonal düzenleme sürecine ilişkin erken bir olaydır. Ksenobiyotik maddelerin bağlanma yerlerinden doğal hormonlarla rekabet etme kapasitesini inceleyen deneyler, farklı hücresel sistemlerdeki çeşitli türlerden östrojen ve androjen reseptörleri ile geliştirilmiştir. Bu tür bir deney, bir maddenin bir hormon reseptörüne bağlanmasının aktivasyona (agonistik aktivite) veya inhibisyona (antagonistik aktivite) yol açıp açmayacağını tahmin edemez.

Durum: Avrupa Komisyonu'nun 6. Yapı Programı tarafından finanse edilen bütünleşik ReProTect projesi kapsamında iki reseptöre ilişkin bağlanma deneyinin ön doğrulaması şu anda OECD altında, ABD EPA öncülüğünde ve Japonya ile işbirliği içinde devam etmektedir. ABD EPA, sıçanların prostat sitozolünden androjen reseptörüne dayanan bir deneyin doğrulama işlemini tamamlamıştır ve yapısal olarak 50 farklı kimyasal için sıçan rahminin sitozolünden östrojen reseptörü ile bağlanma etkileşiminin doğası üzerine çalışmalar yürütmüştür (Laws ve ark., 2006).

Transkripsiyonel Aktivasyon (Raportör Gen) Deneyleri

İlke: Aktif ligand-reseptör kompleksi, özel DNA dizilerinin sıralandığı ve gen transkripsiyonunun indüklendiği hücre çekirdeğinde yer değiştirir. Rekombinant hormona cevap oluşturan gen öğelerinin ve bunların promotörlerinin kolay bir şekilde tespit edilebilir proteinleri kodlayan öğelerle birlikte uygun konakçı hücrelere dahil edilmesi, gen transkripsiyonu seviyesindeki bir cevabı görselleştirerek hormon-reseptör aktivasyonunun belirlenmesini sağlar. Bu deneylerin yalnızca reseptör aktivasyonunu gösterebilmesi sebebiyle, antagonistik reseptör etkileşimleri tespit edilmeden kalırken, pozitif bir test sonucu, maddeye maruz kalmanın her zaman *in vivo* agonistik bir etkiye neden olacağı anlamına gelmez. Bu genetik olarak tasarlanmış sistemlerin endojen reseptörün ve hedef genlerin *in vivo* doz cevabı ile ilgisi, şu anda OECD'de meslektaş incelemesinden geçen Japon Raporu'nda değerlendirilmiştir (aşağıya bakınız).

Durum: ER agonistleri için Östrojenik Aktivitenin Belirlenebilmesine İlişkin Kararlı Transfekte Transkripsiyonel Aktivasyon (TA) Testi'nin Doğrulanması, Japonya'da gerçekleştirilmiştir ve OECD Test Rehberleri programı kapsamında meslektaş incelemesi aşamasındadır. ER ve AR (anti)agonistlerin tespiti için dört transkripsiyonel aktivasyon deneyinin ön doğrulanması, Avrupa Komisyonu 6. Yapı Programı tarafından finanse edilen bütünlük ReProTect projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir ve bu deneyler doğrulama aşamasına ilerlemektedir.

Vitellogenin Deneyleri

İlke: Balık karaciğerindeki östrojen reseptörünün aktivasyonu, yumurta sarısı proteinlerinden vitellogeninin (VTG) biyosentezini indükler. Bu prensibe dayanarak, maddelerin östrojenik veya anti-östrojenik aktivite yoluyla VTG üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için kültürlenmiş birincil hepatositlerin (örneğin, Japon pirinç balığından veya gökkuşuğu alabalığından) kullanılmasıyla analizler geliştirilmiştir.

Durum: Bu deney, birçok yaygın balık türünde yürütülmüştür ve çoğu veri gökkuşuğu alabalığının olgun erkeklerinde ve sazanlarda mevcuttur. Hücre kültürlerinin hassasiyeti ve VTG proteininin ELISA ile tespit edilme yöntemleri doğrulanırken, VTG mRNA'nın RT-PCR kullanılarak ölçüldüğü yöntemlerin hala doğrulanması gerekir.

Steroidojenez Deneyleri

İlke: Belirli hücre kültürleri, kolesterolün nihai aktif steroid hormonlarına (steroid sentezi hızının analitik olarak belirlenmesinde kullanılan yeterli miktardaki androjenler ve östrojenler gibi) doğal biyosentetik yollar aracılığıyla metabolize edilebilmesine ilişkin enzimatik sistemleri açıklar. Bu, omurgalılarla ilgili steroidojenik yolların uyarıcılarına ve inhibitörlerine ilişkin bir *in vitro* tahlilin geliştirilebilmesi için temel sağlar (bkz. Steroidojenez üzerine OECD Taslak Ayrıntılı İnceleme Dokümanı, Mayıs 2002). Androjenleri östrojenlere dönüştüren aromataz enzimi üzerine özel bir araştırma odağı geliştirilmiştir (bkz. Aromataz üzerine OECD Taslak Ayrıntılı İnceleme Dokümanı, Şubat 2002).

Durum: Steroidojenez için gerekli tüm anahtar enzimleri ifade ettiği gösterilen H295 insan adrenokortikal karsinom hücre hattına bağlı bir teste ilişkin OECD kapsamında ön doğrulama çalışması devam etmektedir. ABD EPA, insan rekombinant aromatazı üzerinde ön doğrulama çalışmaları yürütmektedir.

Geliştirilmekte olan *in vitro* yöntemlerin durumuna ilişkin en son bilgiler ECVAM web sitesinden (<http://ecvam.jrc.it>) elde edilebilir.

İn vivo tarama ve test verileri

İlke: Sağlam organizmalar, en az birkaç hafta süreyle öldürücü olmayan çeşitli konsantrasyonlarda su ile birlikte kimyasala maruz bırakılır. Erkekler ve dişiler test edilir ve daha fazla araştırmayı tetiklemek veya ilgili olmadığı durumlarda sonuca varmak için bir dizi sonlanma noktası ölçülür. Biyobelirteç sonlanma noktaları taramada önemli bir rol oynayacaktır, üreme ve gelişimsel dönüm noktaları ise uzun süreli toksisite testinde değerlendirilecektir.

Durum: Şu anda, suda yaşayan organizmalarda potansiyel endokrin aktiviteye sahip maddelerin tanımlanması için onaylanmış *in vivo* tarama testleri veya endokrin aktiviteye sahip bir maddenin suda yaşayan organizmalar üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olup olmadığının araştırılmasına ilişkin test yöntemleri bulunmamaktadır. Ancak, bilimsel araştırmada bir dizi yöntem kullanılmaktadır (OECD Test ve Değerlendirme Serisi'ndeki 21, 55 ve 57 sayılı monograflara bakınız).

Bu tür yöntemlerin performansı, KKDİK'in asgari gerekliliğine dahil edilmemiştir, ancak bazı maddeler için (örneğin, bilimsel literatürden) ilgili bilgiler mevcut olabilir. Bu durumlar için mevcut yöntemlerin derlemesi, endokrin tarama testleri alanındaki mevcut gelişimin durumuna ilişkin bir yönlendirme ve daha eski çalışmaların değerlendirilmesine ilişkin referans olarak aşağıda verilmiştir. Aşağıdaki yöntemler, endokrin aktivitesinin belirlenmesi için düzenleyici kullanımın doğrulanması veya suda yaşayan organizmaların gelişimi ve üremesi üzerindeki kronik etkilerin karakterizasyonu için daha fazla geliştirme amacıyla seçilmiştir. Gelişimin, doğrulamanın ve düzenleyici kabulün farklı aşamalarında; 2006 yılındaki durumları aşağıda belirtilmiştir.

Omurgalılar

Balıkların cinsel hormon sistemiyle ilgili olarak, farklı biyolojik karmaşıklık seviyelerini kapsayan bir dizi yöntem geliştirme ve doğrulama aşamasındadır.

• **Tarama Testleri**

- 21 Günlük Balık Tarama Testi, Taslak Test Rehberi Önerisi (OECD, 2004)

Bu deney, cinsel olgunluğa erişmiş yetişkin organizmalarda östrojenik, androjenik veya aromataz enzimini inhibe edici maddelerin belirlenmesi için önerilmiştir. Birkaç yaygın balık türü ile yürütülebilir: zebra balığı, yassı kafalı golyan balığı, Japon pirinç balığı ve üç dikenli balık. Deney, 21 günü aşan bir sürede yürütülür. Temel sonlanma noktaları, serumdaki veya karaciğerdeki (Japon pirinç balığı) östrojenik denge bozukluklarını gösteren VTG seviyeleri ve androjenik dengenin bozulmasına yatkın olan cinsel açıdan dimorfik türlerde (zebra balığı hariç) ikincil cinsiyet özellikleridir. OECD doğrulama çalışmaları tamamlanmıştır ve meslektaş incelemesi 2007'nin başlarında gerçekleştirilmiştir (bkz. OECD Test ve Değerlendirme Serisi'ndeki 47, 60 ve 61 sayılı monograflar).

• **Doğrulayıcı Testler**

- Balık Cinsel Gelişim Testi, Taslak Test Rehberi Önerisi (OECD, 2006)

Bu yöntem, mevcut OECD Test Rehberi 210 (1992) Balık, Erken Yaşam Evresi (FELS) Toksikite Testinin bir uzantısı olarak önerilmiştir. İyileştirmeler, cinsel gelişime, yani gonadların histolojik incelemesiyle belirlenen cinsiyet oranına ve VTG üretimine odaklanır. Test, yaşam evrelerinin çok hassas bir aşamasında olan organizmalarda östrojen, androjen veya aromataz inhibitörü olarak görev yapan maddelerin endokrin aktiviteye ilişkin etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Birkaç yaygın test türü ile yürütülebilir: zebra balığı, yassı kafalı golyan balığı, Japon pirinç balığı ve üç dikenli balık. Test döllenmiş yumurtalarla başlar ve cinsel farklılaşma tamamlanana kadar (örneğin, balığın türüne bağlı olarak kuluçkadan çıktıktan 60 - 90 gün sonra) sürer. Danimarka'daki test geliştirme çalışmasının ardından, yassı kafalı golyan balığı ve zebra balığı için ilk OECD doğrulama çalışması kısa süre önce başlatılmıştır.

- Yassı Kafalı Golyan Balığında Üreme Testi, Taslak Test Rehberi Önerisi (ABD EPA, 2001):

Vitellogenin, ikincil cinsiyet özellikleri, gonad histopatolojisi, doğurganlık ve doğurganlık değerlendirmelerini içeren bir yassı kafalı golyan balığı üreme testi için taslak öneri, Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylanmaktadır.

Doğurganlığın günlük olarak kaydedildiği 21 günlük ön maruz kalmadan ve 21 günlük kimyasal maruz kalmadan oluşan testin süresi 42 gündür. ABD EPA doğrulama programı devam etmektedir ve gonad histopatolojisinin yorumlanmasına ilişkin rehber dokümanlar geliştirilmelidir.

- Balık Tam Yaşam Evresi Testi / 2 Nesilli Test

Bu testler, gelişim ve üremeyle ilgili sonlanma noktaları üzerindeki kronik etkilerin bir değerlendirmesine izin verir (bkz. OECD Balık İki Nesilli Toksikite Testi Taslak Ayrıntılı İnceleme Belgesi ve İki Nesilli Balık Testi Rehberi Önerisi, Mart 2003). Etkilerin nesiller arası aktarımının değerlendirilmesine izin veren tam test tasarımı, üreyen yetişkin balıkların (F0 nesli) maruz bırakılmasıyla başlar ve F2 neslinin yaşam içi biyolojik etkileri belirlenene kadar devam eder. Bu zaman noktası ve toplam test süresi, kullanılan türlere bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir.

Ölçümler, gelişimsel ve üreme sonlanma noktaları (kuluçka, cinsiyet oranı, sağkalım, büyüme, doğurganlık ve davranış) ile ayrıca endokrin bozukluğunun özel mekanizmasının göstergesi olan biyokimyasal, histolojik ve morfolojik belirteçleri içerir. Doğrulama hazırlık aşamasındadır. Bu tür testlerden elde edilen sonuçlar, AB öncelikli mevcut maddeler programında ve pestisitlerin kısıtlandırılmasında belirli önem arz eden maddelerin risk değerlendirmelerinde daha önce kullanılmıştır.

- 21 Günlük Amfibi Metamorfoz Testi, Taslak Test Rehberi Önerisi (OECD, 2005)

Bu deney, amfibi türlerinde tiroid hormon sistemini etkileyen kimyasalların tespiti için geliştirilmiştir (Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi, 46 sayılı monografa bakınız). Amfibilerin metamorfozu ve özellikle bu deneydeki test türlerinden biri olan *Xenopus laevis*, tiroid hormonu sinyaline bağlı olarak iyi çalışılmış bir olgudur. Gelişim aşaması, tüm vücut uzunluğu, arka bacak uzunluğu ve tiroid histolojisi test sırasında ölçülen sonlanma noktalarıdır. Deney 21 gün sürer; arka bacak uzunluğu 7 gün sonra ölçülür ve diğer sonlanma noktaları testin sonunda ölçülür. Test, amfibi metamorfozu ve büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerin karakterizasyonunun yanı sıra, diğer omurgalı türleri için de geçerli olabilecek bir tiroid bozucu etki şeklinin tanımlanmasına izin verir. Bu test yönteminin doğrulaması devam etmektedir.

Omurgasızlar

Suda yaşayan omurgasızların endokrin sistemleri, omurgalıların endokrin sistemlerinden önemli ölçüde farklıdır ve bu alandaki bilgiler daha az ileri bir seviyededir. Sonuç olarak, uzun süreli omurgasız testlerinde endokrine ilişkin özel sonlanma noktaları gelişimin sadece başlangıcında dikkate alınır (ayrıca OECD Test ve Değerlendirme Serisi, 55 sayılı monografa bakınız) ve bu durum ile sonuçları dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir:

• **Doğrulayıcı Testler**

- Geliştirilmiş Test Rehberi 211, *Dafniya magna* Üreme Testi, (OECD, 2006)

İlke: Bu yöntem, suda yaşayan eklembacaklı türlerinin hormon sistemi ile etkileşime giren kimyasalları, yani yavru balık hormonu veya ekdisteroidler gibi etki gösteren kimyasalları tespit etmeyi amaçlayan Test Rehberi 211'in bir geliştirmesidir. Mevcut Dafniya üreme testinde ölçülen geleneksel sonlanma noktalarına ek olarak, yeni sonlanma noktaları yavru cinsiyet oranı ve tüy dökülmesinin inhibisyonudur. Bu geliştirilmiş versiyon, mevcut Test Rehberi 211 ile aynı maruz kalma süresine sahiptir, ancak sonlanma noktalarının mikroskopik değerlendirmesi için daha fazla teknik çabaya ve zamana ihtiyaç vardır.

Durum: Doğrulama çalışması, Japonya'nın lider ülke olduğu OECD Test Rehberi programında devam etmektedir.

Deniz suyu veya nehir ağızı türleri için gelişim ve üremeyle ilgili sonlanma noktalarının değerlendirildiği diğer Test Rehberi projeleri devam etmektedir. Bu deneylerde özel olarak endokrin etki şekillerinin belirlenmesi amaçlanmamıştır:

- Kopepod Gelişimi ve Üremesi Testi, taslak Test Rehberi önerisi (OECD, 2005)

Bu test, deniz harpacticoid ve calanoid kopepod türlerinin gelişimini ve üremesini inceler. Yumurtalar veya kuluçkadan yeni çıkmış larvalar (< 24 saat) 20-26 gün boyunca maruz bırakılır. Sonlanma noktaları larva mortalitesi, larva gelişim hızı ve üreme başarısıdır. Doğrulama çalışması, OECD Test Rehberi programında lider ülke olarak İsveç ile devam etmektedir.

- Mysida 2 Nesilli Test, taslak Test Rehberi önerisi

Bu test, F0 nesillerinin kuluçkadan yeni çıkmış (< 24 saat) bireylerinden başlatılıp F1 neslinin ilk iki kuluçka dönemine (F2 nesli) kadar devam ettirilerek iki ardışık mysida neslinde (tercihen *Americamysis bahia*) üreme uygunluğunu değerlendirir. Testin süresi normalde 60 gündür veya 60 günden daha uzundur. Gözlemsel sonlanma noktaları; büyüme, olgunlaşma süresi, ilk kuluçkanın bırakılmasına kadar geçen süre, kuluçkalar arası süre, yavru sayısı ve cinsiyet oranını içerir. Ön doğrulama, OECD altında Amerika Birleşik Devletleri'nde devam etmektedir.

Bilgilerin değerlendirilmesi

Bu bölüm, kullanıcıya (örneğin, kayıt ettiren) bir maddenin (potansiyel) endokrin aktivitesi veya bunun suda yaşayan organizmalar üzerindeki üreme ve gelişimsel toksisitesiyle ilgili bilgilerin yeterliliğini (yani güvenilirliği ve ilgi seviyesini) değerlendirmesinde ve sıralamasında yardımcı olmaya çalışır. Bu tür bilgilerin KKDİK bilgi gerekliliklerinin bir parçası olmaması sebebiyle, aşağıdaki hususların bu bilgilerin mevcut olduğu durumlar (örneğin, bilimsel literatürden veya bir yetkili merci tarafından özellikle talep edildiği durumlarda ve maddenin değerlendirilmesi sırasında) için geçerli olması beklenmektedir. Bu, bilgilerin duruma göre dikkatle değerlendirilmesi gereken nispeten yeni bir test ve değerlendirme alanıdır.

Test dışı veriler

QSAR sonuçlarının değerlendirilmesi, 1) modelin geçerliliğinin değerlendirilmesi ve 2) bireysel model tahmininin güvenilirliğinin değerlendirilmesinden oluşur. Yol gösterici ilkeler, sucül toksisiteye ilişkin ana metinde ve TRD'ye genel girişte açıklanmıştır.

Gruplama yaklaşımlarının (çapraz okuma ve kimyasal kategoriler) uygulanmasına ilişkin rehberlik genel giriş bölümünde sağlanmaktadır.

Aktif ve inaktif kimyasalların arasında bir ayırımın yapılması amaçlandığı durumlarda, modelin geliştirilmesi için aktivite sınıfının tahsis edilme şekline özel bir dikkat gösterilmelidir. Eşik değerin sürekli verilerden ikili sınıflandırmanın elde edilmesi amacıyla kullanıldığı durumlarda model tahmininin geçerliliği tartışılırken bu eşik değerin açık bir şekilde tanımlanması gerekir.

Genel olarak sınıflandırma modelleri, sürekli değerlerin tahmin edildiği modellere göre daha yüksek bir doğruluk gösterme eğilimindedir, ancak sınırdaki tahminler ek değerlendirme gerektirecektir. Bununla birlikte, her iki model türü de OECD ilkelerine göre değerlendirilmeli ve (Q)SAR ile ilgili kesişen rehberde açıklanan yaygın olarak karşılaşılan tuzaklardan (örneğin bir eğriye aşırı uyumlanan modeller) kaçınılmalıdır. Çeşitli veri setlerinden türetilen küresel modeller, genellikle daha büyük uygulanabilirlik alanlarına sahiptir, ancak bu veri setlerinin ilgili özel bir kimyasal için mevcut olması halinde yerel modeller tercih edilebilir. Yapısal uyarıları oluşturan yapısal özelliklerin anlaşılması oldukça istenilen bir durumdur ve modeller ile tanımlayıcı kombinasyonlarının mekanistik yorumu araştırılmalıdır. Son olarak, birkaç modelin kullanımının tahmine olan güveni artırması beklenir, ancak çelişen sonuçların olması durumunda uzman değerlendirmesi gerekebilir (örneğin, kimyasalın sınıflandırma modelinde aktif olduğu tahmin edilir, ancak bir etki gücü modelinde aktivitesinin son derece düşük olması veya tam tersi beklenir).

Verilerin taranması ve test edilmesi

In vitro tarama verileri

In vitro testlerden elde edilen bilgilerin yeterliliğinin değerlendirilebilmesi için yol gösterici ilkeler, TRD'ye genel girişte ve ayrıca sucül toksisite ile ilgili ana metinde açıklanmıştır (potansiyel endokrin aktivitesinin değerlendirilmesi için memeli sistemlerinden elde edilen verilerin suda yaşayan organizmalarla ilgili bilgiler sağlayabileceği belirtilmelidir).

In vivo tarama verileri

In vivo verilerin güvenilirliğinin ve uygunluğunun değerlendirmesiyle ilgili yol gösterici ilkeler, bu rehber dokümanın genel bölümlerinde açıklanmıştır. Ayrıca, ana metinde sucül toksisite ile ilgili ayrıntıları verilen sucül test sistemlerine ve organizmalara ilişkin özel hususların çoğu geçerlidir.

Kimyasalların endokrin aktivitesinin araştırılmasına yönelik *in vivo* çalışmaların amacı, 1) kimyasalın suda yaşayan organizmaların endokrin sistemi üzerinde aktif olup olmadığını (örneğin, östrojenik aktivitenin göstergesi olarak vitellogenin indüksiyonu) ve 2) bu mekanizmanın uzun süreli çalışmalarda olumsuz etkiye (örneğin, yavru sayısında azalma, gelişen organizmalardaki cinsiyet oranı üzerindeki etkisi) neden olup olmadığını belirlemektir.

- 21 Günlük Balık Tarama Testi, taslak Test Rehberi önerisi (OECD, 2004)

Sonuçların anlamlı olabilmesi için, kontrol erkeklerinden ve dişilerinden elde edilen vitellogenin verilerinin literatürde bildirilen ve taslak test rehberinde belirtilen aralığın içinde olması gerekir. Test sonuçlarının pozitif olarak değerlendirilebilmesi için, öldürücü olmayan konsantrasyonda önemli cevaplar gözlemlenmelidir (örneğin, LC₅₀'nin 0.5 veya 0.1 katı sonucunda elde edilen değerin daha fazla tartışılması ve anlaşmaya varılması gerekir). Önemli olarak, homolog bir ELISA yöntemi (aynı türlerden ve homolog antikordardan standart VTG kullanılarak) kullanılmalıdır.

Herhangi bir biyolojik numune kaybı ve protokolden herhangi bir sapma rapor edilmelidir. Östrojenik etki şekilleri için negatif olan bileşikler ve VTG sonlanma noktası için yanlış pozitif oranı ile ilgili deneyimlerin sınırlı olması sebebiyle, mevcut durumda pozitif sonuçlarla ilgili dikkatli olunması gerekir.

Androjenik maddelerin değerlendirilmesinde androjenik uyarımla ilgili bir sonlanma noktasının belirlenebilmesi amacıyla gerekli özelliklere sahip olan (örneğin, ikincil cinsiyet özellikleri veya dikenli balıkta spiggin indüksiyonu gibi androjene hassasiyeti bulunan bir biyokimyasal belirteç) bir balık türü kullanılmalıdır. Androjen aktivitesinden şüphelenildiği durumlarda yassı kafalı golyan balığı, Japon piring balığı veya dikenli balık, bu nedenle bir balık tarama testinde önerilen test türlerindedir. Zebra balığı, androjenik maddelerin bu testte değerlendirilebilmesi için uygun değildir.

Bu testte ölçülen sonlanma noktalarından hiçbir cevap elde edilmemesi, maddenin in vivo balıklarda östrojen veya androjen agonisti veya aromataz inhibitörü/östrojen antagonisti olarak hareket etmediğini gösterir. Bununla birlikte, böyle bir test bileşiği henüz araştırılmamış diğer mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirilen endokrin aktiviteye sahip olabilir. Gelişimsel parametreleri ve üreme parametrelerini içeren kısmi ve tam yaşam evreleri çalışmaları ile birlikte bu veriler, kapsanan endokrin etki şekilleri aracılığıyla olumsuz etkilerin meydana gelip gelmediğine ilişkin yapılan bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinde kullanılabilir.

In vivo test verileri

- Balık Cinsel Gelişim Testi, taslak Test Rehberi önerisi (OECD, 2006)

Mevcut Test Rehberi 210, bir maddenin balıkların sağkalımı, büyümesi ve gelişmesi üzerindeki olumsuz etkilerinin karakterizasyonu için uygundur. Gelişmiş veya ayrı bir Test Rehberi'ne bağlı olarak önerilen uzantı, cinsiyet oranının ve vitellogenin üretiminin temel sonlanma noktaları olduğu cinsel gelişimin daha ayrıntılı bir değerlendirmesine odaklanır. Verilerin değerlendirilmesine ilişkin tartışma ve dikkat, cinsiyet oranı sonlanma noktasının istatistiksel analizine ve yorumuna odaklanmalıdır. Kontrol popülasyonlarında cinsiyet oranındaki doğal yüksek değişkenlik (yani erkek/dişi oranı doğal olarak %35 - %65 arasında değişebilir) nedeniyle sonuçların yorumlanmasıyla ilgili endişeler olabilir. Sonuç olarak, EC_x'teki "x" değeri mevcut durumda bir regresyon analizine ilişkin soruya neden olmaktadır (yani x = 10 gerçekçi değildir, x = 25 mümkün olabilir). Alternatif olarak, testin amacı LOEC/NOEC tespiti ise, tekrarlar arası değişkenliği dengelemek ve testin yeterli gücünü korumak için çok sayıda tekrar kabı (> 4) gereklidir. Testin başlangıcında kullanılan yumurta gruplarındaki sayıyı arttırmak (minimum 5) gibi cinsiyet oranının değişkenliğini dengelemek için de çözümler mevcuttur. Bu testten elde edilen veriler değerlendirilirken, bu tür test parametrelerine ve test rehberinde belirtilen geçerlilik kriterlerine uyulmasına dikkat edilmelidir.

- Yassı Kafalı Golyan Balığında Üreme Testi, taslak Test Rehberi önerisi (ABD EPA, 2001):

Toksik cevabın özel üreme toksisitesinin bir göstergesi olup olmadığını ayırt etmek için doğurganlığa ve gonadlara ilişkin histopatolojik bulgular değerlendirilirken dikkatli olunmalıdır. Bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında verilerin analizi öngörülür ve bu veriler belgelendirilmelidir. Veriler, özellikle gonad histopatolojisi için şeffaf bir şekilde raporlanmalıdır. Böylece, bu verilerin gözlemlenen cevapların niteliği ve güvenilirliği ile sonuçların üreme kapasitesi üzerindeki etkilerin nedenine ilişkin bir sonuca varmak için yeterli olup olmadığı hususunda şeffaf bir yargıya varılabilir.

ABD'de ve OECD'de patolojılara numunelerin hazırlanması ve lamaların standartlara uygun bir şekilde değerlendirilmesi hususunda yardımcı olabilmek amacıyla rehber belgeler hazırlanmaktadır.

- Balık Tam Yaşam Evresi Testi / 2 Nesilli Test

Bu testler, apikal gelişimsel ve üreme sonlanma noktalarının değerlendirilmesine izin verir. Bu çalışmalarda gözlemlenen etkiler, suda yaşayan omurgalılara ilişkin kronik toksisitenin değerlendirilmesiyle büyük ölçüde ilgilidir. İçsel varsayım, bu sonlanma noktalarından türetilen etki seviyelerinin popülasyonların korunması hususunda uygun olduğudur. Bununla birlikte, sonlanma noktaları herhangi bir özel endokrin etki şekli için belirleyici veya özel değildir.

- 21 Günlük Amfibi Metamorfoz Testi, taslak Test Rehberi önerisi (OECD, 2005)

Bu test, bir maddenin tiroid sistemi ile etkileşiminin belirlenmesine izin verir. Bu test, maddenin büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyebileceğine dair bazı göstergelerin olması halinde etki şeklinin (yani tiroid) doğrulanması amacıyla kullanılabilir. Tiroidin omurgalılarda büyük ölçüde korunması sebebiyle, 21 Günlük Amfibi Metamorfoz Testi'nden elde edilen olumsuz bir cevap, maddenin herhangi bir omurgalı taksonunda tiroid sistemini etkilemediğini gösterir. Olumlu bir cevap, zararlılık ve etki seviyelerinin türetilmesi hususunda bir sonuca varılabilmesi amacıyla kronik testlerle birlikte kullanılabilir.

- Omurgasızlarda gelişimsel ve üreme sonlanma noktalarını içeren yaşam evresi testleri

Omurgasızların yaşam evresi omurgalıların yaşam evrelerinden farklıdır ve farklı endokrin sistemler tarafından kontrol edilir. Hormonlar, bazı durumlarda (örneğin, yumuşakçalar) omurgalılarda bulunan steroidlere benzer olabilirken, diğer durumlarda (örneğin, suda yaşayan eklembacaklılar) yavru hormonu veya ekdisteroidler gibi belirli omurgasız gruplarına özeldir.

Yaşam evresi veya çoklu nesil çalışmaları gibi omurgasızlara ilişkin test yöntemleri, belirli omurgasız grupları (önerilen iyileştirme hariç mevcut Dafniya üreme testi) için herhangi bir özel endokrin etki şeklini tanımlamak yerine, popülasyonla ilgili olmayan üreme ve gelişimsel sonlanma noktalarına odaklanır.

- Dafniya magna Üreme Testi üzerine geliştirilmiş OECD Test Rehberi 211, taslak Test Rehberi önerisi, 2005;

Test sonuçlarının değerlendirilmesine ilişkin yöntemler, mevcut OECD Test Rehberi 211'deki yöntemlerden farklı değildir. Ek sonlanma noktalarının değerlendirilmesi, gelişim ve üreme üzerinde gözlemlenen etkilere mekanik bir bakış açısı sağlar. Yavruların cinsiyet oranını etkileyebilecek çeşitli test koşullarının (örneğin sıcaklık, gıda varlığı) bu partenogenik organizmalardaki endokrin etki şekline özgü olmaması sebebiyle, dafnidlerdeki cinsiyet oranındaki değişiklikler yorumlanırken dikkatli olunmalıdır. Cinsiyet oranı sonlanma noktasındaki değişikliklerin düzenleyici yorumu mevcut durumda yenidir ve daha fazla tartışma gerektirir.

Son zamanlarda suda yaşayan omurgasızlara ilişkin yeni üreme ve gelişim analizleri önerilmiş ve bu analizler Bölüm 3'te listelenmiştir. Bu öneriler üreme ve gelişme ile ilgili sonlanma noktalarına dayanmaktadır ve herhangi bir endokrin etki şeklinin belirlenmesine ilişkin ek göstergeler içermez.

Bu testlerden hiçbiri düzenleyici rehberler aşamasına ilerlememiştir ve mevcut durumda KKDİK mevzuatındaki Ek 7 - Ek 10 ile hiçbiri zorunlu kılınmamıştır.

- Memeli toksisite verileri

Memeli *in vitro* ve *in vivo* tarama deneylerinden elde edilen sonuçlar, suda yaşayan omurgalı türleri için de geçerli olan endokrin etki şekillerinin hem pozitif hem de negatif göstergelerini sağlamalıdır.

Memelilerde tekrarlı doz toksisitesi, uzun süreli toksisite ve kanserojenite, üreme veya gelişimsel toksisite üzerine çalışmalar, sucul omurgalı türleri için de geçerli olan endokrin etki şekillerinin hem pozitif hem de negatif göstergelerini sağlayabilir.

Bu tür verilerin değerlendirilmesine ilişkin ayrıntılı rehberlik için İnsan Sağlığı Zararlılık Değerlendirmesi bölümünün ilgili başlıklarına başvurulmalıdır.

Bu verilerin, suda yaşayan organizmalardaki endokrin aktivitenin bütünlük bir değerlendirilmesinde yorumlanması ve kullanılması, bu Ek'in 6. bölümünde özetlenmiştir.

Endokrin aktiviteye ilişkin sonuçlar

Bu bölümün amacı, bir maddenin endokrin aktivitesi ve bu tür bir aktiviteden kaynaklanabilecek olumsuz etkilere ilişkin bilgilerin, düzenleyici sonlanma noktalarının sınıflandırılması ve etiketlenmesi, PBT değerlendirmesi, kimyasal güvenlik değerlendirmesi ve Madde 47'de belirtildiği gibi endokrin bozucu özelliklerin değerlendirilmesine ilişkin sonuçlar için dikkate alınmasının gerekli olup olmadığına ve nasıl yönlendirileceğine dair rehberlik sağlamaktır.

Sınıflandırma ve Etiketlemeye ilişkin bilgilerin uygunluğu

Uzun süreli toksisiteye neden olabilecek endokrin aktivitesinin bozulması, genellikle kısa süreli ve kronik toksisite testlerinden elde edilen bilgilere dayanan mevcut sisteme göre yapılmış bir sınıflandırma için uygun değildir. İstisnalara ilişkin bir temel, 'temel kriter seti' (SEA Yönetmeliği uyarınca Sucul akut 1; H400, Sucul Kronik 1; H410, Sucul Kronik 2; H411, Sucul Kronik 3; H412) kapsamına girmeyen maddeler için 'güvenlik ağı' kategorileri tarafından sağlanır.

SEA Yönetmeliği'nin Zararlılık beyanına göre (güvenlik ağı sınıflandırması altında) H413 atanabilir.¹¹ Bu sınıflandırmalara ilişkin tanımlanmış kriterler bulunmamaktadır, ancak endokrin bozucu özelliklerin göz önünde bulundurulabilmesi için bisfenol A'nın sınıflandırılması sırasında her ikisi de önerilmiş ve tartışılmıştır. Böyle bir karar, bir maddenin suda yaşayan organizmaların gelişimi veya çoğalması üzerinde olumsuz etkilere neden olduğuna dair kanıt sağlayan ve tarama deneylerinin yerine, 3. ve 4. bölümlerde ayrıntıları verilen testler gibi uygun ve uzun süreli doğrulama testlerinden elde edilen bilgilere dayanmalıdır.

¹¹ SEA Yönetmeliği, Ek 1, Bölüm 4.1.2.4 uyarınca, mevcut veriler akut 1 veya kronik 1 - 3 için resmi kriterler altında sınıflandırmaya izin vermediğinde ancak yine de endişelenmek için bazı gerekçeler olduğunda kullanılmak üzere bir "güvenlik ağı" sınıflandırması (Kronik Kategori 4 olarak anılır) bulunur.

PBT/vPvB değerlendirmesine ilişkin bilgilerin uygunluğu

Bir maddenin tatlı su veya deniz suyu organizmaları açısından T kriterini karşılayıp karşılamadığına ilişkin değerlendirme (uzun süreli NOEC/EC10 < 0.01 mg/l), genellikle KKDİK Yönetmeliği, Ek 7 - Ek 10'da belirtildiği gibi standart uzun süreli toksisite testlerinin sonuçlarına dayanır. Balıklarda standart toksisite testi, büyüme ve mortalitenin değerlendirilmesine bağlıdır. Bununla birlikte bazı maddeler, büyümeyi veya sağkalımı etkileyen madde konsantrasyonlarının altındaki konsantrasyonlarda öldürücü olmayan kronik etkilere neden olabilir ve bu da cinsel gelişim veya üreme performansının bozulması gibi sucul ortam için ciddi bir endişe kaynağı olabilir.

Balıklarda üremeye veya gelişimsel etkilere ilişkin bilgiler KKDİK Ek 7 - Ek 10 gerekliliklerinin bir parçası değildir ancak bu bilgiler bazı maddeler için (örneğin, bilimsel literatürden) mevcut olabilir. 3. ve 4. bölümlerde açıklanan Balık Cinsel Gelişim Testi, Üreme Testi veya Tam Yaşam Evresi / İki Nesilli Test gibi uygun uzun süreli çalışmalar, üreme veya cinsel gelişim üzerindeki belirli toksisiteyi incelemek için tasarlanmış çalışmalardır. Bu tür çalışmalardan türetilen ve popülasyon seviyesini etkileyebilecek şekilde üremeye ilişkin yaygın olarak kabul gören parametreler yumurta sayıları, döllenme oranı, kuluçkadan çıkma süresi, kuluçka oranı ve cinsiyet oranıdır. Bu bilgi, uygun bir uzun süreli çalışmadan türetilmiş ve 4. bölümde belirtilen ilkelere göre yeterli olarak değerlendirilmişse, PBT değerlendirmesinin bir parçası olarak kronik toksisitenin değerlendirilmesinde kullanımı dikkate alınmalıdır.

Balık gonad histolojisindeki veya spermatogenezindeki değişikliklerin önemi ve bunların olumsuz etkiler olarak kabul edilip edilmeyeceği tartışmalıdır. İkincil cinsiyet özelliklerinde veya vitellogenin veya spiggin gibi biyokimyasal parametrelerde neden olunan değişiklikler, bir maddenin uzun süreli olumsuz etkilere yol açabilecek belirli bir endokrin etki şekli aracılığıyla hareket ettiğinin kanıtı olarak kabul edilir. Bu tür parametrelere ilişkin bilgilerin tek başına kullanımı PBT/vPvB değerlendirmesi için uygun değildir, ancak Bakanlığın madde değerlendirmesi sırasında olası uzun süreli olumsuz etkilerle ilgili daha fazla araştırmanın talep edilebilmesi için temel oluşturabilir.

Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesine ilişkin bilgilerin uygunluğu

Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinde (KGD) öldürücü olmayan uzun süreli etkilere ilişkin bilgilerin kullanımı, genellikle PBT değerlendirmesi için yukarıda ana hatlarıyla belirtilen aynı ilkelere göre değerlendirilmelidir.

Bir endokrin etki şeklinin olumsuz etkiye neden olduğu sonucunun, risk değerlendirmesinde kullanılan değerlendirme faktörünün bir değişikliğini doğrulayıp doğrulamadığı tartışmaya tabidir. Bu tartışmanın daha da ilerletilebilmesi için, bu konuyla ilgili olarak TRD 2003'te yer alan hükmün akılda tutulması yararlı olabilir: *Genel olarak, değerlendirme faktöründeki değişikliğin gerekçesi aşağıdakilerden birini veya daha fazlasını içerebilir: (...) Endokrin bozucu etkiler dahil olmak üzere etki şekli bilgisi (s. 100).*

Uygun değerlendirme faktörünün seçimine ilişkin daha fazla rehberlik Bölüm R.10'da sağlanmaktadır.

Madde 49 (6) ile ilgili olarak değerlendirmeye ilişkin bilgilerin uygunluğu

Madde 47 (1)(e)'ye göre, izne tabi maddelerin listesi (Ek 14), "insan sağlığı ve çevreye yönelik olarak ciddi etkiler taşıma olasılıkları olduğuna ilişkin bilimsel kanıt bulunan ve ...vaka bazında tanımlanan endokrin bozucu özelliklere sahip, kalıcı, biyobirikimli ve toksik ya da çok kalıcı ve çok biyobirikimli olan, (ç) ya da (d) bentlerinde belirtilen kriterlere uymayan özelliklere taşıyan" maddeleri de içerebilir.

Bu tür maddelerin tanımlanması Bakanlığın sorumluluğu olup, teklifi gerekçelendirmesi ve endişeyi belirtmesi gereken bir Ek 15 dosyasının hazırlanmasıyla yürütülürken, çevresel zararlılık bilgilerinin değerlendirilmesi bu durumun temelini oluşturacaktır. Önceki bölümlerde ana hatları verilmiş ilkelere uygun olan bir maddeye ilişkin mevcut bilgiler, şu sonucu desteklemeye uygunluğu açısından değerlendirilebilir:

- Endokrin bozucu özelliklerin bir göstergesi veya kanıtı mevcuttur (KKDİK Yönetmeliği'nden doğrudan alıntılanan bu ifadenin yerine, daha uygun bir terim olan endokrin aktivitesi veya etki şekli bu Ek boyunca kullanılır)
- Bu özelliklerden dolayı (bu Ek'in "gelişme ve/veya üreme üzerindeki olumsuz etkiler" terminolojisi dahilinde) sucul ortam üzerindeki olası ciddi etkilere ilişkin bilimsel kanıt mevcuttur.

Suda yaşayan organizmalardaki potansiyel endokrin aktivitesinin göstergesi, moleküler yapı ile ilgili hususlar aracılığıyla ve bölüm 3 ve 4'te özetlendiği üzere endokrine özgü *in vitro* tarama deneylerinden elde edilen bilgilerle veya memeli toksisitesi çalışmalarından elde edilen mevcut bilgilerle sağlanabilir. Ancak, mevcut durumda yapısal verilerin tek başına kullanımının yetersiz bir temel olarak görülmesi gerekir.

Sucul organizmalardaki endokrin bir etki şeklinin kanıtı, endokrine özgü çalışmalarda ölçülen biyokimyasal, histolojik veya morfolojik değişikliklere ilişkin bilgilerle sağlanabilir. Bu tür bilgilerin oluşturulması KKDİK kapsamında standart bir gereklilik değildir ancak madde değerlendirmesi sırasında belirli durumlarda (örneğin, yukarıda listelenen uyarılar gibi mevcut uyarıların temelinde) Bakanlık tarafından talep edilebilir.

Endokrin bozucu özelliklerin neden olduğu sucul ortamdaki olası ciddi etkilerin kanıtı, 3. ve 4. bölümlerde ana hatları verilen uygun uzun süreli çalışmalardan elde edilebilen, gelişme veya üreme üzerindeki olumsuz etkilere ilişkin bilgileri kapsayabilir. Bununla birlikte, üreme veya gelişimsel toksisiteye başka toksikolojik mekanizmalar da neden olabilir ve belirli endokrin etki şekillerine ilişkin bilgilerle birlikte olumsuz etkilere ilişkin tüm mevcut bilgilerin dikkate alınmasıyla, *Kanıt Ağırlığına* bağlı olarak duruma göre bir karara varılmalıdır. Bu tür bilgilerin standart bir gereklilik olmadığı tekrar belirtilmelidir.

Bazı durumlarda (örneğin, bilimsel literatürden ve bir maddenin endokrin etki şekli aracılığıyla hareket ettiğine dair mevcut bilgilerin bulunması halinde, madde değerlendirmesi kapsamında Bakanlık tarafından talep edilebilir) mevcut olabilir.

Genel sonuç, maddenin değerlendirilmesi kapsamında yetkili makam tarafından özel talep üzerine oluşturulan mevcut bilgi veya bilgilere dayalı olarak, maddenin endokrin bozucu özelliklerinin varlığı veya olmaması ve olumsuz etkilerin karakterizasyonu üzerine olmalıdır. Madde 49'da belirtildiği üzere, eşdeğer bir endişe düzeyi üzerine karar vermek kayıt ettirenin sorumluluğunda değildir. Bu görev, çok yüksek önem taşıyan maddelerin belirlenmesi ve nihai olarak Ek 14'e dahil edilmesi için Ek 15'e göre bir dosya hazırlayan ilgili kurumun veya ÇŞB'nin sorumluluğundadır.

Potansiyel endokrin aktivitenin bütünleşik değerlendirmesi

Aşağıda, bir maddenin potansiyel endokrin aktivitesine ilişkin mevcut tüm bilgilerin bütünleşik değerlendirmesi için bir strateji önerilmektedir (şemaya bakınız). OECD tarafından, artan biyolojik karmaşıklık seviyesine göre kategorize edilen yöntemler ile bir araç kutusu sağlayan endokrin bozukluğunun test edilmesi ve değerlendirmesine ilişkin bir kavramsal çerçeve içinde geliştirilen kavramları ele alır (OECD, 2002).

Bu bölüm, endokrin aktiviteye ilişkin mevcut bilgilerin nasıl toplanacağı ve değerlendirileceği ve bunun KKDİK'in amaçları ve gereklilikleri ile nasıl ilişkili olabileceği hakkında daha önce ana hatları verilen bilgileri özetlemeyi amaçlamaktadır.

Şu anda mevcut bilgi, deneyim ve metodolojinin çoğu omurgalıların cinsel hormon (östrojenler/androjenler) sistemiyle ilgilidir ve suda yaşayan türlerden en kapsamlı olarak incelenen tür balıktır. Amfibilerde tiroid sistemi konusunda da ilerleme kaydedilmektedir. Omurgasız türlerinin ve bunların yavru veya ekdisteroid hormonları gibi farklı endokrin sistemlerinin kapsanması azdır.

Önerilen değerlendirme stratejisinde, üç tür bilgi ayırt edilir: suda yaşayan organizmalardaki potansiyel endokrin aktiviteyi gösteren ön bilgiler; sağlam bir sucul organizmada belirli endokrin etki şeklini gösteren bilgiler; endokrin aktivitesinin yanı sıra diğer toksisite mekanizmalarının neden olabileceği uzun süreli olumsuz etkilerin karakterizasyonuna izin veren bilgiler.

1. Suda yaşayan organizmalardaki potansiyel endokrin aktivitesinin ön göstergesi

Sucul ortam için önemli olma ihtimali bulunan, ancak sucul toksisite testi dışındaki bilgi kaynaklarından elde edilen potansiyel endokrin aktivitesinin ön göstergeleri, standart bilgi gerekliliklerinin bir parçası olmayan ancak belirli durumlarda (örneğin, bilimsel araştırmalardan) mevcut olan tüm maddeler için geçerli olabilecek molekül yapısı değerlendirmelerini ve in vitro tarama testlerinin sonuçlarını içerir. Omurgalı türleri için geçerli olan ön göstergeler, belirli bir dereceye kadar standart bilgi gerekliliklerinin bir parçası olabilecek memeli toksisitesi testlerinin sonuçlarından da elde edilebilir.

Test dışı bilgiler (molekül yapısı):

Test dışı yöntemler aracılığıyla bilgi üretmenin farklı yaklaşımları 3. ve 4. bölümlerde özetlenmiştir. Omurgalıların steroid cinsel hormon sistemi ile ilgili olarak, deneysel verilere bağlı geliştirilmekte olan bir dizi QSAR modeli mevcuttur. Yapı aktivite ilişkileri, çapraz okuma veya sınıflandırmalar gibi nitel yaklaşımlar, bilinen tüm endokrin sistemlerle ilgili olarak doğal hormonlar veya onaylanmış hormonal aktiviteye sahip ksenobiyotik maddeler arasındaki benzerlikleri dikkate alabilir.

Test dışı veriler alanında, tarama ve önceliklendirme amaçları için mantıklı ve kademeli bir yaklaşım uygulanabilir (Tong ve ark., 2003). Bu tür bir yaklaşım, reddetme filtreleriyle başlayabilir (örneğin, 94'ten düşük veya 1000'den yüksek moleküler ağırlığın östrojen bağlanma afinitesiyle ilişkili olması muhtemel değildir), nitel aktivite ataması için modeller (örneğin, aktif veya inaktif bileşikler olarak sınıflandırma) ve ardından kimyasalın önceki adımın bir sonucu olarak aktif olduğu tahmin edilmesi durumunda etki gücünün nicel tahmini için modellerin uygulamasını içerebilir. Son adım, önceki adımların sonuçlarının değerlendirilmesine insan bilgisi ve uzmanlığının dahil edilmesini içerir ve detaylandırma için ek kurallar uygulanabilir.

Tahmin edilen sonlanma noktası ile ilgili olarak mekanik sonlanma noktaları (yani, esas olarak tanımlanmış bir moleküler hedef ile etkileşimler), biyokimyasal tepkilerle ilgili sonlanma noktaları (tarama deneyleri) veya *in vivo* olumsuz etkiler (kesin testler) arasında bir ayırım yapılmalıdır. Bunlar arasında, endokrin bozukluğuna yönelik test yöntemleri alanında yoğun bir araştırmanın devam etmesi sebebiyle bu belgede yer alan yöntemlerden türetilen sonlanma noktaları öncelikli olarak değerlendirilmelidir. Genelde test dışı verilerin değerlendirilmesinde olduğu gibi, bağlı oldukları deneysel verilerin kalitesi (örneğin, tek bir kaynaktan mı yoksa farklı kaynaklardan mı derlendiği) de önemli olabilir.

In vitro tarama testlerinden bilgiler:

Bilimsel araştırmada kullanılan her türlü endokrin sisteminin ve mekanizmasının incelenmesine ilişkin *in vitro* sistemlerin bulunmasına rağmen, bugüne kadarki en ilgili yöntemler, 3. bölümde açıklanan cinsel steroid hormonlarıyla ilgili olan yöntemlerdir. *In vitro* tiroid reseptörü bağlanma testleri gibi diğer testler gelecekte daha önemli hale gelebilir.

Bir maddenin bir memeli hormonunun reseptörüne bağlanma, hormona hassasiyeti olan genlerin transkripsiyonunu aktive etme veya bir memeli hücre hattında steroid hormonu biyosentezi ile etkileşime girme yeteneği, omurgalı taksonlarında endokrin sistemlerin moleküler bileşenlerinin yüksek derecede korunması göz önünde bulundurulduğunda sucul omurgalılarda benzer bir aktiviteyi önerebilir.

Test sonuçlarının ilgi düzeyiyle ilgili olarak, *in vivo* moleküler yapıların ve düzenleyici yolların çeşitliliği ve karmaşıklığına karşı *in vitro* tek bir etki mekanizmasına odaklanma; bazı test sistemlerindeki eksik veya sınırlı metabolik kapasite; bir maddenin toksikokinetik dağılımı, moleküler hedeflerinin organa veya dokuya özgü ifadesi, geri bildirim düzenlemeleri veya adaptasyon mekanizmaları gibi karmaşık fizyolojik süreçlerin göz ardı edilmesi gibi *in vitro* yöntemlerin genel sınırlamaları geçerlidir.

Memeli toksisitesi testlerinden bilgiler:

Tekrarlı doz toksisitesi, uzun süreli toksisite ve kanserojenite, üreme ve gelişimsel toksisiteye ilişkin standart çalışmalar veya memelilerde özel endokrin mekanizmalarıyla ilgili standart dışı çalışmalar, suda yaşayan omurgalılar için de geçerli olabilecek endokrin aktivitesine ilişkin göstergeler sağlayabilir.

Bu, cinsel hormon sistemiyle ilgili olarak endokrine hassasiyeti olan dokulardaki (gonadlar, ikincil cinsel organlar), üreme fonksiyonları (östrus döngüsü, spermatogenez, çiftleşme davranışı, doğurganlık, gebelik, doğum veya laktasyon) veya gelişimsel işaretlerdeki (örneğin, anogenital mesafe, vajinal açıklık, prepusyal ayrılma) değişiklikleri içerir. Bu değişikliklerin tümü, steroid hormon reseptörleri ile etkileşimler veya steroid hormonlarının biyosentezi, taşınması ve metabolizması gibi suda yaşayan omurgalılarda da mevcut olan moleküler yollar üzerindeki etkiden kaynaklanıyor olabilir.

Tiroid aktivitesinin göstergeleri arasında gelişimsel bozukluklar, tiroid bezinin histopatolojik değişiklikleri veya (rutin olarak araştırılmayan) tiroid hormonu seviyeleri bulunur.

Kanıt Ağırlığı:

Aynı kimyasala ilişkin farklı kaynaklardan elde edilen bilgilerin mevcut olması halinde, genel sonuç için aşağıdaki sorular dikkate alınmalıdır: Bilgiler tutarlı mı yoksa birbirleriyle çelişiyor mu? Çelişkili verilerin mevcut olması halinde, her bir bilgi parçasının kalitesi, suda yaşayan organizmalarla biyolojik ilgisi ve son olarak genel düzenleyici karara ilişkin bu tür bilgilerin potansiyel etkisi Bölüm 4'te açıklanan ilkelere göre değerlendirilmelidir.

2. Suda yaşayan sağlam organizmalarda özel endokrin aktivitesinin belirlenmesi

Bir maddenin suda yaşayan organizmalarda belirli bir endokrin etki şekli ile çalışabileceğine dair kanıt, yalnızca özel ve endokrine hassasiyeti bulunan sonlanma noktalarının incelemelerinden elde edilebilir. Bunların hiçbirisi standart sucul toksisite testi kapsamında değildir. Bununla birlikte, endokrine özgü tarama deneyleri, hem memeli kemirgenler (uterotrofik ve Hershberger deneyleri) hem de suda yaşayan omurgalılar (21 günlük balık tarama deneyi ve amfibi metamorfoz deneyi) için geliştirme ve doğrulama aşamasındadır.

Endokrine özgü sucul testlerde, balıklardaki vitellogenin östrojenlere (erkeklerde indüksiyon) ve aromataz inhibitörlerine (dişilerde baskılama); ikincil cinsel özellikler androjenlere (dişilerde indüksiyon) cevap verir. Spiggin özellikle üç dikenli balık için, (anti-)androjenik etki şekillerinin özel olarak karakterize edilmesi ile ilgili araçları da sağlayabilir. Diğer biyokimyasal parametreler (örneğin, hormon seviyeleri) veya spermatogenez bozukluğu dahil olmak üzere gonadların histopatolojik değişiklikleri gibi sonlanma noktalarının özelliği ve önemi tartışılmaktadır. 21 günlük Balık Tarama Testi'ne dahil edilen özel sonlanma noktaları, daha yüksek seviyeli kronik testlerle bağlantılı olarak da değerlendirilebilir. İzole edilmiş bilgi olarak, biyobelirteç yanıtları yasal sonuçlar için kullanılamaz. Özellikle çevresel maruz kalması, kalıcılığı ve/veya biyobirikimi yüksekse, söz konusu maddenin uzun süreli ciddi olumsuz etkilere neden olabileceğine dair güçlü bir endişe uyandırabilirler. Böyle bir endişe, dosya veya madde değerlendirmesi sırasında Bakanlık tarafından daha fazla araştırmanın yapılmasına ilişkin özel bir talebe yol açabilir.

Tiroid aktivitesinin kanıtı, Amfibi Metamorfoz Deneyi veya benzer test sistemlerinde gözlemlenebilen tiroid bezindeki histopatolojik değişikliklerle sağlanır. Mevcut OECD test rehberi geliştirmesine uygun olarak bir protokol kullanılmışsa, metamorfozun ilerleyişine ilişkin etki bilgileri aynı çalışmadan elde edilebilir ve bu bilgilerin aşağıda belirtildiği gibi düzenleyici kararlarda kullanımı düşünülebilir. İzole edilmiş bilgiler olarak bildirilen tiroid histolojisi, yasal kararlardaki kullanıma uygun olmayabilir.

Memeli toksisitesi çalışmalarından elde edilen diğer toksisite verilerinin yorumlanmasını destekleyebilir. Özellikle çevresel maruz kalması, kalıcılığı ve/veya biyobirikimi yüksekse, söz konusu maddenin uzun süreli ciddi olumsuz etkilere neden olabileceğine dair güçlü bir endişe uyandırabilir. Böyle bir endişe, dosya veya madde değerlendirmesi sırasında Bakanlık tarafından daha fazla araştırmanın yapılmasına ilişkin özel bir talebe yol açabilir.

Omurgasızlarda özel endokrin etki şeklinin kanıtı, izole edilmiş bilgiler olarak sadece çok nadir durumlarda mevcut olacaktır ve bu bilgilerin kullanımına ilişkin genel bir rehberlik sağlanamaz.

3. Uzun süreli olumsuz etkilerin karakterizasyonu

Balıkların üreme kapasitesi, bir dizi toksisite mekanizmasından olumsuz etkilenebilir. Balık popülasyonlarını tehdit edebilecek bu tür etkilerin gözlemlenmesi, cinsel gelişim ve aktif üreme gibi belirgin bir hassas yaşam evresini kapsayan çalışmalarda veya tam bir yaşam evresini, hatta iki veya daha fazla ardışık nesli kapsayan çalışmalar sırasında gerçekleştirilebilir. Yalnızca ikincisi, erken yaşam evrelerinde endokrin bozukluğu yoluyla gecikmiş üreme etkilerinin tanımlanmasına izin verir. Öldürücü olmayan olumsuz etkilere ilişkin bilgilerin yeterli olarak değerlendirildiği durumlarda, bu bilgilerin PBT değerlendirmesinde veya Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinde/PNEC'nin oluşturulmasında kullanımı dikkate alınmalıdır. Güvenlik ağı kriterlerine göre SEA: Sucul Kronik 4: H413 olarak sınıflandırma önerilebilir. Üremeye ilgili bir olumsuz etki ile endokrin etki şekli arasındaki nedensel bağlantı, bir ilgili kurum tarafından maddenin çok yüksek önem taşıyan bir madde olarak tanımlanmasına ilişkin öneriye yol açabilir (Ek 15). Olumsuz etkilere ilişkin bilgiler, OECD Test Rehberi programında şu anda geliştirilmekte olan çalışmalara benzer bir üreme ve gelişme çalışması tarafından sağlanmışsa, endokrine özgü sonlanma noktalarına ilişkin bilgiler aynı çalışmadan elde edilecek ve benzer doz cevaplarına bağlı olarak nedensel bağlantının değerlendirilmesi mümkün olabilecektir.

Tiroid aktivitesine sahip kimyasalların neden olduğu uzun süreli toksisite gelişimsel bozukluk (örneğin, amfibi metamorfozunun desteklenmesi veya inhibisyonu) olarak ortaya çıkabilir. Yukarıda belirtilen hususlara ilişkin benzer hususlar balıklardaki olumsuz etkiler için de geçerlidir.

Omurgasızların gelişimi veya üremesi üzerindeki olumsuz etkiler standart dışı çalışmalardan bildirilebilir ve bu olumsuz etkilerin yeterli olarak derecelendirilmesi halinde, kronik toksisite değerlendirmesindeki kullanımları göz önünde bulundurulmalıdır. Özel bir endokrin etki şekline ilişkin nedensel bir bağlantı yalnızca bazı durumlarda bulunur.

Tablo R.7.8—4 KKDİK gerekliliklerinin dışındaki mevcut bilgilerin değerlendirmesine bağlı olarak sucul organizmalardaki potansiyel endokrin aktivitesinin bütünlük değerlendirmesi

1. Suda yaşayan organizmalardaki potansiyel endokrin aktivitesinin ön göstergesi		
Östrojen/androjen eksen:	Tiroid:	Omurgasız sistemleri:
- moleküler yapı - memeli toksisitesi - <i>in vitro</i> tarama	- moleküler yapı - memeli toksisitesi	- moleküler yapı
<i>-> Çevresel davranış ve maruz kalma dahil olmak üzere tüm mevcut bilgilerin Kanıt Ağırlığını kullanarak maddenin potansiyel endokrin etki şekline ilişkin endişeler belirlenir</i> <i>-> güçlü endişe, Bakanlığın maddeyi değerlendirmeye almasını harekete geçirebilir.</i>		
2. Suda yaşayan sağlam organizmalarda endokrin etki şeklinin belirlenmesi		
Östrojen/androjen eksen:	Tiroid:	Omurgasız sistemleri:
- biyokimyasal belirteçler - morfolojik değişiklikler (- gonad histopatolojisi)	- tiroid histopatolojisi	- nadir bireysel durumlar
Çalışma türü:	Çalışma türü:	
Balık Tarama Deneyi Balıklarda Cinsel Gelişim Testi Balıklarda Üreme Testi Balıklarda Tam Yaşam Evresi Testi	Amfibi Metamorfoz Deneyi	
<i>-> Çevresel davranış ve maruz kalma dahil olmak üzere tüm mevcut bilgilerin Kanıt Ağırlığını kullanarak suda yaşayan sağlam organizmalarda potansiyel endokrin etki şekline ilişkin endişeler belirlenir</i> <i>-> güçlü endişe, Bakanlığın maddeyi değerlendirmeye almasını harekete geçirebilir.</i>		
3. Uzun süreli olumsuz etkilerin karakterizasyonu#		
Östrojen/androjen eksen:	Tiroid:	Omurgasız sistemleri:
- balık (cinsel) gelişimi - balık üremesi	- amfibi gelişimi	- gelişme - üreme
Çalışma türü:	Çalışma türü:	Çalışma türü:
Balıklarda Cinsel Gelişim Testi Balıklarda Üreme Testi Balıklarda Tam Yaşam Evresi Testi	Amfibi Metamorfoz Deneyi	Omurgasızlarda Üreme veya Yaşam Evresi Testleri
<i>-> PBT değerlendirmesi ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi için kronik NOEC/EC10 kullanımı düşünülür</i> <i>-> güvenlik ağı kategorilerine göre sınıflandırma ve etiketleme dikkate alınır (SEA uyarınca H413)</i> <i>-> Bir endokrin etki şekli ile olumsuz etki arasındaki nedensel bağlantı, ilgili kurum tarafından Ek 15'in dikkate alınmasını sağlayabilir</i>		

#Bir maddenin endokrin aktivitesinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilecek olumsuz etkilerin, diğer toksisite mekanizmalarından da kaynaklanabileceği unutulmamalıdır.

Referanslar

Devillers J, Marchand-Geneste N, Carpy A, Porcher JM. SAR and QSAR modeling of endocrine disruptors (Endokrin bozucuların SAR ve QSAR modellemesi). *SAR QSAR Environ Res* 2006; 17: 393-412

Fang H, Tong W, Branham W, Moland CL, Dial SL, Hong H, Xie Q, Perkins R, Owens W, Sheehan DM. Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor (Androjen reseptörüne bağlanmaya ilişkin 202 doğal, yapay ve çevresel kimyasalın incelenmesi). *Chem Res Toxicol* 2003;16: 1338-1358

Fang H, Tong W, Shi LM, Blair R, Perkins R, Branham W, Hass BS, Xie Q, Dial SL, Moland CL, Sheehan DM. Structural-activity relationships for a diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens (Çeşitli doğal, yapay ve çevresel östrojenlere ilişkin yapı aktivite ilişkileri). *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 280-294

Laws SC, Yavanhxay S, Cooper RL, Eldridge JC. Nature of the binding interaction for 50 structurally diverse chemicals with rat estrogen receptors (Sıçan östrojen reseptörleri ile yapısal olarak çeşitli 50 kimyasala ilişkin bağlanma etkileşiminin doğası). *Toxicol Sci.*(2006; 94(1):46- 56.

Netzeva TI, Gallegos Saliner A, Worth AP. Comparison of the applicability domain of a quantitative structure-activity relationship for estrogenicity with a large chemical inventory (Östrojenisiteye ilişkin nicel yapı aktivite ilişkisinin uygulanabilirlik alanının büyük bir kimyasal envanter ile karşılaştırılması). *Environ Toxicol Chem.* 2006 Mayıs; 25(5):1223-30.

Saliner AG, Netzeva TI, Worth AP. Prediction of estrogenicity: validation of a classification model (Östrojenisite tahmini: bir sınıflandırma modelinin doğrulanması). *SAR QSAR Environ Res.* 2006 Nisan;17(2):195-223.

Tamura H, Ishimoto Y, Fujikawa T, Aoyama H, Yoshikawa H, Akamatsu M. Structural basis for androgen receptor agonists and antagonists: interaction of SPEED 98-listed chemicals and related compounds with the androgen receptor based on an *in vitro* receptor gene assay and 3D-QSAR (Androjen reseptörü agonistleri ve antagonistleri için yapısal temel: SPEED 98'de listelenen kimyasalların ve ilgili bileşiklerin, *in vitro* reseptör gen deneyine ve 3 Boyutlu Nicel Yapı Aktivite İlişkisine bağlı olarak androjen reseptörü ile etkileşimi). *Bioorg Med Chem* 2006; 14: 7160-7174.

Tong W, Fang H, Hong H, Xie Q, Perkins R, Anson J, Sheehan DM. Regulatory applications of SAR/QSAR for priority setting of endocrine disruptors: A perspective (Endokrin bozucuların öncelik belirlemesine ilişkin SAR/QSAR'ın düzenleyici uygulamaları: Bir bakış açısı). *Pure Appl Chem* 2003; 75(11-12): 2375-2388.

Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi

No. 21. Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi: Cinsel Hormon Bozucu Kimyasallara Yönelik Test Yöntemlerinin Değerlendirilmesi, 07-Mart-2002, ENV/JM/MONO(2002)8

No. 46. Tiroid Aktif Maddelerin Tespiti için Amfibi Metamorfoz Deneyine İlişkin Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, 22-Ekim-2004, ENV/JM/MONO(2004)17

No. 47. Endokrin Aktif Maddelerin Tespiti için Balık Tarama Testlerine İlişkin Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, 21-Ekim-2004, ENV/JM/MONO(2004)18

No. 55. Gelişimsel, Üreme ve Endokrin Bozucu Etkilere Vurgu ile Yaşam Evresi Toksisitesi Testlerinde Sucul Eklembacaklılara İlişkin Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, 31-Temmuz-2006, ENV/JM/MONO(2006)22

No. 57. Tiroid Hormonu Bozukluğu Testlerine İlişkin Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, 02-Ağustos-2006, ENV/JM/MONO(2006)24

No. 60. Endokrin Aktif Maddelerin Tespiti için 21 Günlük Balık Tarama Testinin Doğrulanmasına Yönelik İlk Çalışma Raporu (Aşama 1A), 12-Eylül-2006, ENV/JM/MONO(2006)27

No. 61. Endokrin Aktif Maddelerin Tespiti için 21 Günlük Balık Tarama Testinin Doğrulanmasına İlişkin Rapor (Aşama 1B), 12-Eylül-2006, ENV/JM/MONO(2006)29

OECD Taslak Rehberi ve Gözden Geçirme Belgeleri:

İki Nesilli Balık Toksikite Testi (Mart 2003 sürümü) ve İki Nesilli Balık Testi Rehber Önerisi (Mart 2003 versiyonu) hakkında DRP Taslak Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi

DRP Aromataz Üzerine Revize Edilmiş Taslak Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, Şubat 2002

DRP Steroidojenez Üzerine Taslak Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi, Mayıs 2002

Endokrin Bozucuların *in vitro* Testi için Metabolizma Sistemlerinin Kullanımı Hakkında DRP Taslak Ayrıntılı Gözden Geçirme Belgesi (Mart 2006 versiyonu)

R.7.8.7 Çökelti organizmaları toksisitesine giriş

Çökelti üzerinde birikme veya çökeltelerde önemli ölçüde soğurulma potansiyeline sahip maddeler, çökeltide yaşayan organizmalar için toksisite açısından değerlendirilmelidir. İlave olarak, deniz sularında kalıcı olduğu bilinen ve zamanla çökeltelerde birikebilecek maddeler için deniz çökeltisi etkilerinin değerlendirilmesi gereklidir. Genelde, $K_{oc} < 500 - 1000$ L/kg olan maddelerin çökeltiden emilmeme ihtimalleri yüksektir (SETAC 1993). Buna göre, diğer etkenlerin veya tetikleyici kombinasyonların da önemli olmasına rağmen (örneğin, K_{ow}/K_{oc} ile desteklenmeyen ancak dağılım katsayısının (K_d) önemli olduğu çökelti ortamında çökelti taneciklerine bağlanma), çökelti etkilerinin değerlendirilmesi için tetikleyici değer olarak $\log K_{ow} \geq 3$ kullanılır.

R.7.8.7.1 Çökelti organizmalarında toksisite tanımı

Çökelti hem kirleticilerin tanecikli maddeye emilmesi yoluyla kimyasallar için bir havuz olarak, hem de yeniden süspansiyon yoluyla kimyasalların kaynağı olarak işlev görebilir. Çökelti, yüzey suyu kontaminasyonunun zaman ve ortam üzerindeki etkilerini bütünleştirir ve bu şekilde sucul topluluklar (pelajik ve bentik) için su kolonundaki konsantrasyonlardan doğrudan tahmin edilemeyen bir zararlılık oluşturabilir.

Kimyasalların çökelti tarafından emilimi veya çökeltiye bağlanma davranışı belirli özellikler tarafından tespit edilir. Özellikle yüksek $\log K_{ow}$ veya $\log K_{oc}$ değerlerine sahip maddeler, çökeltinin organik oranında yüzeye tutunur. İlave olarak, çökelti bileşenlerine kimyasal reaksiyonlar yoluyla bağlanan maddeler veya organik oranlar ile inorganiklere iyonik olarak bağlanan maddeler çökelti içinde birikebilir.

Sucul besin zincirinde önemli bir bağlantı oluşturmaları ve detritus materyalinin geri dönüşümünde önemli bir rol oynamaları nedeniyle, bentik organizmalar üzerindeki etkiler endişe konusudur.

Bentik organizmaların kullanıldığı tüm çökelti testleri, çökelti ortamı için bir risk değerlendirmesi amacına en uygun testlerdir. Bu tür testleri kullanarak, tüm maruz kalma yollarını yeterince ele almak mümkündür. Bentik organizmaların çökeltiye bağlı maddelere genel olarak uzun süreli maruz kalması nedeniyle, üreme, büyüme veya açığa çıkma gibi öldürücü düzeyin altındaki sonlanma noktalarına sahip uzun süreli testler en ilgili testler olarak kabul edilir. Özellikle çökelti yaşlanması süreçlerinin meydana geldiği gösterilen maddelere ilişkin (örneğin, nikel için Costello ve ark., 2011'de gösterildiği gibi) laboratuvar çalışmalarının sonuçlarının doğrulanabilmesi amacıyla saha ve mezokozma çalışmaları dikkate alınmalıdır.

R.7.8.7.2 Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin rehberin amacı

Temel amaç, kayıt ettirenlere çökelti toksisitesi testi konusunda rehberlik sağlamak ve kayıt ettirenlerin çökelti toksisitesi hususunda bir Bütünleşik Test Stratejisi (BTS) geliştirmesine izin vermektir (ayrıntılar bölüm 7.8.14'te tanımlanmıştır).

Çökelti toksisitesi testlerinin amacı, yüzeye tutunan veya çökeltiye bağlanan bir maddenin hangi konsantrasyonlarda bentik organizmalar üzerinde toksik etkilere neden olduğunu bulmaktır. Test organizmalarının maddeye maruz kaldığı yollara özel dikkat gösterilmelidir. Özellikle ekleme metodolojisi ayrıntılı olarak düşünülmeli ve mümkün olan en gerçekçi şekilde uygulanmalıdır (örneğin Brumbaugh ve ark., 2013).

Konsantrasyon-cevap ilişkisinin belirlenmesi, uzun süreli testlerden Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon'un (NOEC) veya EC₁₀'un (veya bazı durumlarda akut testlerden medyan öldürücü konsantrasyon LC₅₀) elde edilebilmesini sağlamalıdır. Bu NOEC/EC₁₀ (veya LC₅₀) daha sonra çökelti için Öngörülen Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon'un (PNEC_{çökelti}) türetilmesi için kullanılır. Genel olarak, bu değerlerin istatistiksel olarak tüm veri setinden elde edilebilmesi ve test tasarımına NOEC değerinden daha az bağlı olması sebebiyle EC₁₀ değerleri tercih edilir. Akut çalışmaların kullanılması önerilmemektedir ve kronik verilerin kullanımı tercih edilmelidir. Bu PNEC_{çökelti}, maddeye maruz kalmanın çökelti organizmaları için bir riske neden olup olmadığı hususunda bir karara varılabilmesi için çökeltideki Öngörülen Çevresel Konsantrasyon (PEC_{çökelti}) ile karşılaştırılır (risk karakterizasyonu hakkında *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm E'ye bakınız).

R.7.8.8 Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin bilgi gereklilikleri

Çökelti toksisitesine ilişkin bilgi gereklilikleri, kayıt ve değerlendirme amacıyla sunulması gereken bilgilerin belirtildiği KKDİK Ek 7 - Ek 11'de açıklanmaktadır.

Bu sonlanma noktasına ilişkin bilgi gereklilikleri, ≥ 1000 ton/yıl miktarlarında üretilen veya ithal edilen maddeler için tanımlanmıştır (KKDİK Ek 10).

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin kurallar
9.5.1 Çökelti organizmalarında uzun süreli toksisite	9.5.1 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarının, maddenin ve/veya ilgili bozunma ürünlerinin çökelti organizmaları üzerindeki diğer etkilerinin araştırılması gerektiğini göstermesi halinde, kayıt ettiren tarafından uzun süreli toksisite testi önerilecektir. Uygun test(ler)in seçimi kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarına bağlıdır.

R.7.8.9 Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin bilgi kaynakları

Çoğu madde için sudan alımın (biyokonsantrasyon, su kaynaklı maruz kalma nedeniyle bir organizmadaki bir maddenin alımının, dönüştürülmesinin ve giderilmesinin net sonucu olarak tanımlanır) suda yaşayan organizmalar için baskın maruz kalma yolu olduğu kabul edilir. Gözenek suyu, organik maddeler ve metaller için bentik organizmalarında birincil maruz kalma yollarından biridir (Di Toro ve ark., 1991; Ankley ve ark., 1991). Bununla birlikte, yüksek oranda lipofilik bileşikler veya taneciklerin yüzeyine tutunan diğer maddeler (örneğin metaller) için, gıdadan veya çökeltiden alım, maruz kalan organizmaların yaşama ve beslenme stratejisine bağlı olarak genel maruz kalmaya katkıda bulunabilir. Beslenme yoluyla maruz kalma, maruz kalan organizmalara ilişkin kararlı durum doku konsantrasyonlarının temel oranlarının açıklanabilmesi amacıyla önemlidir. Toksikite nedeni olarak diyetle maruz kalmanın su ile maruz kalmaya göre önemi mevcut durumda tam olarak anlaşılabilir. Özetle, yüzeye tutunmayı ve dolayısıyla çökelti ile su arasındaki dağılımı etkileyen faktörler aynı zamanda sucül (pelajik ve bentik) türler üzerindeki toksisiteyi de etkiler. Bu tür faktörlerin bir derlemesi Ek R.7.8-1'de verilmiştir.

R.7.8.9.1 Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin veriler - bilgi kaynakları

Çökelti organizmalarındaki toksisiteye ilişkin test verileri

Çökelti testleri için çok sayıda standart hale getirilmiş test yöntemi mevcuttur ve bu rehberde çok sayıda farklı bentik organizma önerilmiştir. Kayıt ettirenler rehberlerden sapmaları açıkça rapor etmeli ve gerekçelendirmelidir. Bundan sonra, bentik organizmalar bulunan çökeltilere ilişkin standart hale getirilmiş (kısa ve uzun süreli) mevcut test yöntemlerine genel bir bakış sağlanmaktadır. Tablo R.7.8—5'te farklı test türleri, taksonomik grup, habitat ve beslenme şekli açısından ayrıca karakterize edilmiştir.

Yeni çökelti toksisitesi verileri oluşturulduğunda kabul edilmiş uzun süreli rehber çalışmaları tercih edilir. Standart dışı ve rehber dışı çalışmalar, iyi belgelendirilmeleri ve ilgili ve yüksek kaliteye sahip olmaları halinde mevcut çalışmalar için kabul edilebilir. Genel olarak bu tür çalışmalar kanıt ağırlığı yaklaşımlarında kullanılır.

Böcekler ve tatarcık larvaları *Chironomus sp.* (OECD 218 ve 233), *oligochaetes Lumbriculus sp.* (OECD 225) ve *Myriophyllum spicatum* (OECD 239) için OECD test rehberleri mevcuttur. KKDİK amaçlarına yönelik yeni veriler oluşturulurken en ilgili üç OECD rehberi OECD 218, 225 ve 233'tür. Bu rehberlerin her biri ekolojik olarak ilgili uzun süreli toksisite sonlanma noktalarını kapsar ve bu nedenle KKDİK, Ek 10, 9.5.1'in (çökelti organizmalarında uzun süreli toksisite testi) bilgi gerekliliklerinin yerine getirilmesine ilişkin uygun bilgiler sağlar. Yine de, OECD 233, ilgili tüm üreme sonlanma noktalarını kapsadığı ve daha eksiksiz bir bilgi düzeyi sunduğu için en kapsamlı olanıdır. OECD 218 ve 225'in bağıl hassasiyeti maddeye bağlıdır. Örneğin, OECD 218 (veya OECD 233), eklembacaklıların özellikle hassas olduklarının düşünüldüğü veya toksisitenin metabolik aktivasyondan kaynakladığı durumlarda OECD 225'ten daha uygundur (bkz. Nowell ve ark., 1999). Köklü bitkiler (*Myriophyllum spicatum*) için bir rehber de mevcuttur (OECD 239). Kayıt ettirenler, örneğin maddenin özelliklerine/kullanımlarına bağlı olarak en uygun ve hassas test protokolünü/protokollerini seçmeli ve seçim için bir gerekçe sağlamalıdır. ECHA güncel bilimsel çalıştayının çökelti riski değerlendirmesine ilişkin çalışmaları, test türlerinin seçiminde dikkate alınması gereken farklı taksonomik grupların ve maruz kalma gruplarının uygunluğu hakkında ek bilgiler sunmaktadır (ECHA 2014).

ASTM, ABD EPA ve ISO'dan standart hale getirilmiş testler, kabuklu amfipodlardan *Hyalella sp.*, *Gammarus sp.* ve nematodlardan *Caenorhabditis elegans* gibi diğer tatlı ve deniz suyu türleri için de mevcuttur. Nematodlar genel olarak çökelti ortamında bulunur ve bu nedenle biyolojik olarak incelenecek türlerdir. Genel olarak nematodların seçici besleyiciler olması ve çökelti taneciklerini yutmamaları sebebiyle, nematod türlerine ilişkin besleme stratejisinin kimyasalın çökelti taneciklerine bağlanma süreci ile ilgili olduğu düşünülmelidir; türlerin seçimi için bir gerekçe sunulmalıdır. Poliketler, amfipodlar, çift kabuklular gibi yumuşakçalar nehir ağız ve deniz ortamı için tanınmış test türleridir. *Arenicola marina*, *Corophium volutator*, *Leptocheirus plumulosus* ve *Amphiascus tenuramis* türlerine ilişkin test yöntemleri ve çökelti-su fazını daha iyi temsil edecek deniz kestanesi veya çift kabukluların erken yaşam evrelerine ilişkin testler mevcuttur.

Çökelti toksisitesi testi için en yaygın rehberlerin ayrıntıları aşağıdaki bölümlerde verilmektedir.

OECD Test Rehberleri

Test No 218: Kimyasal eklenmiş çökelti kullanılarak çökelti-su kayronomid toksisitesi¹²

Test No 219: Kimyasal eklenmiş sular kullanılarak çökelti-su kayronomid toksisitesi¹³

Her iki rehber de maddelerin *Chironomus sp.* gibi tatlı su tatarcıklarının çökeltide yaşayan larvaları üzerindeki uzun süreli toksisitesini (28 günlük maruz kalma) incelemek için tasarlanmıştır. Ölçülen sonlanma noktaları, açığa çıkan toplam yetişkin sayısı ve açığa çıkma süresidir. Çökeltiye ekleme (OECD 218), maddelerin sürekli ve aralıklı salınımı için önerilirken, su fazına ekleme (OECD 219) başlangıçta pestisite özgü maruz kalma durumları için geliştirilmiştir. Bu nedenle, OECD Test Rehberi 219, bu yöntemin uygunluğuna ilişkin (örneğin, beklenen çevresel salım koşulları ile ilgisi sağlanır) duruma göre bir gerekçe olmadıkça prensipte kabul edilemez.

Test No 233: Kimyasal eklenmiş su veya kimyasal eklenmiş çökelti kullanılarak çökelti-su kayronomid yaşam evresi testi¹⁴

Bu test, OECD test rehberi 219 (kimyasal eklenmiş su) veya OECD test rehberi 218'in (kimyasal eklenmiş çökelti) bir uzantısıdır. Rehber, *Chironomus sp.*'nin maddelere uzun süreli maruz kalmasına ilişkin etkilerin değerlendirilebilmesi için tasarlanmıştır. Çökeltide yaşayan tatlı su böceği *Chironomus sp.* yaşam evresi boyunca kimyasal eklenmiş su veya kimyasal eklenmiş çökelti içeren maddelere maruz kalır.

Tam maruz kalma süresi, *Chironomus riparius* ve *C. yoshimatsui* için yaklaşık 44 gün ve *C. dilutus* için yaklaşık 100 gündür. Tam olarak açığa çıkan ve yaşayan tatarcıkların Kayronomid ortaya çıkışı, ortaya çıkma zamanı ve cinsiyet oranı değerlendirilir.

Test No 225: Kimyasal eklenmiş çökelti kullanılarak çökelti-su *Lumbriculus* toksisite testi¹⁵

Bu Test Rehberi, çökelti ile ilişkili maddelere uzun süreli maruz kalmanın (28 gün) endobentik kara ve tatlı su solucanlarından *Lumbriculus variegatus*'un (Müller) üreme ve biyokütlesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için tasarlanmıştır.

Ölçülen sonlanma noktaları üreme ve biyokütledir (EC_x ve/veya NOEC/LOEC). Test No 239: Su-Çökelti *Myriophyllum spicatum* toksisite testi¹⁶

Bu test rehberi, maddelerin bir su-çökelti sisteminde büyüyen köklü sucul bitkilerin (*Myriophyllum spicatum*) büyümesi üzerindeki toksisitesini değerlendirmek için tasarlanmıştır (test rehberi, belirli durumlarda sazlık bitkilerinden *Glyceria maxima* gibi diğer türlerle kullanım için de uyarlanabilir).

¹² http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-218-sediment-water-chironomid-toxicity-using-spiked-sediment_9789264070264-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız.

¹³ http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-219-sediment-water-chironomid-toxicity-using-spiked-water_9789264070288-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız..

¹⁴ http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-233-sediment-water-chironomid-life-cycle-toxicity-test-using-spiked-water-or-spiked-sediment_9789264090910-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız.

¹⁵ http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-225-sediment-water-lumbriculus-toxicity-test-using-spiked-sediment_9789264067356-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız.

¹⁶ http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-239-water-sediment-myriophyllum-spicatum-toxicity-test_9789264224155-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız.

Sağlıklı ve çiçeği olmayan bitkilerin sürgün uçları 14 günlük bir süre boyunca maruz bırakılır. Ölçülen nicel değişkenler, hem ağırlık (taze ve kuru) hem de uzunluk (taze) olarak ifade edilen sürgün büyümesinin değerlendirilmesini içerir. Ölçülen nicel değişkenler, kloroz ve nekroz veya büyüme kusurlarının olup olmadığını içerir. Normalde, çökelti yoluyla maruz kalma, çökelti risk değerlendirmesine ilişkin ilgili maruz kalma yoludur.

Test No 235: *Chironomus sp.*, akut hareketsizlik testi¹⁷

Bu Test Rehberi, kayronomidler üzerinde gerçekleştirilen bir akut hareketsizlik testini açıklar ve kayronomid kronik toksisite testleri için mevcut Test Rehberlerinin (OECD 218, 219 ve 233) tamamlanabilmesi için tasarlanmıştır.

Test yöntemi OECD 202: *Dafniya sp.* Akut Hareketsizlik Testi'ne bağlıdır. İlk aşamada *Chironomus sp.* larvaları 48 saatlik bir süre boyunca sadece su içeren kaplarda çeşitli konsantrasyonlardaki test maddesine maruz bırakılır. *C. riparius* tercih edilen türdür ancak test için *C. dilutus* veya *C. yoshimatsui* de kullanılabilir. Hareketsizlik 24. ve 48. saatlerde kaydedilir ve verilerin izin vermesi halinde 24 ve 48 saatlik EC₅₀ değerleri hesaplanır. EC₅₀'nin bu konsantrasyondan daha büyük olduğunu gösterebilmek için 100 mg/L test maddesinde veya pratik çözünürlük sınırına kadar (hangisi en düşükse) olan herhangi bir konsantrasyonda tek konsantrasyonlu bir sınır testi de gerçekleştirilebilir.

ASTM Test Rehberleri

Farklı türlere ilişkin bir dizi ASTM rehberi mevcuttur¹⁸. Atıfta bulunulan ASTM rehberlerinin çoğu, kısa süreli testlerde (10 günlük maruziyet) mortalitenin sonlanma noktası olacağı şekilde tasarlanmıştır. Bununla birlikte, rehberler tarafından bu türlerin bazıları için (*Hyalella azteca*, *Chironomus sp.*, *Leptocheirus plumulosus*, *Neanthes arenaceodentata*) öldürücü olmayan sonlanma noktalarına sahip uzun süreli toksisite testleri (28 günlük maruz kalma) önerilmektedir.

E1706-05. Çökelti ile ilişkili kirleticilerin tatlı su omurgasızlarındaki toksisitesini ölçmek için standart test yöntemi: *Chironomus sp.*, *Hyalella azteca*, *Hexagenia spp.*, *Tubifex tubifex* veya *Diporeia sp.* için kısa veya uzun süreli bir test.

E1611-00. Deniz ve nehir ağzı toprak solucanlarından annelidler ile çökelti toksisitesi testlerinin yürütülmesine ilişkin standart rehber: *Neanthes arenaceodentata* veya *Neanthes virens* için açıklanan kısa veya uzun süreli bir test.

E1367-03e1. Çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin deniz ve nehir ağzı omurgasızlarındaki toksisitesini ölçmek için standart test yöntemi: *Leptocheirus plumulosus*, *Ampelisca abdita*, *Eohaustorius esturais*, *Rhepoxynius abronius* için açıklanan kısa süreli bir test.

¹⁷ http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-235-chironomus-sp-acute-immobilisation-test_9789264122383-en adresindeki OECD kütüphanesine bakınız.

¹⁸ ASTM test rehberleri: <http://www.astm.org/Standard/standards-and-publications.html>

E2591-07. Amfibilerle tam çökelti toksisitesi testlerinin yürütülebilmesine ilişkin standart rehber: *Rana pipiens*, *Rana clamitans*, *Rana sylvatica*, *Bufo americanus* için açıklanan kısa süreli bir test.

E1611-00 ve E1367-03e1 standartlarında açıklanan genel işlemler, testlerin diğer nehir ağzı veya deniz omurgasızları ile gerçekleştirilmesi hususunda yararlı olabilir.

ABD EPA Test Rehberleri

EPA 600/R-99/064 Tatlı su omurgasızları ve çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin toksisitesinin ve biyobirikiminin ölçümüne ilişkin yöntemler.

- 100.1: Çökelti için *Hyaella azteca* 10 günlük sağkalım ve büyüme testi (kısa süreli)
- 100.2: *Chironomus dilutus* (önceki adı: *C. tentans*): Çökelti için 10 günlük sağkalım ve büyüme testi (kısa süreli)
- 100.4: *Hyaella azteca*: Çökelti ile ilişkili kirleticilerin sağkalım, büyüme ve üreme üzerindeki etkilerini ölçmek için 42 günlük test (uzun süreli)
- 100.5: Çökelti ile ilişkili *Chironomus dilutus* (uzun süreli) üzerindeki etkilerini ölçmek için 50 - 65 günlük yaşam döngüsü testi

EPA 600/R-94/025 Nehir ağzı ve deniz amfipodları ile çökelti ile ilişkili kirleticilerin toksisitesini değerlendirme yöntemleri.

- 100.4: Çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin *Ampelisca abdita*, *eohaustorius* haliçleri, *Leptocheirus plumulosus* veya *Rhepoxynius abronius* türlerinin sağkalımı üzerindeki etkilerini ölçmek için 10 günlük test. Kontrol çökeltisinde sağkalan amfipodların yeniden gömülmesi, sonlanma noktası olarak kullanılabilir ek bir ölçümdür.

EPA 600/R-01/020 Amfipod *Leptocheirus plumulosus* ile deniz ve nehir ağzı çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin kronik toksisitesinin değerlendirilme yöntemi. Sonlanma noktaları olarak sağkalım, büyüme ve üreme ile 28 günlük test (uzun süreli).

ISO test rehberleri

ISO 16712:2005 Su kalitesi - Deniz veya nehir ağzı çökeltisinin amfipodlar üzerindeki akut toksisitesinin belirlenmesi. Deniz veya nehir ağzı çökelti (kısa süreli) ile birleştirilebilecek diğer katı atıklara, endüstriyel veya kentsel çamurlara, kontamine deniz veya nehir ağzı çökeltilerinden veya maddelerinden elde edilen numunelere ve temiz çökeltiye eklenmiş maddelere veya karışımlara 10 günlük sürenin üzerindeki maruz kalma senaryosu dahil üzere amfipodlardaki akut toksisitenin belirlenmesine ilişkin bir yöntem.

ISO 10872:2010: Su kalitesi - çökelti ve toprak örneklerinin *Caenorhabditis elegans* (*Nematoda*)'nın büyümesi, doğurganlığı ve üremesine toksik etkisinin belirlenmesi Çevresel numunelerin, esas olarak karasal topraklarda ve aynı zamanda polisaprobiyal tatlı su sistemlerinin sudaki çökeltisinde bulunan bir bakteriyöz nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın büyümesi, doğurganlığı ve üremesi üzerindeki toksisitesinin belirlenmesi için bir yöntemdir. Yöntem, kirlenmiş bütün tatlı su çökeltilerine (maksimum tuzluluk %5), toprağa ve atığın yanı sıra bunların bir maddeden çözücü ile ayrılmış başlıklarına, sulu özütlerine ve gözenek suyuna uygulanabilir.

Bu testin süresi yalnızca 72 saattir, ancak hem büyüme hem de üreme sonlanma noktaları ölçüldüğü için uzun süreli bir test olarak düşünülebilir. Ancak, bu testin sonucu PNEC'nin oluşturulması için tek başına kullanılamaz.

ISO 14371:2012: Su kalitesi - *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda) için tatlı su çökelti toksisitesinin belirlenmesi

Tüm çökeltiye 6 günlük bir maruz kalmadan sonra kozmopolit tatlı su ostrakodu *Heterocypris incongruens* (Ramdohr, 1808) üzerindeki mortalitenin ve/veya büyüme inhibisyonunun yüzdesinin belirlenmesi için doğrudan temas testi. Bu kısa süreli bir testtir

ISO 16191:2013: Su kalitesi - Çökeltinin *Myriophyllum aquaticum*'un büyüme davranışı üzerindeki toksik etkisinin belirlenmesi

Çevresel numunelerin makrofit bitkisi *Myriophyllum aquaticum*'un büyümesi üzerindeki toksisitesinin belirlenebilmesine ilişkin bir yöntem. Yöntem, doğal tatlı su çökeltilerine ve yapay çökeltilere uygulanabilir. Ölçülen sonlanma noktası, büyüme inhibisyonudur (kısa süreli).

ISO 16303:2013: Su kalitesi - *Hyalella azteca* kullanılarak tatlı su çökeltilerinin toksisitesinin belirlenmesi

14 gün ve/veya 28 gün (kısa süreli/uzun süreli) sonra sağkalım ve büyüme inhibisyonuna bağlı olarak tüm çökeltide (tatlı su veya tuzlu su) genç *Hyalella azteca* üzerindeki toksisitenin belirlenmesine ilişkin bir yöntem.

OSPAR Rehberi

(OSPAR 2005): Amfipod *Corophium sp* kullanılarak Çökelti Biyotayini - Deniz çökeltisi toksisite testi. *Corophium volutator* veya *Corophium arenarium* kullanılabilir. Yetişkin *Corophium*, bu testte 10 gün boyunca kimyasal eklenmiş çökeltilere maruz bırakılır. Sonlanma noktaları, sağkalım ve oyuk açma aktivitesidir (kısa süreli).

Yukarıda açıklanan rehberlere ek olarak, örneğin, Çevre Kanada (1997a, 1997b) da tatlı su çökelti türlerinden *Hyalella azteca*, *Chironomus dilutus* veya *Chironomus riparius*'un ve deniz veya nehir ağızı amfipodlarının veya ışık yayan bakterilerinin test edilmesine ilişkin biyolojik test yöntemlerinin bir koleksiyonuna sahiptir¹⁹.

Standart dışı test yöntemleri

Maddelerin çökelti organizmaları üzerindeki etkilerinin test edilmesine ilişkin standart dışı birçok yöntem mevcuttur. Standart dışı mevcut test yöntemlerine genel bir bakış OECD'de (1998) bulunabilir. Veri yeterliliği, uygunluğu ve güvenilirliğinin şeffaf bir değerlendirmesini sağlamak için, bir çalışmanın ayrıntılı raporlanması, standart dışı yöntemlerden elde edilen verilerin kabul edilebilirliği açısından özellikle önemlidir. Kapsamlı bir çalışma özetinde (RSS) veya çalışma özetinde (SS) nelerin rapor edilmesi gerektiğine ilişkin bilgiler, Kimyasallar Yardım Masasındaki Uygulamalı Rehberlerde verilmektedir²⁰.

¹⁹ Biyolojik Test yöntemleri Serisi şu adreste yayınlanmaktadır: <http://ec.gc.ca/faunescience-wildlifescience/default.asp?lang=En&n=0BB80E7B-1>.

Standart dışı yöntemlerden elde edilen kapsamlı bilgiler Kanıt Ağırlığı yaklaşımında kullanılabilir: Bu yaklaşım kullanılarak, sonlanma noktası gerekliliğinin yerine getirilmesi için tek başına bilgi olarak yeterli olmayacak birkaç kanıt satırı birleştirilerek maddenin bir özelliği hakkında bir sonuca varılabilir. Kanıt Ağırlığı yaklaşımları hakkında daha fazla bilgi, mevcut bilgilerin değerlendirilmesine ilişkin KKDİK Yönetmeliği, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.4'te verilmektedir. Sunulan herhangi bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı, KKDİK, Ek 11, Bölüm 1.2'de belirtilen kriterleri karşılamalıdır. Bu tür yaklaşımların kabul edilebilirliği her zaman duruma özeldir.

Çökelti içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen testler

Bentik organizmaların sadece su içeren bir test sisteminde söz konusu maddeye maruz kaldığı standart dışı birkaç test mevcuttur. Bu tür testler, çevresel koşullar altında meydana gelebilecek farklı maruz kalma yollarını göz önünde bulundurmaz. Bu nedenle, bu tür testler PNEC'nin oluşturulması için sadece denge dağılımı yöntemi ile kombinasyon halinde tarama amacıyla kullanılabilir. İlave olarak, çökelti varlığında aynı türler üzerinde gerçekleştirilen çökelti testleri ile karşılaştırıldığında, bu tür testler çökelti yutmanın önemi hakkında bilgi sağlayabilir.

R.7.8.10 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Sucul toksisite testlerinin değerlendirilmesini etkileyen maddelerin ve test sistemlerinin özelliklerine ilişkin genel bir bakış, Bölüm R.7.8.4 ve Ek R.7.8-1'de açıklanmaktadır. Bu özelliklerden bazıları aynı zamanda çökelti toksisitesiyle de ilgilidir.

R.7.8.10.1 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin veriler - bilgilerin değerlendirilmesi

Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin test dışı veriler

Çoğu madde için, çökelti organizmalarına ilişkin deneysel verilerin mevcudiyeti sınırlıdır. Bu tür verilerin mevcut olmadığı durumlarda, bir tarama yaklaşımı olarak pelajik etki değerlerinden çapraz okuma mümkündür (Denge Dağılımı Yöntemi, EPM) (daha fazla bilgi için bkz. Bölüm R.10). Denge dağılım yönteminin, bentik organizmalara olan toksisitenin olduğundan fazla veya az öngörülmesine neden olabileceği dikkate alınmalıdır (Di Toro ve ark., 2005). Bu nedenle, bu yöntem yalnızca bentik organizmalarla çökelti toksisite testlerinin gerekli olup olmadığının belirlenmesine yardımcı olabilmek için kaba bir tarama olarak kullanılabilir.

Çapraz okuma veya madde kategorileri yoluyla sonuçların nasıl elde edileceğine ilişkin genel rehberlik Bölüm R.6.2'de sağlanmaktadır. Mevcut durumda, çökelti toksisitesine ilişkin Nicel Yapı Aktivite İlişkileri (QSAR) modellerinin doğrulanabilmesi için yeterli çökelti toksisitesi verisi bulunmamaktadır. Bu nedenle çökelti toksisitesi değerlendirmesine ilişkin kullanımları sınırlıdır.

²⁰ Uygulamalı Rehberler: <https://kimyasallar.csb.gov.tr/rehber-dokumanlar/18>.

Denge dağılımı yöntemi

Çökeltide yaşayan organizmalar için herhangi bir ekotoksikolojik verinin bulunmaması nedeniyle, $PNEC_{\text{çök}}$ denge dağılım yöntemi kullanılarak geçici olarak hesaplanabilir. Bu yöntem, girdi olarak sucul organizmalar için $PNEC_{\text{su}}$ değerini ve süspansiyon halindeki madde/su dağılım katsayısını kullanır (örneğin, Di Toro ve ark., 1991). Denge Dağılımı Yöntemi ($PNEC_{\text{çökelti}}$ taraması) kullanılarak $PNEC_{\text{çökelti}}$ değerinin hesaplanmasına ilişkin tavsiye için, BG ve KGD Rehberi (Başlık R.10.5) Bölüm R.10'a bakınız. Normalde Denge Dağılımı Yöntemi yalnızca nötr organik kimyasallara uygulanabilir.

Bu yöntem kullanılırken birkaç faktör dikkate alınmalıdır. Denge Dağılımı Yöntemi kullanılarak türetilen $PNEC_{\text{çökelti}}$ taramasının güvenilirliğini artırmak için, koruyucu ancak gerçekçi bir dağılım katsayısının (örneğin K_d , K_{oc} , K_{ow}) seçilmesi zorunludur. Seçilen katsayı için net bir gerekçe verilmeli ve herhangi bir belirsizlik şeffaf bir şekilde açıklanmalıdır.

Denge Dağılımı Yöntemi sadece su fazı yoluyla alımı göz önünde bulundurur ve %5'lik organik maddeye (OC) normalizasyonu içerir²¹. Bununla birlikte, alım, test için kullanılan organizmaya bağlı olarak çökeltinin yutulması ve çökelti ile doğrudan temas gibi diğer maruz kalma yollarında da gerçekleşebilir. Özellikle yüksek oranda yüzeye tutunan maddeler için bu ek alım yolları önemli olabilir. Bu nedenle, yüzeye tutunmadaki artış ile bağırsak yoluyla alımın artan öneminin göz önünde bulundurulabilmesi amacıyla log K_{ow} değeri 5'ten büyük olan bileşikler için, Denge Dağılımı Yöntemi yalnızca değiştirilmiş bir şekilde kullanılabilir. Bu tür maddeler için, PEC/PNEC oranına ek 10 değerinde bir faktör uygulanır. Daha önce vurgulandığı üzere, Denge Dağılımı Yöntemi yalnızca çökeltide yaşayan organizmalara yönelik risk seviyesinin değerlendirilmesi için bir tarama aracı olarak kabul edilir. Bu yöntemle bir PEC/PNEC oranının 1'den büyük olarak türetildiği durumlarda, ya maruz kalma değerlendirmesi geliştirilerek ya da çökelti ortamı için geliştirilmiş bir risk değerlendirmesinin desteklenebilmesi için bentik organizmalar ile birlikte tercihen kimyasal eklenmiş çökeltinin kullanıldığı testler gerçekleştirilerek veri iyileştirmesi sağlanmalıdır.

Denge Dağılımı Yöntemi, organik madde tarafından emilime bağlıdır. Bu nedenle, bazı madde sınıfları için (örneğin, bağlanma davranışının lipofiliklik tarafından yönlendirilmediği durumlarda (örneğin, çökelti bileşenleri ile kovalent bağ oluşturan aromatik aminler, iyonlaşabilir maddeler²², yüzey aktif maddeler)) kullanılamaz. Yalnızca sucul test sistemlerinde test edildiğinde toksik etki göstermeyen maddeler, düşük suda çözünürlüğün neden olduğu maruz kalma aşamasında dengeye ulaşamaması, yine de bu maddelerin çökeltelerde birikebilmesi sebebiyle çökelti testlerinde önemli toksik etkiler gösterebilir. Gerçek bir $PNEC_{\text{sucul}}$ değerinin türetilmemesi sebebiyle, Denge Dağılımı Yöntemi, $PNEC_{\text{çökelti}}$ tarama değerinin türetilmesi amacıyla kullanılamaz. Bu nedenle Denge Dağılımı Yöntemi, örneğin hiçbir etkinin gözlemlenmediği sucul çalışmalarda suda çözünürlüğü düşük olan maddeler için geçerli değildir. Bu tür maddelere ilişkin daha gerçekçi bir çökelti risk değerlendirmesinin yapılabilmesi için en az bir çökelti çalışması gerçekleştirilmelidir.

²¹ EUSES ile hesaplanan bölgesel PEC değerlerinin % 5 organik maddeye normalize edilirken, yerel PEC değerinin % 10'a normalize edildiği belirtilmelidir.

²² Bu bağlamda, bu özelliği çevresel olarak ilgili pH'da (4-9) sunan maddeler iyonlaşabilen maddeler olarak kabul edilir.

Çökelti toksisitesi değerlendirmesi için geliştirilen test stratejisi, bu Rehber'in [R.7.8.14](#) Bölümü'nde açıklanmıştır.

Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin test verileri

Çökeltiye bağlı maddelerin bentik organizmalar üzerindeki etkileri en iyi şekilde, olabilecek tüm olası maruz kalma yollarını (üst katmandaki su, gözenek suyu, çökelti yutma, çökelti ile doğrudan temas) göz önünde bulunduran uzun süreli tam çökelti testlerinin gerçekleştirilmesi ile değerlendirilebilir. Genel olarak, sadece su içeren sistemler ile yapılan çökelti testleri yalnızca Denge Dağılımı Yöntemi (EPM) ile kombinasyon halinde tarama amacıyla kullanılabilir. Denge Dağılımı Yöntemi'nin (EPM) risk belirtmediği ve yalnızca su içeren bir çalışmanın aynı zamanda yüksek bir NOEC/EC10 gösterdiği durumlarda, Denge Dağılımı Yöntemi sonucuna olan güven yüksek olabilir. Biyobirikim çalışmaları, çökelti testi ihtiyacına veya test edilecek türlere karar verme hususunda öğretici olabilir. Örneğin, sucul çalışmalarda etki göstermeyen, ancak nispeten yüksek biyobirikim potansiyeli gösteren ve suda çok zayıf çözünen bir madde, büyük olasılıkla çökelti risk değerlendirmesine ihtiyaç duyar.

Genel olarak, standart test rehberlerine göre gerçekleştirilen testlere ilişkin bir çalışmanın kabulü için bu rehberde belirtilen geçerlilik kriterleri veya kabul edilebilirlik gereklilikleri yerine getirilmelidir. Karmaşık test sistemi nedeniyle, tüm çökelti testlerinden elde edilen sonuçlar birkaç parametreden (örneğin, çökelti bileşimi, ekleme yöntemi, maruz kalan organizmaların beslenme şekli) etkilenebilir. Çökelti toksisitesi testlerinin (standart ve standart dışı testler) değerlendirilmesi için önemli olan kritik faktörler aşağıda tartışılmaktadır. Kayıt ettirenin seçimlerini açıkça gerekçelendirmesi önemlidir. Örneğin, test sistemi, test türleri, ekleme yöntemi gibi seçimler aşağıda özetlenmiştir.

Test organizmaları ve tür seçimi

Yalnızca çökelti ortamı için ekolojik temsilci görevi gören türler test organizmaları olarak kabul edilebilir. Mevcut test yöntemleri (bkz. Bölüm [R.7.8.9](#)) çoğunlukla trofik seviyede bulunan birincil tüketicilerin veya ayrıştırıcıların omurgasızlarına atıfta bulunur. Şu anda (standart) test protokollerinde kullanılan türler ve türlerin sayısı, bentik toplulukların tüm ekolojik/fizyolojik yönlerinin (ve muhtemelen hassasiyetini) yansıtılması hususunda yetersiz olabilir. Örneğin, mevcut durumda köklü sucul bitkiler ve mikroorganizmalar yetersiz bir şekilde kapsamaktadır. Örneğin, OECD 239 testi (köklü bitkilerden *Myriophyllum spicatum* ile) yalnızca Eylül 2014'te kabul edilmiştir. Bilginin daha ekolojik/fizyolojik yönleri kapsayacak şekilde genişletilmesine ilişkin çalışmalar yürütülmektedir (bkz. Diepens ve ark., 2014a; Diepens ve ark., 2014b). Bu nedenle, pelajik ortam için uygulanan birkaç trofik seviyenin kapsamına ilişkin kavram çökelti için izlenemez. Bunun yerine, test türlerinin çökeltiye ilişkin farklı habitatları ve beslenme stratejilerini kapsaması gerekir. Ayrıca, farklı taksonomik gruplar (normal olarak farklı filumlardan, alt şubelerden veya *Eklembacaklılar (Arthropoda)* sınıflarından türler) temsil edilmelidir. Genellikle, epibentik türler (çökelti yüzeyinde veya çökelti yüzeyinin biraz üzerinde yaşayan) ile endobentik türler (çökeltinin içindeki oyuklarda yaşayan) arasında bir ayırım yapılır. Omurgasızlarla ilgili olarak, farklı maruz kalma koşulları ve beslenme stratejileri, mümkün olduğunda çeşitli yaşam stratejilerini yansıtan türler tarafından temsil edilmelidir: (1) yüzeye bırakılan ve/veya filtre besleniciler; (2) yüzey altı besleniciler; (3) birleşik yüzey ve alt yüzey beslenici davranışına sahip türler. Bu farklı maruz kalma yolları ve beslenme davranışları, çökelti yutma oranlarında, çökelti teması seviyesinde ve gözenek suyu ve üst katmandaki su yoluyla maruz kalmada farklılıklar olduğunu gösterir. Her grup, sucul besin ağlarındaki farklı enerji yollarını ve farklı trofik seviyeleri temsil eder ve bu nedenle maddeye maruz kalmaya ilişkin farklı cevaplar verebilir.

Bitkilerin hassas bir grup olduğuna ilişkin belirtilerin olduğu durumlarda, (köklü) bitkiler ile yapılan testler kabul edilmelidir. Bununla birlikte, çoğu durumda çökelti ortamına ilişkin büyük bir veri seti bulunmayacaktır. Aşağıda Bölüm R.7.8.14'te ana hatları verilen bütünleşik test stratejisi, çökelti risk değerlendirmesi için gereken minimum veri setini açıklamaktadır.

Madde özellikleri ve etki şekli de uygun test organizmaları seçilirken dikkate alınması gereken önemli parametrelerdir. Özellikle güçlü bir şekilde yüzeye tutunan veya bağlayıcı maddeler için (örneğin, $\text{LogK}_{ow} > 5$), çökelti tanecikleriyle beslenen ve çökeltide yaşayan organizmalar (örneğin, *Lumbriculus variegatus*, *Tubifex tubifex*) genel olarak en ilgili türlerdir.

Bununla birlikte, belirli bir madde için bilinen özel bir etki şekli de test türlerinin seçimini etkileyebilir (örneğin, eklembacaklılar üzerinde özel etkilere sahip olduğundan şüphelenilen maddeler için *Chironomus* ile yapılan bir test, diğer *Filumlar* üzerinde yapılan testlerden daha uygundur). KKDİK kapsamında kayıtlı maddeler için bir böcek ilacının veya mantar ilacının etki şekline benzer (potansiyel) bir etki şekli hakkındaki bilgi (örneğin, yapısal benzerliğe bağlı olarak), KKDİK gerekliliklerinin yerine getirilmesi amacıyla test edilecek türlerin belirlenmesinde kullanılabilir. Pelajik türlere ilişkin veriler, omurgasızların veya bitkilerin/alglerin önemli ölçüde daha hassas olup olmadığını vurgulayabilir; karasal türler hakkındaki herhangi bir veri, örneğin karada ve suda yaşayan tatlı su solucangillerinin, eklembacaklıların, nematodların veya bitkilerin daha hassas olup olmayacağını da vurgulayabilir. Benzer şekilde, analoglardan elde edilen veriler test edilecek en ilgili çökelti türleri hakkında bilgi verebilir.

Endokrin bozukluğu gibi belirli bir etki şeklinin gözlemlendiği veya tahmin edildiği durumlarda ek türler/gruplar kullanılabilir. İkinci durumda yumuşakçalar seçilebilir. Alternatif türlerin ilave olarak test edilmesi gereken bir başka örnek de, omurgasızlara ilişkin yukarıda verilen geleneksel test verilerinin kullanılması sonucunda bu canlıların yeterince korunamamaları sebebiyle, derisi dikenlilerin (yalnızca deniz suyu ortamında bulunur) önemli kabul edilmesidir (ECHA, 2014).

Sonlanma noktaları

Çökelti toksisitesi testlerinde incelenen sonlanma noktaları ekolojik uygunlukta olmalıdır, yani mümkün olduğu durumlarda popülasyon seviyesinde ilgili etkileri göstermelidir. Uzun süreli testler için öldürücü olmayan sonlanma noktalarından üreme, büyüme ve (böcek) ortaya çıkış en ilgili olanlardır.

Çökeltiden kaçınma veya oyuk açma aktivitesi gibi davranışsal sonlanma noktaları standart bir hale getirilmemiştir. Bu tür sonlanma noktaları toksik etkilere ilişkin belirtiler verebilir ancak tek başına yorumlanmamalıdır. Kısa süreli testler için sağkalım, dikkate alınması gereken normal bir sonlanma noktasıdır.

Bazı sonlanma noktaları (özellikle üreme sonlanma noktaları) test sonucunun güvenilir bir şekilde değerlendirilmesini zorlaştıran yüksek bir değişkenlik gösterir. Daha fazla rehberlik, "Ekotoksosite verilerinin istatistiksel analizinde mevcut yaklaşımlar: bir uygulama rehberi" hakkındaki OECD dokümanında bulunabilir (OECD 2006) .

Maruz kalma yolları

Maddeler bentik çökelti ortamına ulaştığında, üç olası maruz kalma yolu vardır: (1) çökelti gözenek suyu (çökeltide oyuk oluşturan bentik organizmalar için); (2) çökelti su arayüzü üstündeki su (epibentik organizmalar için ve çökeltiye oyuk açan ve üstteki suyla bağlantılı yuvalar oluşturan ve üstteki suyun içinden geçtiği yuvalar oluşturan bentik organizmalar için); ve (3) yutma ve / veya çökelti partikülleriyle temas (çökelti yutan organizmalar için).

Bazı türler için, substrattaki gıda mevcudiyetine bağlı olarak duruma göre farklı maruz kalma yolları uygun olabilir (bu özellikle daldırma ve sudan çıkma aşamaları arasında değişimlere maruz kalan türler için geçerlidir). Böylece, çökelti organizmaları, vücut yüzeyleri yoluyla üst katmandaki sudaki ve gözenek suyundaki çözelti halindeki maddelere ve doğrudan temasla veya kontamine olmuş çökelti taneciklerinin yutulmasıyla bağlı maddelere maruz kalabilir. En önemli maruz kalma yolu, türe özgü beslenme mekanizmalarından, bağırsakta tutulma süresinden ve organizmaların çökelti içindeki veya çökeltinin üzerindeki davranışından güçlü bir şekilde etkilenir. Baskın maruz kalma yolu, farklı yaşam evrelerinde veya bir yaşam evresinin farklı aktiviteleri nedeniyle değişebilir. Mevcut çökelti testlerinin değerlendirilmesi için, hangi maruz kalma yollarının test tasarımı ve kullanılan test organizmaları tarafından kapsandığı değerlendirilmelidir. Güçlü emici veya bağlayıcı maddeler için (örneğin, $\text{LogK}_{ow} > 5$ veya $\text{logK}_{oc} > 3$), gıdalardan veya çökeltiden alım, genel maruz kalmaya katkıda bulunabilir. Bu tür maddeler için en ilgili maruz kalma yolu olduğundan, çökelti yutma yoluyla maruz kalmayı kapsayan test tasarımları ve test organizmaları tercih edilmelidir. Hem etkilerde (PNEC) hem de maruz kalma değerlendirmesinde (PEC) aynı ölçünün kullanılmasına özen gösterilmelidir. Yığın çökeltideki/üst katmandaki sudaki/gözenek suyundaki/... konsantrasyonlar test sistemlerinde ölçülebilir olmalıdır ve aynı ölçüyü kullanan bir maruz kalma tahmini (PEC) ile eşleştirilmelidir.

Çökelti bileşimi, yapay ve doğal çökelti

Hem yapay hem de doğal çökelti avantajları ve dezavantajları vardır.

Doğal çökeltinin daha fazla temsil edilebilirliği ve ekolojik önemi olduğu düşünülebilir. Ancak, yaygın olarak karakterize edilen doğal çökelti açık pazarda mevcut değildir ve daha karmaşık bir toplama, karakterizasyon, çalışma arası karşılaştırmalar gibi dezavantajlara neden olurlar. Ayrıca, doğal çökeltide bulunabilecek kalıntı kirleticiler, (kontroller tarafından düzeltilmiş olsa bile) sonuçların yorumlanmasını daha karmaşık hale getirebilir.

Standart test yöntemlerinin çoğu, çökelti bileşenlerinin iyi bir şekilde kontrol edilmesi halinde bu yaklaşım çevresel gerçeklikte azalmayı gerektirse bile sonuçların daha standart bir hale geleceği varsayımına dayanılarak, , yapay çökeltinin bentik etki değerlendirmesi için katı matris olarak kullanılması gerektiğini savunur. Ayrıca, yapay çökeltinin bileşenleri genel olarak iyi karakterize edilmiştir. Ancak yapay çökelti, kil taneciklerinin yüzeye yerleşmesi sonucunda tanecik boyutuna göre katmanlara ayrılabilir. Bu tür bir katmanlaşma, belirli türlerin çökelti katmanına girmesini engelleyebilir (Wiegelhofer ve ark., 2003). Ayrıca, önemli mikrobiyal flora eksikliğinden dolayı, yapay çökeltiden elde edilen sonuçlar doğal çökeltiden elde edilen sonuçlarla aynı olmayabilir.

Genel olarak, karakterizasyon ve tekrarlanabilirlik seviyesinin mümkün olması sebebiyle, özel bir yerel sahadaki etkiler dikkate alınmadığı sürece doğal substratın (OECD 2004a ve b) yerine yapay çökelti tercih edilebilir. Standart hale getirilmiş çökelti kullanımını da kalite kontrol amaçları için yararlıdır. Bununla birlikte, doğal çökelti daha yararlı olabileceği bazı istisnalar (örneğin, doğal çökeltide daha gerçekçi dengeleme gerektiren veri bakımından zengin metaller) vardır.

Yapay çökelti, homojenliğin iyileştirilebilmesi, mikrobiyal floranın artırılması ve organik maddenin çevresel olarak daha gerçekçi bir forma dönüştürülebilmesi için ekmeden günler hatta haftalar önce bileşenlerin sürekli karıştırılmasıyla koşullandırılabilir. Bununla birlikte, bu tür bir karıştırma, çökelti-su sisteminin Biyokimyasal Oksijen İhtiyacını (BOD) önemli ölçüde artırabilir ve test organizmalarının boğulmasını önlemek için ek havalandırma ihtiyacına yol açabilir.

Farklı rehberlerde belirtilen gerekliliklere ek olarak tanecik boyutu, organik madde (OM) içeriği, katyon değişim kapasitesi (CEC)/anyon değişim kapasitesi (AEC) belirlenerek çalışmalarda kullanılan çöktelti karakterize edilmelidir. Genel olarak, madde çökteltinin organik oranına değil, inorganik oranına bağlanmadığı sürece, en azından % 5 organik madde içeriğine normalizasyon gerçekleştirilmelidir. Ayrıca, çöktelti tercihen kaynak (doğal çöktelti), pH ve gözenek suyunun amonyum içeriği, toplam organik karbon ve nitrojen içeriği, tanecik boyutu dağılımı ve su içeriği yüzdesi ile karakterize edilmelidir. Metaller test edilirken, SEM (Eşzamanlı Ekstre Edilen Metaller) ve AVS (Asit Uçucu Sülfürler) konsantrasyonları ile Fe ve Mn (ICMM, 2002) konsantrasyonları da ölçülmelidir.

Testte kullanılan çökteltinin tanecik boyutu, test maddesinin biyoyararlanımını etkileyebilir. Başka nedenlerle yapılan testlerde de önemli bir faktör olabilir. Örneğin, bakterilerin çökelti yüzeyine ne derecede tutunduğu tanecik boyutuna bağlıdır. Benzer şekilde, farklı amfipod türleri, farklı tanecik boyutu dağılımlarına sahip çöktelti tercih eder. Bu nedenle, söz konusu çökteltinin tanecik boyutu dağılımına göre belirli bir türün toleransı dikkate alınmalıdır. Bazı ek bilgiler DeWitt ve ark. (1988) ve Burton ve ark. (1991) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda bulunabilir.

Ekleme yöntemi

Bir test maddesini bir test sistemine eklemenin iki yöntemi vardır: birinci yöntem su fazına, ikinci yöntem ise çökelti fazına eklemektir. Uygun yöntemin seçimi, testin amaçlanan uygulamasına bağlıdır. Bununla birlikte, genel olarak, çökeltiye eklenme su fazına eklenmeye tercih edilir. Her iki yöntem için de, test maddesinin su ve çökelti fazları arasında dağılımının, aşağıda açıklandığı gibi maddenin dağılım davranışına göre dengelenmesini sağlamak için, test organizmalarının olmadığı bir dengeleme süresi gereklidir.

OECD 233 gibi bazı rehberlerde hem su hem de çökelti eklemesine ilişkin senaryolar açıklanmıştır. OECD 233'te suyun maruz kalma senaryosu, yüzey sularındaki ilk tepe konsantrasyonunu kapsayacak şekilde bir pestisit sprey sapması olayını simüle etmeyi amaçlamaktadır. Suyun eklenmesi, diğer maruz kalma türlerinin (kimyasal dökülmeler dahil) değerlendirilmesi hususunda yararlı olabilir, ancak çökelti içinde test süresinden daha uzun bir sürede gerçekleşen birikim süreçlerini doğru bir şekilde temsil etmemektedir. Bir çalışma için eklemenin su fazı yoluyla gerçekleştirilmesi halinde, çökelti yoluyla bir maruz kalmanın gerçekleşip gerçekleşmediği de dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir. Mümkün ve uygun olması halinde (örneğin, mevcut çalışmalarda analitik ölçümlerin bulunmadığı durumlarda) denge dağılımı yöntemi kullanılarak çökelti konsantrasyonunun su konsantrasyonundan hesaplanması gerekir (bkz. Bölüm R.10, başlık 10.5).

Çökteltinin eklenmesine ilişkin senaryo, çökteltide kalan birikmiş madde seviyelerini simüle etmeyi amaçlamaktadır. Bir çökelti-su test sistemine ekleme yapılması zayıf çözünür maddeler için zor olabilir. Bir çökelti-su test sistemine ekleme yapılması zayıf çözünür maddeler için zor olabilir. Standart yaklaşım, test maddesinin bir çözücü içinde çözülmesi ve daha sonra kumun eklenmesi, çözücünün uzaklaştırılması ve ardından çökteltinin kalan kumla çeşitli konsantrasyonlarda karıştırılmasıdır. Bu tekniğin dezavantajı, saatlerce veya bazen günlerce karıştırıldıktan sonra bile maddenin çökelti ile homojen bir şekilde karışmaması, yine de orijinal kumun üzerinde katı tanecikler halinde mevcut olması ve bazı maddeler için buharlaşma yoluyla kayıpların meydana gelmesidir.

Kabaca, 1-10 Pa.m³/mol olan bir Henry Kanunu Sabiti, uçuculuğa ilişkin hususların önemli olabileceği durumlarda bir gösterge olarak kullanılabilir. Islak çökeltiye eklenen bir organik çözücünün kullanımı, çökeltinin organik madde oranı üzerinde tersinir olmayan etkilere sahip olabilme olasılığı nedeniyle tavsiye edilmez (ABD EPA 2000). Doğrudan ekleme bazı durumlarda uygulanabilir bir alternatif olabilir, ancak dikkatli bir şekilde yapılmalıdır (örneğin, homojenliğe ulaşmak çok zor olabilir). Çökelti eklemesine ilişkin aşağıdaki seçenek de düşünülebilir: çökeltinin bir kısmını kurutmak (örneğin %10) ve kum ekleme için test maddesinin bir araç olarak kuru çökeltiye eklenmesi. Bu, kumun eklendiği duruma kıyasla maddenin buharlaşmasını azaltır (Léon Paumen ve ark., 2008).

Su fazı ve çökelti fazı arasındaki denge

Test maddesinin su çökelti sistemine eklenmesinden sonra, su fazı ile katı faz arasında maddeye özgü dağılım özelliklerine göre madde dağılımının sağlanabilmesi için bir dengeleme süresi gereklidir. Bu dağılım, maruz kalma aşamasında kullanılan sıcaklık ve havalandırma koşulları altında gerçekleştirilmelidir. Uygun dengeleme süresi çökeltiye ve maddeye özgüdür ve saatler ile günler arasında ve bazı durumlarda birkaç haftaya kadar sürebilir ve çeşitli hususların dikkate alınmasını gerektirebilir. Bazı durumlarda dengeleme ve bozunma/hidroliz arasında bir dengenin bulunması gerekebilir. Bu, örneğin, kimyasal eklenmiş çökeltileri kullanan bir çökelti-su *Lumbriculus* toksisite testine ilişkin önerilen rehberde kabul edilmektedir (OECD 2007). Daha yüksek kademeli çevresel davranış çalışmalarının sonuçları (örneğin, bozunma simülasyon testi, biyobirikim) uygun dengeleme zamanı hakkında bilgi verebilir.

Metaller ve inorganik metal bileşikleri için, hem kısa dengeleme süreleri hem de kimyasal eklenmiş çökeltilerdeki yüksek metal konsantrasyonları, metallerin çözünmüş faza dağılımını daha belirgin bir hale getirecek ve çözünmüş metaller yoluyla maruz kalma ve/veya toksisite olasılığını artıracaktır (Lee ve ark., 2004, Simpson ve ark., 2004, Hutchins ve ark., 2008, Brumbaugh ve ark., 2013). Sonuç olarak, statik ve yarı statik testler için üst katmandaki su, katı çökelti fazı ve gözenek suyundaki test maddesinin konsantrasyonunun ölçülmesi ve bu testin yalnızca üst katmandaki su, katı çökelti ve gözenek suyu konsantrasyonları kararlı hale ulaştığı zaman başlatılması önerilir. Yaşlanma ve ayrışma süreçlerinin çökelti toksisitesi üzerinde etkisi olabilir. Yaşlanma, bazı metallerin bir katı fazdan diğerinde yeniden dağılmasını içerebilir ve bu yeniden dağılım, bentik organizmalar için toksisitede azalmalara neden olabilir (örneğin, nikel için Costello ve ark. (2011) tarafından gösterilmiştir). Bu değişikliklerin meydana gelme hızı, birçok kronik çökelti toksisitesi testinin süresinden daha uzun olabilir; bu da, yaşlanma süreçlerinin yakalanabilmesi için genellikle çok kısa sürmeleri sebebiyle, metal eklenmiş doğal çökeltilerle yapılan laboratuvar testlerinin koruyucu olacağını göstermektedir. Bu nedenle, yaşlanma süreçlerinin etkisi, laboratuvar elde edilen PNEC değerlerine uygulanan *Kanıt Ağırlığına* bağlı belirsizlik analizinde dikkate alınmalıdır. Bununla birlikte, mevcut durumda bu durumun standart çökelti testi protokollerinde göz önünde bulundurulabilmesine ilişkin ortak karara varılmış yöntemler bulunmamaktadır ve yapay çökeltiyle standart bir hale getirilmiş test yöntemleri, çevrede meydana gelen çökelti yaşlanma süreçlerinin etkisini çok az dikkate almaktadır.

Yaşlanma, bazı organik maddeler için de geçerli olabilir ve biyoyararlanımla bağlantılıdır (R.7.8.10.3'te tartışılmıştır), ancak metallerle karşılaştırıldığında daha az bilgi mevcuttur.

Besleme:

Uzun süreli testlerde, özellikle sonlanma noktası olarak üremenin veya büyümenin söz konusu olduğu durumlarda, test organizmalarının beslenmesi gereklidir. Testler, rehber göre mümkün olduğu durumlarda, özellikle yüzeye güçlü bir şekilde tutunan maddeler için, çalışma sırasında test organizmaları için gerekli olan gıdanın test maddesi ile karıştırılmasından önce çökeltiye eklenecek şekilde tasarlanmalıdır (OECD Test Rehberi 218 ve 233'ün 31. paragraflarına bakınız). Böylece test organizmaları tarafından alınan gıdanın da çevresel koşullara benzer bir test maddesi ile kontamine olması sağlanır. Gıda türleri, araştırmaya bağlı olarak, öğütülmüş, pul haindeki balık yeminden bitki materyaline (örneğin *Urtica* tozu, öğütülmüş spagnum turba veya alfa selüloz) ve bilinen konsantrasyonda kültürlenmiş *E. coli* hücrelerine kadar çeşitlilik gösterir.

Test sistemine periyodik olarak veya sadece testin başlangıcında eklenen herhangi bir gıdanın bozulması nedeniyle su kalitesinin etkilenebileceği dikkate alınmalıdır (aşağıdaki su kalitesi bölümüne bakınız).

Maruz kalma süresi

Çoğu rehber, açıkça tanımlanmış ulaşılmaması gereken test sürelerine veya kritik kilometre taşlarına (örneğin, kayronomid oluşumu) sahiptir. Test rehberlerinin seçiminde dikkate alınması gereken nokta, bir çökelti testindeki maruz kalma süresidir: test organizmaları tarafından test maddesinin gerçekten alındığının doğrulanabilmesi için yeterince uzun olmalıdır. Özellikle, yüzeye güçlü bir şekilde tutunan maddeler için, test sistemindeki ve test organizmalarındaki çökelti konsantrasyonu arasında dengeye ulaşılmaması biraz zaman alabilir. Bir çökelti testinin en az 10 gün sürmesi tavsiye edilir. Standart hale getirilmiş test yöntemlerinin çoğu (bkz. Bölüm R.7.8.9.1), kısa süreli testler için en az 10 günlük ve uzun süreli testler için 28 günlük bir maruz kalma süresi içerir.

Bununla birlikte, maruz kalma süresinin çok daha kısa olduğu başka yöntemler de mevcuttur (örneğin, *Caenorhabditis elegans* 72 saat). Bu tür bir testteki kısa maruz kalma süresi, toplam test süresini azalttığı için hem maliyet hem de zaman açısından verimlilik sağlaması sebebiyle bir avantaj olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, yalnızca kısa süreli bir testin mevcut olması halinde (örneğin 72 saatlik çalışma), bu testin sonucu PNEC'nin oluşturulması hususunda tek başına kullanılamaz.

Su ve çökelti kalitesi parametreleri

Oksijen içeriği, pH, amonyum konsantrasyonu, sıcaklık ve su sertliği gibi kalite parametreleri, hem gözenek suyunda hem de üst katmandaki suda, genellikle bir test sırasında düzenli aralıklarla ölçülmelidir. Sonuçlar çalışma raporunda belirtilmelidir.

Bu parametrelerin izlenmesi ve raporlanması, su kalitesine ilişkin parametrelerin toksisite çalışmasının sonuçları üzerinde bir etkiye sahip olabilmesi sebebiyle, çökelti çalışmalarının değerlendirilebilmesinde önemlidir. Ayrıca, standart rehberler hangi parametrenin hangi sıklıkta ve hangi aralıklarla ölçülmesi gerektiğini ve sonuçların nasıl raporlanması gerektiğini belirtir.

İdeal olarak, üst katmandaki suyun oksijen içeriğinin test sıcaklığında doygunluğun %60'ının altına düşmemesi gerekir, çünkü sınırlı oksijen varlığı test organizmaları üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Bu, çökelti katmanına mümkün olduğunca yakın ölçülmelidir. Ancak, bu değer altındaki geçici bir eksiklik, otomatik olarak bir testin geçerli olmadığı anlamına gelmeyebilir. Bu durumda, kontrol cevabının normal aralığın içinde olup olmadığı kontrol edilmelidir. Çökeltide yaşayan birçok tür, 2 mg/L'ye kadar düşük oksijen konsantrasyonlarında sağ kalabilmektedir.

Üst katmandaki suyun pH'ı 6 - 9 arasında olmalıdır. Bununla birlikte, 8'in üzerindeki bir pH değerinin NH_4^+ 'dan daha toksik olan NH_3 oluşumunu artırabileceği dikkate alınmalıdır. Çalışma sırasında amonyum oluşabilir. Örneğin, test sistemine eklenen gıdalar ve belirli türler aracılığıyla amonyak doğrudan salgılanabilir. 8'in üzerindeki pH değerlerinde oluşan NH_3 'ün suda yaşayan organizmaların çoğu için toksik olması sebebiyle, çalışma sırasında gözlenen toksik etkilerin yüksek amonyum konsantrasyonlarından (tipik olarak rehberlerde $<1 \mu\text{g/l}$ önerilir) kaynaklanmadığı doğrulanmalıdır.

Ayrıca, özellikle doğal çökeltilerin kullanıldığı durumlarda çökelti parametreleri ölçülmelidir. Önemli parametreler örneğin redoks potansiyeli, katyon değişim kapasitesi (CEC), tanecik boyutu dağılımı, toplam organik karbon içeriğidir.

Test sistemi

Çökelti testlerinde üst katmandaki su sistemleri statik, yarı statik veya kesintisiz (sürekli akış) olabilir. Yarı statik veya sürekli akış sistemleri oksijen ve amonyum konsantrasyonları açısından iyi su kalitesine katkıda bulunabilir ve böylece bu tür faktörlerin test sonuçları üzerindeki etkisini sınırlayabilir. Bununla birlikte, üst katmandaki suyun düzenli olarak yenilenmesinin test maddesinin sistemdeki kayıpları ile sonuçlanan kimyasal dengeyi etkilemesinin beklenmesi sebebiyle, genel olarak statik testler önerilir. Genel bir kural olarak, çökelti toksisitesine ilişkin OECD test rehberleri, test konsantrasyonlarının analitik olarak belirlenmesini gerektirir, ancak bazı rehberlerde bu duruma ilişkin bazı istisnalara izin verilir. Her durumda, çalışma boyunca test konsantrasyonunun sürdürüldüğüne dair yeterli kanıt verilmeli ve kayıt ettiren üst katmandaki suyun yenileme seçimini gerekçelendirmelidir.

Test tasarımı

Standart dışı testler değerlendirilirken aşağıdaki rehberlik sağlanmalıdır. Standart rehberlere göre gerçekleştirilen testler, bu standart rehberlerde sağlanan rehberliği izlemelidir.

Test sonuçlarının düzgün bir istatistiksel değerlendirmesi için, konsantrasyon başına test konsantrasyonları ile tekrarların sayısı kritik faktörlerdir ve rehberlerde açıklanmıştır. Test maddesi uygulaması için bir çözücünün kullanıldığı durumlarda, çözücü kontrolü gereklidir. Tekrar sayısının tahminleri, test için gerekli olan istatistiksel güce ve dolayısıyla gözden geçirilen parametrenin varyasyon katsayısına dayanmalıdır.

Yalnızca bir test konsantrasyonunun ve bir kontrolün (ve çözücü kontrolü) kullanıldığı sınır testi gerçekleştirilebilir.

Bir dizi OECD rehberine göre, numuneler dengeleme aşaması (maruz kalma başlangıcında) ve test sonlarında test maddesinin kimyasal analizi için kontroller ile en düşük ve en yüksek konsantrasyonlardan alınmalıdır. Numunelerin yalnızca çalışmanın başında ve sonunda alındığı durumlarda, maruz kalma koşullarının uygun bir şekilde değerlendirilmesi çok zordur. Bu nedenle, ilgili matrislerde (örneğin, bu yolla maruz kalma eksikliğinin belgelendirilebilmesi için su sütununda ve bu yollarla potansiyel maruz kalmanın belgelendirilebilmesi için yığın çökeltide ve gözenek suyunda) çalışma uzunluğu için uygun sıklıkta numune alımının gerçekleştirilmesi önemlidir. Bu, rehber ve test edilen maddeye bağlıdır.

Analiz için en azından çökeltiden ve üst katmandaki sudan numune alınmalıdır. Mümkün olduğu durumlarda gözenek suyu konsantrasyonları analiz edilebilir, çünkü bu, çökeltide yaşayan organizmaların gerçekte maruz kaldığı konsantrasyonun daha doğru bir şekilde belirlenmesini sağlayacaktır. Geleneksel gözenek suyu ölçümlerinin yorumlanamayan sonuçlara yol açabilmesi sebebiyle, "serbest çözünmüş konsantrasyonların" tahmin edilebilmesi için Pasif Numune Alma Cihazlarının (PSD) kullanılması iyi bir alternatif olabilir. Pasif Numune Alma Cihazları, polar olmayan organik kimyasallar için en iyi sonucu verirken, bu cihazların polar bileşikler üzerinde uygulanması daha zordur. Bununla birlikte, Pasif Numune Alma Cihazlarının önemli sınırlamaları vardır. Örneğin pasif numune alma, beslenmeyle alımı açıklayamaz. İlave olarak, laboratuvarında gerçekleştirilen PSD deneylerinin çoğu, sahadaki gerçek durumu her zaman yansıtmaz, çünkü denge koşulları gerçekçi saha koşullarında elde edilemeyebilir. Metaller için, serbest iyon ve mevcut biyolojik bağlanma bölgelerine ilişkin diğer organik ve inorganik ligandlarla kompleks oluşturma/rekabet/dahili dağılım potansiyeli, metal biyoyararlanımının anlaşılması hususunda anahtardır. Metaller için pasif numune alma cihazlarının potansiyelinin tam olarak değerlendirilebilmesi amacıyla daha ileri çalışmalar gereklidir. Gözenek suyu "gözetleyiciler" gibi denge cihazları, esas olarak gözenek suyu ile temas yoluyla metallere maruz kalan bentik türler için kullanılmak üzere umut verici sonuçlar vermektedir. İnce filmlerde (DGT) yayılım derecesi (yani, metal akışını ölçmek için denge dışı cihazlar), bentik organizmaların biyobirikiminin/toksisitesinin tahmin edilebilmesi açısından yüzey çökeltilerindeki metallerin biyoyararlanımının öngörülebilmesi amacıyla daha az değerlendirilmiştir.

Etki değerleri tercihen ilk ölçülen konsantrasyonlara dayanmalıdır. Bununla birlikte, bu yaklaşım yalnızca, analizin test edilen maddenin test boyunca nominal veya ölçülen başlangıç konsantrasyonunun $\pm\%20$ 'si içinde tatmin edici bir şekilde korunduğunu göstermesi halinde takip edilmelidir.

Nominal veya ölçülen başlangıç konsantrasyonundan sapmanın $\pm\%20$ 'den büyük olması halinde, değişkenliğin nedeni araştırılmalı ve sonuçların analizi maruz kalma sırasındaki geometrik konsantrasyon ortalamasına dayandırılmalıdır. Bazı maddeler için tersinir olmayan bağlı maddenin (örneğin, aromatik aminler) tamamen geri kazanımı teknik olarak mümkün olmayabilir. Bu durumda nominal konsantrasyonlar, yeterli bir şekilde açıklanması ve gerekçelendirilmesi halinde maddenin test sisteminde kararlı olması (yani biyotik veya abiyotik bozunmanın veya test sisteminden ayrışmanın meydana gelmesinin beklenmediği durumlarda) koşuluyla kullanılabilir.

R.7.8.10.2 Çökelti organizmalarına ilişkin saha verileri, izleme ve mezokozma verileri

Maddeler KKDİK kapsamında olduğu gibi düzenleyici bir bağlamda ayrı ayrı değerlendirilirken saha ve izleme verilerinin ileriye dönük risk değerlendirmesi amaçları için tercihen bir *Kanıt Ağırılığı* yaklaşımında kullanılması gerekir. Deneysel ekosistem çalışmaları ve mezokozma çalışmaları, maddelerin sucul (model) ekosistemler üzerindeki etkisini inceler. Bu çalışmalar genel olarak maddelerin hem su fazı yoluyla pelajik organizmalar üzerindeki hem de çökelti yoluyla bentik organizmalar üzerindeki etkilerini inceler. Ekosistem çalışmaları hakkında daha fazla bilgi, *İn vivo - çoklu türler (saha verileri)* alt başlığı altında Bölüm R.7.8.3.1'de bulunabilir. Bu tür bir ekosisteme ilişkin saha verileri normalde yalnızca diğer bilgilerle birlikte bir *Kanıt Ağırılığı* yaklaşımında kullanılmalıdır.

R.7.8.10.3 KKDİK Ekleri uyarınca kurallar ve çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin hususlar

KKDİK Yönetmeliği, Ek 10, Sütun 2'deki kural

KKDİK Yönetmeliği, Ek 10, Bölüm 9.5.1., Sütun 2'ye göre, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonucu maddenin ve/veya ilgili bozunma ürünlerinin çökelti organizmaları üzerindeki etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini gösteriyorsa, çökelti organizmaları için uzun süreli toksisite testleri önerilecektir. Daha fazla test yapma ihtiyacı, aşağıdaki durumlarda tetiklenebilir, örneğin:

- i. Denge Dağılımı Yöntemi'ne (EPM) göre PEC/PNEC > 1
- ii. Mevcut çökelti çalışmalarına (kısa/uzun süreli) göre PEC/PNEC > 1
- iii. Çökeltide dağılacak ilgili bozunma/dönüşüm ürünlerinin (bkz. Bölüm R.7.1) oluşumunu gösteren su sütunundaki ana bileşiğin bozunmasına ilişkin bilgiler
- iv. Sadece bu ortamda ilgili bozunma/dönüşüm ürünlerinin oluşumunu gösteren çökeltideki ana bileşiğin bozunmasına ilişkin bilgiler (yani ana bileşiğin çökeltisinde anaerobik/aerobik bozunmanın ilgili bozunma/dönüşüm ürünlerine göre göstergeleri)
- v. Ekolojik olarak ilgili konsantrasyonlarda çökeltide maddenin veya ilgili bozunma/dönüşüm ürünlerinin oluşumunu gösteren izleme verileri
- vi. Daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulan bir PBT/vPvB değerlendirmesinden elde edilen sonuçlar (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'e bakınız).

KKDİK Yönetmeliği, Ek 6 ve Ek 11'deki genel kurallar

Ek 6'da, bazı durumlarda KKDİK Ek 8 - Ek 10'da belirtilen kuralların tonajla tetiklenen gerekliliklerden daha önce veya bunlara ek olarak bazı testlerin yapılmasını gerektirebileceği belirtilmektedir.

Çökeltide güçlü bir şekilde emilen veya çökelti yüzeyine güçlü bir şekilde tutunan maddeler için çökeltiden veya gıdalardan alım, sudan alımdan daha önemli hale gelebilir. Taneciklerin yüzeyine tutunmayan bileşikler pelajik testler kapsamındadır. Öte yandan, çökelti yüzeyinde tutunma potansiyeli yüksek olan maddeler (örneğin, $\log K_{ow} > 5$ veya $\log K_{oc} > 3$), 1000 ton/yıl'nın altındaki tonajlarda bile çökelti değerlendirmesi gerektirir. Bu nedenle, bu tür maddeler için en azından Denge Dağılımı Yöntemi (EPM) kullanılarak bir tarama değerlendirmesi gerçekleştirilmelidir. Bu tarama değerlendirmesinin 1'in üzerinde bir PEC/PNEC değeri ile sonuçlanması halinde, maddenin tonajından bağımsız olarak ya çökelti organizmalarıyla daha uzun süreli testler yapılarak ya da maruz kalma değerlendirmesi yenilenerek verilerin iyileştirilmesi gerekir. Aynı yaklaşım, sucul ortama aralıklı olarak salınan, taneciklerin yüzeyine tutunan ve hızlı bir şekilde bozunmayan maddeler için de geçerlidir. Normalde, 1000 ton/yıl'nın altındaki tonajlara sahip olan ve yüksek yüzeye tutunma potansiyeline sahip olmayan maddeler (örneğin, $\log K_{ow} < 5$ veya $\log K_{oc} < 3$) bir çökelti risk değerlendirmesine ihtiyaç duymaz.

Ayrıca, yalnızca sucul test sistemlerinde test edildiğinde toksik etki göstermeyen maddelerin, maruz kalma aşamasında dengeye ulaşamaması nedeniyle çökelti testlerinde önemli toksik etkiler gösterebileceği dikkate alınmalıdır. Bu, özellikle yüksek yüzeye tutunma potansiyeline sahip, suda çözünürlüğü zayıf olan maddeler için geçerli olabilir. Su ile ilgili çalışmalarda maruz kalma süresi, bazı durumlarda bu tür maddeler için kararlı durum koşullarına ulaşılması hususunda çok kısa olabilir. Bu nedenle, pelajik testlerde herhangi bir etkinin gözlemlenmediği durumlarda pelajik verilerden çökelti verilerine uyarılama yapılması mümkün değildir. Bu gibi durumlarda, daha düşük tonaj seviyelerinde (KKDİK Ek 11 uyarınca) çökelti organizmaları üzerinde bir toksisite testinin (tam çökelti testleri) yapılması gerekli olabilir.

Metallerin ve inorganik metal bileşiklerinin biyoyararlanımına ilişkin hususlar

Tatlı su ve deniz suyu çökeltilerindeki metallerin biyoyararlanımı, farklı ligandlar/süreçler (örneğin, organik karbon, sülfidler, demir ve manganez oksit hidroksit ve redoks potansiyeli) tarafından yönetilir ve bu bağlanma fazlarının bağlı önemi, metalin bağlanma kapasitesine ve genel davranışa bağlı olarak farklılık gösterebilir.

Örneğin, sülfidlerle bağlanmaya hassasiyeti olan metal/inorganik metal bileşikleriyle sülfür bağlayıcı olmayan metaller arasında net bir ayırım yapılması önerilir, ancak Fe-Mn (oksi)hidroksitlere dağılımın kullanılması, türleşme hesaplamaları (anoksik koşullar altında indirgenmiş formlar) ve organik karbon normalizasyonu daha uygun olabilir.

Metaller için SEM/AVS gibi KGR'de çökeltilerdeki metallerin/inorganik metal bileşiklerinin biyoyararlanımının dikkate alınması uygunsa, bu düzeltmenin hem etki verileri hem de maruz kalma verileri için yapılması önerilir. Metallere ilişkin daha fazla bilgi SEM-AVS normalizasyonunda²³ Ek R.7.13-2'nin 3.5.2 Bölümü'nde bulunabilir.

Organik maddelerin biyoyararlanımına ilişkin hususlar

Ayrıca organik maddeler için biyoyararlanım düzeltmeleri - en azından teorik olarak - mümkündür. Biyoyararlanım terimi birçok farklı şekilde tanımlanmaktadır. Güncel bilimsel çalıştayın raporlarına göre (ECHA 2013) aşağıdakiler önerilmiştir. Bir çökeltideki kimyasalın toplam konsantrasyonu, tersinir olmayan bağlı bir havuza (yani, özütlenemeyen bağlı kalıntılar), tersinir bağlanan ve serbest bir şekilde çözünmüş havuza ayrılabilir. Tersinir bağlanan ve serbest bir şekilde çözünen havuz, (biyo)erişilebilir havuzu oluşturur. Erişilebilirlik operasyonel olarak tanımlanmıştır. Erişilebilir havuz, toplam konsantrasyonun bozunmaya uğrayabilen, harekete geçirilebilen veya organizmalar tarafından alınabilen kısmını tanımlar. Bununla birlikte, serbest bir şekilde çözünmüş konsantrasyon veya kimyasal aktivite tarafından yönlendirilen gerçek difüzyon, dağılım veya alım süreci için zayıf bir ölçüdür. Kimyasal aktivite ve serbest bir şekilde çözünmüş konsantrasyon, pasif numune alma cihazları ile ölçülebilir. Biyoyararlanım, (biyo)erişilebilirlik ve serbest bir şekilde çözünmüş konsantrasyon (veya kimyasal aktivite) ile bağlantılıdır. Ayrıca, biyoyararlanım bir kimyasalın organizmalar tarafından alınmasını içerir. Bilimsel toplulukta son gelişmelerin risk değerlendirmesinde biyoyararlanım kavramlarının kullanımının önerilmesine rağmen (örneğin, Ortega-Calvo ve ark., 2015), bu kavramların ileriye dönük risk değerlendirmesinde düzenleyici bir bağlamda uygulanmasına ilişkin nispeten daha az deneyim vardır ve biyoyararlanım düzeltmeleri kullanılırken ortaya çıkan belirsizlik nispeten daha büyük olabilir. Biyoyararlanıma ilişkin kavramlar kullanılırken uygun gerekçeler bir ön koşuldur.

²³ SEM = Eşzamanlı Özütlenen Metaller; AVS = Asit Uçucu Sülfidler.

Bozunma ürünleri

Ortamda (biyotik veya abiyotik olarak) bozunan (ancak kolay biyobozunur olmayan) maddeler için, ana maddenin yerine veya ana maddeye ek olarak bozunma ürünlerinin test edilmesi gerekebilir. Genel olarak, bozunma ürünleri ana maddeden daha az hidrofobik olma eğilimindedir ve bu nedenle daha düşük bir yüzeye tutunma potansiyeline sahiptir, bu nedenle bozunma ürünlerinin çökelti ortamı ile ilgisi normalde ana bileşiğin ilgisinden daha düşüktür. Ana bileşiklerde olanlarla aynı tetikleyiciler (örneğin, $\text{Log } K_{oc} > 3$) bozunma ürünlerine uygulanabilir. Çökelti ortamında bozunma ürünlerinin birikiminin öngörülebilmesi halinde, bozunma ürünlerinin test edilmesi gerekebilir. Çok yüksek $\text{log}K_{ow}/\text{log}K_{oc}$ nedeniyle düşük biyoyararlanıma sahip maddelerin bozunmasının, ana bileşikten (çok) daha yüksek bir biyoyararlanıma sahip olabileceğine dikkat edilmelidir.

R.7.8.11 Tür Hassasiyeti Dağılımları

Pelajik ortama ilişkin çevresel koruma değerlerinin (örneğin PNEC değerleri) ayarlanabilmesi için kullanılan Tür Hassasiyeti Dağılımı (SSD) yaklaşımı, çökelti ortamında bazı durumlarda uygulanmıştır. Bunun başlıca nedeni, bentik topluluğun karmaşıklığını tam olarak yansıtacak yeterli sayıda farklı türlere ilişkin toksisite verilerinin eksikliğidir. Ayrıca, mevcut durumda bir çökelti Tür Hassasiyeti Dağılımı'nda kullanılacak verilerin sayısına ve türüne ilişkin bilimsel bir anlaşma bulunmamaktadır.

Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımı, yalnızca bu yaklaşımın içindeki türlerin o topluluğu temsil ettiği durumlarda bir topluluk için koruyucudur. Belirli bir madde için verilerin mevcut olduğu sınırlı bir organizma grubuyla, bu organizmaların, koruma hedefi olan topluluğun iyi bir temsili olması olası değildir. Her durumda, katı madde referans değerlerinin türetilmesi için Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımının kullanılabilirliği, veri açısından zengin maddelerle sınırlıdır. Çoğu madde için, Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımının kullanılmasına ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır. Kullanılması halinde, bir Tür Hassasiyeti Dağılımı için sağlanan gerekçenin duruma göre değerlendirilmesi gerekir. EFSA PPR Opinion (2015), pestisitlerin aktif maddelerine maruz kalan çökelti organizmalarının ve bu maddelerden dönüşüm ürünlerinin değerlendirilmesi sırasında Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımı kullanılırken dikkate alınması gereken bazı bilimsel ilkeleri sağlar. Bu hususlar, KKDİK kapsamında Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımlarına ilişkin bir gerekçenin oluşturulması hususunda yardımcı olabilir.

R.7.8.12 Kalan belirsizlik

Pelajik ortamın durumu ile karşılaştırıldığında, endüstriyel maddelerin çökelti organizmaları üzerindeki etkilerini inceleyen farklı organizma grupları veya trofik seviyeler üzerinde daha az test bulunmaktadır. Bu nedenle, bu testlere ve değerlendirme kavramına ilişkin deneyim sınırlıdır. Bazı metaller için (örneğin, saha çalışmalarını içeren SEM-AVS üzerinde) daha fazla çalışma mevcuttur (bkz. Nguyen ve ark., 2011).

Standart hale getirilmiş test yöntemleriyle mevcut deneysel çalışmaların çoğu bentik omurgasızlarla ilgilidir. Bu nedenle, maddelerin bitkiler (çökeltide köklenmiş) veya mikroorganizmalar üzerindeki özel etkileri mevcut deneysel çalışmalar tarafından bazı durumlarda kapsamaktadır. Son zamanlarda, köklü sucul bitkiler ile standart bir test geliştirilmiş ve OECD (2014'te kabul edilen OECD 239) tarafından benimsenmiştir.

Hem köklü sucul bitkiler hem de mikroorganizmalar bentik topluluklarda önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bu organizma gruplarının belirli bir maddeyle ilişkili olduğuna dair göstergelerin bulunduğu durumlarda, özellikle daha yüksek kademeli çökelti değerlendirmelerinde (örneğin, bir Tür Hassasiyeti Dağılımı yaklaşımının kullanımı düşünüldüğünde) OECD 239'a göre gerçekleştirilen çalışmalar dikkate alınmalıdır. OECD 239 köklü makrofit testi, sazlık bitkilerinden *Glyceria maxima* gibi diğer türlerle kullanılmak üzere uyarlanabilir. Bu türler, maddeyle ilgili diğer bilgilerin (örneğin, etki şekli veya karasal bitki testlerinden elde edilen veriler) maddenin çift çenekli bitkilerden ziyade tek çenekli bitkiler için belirli fitotoksositeye neden olduğunu gösterdiği durumlarda en ilgili olabilir. Mevcut durumda, çökelti ortamıyla ilgili mikroorganizmalarla standart hale getirilmiş çalışmalar mevcut değildir.

Denge dağılımı yöntemi, herhangi bir çökelti testinin olmadığı durumlarda çökelti testlerinin gerekli olup olmadığı hususunda bir karara varılabilmesi amacıyla tarama yöntemi olarak nötr organik maddeler için kullanılabilir. Denge Dağılım Yönteminin çökelti organizmaları üzerindeki maddelerin toksisitesini olduğundan fazla veya daha az tahmin edebilme ihtimali sebebiyle, bu durum daha fazla belirsizliğe yol açar. Yüksek oranda yüzeye tutunan/bağlayıcı maddeler için PEC/PNEC oranındaki 10'luk ek faktör, çökelti yoluyla alım olasılığının göz önünde bulundurulması ve bu nedenle bu belirsizliğin dikkate alınması için gereklidir. Bununla birlikte, bunun yalnızca bir tarama yaklaşımı olduğu vurgulanmalıdır.

Denge Dağılımı Yöntemi yaklaşımı, Bölüm R.7.8.10'da daha ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır. KKDİK'teki bilgi gerekliliği uygulanabilir olduğunda, bu yaklaşımın organizmalara karşı uzun süreli toksisiteyi kapsamaması amaçlanır. Bu nedenle, Denge Dağılımı Yöntemi değerlendirmesinin ardından yeni verilerin üretilmesi halinde, test stratejisi normal olarak uzun süreli testler ile (ancak, test organizmalarının söz konusu maddeye olan bağıl hassasiyetine ilişkin bilgi olmadan) başlatılacaktır. Bu nedenle, yalnızca uzun süreli bir testin gerçekleştirildiği durumlarda, kullanılan türlerin kronik olarak en hassas olmadığı hususunda belirsizlik vardır. Bu belirsizlik yalnızca kısmi olarak 100 değerindeki değerlendirme faktörü tarafından kapsamaktadır ve bu nedenle bu yaklaşımın sonucu dikkatle ele alınmalıdır.

KKDİK Yönetmeliği, Ek 10, alt bölüm 9.5.1'deki çökelti uzun süreli testi için standart bilgi gerekliliğinin 2. sütunu en uygun test(ler)in seçimiyle ilgilenir. Bu nedenle birden fazla testin gerçekleştirilebileceği ve bilgi gerekliliğinin yerine getirilebilmesi amacıyla gerekli olabileceği anlamına gelir. Bu nedenle birden fazla çökelti testinin gerçekleştirilmesi mümkündür. Aynı zamanda bu, PNEC türetme amacıyla kullanılan değerlendirme faktörünün düşürülmesi için daha fazla testin gerçekleştirilmesine izin verir. PNEC_{çökelti} değerinin oluşturulması için değerlendirme faktörlerinin kullanımına ilişkin rehber (Bölüm R.10'da verilmiştir), sadece kısa süreli çökelti verilerinin kullanılması halinde AF 1000 kullanımını öngörür. Ayrıca Rehber, kısa süreli verilerden türetilen PNEC_{çökelti} değerinin yalnızca Denge Dağılımı Yöntemi kombinasyonunda bir tarama yaklaşımının parçası olarak kullanılabileceğini belirtmektedir.

R.7.8.13 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin sonuçlar

R.7.8.13.1 Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç

Bentik organizma ile yapılan tüm çökelti testleri sınıflandırma ve etiketleme için standart testler değildir, çünkü sınıflandırma için verilen bir kararda sadece su fazı yoluyla maruz kalma dikkate alınır. Mevcut olması halinde, çökelti olmadan çökelti organizmalarıyla gerçekleştirilen testler sınıflandırma ve etiketleme için yararlı olabilir.

R.7.8.13.2 PBT/vPvB değerlendirmesinin uygunluğuna ilişkin sonuç

PBT değerlendirmesi ile ilgili olarak, çökelti çalışmalarına ilişkin doğrudan bir T kriteri yoktur, ancak uzun süreli çökelti toksisite testleri, bir maddenin T kriterini karşılayıp karşılamadığı hususunda karara varılabilmesi için uygun olabilir. PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin tam rehberlik, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'de sağlanmaktadır.

R.7.8.13.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Çökelti toksisitesine ilişkin mevcut veriler, Bölüm R.7.8.10'da açıklanan kriterlere göre etki değerlendirmesindeki ve PNEC türetmedeki kullanımlarının yeterliliği açısından değerlendirilmelidir. Normalde, çökelti toksisitesine ilişkin çok az veri mevcut olacaktır. Bu durumda denge dağılımı yöntemi, çökelti organizmaları için toksisiteye ilişkin deneysel verilerin gerekli olup olmadığı hususunda bir karara varılabilmesi için ilk tarama yaklaşımı olarak kullanılabilir. Log $K_{ow} > 5$ olan maddeler için, çökelti yutma yoluyla bentik organizmaların maruz kalmasının göz önünde bulundurulabilmesi amacıyla PEC/PNEC oranına ek bir 10 faktör uygulanmalıdır. Örneğin Denge Dağılımı Yöntemi, normalde suda çözünürlüğü zayıf olan ve akut ve/veya kronik sucül çalışmalarda herhangi bir etkisi gözlemlenmeyen veya lipofiliklikten kaynaklanmayan yüksek yüzeye tutunma veya bağlanma davranışına sahip maddeler için (örneğin iyonize olabilen maddeler, yüzey aktif maddeler, aromatik aminler gibi çökelti tanecikleriyle kovalent bağ oluşturan maddeler) kullanılamaz. Bu tür maddelere için en az bir çökelti çalışması gerçekleştirilmelidir.

Test maddesinin test sisteminin su fazına eklenmesi yoluyla uygulandığı çökelti testlerinin mevcut olduğu durumlarda, mg/L olarak verilen etki değerlerinin maddeye özgü dağılım katsayısı kullanılarak bir çökelti konsantrasyonuna (mg/kg) dönüştürülmesi gerekir. Mevcut olması halinde ölçülen çökelti konsantrasyonları da kullanılabilir.

Yalnızca bir uzun süreli çökelti testinin mevcut olması halinde, bu testin endobentik ve çökelti yutan türler için gerçekleştirilmesi tercih edilmelidir ve maruz kalma süresi, çökelti ile ilişkili maddenin test organizması tarafından yeterli alımını sağlayacak kadar uzun olmalıdır.

Örneğin, bakteriyöz nematod *Caenorhabditis elegans* ile sadece 72 saatlik bir testin mevcut olması halinde (büyüme inhibisyonu ve yumurta üretimi ölçüldüğü için uzun süreli test olarak kabul edilir), bu testin sonucu $PNEC_{\text{çökelti}}$ değerinin oluşturulmasında tek başına kullanılamaz. Bununla birlikte böyle bir test, (a) *Lumbriculus* veya *Chironomus* gibi diğer bentik türlerle uzun süreli testlerin mevcut olması halinde, değerlendirme faktörünün düşürülebilmesi için 2. veya 3. test olarak kullanılabilir. Genel olarak, kısa süreli testlerden elde edilen sonuçlar yalnızca bir $PNEC_{\text{çökelti}}$, tarama değerinin elde edilebilmesi için Denge Dağılımı Yöntemi ile kombinasyon halinde kullanılabilir.

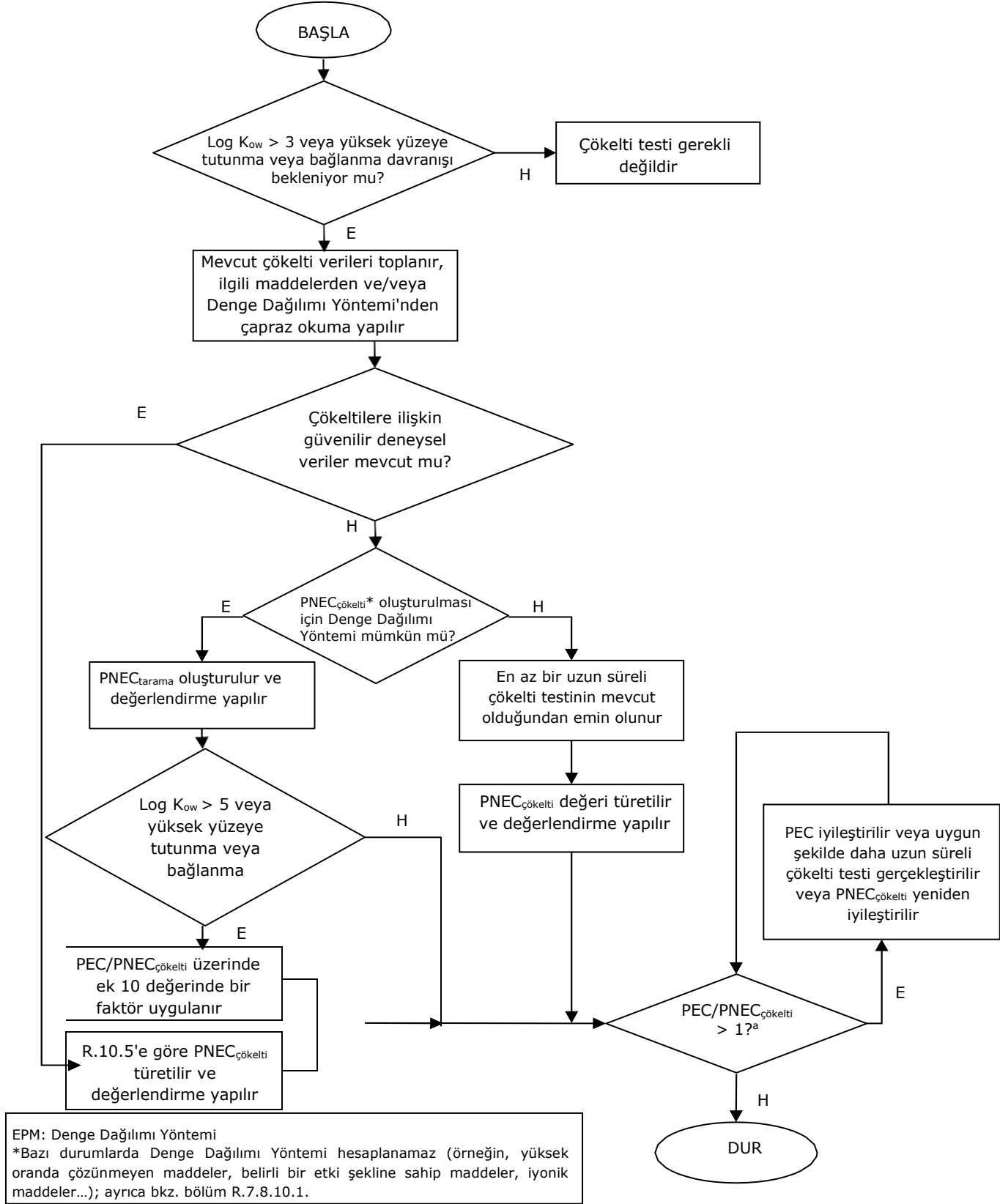
R.7.8.14 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

R.7.8.14.1 Amaç / Genel ilkeler

Çökelti ortamına yönelik bütünleşik bir test stratejisi, öncelikle kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için, yani bir $PNEC_{\text{çökelti}}$ değerinin oluşturulması için gereklidir.

Aşağıda açıklanan ve *Şekil R.7.8—8*'de görselleştirilen test stratejisinin amacı, düzenleyici talebin karşılanabilmesi için kademeli bir yaklaşım hususunda rehberlik sağlamaktır.

Şekil R.7.8—8 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)



^aNot: Daha fazla risk düzeltmesinin mümkün olmadığı durumlarda, risk azaltmaya ilişkin uygun önlemler (örneğin, RKO < 1 olacak şekilde maruz kalmanın yeterince en aza indirilmesi) uygulanır.

R.7.8.14.2 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin test stratejisi

Çökelti ortamı için değerlendirmeyi tetikleyen bir maddenin ana özelliği, çökelti yüzeyine tutunma veya bağlanma olasılığıdır. Çökelti değerlendirmesine ilişkin diğer tetikleyiciler R.7.8.7'de verilmiştir. Çökelti değerlendirmesine ilişkin tetik değeri olarak log K_{ow} için 3 değeri kullanılmalıdır. Bu tetikleme değerini aşan maddeler için, çökelti toksisitesi verilerinin mevcudiyeti kontrol edilmelidir. Herhangi bir (kabul edilebilir) çökelti testinin yokluğunda, denge dağılımı yöntemi ilk tarama olarak uygulanabilir.

3 ile 5 arasında bir log K_{ow} 'a sahip maddeler için bu tarama değerlendirmesi, pelajik ortam ile aynı risk karakterizasyon oranına yol açar, çünkü hem $PEC_{\text{çökelti}}$ hem de $PNEC_{\text{çökelti}}$ tarama, aynı dağılım katsayısı kullanılarak ilgili pelajik verilerden modellenir.

Log $K_{ow} > 5$ olan maddelere özel dikkat gösterilmelidir. Aynı dikkat, yüzeye tutunmanın lipofiliklik tarafından değil de, başka mekanizmalar tarafından tetiklendiği durumlarda (örneğin, iyonlaştırıcı maddeler, yüzey aktif maddeler, çökelti bileşenleriyle kimyasal olarak bağlanan maddeler, K_d 'nin yüksek bağlanma potansiyelini öngördüğü maddeler) karşılık gelen yüksek yüzeye tutunma veya bağlanma davranışına sahip maddelere de gösterilmelidir. Bentik türler tarafından maddenin çökeltiye bağlı alımının göz önünde bulundurulabilmesi için, R.10.5'te belirtilen kurallara göre türetilen PEC/PNEC oranı, belirli bir madde grubu için ek bir faktörün geçerli olmadığına ilişkin bilimsel kanıt sağlanmadığı sürece bu tür maddelerin tümü için 10 kat arttırılmalıdır. İkinci durumda, bu ek faktörün uygulanmaması ayrıntılı bir şekilde kanıtlanmalıdır. PEC/PNEC oranının birin altında olduğu durumlarda, incelenen madde için çökelti ortamı riski belirlenmez ve başka testlere gerek yoktur.

PEC/PNEC oranının birin üzerinde olduğu durumlarda, bentik türler ile uzun süreli çökelti testlerinin gerçekleştirilmesi gereklidir.

Suda çözünürlüğü zayıf olan ve sucul çalışmalarda herhangi bir etkisi gözlemlenmeyen maddeler için denge dağılımı yönteminin uygulanması mümkün değildir. Bu tür maddeler için en az bir çökelti testi yapılmalıdır.

Mevcut durumda bir veya daha fazla (kabul edilebilir) akut veya uzun süreli çökelti testinin bulunduğu durumlarda, uygun bir değerlendirme faktörü (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.10'da açıklandığı gibi) kullanılarak bu testlerden bir $PNEC_{\text{çökelti}}$ türetilir. Genel olarak, kısa süreli testlerden elde edilen sonuçlar yalnızca bir $PNEC_{\text{çökelti}}$, tarama değerinin elde edilebilmesi için Denge Dağılımı Yöntemi ile kombinasyon halinde kullanılabilir. Birden fazla bentik türle uzun süreli çökelti testlerinin mevcut olduğu durumlarda, bu organizmaların farklı habitatları ve beslenme stratejilerini temsil edip etmediği ve bu nedenle farklı maruz kalma yollarının ortaya çıkıp çıkmadığı dikkate alınmalıdır. Yalnızca bu durumda, değerlendirme faktörünün azaltılması mümkündür. PEC/PNEC oranının birin altında olduğu durumlarda, çökelti ortamı için herhangi bir risk belirtilmez ve başka testlere gerek yoktur. PEC/PNEC oranının birin üzerinde olduğu durumlarda, bentik türler ile (daha fazla) uzun süreli çökelti testlerinin gerçekleştirilmesi gereklidir.

Yeterli uzun süreli çökelti testlerinin mevcut olmadığı durumlarda, yukarıda açıklandığı gibi başka bir rehberin/diğer türlerin seçilmesine ilişkin belirli nedenler olmadığı sürece, tercihen *Lumbriculus variegatus* veya *Chironomus sp.* ile kimyasal eklenmiş çökeltinin kullanıldığı başka bir test yapılmalıdır. Dosyada tür seçimine ilişkin uygun gerekçeler sağlanmalıdır. Bir $PNEC_{\text{çökelti}}$, uygun bir değerlendirme faktörü kullanılarak (mevcut en düşük) NOEC/ EC_{10} 'dan türetilmelidir.

Hem PEC_{çökelti} değerinin hem de PNEC_{çökelti} değerinin aynı organik madde içeriğine normalize edilmesi gerektiğine dikkat edilmelidir²⁴.

PEC/PNEC oranının 1'in altında olduğu durumlarda, çökelti ortamı için herhangi bir risk belirtilmez ve başka bir testin yapılması gerekli değildir. PEC/PNEC oranının 1'in üzerinde olduğu durumlarda, belirsizlik ya PEC'in iyileştirilmesi ile ya da farklı habitatları ve beslenme stratejilerini temsil eden türler ile başka bir uzun süreli çökelti testinin gerçekleştirilmesi ile azaltılabilir.

Toksisite veri seçimi ve derlemesi yalnızca bir dizi taksonomik grubu temsil etmemeli, aynı zamanda fonksiyonel karakter dahil - ancak bununla sınırlı olmamak üzere - fonksiyonel özelliklerin dengeli ve gerçekçi bir temsilini hedeflemelidir. Daha kesin bir şekilde, omurgasızlara ilişkin farklı maruz kalma koşulları ve beslenme stratejileri, çeşitli yaşam stratejileri ile temsil edilmelidir. Tablo R.7.8-5, taksonomik grup, habitat ve beslenme stratejisindeki farklılıkların belirlenebilmesi için bir başlangıç noktası olarak kullanılabilir.

Genel olarak, test için (farklı taksonomik gruplardan) aşağıdaki bentik türler önerilir:

- *Lumbriculus variegatus*, kimyasal eklenmiş çökeltinin kullanıldığı uzun süreli bir testte
- *Chironomus sp*, kimyasal eklenmiş çökeltinin kullanıldığı uzun süreli bir testte
- Başka bir bentik tür, kimyasal eklenmiş çökeltinin kullanıldığı uzun süreli testlerde. 3. türün seçimi habitat, beslenme stratejisi ve yaşam evresi açısından ilk 2 türü desteklemelidir. Bu, *Hyalella azteca* olabilir.

Bazı uzun süreli rehber çalışmaları, uzun süreli diğer testlerden daha uzun bir maruz kalma süresine sahiptir. Daha uzun süreli çalışmalar genel olarak çok uzun olması beklenen dengeleme sürelerine (vücutta kararlı hale ulaşma süresi) sahip maddeler için tercih edilir. Dengeleme sürelerine ilişkin bilgiler, logKow ve/veya logKoc değeri, (sucul) biyokonsantrasyon çalışmaları, ekotoksisite verileri gibi farklı kaynaklardan elde edilebilir. Örneğin, 28 günlük *Hyalella azteca* çalışması (örneğin, ISO 16303:2013), çok uzun dengeleme süresine sahip bir madde için iyi bir seçenek olmayabilir; bu durumda, 42 günlük *H. azteca* çalışması (örneğin, EPA 600/R-99/064, 100.4) daha iyi bir seçimdir.

Normalde omurgalı olmayan türlerle yeni çalışmalar yapılmalıdır. Bu çalışmalar uluslararası kabul görmüş rehberlere uymalı ve İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU) kapsamında gerçekleştirilmelidir. Örneğin amfibilerle yapılan herhangi bir test (ASTM Rehberi E2591-07) kayıt ettirenler tarafından çok iyi bir şekilde gereğelenmelidir.

Bununla birlikte, çökelti ortamı riskine ek olarak pelajik ortam için de bir risk varsa ve pelajik ortama ilişkin PEC/PNEC oranı, çökelti ortamına ilişkin PEC/PNEC oranından daha yüksekse, sucul ortamın maruz kalımını azaltmak için uygulanan herhangi bir risk azaltma önlemi çökelti ortamını etkileyecek/kapsayacaktır. Böyle bir durumda, emisyonu azaltıcı önlemlerin sonucunu beklemek için başka bir çökelti testinin yapılmasına ilişkin ihtiyaç ertelenebilir.

²⁴ Bkz. dipnot 21.

$PNEC_{\text{çökelti}}$, farklı maruz kalma yollarını kapsayan üç uzun süreli çökelti testinden en düşük NOEC/EC10 değerinden türetilmişse ve çökelti ortamına ilişkin PEC/PNEC oranı hala birin üzerindeyse, PEC değerinin azaltılması için daha fazla önlem alınmalıdır.

Test ihtiyacının azaltılabilmesi için, grup yaklaşımlarının ve çapraz okuma yöntemlerinin çökelti çalışmalarından kısmen veya tamamen feragat ettiği düşünülmelidir. Başka toksisite değerlerinin makul bir şekilde tahmin edilebileceğine dair yeterli çalışma mevcut olmalıdır.

Örnekler: belirli bir kimyasal kategoriye ilişkin 10'luk ek faktörün çökelti organizmalarındaki toksisiteyi önemli ölçüde olduğundan fazla tahmin ettiğine dair açık bir kanıt mevcutsa, Denge Dağılımı Yöntemi bu ek faktör olmadan kullanılabilir. Bu ayrıntılı bir şekilde kanıtlanmalıdır. Diğer durumlarda, yalnızca bir (uzun süreli) çökelti testinin yapılması yeterli olabilir, çapraz okumanın mümkün olduğu başka bir madde için, en düşük değerlendirme faktörünün belirlenebilmesi amacıyla hangisinin en hassas test türü/test sistemi olduğu sonucuna varılabilir.

Çapraz okuma veya kimyasal kategoriler yoluyla sonuçların nasıl elde edileceğine ilişkin genel rehberlik Bölüm R.6.2'de sağlanmaktadır.

Deniz ortamı için aynı test stratejisi izlenir. Mevcut deniz tam çökelti testlerinin çoğu akut toksisiteyi ölçer; yalnızca birkaçı uzun süreli, öldürücü düzeyin altındaki sonlanma noktalarını ölçer. Genel olarak, deniz ortamına tatlı su ortamından daha yüksek bir değerlendirme faktörü uygulanır.

Değerlendirme faktörlerinin boyutunun belirlenmesine ilişkin kapsamlı rehberlik, BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.7c, Başlık R.10.5'te sağlanmaktadır.

Tablo R.7.8-5 OECD, ISO, ABD EPA, ASTM ve OSPAR rehberlerinden en yaygın bentik test türlerinin karakterizasyonu

Tür	Taksonomik grup	Yetiştirme ortamı	Besleme şekli:	İlgili rehber(ler)
<i>Myriophyllum spicatum</i>	köklü çift çenekli makrofit bitkiler	Tatlı su, köklü	Köklü bitkiler	OECD 239
<i>Chironomus sp.</i>	böcek	tatlı su, endobentik	Süspansiyon ve tortuliyenler ile besleme	OECD 218/219/233/235 ASTM E1706-05 ABD EPA 100.2/100.5
<i>Lumbriculus variegatus</i>	kara ve tatlı su solucangilleri	tatlı su, endobentik	Çökelti yutucu	OECD 225

<i>Hyalella azteca</i>	amfipod	Tatlı su, Epibentik	Detritivor, bazı yüzey tortulyiyenler ile besleme	ASTM E1706-05 ABD EPA 100.1/100.4 ISO 16303:2013
<i>Hexagenia sp.</i>	böcek	tatlı su, endobentik	Tanecik yüzeyi toplayıcı	ASTM E1706-05
<i>Tubifex tubifex</i>	kara ve tatlı su solucangilleri	tatlı su, endobentik	Çökelti yutucu	ASTM E1706-05
<i>Diporeia spec.</i>	amfipod	tatlı su, endobentik	Tortulyiyen	ASTM E1706-05
<i>Caenorhabditis elegans</i>	nematod	tatlı su, endobentik	bakteri yutucu	ISO 10872:2010
<i>Leptocheirus plumulosus</i>	amfipod	nehir ağzı endobentik	Süspansiyon ve tortulyiyenler ile besleme	ABD EPA 600/R- 01/020 ASTM E1367-03e1
<i>Ampelisca abdita</i>	amfipod	deniz, endobentik	Süspansiyon ve tortulyiyenler ile besleme	ASTM E1367-03e1
<i>Eohaustorius esturais</i>	amfipod	nehir ağzı endobentik	Tortulyiyen	ASTM E1367-03e1
<i>Rhepoxynius abronius</i>	amfipod	Deniz endobentik	Meiofaunal yırtıcı, tortulyiyenler ile besleme	ASTM E1367-03e1
<i>Neanthes arenaceodentata</i> <i>Neanthes virens</i>	su kurtları	deniz, endobentik	Omnivor, tortulyiyenler ile besleme	ASTM E1611-00
<i>Corophium volutator</i>	amfipod	deniz, endobentik	Süspansiyon ve tortulyiyenler ile besleme	OSPAR (2005)
<i>Gammarus sp.</i>	amfipod	Tatlı su nehir ağzı	Otçul; detritivor	ISO 16712:2005
<i>Heterocypris incongruens</i>	Ostrakod	Tatlı su, epibentik	Omnivor	ISO 14371:2012

<i>Rana pipiens</i>	amfibi	Tatlı su, Epibentik/pelajik	Süspansiyon besleme	ile	ASTM E2591-07
<i>Rana clamitans</i>	amfibi	Tatlı su, Epibentik/pelajik	Bentik besleme		ABD EPA 100
<i>Rana sylvatica</i>	amfibi	Tatlı su, Epibentik/pelajik	Tortulyiyenler besleme	ile	ABD EPA 100
<i>Bufo americanus</i>	amfibi	Tatlı su, Epibentik/pelajik	Süspansiyon, ölü organik maddeler ve bitki kalıntılarıyla besleme		ABD EPA 100

R.7.8.15 Çökelti organizmalarında toksisiteye ilişkin referanslar

Åkerblom N ve Goedkoop W (2003) Stable isotopes and fatty acids reveal that *Chironomus riparius* feeds selectively on added food in standardized toxicity tests (*Chironomus riparius*'un standart hale getirilmiş toksisite testlerinde eklenmiş gıdalar ile seçici olarak beslendiğini ortaya koyan kararlı izotoplar ve yağ asitleri). Environ Toxicol Chem 22:1473-80.

Ankley GT, Di Toro DM, Hansen DJ ve Berry WJ (1991) Technical basis and proposal for deriving sediment quality criteria for metals (Metaller için çökelti kalitesi kriterlerinin türetilmesine ilişkin teknik temel ve öneri). Environ Toxicol Chem 15:2056-66.

ASTM (2003) Deniz ve Nehir Ağız Omurgasızları ile Çökeltiyle İlişkili Kirleticilerin Toksisitesinin Ölçülmesine İlişkin Standart Test Yöntemi. ASTM Standard E1367-03e1, Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu, West Conshohocken, Philadelphia, ABD.

ASTM (2005) Tatlı Su Omurgasızları ile Çökeltiyle İlişkili Kirleticilerin Toksisitesinin Ölçülmesine İlişkin Standart Test Yöntemi. ASTM Standard 1706-05, Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu, West Conshohocken, Philadelphia, ABD.

ASTM (2013) Deniz ve Nehir Ağız Toprak Solucanlarından Annelidler ile Çökelti Toksisitesi Testlerinin Yürütülmesine İlişkin Standart Rehber. ASTM Standard E1611-00, Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu, West Conshohocken, Philadelphia, ABD.

Brumbaugh WG, Besser JM, Ingersoll CG, May TW, Ivey CD, Schlekat CE ve Rogevich-Garman E (2013) Nickel partitioning during chronic laboratory toxicity tests with eight different spiked freshwater sediments: Toward more environmentally realistic testing conditions (Kimyasal eklenmiş sekiz farklı tatlı su çökeltisi ile kronik laboratuvar toksisite testleri sırasında nikel dağılımı: Çevre açısından daha gerçekçi test koşullarına doğru). Environ Toxicol Chem 32:2482-94.

Burton GA jr (1991) Assessing freshwater sediment toxicity (Tatlı su çökelti toksisitesinin değerlendirilmesi). Environ Toxicol Chem 10:1585-627.

DeWitt TH, GR Ditsworth ve Swartz RC (1988) Effects of natural sediment features on survival of the phoxocephalid amphipod, *Rhepoxynius abronius* (Doğal çökeltilerin özelliklerinin phoxocephalid amphipod, *Rhepoxynius abronius*'un sağkalımı üzerindeki etkileri). Marine Environ Res 25:99-124.

Costello DM, Burton GA, Hammerschmidt CR, Rogevich EC ve Schlekot CE (2011) Nickel phase partitioning and toxicity in field-deployed sediments (Sahaya yayılmış çökeltelerde nikel fazı dağılımı ve toksisitesi). *Environ Sci Technol* 45:5798-805.

Diepens NJ, Dimitrov MR, Koelmans AA ve Smidt H (2014a) Tracking uptake, translocation and elimination in sediment-rooted macrophytes: A model-supported analysis of whole sediment toxicity test data (Çökelti kökenli makrofitlerde alımın, yer değiştirmenin ve eliminasyonun izlenmesi: Tüm çökelti toksisitesi testi verilerinin model destekli bir analizi). *Environ Sci Technol* 48:12344-353.

Diepens NJ, Arts GHP, Brock TCM, Smidt H, Van den Brink PJ, van den Heuvel MJ ve Koelmans AA (2014b) Sediment toxicity testing of organic chemicals in the context of prospective risk assessment (İleriye dönük risk değerlendirmesi bağlamında organik kimyasalların çökelti toksisitesi testi). *Crit Rev Env Sci Technol* 44:255-302.

Di Toro DM, Zarba C, Hansen DJ, Swartz RC, Cowan EC, Allen HE, Thomas NA, Paquin PR ve Berry WJ (1991) Technical basis of establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning (Denge dağılımı kullanılarak iyonik olmayan organik kimyasallar için çökelti kalitesi kriterlerinin oluşturulmasının teknik dayanağı). *Environ Toxicol Chem* 10:1541-83.

Di Toro DM, Berry WJ, Burgess RM, Mount DR, O'Connor TP ve Swartz RC (2005) The Predictive Ability of Sediment Quality Guidelines Derived Using Equilibrium Partitioning (Denge Dağılımı Kullanılarak Türetilen Çökelti Kalitesi Rehberlerinin Öngörme Yeteneği). *Kaynak: Wenning RJ ve Ingersoll CG (Ed.) Use of Sediment Quality Guidelines and Related Tools for the Assessment of Contaminated Sediments (Kontamine Çökeltilerin Değerlendirilmesi için Çökelti Kalitesi Rehberlerinin ve İlgili Araçların Kullanımı)*, SETAC Press, Pensacola, FL, ABD.

ECHA (2014) Çökelti Ortamının Çevresel Risk Değerlendirmesine Yönelik Prensipler: Güncel Bilimsel Çalıştay Bildirileri, Helsinki, 7-8 Mayıs 2013.

EFSA (2013) Tarla kenarındaki yüzey sularında suda yaşayan organizmalar için bitki koruma ürünlerine ilişkin kademeli risk değerlendirmesi rehberi. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3290.htm>

EFSA (2015) Tarla kenarındaki yüzey sularında pestisitlerin çökelti organizmaları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine ilişkin Bilimsel Görüş. *EFSA Journal* 2015; 13(7):4176,145 ss. doi:10.2903/j.efsa.2015.4176

Environment Canada (1997a) Biological Test Method: Test for Growth and Survival in Sediment Using the Freshwater Amphipod *Hyaella azteca* (Biyolojik Test Yöntemi: Tatlı Su Amfipodu *Hyaella azteca* Kullanılarak Çökeltide Büyüme ve Sağkalım Testi). Environment Canada, Ottawa, Ontario. Teknik Rapor EPS 1/RM/33.

Environment Canada (1997b) Biyolojik Test Yöntemi: Test for Growth and Survival in Sediment Using Larvae of Freshwater Midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*) (Tatlı Su Tatarcık Larvaları (*Chironomus tentans* veya *Chironomus riparius*) kullanılarak Çökeltide Büyüme ve Sağkalım Testi). Environment Canada, Ottawa, Ontario, Teknik rapor EPS 1/RM/32.

Hutchins C, Teasdale PR, Lee SY, Simpson SL (2008) Cu and Zn concentration gradients created by dilution of pH neutral metal-spiked sediment: Comparing the geochemical response with alternate methods of metal addition (Nötr pH'da metal eklenmiş çökeltilerin neden olduğu Cu ve Zn konsantrasyonlarının değişim aralıkları). *Environ Sci Technol* 42:2912-8.

ICMM (2002) bilgi formu N°10. Use of the SEM and AVS approach in predicting metal toxicity in sediments (Çökeltilerdeki metal toksisitesinin tahmin edilmesinde SEM ve AVS yaklaşımının kullanılması). ICMM, Uluslararası Madencilik ve Metaller Konseyi, Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Bilgi Formu, No. 10, Ocak 2002.

ISO (2005) Su kalitesi - Deniz veya nehir ağızı çökeltisinin amfipodlar üzerindeki akut toksisitesinin belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu, No. 16712.

Lee JS, Lee BG, Luoma SN and Yoo H (2004) Importance of equilibration time in the partitioning and toxicity of zinc in spiked sediment bioassay (Kimyasal eklenmiş çökelti biyotayinlerinde çinkonun dağılımındaki ve toksisitesindeki dengeleme süresinin önemi). Environ Toxicol Chem 23: 65-71.

Léon Paumen M, Stol P, Ter Laak TL, Kraak MH, Van Gestel CA ve Admiraal W (2008) Chronic exposure of the oligochaete *Lumbriculus variegatus* to polycyclic aromatic compounds (PACs): bioavailability and effects on reproduction (Kara ve tatlı su solucangillerinden *Lumbriculus variegatus*'un polisiklik aromatik bileşiklere (PAC) kronik maruz kalması: biyoyararlanım ve üreme üzerindeki etkiler). Environ Sci Technol 42:3434-40.

Nguyen LTH, Burton GA, Schlekot CE, Janssen CR (2011) Nickel sediment toxicity: Role of Acid Volatile Sulfid (Nikel çökeltisi toksisitesi: Asit Uçucu Sülfürün Rolü). Environ Toxicol Chem 30:162-72.

Nowell LH, Capel PD ve Dileanis PD (Ed.) (1999) Pesticides in stream sediment and aquatic biota: distribution, trends, and governing factors (Akarsu çökeltisindeki ve su biyotasındaki pestisitler: dağılım, eğilimler ve yöneten faktörler). CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, 1040 ss.

OECD (1998) Pestisitler ve Endüstriyel Kimyasallar için Sucul Test Yöntemleri Hakkında Ayrıntılı İnceleme Belgesi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları. Test ve Değerlendirmeler Üzerine Seri No. 11, Paris.

OECD (2000) Test ve Değerlendirmeler üzerine OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları Serisi No. 23, Zor Maddelerin ve Karışımların Sucul Toksikite Testine İlişkin Rehber Doküman, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) için Çevre Müdürlüğü Kuruluşu, Paris, Eylül 2000.

OECD (2004a) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 218: "Kimyasal eklenmiş çökelti kullanılarak kayronomid toksisite testi".

OECD (2004b) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 219: "Kimyasal eklenmiş su kullanılarak kayronomid toksisite testi".

OECD (2006) Test ve değerlendirme üzerine OECD serisi, No. 54. Ekotoksikite verilerinin istatistiksel analizinde güncel yaklaşımlar hakkında rehber doküman: uygulama rehberi.

OECD (2007) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 225: "Kimyasal eklenmiş çökelti kullanılarak çökelti-su *Lumbriculus* toksisite testi"

.

OECD (2010) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 233: "Kimyasal Eklenmiş Su veya Kimyasal Eklenmiş Çökelti Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Yaşam Evresi Testi"

OECD (2011) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 235: "*Chironomus sp.*, Akut Hareketsizlik Testi".

OECD (2014) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD Rehberleri No. 239: "Su-Çökelti *Myriophyllum spicatum* Toksikite Testi".

Ortega-Calvo JJ, Harmsen J, Parsons JR, Semple KT, Aitken MD, Ajao C, Eadsforth C, Galay-Burgos M, Naidu R, Oliver R, Peijnenburg WJGM, Römbke J, Streck G and Versonnen B (2015) From bioavailability science to regulation of organic chemicals (Biyoyararlanım biliminden organik kimyasalların düzenlenmesine). *Environ Sci Technol* 49:10255-64.

OSPAR Komisyonu (2005) Protocols on methods for the testing of chemicals used in the offshore oil industry (Açık deniz petrol endüstrisinde kullanılan kimyasalların test edilmesine yönelik yöntemlere ilişkin protokoller). Amfipod *Corophium sp.* kullanılan bir Çökelti Biyotayini. Referans numarası 2005-11.

SETAC (1993) Tatlı Su ve Deniz Ortamları için Çökelti Toksikitesi Testleri ve Biyotayinler Hakkında Rehber Doküman. 8-10 Kasım 1993 tarihlerinde Hollanda, Renesse'de gerçekleştirilen Çökelti Toksikite Değerlendirmesi Çalıştayı'ndan. Hill I, Mathiessen P, Heimbach F (Ed). Çevresel Toksikoloji ve Kimya Derneği - Avrupa, Brüksel.

Simpson SL, Angel BM ve Jolley DF (2004) Metal equilibration in laboratory contaminated (spiked) sediments used for the development whole-sediment toxicity tests (Tam çökelti toksisitesi testlerinin geliştirilmesi için kullanılan laboratuvarında kontamine edilmiş (kimyasal eklenmiş) çökeltelerde metal dengeleme). *Chemosphere* 54:597-609.

ABD EPA (2000) Tatlı su omurgasızları ve çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin toksisitesinin ve biyobirikiminin ölçümüne ilişkin yöntemler. 600/R-99/064 ABD Çevre Koruma Ajansı, Mart 2000.

ABD EPA (2001) Amfipod *Leptocheirus plumulosus* ile deniz ve nehir ağız çökelti ile ilişkili kirletici maddelerin kronik toksisitesinin değerlendirilme yöntemi. 600/R- 01/020 ABD Çevre Koruma Ajansı, Mart 2001.

Wiegelhofer G ve Waringer J (2003) Vertical distribution of benthic macroinvertebrates in riffles versus deep runs with differing contents of fine sediments (İnce çökelti farklı içerikli derin sulardaki akışlarına karşı bentik makroomurgasızların oluklardaki dikey dağılımı) (Weidlingbach, Avusturya). *Int Rev Hydrobiol* 88:304-13.

R.7.8.16 AAT mikroorganizmaları toksisitesine giriş

R.7.8.16.1 AAT mikroorganizmalarında toksik etkinin tanımı

Bir AAT'nin (Atık Su Arıtma Tesisi) yeterli işleyişi, aşağı akışlı sucul ortamın korunması ve işletme maliyetlerinin en aza indirilebilmesi için gereklidir. Çevresel risk değerlendirmesinin bir parçası olarak AAT toksisitesi sonlanma noktası da AB TRD'ye dahil edilmiştir (CEC, 2003). Değerlendirmenin amacı, belediye ve endüstriyel AAT'lerde biyobozunurluğun, besin giderme işlevlerinin ve genel olarak işlem performansının korunmasıdır.

Kimyasalların AAT'lerde mikrobiyal aktivite üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmesi sebebiyle, bir $PNEC_{mikroorganizmalar}$ (burada $PNEC_{AAT}$ olarak adlandırılır) değerinin türetilmesi gerekir. $PNEC_{AAT}$, AAT'lerde mikrobiyal aktivite için risk oranının ($PEC_{AAT} / PNEC_{AAT}$) hesaplanmasında toksisite ölçüsü olarak kullanılacaktır.

R.7.8.16.2 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin rehberin amacı

$PNEC_{AAT}$, mikrobiyal toksisite testleri ile belirlenir. Kimyasalların mikrobiyal aktivite üzerindeki etkisini ölçmek için kullanılan test sistemleri, farklı sonlanma noktalarına ve farklı hassasiyet seviyelerine sahiptir. Geçmişte uluslararası kabul görmüş bir dizi test sistemi önerilmiştir ve bu testlerin KKDİK kapsamında önerilen kullanımları bu belgede daha ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

Bir AAT'nin tasarlanmış ortamı için, fonksiyonel sonlanma noktaları (yani iyi ve kararlı çalışma) yapısal sonlanma noktalarına (yani mikrobiyal popülasyon bileşimi) göre önceliklidir.

Söz konusu maddenin hem endüstriyel (yani üretim sahası) hem de belediye AAT'lerine salınması durumunda, toksisite değerlendirmesinin her iki AAT türü için ilgili sistemlere ilişkin parametrelerle ayrı ayrı yapılması gerekir (yukarıya bakınız)²⁵.

R.7.8.17 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin bilgi gereklilikleri

$PNEC_{AAT}$ 'nin değerlendirilmesi, 10 ton/yıl ve üzeri hacimler için bir gerekliliktir (KKDİK Ek 8, test gereklilikleri 9.1.4.). KKDİK, 9.1.4'te belirtilen test türü, aktif çamur solunum testidir (OECD 209). Solunum inhibisyonu, mikroplar üzerindeki etkilerin ölçülmesine yönelik birçok olası test yaklaşımından yalnızca biridir, ancak çamur mikroorganizmalarının birleşik etkinliğinin en yaygın kabul gören göstergesidir. Bu nedenle, yeni mikrobiyal toksisite verilerinin oluşturulması için solunum inhibisyonu testi tercih edilir. Maddenin nitrifikasyon bakterileri için toksik olabileceğine dair göstergelerin bulunduğu durumlarda, bu test bir nitrifikasyon inhibisyonu testi ile değiştirilebilir.

²⁵ Uygulamada, evsel atık suları arıtan birçok AAT aynı zamanda endüstriyel atıkların bir kısmını da alır ve net bir ayırma her zaman yapılamaz. Belediye/evsel AAT'ler burada, yükü ağırlıklı olarak evsel atık sularından oluşan tesisler olarak tanımlanmaktadır.

Mikrobiyal inhibisyona ilişkin diğer test yöntemleri, bozunma veya atık su arıtma simülasyon testleri ile elde edilen kaliteli verilerin ve özellikle bu çalışmaların mevcut olduğu durumlarda, KKDİK gerekliliklerinin karşılanabilmesi için kullanılabilir (BTS şeması, Bölüm R.7.8.21'e bakınız) .

KKDİK, Ek 8, Sütun 2, aşağıdaki durumlarda AAT toksisite testinin gerekli olmadığını belirtir:

- AAT'ye salımın olmadığı durumlarda (PEC = 0)
- bileşiğin kolay biyobozunur olduğu ve PEC değerinin uygulanan test konsantrasyonunun altında olduğu durumlarda
- çok düşük çözünürlük gibi maruz kalmayı sınırlayacak hafifletici faktörlerin olduğu durumlarda

R.7.8.18 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin bilgi kaynakları

R.7.8.18.1 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ve kaynaklarına ilişkin laboratuvar verileri

AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test dışı veriler

AAT toksisitesinin tahmin edilebilmesine ilişkin Nicel Yapı Aktivite İlişkilerinin pratik kullanımı hala sınırlıdır. Mikroorganizmalardaki toksik etkiye ilişkin yayınlanmış bazı Nicel Yapı Aktivite İlişkilerinin bulunmasına rağmen (örneğin, Blum ve Speece, 1990; Ren ve Frymier, 2002b, Redman ve ark., 2005; Schulz ve ark., 2005), bu günümüzde iyi geliştirilmiş bir bilim alanı değildir. Mevcut mikrobiyal toksisite Nicel Yapı Aktivite İlişkileri temel olarak, siliyat *Tetrahymena pyriformis* (T.Schulz ve arkadaşlarının çalışmalarına bakınız) ve daha önce Microtox® testinde *Photobacterium phosphoreum* olarak bilinen biyoluminesan *Vibrio fischeri* gibi bireysel mikroorganizma türlerine karşı temel toksisite için geliştirilmiştir. Polar olmayan narkotikler için modellerin üstünde, belirli bir kimyasal sınıfa özgü bazı ek modeller mevcuttur. AAT'lerdeki mikroorganizmaların korunabilmesi için deneysel yaklaşım ve QSAR yaklaşımı arasında kavramsal tutarlılığın sağlanması sebebiyle, siliyatlar ve AAT'lere özgü olmayan bireysel bakteri türleri için geliştirilen QSAR modellerinin kullanımı hariç tutulmalıdır.

P. putida'ya temel toksisite ve aktif çamur solunum inhibisyonu için ön QSAR modelleri Redman ve ark. (2005) tarafından raporlanmıştır. Bildirilen modeller sınırlı sayıda gözleme dayanmaktadır ve uzman incelemesinden geçmiş literatürde henüz yayınlanmamıştır. Burada daha fazla doğrulama çalışmasına ihtiyaç vardır.

Nitrifikasyon inhibisyonunu doğru bir şekilde tahmin eden ve koruyan hiçbir QSAR modeli yoktur. AB'nin mevcut kimyasallar programı deneyiminde gösterildiği üzere nitrifikasyonun en hassas sonlanma noktası olabilmesi sebebiyle, bu önemli bir durumdur.

Fraunhofer Enstitüsü tarafından geliştirilen ve halka açılacak olan ProperEst web sitesi, mikrobiyal QSAR modellerinin kapsamlı bir derlemesini ve dokümantasyonunu sağlamayı amaçlamaktadır

(http://www.ime.fraunhofer.de/en/business_areas_AE/ChemicalSafety/Ersatz_Tierversuche1.html). Bir *Kanıt Ağırlığı* bağlamında, özellikle bazı bireysel homologlara ilişkin deneysel verilerin mevcut olduğu yakın kimyasal homologlar dizisi için bir testin gerçekleştirilmesi yerine çapraz okuma yaklaşımının kullanımı düşünülebilir.

AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test verileri

Hücre altı mikrobiyal sistemlerden bilgiler:

Alt hücreli sistemlere ilişkin bir dizi mikrobiyal inhibisyon testi yaklaşımı mevcuttur (örneğin, Trifenil Tetrazolyumklorür (TTC) Dehidrogenaz deneyi (Ryssov-Nielsen 1975), P-galaktosidaz aktivitesi (Katayama-Hirayama 1986)). Tek bir reaksiyona bağlı bu tür *in vitro* sistemler, AAT risk değerlendirmesi kapsamında yeterince doğrulanmamıştır ve bu nedenle kullanımları kabul edilmemektedir.

Mikrobiyal inhibisyon testlerinden bilgiler:

PNEC_{AAT}, düzenli olarak mikrobiyal toksisite testleri ile belirlenir. Bu bölüm, en yaygın kullanılan mikrobiyal toksisite testlerine ve bunların altında yatan kavramlara genel bir bakış sağlar. Toksikolojik sonlanma noktaları şunlardır: solunum (yani, O₂ alımı) inhibisyonu, nitrifikasyon (yani, amonyak dönüşümü) inhibisyonu, büyüme inhibisyonu ve biyoluminesans. Literatürde birçok metodolojik değişiklik ve bir dizi farklı test organizması önerildiği için bu bölümdeki listenin kapsamlı olması amaçlanmamaktadır.

Mikroorganizmalar için toksisiteye ilişkin literatür bilgisi, dikkate alınan sonlanma noktasına, yani bir AAT'deki mikrobiyal süreçlere göre uygunluğu açısından değerlendirilmelidir. Genel olarak, bir AAT'deki hidrolik tutma süresine (örneğin, 10 saat) bağlı olarak saat sırasına göre kısa süreli ölçümler tercih edilir. Standart ve standart dışı test yöntemlerinden mikrobiyal toksisiteye ilişkin veriler, açık literatürde (örneğin, Blum ve Speece, 1991), el kitaplarında (örneğin, Verschueren, 2001) ve çeşitli veri tabanlarında (örneğin, TETRATOX (www.vet.utk.edu), IUCLID) mevcuttur.

Tercihen *Tetrahymena* türleriyle (OECD, 1998; Pauli ve Poka, 2005) gerçekleştirilen siliyat büyüme inhibisyonu testlerinden elde edilen veriler, atık su arıtma tesislerinin (AAT) risk değerlendirmesi için de geçerlidir²⁶. AAT'lerde en önemli protozoa sınıfını oluşturan siliyat protozoa, bazı endüstriyel bitkiler dışında, işleyişleri açısından (Not: bozunma süreçlerinden ziyade esas olarak toprak oluşumu ve çökeltme özellikleri için) önemlidir. Siliyatlar üzerindeki toksisite verilerinin, aktif çamur veya özel bakteri suşları hakkındaki veriler için tamamlayıcı nitelikte olduğu kabul edilir, yani aktif çamur ve siliyat testlerinin sonuçları arasında hiçbir ilişki yoktur, siliyatlar da tutarlı bir şekilde daha hassas değildir.

Diğer özellikleri kullanan testler (örneğin, siliyer hareket, hücre hareketi, vb.) PNEC'nin oluşturulmasına ilişkin bir temel oluşturmamalıdır. *Tetrahymena sp.* büyüme inhibisyonu için sonlanma noktası ile ilgili kapsamlı bir veritabanı TETRATOX'ta (www.vet.utk.edu) mevcuttur. 1.600'den fazlası yayınlanmış olan 2400'den fazla endüstriyel organik bileşik, Tennessee Üniversitesi'nde test edilmiştir.

²⁶ Uluslararası bir deneme halka testinin ardından, ekotoksikolojik risk değerlendirmesi için Alman Federal Çevre Ajansı tarafından siliyat *Tetrahymena pyriformis* ile bir büyüme testi önerilmiştir. 2000-2003 yıllarında uluslararası kabul görmüş bir Test Rehberi'nin oluşturulabilmesi için tam bir doğrulama çalışması yapılmıştır. OECD protozoan testi rehberine ilişkin bir taslak şu anda incelenme aşamasındadır.

Biyobozunurluktan ve simülasyon testlerinden bilgiler

Genel olarak, mikrobiyal toksisitenin yokluğuna ilişkin sonuca laboratuvardaki biyobozunurluk çalışmalarından ulaşılabilir. Kolay biyobozunurluk testlerinin bilgi içeriği (1 ton/yıl'den itibaren mevcuttur) belirli koşullar altında bir NOEC değerinin türetilmesi amacıyla da kullanılabilir. Bu bilgiler, yeni testlerin gerçekleştirilme ihtiyacından kaçınmak için kullanılabilir. Araştırılan maddenin, test sisteminde dozlandırıldığında mikro organizmalar için engelleyici olmadığı varsayımı, kolay biyobozunurluk testinde (yani, EC C.4A-F, OECD 301A-F (OECD, 1992) ve OECD 310 (2006)) dolaylı olarak belirtilmiştir. Bir bileşik, kolay biyobozunurluk testinde iyi bir şekilde bozunursa veya belirli bir konsantrasyonda bir pozitif kontrolün bozunmasını inhibe etmezse, bu konsantrasyon bir NOEC değeri olarak kullanılabilir.

Sürekli izlemeye dayanan herhangi bir Kolay Biyobozunurluk Testi (örneğin, MITI I testi (EC C.4F; OECD 301C) veya Manometrik Respirometri testi (EC C.4D; OECD 301F)), bir kimyasalın aşı üzerindeki etkilerinin gözlemlenebilmesi hususunda daha güvenilir kabul edilir. Kısmi veya geçici bir toksik etki, genellikle test maddesinin ve/veya pozitif kontrolün gecikmiş bir mineralizasyonuna neden olur.

Kendiliğinden bozunurluk testleri (OECD 302A-C) veya laboratuvar/deneme ölçekli Aktif Çamur Simülasyon testi (Sürekli Aktif Çamur (CAS) - OECD 303A ve ISO-11733) kullanılarak yapılan biyobozunurluk/giderme çalışmalarından elde edilen veriler de PNEC_{AAT} (OECD 1981; OECD 2001) değerinin türetilmesi için kabul edilebilir. İkincisi, tam ölçekli AAT'lerde gerçek koşullar için gerçekçi bir yaklaşımı temsil eden, aktif çamur temsiline ilişkin laboratuvar ölçekli modellerdir. Eysel aktif çamur kullanılarak iyi yürütülen temsil çalışmalarından elde edilen PEC_{çıkış suyu} (veya bu değer yokluğunda PEC_{giriş suyu}), paralel bir dozlanmamış kontrol ile karşılaştırıldığında test maddesinin eliminasyonu, BOD/COD giderme ve nitrifikasyon gibi Sürekli Aktif Çamur ünitesinin performans parametreleri açısından düzgün işleyişini bozmayan kimyasal madde konsantrasyonuna karşılık gelir.

R.7.8.18.2 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ve kaynaklarına ilişkin saha verileri

Bir kimyasalın toksisitesinin yokluğuna ilişkin sonuç, bazı durumlarda tam ölçekli tesislerde yapılan gözlemlerden de çıkarılabilir. Özellikle endüstriyel AAT'ler için operatörler, potansiyel olarak bir PNEC_{AAT} değerinin gerekçelendirilebilmesi için kullanılabilen kimyasal emisyon/maruz kalma bilgileriyle birlikte tesis performansı verilerine sahip olabilirler.

İlave olarak, tam ölçekli birçok AAT, ticari respirometre cihazı ile çevrimiçi olarak izlenir. Piyasada aktif çamur için çeşitli ticari respirometreler mevcuttur (örneğin Strathtox, RODTOX, Oxitop, vb.). Bu sistemler, tesisin Oksijen Alım Hızını (OUR) izler ve laboratuvar testleri ile ekipmanlarına benzer şekilde solunum inhibisyonu için bir NOEC değerinin türetilmesi amacıyla kullanılabilir. Bazı cihazlar ayrıca nitrifikasyon inhibisyonunu da ölçebilir.

R.7.8.19 AAT mikroorganizmalarında toksisiteye ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.8.19.1 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin laboratuvar verileri

AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test dışı veriler

AAT Toksisitesi için test dışı verilerin (Nicel Yapı Aktivite İlişkileri (QSAR)) kullanılması, AAT organizmalarıyla ilgili doğrulanmış modellerin sınırlı kullanılabilirliği göz önüne alındığında ve aktif çamur solunum inhibisyonu testinin özellikle maliyetli, karmaşık veya zaman alıcı olmaması sebebiyle genellikle tavsiye edilmez. Gerçek deneysel veriler tipik olarak hesaplanan verilerin yerini alır, ancak Nicel Yapı Aktivite İlişkileri, test edilmesi zor maddeler için toksisiteye ilişkin bir ön tahminin sağlanmasında yararlı olabilir.

Gelecekte mikrobiyal toksisite için ilgili ve iyi doğrulanmış Nicel Yapı Aktivite İlişkilerinin geliştirildiği durumlarda, bu bilgi PNECAAT'nin tahmin edilebilmesi amacıyla BTS'ye uyarlanabilir. Bu bilgilerin laboratuvar testi ihtiyacının yerini alıp alamayacağını değerlendirilebilmesi için sağlam bir bilimsel yargıya ihtiyaç vardır.

AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test verileri

AAT toksisitesinin göstergesi olarak alt hücrel mikrobiyal test sistemlerinden (örn. enzim aktivitesi) elde edilen bilgiler kullanılamaz.

Bir AAT'nin korunması gereken temel mikrobiyal işlevleri arasında karbon (BOD/COD) giderme ve nitrifikasyon bulunur. Bazı kurulumlar için denitrifikasyon ve biyolojik P giderimi gibi diğer süreçlerin korunması da önemlidir. Sonraki sonlanma noktaları için standart hale getirilmiş test protokollerinin olmaması sebebiyle, yeterli düzeyde korumanın sağlanabilmesi için rutin olarak bir değerlendirme faktörü yaklaşımı kullanılır. Biyogaz üretiminin inhibisyonuna dayanan bir anaerobik toksisite testi (ISO 13641 (2003)) mevcuttur, ancak biyolojik besin giderimi ile AAT'lerdeki riskin tahmin edilebilmesine ilişkin kullanımları daha fazla çalışma gerektirir.

Bakterilerle toksisite testleri

Genel olarak, tek bir türe veya hatta mikrobiyal alt sistemlere bağlı testlerin yerine, bir AAT'deki tüm mikrobiyal topluluğun işleyişini değerlendiren karışık bir inokülüm içeren testler tercih edilir. Respirometri genellikle bir AAT'deki tüm organizmaların işleyişini bütünleyecek bir yaklaşım olarak kabul edilir. Solunum inhibisyonu testi genellikle bir tarama seviyesi testi olarak konumlandırılır (Painter 1986).

Nitrifikasyon organizmalarının alt popülasyonunun işleyişini değerlendiren nitrifikasyon inhibisyonu testleri de tercih edilen testler arasındadır.

Bununla birlikte, tüm mikrobiyal test sistemleri eşit derecede hassas değildir. Umweltbundesamt (UBA 1993) ve Reynolds ve ark. (1987), belirli test sistemleri arasında aşağıdaki artan hassasiyet sırasını önermektedir: solunum inhibisyonu testi < temel set testlerinde inhibisyon kontrolü < *P. putida* ile büyüme inhibisyonu testi < nitrifikasyon inhibisyonu. Ren ve Frymier (2003b) nitrifikasyon bakterilerinin diğer test sistemlerinden farklı ve genellikle toksik maddelere karşı daha yüksek hassasiyete sahip olduğunu göstermiştir. Solunum, *Tetrahymena* ve *Shk1* deneylerinin cevabı, hassasiyet açısından oldukça yakın kümelenmiştir.

Bir endüstriyel atık su arıtma tesisinden gelen aktif çamurun bir solunum veya nitrifikasyon testi için inokülüm olarak kullanıldığı durumlarda, mikroorganizmaların maddeye alıştırdığı varsayılır. Bu nedenle, test sonuçları belediye atık su arıtma tesislerinden tahmin edilemez, çünkü belediye tesislerindeki bakteriler endüstriyel çamur kadar maddeye alışmayabilir.

Çoğunlukla bireysel bakteri türlerine ilişkin inhibisyon testi verileri mevcut olabilir. *P. putida* ile hücre çoğalması inhibisyonu testinin sonuçları (Bringmann ve Kühn 1980), PNEC_{mikroorganizmalar} değerinin hesaplanması için yalnızca başka test sonuçlarının bulunmadığı durumlarda kullanılmalıdır. Başlangıçta aktif çamurdan izole edilmiş ve yapılandırılmış bir biyoluminesant *Pseudomonas sp.*'ye bağlı Shk1 deneyi için benzer bir öneride bulunulur (Kelly ve ark., 1999; Ren ve Frymier, 2002a; Ren ve Frymier, 2003a).

Örneğin, *Vibrio fischeri* (MICROTOX® testinde kullanılır), *Pseudomonas fluorescens* veya *Escherichia coli* gibi türlerle gerçekleştirilen diğer tek tür testlerinin AAT'ler için düşük bir öneme sahip olduğu kabul edilmelidir. *P. fluorescens* ve *E. coli* (Bringmann ve Kühn 1960) ile yapılan testler, substrat olarak glikozun kullanılması sebebiyle PNEC_{AAT}'nin belirlenmesi için kullanılamaz (*E. coli*, aktif çamur ortamında çoğalma eğilimi gösterecek bir bakteri değildir). Aynı şekilde, *Vibrio fischeri* yüksek tuzluluğa sahip bir ortamı gerektirir. Bu tür tek tür tarama testlerinden elde edilen bilgiler, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında diğer mevcut verilerle birlikte değerlendirilebilir.

Biyobozunurluk ve atık su arıtma simülasyon testleri:

Kolay veya kendiliğinden biyobozunurluk testlerinin bilgi içeriği, aşağıdaki koşullar altında bir NOEC değerinin türetilmesi amacıyla da kullanılabilir:

- Kolay veya kendiliğinden biyobozunurluk testlerinde, bileşiğin sırasıyla kolay veya kendiliğinden biyobozunur olduğunun bulunduğu durumlarda,
- Kolay veya kendiliğinden biyobozunurluk testlerinde, test maddesinin varlığında pozitif bir kontrol maddesinin (örneğin, glikoz, sodyum asetat) iyi bozunmasını gösteren bir toksisite kontrolü dahil edildiğinde.

Uzman görüşüne bağlı olarak, laboratuvar/deneme ölçekli Aktif Çamur Simülasyonu, Sürekli Aktif Çamur (CAS - OECD303A ve ISO-11733) kullanılarak biyobozunurluk/giderme çalışmalarından elde edilen veriler de bir PNEC_{AAT} değerinin türetilmesi için kabul edilebilir. Bu tür testlerde, dozlama yapılmamış paralel bir kontrol ile karşılaştırıldığında BOD/COD giderimi, N-giderimi, çamur çökmesi vb. gibi parametrelerin izlenmesi gerekecektir. Bu tür testlerde kimyasal gideriminin ölçülmesi isteğe bağlıdır, ancak değerli ek bilgiler sağlayabilir.

Bir endüstriyel çamurla elde edilen laboratuvar veya saha sonuçlarının tesise özgü olarak görülmesi ve tahmin edilemeyeceği unutulmamalıdır. Bir belediye çamurunun sonuçları, kimyasalın emisyon modelinin benzer olması koşuluyla diğer belediye tesislerine uyarlanabilir.

Protozoa toksisite testleri

Siliyat temelli test verileri, mevcut tek bir verinin olduğu durumda veya siliyatların en düşük NOEC değerine sahip olduğu çoklu veri durumlarında bir PNEC_{AAT} değerinin türetilmesi için kullanılabilir.

AAT toksisitesi için test edilmesi zor maddeler:

Uçucu ve yarı uçucu maddeler aktif çamur solunum inhibisyonu veya nitrifikasyon inhibisyonu testi gibi açık bir test sisteminde test edilmemelidir, çünkü kimyasal havalandırma ile sistemden ayrılabilir. Böyle bir durumda önerilen yaklaşım, OECD 301F'de (Manometrik Solunum testi) veya OECD 310'da (CO₂ Headspace Testi) olduğu gibi kapalı bir sistemin kullanılmasıdır.

R.7.8.19.2 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin saha verileri

Ayrıca, uzman kararına bağlı olarak, uzun süreler boyunca belirli bir kimyasala maruz kalan tam ölçekli evsel veya endüstriyel AAT'den elde edilen veriler, bir PNEC_{AAT} değerinin türetilmesine ilişkin yararlı bilgiler sağlayabilir. Bu bilgiler, ek laboratuvar testleri ihtiyacının ortadan kaldırılması için kullanılabilir. Çıkış suyundaki veya giriş suyundaki kimyasal konsantrasyonlarının iyi bilinmesi ve kimyasal varlığında tesisin kararlı ve verimli bir şekilde çalıştığının doğrulanması (örneğin, uzun süreli BOD/COD ve N giderme performansı, çamur çökmesi vb. yöntemler aracılığıyla belirlenebilir) gerekir.

R.7.8.19.3 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin maruz kalma hususları

Aşağıdaki paragraf, bir PNEC_{AAT} değerinin türetilmesi için maruz kalma hususlarına ilişkin rehberlik sağlar:

Daha yüksek organizmalarla yapılan toksisite testine benzer şekilde, bir kimyasalın çözünürlük sınırının üzerindeki mikrobiyal toksisite testinden kaçınılmalıdır. Bu aynı zamanda gerçekçi değildir çünkü çözünmeyen kimyasallar birincil çöktürme tankında veya tam ölçekli tesislerin yağ tuzağında çıkarılacak ve bu nedenle aktif çamura ulaşmayacaktır.

Bununla birlikte, deneysel olarak türetilen NOEC'in sulu çözünürlükten daha yüksek olduğu mevcut testlerden elde edilen veriler, bir PNEC_{AAT} değerinin türetilmesi için geçerli bilgi olarak kullanılabilir. Bu, uygulamada meydana gelmesi olası olmayan koruyucu bir tahmindir ve mikrobiyal testlerde daha yüksek organizmalarla yapılan testlere göre çözünmemiş test maddesinin daha az karıştırıcı olması sebebiyle gerekçelendirilebilir.

Respirometrik yöntemin (OECD 209) test süresi çok kısadır; kimyasala 30 veya 180 dakika boyunca maruz kalandıktan sonra oksijen alım oranı 5-10 dakika boyunca ölçülür. Çözünürlüğü düşük olan kimyasallar için, yeterli maruz kalmanın sağlanması için 180 dakikalık (3 saat) bir temas süresi kullanılacaktır. Bazı yazarlar, sonuçlardaki değişkenliği azaltmak için solunum testlerinde daha uzun süreli bir maruz kalmayı önermişlerdir (örneğin, Gendig ve ark., 2003).

Mikrobiyal toksisite testleri sırasında maruz kalmanın sabit tutulması: Kesikli mikrobiyal testlerde, bozunma, yüzeye tutunma ve diğer kayıp süreçleri nedeniyle maruz kalma genellikle sabit değildir. Genel olarak testin başlangıcında mikroorganizmaların maksimum seviyede maruz kaldığı ve mevcut olması halinde toksik etkinin bu noktada meydana geldiği varsayılır. Bozunmanın gözlemlenmesi, mikropların detoksifikasyon yeteneğinin bir başka kanıtıdır. Çok kararsız veya emici kimyasallar için, OECD 303A testi gibi sürekli dozlamadan oluşan bir simülasyon testi ihtiyacı, bir parti testinin güvenilir olmadığı kabul edildiği durumlarda düşünülebilir. Ancak bu rutin bir işlem olarak tavsiye edilmez. Okuyucu aynı zamanda zor maddelerin test edilmesine ilişkin OECD (2000)'i de inceleyebilir.

R.7.8.19.4 AAT mikroorganizmalarında toksik etki için kalan belirsizlik

Geçmişte PNEC'i mikrobiyal testlerden türetmek için değerlendirme faktörlerinin seçimi oldukça deneysel/geçici olmuştur ve örneğin, daha yüksek organizmalara ilişkin akut/kronik oranı gibi karşılaştırmalı araştırmaların sayısına bağlı değildir (Tablo R.10-6 ve Bölüm R.10.4). Tek bir mikroorganizma türü ile yapılan testlerin, önerilen aktif çamur solunum testine kıyasla daha düşük bir değerlendirme faktörüne sahip olmasının nedenlerinden biri, ikincisinin kısa süreli tarama testi olması, birincisinin ise kronik bir sonlanma noktasını (büyüme) ölçmesidir.

Dikkate alınması gereken bir başka husus, mikrobiyal toksisite sonuçlarının (örneğin, solunum inhibisyonu), kültürün yoğunluğuyla, yani test maddesi/biyokütle oranıyla orantılı olma eğiliminde olmasıdır. Başka bir deyişle, toksisiteyi konsantrasyondan çok doz belirleyecektir. Bu husus, AAT toksisitesi testinde genellikle göz ardı edilir, ancak bazen mikrobiyal inhibisyon testleri arasında fark edilen hassasiyet farklılıklarının bir kısmını açıklayabilir (Elnabarawy ve ark., 1988).

OECD 209 yöntemi 1.6 g SS/l'de çalışır. SimpleTreat Model'inin 3. sürümü (EUSES'te uygulanmıştır), havalandırma tankında varsayılan model değeri olarak 4 g SS/l kullanır. Farklı test sistemlerinden ve kaynaklarından elde edilen mikrobiyal inhibisyona ilişkin veriler karşılaştırılırken, biyokütle seviyelerinin karşılaştırılabilir olup olmadığının doğrulanması iyi bir uygulamadır. Genel bir kural olarak, biyokütlede meydana gelen faktör 10'dan daha büyük sapmalar doğrudan çapraz karşılaştırma için uygun değildir. Tipik atık su (SS) seviyelerinde (1-4 g/l) gerçekleştirilen inhibisyon testleri daha güvenilir olarak kabul edilmelidir (not: bu rehber, çamurdaki atık su seviyelerinin her zaman çok daha düşük olduğu nitrifikasyon organizmaları için geçerli değildir).

R.7.8.20 Atık su arıtma tesisi mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin sonuçlar

AAT organizmaları üzerindeki mikrobiyal toksisite testleri, Sınıflandırma ve Etiketleme için gerekli değildir ve PBT değerlendirmesi için uygun değildir. Bu nedenle, test verileri yalnızca Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinde uygulanabilir.

Temelde deneysel olarak türetilmiş mikrobiyal inhibisyon verileri, iyi tanımlanmış nicel yapı aktivite ilişkilerinin bulunmadığı durumlarda bir $PNEC_{AAT}$ değerinin türetilmesi için kullanılacaktır. Genel bir kural olarak, uluslararası standart rehberlere ve İLU'ya göre üretilen veriler, diğer veri türlerine göre tercih edilmelidir.

Bununla birlikte, aynı şekilde, sonuçların mevcut en iyi verilere dayandığının ve İLU çalışmalarının bazen başka açılardan kusurlu olabileceğinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu nedenle, verilerin bilimsel olarak geçerli kabul edilmesi koşuluyla mevcut standart dışı testler de kullanılabilir.

Birden fazla mikrobiyal inhibisyon verisinin olduğu durumlarda $PNEC_{AAT}$, bu testin aktif çamur, ilgili tek bakteri türü veya siliyat protozoa ile gerçekleştirilen bir test olup olmadığına bakılmaksızın genel olarak mevcut en hassas test sistemi için elde edilen sonuçlardan türetilir. Bireysel veri noktalarının veya şüpheli aykırı değerlerin etrafında önemli ölçüde belirsizliğin bulunduğu durumlarda, bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı izlenebilir.

R.7.8.21 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

R.7.8.21.1 Amaç / Genel ilkeler

BTS'nin AAT Toksisitesi'ne ilişkin temel amacı, yeni herhangi bir testin başlatılmasından önce ilgili tüm mevcut maruz kalma ve etki bilgilerinin kullanılabilmesini sağlamaktır. Bu şekilde, değerlendirmenin kalitesinden ödün verilmemesi koşuluyla zaman ve finansal yatırım en aza indirilebilir. Öte yandan, BTS, daha yüksek kademeli testler aracılığıyla elverişsiz tarama verilerinin iyileştirilmesine de izin vermelidir. AAT toksisitesi durumunda, en gerçekçi ve en yüksek kademeli test, bir atık su arıtma tesisi simülasyon testidir (OECD 303A veya eşdeğeri).

Önerilen şema, kimyasalın salım modeline göre hem endüstriyel hem de evsel (yani belediye) atık su arıtma tesisleri için izlenecektir.

R.7.8.21.2 Ön hususlar

KKDİK Yönetmeliği, Ek 6 uyarınca BTS'nin ön aşaması, AAT toksisitesi sonlanma noktası için mevcut olabilecek tüm (halka açık) verilerin toplanmasından ve eleştirel bir şekilde değerlendirilmesinden oluşur.

Ek 7'deki test gerekliliklerine bağlı olarak çoğu madde için bir Kolay Biyobozunurluk testinin mevcut olacağına dikkat edilmelidir. Bu nedenle, AAT toksisitesine ilişkin bazı ilgili - ancak tam olarak kesin olmayan - veriler (bozunabilirlik açısından test edilemeyen inorganik kimyasallar hariç) mevcut olabilir. BTS'de izlenen ilke, kısa süreli testlerden elde edilen mevcut verilerin, bu verilerin zaten simülasyon veya saha testlerinden elde edildiği durumların dışında, daha gerçekçi/daha yüksek kademeli verilerle yeniden test edilebilmesi veya bu testlerin yerine yazılabilmesidir.

Adım 1, uygulanabilir olması koşuluyla hem evsel hem de endüstriyel tesislerde maruz kalma hesaplamasını (PEC_{AAT}) kapsar; PEC/PNEC oranının hesaplanabilmesi ve daha fazla verinin/daha yüksek kademeli bir testin gerekli olup olmadığına ilişkin bir kararın verilebilmesi amacıyla bu bilgiye ihtiyaç duyulacaktır. PEC_{AAT} hesaplamasına ilişkin rehberlik Bölüm R.16'da sağlanmaktadır.

Adım 2-4, mevcut zararlılık bilgilerinin değerlendirilmesini, bu bilgilerin en iyi şekilde kullanılmasını ve mümkün olduğunda yeni test ihtiyacından kaçınılması stratejisini kapsar.

Adım 5, AAT toksisitesi testinin ilk kademesi (kısa süreli test) olan aktif çamur solunum testinin yürütülmesini kapsar.

Adım 5*, ilgili tesisten gelen çamura bağlı olarak endüstriyel tesislere ilişkin kısa süreli testler için testin yeniden gerçekleştirilme seçeneğini kapsar. Bu sonuçlar yalnızca tek tesis için geçerlidir ve diğer endüstriyel veya evsel tesislere uyarlanamaz.

Adım 6, doğrulayıcı ve uzun süreli bir simülasyon testinin, yani mümkün olan en yüksek kademeli AAT toksisitesi testinin yürütülmesini kapsar. Bu, uygulama ile en yüksek ilgiye sahip test seviyesidir²⁷.

²⁷ AB'deki yüksek üretim hacimli mevcut kimyasallar programı (yaklaşık 150 kimyasal) ile ilgili deneyime bağlı olarak, bu yaklaşıma bazı durumlarda ihtiyaç duyulması beklenmektedir. Kimyasalların büyük çoğunluğu için, kısa süreli testlere bağlı daha düşük kademeli bir değerlendirme yeterli olacaktır.

R.7.8.21.3 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin test stratejisi

1. Aşama Maruz kalmanın hesaplanması. Sonuç: PEC_{AAT} veya $PEC_{giriş}$ akımı (uygulanabilir olması halinde hem evsel hem de endüstriyel AAT için hesaplanır).

2. Aşama Bir $PNEC_{AAT}$ türetmek için mevcut ve kalite güvenceli mikrobiyal inhibisyon testlerinden elde edilen bilgilerin (yani solunum inhibisyonu, nitrifikasyon inhibisyonu, silyat büyümesi, çamur büyümesi inhibisyonu, P. putida, Shk1 deneyi verileri) değerlendirilmesi.

Aşama 2.1. Yeterli verinin mevcut olması halinde, $PNEC_{AAT}$ türetilir.

$PEC/PNEC < 1$ ise, durulur.

Evsel tesisler için $PEC/PNEC > 1$ ise, 6. aşamaya geçilir, doğrulama testi gerçekleştirilir

Endüstriyel tesisler için $PEC/PNEC > 1$ ise, 5. aşamaya* geçilir (not: endüstriyel tesisler için, aktif çamur solunum testi (veya nitrifikasyon inhibisyonu testi) ve özel bir kurulumdan elde edilen aktif çamur ile başka bir testin gerçekleştirilme olasılığı vardır)

Aşama 2.2. Mevcut verilerin bulunmadığı durumlarda veya verilerin yetersiz olduğunun kabul edildiği durumlarda, 3. aşamaya geçilir.

3. Aşama Bir $PNEC_{AAT}$ değerinin türetilmesi için Kolay Biyobozunurluk testlerinden elde edilen bilgilerin değerlendirilmesi.

Aşama 3.1. Kimyasalın kolay biyobozunur olduğu durumlarda veya test maddesi varlığında pozitif bir kontrolün iyi bozduğuna ilişkin kanıtların mevcut olduğu durumlarda, $PNEC_{AAT}$ türetilir.

$PEC/PNEC < 1$ ise, durulur.

$PEC/PNEC > 1$ ise, 5. aşamaya geçilir (not: gerekli görülen durumlarda kolay biyobozunurluk testinden elde edilen bilgilerin iyileştirilmesi/yerine yazılabilmesi için bir solunum inhibisyonu testi kullanılabilir. Uygun görülen durumlarda solunum inhibisyonu testinin hem evsel hem de endüstriyel çamur için gerçekleştirilmesi gerekebilir).

Aşama 3.2. Kolay biyobozunurluk testlerinden herhangi bir verinin elde edilememesi durumunda veya aşama 3.1 kapsamında olmayan diğer durumların mevcut olması halinde (örneğin, madde kolay biyobozunur değilse ve inhibisyona ilişkin bilgi yoksa), 4. aşamaya geçilir.

4. Aşama Kendiliğinden biyobozunurluk testlerinden, simülasyon testlerinden ve/veya saha verilerinden elde edilen mevcut ve kalite güvenceli bilgilerin değerlendirilmesi

Aşama 4.1. Yeterli verinin mevcut olması halinde, $PNEC_{AAT}$ türetilir.

$PEC/PNEC < 1$ ise, durulur.

$PEC/PNEC > 1$ ise, risk azaltma dikkate alınmalıdır (daha fazla iyileştirme testi mümkün değildir).

Aşama 4.2. Mevcut verilerin bulunmadığı durumlarda veya verilerin yetersiz olduğu durumlarda, 5. aşamaya geçilir.

5. Aşama Aktif çamur solunum inhibisyonu testinin gerçekleştirilmesi (OECD 209). (Not: bu test ayrıca bir nitrifikasyon inhibisyon testi ile yer değiştirebilir)

Aşama 5.1. $PEC/PNEC < 1$ ise, durulur.

Aşama 5.2. Evsel ve/veya endüstriyel tesisler için PEC/PNEC > 1 ise, 6. aşamaya geçilir.

5. Aşama * Yalnızca endüstriyel tesislere ilişkin arıtma testi: PEC/PNEC > 1 ile sonuçlanan bir test, ilgili endüstriyel tesisten gelen çamurla tekrarlanabilir. Bu sonuçlar diğer tesisler için tahmin edilemez

Aşama 5.1. * Nitrifikasyon bakterileriyle yapılan bir testin temelinde (mevcut veriler), endüstriyel bir AAT için 1'in üzerinde bir PEC/PNEC oranının türetilmesi halinde, belirli bir endüstriyel saha için revize edilmiş PNEC_{AAT}, bu sahanın AAT'sinden elde edilen çamurun kullanılarak gerçekleştirildiği nitrifikasyon inhibisyonu testinden türetilir. (Not: Evsel AAT'ler için tek bir AAT'den elde edilen çamurun, nitrifikasyon faaliyetleri açısından tüm evsel AAT'lerin temsilcisi olarak kabul edilememesi sebebiyle bu şekilde bir PNEC revizyonu mümkün değildir).

PEC/PNEC < 1 olarak revize edilmişse, durulur.

PEC/PNEC > 1 olarak revize edilmişse, 6. aşamaya geçilir (nitrifikasyon performansının araştırıldığı simülasyon testleri)

Aşama 5.2. * Standart bir solunum inhibisyonu, standart hale getirilmiş biyobozunurluk veya aktif çamur büyüme inhibisyonu testlerinin (mevcut veriler) temelinde endüstriyel bir AAT için 1'in üzerinde bir PEC/PNEC oranının türetilmesi halinde, belirli bir endüstriyel saha için revize edilmiş PNEC_{AAT}, bu sahanın AAT'sinden elde edilen çamurun kullanılarak gerçekleştirildiği solunum inhibisyonu testinden türetilir.

PEC/PNEC < 1 olarak revize edilmişse, durulur.

PEC/PNEC > 1 olarak revize edilmişse, 6. aşamaya geçilir.

Aşama 5.3. * Siliyat protozoa ile tek tür testi temelinde, evsel veya endüstriyel atık su arıtma tesisleri için 1'in üzerinde bir PEC/PNEC oranının türetilmesi halinde, doğal siliyat popülasyonunun bütünlüğünü yansıtan bir test gereklidir (bunun gösterilebilmesi dışında protozoa söz konusu sistemle ilgili değildir²⁸). Burada, çöktürme performansının incelenmesini içeren bir simülasyon testinin bulunduğu 6. aşamaya geçilmesi önerilir.

6. Aşama Doğrulayıcı simülasyon testi: İlgili AAT'den (evsel veya endüstriyel) aktif çamurun bir inokülüm kaynağı olarak kullanıldığı deneme ölçekli bir simülasyon testi, herhangi bir kısa süreli mikrobiyal inhibisyon testinden türetilen PNEC_{AAT} değerinin yenilenmesi için oldukça gerçekçi bir test olarak kullanılabilir. Tesisin kararlılığı ve performansı biraz daha uzun bir süre boyunca (örneğin, 2 haftalık bir başlangıç dönemini takiben 2 hafta) izlenmelidir. Test, BOD/COD giderimi, N giderimi (nitrifikasyon) ve çamur hacim indeksi (SVI) parametrelerinin değerlendirilmesi gibi kritik performans parametrelerini, dozlamamanın yapılmadığı bir kontrole karşı izlenmelidir.

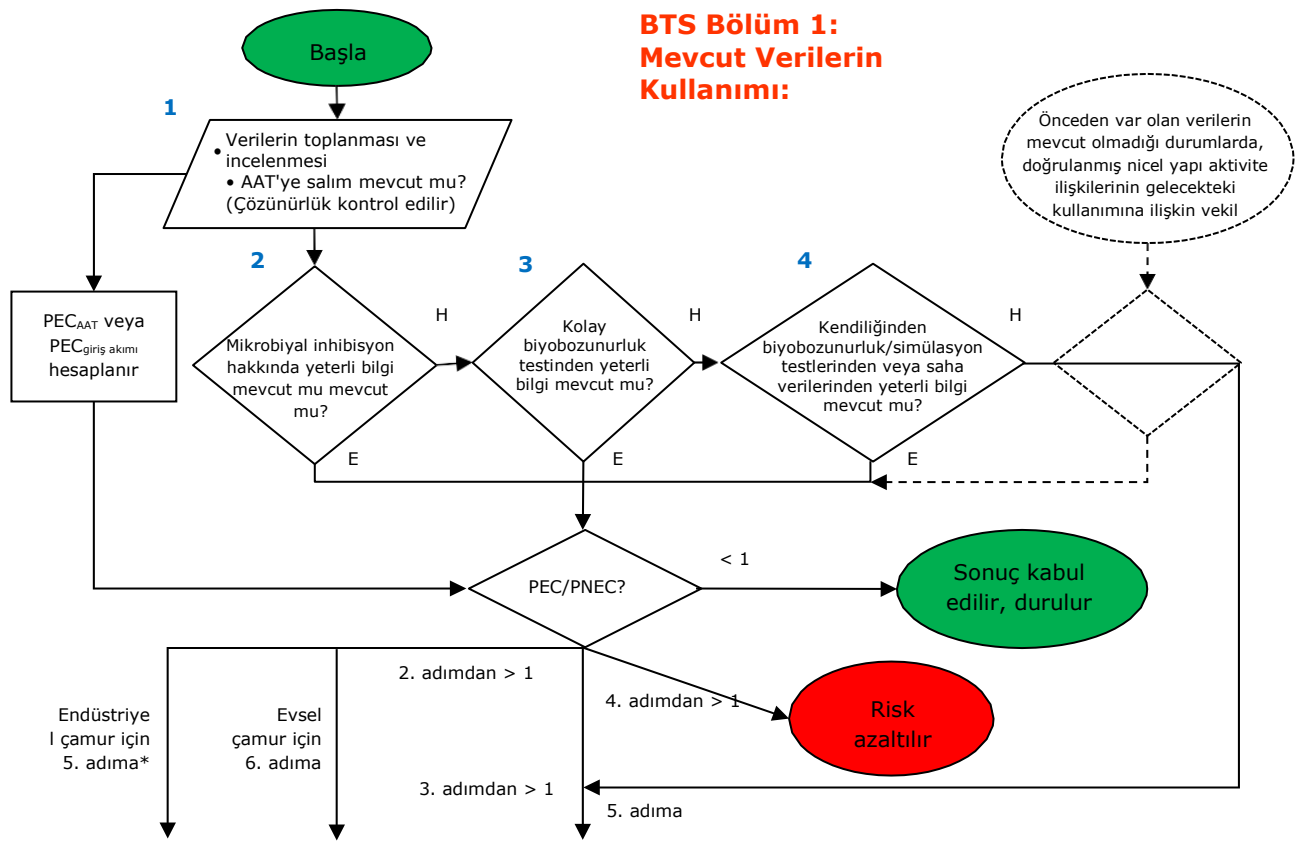
Aşama 6.1. İyi ve kararlı bir reaktör performansı mevcutsa (yani PEC/PNEC <1), durulur

²⁸ Mevcut durumda, PNEC_{AAT}'nin (siliyatlara bağlı olarak) revize edilmesine ilişkin veri sağlayabilen siliyat protozoa testine ilişkin standart bir protokol mevcut değildir. Ancak, ek araştırma sonuçları devam etmiştir ve 2007'de UBA (Federal Çevre Ajansı) tarafından sunulmuştur.

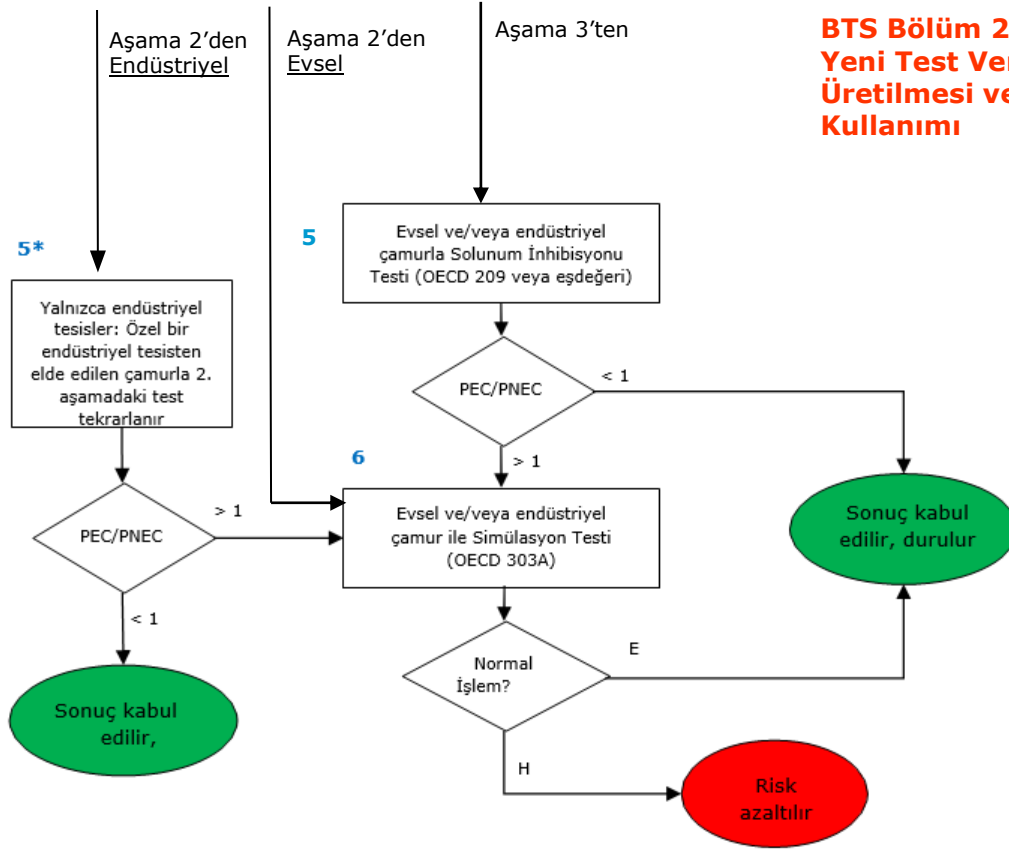
Aşama 6.2. Dozlama yapılmamış bir kontrol ünitesine karşı inhibisyon işaretlerinin veya operasyonel sorunların mevcut olması halinde, $PEC/PNEC > 1$ ve risk yönetimi (kaynakta emisyonun azaltılması) gereklidir.

(Not: aralıklı salımın olduğu durumlarda bir simülasyon testinin gerçekleştirilmesi daha zor olabilir; tam ölçekli bir tesisteki emisyon durumunu simüle eden gerçekçi bir dozlama rejimini gerektirecektir).

Şekil R.7.8—9 AAT mikroorganizmalarındaki toksik etkiye ilişkin Bütünleşik Test Stratejisi



**BTS Bölüm 2:
Yeni Test Verilerinin
Üretilmesi ve
Kullanımı**



R.7.8.22 AAT mikroorganizmalarında toksik etkiye ilişkin referanslar

Blum DJW ve Speece RE (1990) Determining chemical toxicity to aquatic species (Sucul türler için kimyasal toksisitenin belirlenmesi). Environ Sci Technol 24:284-93.

Blum DJW ve Speece RE (1991) A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations (Çevresel bakterilerde kimyasal toksisiteye ilişkin bir veritabanı ve bu veritabanının türler arası karşılaştırmalarda ve ilişkilerde kullanımı). Res J Water Pollut Control Fed 63:198-207.

Bringmann G ve Kühn R (1960) Vergleichende toxikologische Befunde an Wasser-Bakterien (Sucul bakteriler üzerinde karşılaştırmalı toksikolojik bulgular). Gesundheits-Ingenieur 11:337-40.

Bringmann G ve Kühn R (1980) Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in the cell multiplication inhibition test (Hücre çoğalması inhibisyonu testinde su kirleticilerinin bakteriler, algler ve protozoa üzerindeki toksisite eşiklerinin karşılaştırılması). Water Res 14:231-41.

CEC (2003) 2nd Edition of the Technical Guidance Document (TGD) on Risk Assessment of Chemical Substances following European Regulation and Directives (Avrupa Yönetmeliği ve Direktiflerini takiben Kimyasal Maddelerin Risk Değerlendirmesine İlişkin Teknik Rehber Dokümanının 2. Baskısı). Nisan 2003.

Avrupa Kimyasallar Ajansı (ECB), JRC-Ispra, İtalya, <http://ecb.jrc.it/tgdoc>.

Di Toro DM, Zarba CS, Hansen DJ, Berry WJ, Schwarz RC, Cowan CE, Pavlou SP, Allen HE, Thomas NA ve Paquin PR (1991) Technical basis of establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning (Denge dağılımı kullanılarak iyonik olmayan organik kimyasallar için çökelti kalite kriterlerinin oluşturulmasına ilişkin teknik dayanak). Environ Toxicol Chem 10:1541-83.

Elnabarawy MT, Robideau RR ve Beach SA (1988) Comparison of three rapid toxicity test procedures: Microtox®, Polytox® and activated sludge respiration inhibition (Üç hızlı toksisite testi işleminin karşılaştırılması: Microtox®, Polytox® ve aktif çamur solunum inhibisyonu). Toxic Assess 3:361-70.

Gendig C, Domogala G, Agnoli F, Pagga U ve Strotmann UJ (2003) Evaluation and further development of the activated sludge respiration inhibition test (Aktif çamur solunum inhibisyonu testinin değerlendirilmesi ve daha da geliştirilmesi). Chemosphere 52: 143-9.

ISO (1986) Yöntem 8192: Su Kalitesi – Aktif çamurla oksijen tüketimi inhibisyonu testi. Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (1989) Yöntem 9509: Su Kalitesi - Kimyasalların ve Atık Suların Neden Olduğu Aktif Çamur Mikroorganizmalarındaki Nitrifikasyon İnhibisyonunu Değerlendirme Yöntemi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (1996) Yöntem 10712: Su Kalitesi - *Pseudomonas putida* büyüme inhibisyonu testi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (1998) Yöntem 11733: Su Kalitesi - Organik bileşiklerin sucul ortamdan eliminasyonunun belirlenmesi. Aktif çamur simülasyon testi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (1999a) Yöntem 9408: Su Kalitesi - Kapalı bir respirometrede oksijen ihtiyacının belirlenmesiyle sucul ortamdaki organik bileşiklerin nihai aerobik biyobozunurluğunun

değerlendirilmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (1999b) Yöntem 15522: Su Kalitesi - Su bileşenlerinin aktif çamur mikroorganizmalarının büyümesi üzerindeki inhibe edici etkisinin belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO), 15522.

ISO/DIS (2001) Taslak Rehber No. 14592-1: Organik Bileşiklerin Düşük Konsantrasyonlarda Aerobik Biyobozunurluğunun Değerlendirilmesi - Başlık 1. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO/DIS (2001) Taslak Rehber No. 14592-2: Organik Bileşiklerin Düşük Konsantrasyonlarda Aerobik Biyobozunurluğunun Değerlendirilmesi - Başlık 2. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

ISO (2003) Taslak Rehber 13641: Su Kalitesi - Anaerobik bakterilerin gaz üretiminin inhibisyonunun belirlenmesi. Başlık 1: Genel test ve Başlık 2: düşük biyokütle konsantrasyonlarına ilişkin test. Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO).

Katayama-Hirayama K (1986) Inhibition of the activities of β -galactosidase and dehydrogenase of activated sludge by heavy metal (Aktif çamurun β -galaktosidaz ve dehidrojenaz aktivitelerinin ağır metaller ile inhibisyonu). Water Res 20:491-4.

Kelly CJ, Lajoie CA, Layton AC ve Sayler GS (1999) Bioluminescent reporter bacterium for toxicity monitoring in biological wastewater treatment systems (Biyolojik atık su arıtma sistemlerindeki toksisitenin izlenebilmesi için biyoluminesant raportör bakteri). Water Environ Res 71:31-5.

OECD (1981) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi: 302A, Kendiliğinden Biyobozunurluk, Değiştirilmiş SCAS Testi, OECD, Paris.

OECD (1984) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi: 209, Aktif Çamur Solunum İnhibisyonu Testi, OECD, Paris.

OECD (1992) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi: 310A-F, Kolay Biyobozunurluk, OECD, Paris.

OECD (1992) Çökeltideki Kimyasalların Etkilerinin Değerlendirilmesine İlişkin OECD Çalıştayı Raporu. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), OECD Çevre Monografı No. 60, Paris.

OECD (2000) 23 sayılı test ve değerlendirmede seriler. Zor maddelerin ve karışımların sucül toksisite testine ilişkin rehber doküman. OECD, Paris.

OECD (2001) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi: 303A, Simülasyon Testi: Aerobik Atık Su Arıtma - Aktif Çamur Üniteleri, OECD, Paris.

OECD (2006) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi: 310 Kolay Biyobozunurluk - Kapalı kaplarda CO₂ (Headspace Testi), OECD, Paris.

Painter H (1986) Testing the toxicity of chemicals by the inhibition of respiration of activated sludge (Aktif çamur solunum inhibisyonu ile kimyasalların toksisitesinin test edilmesi). Toxic Assess 1:515-24.

Pauli W and Poka V (2005) Entwicklung und Standardisierung eines Testsystems zur Überprüfung der Wirkung von Chemikalien auf zentrale Funktionen der Protozoen-Belebtschlamm kommunaler Kläranlagen'de Biozönose (Kimyasalların kentsel atık su arıtma tesislerinden elde edilen aktif çamurdaki protozoan biyosenozun merkezi işlevleri üzerindeki etkisinin kontrol edilmesine ilişkin bir test sisteminin geliştirilmesi ve standardizasyonu). Umweltforschungsplan des Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, Umweltbundesamt- Forschungsbericht 201 67 402 (Federal Çevre, Doğa Koruma ve Nükleer Güvenlik Bakanlığı'nın çevresel araştırma planı, Federal Çevre Ajansı araştırma raporu 201 67402).

Redman A, McGrath J, Di Toro D ve Parkerton T (2005) Application of the narcosis target lipid model to waste water treatment organisms (Narkoz hedef lipid modelinin atık su arıtma organizmalarına uygulanması). SETAC Kongresi'nde sunulan poster, Baltimore, ABD, 2005.

Ren S ve Frymier PD (2002a) Estimating the toxicities of organic chemicals to bioluminescent bacteria and activated sludge (Organik kimyasalların biyoluminesans bakterilerdeki ve aktif çamurdaki toksisitesinin tahmin edilmesi). Water Res 36:4406-14.

Ren S ve Frymier, PD (2002b) Modelling the toxicity of polar and nonpolar narcotic compounds to luminescent bacterium SHK1 (Polar ve polar olmayan narkotik bileşiklerin SHK1 lüminesans bakterisindeki toksisitesinin modellenmesi). Environ Toxicol Chem 21:2649-53.

Ren S ve Frymier PD (2003a) Comparative study of two bioassays for applications in influent wastewater toxicity monitoring (Girişteki atık su toksisitesinin izlenmesine ilişkin uygulamalara yönelik iki biyotayinin karşılaştırmalı çalışması). J Environ Eng 129:216-21.

Ren S ve Frymier PD (2003b) Use of multidimensional scaling in the selection of wastewater toxicity test battery components (Atık su toksisite testi serisi bileşenlerinin seçiminde çok boyutlu ölçeklendirme kullanımı). Water Res 37:1655-61.

Reynolds L, Blok J, de Morsier A, Gerike P, Wellens H and Bontinck WJ (1987) Evaluation of the toxicity of substances to be assessed for biodegradability (Biyobozunurluk açısından değerlendirilecek maddelerin toksisitesinin değerlendirilmesi). Chemosphere 16:2259- 77.

Ryssov-Nielsen H (1975) Measurement of the inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC dehydrogenase assay (TTC dehidrojenaz deneyinin değiştirilmiş bir tespiti ile aktif çamurda solunum inhibisyonunun ölçülmesi). *Water Res* 9:1179-85.

Schultz TW, Netzeva TI, Roberst DW ve Cronin MT (2005) Structure-toxicity relationships for the effects to *Tetrahymena pyriformis* on aliphatic, carbonyl-containing, alpha, beta-unsaturated chemicals (*Tetrahymena pyriformis*'in alifatik, karbonil içeren, alfa, beta-doymamış kimyasallar üzerindeki etkilerine ilişkin yapı-toksosite ilişkileri). *Chem Res Technol* 18:330-41.

Strotmann UJ, Eglsäer H ve Pagga U (1994) Development and evaluation of a growth inhibition test with sewage bacteria for assessing bacterial toxicity of chemical compounds (Kimyasal bileşiklerin bakteriyel toksisitesini değerlendirmek için atık su bakterileri ile bir büyüme inhibisyonu testinin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi). *Chemosphere* 28:755-66.

Struys J, Stoltenkamp J ve van De Meent D (1991) A spreadsheet-based model to predict the fate of xenobiotics in a municipal wastewater treatment plant (Bir kentsel atıksu arıtma tesisinde ksenobiyotiklerin davranışını tahmin etmek için hesap tablosu tabanlı bir model). *Water Res* 25:891-900.

UBA (1993) Entwurf zur Bewertung von Bodenbelastungen, Fachgebiet I 3.7. (Toprak kirliliğinin değerlendirilmesine ilişkin taslak, başlık I 3.7.) Umweltbundesamt (UBA) (Federal Çevre Ajansı), Berlin.

Verschueren K (2001) Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals (Organik Kimyasallara İlişkin Çevresel Veriler El Kitabı). John Wiley and Sons, New York, NY, ABD.

R.7.9 Bozunma/biyobozunma

R.7.9.1 Giriş

Bozunma, ortamdaki bir kimyasal maddenin kaybına veya dönüşümüne neden olabilecek önemli bir süreçtir. Ortamdaki organik maddelerin bozunması maruz kalmayı etkiler ve bu nedenle biyota üzerindeki uzun süreli olumsuz etki riskinin tahmin edilebilmesi için anahtar bir parametredir. Bozunma oranları veya yarı ömürler, laboratuvar temelli bozunma testlerinde belirlenir veya varsayılan oranlardan atanır. Bu testler basit tarama testleri (örneğin, OECD 301 kolay biyobozunurluk testleri ve OECD 111 pH testinin bir fonksiyonu olarak hidroliz) veya nispeten karmaşık ve daha yüksek kademeli simülasyon testleri (örneğin, OECD 308 sucül çökelti sistemlerinde aerobik ve anaerobik dönüşüm, OECD 309 yüzey suyunda aerobik ve anerobik dönüşüm ve OECD 303 aerobik çökelti arıtma) olabilir.

Maddelerin bozunabilirliğine ilişkin bilgiler, zararlılık değerlendirmesi (örneğin, sınıflandırma ve etiketleme için), risk değerlendirmesi (kimyasal güvenlik değerlendirmesi için) ve kalıcılık değerlendirmeleri (PBT/vPvB değerlendirmesi için) için kullanılabilir. Genel olarak risk değerlendirmesi altındaki zararlılık ve kalıcılık değerlendirmeleri, özellikle de sucül zararlılık sınıflandırması, normalde kolay biyobozunurluk ve hidroliz için standart hale getirilmiş testlerden elde edilen verilere dayanır. Su, sucül çökelti ve topraktaki biyobozunurluğu simüle eden testlerin sonuçları da bu amaçlar için kullanılabilir. Potansiyel çevresel zararlılık veya risk değerlendirmesinde dikkate alınabilecek diğer test verileri türleri arasında atık su arıtma tesisi (AAT) simülasyon verileri, kendiliğinden biyobozunurluk, anaerobik biyobozunurluk, deniz suyunda biyobozunurluk ve abiyotik dönüşüm (OECD, 2006b) yer alır. Daha yüksek kademeli test verilerinden veya simülasyon testi bozunma verilerinden hangilerinin daha gerekli olduğunun belirlenmesinde, maddenin dağılım davranışı ve salımı veya emisyon modeli dikkate alınmalıdır. Bu, en ilgili çevresel ortamlara ilişkin test gerekliliklerinin öncelik sırasına koyulması hususunda yararlı olabilir. Değerlendirilen bir maddenin kararlı ve/veya toksik bozunma ürünlerinin elde edilmesi için bozunabildiğine dikkat edilmelidir. Değerlendirme, böyle bir bozunmanın meydana gelebileceği durumlarda ortaya çıkabilecek ürünlerin özelliklerine (toksik etkiler ve biyobirikim potansiyeli dahil) gereken önemi vermelidir.

R.7.9.1.1 Bozunma/biyobozunma tanımı

Bozunma, ortamdaki bir kimyasal maddenin kaybı veya dönüşümü ile sonuçlanabilir. Bozunma süreçleri abiyotik veya biyotik olabilir. Abiyotik veya biyolojik olmayan bozunma, hidroliz, oksidasyon ve fotoliz gibi fiziko-kimyasal işlemlerle meydana gelebilir. Biyotik veya biyolojik bozunma nedeniyle uzaklaştırma, genellikle biyobozunurluk olarak bilinir. Biyobozunma, oksijen varlığında (aerobik biyobozunma) veya oksijen yokluğunda (anaerobik biyobozunma) devam edebilir.

Biyobozunmadan önce genellikle birincil veya nihai terimleri getirilir. Birincil biyobozunma, bir maddenin mikroorganizmalar tarafından başka bir organik maddeye, bir dönüşüm ürününe veya metabolite ilk dönüşümünü tanımlar; nihai biyobozunma, inorganik son ürünlere ve biyokütleyle yol açan (çok aşamalı) bozunma sürecini tanımlar.

Bozunmanın değerlendirilmesine ilişkin çok sayıda terim ve ifade vardır. Yaygın olarak kullanılan terimlerden bazıları Tablo R.7.9-1'de tanımlanmıştır.

Tablo R.7.9—1 Bozunmaya ilişkin terimler sözlüğü

Terim	Tanım
Davranış	Bir maddenin taşıma, dağılım, dönüşüm ve bozunmanın bir sonucu olarak çeşitli çevresel ortamlardaki (örneğin toprak veya çökelti, su, hava, biyota) dağılımıdır.
Biyobozunma	Genellikle mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen Maddelerin biyolojik aracılı bozunma veya dönüşümüdür.
Birincil biyobozunma	Bir kimyasal maddenin kimyasal kimliğinin kaybıyla sonuçlandığı ve mikroorganizmaların neden olduğu yapısal değişimdir (dönüşümüdür).
Nihai aerobik biyobozunma	Bir maddenin oksijen varlığında mikroorganizmalar tarafından parçalanması sonucunda karbondioksit, sülfat, nitrat ve yeni biyokütlenin oluşumudur.
Nihai anaerobik biyobozunma	Bir maddenin oksijen yokluğunda mikroorganizmalar tarafından parçalanması sonucunda karbon dioksit ile metan, H ₂ S, NH ₃ , mineral tuzları ve yeni biyokütle gibi nihai indirgeme ürünlerinin oluşumudur.
Kolay biyobozunurluk testleri	Aerobik koşullar altında gerçekleştirilen, test maddesinin yüksek konsantrasyonunun (2 - 100 mg/L aralığında) kullanıldığı ve nihai biyobozunmanın Çözünmüş Organik Karbon (DOC), Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (BOD) ve CO ₂ üretimi gibi özel olmayan parametrelerle ölçüldüğü sıkı tarama testleridir. Küçük miktarlarda evsel atık su, aktif çamur veya ikincil atık, kolay biyobozunurluk testlerinde mikrobiyal inokülümü oluşturur. İnokülümün, test maddesine veya yapısal olarak ilgili maddelere daha önce maruz bırakılması sonucunda test maddesine yapay olarak önceden alıştırmaması gerekir. Test maddesi, enerji ve büyüme için tek karbon kaynağı olarak sağlanır. Kolay biyobozunurluk testinden elde edilen pozitif bir sonuç, biyolojik atık su arıtma tesisleri dahil olmak üzere çoğu ortamda hızlı ve nihai bozunmanın göstergesi olarak kabul edilebilir.
Kendiliğinden biyobozunurluk testleri	Biyobozunurluk hızının ve/veya kapsamının ölçüldüğü aerobik koşullar altında yüksek konsantrasyonlu mikroorganizmalar ile gerçekleştirilen inoküle edilmiş testlerdir. Test işlemleri, kolay biyobozunurluk testlerine kıyasla daha yüksek bir biyobozunurluğu tespit etme şansı sunar ve bu nedenle, kendiliğinden biyobozunurluk testinin sonucunun negatif olduğu durumlarda bu durum çevresel kalıcılık potansiyelini gösterebilir.

Terim	Tanım
Simülasyon testleri	Çevresel olarak ilgili belirli koşullar altında biyobozunurluğa ilişkin veri sağlayan aerobik ve anaerobik testlerdir. Bu testler, maddenin emilimini sağlamak amacıyla yerli biyokütle, ortam, ilgili katı maddeler (yani toprak, çökelti, aktif çamur veya diğer yüzeyler) ve belirli ortamı temsil eden tipik bir sıcaklığı kullanarak belirli bir ortamdaki bozunmayı simüle etmeye çalışır. Temsili ve düşük konsantrasyondaki test maddeleri, biyobozunurluk hız sabitinin belirlenebilmesi için tasarlanmış testlerde kullanılırken, daha yüksek konsantrasyonlar analitik nedenlerden dolayı normalde ana dönüşüm ürünlerinin tanımlanması ve bu ürünlerin miktarının belirlenebilmesi için kullanılır.
Kalıcılık	Bozunma süreçlerine dayanabilen ve çevrede uzun süre bulunan bir maddedir. Kalıcı Organik Kirletici (POP) protokollerinde, TRD'de ve KKDİK'te (PBT/vPvB; KKDİK Ek 8, 1.1.1 ve 1.2.1 bölümlerine bakınız) özel kriterler oluşturulmuştur. Son olarak kalıcı (P) ve çok kalıcı (vP); yüzey suyunda, çökeltide veya toprakta belirli tetikleme değerlerinin üzerinde bozunma yarı ömürlerine sahip maddeleri ifade eder.
Abiyotik bozunma	Hidroliz, fotoliz ve maddeler arasındaki diğer etkileşimler (örneğin, oksidasyon) gibi biyobozunurluk dışındaki süreçlerin aracılık ettiği bozunmadır. Abiyotik bozunma çalışmaları, tipik olarak birincil bozunmanın bir ölçüsünü sağlar.
Hidroliz	Bir maddenin su ile reaksiyona girerek ayrışması veya bozunmasıdır.
Fotoliz	Işık veya radyan enerjisinin neden olduğu kimyasal ayrışma veya bozunmadır. Doğal sudaki doğrudan fotoliz, güneş fotonunun doğrudan emiliminden kaynaklanan bir maddenin dönüşümünü içerir. Doğal sudaki dolaylı fotoliz, bazen bir maddenin, elektronik olarak uyarılmış üçlü hallerde doğal olarak oluşan ışığa hassaslaştırıcılardan enerji aktarımı nedeniyle dönüşümünü içerir. Bununla birlikte dolaylı fotoliz, reaksiyonlara bağlı olarak daha çok hidroksil radikalleri ile tek bir elektronik katmandaki moleküler oksijen ve peroksi radikalleri gibi geçici oksidanlarla bir maddenin dönüşümünü içerir. Dolaylı fotoliz, havadaki gaz halindeki maddeler için önemli bir dönüşüm sürecidir.
Oksidasyon	Bir madde oksidasyon/indirgeme veya diğer dönüşüm reaksiyonlarına (depolama altında, kullanım vb.) maruz kalabilir. Bu reaksiyonlar yavaş olabilir ve atmosferik oksijen gibi diğer oksitleyici maddelerin varlığıyla başlatılabilir.

Terim	Tanım
Bozunma hızı sabiti	Tipik olarak bir birinci dereceden veya psödo birinci dereceden kinetik hız sabiti, k (1/gün), bu bozunma süreçlerinin hızını gösterir. Bununla birlikte hız sabitleri, maddenin indirgeyici biyokütleyle oranına bağlı olarak büyüme süreçlerini yansıtan Monod sabitleri olabilir.
Yarı ömür, $t_{1/2}$	Birinci veya psödo birinci dereceden bir reaksiyonun hızının karakterize edilebilmesi için kullanılan terimdir. Konsantrasyonun 2 kat oranında azalmasına karşılık gelen zaman aralığıdır. Yarı ömür ve bozunma hızı sabiti $t_{1/2} = -\ln 2/k$ denklemi ile ilişkilidir. Yarı ömürler genel olarak saat veya gün cinsinden ifade edilir ve birincil bozunmaya veya nihai biyobozunmaya (mineralizasyon) atanabilir.
DT50	(Kaybolma Süresi 50), test maddesinin başlangıç konsantrasyonunun %50 oranında azaldığı ve bu azalmanın deneysel olarak ölçüldüğü süredir. DT50'nin birincil bozunmaya mı yoksa mineralleşmeye mi (nihai biyobozunma) işaret ettiği belirtilmelidir.
DT90	(Kaybolma Süresi 90), test maddesinin başlangıç konsantrasyonunun %90 oranında azaldığı süredir. Bu süre, birinci dereceden bir reaksiyonun gerçekleştiği durumlarda 3 yarı ömürden biraz daha uzun olabilir.
Bozunma ürünü/ürünleri	Bozunma süreçlerinin bir sonucu olarak üretilen maddelerdir. Aerobik nihai bozunma veya mineralizasyon için bu maddeler karbondioksit, su ve mineral tuzlarıdır.
Saha Verileri	Bir maddenin yükleme, dağılım, seyreltme ve bozunma ile ilişkili olabilecek çevresel bir ortamdaki ölçülen konsantrasyonlarıdır.

R.7.9.1.2 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin rehberin amacı

Bu raporun amacı, KKDİK kapsamındaki maddelere ilişkin bilgilerin toplanmasında yardımcı olabilecek bir bütünlük test stratejisinin (BTS) tanımlanmasını, yani maddelerin zararlılık ve risk değerlendirmelerinin yürütülmesini sağlamaktır. Bu bilgiler, risk karakterizasyonunda kullanılmak üzere sınıflandırma, PBT ve vPvB değerlendirmesi ile maruz kalma değerlendirmesi için temel oluşturmalıdır. Bunun yerine getirilebilmesi amacıyla test dışı veriler, simülasyon testlerinden elde edilen veriler, saha verileri ve maruz kalma verileri dahil olmak üzere bozunurluğa ilişkin tüm veri kaynakları dikkate alınacaktır.

Bozunma, aşağıdaki düzenleyici ihtiyaçlara karşı önemli bir sonlanma noktasıdır:

- PBT/vPvB değerlendirmesinde bir maddenin P veya vP kriterlerini karşılayıp karşılamadığının belirlenmesi ve bir maddenin çevresel zararlılık sınıflandırmasında çevrede uzun süreli olumsuz etkilere neden olma potansiyeline sahip olup olmadığının belirlenmesi
- Risk karakterizasyonunda kullanılmak üzere çevresel maruz kalma değerlendirmesinde bir maddenin Öngörülen Çevresel Konsantrasyonunun (PEC) belirlenmesi

Genel bilgi toplama süreci adım adım ilerleyen bir süreç olacaktır. Madde 11'de atıfta bulunulan bilgi gerekliliklerine ilişkin Ek 6'daki Rehber Notu'na göre madde özelliklerine ilişkin bilgilerin potansiyel kayıt ettiren tarafından toplanması için aşağıdaki dört süreç öngörülmüştür:

- Mevcut bilgiler toplanır ve paylaşılır
- Bilgi gereklilikleri göz önünde bulundurulur
- Bilgi boşlukları tespit edilir
- Yeni veriler oluşturulur/test stratejisi önerilir

Rapor içinde önerilen genel BTS, seçilen maddelere karşı test edilecektir. Veri açısından zengin madde oranları, farklı tonaj seviyeleri ve mevcut verilerin farklı seviyeleri gibi strateji unsurlarının test edilmesi amacıyla kullanılacaktır.

R.7.9.2 Bozunma/biyobozunmaya ilişkin bilgi gereklilikleri

KKDİK Madde 11, maddelerin kaydı ve değerlendirilmesi için sunulması gereken bilgileri sunar. KKDİK Madde 13'te, bilgi gerekliliklerinin üretim hacmine (tonaj) bağlı olması durumu kademeli bir sistemde oluşturulmuştur ve bu, potansiyel maruz kalmanın hacimle birlikte arttığını gösterir. KKDİK Yönetmeliği, Ek 6 ila Ek 11'de Madde 11'e atıfta bulunularak kaydedilecek kimyasal maddeye ilişkin bilgi üretme gereklilikleri ortaya koyulmaktadır. Bununla birlikte, mevcut maddelere ilişkin tüm bilgiler, tonaj tetikleyicisinden bağımsız olarak kullanılmalıdır.

Kayıt ettirenin ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde kesin bir sonuca (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB değerlendirmesi kriterlerini karşılamaktadır") ulaşamaması halinde KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 2.1 uyarınca tonaj bandından bağımsız olarak bu sonuçlardan birinin elde edilebilmesi için gerekli bilgiler üretilmelidir (daha fazla ayrıntı için [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11'e bakınız). Alternatif olarak, madde "*bir PBT veya vPvB maddesi gibi*" kabul edilebilir ve yönetilebilir (ayrıntılar için Bölüm R.11'e bakınız).

R.7.9.2.1 Ek 7 (Kayıt tonajı > 1 ton/yıl - <10 ton/yıl)

Bozunmaya ilişkin KKDİK Ek 7'deki güncel metin. Bu bilgi, maddenin Ek 3'te belirtilen kriterleri karşılaması koşuluyla gereklidir:

- Ek 3'teki kanserojenite, eşey hücre mutajenitesi veya üreme toksisitesi zararlılık sınıflarında kategori 1A veya 1B sınıflandırması kriterlerini karşılama olasılığının (yani nicel yapı aktivite ilişkilerinin veya diğer kanıtların uygulanmasıyla) tahmin edildiği maddeler
- maddeler:
 - dağılımlı veya yaygın kullanım(lar) ile özellikle bu tür maddelerin tüketici karışımlarında kullanıldığı veya tüketici eşyalarına dahil edildiği durumlarda; ve
 - SEA Yönetmeliği kapsamındaki herhangi bir sağlık veya çevresel zararlılık sınıfları veya farklılıkları için sınıflandırma kriterlerini karşılama olasılığının (yani nicel yapı aktivite ilişkilerinin veya diğer kanıtların uygulanmasıyla) tahmin edildiği maddeler.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin kurallar
9.2. Bozunma 9.2.1. Biyotik 9.2.1.1. Kolay biyobozunabilirlik	7.2.1.1. Madde inorganik olması halinde çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez.

Kolay Biyobozunurluk Testi:

Bu testlere ilişkin gerekliliklerden feragat edilmesi aşağıda belirtilen koşullar altında dikkate alınmalıdır:

Sütun 2: "Madde inorganik ise çalışmanın gerçekleştirilmesine gerek yoktur."

İnorganik maddeler, biyobozunurluk açısından test edilemez.

R.7.9.2.2 Ek 8 (Kayıt tonajı \geq 10 ton/yıl)

Bozunmaya ilişkin KKDİK Ek 8'deki güncel metin.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin kurallar
9.2. Bozunma	9.2. Ek-1'e göre yapılan kimyasal güvenlik değerlendirme, maddenin bozunurluğu hakkında ilave bilgiye ihtiyaç olduğunu gösteriyorsa, ilave testler düşünülür. Uygun testin seçimi Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi sonucuna bağlıdır.
9.2.2. Abiyotik 9.2.2.1. pH fonksiyonu olarak hidroliz	. 9.2.2.1. Aşağıdaki koşullarda çalışmanın gerçekleştirilmesi gerekmez: - madde kolay biyobozunabilir özellikte ise; veya - maddenin suda çözünürlüğü çok az ise

Bu tedarik tonajındaki gereklilikler, kolay biyobozunurluk verileri (KKDİK, Ek 7'de tanımlandığı gibi) ve pH 4, 7 ve 9'da elde edilen hidroliz verileri içindir. Normalde, Bölüm R.6.1'de açıklandığı üzere geçerli bir QSAR sağlamak mümkün olsa da, kolay biyobozunurluk testi gerekli olacaktır.

Hidroliz Testi

Bu test, sınıflandırmada, kalıcılık testinde ve ortamdaki bir maddenin yüzey suyundaki davranışının belirlenmesinde yardımcı olabilecek abiyotik bozunmaya ilişkin bilgilerin sağlanabilmesi için tasarlanmıştır. Aşağıdaki durumlarda testten feragat edilebilir.

Sütun 2: "Bu madde kolay biyobozunurdu."

Bu koşullar altında hidroliz testi çok az ek bilgi sağlayacaktır çünkü ortamda hızlı mineralleşmenin olduğu varsayılmıştır.

Sütun 2: "Bu madde suda çok az çözünüyor ise"

Bu durumlarda, özel analitik tekniklerin mevcut olmaması halinde bu testin gerçekleştirilmesi uygulama açısından çok zor olacaktır. İlave olarak, sucul ortam büyük olasılıkla endişe kaynağı olan ilgili temel çevre ortamı olmayabilir (bkz. Başlık R.7.9.6). Bununla birlikte, belirli durumlarda, örneğin daha fazla çözünür ürünlere yol açan çözünmemiş madde taneciklerinin yüzeyinde hidrolizin meydana geldiği durumlarda test yine de önemli olabilir, ancak risk değerlendirmesi amaçları için gerekli olması halinde duruma göre değerlendirilebilir.

R.7.9.2.3 Ek 9 (Kayıt tonajı \geq 100 ton/yıl)

Bozunmaya ilişkin KKDİK Ek 9'daki güncel metin.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin kurallar
9.2. Bozunma	9.2. Ek 1'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesinde, maddenin bozunması ve bozunma ürünlerinin daha fazla araştırılması gerektiği belirtiliyorsa, kayıt ettiren tarafından ilave bir biyotik bozunma testi gerçekleştirilecektir. Uygun test(ler)in seçimi, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarına bağlıdır ve uygun ortamlarda (örneğin su, çökelti veya toprak) simülasyon testini içerebilir.
9.2.1. Biyotik	
9.2.1.2. Yüzey suyundaki nihai bozunmaya ilişkin simülasyon testi	9.2.1.2. Aşağıdaki durumlarda çalışmanın yürütülmesine gerek yoktur: – Maddelerin suda çözünürlüğü çok az ise ya da – bu maddenin kolay biyobozunur olduğu durumlarda.
9.2.1.3. Toprak simülasyon testi (toprağa ileri derecede tutunma potansiyeli bulunan maddeler için)	9.2.1.3. Aşağıdaki durumlarda çalışmanın yürütülmesine gerek yoktur: – bu maddenin kolay biyobozunur olduğu durumlarda; veya doğrudan veya dolaylı toprağın maruz kalma olasılığı bulunmuyorsa

9.2.1.4. Çökelti simülasyon testi (çökeltiye ileri derecede tutunma potansiyeli bulunan maddeler için)	9.2.1.4. Aşağıdaki durumlarda çalışmanın yürütülmesine gerek yoktur: – bu maddenin kolay biyobozunur olduğu durumlarda; veya – doğrudan veya dolaylı çökeltinin maruz kalma olasılığı bulunmuyorsa
9.2.3. Bozunma ürünlerinin tanımlanması	9.2.3. Madde kolay biyobozunabilir özellikte değil ise

İlgili çevresel maruz kalma hususlarına bağlı olarak bu tonajda ek bir biyobozunurluk testi gerekli olabilir.

Ek 1'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesinde, maddenin bozunması ve bozunma ürünlerinin daha fazla araştırılması gerektiği belirtiliyorsa, kayıt ettiren tarafından ilave bir biyotik bozunma testi gerçekleştirilecektir. Uygun test(ler)in seçimi, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarına bağlıdır ve uygun ortamlarda (örneğin su, çökelti veya toprak) simülasyon testini içerebilir.

Bu, belirli testlerin hariç tutulmasının, KGD'nin sonuçlarını netleştirme veya revize etme ihtiyacıyla gerekçelendirilebileceği genel bir çerçeve olarak alınabilir.

Yüzey suyundaki nihai bozunmaya ilişkin simülasyon testi

Sütun 2: "Madde kolay biyobozunabilir özellikte ise."

Bu koşullar altında simülasyon testi çok az ek bilgi sağlayacaktır çünkü ortamda hızlı mineralleşmenin olduğu varsayılmıştır. Bölgesel ölçekte risk karakterizasyonuna yardımcı olmak için tahmini çevresel yarı ömürde bir iyileştirme gerekmedikçe bu böyle olacaktır.

– **Sütun 2:** "Bu maddenin sudaki çözünürlüğü çok az ise "

Sudaki çözünürlük o kadar düşük olabilir ki, testin maddenin suda çözünürlük sınırının altındaki konsantrasyonlarda gerçekleştirilmesi uygulama açısından zor veya imkansız olabilir. Ayrıca yüzey suyu ortamının söz konusu temel ortam olmayacağı da muhtemeldir ve bir simülasyon testinin gerekli olduğu durumlarda farklı bir çevresel ortamda (örneğin, toprak, çökelti) test yapılmalıdır. Maddenin potansiyel bir PBT/vPvB olduğunun kabul edildiği durumlarda (örneğin, kalıcılığa ilişkin tarama kriterlerinin yerine getirildiği durumlarda), KKDİK, Ek 8, Bölüm 2.1 uyarınca ek bilgilerin dikkate alınması gerekir.

Topraktaki nihai bozunmaya ilişkin simülasyon testi

Sütun 2: "Madde kolay biyobozunurdur."

Bu koşullar altında simülasyon testi çok az ek bilgi sağlayacaktır çünkü ortamda hızlı mineralleşmenin olduğu varsayılmıştır. Risk karakterizasyonuna yardımcı olabilmek amacıyla tahmini toprak bozunmasına ilişkin yarı ömrün iyileştirilmesi gerekmedikçe, bu böyle olacaktır.

Sütun 2: "doğrudan veya dolaylı toprağın maruz kalma olasılığı bulunmuyorsa ."

Toprağın maruz kalmadığı veya maruz kalmanın PEC değerlerinin iyileştirilmesinin gerekli olmadığı kadar düşük olduğu durumlarda bu test gerekli olmayabilir. Maddenin bir PBT/vPvB adayı olarak kabul edildiği durumlarda toprağın ilgili çevresel katman olması halinde bu testin dikkate alınması gerekebilir (bkz. Bölüm R.7.9.6).

Çökeltideki nihai bozunmaya ilişkin simülasyon testi

Sütun 2: "Madde kolay biyobozunurdur"

Bu koşullar altında simülasyon testi çok az ek bilgi sağlayacaktır çünkü ortamda hızlı mineralleşmenin olduğu varsayılmıştır. Bölgesel ölçekte risk karakterizasyonuna yardımcı olabilmek amacıyla çökelti bozunmasına ilişkin tahmini yarı ömürün iyileştirilmesi gerekmedikçe, bu böyle olacaktır.

Sütun 2: " doğrudan veya dolaylı çökeltinin maruz kalma olasılığı bulunmuyorsa "

Çökeltinin maruz kalmadığı veya maruz kalmanın PEC_{bölgesel} değerlerinin iyileştirilmesinin gerekli olmadığı kadar düşük olduğu durumlarda, bu test gerekli olmayabilir. Maddenin bir PBT/vPvB adayı olarak kabul edildiği durumlarda, çökeltinin ilgili çevresel katman olması halinde, bu testin dikkate alınması gerekli olabilir (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'e bakınız).

Bozunma ürünlerinin belirlenmesi ve/veya değerlendirilmesi

KGD'nin tamamlanabilmesi için birincil bozunmayı takiben bozunma ürünlerine ilişkin bilgilerin gerekli olduğu durumlarda bu veriler gereklidir. Bu, Başlık R.7.9.4'te daha ayrıntılı bir şekilde ele alınmaktadır.

Sütun 2: "Madde kolay biyobozunurdur"

Bu koşullar altında, bu tür bir bozunma sırasında oluşan herhangi bir bozunma ürününün yeterince hızlı bir şekilde bozunacağı ve bu nedenle başka bir değerlendirmeye gerek olmadığı düşünülebilir.

R.7.9.2.4 Ek 10 (Kayıt tonajı ≥ 1000 ton/yıl)

Bozunmaya ilişkin KKDİK Ek 10'daki güncel metin.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin kurallar
9.2. Bozunma 9.2.1. Biyotik	9.2. Ek 1'e göre hazırlanan kimyasal güvenlik değerlendirmesi maddenin bozunması ve bozunma ürünleri hakkında ,ilave araştırmalar gerekliliğini gösteriyorsa, biyotik bozunma testi kayıt ettiren tarafından teklif edilir. Uygun testin seçimi, kimyasal güvenlik değerlendirme sonucuna bağlıdır ve uygun ortamda (su, çökelti veya toprak) simülasyon testini de kapsayabilir.

Bu veriler, biyobozunurluğa ilişkin diğer doğrulama testleriyle ilgilidir ve PBT/vPvB değerlendirmesi dahil olmak üzere KGD'nin tamamlanabilmesi amacıyla birincil bozunmanın ardından bozunma ürünlerine ilişkin bilgilerin gerekli olduğu durumlarda veya zararlılık sınıflandırmasına ilişkin etkiler nedeniyle kayıt ettiren tarafından gerekli görülmesi halinde kullanılmalıdır.

R.7.9.3 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin bilgi kaynakları

Bu bölüm, bozunmanın değerlendirilmesi hususunda önemli olan test dışı verilerden ve test verilerinden oluşan bilgi kaynaklarını tanımlar. Resmi olarak kabul edilen AB ve OECD test rehberlerinin ve bu rehberlerin uygulama alanlarının bir envanteri sağlanacaktır.

Maddenin fiziko-kimyasal özellikleri gibi diğer bilgiler de gerçekleştirilecek uygun çalışmaların tanımlanmasında önemlidir, örneğin biyobozunurluğa ilişkin bazı testler uçucu ve suda az çözünen maddeler için geçerli değildir. Bu veriler ayrıca, daha yüksek kademeli test verilerinin sırasına göre önceliklendirilebilmesi amacıyla çevresel ortamların tanımlanması hususunda da yardımcı olabilir.

R.7.9.3.1 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin veriler

Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin test dışı veriler

Veritabanları

En önemlisi EAWAG (eski Minnesota Üniversitesi) Biyokataliz/Biyobozunurluk veritabanıdır (<http://eawag-bbd.ethz.ch/>). Bu veritabanında bir dizi biyobozunurluk yoluna ilişkin nicel bilgiler mevcuttur. Bu veritabanı, açık literatürde yayınlanmış bilinen biyobozunurluk yollarını bir araya getirir. Bu deneysel çalışmaların çoğu, saf mikroorganizma kültürleri kullanılarak biyobozunurluk yollarının belirlenebilmesi amacıyla tasarlanmıştır. Bu nedenle bu veriler, metabolitlerin analizinin gerekli olduğu potansiyel bozunma ürünlerinin tanımlanmasına yardımcı olabilir. KEGG veritabanları ve araçlarına ilişkin web sitesinde (<http://www.genome.jp/tools/pathpred/>) benzer bozunma yolları ve araçları mevcuttur.

Bu verilerin zararlılık, kalıcılık ve risk değerlendirmesindeki kullanımlarına ilişkin uygunluğu dikkatli bir değerlendirme gerektirir ve bu veriler yalnızca başka verilerin mevcut olduğu durumlarda *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinin bir parçası olarak katkıda bulunabilir.

Biyobozunurluk, fotooksidasyon ve hidroliz verilerini bir araya getiren diğer bir yapay bilgi kaynağı, Japon Ulusal Teknoloji ve Değerlendirme Enstitüsü (NITE) veritabanıdır (<http://www.nite.go.jp/en/chem/qsar/evaluation.html>).

Nicel Yapı Aktivite İlişkileri

Biyobozunurluğun tahmin edilebilmesi amacıyla çeşitli modeller geliştirilmiştir. Bu modeller, yapı - biyobozunurluk ilişkilerini (SBR) ve nicel yapı - biyobozunurluk ilişkilerini (QSBR) içerir. Yapı - biyobozunurluk ilişkileri, kolay biyobozunurluk testinden geçen ve geçemeyen nitel sonlanma noktaları sağlar. Nicel yapı - biyobozunurluk ilişkileri, hız veya yarı ömür tahmini sağlar. Daha fazla bilgi " Nicel - yapı aktivite ilişkileri nasıl kullanılır ve rapor edilir"²⁹ Rehberinde ve Nendza ve ark., 2013'te bulunabilir.

Bu tür modellerin örnekleri şunları içerir:

- Log oktanol-su dağılım katsayılarını, Henry Kanunu sabitini, atmosferdeki dolaylı fotolizi (OH ve NO₃ ile reaksiyonu ile), biyobozunurluğu ve hidrolizi belirleyen paketleri içeren Syracuse Research Corporation'un Tahmin yazılımı (ücretsiz olarak temin edilebilir) (<http://www.srcinc.com/what-we-do/environmental/tools-and-models.html>). Bu model ayrıca ABD EPA'nın EPI Suite'ine (<https://www.epa.gov/tsca-screening-tools>) dahildir. EPI Suite'in bir parçası olan Windows için Biyobozunurluk Olasılık Programı (BIOWIN)), uzman görüşüne göre (BIOWIN 1 ve 2), mikroorganizmaların karışık kültürlerinin bulunduğu aerobik koşullar altında bir maddenin ortamda hızlı veya yavaş bir şekilde biyobozunurluk olasılığını hesaplar. BIOWIN 3 & 4, uzman kararı ile değerlendirilen yaklaşık 200 maddeden oluşan bir eğitim setine göre çevresel bozunmaya ilişkin yarı ömürler için nihai ve birincil biyobozunurluk zaman dilimini (saatler, günler, haftalar, aylar, yıllar) tahmin eder. MITI kolay biyobozunurluğa karşı doğrulanmış BIOWIN 5 & 6, yüzlerce maddeye ilişkin sonuç elde eder (Loonen ve ark., 1999). BIOWIN 7, bir maddeyi "başarılı" veya "başarısız" olarak puanlamak yerine anaerobik biyobozunurluğu modeller. Yazılımın yardım dosyalarında BIOWIN modellerinin geliştirilmesinde kullanılan eğitim seti maddeleri sunulmuştur. BIOWIN 7, serum şişesi anaerobik biyobozunurluk tarama testinin kullanıldığı bir veri setine bağlı olarak geliştirilmiştir, ancak bu veri seti farklı eğitim ve doğrulama setlerine ayrılmamıştır. BIOHCWIN (ayrıca Syracuse Research Corporation tarafından geliştirilmiştir), hidrokarbonların sudaki birincil bozunmalarına ilişkin yarı ömürlerini tahmin eden bir modeldir. Çok kirli alanlara (yani, ortamda sıkça görülen çok düşük konsantrasyonlardan daha yüksek madde konsantrasyonlarına sahip alanlara) benzer bir durumla ilgilidir. Modelin ve gelişiminin bir açıklaması Howard ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada sağlanmıştır. Biyobozunurluk tahmini için BIOWIN 5 ve 6 QSAR modellerinin, kolay biyobozunurluk testlerinden, özellikle de benzersiz bir şekilde oluşturulmuş bir inokülümü kullanan MITI I verilerinden elde edilen sonuçlardan oluşturulmuş bir eğitim veri setine bağlı olarak geliştirildiği belirtilmektedir. BIOWIN 1, 2, 3 (nihai bozunma zaman dilimi) ve 4 (birincil bozunma zaman dilimi) için hazırlanan eğitim seti, hızlı veya yavaş çevresel bozunma için ABD EPA uzmanlarından oluşan bir panelin genel sonuçlarına ve eğitim seti maddeleri hakkındaki çeşitli bozunma bilgilerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, BIOWIN 1, 2 ve 3 modelleri, kolay ve kolay gerçekleşmeyen biyobozunurluğa ilişkin öngörülebilirlikleri açısından literatürde araştırılmıştır (Howard ve ark., 1992). Prosser ve ark. (2016) tarafından 489 veri noktasında yapılan bir çalışma, BIOHCWIN aracılığıyla tahmin edilen birincil biyobozunmaya ilişkin yarı ömür değerlerinin, veri noktalarının >%87'si için deneysel değerlerden bir ondalık basamağın içinde olduğunu göstermiştir.

²⁹ <https://kimyasallar.csb.gov.tr/rehber-dokumanlar/18>

Bu sonuç, model tahminlerinin büyük bir hidrokarbon seti için doğru olduğunu ortaya koysa da, model dikkatli kullanılmalıdır. BIOHCWIN'de kullanılan bazı veriler, çok bileşenli maddeler olarak incelenen tek bileşenli maddeler için (örneğin, sikloalkanlar (Howard ve ark., 2005)) elde edilen yarı ömürlere dayanmaktadır, dolayısıyla tahmin edilen yarı ömürler ortak metabolizmadan etkilenebilir ve bu nedenle eş metabolizmanın oluşmadığı bir duruma kıyasla bozunma oranını fazla tahmin edebilir. Örneğin, hidrokarbon içeren tek bileşenli bir madde için PBT değerlendirmesi yapıldığında, hidrokarbon içeren bir yardımcı substratın varlığı varsayılmamalıdır. Bu nedenle, bu gibi durumlarda, P/vP kriterlerinin altındaki BIOHCWIN yarı ömürleri, "P/vP değildir" sonucunun desteklenebilmesi amacıyla kullanılmamalıdır. Çevresel yarı ömürlerin BIOHCWIN (Rorije ve ark., 2012) tarafından olduğundan fazla tahmin edilebilme olasılığı sebebiyle, dallanmış bileşiklere de dikkat edilmelidir. BIOWIN modellerinden hiçbirinin, tahminlerinin uygulanabilirlik alanları içinde olup olmadığını otomatik olarak rapor etmediğini belirtmek gerekir. Daha fazla bilgi için çevrimiçi BIOWIN kullanıcı rehberinde bildirilen model alanlarına başvurulmalıdır;

- QSAR Araç Kutusu (<https://www.qsartoolbox.org/home>), (eko)toksikolojik ve çevresel davranış sonlanma noktalarına ilişkin veri boşluklarının tanımlanması ve doldurulması için bir yazılım uygulamasıdır. Araç Kutusu şu amaçlarla kullanılabilir:
 - hedef kimyasalın ilgili yapısal özelliklerinin, potansiyel mekanizmasının veya etki şeklinin belirlenmesi,
 - aynı yapısal özelliklere ve/veya mekanizmaya veya etki şekline sahip diğer kimyasalların tespit edilmesi,
 - Araç Kutusundaki veritabanlarında mevcut olan deneysel sonuçların kullanılmasıyla veri boşluklarının doldurulması.
- CATALOGIC yazılım paketi (ticari, lisans gerektirir), maddelerin abiyotik ve biyotik bozunma, biyobirikim ve akut sucül toksisite gibi çevresel davranışı ile ilgili modellere ve veritabanlarına ilişkin bir platformdur. Maddelerin mikrobiyal bozunması (BOD ve CO₂ üretimi) CATALOGIC 301B, 301C ve 301F modelleri ile tahmin edilmektedir. Biyobozunurluk simüle edilmiş katabolik yollara, moleküler dönüşümlerin malzeme dengesine ve bunların oluşma olasılıklarına göre tahmin edilir. Modeller ayrıca birincil ve nihai biyobozunmaya ilişkin yarı ömürleri ve metabolit miktarlarını da tahmin eder. Suda yaşayan organizmalara ilişkin başlıca trofik seviyelerden akut toksisite ve fizikokimyasal özellikler de tahmin edilmektedir (Dimitrov ve ark., 2011); <http://oasis-lmc.org/products/models/environmental-fate-and-ecotoxicity.aspx>). Uygulanabilirlik alanı, QMRF ve QPRF de sağlanır;
- EAWAG Biyokataliz/Biyobozunurluk Veritabanı ayrıca bir Yol Tahmin Sistemi (PPS) (<http://eawag-bbd.ethz.ch/predict/>) önermektedir. Bu model, EAWAG-BBD veritabanında derlenen reaksiyonlardan oluşturulmuş biyodönüşüm kurallarını kullanarak uygun bozunma yollarını tahmin eder.
- TOPKAT (ticari, lisans gerektirir) aerobik bir biyobozunurluk modülüne sahiptir. Bu modül, belirli bir madde sınıfına uygulanabilen istatistiksel olarak anlamlı ve çapraz doğrulanmış bir nicel yapı-toksisite ilişkisi (QSTR) modelini ve bu modellerin oluşturulduğu verileri içerir.

Bu modellerin geliştirilebilmesi için Japon Uluslararası Ticaret ve Sanayi Bakanlığı (MITI) I test protokolü tarafından değerlendirilmiş 894 bileşiğin biyobozunurluğunu bildiren tek bir çalışma kullanılmıştır. Moleküler yapı, aerobik biyobozunurluğun bir değerlendirmesinin yapılabilmesi için gereken tek girdidir (<http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/qsar-admet-and-prediktif-toxicology.html>);

- Multicase ve daha güncel bir sürümü Case-Ultra (ticari, lisans gerektirir), maddelerin metabolik parçalanma yollarının tahmin edilebilmesi için bir META programına ve kolay biyobozunurluğa ilişkin tahmin programına sahiptir. Tüm kurallar güvenilir literatür kaynaklarına göre belirlenmiştir. META'da, memeli metabolizması, aerobik biyobozunurluk, anaerobik biyobozunurluk ve fotobiyobozunurluk için tahmini dönüşüm ürünleri şeması oluşturulabilir, kaydedilebilir ve analiz edilebilir (<http://www.multicase.com/meta-pc>);
- Danimarka QSAR veritabanı <http://qsar.food.dtu.dk> adresinde ücretsiz olarak mevcuttur. Bir dizi fiziksel kimyasal özellik, toksisite ve ekotoksisite sonlanma noktalarına ilişkin QSAR tahminlerinin yanı sıra, EPISuite programı paketine dahil olan fotoliz, hidroliz ve tüm biyobozunurluk QSAR modellerine ilişkin tahminleri de içerir (v.4.1, ayrıca yukarıya bakınız). İlave olarak, bu QSAR tahmin veritabanı, Danimarka EPA ile işbirliği içinde DTU 30 QSAR grubu tarafından geliştirilen üç QSAR modelinden tahminler içerir. Modeller, üç modelleme yaklaşımı kullanılarak yüzlerce aynı MITI I ve diğer mevcut kolay biyobozunurluk testi verileri üzerinde geliştirilmiştir: Case-Ultra, Leadscope ve SciQSAR. Bireysel tahminlerin, modelleme kavramı tarafından tanımlanan her modelin uygulanabilirlik alanı kapsamında olup olmadığına ilişkin basit bir evet/hayır sonucu sağlanır. Son olarak, bahsedilen üç QSAR modeli tahmininin çoğunluk oyu tahmini de sağlanır. Veritabanı, REACH için ön kayıt gerçekleştirilmiş hemen hemen tüm maddeler dahil olmak üzere 630.000'den fazla farklı organik maddeye ilişkin tahminleri içerir ve girdi olarak yalnızca CAS numarasını gerektirir. İlave olarak, veri tabanı karmaşık aramaların yapılmasına izin verir (aşağıdaki koşullu seçeneklerin kullanılmasıyla veri tabanına dahil edilen tüm sonlanma noktalarına ilişkin tahminlerle ilgili birleşik arama algoritmaları belirli aramalarla yerine getirilir: "VEYA", "VE" ve "DEĞİL" ve ">", "<", "=", "dahil" gibi koşullara ek serbestçe seçilen alt yapıların seçimi ve yapısal bir benzerlik indeksi değeriyle ilgili seçenek). DTU grubu tarafından geliştirilen ve doğrulanan tüm modellerdeki QSAR Model Raporlama Formatları web sitesinde sağlanmaktadır;
- VEGA (<http://www.vega-qsar.eu/>), (eko)toksiolojik ve çevresel davranış sonlanma noktaları için AB tarafından finanse edilmiş CAESAR projesi ve ABD EPA tarafından geliştirilmiş QSAR modellerinin bir koleksiyonunu sunan ücretsiz bir platformdur.

³⁰ DTU: Danmarks Tekniske Universitet, Danimarka Teknik Üniversitesi

- DSL'yi³¹ tarayan bir Kanada çalışmasında modellemeye bağlı bir fikir birliği yaklaşımı kullanılmıştır (Arnot ve ark., 2005). Yaklaşım, (KKDİK) P değerlendirmesiyle ilgili yararlılığı açısından daha fazla araştırılmalı ve dikkatli bir şekilde yeterli gerekçelendirme ile kullanılmalıdır.

Belirli madde sınıfları için özel nicel yapı aktivite ilişkilerini yürütmek de mümkün olabilir. hidrokarbonlara bağlı BIOHCWIN (Howard ve ark., 2005) ve alkollere (Yonezawa ve Urushigawa, 1979a), n-alkil ftalatlarla (Yonezawa ve Urushigawa, 1979b), klorofenollere ve kloroanizollere (Banerjee ve ark., 1984), para- ikameli fenollere (Paris ve diğerleri, 1983) ve meta-ikame edilmiş anilinler (Paris ve diğerleri, 1987) bağlı diğer modeller bunlara örnektir.

QSAR modelinden elde edilen tahminlerin kullanımı, test verilerinin eksik olduğu durumlarda ve buna ilave olarak, ilgili bileşenlere (safsızlıklar dahil) ilişkin test verilerinin bulunmasının veya hatta oluşturulmasının analitik, pratik ve maliyet etkileri sebebiyle genel olarak zor olabileceği çok bileşenli maddelerin değerlendirildiği durumlarda özellikle önemli ve ilgilidir.

Hidrolizin tahmin edilmesi için bazı ücretsiz modeller de mevcuttur. Syracuse Research Corporation'ın Tahmin yazılımı (EPISuite), hidroliz yarı ömrünün tahmin edilebilmesine ilişkin HYDROWIN programını da içerir. Hidroliz tahmini için yararlı olan ancak ücretsiz olmayan başka bir program SPARC'dir (<http://www.archemcalc.com/sparc.html>).

Fotoliz tahmini için Syracuse Research Corporation'un Tahmin yazılımı, OH- ve NO-3 radikallerinin reaksiyonları aracılığıyla atmosferdeki dolaylı fotolize ilişkin yarı ömrü hesaplayan AOPWIN programını içerir.

Multicase'de ışıkla bozunmaya ilişkin bir model de mevcuttur.

Modellere ilişkin yukarıdaki listesinin kapsamlı olmadığını lütfen unutmayınız. Herhangi bir durumda, bu modeller kullanılmadan önce geçerliliklerinin ve uygulanabilirliklerinin son kullanıcı tarafından değerlendirilmesi gerekir.

Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin test verileri

Fiziko-kimyasal veriler

Bir maddenin çevre ile etkileşimi önemli bir husustur. Bir maddenin davranışı ve hareketi, büyük ölçüde içsel fizikokimyasal özelliklerine göre belirlenir. Maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine ilişkin bilgi, en uygun abiyotik bozunma ve biyobozunurluk testlerinin belirlenmesini sağlar. Bu veriler, çok ortamlı davranış ve taşıma modelleriyle birlikte daha yüksek kademeli testlerin buna uygun bir şekilde önceliklendirilmesine de olanak sağlayacaktır. İlgili OECD teknik rehberlerinin kullanılması sonucunda belirlenen aşağıdaki fiziko-kimyasal özelliklere ilişkin bilgi istenir: buhar basıncı, suda çözünürlük, kesikli denge yöntemi kullanılarak yüzeye tutunma - yüzeyden sıyrılma, suda ayrışma sabitleri, dağılım katsayısı (n-oktanol/su, K_{ow}) ve yüzeye tutunma katsayısının (K_{oc}) tahmini. Ek bilgi Bölüm R.7.1'de sağlanmıştır.

³¹ DSL: Kanada ticaretinde (geçmiş ve güncel) bilinen maddelerin kapsamlı bir envanteri olan ve şu anda yaklaşık 24.000 maddeyi içeren Yerli Madde Listesi.

Dağılım katsayılarına ilişkin deneysel verilerin ($\log K_{ow}$, $\log K_{oa}$ ve $\log K_{aw}$) mevcut olmadığı maddeler için, QSAR modellerine dayanan alt yapı oranı yöntemlerine bağlı tahmin yöntemleri, kullanılan modelin maddeler için geçerli olduğunun gösterilmesi şartıyla kullanılabilir. Maddenin fonksiyonel grup içermesi veya modelin eğitim setinde temsil edilmeyen diğer yapısal özelliklerin bulunması halinde ve bu yapısal özelliklere ilişkin oran katsayısının geliştirilmediği durumlarda, tahminler yanıltıcı olabilir.

Abiyotik bozunma verileri

Hidroliz, oksidasyon ve fotoliz gibi abiyotik süreçler maddelerin sucul ortamlarda, toprakta ve havada dönüştürülmesine neden olabilir. Abiyotik dönüşüm, çevredeki maddelerin bozunmasına ilişkin önemli bir adım olabilir (OECD, 2006b). Abiyotik bozunmanın değerlendirilebilmesi için aşağıdaki rehber mevcuttur:

OECD Test Rehberi 111: pH fonksiyonu olarak hidroliz

Fotolize ilişkin taslak halinde veya kabul edilmiş çok sayıda ABD EPA ve OECD rehberi bulunmaktadır. Bunlar (1) toprak yüzeylerindeki maddelerin ışıkla dönüşümü (OECD, 2002a) ve (2) dolaylı fotoliz yoluyla sudaki maddelerin ışıkla dönüşümüdür (ABD EPA OPPTS 835.5270 (1998)). Sudaki maddelerin doğrudan fotolizinin nasıl değerlendirileceğine ilişkin ek bir rehber mevcuttur (OECD Test Rehberi 316 (2008) ve ABD EPA OPPTS 835.2210 (1998)).

Abiyotik bozunmaya ilişkin deneysel verilerin bulunmadığı maddeler için nicel yapı aktivite ilişkileri, bozunma oranlarının veya tahminlerinin oluşturulması amacıyla göz önünde bulundurulabilir (yukarıya bakınız).

Biyobozunurluk verileri

Genel olarak, bozunma süreçlerinin değerlendirilmesi, çevresel koşulları mümkün olduğunca gerçekçi bir şekilde yansıtan verilere dayanmalıdır. Çeşitli çevresel katmanlardaki koşulları simüle eden koşullar altında bozunma hızlarının ölçüldüğü çalışmalardan elde edilen veriler tercih edilir. Bununla birlikte, bu tür verilerin uygulanabilirliği, tarama testlerinden elde edilen sonuçların dahil edildiği diğer tüm bozunma verilerinin ışığında değerlendirilmelidir. Daha çok simülasyon testlerinin sonuçları üzerinde durulur, ancak simülasyon testi verilerinin bulunmadığı durumlarda, genel bozunma oranlarına ve yarı ömürlere ilişkin yaklaşık değerler, tarama testi verilerinden (örneğin, *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.16'da açıklandığı üzere çevresel davranışın ve maruz kalmanın hesaplanması için) tahmin edilmelidir. Biyobozunurluğun değerlendirilmesine ilişkin OECD rehberleri aşağıda listelenmiştir:

- OECD Test Rehberi 301: Kolay Biyobozunurluk
 - A: DOC Giderme Testi
 - B: CO₂ Gelişim Testi
 - C:Değiştirilmiş MITI Testi (I)
 - D: Kapalı Şişe Testi
 - E: Değiştirilmiş OECD Tarama Testi
 - D: Manometrik Respirometri Testi

- OECD Test Rehberi 302: Kolay Biyobozunurluk:
 - A: Değiştirilmiş SCAS Testi
 - B: Kolay Biyobozunurluk: Zahn-Wellens/EMPA Testi
 - C: Kolay Biyobozunurluk: Değiştirilmiş MITI Testi (II)
 - OECD Test Rehberi 303: Simülasyon Testi - Aerobik Atık Su Arıtma
 - A: Aktif Çamur Üniteleri
 - B: Biyofilmler
 - OECD Test Rehberi 304A: Toprakta Kendiliğinden Biyobozunurluk
 - OECD Test Rehberi 306: Deniz Suyunda Biyobozunurluk
 - OECD Test Rehberi 307: Toprakta Aerobik ve Anaerobik Dönüşüm
 - OECD Test Rehberi 308: Sucul Çökelti Sistemlerinde Aerobik ve Anaerobik Dönüşüm
 - OECD Test Rehberi 309: Yüzey Suyunda Aerobik Mineralizasyon - Simülasyon Biyobozunurluk Testi
 - OECD Test Rehberi 310: Kolay Biyobozunurluk - Kapalı kaplarda CO₂ (Headspace Testi)
 - OECD Test Rehberi 311: Parçalanmış Çamurda Organik Bileşiklerin Anaerobik Biyobozunurluğu - Gaz Üretimini Ölçme Yöntemi
 - OECD Test Rehberi 314: Atık Suya Boşaltılan Kimyasalların Biyobozunurluğunun Değerlendirilmesine İlişkin Simülasyon Testleri

Ek R.7.9-1, yukarıda listelenen OECD rehberlerine eşdeğer ISO ve OPPTS testlerinin bir listesini içerir. Bu bölüm ayrıca her bir testin bazı önemli özelliklerini listeler.

Kolay biyobozunurluğun test edilmesine ilişkin mevcut yöntemler (OECD Test Rehberi 301 serisi ve OECD Test Rehberi 310) ve değerlendirilen sonlanma noktaları Başlık R.7.9.4'te derlenmiştir. Bu test rehberlerinin tüm madde türleri için eşit bir şekilde geçerli olmadığı kabul edilmesi önemlidir. Suda çözünürlüğü düşük, uçuculuğu yüksek veya yüzeye tutunan maddelerin üzerinde yapılan testler sırasında zorluklar ortaya çıkabilir. Suda zayıf çözünürlüğe sahip, uçucu ve yüzeye tutunan maddeler için kolay biyobozunabilirlik testlerinin uygulanabilirliği OECD (2006) tarafından özetlenmiştir.

2008 yılında OECD, OECD Test Rehberi 314'ü yayınlamıştır. Bu test rehberi, bir maddenin atık su sisteminden ve atık su arıtma tesisinden karıştırma bölgesine giden yüzey suyunun davranışının kontrolüne izin vermeyi amaçlamaktadır. Aşağıdaki beş farklı rehberi içerir:

- Atık Su Sistemi, OECD 314A
- Aktif Çamur, OECD 314B
- Anaerobik Sindirme Çamuru, OECD 314C

- Arıtılmış Çıkış Suyu ve Yüzey Suyu için Karıştırma Bölgesi, OECD 314D
- Arıtılmamış Atık Su ve Yüzey Suyu için Karıştırma Bölgesi, OECD 314E

Şimdiye kadar OECD Test Rehberi 314 bazı durumlarda kullanılmıştır ve bu nedenle KKDİK kapsamında çok az düzenleme deneyimi mevcuttur. Bu yeni önerilen rehberlerin nicel çevresel maruz kalma değerlendirmesi için uygulanabilirliği daha fazla tartışmayı gerektirir. PBT/vPvB değerlendirmesi için tek başlarına kullanılamazlar ve yalnızca kanıt ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak kabul edilebilirler. Bu çalışmalar bir tarama çalışması değildir ve ortamdaki bozunmaya ilişkin bir simülasyon çalışmasına eşdeğer değildir. PBT/vPvB değerlendirmesiyle ilgili ortamlardaki (yani: doğal yüzey suyu, çökelti veya toprak) maddenin kalıcılığının değerlendirilmesi için ilgili çevresel koşulları kullanmazlar. Ayrıca, kolay biyobozunurluğa ve bireysel çevresel ortamlardaki (yani doğal yüzey suyu, çökelti veya toprak) bozunma oranlarına ilişkin bilgi sağlamamaları sebebiyle, sınıflandırma ve etiketleme ile ilgili değildirler.

Biyobozunurluğa ilişkin yayınlanmış standart dışı çalışmalar

Yukarıda açıklanan standart hale getirilmiş verilere ek olarak, biyobozunurluğa ilişkin bilimsel literatürde yayınlanmış çok sayıda standart dışı test verisi mevcuttur. Bu çalışmaların çoğu, kolay biyobozunurluk testleri ile bazı ortak ilkeleri paylaşır. Örneğin, test maddesi büyüme ve enerji için genellikle mikroorganizmaya veya mikrobiyal topluluğa tek karbon kaynağı olarak sunulur. Bu tür verilerin yasal amaçlarla kullanılması hususunda genel bir isteksizlik mevcuttur. Ancak, *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinin bir parçası olarak değerli olabilirler ve bu verilerin toplanması, değerlendirilmesi ve uygun olduğunda kullanılması için girişimlerde bulunulmalıdır.

R.7.9.3.2 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin saha verileri

Çevresel bir risk değerlendirmesi için nihai doğrulama, ortamdaki madde konsantrasyonlarının veya madde gideriminin ölçülmesidir (örneğin, Fox ve ark., 2000). İzleme verileri, risk değerlendirmesi için maruz kalma verileri olarak doğrudan kullanılabilir, ancak, maruz kalma modellerindeki girdi verilerinin iyileştirilmesi amacıyla da kullanılabilir. Uygun ve güvenilir saha çalışmalarından veya izleme çalışmalarından elde edilen mevcut bilgiler, PBT/vPvB değerlendirmesinde kalıcılığın değerlendirilmesi için bir kanıt ağırlığı yaklaşımında dikkate alınmalıdır.

İzleme verileri maddelerin risk değerlendirmesinde dikkate alındığında, bu veriler genellikle mevcut izleme programlarından elde edilir. Bu durumda, saha veya izleme çalışması, özellikle düzenleyici ihtiyaçların karşılanması amacıyla tasarlanmamıştır. Bu gibi durumlarda, ilgili verilerin seçimine daha fazla özen gösterilmelidir. Saha çalışmaları veya izleme kampanyaları, KKDİK'in düzenleyici ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla özel olarak tasarlandığında, izleme çalışmaları bu amaca göre tasarlanabilir ve uygulanabilir. KKDİK kapsamındaki izleme verilerinin yalnızca bir madde değerlendirmesinin sonucu olarak gerekli olabileceği unutulmamalıdır. Mevcut verilerin kullanımı ve yeni saha verilerinin oluşturulması için aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir:

- Kullanılan numune alma yöntemlerine ve analitik yöntemlere ilişkin izleme kampanyalarının coğrafi ve zaman ölçeklerinin değerlendirilmesiyle güvenilir ve temsili veriler seçilmelidir. Numune alma ve ölçümlerin genel olarak yerel bir coğrafi bölgede yapılması sebebiyle, verilerin özellikle bölgesel maruz kalma modellerinde kullanılması halinde ölçülen madde konsantrasyonlarının risk değerlendirmesinin bir temsilcisi olduğunun gösterilmesine ilişkin gereğe sunulmalıdır.

- Veriler, maddenin maruz kalma kaynakları ve çevresel davranışı dikkate alınarak yerel veya bölgesel senaryolara atanmalıdır.
- Ölçülen veriler, karşılık gelen hesaplanan PEC değeri ile karşılaştırılmalıdır. Doğal olarak oluşan maddeler için, arka plan konsantrasyonları dikkate alınmalıdır. Risk karakterizasyonu için, ölçülen verilere ve hesaplanan PEC değerine bağlı olarak temsili bir PEC karşılaştırılmalıdır.

Maddelerin risk değerlendirmesinde dikkatli bir yaklaşım izlenir. Bu, PEC değerlerinin genellikle en kötü (ancak yine de gerçekçi) durumu tanımlayan ilgili bir senaryo için hesaplandığı anlamına gelir. Hassas bir durumun yaygın bir ölçümü, yüzde 90'lık PEC ile sonuçlanan jeokimyasal ölçek ve parametreler ile zaman ölçeği ve iklimin bir kombinasyonudur. Yüzey suyundaki yüzey aktif maddeler için bu yaklaşımın bir örneği Feijtel ve ark. (1999) tarafından açıklanmıştır. Bu yaklaşım aynı zamanda pestisit kayıtları için çevresel risk değerlendirmesinde de kullanılmaktadır (Avrupa Komisyonu (2014) ve EFSA (2015)).

Atık su arıtma tesisleri

Atık su arıtma tesislerinde izleme yapılması çok faydalı olabilir. Sonlanma noktası genellikle, atık su arıtma tesisindeki alıkonma süresi boyunca bir gidermenin yüzdesidir. Ayrıca atık su arıtma tesisini (AAT) izleyen metabolitlerin belirlenmesi için iyi bir araçtır. AAT'lerdeki izleme, genel olarak bir biyobozunurluk oranı olarak ifade edilmez, çünkü bozunma ve/veya çamur katılarına soğurma nedeniyle uzaklaştırma genellikle çözülmez. AAT'lerdeki izlemeye ilişkin yayınlar arasında Morral ve ark. (2006), Eadsforth ve ark. (2006) ve Belanger ve ark. (2006) vardır.

Yüzey suyu mezokozmaları

Mezokozma, kontrollü bir alan deneyidir. Bu çalışmanın birincil sonlanma noktaları suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkiler olmakla birlikte, aynı zamanda maddelerin davranışıyla ilgili bilgi edinmek de mümkündür. Sistem genellikle kapalıdır ve temsili bir floranın ve faunanın dahil olduğu gerçekçi dış ortam koşullarında madde ile ekleme yapılır. OECD (2006a), mikrokozma ve mezokozma deneylerinin oluşturulmasına ilişkin rehberlik sağlamaktadır.

Deniz ortamı için böyle bir rehber belge mevcut değildir, ancak IOCCP (Uluslararası Okyanuslar Karbon Koordinasyon Projesi), mezokozma deneylerine ilişkin rehberlerin ve protokollerin geliştirilmesi için acil bir ihtiyaç olduğunu ve bunların geliştirilmesi için farklı araştırma programlarından uygun bilim insanlarının bir araya getirildiğini belirtmiştir. <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/ioc-oceans/.htm>. TRD (2003), tatlı yüzey suyu için geçerli olan kuralların deniz suyu için de geçerli olduğunu belirtmektedir.

İlgili literatür, Grice ve Reeve (1982), Lauth ve ark. (1996), Culp ve ark. (2000) ve Deneer ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmaları içerir.

Yüzey aktif maddeler için geniş ölçekli izleme çalışmaları yapılmıştır. Bu izleme çalışmaları genel olarak biyobozunurluğa ilişkin oranların daha iyi tahminleri yerine PNEC değerlerinin iyileştirilmesine veya PEC değerlerinin daha iyi tahminlerine odaklanmaktadır. Yüzey aktif maddelere ilişkin yöntemler ile davranış ve risk değerlendirmesine genel bir bakış Knepper ve ark. (2003) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada mevcuttur.

Toprak ve yeraltı suyu

Toprak ve yeraltı suyu için üç tür saha verisi ayırt edilebilir.

- Lizimetre çalışmaları
- Alan çalışmaları
- İzleme çalışmaları

Lizimetre çalışmaları mezokozma çalışmaları ile karşılaştırılabilir. Kapalı, kontrollü, dış ortam sistemleridir, radyo etiketli maddelerin kullanılmasını ve kütle dengesinin incelenmesini mümkün kılar. Saha çalışmaları yarı kontrollüdür, çünkü sistem kapalı değildir, kütle dengesi kontrol edilemez, bu nedenle madde kaybı lizimetre çalışmalarına göre daha tanımsızdır. İzleme çalışmalarında, ortamın maruz kalmasının kontrol altında olmaması ve sistemin kapatılmaması sebebiyle daha fazla belirsizlik ortaya çıkmaktadır.

Özellikle pestisitler için birçok lizimetre, saha ve izleme deneyleri yapılmıştır. Toprak ve yeraltı suyunda risk değerlendirmesini amaçlayan bu çalışmaların performansına ve değerlendirilmesine ilişkin rehberlik OECD (2000a), Verchoor *ve ark.* (2001) ve Cornelese *ve ark.* (2003) tarafından sağlanmaktadır. Toprak ortamındaki dağılımın ve bozunmanın değerlendirilebilmesi için aşağıdaki referanslar dikkate alınabilir: NAFTA (2006), EFSA (2014) ve OECD (2016).

R.7.9.4 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.9.4.1 Bozunma/biyobozunmaya ilişkin veriler

Bozunma/biyobozunmaya ilişkin test dışı veriler

QSAR hesaplamaları

BG ve KGD Rehberi'nin R.6 Bölümü (nicel yapı aktivite ilişkileri ve kimyasalların gruplandırılması), hangi nicel yapı aktivite ilişkilerinin düzenleme amaçları için uygun olduğunun değerlendirilmesine ilişkin genel tavsiyeler sunar.

Modellerin geçerliliğinin şeffaf dokümantasyonu (QSAR Model Raporlama Formatı (QMRF)) ile bireysel maddelere ilişkin tahminlerin güvenilirliğinin değerlendirilebilmesi amacıyla ilgili raporlama bilgileri için şablonlar (QSAR Tahmin Raporlama Formatı (QPRF)) geliştirilmiştir. Bir QMRF, sistematik ve özetlenmiş bir şekilde beş OECD QSAR doğrulama ilkesine göre QSAR modelinin bir açıklamasını sunar (OECD 2006c). QPRF, bir maddeye ilişkin bireysel sonlanma noktası tahmininin, kullanılan QSAR modelinin uygulanabilirlik alanıyla nasıl ilişkili olduğunu göstermelidir. Ayrıca, tahminin yapıldığı maddeye yakın yapısal analoglarla ilgili sonlanma noktasına ilişkin test verisi bilgilerini içerebilir. Bu durumda, analogların tahminin yapıldığı maddeyle ne derece ilişkili olduğunu da açıklar.

Bir QMRF envanteri <http://qsar.db.jrc.it/qmrf/> adresinde mevcuttur.

Kolay biyobozunurluk için QSAR tahmini

Kolay/kolay olmayan biyobozunurluğun tahmini için en sık kullanılan QSAR modellerinin bir dizisinin mevcut doğrulamalarına ilişkin genel bir bakış Pavan ve Worth (2006)'da verilmiştir.

Kolay biyobozunurluğun tahmin edilebilmesi için QSAR modellerinin kullanımına ilişkin bir örnek, ayrı organik maddelerin biyobozunurluğunu tahmin eden BIOWIN modelleridir.

Biowin yardım dosyasına göre, genel bir EVET veya HAYIR tahminine ilişkin kriterler aşağıdaki gibidir: Biowin3 (nihai araştırma modeli) sonucu ≥ 2.75 (örneğin günler veya günler ile haftalar) ve Biowin5 (MITI doğrusal modeli) sonucu ≥ 0.5 ise tahmin EVET'tir (kolay biyobozunurdur). Bu koşulun karşılanmaması halinde, genel bir *Kanıt Ağırlığı'na* dayanan sonucun elde edilebilmesi için tahminin bu öneriye göre HAYIR (kolay biyobozunur değildir) olması gerekir (EPISuite sürüm 3.12, 2004). Bu genel *Kanıt Ağırlığı'na* dayalı kriterin kabul edilebilirliği, zararlılık ve risk değerlendirmesiyle ilgilenen AB çalışma gruplarında şimdiye kadar dikkate alınmamıştır.

Kullanılan Kanıt Ağırlığı işleminin başka bir örneği, maddelerin kalıcılık (P ve vP) için tanımlanmasına yönelik TRD (2003) QSAR tabanlı tarama kriteridir. BIOWIN 2 < 0.5 veya BIOWIN 6 < 0.5 ve BIOWIN 3 < 2.25 (- 2.75) ile sonuçlanan yani bu algoritmayı karşılayan ancak BIOWIN 3 modelinin 2.25 ve 2.75 arasında bir değer belirlediği maddeler için AB PBT Uzman Grubu ile Çok Yüksek Önem Arz Eden Maddeler için AB Çalışma Grubu'nun (Çalışma dokümanı: SHC/TS 2-3/029 2002) uygulamalarına ve *BG* ve *KGD Rehberi*, Bölüm R.11'deki Tablo R.11-4: P, vP, B, vB ve T için tarama bilgilerine göre bozunmaya ilişkin daha fazla bilgi genellikle PBT test stratejisi ile ilgili olarak gereklidir.

Genel olarak, ücretsiz BIOWIN modellerinden BIOWIN 1, 2, 3, 5 ve 6 kimyasalların kolay biyobozunurluğunun tahmin edildiği durumlarda kullanılabilir. Çeşitli doğrulama çalışmalarına göre, modellerin performansının farklı görüldüğü, ancak genel olarak kolay biyobozunurluğu içermeyen tahminlerin, kolay biyobozunabilirlik tahminlerinden daha kesin görüldüğü belirtilmektedir (GHS 2004 ve OECD 2004: (ENV/JM/TG/2004)26Rev1 ve buradaki referanslar). Bununla birlikte, bazı özel durumlarda, düzenleyici kararlar (örneğin, biyobozunurluğu belirleyen çapraz okuma değerlendirmeleri tarafından desteklenmiş geçerli birçok bireysel QSAR modeli tahmini) için kolay biyobozunurluk tahminlerinin kullanılmasına ilişkin tartışmalar sağlanabilir. Belirli bir BIOWIN modeline göre kolay ve kolay olmayan biyobozunurluk tahminleri arasındaki tahmin değeri kesme noktaları tabloda belirtilmiştir. Bu kesme noktaları, gösterilen QSAR modellerinin (OECD 2004: (ENV/JM/TG/2004)26Rev1) model tahminleriyle karşılaştırıldığında biyobozunurluk testi verileriyle ilgili olarak 177 yüksek üretim hacimli (HPV) kimyasalın karşılaştırmasında kullanılmıştır ancak aynı kesme noktaları geçmişte bir dizi doğrulama çalışmasında da kullanılmıştır (Tablo R.7.9-2).

Tablo R.7.9—2 Kolay Biyobozunurluk ve Kolay Olmayan Biyobozunurluk Arasındaki QSAR Kesme Noktaları

QSAR modeli	Olası kesme noktası	Referans:
BPP1 (BIOWIN1, doğrusal)	0.5	Howard ve ark. (1992); Boethling ve ark. (1994); ve TemaNord (1995)
BPP2 (BIOWIN2, doğrusal olmayan)		
BPP3 (BIOWIN3)	2.75	Boethling ve ark. (2004)
BPP5 (BIOWIN5, doğrusal)	0.5	Roije ve ark. (1999); Tunkel ve ark. (1999); ve Boethling ve ark. (2003)
BPP6 (BIOWIN6, doğrusal olmayan)		
DK BioDEG (Case Ultra, Leadscope, SciQSAR ve çoğunluğun oy tahmini)	evet/hayır	http://qsar.food.dtu.dk

Genel olarak, tek QSAR modeli tahminlerinin kullanılması, bu tahminlerin açıkça modelin uygulanabilirlik alanının içinde olduğu durumlarda tavsiye edilir. Durumun böyle olup olmadığını anlamak her zaman kolay olmayabilir. BIOWIN modelleri için yapısal alan, bireysel kimyasal maddeye ilişkin bir tahminin yalnızca model tarafından bilinen alt yapıya dayanıp dayanmadığının veya maddenin model tarafından bilinmeyen alt yapılar içerip içermediğinin denetlenmesiyle manuel olarak kontrol edilebilir. BIOWIN modellerinin, bilinmeyen alt yapıları içeren (yani model için madde eğitim setinde temsil edilmeyen) maddeler için yalnızca belirli BIOWIN modelinin bile her zaman tahminlerde bulunabileceği, ancak bu tahminlerin oldukça güvenilmez olabileceği belirtilmektedir. Bunun nedeni, BIOWIN modellerinin yalnızca maddenin moleküler kütlesiyle ilişkili olan bir biyobozunurluk olasılığını öngörmesidir (yani moleküler kütle (MM) ne kadar büyükse, olasılık puanına atanan değer o kadar düşüktür, yani moleküler kütle ne kadar büyükse, hızlı veya kolay biyobozunurluk olmaması için tahmin edilen olasılık o kadar yüksek olur).

Bu, tahminlerin BIOWIN modellerinin uygulanabilirlik alanında olup olmadığının kontrol edilmesinin özellikle önemli olabileceği anlamına gelir. Bunun aksine, Multicase, Case Ultra, Leadscope, SciQSAR ve CATALOGIC modellerinin tümü, bu modeller aracılığıyla yapılan bireysel tahminlerin modelin uygulanabilirlik alanının içinde olup olmadığının kontrol edilebilmesine ilişkin daha otomatik özellikler içerir (her modelin kendi uygulanabilirlik alanını tanımlayabilmesi için kendine özgü ayrı bir yolu olduğu unutulmamalıdır). Multicase ve Case-Ultra modellerine ilişkin program, istatistiksel olarak tanımlanmış kriterlerin kullanılmasıyla yapısal alanın önceden tanımlanması olasılığını içerir. Bununla birlikte, uygulanabilirlik alanının bu tür tanımlarının ne kadar sıkı olduğunun tanımlanmasına ilişkin farklı olasılıklar mevcuttur (daha fazla bilgi için DK QSAR tahmini veritabanının web sitesinde bulunan QSAR Model Raporlama Formatlarına bakınız.). CATALOGIC modellerinin uygulanabilirlik alanı, genel parametrik alt alan, yapısal alt alan ve mekanik alt alan dahil olmak üzere çok katmanlı bir kavrama dayanmaktadır (Dimitrov ve ark., 2005). CATALOGIC yazılımı, bir tahminin neden alanın içinde veya alanın dışında sınıflandırıldığına dair şeffaf bir yorum sağlar (Dimitrov ve ark., 2011). QMRF ve QPRF, CATALOGIC tahminlerine eşlik etmektedir.

Birkaç QSAR modelinden model tahminleri kullanılırken, örneğin bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında, her bir modelin güvenilirliğinin ve uygunluğunun değerlendirilmesi önemlidir. Dikkate alınması gereken bir başka husus, farklı modellerin eğitim setlerinin ne ölçüde örtüşüp örtüşmediğidir (daha fazla ayrıntı için BIOWIN 1, 2, 5 ve 6 model tahminlerine atıfta bulunan farklı *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımlarının örneklendiği ve tartışıldığı OECD, 2004 - ENV/JM/TG(2004)26Rev1'e bakınız). Bu bağlamda, çeşitli QSAR modelleri için eğitim setlerinin genellikle bir dereceye kadar veya önemli ölçüde çakıştığı dikkate alınmalıdır. Bununla birlikte, eğitim setleri aynı olsa bile, farklı modelleme yaklaşımlarının uygulanması bazı durumlarda farklı sonuçlar sağlayabilir (bu duruma ilişkin örnekler, Danimarka QSAR veritabanına dahil edilen Case Ultra, Leadscope ve SciQSAR tarafından yapılan tahminlerde mevcuttur). Bunun nedeni, farklı modelleme kavramlarının eğitim seti bilgilerinin nasıl bütünleştirildiğine bağlı olarak farklılık göstermesidir.

Kolay ve kolay olmayan biyobozunurluk arasındaki sınıra yakın sınır tahminleri dikkatle yorumlanmalıdır. Örneğin, biyobozunurluk olasılık puanı 0.4 ile 0.6 arasında olan BioWIN 1, 2, 5, 4 ve 6 modellerinin tahminlerinin kullanılmaması önerilmiştir (çünkü kolay ve kolay olmayan biyobozunurluk arasındaki kesme noktası 0.5'tir). Böyle bir strateji, öngörülebilirlik seviyesini artırmak için OECD 2004, ENV/JM/TG(2004)26Rev1'de yer alan SIDS veri seti üzerinde RIVM tarafından yapılan bir analizle desteklenmektedir (Roriye, 2005).

Abiyotik bozunmaya ilişkin nicel yapı aktivite ilişkileri

HYDROWIN modeli, sınırlı sayıdaki farklı madde sınıfı için sucul hidroliz hız sabitlerini tahmin eder: esterler, karbamatlar, epoksitler, halometanlar ve seçilmiş alkil halojenürler (ABD EPA 2004). SPARC modeli alternatif olarak hidroliz yarı ömürlerinin tahmin edilebilmesi amacıyla kullanılabilir.

EPISuite program paketi, dolaylı fotooksidasyonun tahmin edilmesine ilişkin bir model içerir. Microsoft Windows için Atmosferik Oksidasyon Programı (AOPWIN), fotokimyasal olarak üretilen hidroksil radikalleri ile atmosferdeki (12 saat gün ışığı olduğu varsayılır) organik maddeler arasındaki atmosferik ve gaz fazlı reaksiyona ilişkin hız sabitini tahmin eder. Ayrıca ozon ve olefinik/asetilenik bileşikler arasındaki gaz fazı reaksiyonu için hız sabitini tahmin eder. Bu program tarafından tahmin edilen hız sabitleri, ortalama atmosferik hidroksil radikallerinin ve ozonun konsantrasyonlarına bağlı olarak organik maddeler için atmosferik yarı ömürlerin hesaplanmasında kullanılabilir. Gaz fazındaki maddelerin atmosferik bozunmasına ilişkin yarı ömürlerin tahmini, bu maddelerin uzun süreli çevresel (öncelikle atmosferik) taşıma potansiyellerinin değerlendirilmesi hususunda faydalı olabilir.

CATALOGIC , abiyotik bozunmaya ilişkin 3 model içerir. Bu 3 modelle ilgili tahminlere uygulanabilirlik alanı, QMRF ve QPRF eşlik eder:

- CATALOGIC Abiotic 301C modeli, inokülümün bulunmadığı durumlarda MITI I (OECD Test Rehberi 301C) testi koşulları altında aerobik bozunmayı simüle eder. Model, 28. günde ana maddenin ve dönüşüm ürünlerinin miktarlarını (mol/mol ana kimyasal) tahmin eder. Abiyotik dönüşüm dizisi, yarı ömürler (birincil ve nihai) de tahmin edilmektedir. Modelin parametrelerle ifade edilebilmesi için 252 deneysel veriden oluşan bir eğitim seti kullanılmıştır.
- CATALOGIC Neutral hidroliz modeli [2], 20-35 °C arasındaki sıcaklıklar ve atmosferik basınç için nötr pH değerinde (6.5-7.4) ayrı organik maddelerin hidrolizini simüle eder.

Modelin parametrelerle ifade edilebilmesi için 1121 maddeye ilişkin kinetik veriler kullanılmıştır. Model, hidroliz ve hidroliz hız sabitinin (1/gün) bir sonucu olarak ana kimyasalın ve ürünlerin miktarlarını (mol/mol ana kimyasal) tahmin eder.

- CATALOGIC Acidic hidroliz modeli, ayrı organik maddelerin asidik ortamdaki (pH 2), 40 °C sıcaklıktaki ve atmosferik basınç altındaki hidrolizini simüle eder. Modelin parametrelerle ifade edilebilmesi için yaklaşık 500 maddeye ilişkin kinetik veriler kullanılmıştır. Model; hidroliz, asitle katalize edilmiş hidroliz hızı sabitleri ve yarı ömür sonucunda ana kimyasalın ve ürünlerin miktarlarını (mol/mol ana kimyasal) tahmin eder.

SAR değerlendirmesi

Nicel yapı aktivite ilişkilerinin yanı sıra, nitel bilgilere dayanan diğer Yapı-Aktivite İlişkilerinin (SAR) uygulanması da mümkündür.

Bir maddenin genel özellikleri/profilini, bozunma olasılıklarının ilk göstergesini sağlayabilir. Çok sayıda kimyasal madde tamamen kararlı değildir, ancak belirli reaktivite potansiyeline sahiptir. Madde, zamanla veya çevresel faktörlerin etkisiyle yapısal değişikliklere yol açan dönüşümlere uğrayabilir. Maddenin bozunma özelliğine ilişkin mevcut bilgiler toplanırken ve gözden geçirilirken, olası dönüşüm özelliklerine ilişkin bilgiler önemlidir.

Biyolojik süreçler bazı basit inorganik maddelerin dönüşümünü hızlandırır bile, bu maddeler biyotik olarak bozunamayabilir ve sonuç olarak inorganik maddelerin biyobozunurluğuna ilişkin testlerin gerçekleştirilmesi gerekmez. İnorganik maddeler ortamda ayrışabilir (suda çözünür tuzlar gibi) veya çevresel zararlılıkların veya risklerin karakterini veya büyüklüğünü değiştirebilecek başka dönüşüm reaksiyonlarına (atmosferik oksidasyon, foto-oksidasyon, hidroliz, yavaş biyometilasyon vb.) girebilir. Bu dönüşümler hızlı olabilir, bu da maddenin belirli koşullar altında dikkate değer bir kararsızlığını gösterir. Kararsız maddeler için, maddenin zararlılıklarının ve davranışının doğru bir şekilde tahmin edilebilmesi için kararsızlık karakterinin ve dönüşüm ile dönüşüm ürünlerinin (diğer maddelere) oranının açıklanması gerekir. Herhangi bir test verisinin mevcut olmadığı durumlarda, dönüşüm oranının (yani, belirli koşullarda dönüşüm hızının beklenen büyüklük sırasının) bir dereceye kadar açıklanması gerekir ($t_{1/2}$ = dakika, gün veya hafta). İlave olarak, temel konulardan biri, maddenin kararsız olduğu nitel ve zamansal koşulların tipik kullanım ve/veya emisyon senaryosu durumları için ne kadar ilgili olduğudur.

Organik maddeler, hızlı bir biyotik bozunmaya işaret eden veya tam tersine maddenin zor ayrışabilir olduğunu gösteren yapılar içerebilir. Örneğin, bazı organik maddeler çoğu zaman bozunabilirken (örneğin, yağ asitleri), diğer organik madde türleri genellikle zor ayrışır (örneğin, çok dallı alkil yapıları). OECD'deki (1993) diğer ayrıntılara bakınız.

Ek 11, Bölüm 1.5. KKDİK Yönetmeliği, çapraz okuma kavramını getirmektedir (ayrıca bkz. ECHA'nın çapraz okuma değerlendirme çerçevesi (RAAF)). Bu kavram, benzer maddelerin tanımlanmasına dayanmaktadır. Bir veya daha fazla referans maddeye ilişkin bilgiler, hedef maddeye yönelik tahminin yapılabilmesi için kullanılabilir. Bu eke göre, referans madde(ler) ile hedef madde arasındaki benzerlikler aşağıdakilere dayanabilir:

- (1) "ortak fonksiyonel grup;
- (2) Yapısal olarak benzer kimyasalların ortaya çıkmasına neden olan fiziksel ve biyolojik süreçler sonucunda ortaya ortak öncüllerin ve/veya ortak parçalanma ürünlerinin çıkması ihtimali veya
- (3) kategori içinde özelliklerin etkilerindeki değişimlerde sabit bir örüntünün bulunması"

Bu eke göre ayrıca, kabul edilebilirliğe ilişkin çapraz okuma yaklaşımından elde edilen sonuçlar:

- 'sınıflandırma ve etiketleme ve/veya risk değerlendirmesi için yeterli olmalıdır;
- Madde 14(3)'e göre işaret edilen ana parametreleri yeterli ve güvenilir düzeyde kapsamalıdır,
- maruz kalma süresinin uygun bir parametre olması halinde, Madde 14(3)'e göre eşit veya onarinkinden daha uzun maruz kalma süresine sahip olmalıdır ve
- uygulanan yöntemin dokümantasyonu yeterli ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirilmelidir."

Bu nedenle, yeterli kanıtın mevcut olması halinde çapraz okuma veya kategori yaklaşımları, bir maddenin bozunabilirliği de dahil olmak üzere çevresel davranışının ve hareket özelliklerinin değerlendirilebilmesi amacıyla dikkate alınabilir. Bu, örneğin Çok Yüksek Önem Arz Eden Maddelerin Aday Listesine dahil edilen çeşitli maddelerin PBT/vPvB değerlendirmesinde görülmüştür.³²

BG ve KGD Rehberi'nin R.6 Bölümü'nde (Nicel yapı aktivite ilişkileri ve kimyasalların gruplandırılması) daha fazla rehberlik mevcuttur.

Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin test verileri

Abiyotik bozunma Hidroliz

Sucul sistemlerdeki maddelerin abiyotik hidrolitik dönüşümü, pH fonksiyonu olarak hidroliz (OECD 111) isimli rehber yardımıyla normal olarak ortamda bulunan pH değerlerinde (pH 4-9) incelenebilir: Bu yöntem genel olarak yeterli doğruluğa ve hassasiyete sahip analitik bir yöntemin mevcut olduğu kimyasal maddelere (¹⁴C ile etiketlenmiş veya etiketlenmemiş) uygulanabilir. Test 3 farklı pH değerinde (pH 4, 7 ve 9) yapılır. Bir hidroliz testinin sonuçları şunları içerebilir (OECD, 2006b):

³² Örneğin UV-327, UV-350 ve PFNA Destek Belgelerindeki bozunma değerlendirmelerine bakınız:

<https://echa.europa.eu/candidate-list-table/-/dislist/details/0b0236e1808db547>

<https://echa.europa.eu/candidate-list-table/-/dislist/details/0b0236e1808db5e2>

<https://echa.europa.eu/candidate-list-table/-/dislist/details/0b0236e1808db499>

- Analitik yöntemlerin tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti;
- Geri kazanımlar;
- Çalışma sırasında ve çalışmanın sonunda kütle dengesi (14C etiketli test maddesi kullanıldığında);
- Yarı ömür veya DT 50.

Hidroliz reaksiyonlarının çoğu, birinci dereceden belirgin reaksiyon hızlarını takip eder ve bu nedenle yarı ömürler konsantrasyondan bağımsızdır. Bu, genel olarak yüksek konsantrasyonlarda belirlenen laboratuvar sonuçlarının çevresel açıdan gerçekçi düşük konsantrasyonlara uyarlanmasına izin verir. Hidroliz testi için özel raporlamaya ilişkin gereklilikler aşağıda açıklanmıştır.

Hidrolizin sıcaklık ile ilişkisi

Genel olarak, hidroliz reaksiyonları nispeten sıcaklığa hassastır. Hidroliz hızlarının yüksek sıcaklıktan düşük sıcaklığa (örneğin 25 °C'den 10 °C'ye) güvenilir bir şekilde uyarlanması dikkate değer belirsizlikler içerebilir (OECD, 2004; Lyman ve ark., 1990).

Hidroliz reaksiyonlarının sıcaklığa bağlılığı, reaksiyon hızının yalnızca birkaç sıcaklıkta test edilmesiyle güvenilir bir şekilde belirlenebilir. Hidrolize ilişkin OECD Test Rehberi 111, daha yüksek kademeli (kademe 2) hidroliz testlerinin minimum üç sıcaklık ve tercihen 25 °C'lik standart raporlama sıcaklığının altındaki en az bir sıcaklık ile gerçekleştirilmesi gerektiğini belirtir. Hidroliz reaksiyonlarının sıcaklığa bağlılığı, meydana gelen reaksiyonun içsel aktivasyon enerjisine yansır. Aktivasyon enerjisi ne kadar yüksekse, düşük sıcaklıktaki bağıl hidroliz hızı o kadar yavaş olur. Uygulamada, aktivasyon enerjisinin sıcaklığa bağlılığı her bir madde ve reaksiyon için özeldir ve standart raporlama test sıcaklığına (25 °C) kıyasla düşük sıcaklıktaki maddeler arasında değişken reaksiyon hızlarına yol açar.

Yüksek uyarlama belirsizlikleri, en uygun test sıcaklıklarının iyi bir şekilde seçilmesiyle önlenir. PBT/vPvB değerlendirmesine ilişkin 2. kademedeki test amaçları için 12 °C'lik test sıcaklığı gereklidir³³.

Bununla birlikte, hidroliz sıcaklığının düzeltilmesine ilişkin kaba bir tahmin, aşağıdaki denklem kullanılarak yapılabilir: $t_{1/2}(X^{\circ}C) = t_{1/2} e^{(0.08(T - X))}$. Bu denklem, tüm hidrolitik reaksiyonlar ve tüm maddeler için "sabit" bir aktivasyon enerjisi (yaklaşık 54 kJ/mol) kullanır. Bu denklem, sıcaklıktaki 5 °C'lik değişim başına hidroliz hızında sabit 1.5 kat değişiklik ile sonuçlanır.

Hidroliz testi koşullarında yapılan değişiklikler

Tarama seviyesinde, standart test yöntemleri uygulanarak test sonuçlarına öncelik verilmelidir. Bununla birlikte, testle ilgili zorlukların üstesinden gelebilmek için standart yöntemlerde oldukça sık değişiklik yapılması gerekir, ancak temel olarak bu test değişikliklerinin gözlemlenen bozunma hızları üzerinde etkisi olmamalıdır. Örneğin, oldukça değiştirilmiş test sistemlerinde yüzey kontrollü reaksiyonlar, yığın çözelti hidrolizine göre baskın olabilir (sucul ortamdan ziyade toprağı yansıtır).

³³ Lütfen 12 °C'nin mevcut durumda yetkililer tarafından Avrupa yüzey sularının ortalama sıcaklığı olarak kabul edildiğini ve ECHA Üye Ülkeler Komitesi tarafından bozunmaya ilişkin yeni simülasyon testleri için test sıcaklığı olarak kullanılması gerektiğini unutmayınız.

Oldukça değiştirilmiş sistemler, homojen çözeltiler kullanılarak standart rehberlerden elde edilecek olan hızlara kıyasla farklı bozunma hızlarına neden olabilir.

Tipik olarak çok seyreltik çözeltiler ve nispeten düşük bir sıcaklık, yaygın çevre koşullarıdır. Test sıcaklığı ve test maddesi konsantrasyonu gibi test koşullarının test sonuçlarının üzerinde, çevresel koşullara güvenilir bir uyarılmanın yapılmasını sağlayacak kadar etkiye sahip olup olmadığına ilişkin bir yorumun yapılabilmesi hususunda dikkat edilmelidir.

Abiyotik dönüşümün çevresel koşullarda tersinir olması muhtemelse, deneysel bir çalışmada gözlemlenen dönüşümün ilgi düzeyi, sonuçların kalıcılık değerlendirmesi için kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır.

Örneğin, reaksiyon mekanizmalarının test konsantrasyonları, pH, test ortamı kimyası ve sıcaklıktan büyük ölçüde etkilenebilmesi sebebiyle yüksek sıcaklıktan ve test maddeleri ile tamponun yüksek konsantrasyonlarından kaçınılmalıdır. Çözünmüş organik karbon ve yüzeye tutunma süreçleri de hidroliz hızlarını etkileyebilir.

Işıkla dönüşüm

Işıkla dönüşüm, KKDİK'in standart bir bilgi gerekliliği değildir. Bununla birlikte, güneş ışığının yüzey suyundaki maddelerin davranışı üzerindeki potansiyel etkileri, OECD Rehberi 316 Sudaki Kimyasalların Işıkla Dönüşümü - Doğrudan Fotoliz (OECD, 2008) ile toprak ve yüzey suyu için sırasıyla Sudaki Kimyasalların Işıkla Dönüşümü - Doğrudan ve Dolaylı Fotoliz (taslak, Ağustos 2000) ve Toprak Yüzeylerindeki Kimyasalların Işıkla Dönüşümü (taslak, Ocak 2002) taslak rehberleri kullanılarak incelenebilir. Daha fazla rehberlik için başka rehberler mevcuttur (örneğin, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik Rehber, Taslak Doküman, "Kimyasalların Toprak Yüzeylerinde Işıkla Dönüşümü"; Ocak , OECD, 2002; Dolaylı Fotoliz Tarama testleri (OPPTS 835.5270) s. 24, ABD EPA, 1998; veya Güneş Işığıyla Suda Doğrudan Fotoliz Oranı (OPPTS 835. 2210), ABD EPA, 1998).

İki tür ışıkla dönüşüm belirlenir. Doğrudan ışıkla dönüşümde, reaksiyona giren madde ışığı doğrudan emer. Dolaylı ışıkla dönüşümde, başka bir madde ışığı emer ve fazla enerjiyi bu alıcı maddenin reaksiyona girmesine neden olan başka bir alıcı maddeye aktarır.

Doğal su kütlelerindeki maddelerin doğrudan ve dolaylı ışıkla dönüşümü, aşağıdakiler gibi bir dizi faktöre bağlı olan karmaşık bir süreçtir:

- maddenin kimyasal yapısı ve elektronik emilim spektrumu;
- kromoforik çözülmüş organik maddenin konsantrasyonu, bileşimi ve emilim spektrumları (ışığa hassaslaştırıcıların ve tekli oksijenin ortaya çıktığı CDOM);
- nitrat konsantrasyonu (hidroksil radikallerinin birincil kaynağı); ve
- maddenin, CDOM ve nitratın maruz kaldığı güneş foton akısı spektrumu.

Bozunma yarı ömürleri veya DT₅₀, DT₇₅ ve DT₉₀ değerlerine ilişkin herhangi bir veri, bu verilerle ilişkili hesaplamalar ve varsa dış ortam deneylerinin sonuçlarıyla birlikte rapor edilmelidir.

Mümkün olduğu yerlerde, dönüşüm ürünleri hakkında bilgi de sağlanmalıdır (OECD, 2006b).

Test raporunda gerekli olan bilgi seviyesi, çalışmanın karmaşıklığına ve amacına bağlıdır. Sonuç olarak OECD, suda doğrudan ve dolaylı fotoliz için bir dizi kademe belirlemiştir (ayrıntılar için ilgili rehberlere bakınız, OECD, 2006b).

Işıklı dönüşüm verileri, havadaki doğrudan fotolizin değerlendirilmesi için kullanılabilir. Su derinliği, askıda madde ve enlem gibi faktörler göz önünde bulundurulduğunda sudaki fotolizin değerlendirilmesi için de kullanılabilir.

Castro-Jiménez ve van de Meent'e (2011) göre doğal sudaki ışık emilimi, tipik tatlı su için yaklaşık 30 kat daha yavaş, tipik kıyı deniz suyu için 400 kat daha yavaş ve okyanus suyu için 500 kat daha yavaş meydana gelen doğrudan ışıkla bozunum ile laboratuvar suyunda ölçülenden önemli ölçüde daha yavaştır. Ayrıca sudaki ışıkla dönüşümün genel bozunmaya katkısının yalnızca suda önemli ölçüde bulunan maddeler için önemli olduğu sonucuna varmışlardır. Birçok maddenin sudan ziyade çökeltide ve toprakta bulunduğunu vurgulamışlardır. Örnek olarak, "suda fotokimyasal olarak kararsız", ancak ortamda sadece yavaş bir şekilde ışıkla dönüşüme uğrayan bromofenil eterlerini verirler. Ancak yazarlar, dolaylı ışıkla dönüşümü araştırmamışlardır ve dolaylı ışıkla dönüşümün daha az anlaşıldığını ancak doğrudan ışıkla dönüşümün daha önemli olabileceğini kabul etmişlerdir. Doğrudan ışıkla dönüşümün aksine dolaylı ışıkla dönüşüm, Çözünmüş Organik Maddenin (saf laboratuvar suyunda bulunmayan) varlığında doğal çevre sularında uyarılır.

Biyobozunum

Kolay biyobozunurluk

Kolay biyobozunurluk testleri, pozitif sonuçların kesin olabilmesi için tasarlanmalıdır. Kolay biyobozunurluk testinin olumlu bir sonuç sağladığı durumlarda, çoğu çevresel koşul altında maddenin hızlı ve nihai biyobozunurluğa uğrayacağı varsayılabilir. Bu gibi durumlarda, normalde maddenin biyobozunurluğunun veya dönüşüm ürünlerinin olası çevresel etkilerinin daha fazla araştırılmasına gerek yoktur. Bununla birlikte, maddenin kolay biyobozunur olduğunun bulunması gerçeği, özellikle risk oranını önemli ölçüde etkilediğinde, bu oranın 1'in üzerinde olduğu ve alıcı ortama yüksek akışın olduğu durumlarda biyobozunurluk hızı sabitlerine ve dönüşüm ürünlerine ilişkin daha fazla bilgi için olası bir ihtiyacı ortadan kaldırmaz. Kolay biyobozunurluk testlerinin zorlu test koşulları nedeniyle bazen başarısız olduğu durumlarda, pozitif test sonuçları genel olarak negatif test sonuçlarının yerini almalıdır. Ancak, çelişkili test sonuçları rapor edildiğinde, test koşulları ve tasarımdaki olası farklılıklar araştırılmalıdır. Sonuçlardaki farklılıkları açıklayabilen şekilde inokülüm alıştırmasında herhangi bir değişikliğin olup olmadığının doğrulanabilmesi için inokülüm kaynağı incelenmelidir. Alıştırılan inokülüme dayanan testlerden elde edilen sonuçlar genellikle değerlendirme için uygun değildir. Bir inokülümün maddeye adapte edilebilmesi amacıyla özel düzenlemelerin yapıldığı durumlarda değil, aynı zamanda kullanılan inokülümün daha önce maddeye veya yapısal olarak benzer maddelere (örneğin endüstriyel bir AAT'de, kontamine bir bölgede veya maddenin kullanıldığı sahalardan salımın gerçekleştiği belediye atık su arıtma tesislerinde (AAT'ler)) önceden maruz bırakıldığı durumlarda da alıştırıldığı kabul edilir. Yaygın olarak kullanılan ve sürekli atık su arıtma tesislerine yayılan maddeler için, bu maddelerin tüketici ürünlerinde bulunmaları halinde bozunduruca mikroorganizmaların önceden maruz kalımından kaçınılamayacağı kabul edilir.

Bu durumda, ön maruz kalma seviyesinin düşük kalması koşuluyla, bu tür inokülünlerin kullanımı kabul edilebilir. Bununla birlikte, noktasal kaynaklardan etkilenen atık su arıtma tesislerinden elde edilmiş inokülünler (örneğin, maddenin kullanıldığı bir endüstriyel sahadan çıkan suyun belediyenin atık su arıtma tesisine bağlandığı durumlarda) kullanılmamalıdır.

Kolay biyobozunurluğa ilişkin farklı test yöntemlerinin kullanılması sonucunda çelişkili sonuçların elde edildiği durumlarda, aşağıdakilerin dikkate alınması da önemlidir.

- Test maddesi konsantrasyonu:
 - OECD 301 testlerinin bazıları için kullanılan çok yüksek konsantrasyonlar (100 mg/L), suda çözünürlüğü düşük olan test maddeleri için inhibisyon veya kütle transferi sorunları olasılığını artırır.
 - Kapalı şişe testi için kullanılan çok düşük konsantrasyonlar (2-5 mg/L), böyle bir testte zayıf sinyal/gürültü (teorik ve temel) oranı göz önünde bulundurulduğunda bazı durumlarda bozunmanın olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilir.
- İnokülüm:
 - MITI testinde (OECD 301C) olduğu gibi inokülümün ön muamelesi, mikropların çeşitliliğini ve biyobozunurluk kapasitesini ciddi şekilde düşürebilir (Forney ve ark., 2001; Kayashima ve ark., 2014).

Farklı sonuçlar her zaman test koşulları, madde özellikleri ve verilerin güvenilirliği dikkate alınarak değerlendirilmelidir. İyi veri güvenilirliği, uygulanan test yöntemine, çalışmanın istatistiksel sağlamlığına ve raporlanmasına bağlıdır ve bu da tekrar sayısı veya kontrol sayısı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

İnokülümden numunenin alındığı atık su arıtma tesisinin işletim koşullarına ilişkin bilgiler (örneğin, kütle yükleme oranı, çamur tutma süresi) ile DOC, biyokütle büyümesi ve/veya karbon dengesi gibi ek parametrelerin ölçülmesi, sonuçların yorumlanmasını kolaylaştıracaktır.

Kolay biyobozunurluk testinden elde edilen olumsuz bir sonuç, maddenin mutlaka çevrede kalacağı ve ilgili çevresel koşullar altında bozunmayacağı anlamına gelmez. Kolay biyobozunurluk testi yalnızca bir tarama testidir ve bu testin maddenin kolay biyobozunur olduğunu göstermediği durumlarda, daha az sıkı test koşulları altında daha ileri testler bir sonraki seviyede düşünülmelidir.

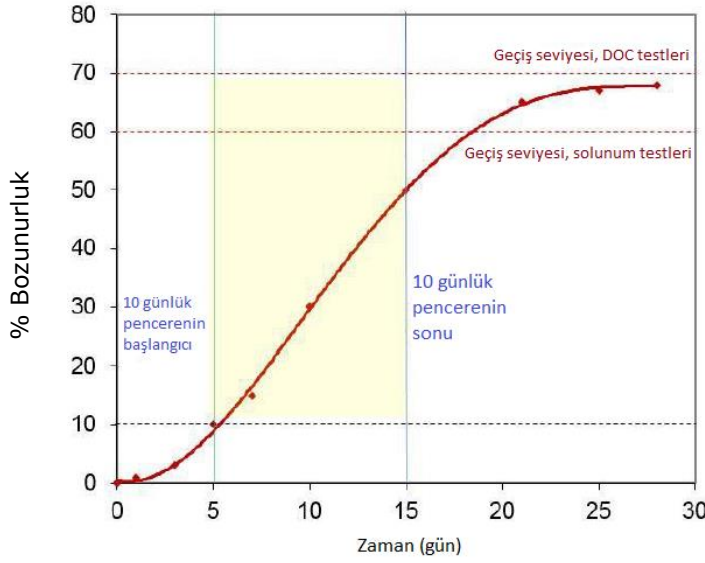
Organik maddelerin kolay biyobozunurluğunun belirlenebilmesi için kullanılacak OECD test rehberleri, OECD 301 serisinde ve OECD 310'da açıklanan altı test yöntemini içerir. 28 gün içinde elde edilen biyobozunurluğa ilişkin aşağıdaki geçiş seviyeleri, kolay biyobozunurluk kanıtı olarak kabul edilebilir: %70 DOC giderme (Test Rehberi 301 A ve Test Rehberi 301 E); % 60 teorik karbon dioksit (ThCO₂; Test Rehberi 301 B); % 60 teorik oksijen ihtiyacı (ThOD; Test Rehberi 301 C, Test Rehberi 301 D ve Test Rehberi 301 F).

Kolay biyobozunurluğa ilişkin yukarıda bahsedilen geçiş seviyeleri, DOC tükenmesi, oksijen kullanımı veya CO₂ üretimi için ölçülen toplam parametreler ile ilgilidir ve toplam bozunmayı ifade eder (test maddesindeki organik karbonun %30-40'ının büyüme için mikrobiyal biyokütle tarafından asimile edildiği ya da biyosentez ürünleri olarak mevcut olduğu varsayılır).

Bu varsayımların, mikroplar için tipik olarak önemli ölçüde büyümelerine izin veren ve hem karbon hem de enerji kaynağı sağlayan test maddesinin çok yüksek konsantrasyonları ile gerçekleştirilen kolay biyobozunurluk testlerine dayandığı belirtilmelidir. Bununla birlikte, genel olarak ortamdaki madde konsantrasyonu kolay biyobozunurluk testlerinde kullanılan konsantrasyonlardan çok daha düşük olacaktır ve diğer daha kolay bozunur bileşikler, tercih edilen maddeye göre mikroorganizmalar tarafından birincil karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilir. Bu nedenle, kolay biyobozunurluk testinin koşulları altında bozunabilen bir madde, mikroorganizmaların tercihen daha hızlı büyüebildikleri bileşikleri metabolize edebilmesi sebebiyle çevresel koşullar altında gerçekten bozunmayabilir. Bu madde karbon ve enerji kaynağı olarak daha kolay bozunabilen diğer substratlar tüketildikten sonra kullanılacaktır, bu durum diauxie olarak bilinir. Ayrıca tam tersi bir durum da mümkündür: Biyobozunurluk testi koşulları altında bozunmayan maddeler, ortak metabolizma olarak bilinen bir durum aracılığıyla başka bir karbon kaynağı varlığında bozunabilir. Madde, aynı anda başka bir substrat ile birincil karbon ve enerji kaynağı olarak hizmet eden birincil substrata indirgenmiş büyümeyen bir substrattır.

Kolay biyobozunurluk için bu geçiş seviyelerine, testin 28 günlük süresi içinde 10 günlük bir pencerede ulaşılması gerekir. 10 günlük zaman aralığı, Test Rehberi 301 C için veya test maddesinin homolog bileşenlerden oluşan bir bileşimden elde edildiği durumlarda geçerli değildir. 10 günlük pencere, biyobozunurluk derecesi % 10 DOC giderimine, ThOD'ye veya ThCO₂'ye ulaştığında başlar ve testin 28. gününde veya daha öncesinde sonlandırılmalıdır (bakınız Şekil R.7.9-1).

OECD "Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik Rehber, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberlerine Gözden Geçirilmiş Giriş, Bölüm 3, Başlık I: Organik Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin İlkeler ve Stratejiler" (OECD, 2006b) kolay biyobozunurluk testlerinin saf maddeler için tasarlandığını ve genel olarak UVCB gibi farklı türdeki bileşenleri içeren karmaşık bileşimler için geçerli olmadığını belirtir. Bir UVCB maddesi için, gözlemlenen biyobozunurluk aslında sadece bazı bileşenlerin biyobozunurluğunu temsil edebilir. Bu OECD belgesi, *"yapısal olarak benzer kimyasalların karışımlarının kolay biyobozunurluğunun incelenmesinin bazı durumlarda ilgili olduğunu"* belirtir. Yine de *"böyle bir karmaşık karışımın üzerinde gerçekleştirilen biyobozunurluk testinin karışımın biyobozunurluğu (yani tüm bileşenlerin bozunabilirliği ile ilgili) hakkında değerli bilgiler sağlayıp sağlayamayacağına veya bunun yerine karışımın dikkatli bir şekilde seçilmiş bileşenlerinin bozunurluğunun incelenip incelenmemesi gerektiğine ilişkin duruma göre bir değerlendirme yapılmalıdır"*. Bu OECD belgesi, 10 günlük aralığın yalnızca testin yapısal olarak benzer bileşenlerin bir karışımı üzerinde yapılması gerektiğini ve bireysel bileşenlerin ardışık bir biyobozunurluğunun gerçekleşmesinin beklendiği durumlarda uygulanmasına gerek olmadığını belirtir.



Şekil R.7.9-1 Kolay biyobozunurluk için geçiş seviyeleri

CO₂ Gelişim Testi'nin (OECD 301 B) alternatifini temsil eden başka bir kolay biyobozunurluk testi, Headspace Testi'dir (Kolay Biyobozunurluk - kapalı kaplarda CO₂; OECD 310). Bu test özellikle uçucu bileşikler için uygundur. Bu testte, test maddesinin nihai aerobik biyobozunurluğundan kaynaklanan CO₂ oluşumu, kapalı test şişelerinde üretilen inorganik karbonun (IC) ölçülmesiyle belirlenir ve geçiş seviyesi teorik maksimum inorganik karbon üretiminin %60'ı olarak tanımlanmıştır (ThIC).

Kolay biyobozunurluk testleri genellikle 28 gün sürer. Bununla birlikte, biyobozunurluk testleri 28 günden önce, yani en az üç tayini içeren biyobozunurluk eğrisi bir platoya ulaşır ulaşmaz sonlandırılabilir. Alternatif olarak, eğrinin biyobozunmanın başladığını ancak 28. günde platoya ulaşmadığını gösterdiği durumlarda 28 günden fazla sürebilir (OECD, 1992). Maddelerin 28 günlük kolay biyobozunurluk testi süresi içinde kolay biyobozunurluk için geçme seviyesine ulaşamadığı durumlarda, maddelerin kolay biyobozunur olmadığı kabul edilir (OECD, 1992).

Kütle transferinin veya madde bulunabilirliğinin sınırlı olduğu maddeler (örneğin, suda az çözünür maddeler) bu kategoriye girer. Yeni testler, OECD İyi Laboratuvar Uygulamaları ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir ve test raporu ile sağlam çalışma özeti, geçerlilik kriterlerinin nasıl karşılandığına ilişkin bilgileri ve *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.7c'nin Başlık R.7.9.9'unda tanımlanan bilgileri içermelidir.

Kolay biyobozunurluk testlerine getirilen çeşitli kriterler (düşük test hacimleri, inokülüm miktarının ve kalitesinin dikkate alınmaması, inokülümün hazırlanmasına ilişkin sıkı protokol (Goodhead ve ark., 2014), testin gerçekçi olmayan koşulları)) nedeniyle aynı maddeye ilişkin sonuçlarda yüksek seviyede farklılıklar olabilir.

Deniz Suyunda Biyobozunurluk

Deniz Suyunda Biyobozunurluk hakkındaki OECD Test Rehberi 306 serisi, Kapalı Şişe Testinin (OECD 301 D) ve Değiştirilmiş OECD Tarama Testinin (OECD 301 E) deniz suyu varyantlarını içerir.

Deniz suyundaki maddelerin bozunurluğunun, genellikle aktif çamur veya atık su çıkış suyu ile inoküle edilen tatlı su testlerindeki bozunurluklarından daha yavaş olduğu bulunmuştur. Bu aynı zamanda CEFIC LRI ECO11 projesinde yürütülen araştırma programında da doğrulanmıştır; burada bakteri çeşitliliğinin hem büyüklüğü hem de varyasyonu, farklı çevresel kaynaklar için aşağıdaki sırayla daha yüksek olmuştur: aktif çamur > nehirler > nehir ağızları > deniz suyu.

OECD test rehberi 306, bu testlerin (çalkalama şişesi ve kapalı şişe) sonuçlarının "kolay biyobozunurluğun göstergesi olarak alınmaması gerektiğini, ancak özellikle deniz ortamlarındaki kimyasalların kolay biyobozunurluğuna ilişkin bilgilerin elde edilebilmesi için kullanılacağını" açıkça belirtir. bu testler "*Deniz suyunda mevcut olan mikroorganizmalara inokülümün ilave edilmemesi sebebiyle, kolay biyobozunurluk testleri değildir.*

Besinlerin eklenmesi ve test maddesinin konsantrasyonunun denizde bulunduğu durumdaki konsantrasyonundan çok daha yüksek olması sebebiyle testler deniz ortamını da simüle etmez."

Bununla birlikte, deniz suyundaki biyobozunurluğun genellikle daha yavaş olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle, Deniz Suyunda Biyobozunurluk testinde (OECD 306) 28 gün (Kapalı Şişe Yöntemi) veya 60 gün (Şişe Çalkalama Yöntemi) sonra elde edilen > % 60 ThOD veya > % 70 DOC giderimi, deniz ortamındaki nihai biyobozunurluk potansiyelinin göstergesidir ve aynı zamanda maddenin kolay biyobozunurluk kriterlerini karşılama ihtimalinin yüksek olduğuna dair bir kanıt olarak da kabul edilebilir. Örneğin, pozitif bir OECD 306 testi, sınıflandırma ve etiketleme için hızlı bozunmanın bir göstergesi olarak kabul edilir.

>% 20 ThOD veya DOC gideriminin bir sonucu, deniz ortamındaki birincil biyobozunurluk potansiyelinin bir göstergesidir.

Değiştirilmiş Kolay Biyobozunurluk Testleri

Standart kolay biyobozunurluk ve deniz suyunda biyobozunurluk testlerine ilişkin iki değişiklik aşağıda tanımlanmıştır. Bunlar, düşük test maddesi konsantrasyonlarında biyobozunurluk testini ve suda çözünürlüğü zayıf olan maddelerin biyobozunurluğunun değerlendirilmesini dikkate alır.

Kolay Biyobozunurluk Testlerindeki diğer tüm şartların yerine getirilmesi koşuluyla, bu testler Kolay Biyobozunurluk Testleri olarak kabul edilir ve sonuçlar zararlılık sınıflandırması için doğrudan kullanılabilir.

İnokülüm toksisitesi nedeniyle düşük test maddesi konsantrasyonlarında test etme

Normalde kolay biyobozunurluk testinin birçoğunda kullanılan test maddesi konsantrasyonunda mikrobiyal inokülümüne toksisite gösterdiği bilinen veya beklenen maddeler için (örneğin, Kapalı Şişe Testi (OECD 301 D) seçilerek) daha düşük bir test maddesi konsantrasyonu kullanılmalıdır. Test maddesinin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisi, çeşitli mikrobiyal toksisite testlerinden biri (aktif çamur solunum inhibisyonu testi (OECD 209)) kullanılarak belirlenebilir. Mümkün olduğunda, test rehberinde/yönteminde genel olarak önerilenden daha düşük bir test maddesi konsantrasyonu; karbondioksit oluşumu, oksijen ihtiyacı veya çözünmüş organik karbon giderimi ölçümleri yoluyla biyobozunurluk değerlendirmesinin güvenilir bir şekilde belirlenmesine izin vermelidir. Kolay biyobozunurluk testlerinde toksisitenin azaltılması, test süresi boyunca test maddesinin 'yavaş salımına' izin veren taşıyıcıların eklenmesiyle de sağlanabilir.

Çalışmaların düşük konsantrasyonlarda yürütülmesi, test maddesinin radyo-etiketli olduğu durumlarda mümkün olabilir. Bunun mümkün olmadığı durumlarda, test maddesinin birincil biyobozunurluğu özel bir kimyasal analiz kullanılarak ölçülmelidir.

Birincil bozunmanın ölçülmesi halinde, herhangi bir temel bozunma ürününün belirlenebilmesi için bir girişimde bulunulmalıdır.

Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin kolay biyobozunurluğunun değerlendirilmesi

Yukarıda listelenen ve OECD tarafından benimsenen standart hale getirilmiş kolay biyobozunurluğa ilişkin test yöntemleri, başlangıçta uçucu ve emici olmamaları koşuluyla, suda en az 100 mg/L'ye kadar çözünür olan test maddelerinin biyobozunurluğunun değerlendirilebilmesi için geliştirilmiştir. OECD, kolay biyobozunurluk testi rehberlerinin yalnızca bir alt kümesinin suda zayıf bir şekilde çözünen, uçucu veya emici maddeler için uygulanabilir olduğu sonucuna varmıştır (Ek R.7.9-1).

Suda çözünürlüğü düşük olan veya soğurucu maddeler için bu testler OECD 301B, 301C, 301D ve 301F test serileri ile OECD 310 testidir. Uçucu maddeler için bu testler OECD 301C, 301D ve 301F test serileri ile OECD 310 testidir.

DOC analizini kullanan testler, başka bir parametreye ilave olarak ölçülmediği sürece suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyobozunurluğunun değerlendirilmesi için kullanılamaz. Test maddesinin birincil bozunmasının değerlendirilebilmesi ve oluşan herhangi bir ara maddenin konsantrasyonunun belirlenebilmesi için özel kimyasal analiz de kullanılabilir. MITI yönteminde özel kimyasal analiz zorunludur (OECD 301C; OECD, 1992).

Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyoyararlanımının iyileştirilebilmesi için çeşitli deneysel yöntemler OECD Test Rehberi 301, Ek 3'te önerilmiştir. Silika jel matrislerinin kullanımı genel olarak tercih edilen bir seçenek olarak görülmektedir. Katı taşıyıcılar, katı test maddeleri için önerilmez ancak yağlı maddeler için uygun olabilirler. Test maddesinin kararlı bir dağılımını veren emülgatörler veya çözücüler kullanılabilir, ancak bunların bakteriler için toksik olmadığı ve test koşulları altında biyobozunur olmaması veya köpürmeye neden olmaması gerektiği doğrulanmalıdır. Bu nedenle, çözücülerin veya emülgatörlerin kullanıldığı durumlarda, özellikleri önceden dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir ve ilave bir kontrol gereklidir. Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyobozunurluğunun belirlenmesine yönelik diğer stratejiler Ek R.7.9-3'te ve ayrıca ECETOC (2013) ve OECD'de (2000b) açıklanmaktadır.

Biyobozunurluğa İlişkin Geliştirilmiş Tarama Testleri

Bir maddenin kolay biyobozunurluk için geçme seviyesine ulaşamadığı durumlarda, diğer tarama testlerinden (geliştirilmiş kolay biyobozunurluk testleri veya kendiliğinden biyobozunurluk testleri) elde edilen sonuçlar ve ilave testler, bir maddenin kalıcı olmadığını gösterilmesi hususunda yararlı olabilir. Bazı durumlarda (örneğin, maddenin zayıf bir şekilde çözüldüğü durumlarda), doğrudan gelişmiş bir test tasarımına gitmek haklı görülebilir. Bir maddenin kalıcı olmadığını kanıtlanabilmesi için standart biyobozunurluk testlerinin güçlendirilmesine veya değiştirilmesine ilişkin farklı yöntemler mevcuttur.

Kolay biyobozunurluk testinde bir dizi potansiyel iyileştirme tanımlanmıştır. Bu geliştirmeler yalnızca vPvB/PBT değerlendirmesinde kalıcılığın belirlenebilmesi amacıyla önerilmiştir, ancak Sınıflandırma ve Etiketleme ile nicel maruz kalma ve risk değerlendirmesi için kullanılmamalıdır.

Bu geliştirmeler, yalnızca simülasyon seviyesi testi için acil bir gerekliliğin olmadığı kalıcılık değerlendirmesine ilişkin biyobozunurluk değerlendirmelerinin çevresel uygunluğunun iyileştirilmesine yardımcı olabilmek amacıyla tasarlanmıştır.

Aşağıda açıklanan potansiyel geliştirmelerle ilgili ayrıntılar tartışılmıştır (Gartiser ve ark., 2016a, 2016b; Koalczyk ve ark., 2014; ECETOC, 2013) ve bu geliştirmeler kalıcılığın değerlendirilebilmesi için yeterli sonuçların elde edilmesine izin vermelidir. Ancak, uygun uluslararası standart kurumlar aracılığıyla halka testinden yararlanılabilir. Biyobozunurluğa ilişkin geliştirilmiş bu tarama testlerinde bozulan test maddeleri, (bir standartta, yani geliştirmelerin olmadığı bir kolay biyobozunurluk testinde gösterilmediği sürece) kolay biyobozunur olarak kabul edilmemelidir.

MITI I testi (OECD 301C) haricinde, mevcut kolay biyobozunurluk testleri için inokülüm, test maddesine önemli ölçüde önceden maruz bırakılmadığı sürece bir dizi kaynaktan (yani, endüstriyel kimyasallara maruz kalmayan bir sahadan) elde edilebilir. Mevcut kolay biyobozunurluk testi yaklaşımı, genel olarak belediye atık su arıtma tesislerine sürekli salınan maddelere önceden maruz bırakılmış belediye atık su arıtma tesislerinden elde edilen inokülümün kullanımını içerir.

Kentsel AAT'lerden elde edilen inokülüm de gelişmiş testlerde kullanılabilir.

Hem kolay biyobozunurluk testlerine hem de simülasyon bozunma testlerine ilişkin biyobozunurluk, bir veya daha fazla yetkin mikroorganizmanın test şişesine ilave edilmesine ve bu mikroorganizmaların aşağıdaki test koşulları altında kendilerini tanımlayabilmelerine (ve bir kolay biyobozunurluk testinde önemli ölçüde büyümelerine) bağlıdır. Birçok madde için, tekrar şişelerinin kullanımı yüksek seviyede değişkenliğe yol açabilir ve aynı madde için yapılan birkaç çalışma farklı sonuçlar verebilir. Bu sonuçların değişkenliği (genel deneyime bağlı olarak) büyük ölçüde sıfıncı günde test şişesine ilave edilen mikrobiyal inokülümün bileşimindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Bu nedenle, inokülümün adaptasyonunu mikroplar tarafından indüklenmediği sürece test sisteminde ilgili bir mikrobiyal çeşitliliği temsil edebilen ve geliştirilmiş kolay biyobozunurluk testini kullanan bir test stratejisi garanti edilmektedir. Geliştirilmiş biyobozunurluk tarama testlerinin kullanılma amacının, kalıcılık değerlendirmesi (yani PBT ve vPvB değerlendirmesi; *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'e bakınız) için düşünülebilecek bir bozunma potansiyelinin doğrulanabilmesi olduğu unutulmamalıdır. Ancak bu testler, kolay biyobozunurluğa ilişkin bilgi sağlamaz. Bu geliştirmelerin amacı, az çözünür ve/veya emici maddelerin bozucu mikroorganizmalardaki düşük biyoyararlanımı dengelemek olmalıdır, ancak inokülüm maddesinin ilave alıştırmasının indüklenmesi için kullanılmamalıdır.

Geliştirilmiş biyobozunurluk tarama testlerindeki test yaklaşımları şunları içerebilir:

- Test süresi - "Kolay biyobozunurluk testleri" ve "suda az çözünen maddelerin biyobozunurluk değerlendirmeleri" hakkında yukarıdaki paragraflarda açıklanan deneysel uyarlamaların, genel olarak düşük biyoyararlanıma sahip maddelerin incelenmesi için tercih edildiği kabul edilir. Bununla birlikte, test süresinin uzatılması (örneğin düzenli bir kolay biyobozunurluk testi sırasında bozunmanın gözlemlendiği, ancak 28 gün içinde platoya ulaşamadığı durumlarda) bazen başka bir olası seçenek oluşturabilir. Suda çözünürlüğü düşük olan bir madde için, maddenin zayıf biyoyararlanımı bozunma hızını sınırlayabilir. Bu nedenle, test süresinin uzatılması mikroorganizmalara maddeye erişmeleri ve maddeyi bozmaları için daha fazla zaman verebilir. Test süresinin uzatılması yalnızca başlangıçta yavaş fakat kararlı bir biyobozunurluğun gözlemlendiği kolay biyobozunurluk testinin sonunda, yani 28 gün sonra bir platoya ulaşamadığı durumlarda dikkate alınmalıdır.

- Bununla birlikte, biyobozunurluktaki geç hızlanmanın mikroorganizmaların bir adaptasyonunu yansıtmaması muhtemeldir ve bu durumda test süresinin uzatılması P/vP değerlendirmesi için yeterli görülmemelidir. Ayrıca, test sisteminin test süresi uzadıkça bozunma olasılığı giderek artacağından, testin her durumda 60 gün içinde sonlandırılması gerekir. Test sonuçlarının yorumlanabilmesi için BG ve KGD Rehberi'nin R.7.9.5 Bölümü ile R.11 Bölümü'ne bakınız.
- Testin daha büyük test kaplarında gerçekleştirilmesi - hızlı ve küçük ölçekli kimyasal değerlendirmelere izin veren testlerin yürütülme isteği, biyobozunurluk değerlendirmeleri için yararlı değildir. Çok küçük test hacimlerinde, test şişesine eklenen farklı mikroorganizmaların toplam sayısı azalır. Biyobozunurluk testlerinin daha büyük hacimlerde çevresel sular kullanılarak gerçekleştirilmesi, teste katılan mikroorganizmaların toplam sayısını ve belirtilen mikroorganizmaların yoğunluğunu değiştirmeden farklı türlerin sayısını artırır (Ingerslev ve ark., 2001). Bu, yetkin bir mikroorganizmanın test kabına dahil edilme olasılığını artıracaktır.

Aşağıdaki test yaklaşımları, düzenleme açısından kabul edilebilir sayılmamaktadır:

- Biyokütle konsantrasyonunun artırılması - Kolay Biyobozunurluk Testlerinde sağlanan inokülüm konsantrasyonuna ilişkin bir miktar esneklik vardır. Tanımlanan sınırların aşılması, maddenin inokülüm oranını çok uygun görülen bir şekilde değiştirecektir.
- Ön alıştırma - testin başlatılmasından önce kontamine alanlardan veya test maddesine önceden maruz kalan alanlardan elde edilen inokülümün kullanılması, kalıcılık testi için düzenleyici olarak kabul gören bir değişiklik değildir. Bu aynı zamanda ilk çalışmadan elde edilen inokülümün kullanılmasıyla ikinci bir kolay biyobozunurluk testinin gerçekleştirilmesine ilişkin uygulama için de geçerlidir.
- Maddeye gerçekleştirilen uygun bir yapay mikrobiyal alıştırmayı da destekleyen yarı sürekli değerlendirmeler, kalıcılığın olası en kötü durum değerlendirmesinin amaçlarıyla da tutarlı değildir.
- Ortak substrat(lar)ın ilave edilmesi - diğer tarama testlerinde olduğu gibi, test maddesi tek karbon kaynağı olmalıdır. Bu nedenle, bir yardımcı substratın ilave edilmesi, özel olmayan toplam parametrelerin ve inokülüm boşluklarının artması nedeniyle ek belirsizliğe neden olabilir ve bu nedenle kabul edilemez.

Kendiliğinden biyobozunurluk

OECD 302 serisinden testler, organik maddelerin doğal biyobozunurluğunun belirlenebilmesi için geliştirilmiştir ve üç yöntem içerir: Değiştirilmiş SCAS Testi (OECD 302 A), Zahn-Wellens/EMPA Testi (OECD 302 B) ve Değiştirilmiş MITI Testi (II) (OECD 302 C).

Teorik olarak % 70'in üzerindeki biyobozunurluk (BOD, DOC giderimi veya COD olarak ölçülür), kendiliğinden ve nihai biyobozunurluğun kanıtı olarak kabul edilebilir. Kendiliğinden biyobozunurluk verileri, maddenin çevresel kalıcılığının doğrudan değerlendirilmesi ve AAT'deki maddelerin eliminasyonunun tahminine ilişkin modellerdeki hız sabitlerinin uyarlanabilmesi amacıyla kullanılabilir (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.7.9.5.2 ve Bölüm R.11'e bakınız). Ancak, bu uyarlamaya yalnızca şu durumlarda izin verilir:

- Zahn-Wellens/EMPA Testi'nde, mikroorganizmaların üstel büyüme aşamasını da içeren gecikme ve bozunma aşamalarının yedi gün içinde %70 bozunurluk seviyesini geçtiği durumlarda. Bozunma aşaması üç günden uzun olmamalıdır ve biyobozunurluğun meydana gelmesinden önce testteki giderme %15'in altında olmalıdır. Veya
- Değiştirilmiş MITI Testinde (II) %70'lik geçiş seviyesine gecikme ve bozunma aşamaları dahil olmak üzere 14 gün içinde ulaşıldığı ve bozunma aşamasının üç günden uzun olmadığı durumlarda.

Teorik değerin %20'sinin üzerindeki biyobozunurluk, kendiliğinden ve birincil biyobozunurluğun kanıtı olarak kabul edilebilir ve bu durum kararlı bozunma ürünlerinin oluşmasının olası olduğunu gösterir. Daha sonra, maddenin ve bozunma ürünlerinin kalıcılığına ilişkin bir sonuca varılabilmesi amacıyla daha fazla test düşünülmelidir.

Eliminasyonun yüzeye tutunma veya buharlaşma (her ikisi de dönüşüm veya biyobozunurluk açısından yanlış yorumlanmaması gereken fiziksel gidermeye ilişkin işlemlerdir) nedeniyle gerçekleşmediğinden emin olmak için DOC gideriminin bozunmaya ilişkin toplam bir parametre olarak kullanımı düşünüldüğünde verilerin dikkatli bir şekilde yorumlanması gerekir. Bozunma eğrisinin şekli, biyobozunurluk sürecinin meydana gelip gelmediğine dair bir gösterge sağlayabilir (örneğin, test maddesinin çok hızlı kaybolması, işlemin buharlaşma veya yüzeye tutunmadan kaynaklandığını gösterebilir). Kolay biyobozunurluk testlerinin sonuçlarının (yani OECD 301 serisi veya OECD 310) geçme seviyesi kriterinin neredeyse yerine getirildiğini gösterdiği bazı durumlarda (yani ThOD veya DOC, sırasıyla %60 veya %70'in biraz altında), bu tür sonuçlar kendiliğinden biyobozunurluğun kanıtı olarak kullanılabilir. Bu aynı zamanda geçiş seviyesi kriterinin yerine getirildiği, ancak 10 günlük pencere kriterinin yerine getirilmediği durumdur.

Simülasyon testleri

Simülasyon testleri, AAT'nin aerobik arıtma aşamasını veya tatlı su, deniz yüzey suyu, çökelti veya toprak gibi çevresel ortamları temsil etmek üzere tasarlanmış bir laboratuvar sisteminde biyobozunurluk oranını ve kapsamını değerlendirmeyi amaçlamaktadır. (OECD, 2006b).

Atık su arıtımına ilişkin simülasyon testi

Atık su arıtma tesislerindeki maddelerin davranışı, OECD 303 veya OECD 314B Simülasyon Testleri kullanılarak laboratuvarında incelenebilir. Maddenin çevresel risk değerlendirmesinin düzeltilmesi gerektiğinde ve maruz kalma senaryosunun atık su arıtma tesislerinde emisyonun gerçekleştiğini gösterdiği durumlarda bu tür testler tercih edilebilir. Ancak, PBT/vPvB değerlendirmesi için kendi başlarına kullanılamazlar ve yalnızca kanıt ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak kabul edilebilirler.

Özellikle, bu testlerden belirlenen yarı ömürler KKDİK, Ek 8'deki kalıcılık kriterleri ile karşılaştırılmaya uygun değildir. Bu çalışmalar, PBT/vPvB değerlendirmesiyle ilgili ortamlardaki (yani: doğal yüzey suyu, çökelti veya toprak) maddenin kalıcılığının değerlendirilmesi için ilgili çevresel koşulları kullanmazlar. PBT/vPvB değerlendirmesi için, maddenin çevresel ortamların hiçbirinde kalmayacağı kanıtlanmalıdır.

Bu nedenle, PBT/vPvB değerlendirmesi için yalnızca atık su arıtma tesislerinin giriş akımından sağlanan doğal suya maruz kalmanın değil, aynı zamanda diğer maruz kalma olasılıklarının da (dolaylı maruz kalma ve çevresel ortamlar arasında yeniden dağılım dahil olmak üzere) dikkate alınması gerekir.

Aerobik Atık Su Arıtma Tesisi: Aktif Çamur Üniteleri (OECD 303 A) ve Biyofilmler (OECD 303 B). Test maddesinin giderilmesi, giriş suyundaki ve çıkış suyundaki DOC ve/veya Kimyasal Oksijen İhtiyacı (COD) konsantrasyonunun izlenmesiyle belirlenir. Test, 10 mg/L ile 20 mg/L arasındaki bir DOC konsantrasyonunda test maddesinin ilavesini önerir. Bununla birlikte, birçok madde normalde atık suda bile çok düşük konsantrasyonlarda bulunur ve biyobozunurluğun düşük konsantrasyonlarda (<100 µg/L) test edilmesine yönelik işlemler, Test Rehberi 303 A, Ek 7'de sunulmuştur.

Bu amaçla kullanılabilir diğer bir test OECD 314B'dir. OECD 303 ve OECD 314B'nin test koşulları farklıdır ve bu nedenle sonuçların bu iki test arasında karşılaştırılabilir olmaması beklenir. Örneğin, test sonuçlarının tekrarlanabilirliği OECD 303'te açıkça tanımlanmıştır, ancak bu tür özellikler OECD 314B'de sağlanmamıştır. Diğer bir örnek, OECD 314B'de 28 gün ile sınırlı olan test süresidir. Bu test süresi, hem kararlılık aşamasına (inokülümün organik besiyerinin çözülmüş organik karbonu verimli bir şekilde çıkardığı durumlarda sona erer) hem de plato aşamasına (en az 21 gün) bağlı olan OECD 303'te esneklik. Amaçlanan kullanım, maruz kalma ve risk değerlendirmelerinin iyileştirilebilmesi içinse, bu sonuçların ilgili hangi maruz kalma senaryolarında geçerli olabileceğinin belirlenebilmesi amacıyla duruma göre değerlendirilmelidir.

DOC temelli Yarı Sürekli Aktifleştirilmiş Çamur (SCAS) testinde biyobozunurluk normalde yalnızca maddenin emici ve uçucu olmadığı durumlarda belirlenebilir. Bununla birlikte, radyo-etiketli bir maddeyle SCAS testinin gerçekleştirildiği ve çıkış suyu ile katılar üzerinde bir kütle dengesinin kurulduğu durumlarda, uçucu olmayan herhangi bir madde için biyobozunurluğun belirlenmesi mümkündür. Biyobozunurluğun tahmin edilebilmesine ilişkin bir SCAS testinin değeri, çıkış gazlarının CO₂ ve diğer organik uçucular için tutulduğu durumlarda artar. Bununla birlikte, bu tür bir testte mikroorganizmaların maddeye alıştırmalarına ilişkin güçlü potansiyeli nedeniyle değerlendirme amaçları için değeri düşüktür.

Aerobik atık su arıtma simülasyon testlerinde (OECD 303) maddelerin eliminasyonuna ilişkin özel geçiş seviyeleri tanımlanmamıştır. Test sonuçları, arıtma tesisindeki ve alıcı olan sucül ortamdaki konsantrasyonun tahmin edilebilmesi amacıyla atık su arıtma tesisindeki gidermenin ve ortaya çıkan çıkış suyunun konsantrasyonlarının tahmininde kullanılabilir.

Atık su arıtma tesislerinde biyobozunurluk ve/veya uzaklaştırma değerlendirmesi, tercihen arıtma tesisindeki koşulları simüle eden testlerin sonuçlarına dayandırılmalıdır. Böyle bir test, OECD 303A testi olabilir. Standart hale getirilmemiş testlerden ve/veya İLU ilkelerine göre gerçekleştirilmeyen testlerden elde edilen veriler, uzman değerlendirmesinde, bunlara ilişkin hesaplama modellerinin (örneğin, SimpleTreat) dayandığı standart hale getirilmiş bozunma testlerinin sonuçlarına eşdeğer olduğunun doğrulandığı durumlarda kullanılabilir. Aynı AAT izleme verileri (yani yerinde giriş suyu/çıkış suyu) için de geçerlidir.

Maddelerin AAT'ler üzerindeki toksik etkilerine ilişkin ayrı bir sonlanma noktası özel rehberi bulunmaktadır (bkz. Bölüm R.7.8.20).

Toprakta, çökeltide ve suda simülasyon testleri

Bir maddenin kalıcılık değerlendirmesini iyileştirmek için simülasyon çalışmaları gerekebilir. Bu çalışmaların, tarama çalışmalarına göre çevre açısından daha gerçekçi olduğu düşünülmektedir.

Çevresel açıdan gerçekçi koşullar altında organik maddelerin biyobozunurluğunun toprakta, çökeltide veya yüzey suyunda simüle edilebilmesi için aşağıdaki testler kullanılabilir: Toprakta Aerobik ve Anaerobik Dönüşüm (OECD 307); Sucul Çökelti Sistemlerinde Aerobik ve Anaerobik Dönüşüm (OECD 308); ve Yüzey Suyunda Aerobik Mineralizasyon - Simülasyon Biyobozunurluk Testi (OECD 309).

Havalandırılmış topraklar aerobiktir, ancak su ile doyurulmuş veya su ile dolu topraklarda genel olarak anaerobik koşullar hakimdir. Sudaki çökeltilerin yüzey katmanı aerobik ya da anaerobik olabilir, ancak daha derin çökeltilerin yüzey katmanları genellikle anaerobiktir. Topraktaki veya çökeltideki bu koşullar, test rehberlerinde (OECD 307 ve OECD 308) açıklanan aerobik veya anaerobik testlerin kullanılmasıyla simüle edilebilir.

Simülasyon bozunma çalışmaları iki tür araştırma içerir: a) bozunma ürünlerinin (yani bozunma metabolitlerinin) tanımlandığı ve ölçüldüğü bir bozunma modeli çalışması, b) ana maddenin bozunma hızı sabitlerinin (ve bozunma yarı ömürlerinin) olduğu bir kinetik çalışma. Bozunma ürünlerinin uygulanabilir olduğu durumlarda deneysel olarak belirlenir.

Genel olarak, simülasyon testi için düşük bir test maddesi konsantrasyonu (örneğin, 1 µg/L - 100 µg/L ve tercihen Test Rehberi 309'da 1 - 10 µg/L) kullanılır. Test konsantrasyonu, testte elde edilen biyobozunurluk kinetiğinin (birinci derece veya psödo birinci derece) ortamdaki beklenenlerin yansıtılmasını sağlayacak kadar düşük olmalıdır. Simülasyon testlerinde bozunmanın genellikle yardımcı metabolizma yoluyla meydana geldiği varsayılır ve mikrobiyal büyümenin meydana geldiği durumlarda bu büyümenin sınırlı olduğu varsayılır çünkü test maddesinin konsantrasyonu, kolay biyobozunurluk testlerinde olduğu gibi birincil enerji ve karbon kaynağı olarak hizmet etmek için yeterince yüksek olmayacaktır. Test maddesinin daha yüksek konsantrasyonları (örneğin > 100 µg/L), yalnızca dönüşüm ürünleri tanımlanırken ve ölçülürken potansiyel analitik sınırlamaların üstesinden gelenebilmesi amacıyla kullanılabilir.

Radyo etiketli ve radyo etiketli olmayan test maddeleri kullanılabilir. Toplam mineralleşmenin değerlendirilebilmesi için, tipik olarak ¹⁴C etiketli bir test maddesi kullanılır ve ¹⁴CO₂ gelişimi ölçülür. ¹⁴C etiketinin molekülün en zor ayrışan kısmında bulunduğundan emin olunmalıdır. Hassas bir özel analitik yöntemin mevcut olması halinde birincil biyobozunurluk, test maddesinin toplam kalıntı konsantrasyonunun ölçülmesiyle değerlendirilebilir. Ana maddenin yok olması, maddenin mineralizasyonunu göstermeyebilir. Kimyasal analizler radyo etiketleme tekniklerine paralel olarak kullanılabilir. Dönüşüm ürünlerinin tanımlanması ve ölçülmesi için özel kimyasal analizler de kullanılabilir.

OECD Test Rehberi 307'ye göre toprak simülasyonu bozunma testi, 4 farklı toprak türünde bozunma yarı ömürlerinin belirlenmesini içerir. OECD Test Rehberi 308'e göre çökelti bozunma testi, 2 farklı çökelti türünde bozunma yarı ömürlerinin belirlenmesini içerir.

OECD Test Rehberi 309'a göre yüzey suyunda bozunma testi, en az bir yüzey suyu numunesinde ve test maddesinin iki farklı konsantrasyonunda bozunma yarı ömrünün belirlenmesini içerir. Bu konsantrasyonlar, birbirinden 5 - 10 kat kadar farklılık göstermeli ve ortamdan beklenen konsantrasyon aralığını temsil etmelidir. Her ikisi de test maddesinin suda çözünürlük sınırının altında olmasını ve biyobozunurluğun birinci dereceden kinetiği takip etmesini sağlayacak kadar düşük olmalıdır.

Yeni kinetik simülasyon çalışmaları, Avrupa Birliği için öne sürülmüş makul bir ortalama sıcaklık olarak kabul edilen ve varsayılan 12 °C'de çevresel olarak ilgili sıcaklıklarda gerçekleştirilmelidir. Bozunma yarı ömrüne ilişkin bilginin daha yüksek bir sıcaklıkta gerçekleştirilen simülasyon bozunma testlerinden mevcut olması halinde, Arrhenius denklemi kullanılarak 12 °C'ye karşılık gelen bir yarı ömre normalize edilmelidir (aşağıdaki "Sıcaklık düzeltme" adlı paragrafa bakınız). Her durumda, bozunma hızları ve bozunma yarı ömürleri gibi kinetik sonuçlar, çevresel olarak ilgili bir sıcaklığa, yani varsayılan olarak 12 °C'ye karşılık gelmelidir. Bozunma ürünlerinin tanımlanabilmesi amacıyla, bu bozunma ürünlerinin tanımlanmasına ve miktarının belirlenmesine ilişkin olası analitik sınırlamaların üstesinden gelmek için daha yüksek bir test sıcaklığı (ancak çalışma rehberinin sağladığı çerçeve dahilinde) kullanılabilir.

Simülasyon testlerinin sonuçları şunları içerebilir:

- Birinci dereceden veya psödo birinci dereceden hız sabiti;
- Bozunma yarı ömrü veya DT50
- Gecikme evresinin uzunluğu
- Yarı doyumluk sabiti;
- Maksimum özel büyüme hızı;
- Mineralize edilmiş etiket oranının ve özel analizlerin kullanıldığı durumlarda, birincil bozunmanın son seviyesi;
- Özütlenemeyen kalıntıların oranına ve seçilen özütleme işlemine ilişkin bir gerekçe;
- Çalışma sırasındaki ve çalışma sonundaki kütle dengesi;
- Uygun olduğu durumlarda ana dönüşüm ürünlerinin tanımlanması ve konsantrasyonu;
- Uygun olduğu durumlarda önerilen bir dönüşüm modeli;
- Eliminasyon oranı (örneğin, risk değerlendirmesi amaçları için) Biyobozunurluğa ilişkin yayınlanmış standart dışı çalışmalar
- Yetersiz bir şekilde raporlanan veya standart dışı veriler değerlendirilirken, verilerin herhangi bir şekilde kullanılabilmesi için aşağıdaki asgari bilgilerin mevcut olması gerekir:

- İnokülümün kaynağı ve yoğunluğu endüstriyel bir sahadan alınmamalı ve yoğunluğu, kolay biyobozunurluk testindeki yoğunluğa eşit olmalıdır.
- Test maddesinin önceden maruz kalmasını içeren herhangi bir inokülümün ön işlemi
- Test maddesi, test maddesinin saflığı ve testte kullanılan konsantrasyonu
- Çalışma için motivasyon
- Ölçülen analit (ana bileşik, DOC, BOD veya CO2 gelişimi)
- Varsa bozunmaya ilişkin biyokimyasal yollarla ilgili ayrıntılar
- Bozunma oranı veya giderme yüzdesi; ikinci durumda, gidermenin yalnızca yüzeye tutunma veya buharlaşma gibi dağılım süreçlerini yansıtıp yansıtmadığı dikkate alınmalıdır.

Biyobozunurluk çalışmalarının raporlanması

FOCUS (2014), daha yüksek kademeli çalışmalar için tetikleyici olarak kullanılan biyobozunurluk sonlanma noktaları (tetikleyici sonlanma noktası) ile nicel çevresel maruz kalma ve risk değerlendirmesinde (modelleme sonlanma noktası) kullanılan biyobozunurluk sonlanma noktaları arasında bir ayrım yapar. Yaklaşımındaki temel fark şudur: Daha yüksek kademeli çalışmaların tetiklenebilmesi için örneğin çift fazlı bir kinetik model veya gecikme fazlı bir model en uygun kinetik model olarak uygulanırken, sonlanma noktasının modellenmesine ve risk değerlendirmesi ile ilgili verilerin kullanımına ilişkin kinetik model seçimi risk değerlendirmesinde kullanılan çevresel davranış modelindeki kinetik modelle uyumlu olmalıdır. Mevcut durumda çevresel davranış modelleri birinci dereceden kinetiğe dayanmaktadır.

Bu nedenle, modellemeye ilişkin sonlanma noktaları uygulamada birinci dereceden kinetiklerle türetilmelidir.

Biyobozunurluk çalışmalarının raporlanmasındaki ilke, sonuçların bağımsız bir şekilde çoğaltılmasına ve bunların alternatif istatistiksel yöntemler/yazılım paketleri ile doğrulanmasına izin verecek yeterli bilginin sağlanmasıdır. Özellikle, kinetik analizin aşağıdaki hususları rapor edilmelidir:

- Yazılım paketleri ve sürümleri/istatistiksel test yöntemleri (referanslarla birlikte). Kinetik analizlerin, sonuçların bağımsız bir şekilde tekrarlanmasını kolaylaştırmak amacıyla bu tür analizler için yaygın olarak kullanılan kamuya açık istatistik yazılım paketleri ile yapılması tercih edilir.
- Analizde kullanılacak tüm orijinal değerlerin listesi. Veri noktaları "aykırı değerler" olarak kabul edildiğinde ve kinetik analizlerin bir parçası olarak atıldığında, veri noktalarının atılmasının gerekçesi rapora dahil edilmelidir.
- Analizler. Regresyonlarda kullanılan kinetik modellerin tam açıklaması. Aralık sınırları, başlangıç değerleri, optimizasyondaki kısıtlamalar gibi yazılım seçenekleri açıklanmalıdır.
- Sonuçların görsel ve istatistiksel değerlendirmesi. Zamanın ve artık grafiklerin bir fonksiyonu olarak tahmin edilen ve gözlemlenen değerlerin (yani konsantrasyonların) sayısal gösterimi. Karar verme sürecini destekleyen diğer istatistiksel sonlanma noktaları rapor edilmelidir.

- Bozunma hızı sabitinin ve metabolitlerin oluşum hızının belirsizliği (standart sapma veya güven aralığı).
- Bozunma yarı ömrünün veya DT_{50} değerinin deneysel sürenin ötesinde tahmin edildiği durumlar, bu raporda açıkça belirtilmelidir.

Yeni simülasyon çalışmalarının gerçekleştirileceği sıcaklık

Üç OECD test rehberine göre (307, 308 ve 309), çalışmalar tipik olarak 10 - 25 °C arasındaki bir sıcaklıkta gerçekleştirilebilir. KKDİK için, yeni simülasyon bozunma çalışmalarında tercih edilen seçenek, çalışmanın temel amaçlarından biri olan ana molekülün yarı ömrünün belirlendiği 12 °C'dir. 12 °C sıcaklık, Avrupa yüzey sularının ortalama sıcaklığıdır (*BG & KGD Rehberi*, Bölüm R16 "Çevresel maruz kalma tahmini" Tablo R.16-8'e bakınız).° Simülasyon çalışmaları için çevresel ortam, tercihen koşulların test için hedeflenen koşullara benzediği sahalardan toplanmalıdır.

12 °C'de yeni bir simülasyon testinin gerçekleştirilmesinin teknik olarak uygun olmadığı ile ilgili özel nedenler varsa, bu nedenlere ilişkin gerekçe sunulmalıdır. Bu gibi durumlarda, sıcaklığın mümkün olduğunca 12 °C'ye yaklaştırılması için orantılı girişimlerde bulunulmalıdır.

Simülasyon testinin amacı esas olarak metabolitlerin tanımlanması ise, bozunma ürünlerinin oluşumunu hızlandırmak ve dolayısıyla bunların tanımlanmasını ve karakterizasyonunu kolaylaştırmak için 20 °C'lik daha yüksek bir test sıcaklığı uygun olabilir. PBT değerlendirmesi için hem ana kimyasallara hem de metabolitlere ilişkin belirgin endişeler olmadığı sürece, genel olarak 12 °C'de ve 20 °C'de olmak üzere iki testin gerçekleştirilmesi gerekli değildir.

Sıcaklık düzeltmesi

İnkübasyon sıcaklığı, daha yüksek kademeli biyobozunurluk çalışmaları yürütülürken dikkate alınması gereken birçok faktörden biridir. Diğerleri arasında madde konsantrasyonu, test hacmi ve geometrisi, hava akış hızı ve yardımcı metabolizma bulunur.

Sıcaklık, bir maddenin sahada karşılaşılabileceği çok çeşitli çevresel sıcaklıklardan dolayı Avrupa'da bir sorundur. Bireysel mikroorganizmaların farklı sıcaklıklarda optimal aktivite gösterebilmelerine rağmen mikrobiyal bir topluluğun metabolik aktivitesi ve dolayısıyla bozunma hızları, genel olarak sıcaklık artışı ile artar (Cavicchioli, 2006). Bu nedenle laboratuvarında 20-25 °C'de yapılan bir testte bozunma hızları, ortalama sıcaklığın 12 °C olduğu bir sahada ölçülen bozunma hızlarından daha yüksektir.

Sonuç olarak, B ve T kriterlerinin karşılandığı ve 20 °C'de bozunmaya ilişkin simülasyon verilerinin mevcut olduğu kalıcılık değerlendirmeleri için sıcaklık düzeltmesinin uygulanıp uygulanmayacağı dikkate alınmalıdır. Bu, ölçülen yarı ömür değerlerinin kalıcılık kriterlerine yakın olduğu durumlarda özellikle önemli olacaktır. Uygulanması halinde bu düzeltme Arrhenius denkleminde dayanmalıdır ve 20 °C'de numune alınan noktadaki çevresel ortamın sıcaklığına uyarlanmalıdır³⁴.

Biyobozunurluğun sıcaklığa bağlılığını yansıtan yapısal madde sınıfına özgü denklemler/modellerin mevcut olmadığı durumlarda, Arrhenius denklemi (veya fiziko-kimyasal bozunma oranlarının normalize edilebilmesi için tasarlanmış benzer uygun bir denklem) olası bir normalize etme aracı olarak kullanılabilir.

Bu şu anlama gelir:

$$\ln k = \ln A - (E_a / RT)$$

Burada

k = hız sabiti (gün⁻¹)

A = sonsuz sıcaklıkta hız katsayısına eşit faktör (1/gün) E_a = aktivasyon enerjisi (kJ/mol)

R = gaz sabiti (8.314.10⁻³ kJ/K.mol) T = sıcaklık (K)

Birinci dereceden kinetik için denklem şu şekilde yeniden formüle edilebilir:

$$DT50_{\text{çev}} = DT50_{\text{test}} \cdot e^{\left(\frac{E_a}{R} \left[\frac{1}{T_{\text{çev}}} - \frac{1}{T_{\text{test}}}\right]\right)}$$

DT50_{çev} ve DT50_{test} sırasıyla çevre sıcaklığı T_{çev} (tipik olarak 285 K) ve test sıcaklığı T_{test} (tipik olarak 293 K) için yarı ömürlerdir.

Arrhenius denkleminin kullanımından kaynaklanan potansiyel belirsizlikler vardır çünkü:

- 1) Biyolojik süreçler yerine basit kimyasal reaksiyonlar için tasarlanmıştır.
- 2) Bir maddeye veya kimyasal gruba ilişkin özel aktivasyon enerjisi (E_a) bazı durumlarda bilinir.

EFSA (2007) tarafından 65.4 kJ/mol olarak genel bir E_a türetilmiştir. Mevcut pestisit E_a verilerinin medyan değerine karşılık gelir. Maddeye özgü geçerli verilerin yokluğunda, bu değer kullanılmalıdır.

Maddeye özgü geçerli verilerin mevcut olmadığı durumlarda, sıcaklık düzeltmesi gerekiyorsa genel E_a değeri ile Arrhenius denklemi kullanılmalıdır.

Atık su arıtma tesisi simülasyonları için sıcaklık düzeltmesi gerekli değildir (OECD 303).

Bozunma ürünlerinin belirlenmesi

Ana maddenin, biyo-dönüşüm ürünlerinin/metabolitlerin ve NER ile CO₂'nin zamanın bir fonksiyonu olarak izlenmesiyle, test maddesinin davranışının özel çevresel ortamın simülasyon testi sisteminde değerlendirilmesi mümkün olabilir.

³⁴ Bu, yeni simülasyon bozunma çalışmalarının 12 °C'de yapılmasının gereklilik haline getirilmeye başlandığı Üye Devletler Komitesinin 32. toplantısından bu yana alınan kararlarla uyumludur:°

https://echa.europa.eu/documents/10162/13578/meet_minutes_msc_32_en.pdf/6d0f441f-05fe-46ac-ae96-46097d33283a

Bir maddenin tamamen bozunmadığı veya mineralize edilmediği durumlarda, bozunma ürünleri tercihen kimyasal analiz ile belirlenmelidir. Yöntemler normalde maddeye özgü olacaktır ve dolayısıyla yöntem seçimi konusunda herhangi bir rehberlik sağlanamaz. Radyo-etiketleme ve özel kimyasal analizler bazı maddeler için sonraki metabolit oluşumunu ve bozunmayı ölçerek uygun bir davranış değerlendirmesine izin verebilir.

Analitik olarak mümkün olduğunda, ana maddeye ilişkin metabolitlerin tanımlanması, kararlılığı, davranışı, molar miktarı değerlendirilmelidir. İlave olarak, ana maddenin tahmini bozunma hızının, ana maddeye göre bozunma metabolitlerinin $\log K_{ow}$ 'u ve metabolitlerin potansiyel toksisitesi ile biyobirikim potansiyelinin dikkate alınması ve araştırılması gerekli olabilir. Metabolitlerin PBT değerlendirmesindeki ilk adım, bozunma yarı ömürlerinin değerlendirilmesi olmalıdır. Metabolitlerin uzun ömürlü veya kalıcı olması halinde, biyobirikim ve toksisite açısından değerlendirilmelidirler.

Bununla birlikte, yüksek kademeli testler için mevcut olan simülasyon çalışmalarının (örneğin OECD 307, 308 ve 309) genellikle çevresel olarak ilgili olacak şekilde tasarlandığı ve bu nedenle düşük konsantrasyonlarda bir test maddesinin kullanıldığı vurgulanmalıdır. Bu, genel olarak dönüşüm ürünlerinin tanımlanmasına ilişkin teknik sınırlamaların olduğu anlamına gelir. Dönüşüm/bozunma ürünlerinin tanımlanması bu rehberlere göre yapılmalıdır.

Önemli bozunma metabolitlerinin potansiyel toksisitesi düşünüldüğünde, mikrobiyal bozunma süreçlerinin genel olarak ana maddeden daha fazla polar bozunma metabolitlerine, ancak bazı durumlarda da daha az polar bozunma metabolitlerine yol açtığını belirtmek gerekir. Bu, simülasyon testleri sırasında genel olarak üretilen HPLC-RAD kromatograflarında görülebilir. Azalmış lipofiliklik/hidrofobiklik, metabolitlerin ana maddeden daha az toksik ve biyobirikebilir olduğunun bir göstergesi olabilir. Toksikiteye ve biyobirikim potansiyeline ilişkin ön bilgiler, varsayımsal veya tanımlanmış bozunma metabolitlerinde bu sonlanma noktalarındaki QSAR modeli tahminleri için girdi verileri olarak ölçülen K_{ow} değerleri yardımıyla elde edilebilir.

Özütlenemeyen kalıntılar (NER)

Özütlenemeyen kalıntılara ilişkin bilgiler de dikkate alınmalıdır. Özütlenemeyen kalıntıların oluşumu bozunma olayı ile karıştırılmamalıdır. Özütlenemeyen kalıntılar, bağlanma, potansiyel yeniden hareketlendirme ve zararlılık potansiyeli açısından ayırt edilmelidir. Özütlenemeyen kalıntılar, fiziksel dahil etme ile yoğun bir şekilde emilir veya bağlanırsa ve bu nedenle potansiyel bir risk oluşturuyorsa, ana madde veya dönüşüm ürünü olarak yeniden harekete geçirilebilir. Öte yandan, özütlenemeyen kalıntılar kovalent bağlarla bağlanabilir veya biyokütleyle dahil edilebilir ve bu durumda bu kalıntıların tersinir olmayan bir şekilde bağlı olduğu düşünülebilir. İkinci durumda, özütlenemeyen kalıntılar potansiyel bir giderme yolu olarak kabul edilebilir.

Bununla birlikte, bağlanmanın çevrede meydana gelebilecek belirli koşullar altında tersinir olup olmadığına dayanılarak özütlenemeyen kalıntıların farklılaştırılmasını ve nitel olarak değerlendirilmesini mümkün kılan standart hale getirilmiş kademeli bir özütlenme şeması şu anda mevcut değildir. NER miktarı belirlenirken, numunenin özütlenme işlemi genellikle uygun bir organik çözücü ile gerçekleşir ve genel olarak daha fazla verim elde edilemeyene kadar 3 veya 4 kez tekrarlanır. Tipik olarak, ortam koşulları altında artan polariteye sahip bir dizi çözücü (örneğin, metanol, aseton, asetonitril ve heksan vb.) kullanılır. Kalan radyoaktivitenin tamamının geri kazanılamaması halinde, uygun çözücü zayıf asitlerle veya bazlarla karıştırılabilir veya ultrasonik özütlenme ile eşleştirilebilir.

Bu, ana maddenin veya metabolitin çözelti içine geri salınmasına neden olabilecek farklı koşullar sağlamayı amaçlamaktadır. Son olarak; kuvvetli asitlerin, bazların veya geri akışın kullanımı şüphesiz numuneyi daha kapsamlı bir şekilde giderebilir, ancak hem ilgili maddeleri hem de toprak/ çökelti matrislerini değiştirebilir. Bu nedenle, bu tür şiddetli özütleme teknikleri bazı durumlarda toprak veya çökelti/su testlerinde uygulanabilir. özütleme yöntemleri ve verimlilikleri ile analitik yöntemler ve saptama sınırları her zaman rapor edilmelidir.

Nihayetinde bu, kalıntıların yukarıda bahsedilen yöntemler ile ne ölçüde özütlenip özütlenemedikleri değil, bu kalıntıların temelde çevresel öneme sahip olan biyoyararlanımıdır.

NER miktarı ve türü, kullanılan özütleme yöntemi ile işlevsel olarak tanımlanır. Mevcut durumda, özütlenemeyen kalıntıların ne kadarının tersinir olmayan bir şekilde bağlandığının, hangi kısmın tersinir bir şekilde bağlandığının ve hangi başlıkların değişen çevresel koşullar altında kullanılabilir hale gelebileceğinin tahmin edilebilmesine ilişkin mevcut bir özütleme planı/işlemi bulunmamaktadır.

Bu hususlar zararlılık sınıflandırması, PBT/vPvB değerlendirmesi ve maruz kalma (risk) değerlendirmesine ilişkin aşağıdaki çevresel değerlendirmelerin belirlenmesinde yardımcı olmalıdır.

Su simülasyon testlerinde askıda madde

OECD Test Rehberi 309'da iki test seçeneği tanımlanmıştır: "pelajik test" ve "askıda çökelti testi". Her iki durumda da kaba partiküller, örneğin 100 µm mesh boyutuna sahip bir filtreden veya bir kağıt filtre ile filtreleme veya çöktürme yoluyla su numunesinden uzaklaştırılacaktır. "Askıda çökelti testi" için, bir süspansiyonun elde edilebilmesi amacıyla daha sonra yüzey çökeltisi eklenir; "askıda çökelti testi" için izin verilen askıdaki katı madde konsantrasyonu 10 mg/L ile 1 g/L arasındadır. Ancak, "pelajik test" in aslında süspansiyon halindeki maddeleri de içereceğini belirtmek gerekir. Aslında, filtreleme/çöktürme işleminden önce yalnızca iri tanecikler giderilecektir; bazı çözünmemiş maddeler ve ince tanecikler su numunesinde asılı kalacaktır³⁵.

Süspansiyon halindeki taneciklerin konsantrasyonu, yapısı ve boyutu su kütleleri arasında oldukça değişkendir. Ova alanlarındaki (düşük akım hızına sahip) askıdaki tanecikler küçüktür ve genel olarak organik madde bakımından zengindir. 100 µm'lik bir meshten geçeceklerdir. Aksine, (yüksek akış hızına sahip) kaynak sularındaki askıda tanecikler oldukça büyük olabilir ve bu tanecikler genel olarak organik madde bakımından zayıftır. Çoğu 100 µm'lik bir mesh ile durdurulacaktır. Bununla birlikte, çoğu endüstriyel madde için, büyük nehirlere veya deniz suyuna doğrudan salımların meydana geldiği kabul edilmektedir. Büyük nehirler için, askıda madde konsantrasyonu (SPM) makul ölçüde sabittir ve Su Çerçevesi Direktifi'nin (Avrupa Toplulukları, 2011) uygulanması veya EUSES'deki uygulaması için AB tarafından 15 mg kuru ağırlık/L'lik bir değer önerilmiştir. Deniz sularında, Su Çerçevesi Direktifi için varsayılan 3 mg kuru ağırlık/L'lik bir SPM konsantrasyonu önerilmiştir.

³⁵ Normalde, "çözünmüş" madde işlevsel olarak 0.45 µm'lik bir filtre gözeneginden geçebilen madde olarak tanımlanır. Buna bağlı olarak, "askıda madde" (SPM), 0.45 µm'lik bir filtre gözeneginden geçemeyen madde olarak tanımlanır. 0.45 µm'lik bir gözenekten maddenin suyla süzülmesi bir simülasyon testi mantıklı olmayacaktır. Bakterilerin boyutu tipik olarak 10 µm civarında olduğundan, neredeyse tüm bozunan mikroorganizmalar filtrelenecektir.

Benzer şekilde, deniz suları için EUSES'te 5 mg kuru ağırlık/L'lik bir varsayılan askıda madde konsantrasyonu uygulanmıştır.

KKDİK amacıyla, tatlı suda gerçekleştirilen simülasyon testleri için 10 mg kuru ağırlık/L - 20 mg kuru ağırlık/L ve deniz suyunda gerçekleştirilen simülasyon testleri için yaklaşık 5 mg kuru ağırlık/L askıda madde içeren doğal yüzey suyunun kullanılması kabul edilebilir olarak düşünülür. Su numunesinin uygun bir askıda madde konsantrasyonu içerecek şekilde seçilmesi gerektiğinden, askıda maddenin eş zamanlı olarak eklenmesini ifade eden 'askıda çökelti testi' genel olarak önerilmez.

SPM, test maddesinin emebileceği önemli bir organik karbon oranı (genel olarak % 10'luk bir oran varsayılır) içerir. Bu nedenle, yüzey suyu simülasyon testlerindeki organik karbon (OC) konsantrasyonu tipik olarak test maddesi konsantrasyonundan 2 - 3 kat daha yüksektir. Bu nedenle, NER oluşumunun yüzey suyu testlerinde de önemli olabileceği kabul edilmelidir. Bu nedenle, toprakta ve çökeltide gerçekleştirilen simülasyon testlerinde olduğu gibi, özütlenemeyen kalıntıların miktarları belirlenmeli, kullanılan özütleme işlemi ile çözücü açıklanmalı ve suda gerçekleştirilen simülasyon testleri için de bilimsel olarak gerektendirilmelidir.

Çökeltideki ve topraktaki organik karbon miktarının çok daha yüksek olması, özütlenemeyen kalıntıların oluşma potansiyelinin toprak ve çökelti simülasyon testlerinde su testine göre çok daha yüksek olduğu anlamına gelir. Bu nedenle, özütlenemeyen kalıntıların oluşumunu en aza indirmek için, genel olarak toprakta veya çökeltide gerçekleştirilen simülasyon testleri yerine suda gerçekleştirilen simülasyon testleri tercih edilmelidir. BG ve KGD Rehberi'nin R.11.4.1.1.2 bölümünde daha fazla rehberlik sağlanmaktadır.

Çevresel zararlılık sınıflandırması

Bir madde tam olarak mineralize olmadığında, ancak daha az bozunur bozunma ürünlerine hızla bozunduğunda bu maddelerin çevresel zararlılıkları, bir maddenin kolay veya hızlı bir şekilde bozunabilir olup olmadığına dair nihai bir karar verilmeden önce değerlendirilmelidir.

PBT ve vPvB değerlendirmesi

Bir madde tam olarak mineralize edilmediğinde ancak başka maddelere indirgenmediğinde, bu maddelerin PBT/vPvB özellikleri, ana maddenin PBT/vPvB kriterlerini karşılayıp karşılamadığına dair nihai bir karara varılmadan önce değerlendirilmelidir. BG ve KGD Rehberi'nin R.11 bölümünde daha fazla rehberlik sağlanmaktadır.

Maruz kalma ve risk değerlendirmesi

Bir madde tam olarak mineralize olmadığında, ancak daha kalıcı bozunma ürünlerine indirgenmediğinde, bu ürünlere ilişkin çevresel maruz kalma konsantrasyonları belirlenmelidir. Sonuç olarak, kimyasal güvenlik değerlendirmesi potansiyel (eko)toksosite, bozunabilirlik ve biyobirikim potansiyelleri dahil olmak üzere bozunma ürünlerini de dikkate almalıdır.

R.7.9.4.2 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin saha verileri

Daha yüksek kademeli çalışmalarda biyobozunurluk her zaman ayrı bir süreç olarak görülmez. Taşıma, yüzeye tutunma, buharlaştırma, bitkilerde veya organizmalarda alım, hidroliz gibi diğer süreçlerde de eş zamanlı olarak maddenin davranışına katkıda bulunur. Biyobozunurluk hızının türetilmesi için, biyobozunurluğun diğer süreçlerden nicel olarak ayrılabilmesi amacıyla ters modelleme uygulanabilir.

Mezokozma, lizimetre veya saha deneylerinde ölçülen konsantrasyonlar, bir çevresel modeldeki simüle edilmiş konsantrasyonlarla karşılaştırılır ve biyobozunurluk hızı sabiti, modellenen konsantrasyonun ölçülen verilere uyduğu noktaya kadar bir parametre tahmin işlemi (manuel olarak deneme yanılma yoluyla veya PEST gibi bir yazılım paketi aracılığıyla otomatik olarak) ile hesaplanır. İşlemler FOCUS (2011)'de açıklanmıştır, bir örnek Dubus ve ark. (2004) tarafından yayınlanmıştır. Ayrıca, toprak ortamındaki dağılımın değerlendirilebilmesi için aşağıdaki referanslar dikkate alınabilir: Sucul saha çalışmaları için NAFTA (2006), EFSA (2014), OECD (2016) ve Deneer ve ark., (2015).

R.7.9.4.3 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin maruz kalma hususları

Bozunma kapsamında maruz kalmaya ilişkin ana faktörler aşağıdakilerle ilgilidir:

- maddenin kullanımı;
- maddenin salım modeli (sürekli veya aralıklı salım);
- maddenin salındığı ortam (bu birden fazla ortam olabilir);
- salınan maddenin birim zaman başına miktarı veya hızı;
- bozunma hızı; ve
- maddenin fiziko-kimyasal özellikleri.

Maddenin ve maddenin salındığı ortamın fiziko-kimyasal özellikleri, maddenin ortamda nereye taşınacağı ve dağılacığı üzerinde büyük bir etkiye sahip olacaktır (bakınız Bölüm R.16). Emisyon modeli (sürekli veya aralıklı), uygun mikroorganizmaların kendilerini oluşturma ve biyobozunurluğa neden olma yeteneklerini etkileyecektir. Salınan madde miktarı, biyobozunurluk kinetiğini de etkileyecektir.

Çevresel ortamların tanımlanması, PBT, vPvB ve/veya risk/maruz kalma değerlendirmeleri için birincil önem taşır. Normalde tüm çevresel ortamlar için bir simülasyon testi gerekli olmayabilir. Nicel risk değerlendirmesinin iyileştirilmesi amacıyla bir testin gerçekleştirilmesi gerekiyorsa, en yüksek maruz kalmaya ve riske sahip ortamlar daha önce test edilmelidir:

- Testin PBT değerlendirmesi için başlatılması halinde, farklı tür değerlendirmeler *BG ve KGD Rehberi*'nin R.11 bölümünde daha ayrıntılı bir şekilde açıklanmalıdır.
- K_p veya K_{oc} değerleri, bir su-çökelti sisteminde veya toprakta testin gerekli olup olmayacağını göstergesi olarak kullanılabilir. Örneğin $\log K_{oc} > 4$ olan maddeler toprakta ve çökeltide yüzeye tutunma için yüksek bir potansiyele sahiptir.
- Çok ortamlı modelleme (örneğin, Mackay seviye 3 modelleri) veya maruz kalma modelleri (örneğin, tarım kimyasalları için FOCUS) birincil endişe kaynağı olan çevresel ortam(lar)ın değerlendirilmesi amacıyla da araştırılabilir.

Tahminlerin bu modeller için kullanılan varsayılan varsayımlara (örneğin, çevresel bölümlerin boyutu veya modellemede kullanılan emisyon parametreleri) büyük ölçüde bağlı olması sebebiyle, bu tür modellerin sonuçları dikkatle yorumlanmalıdır.

- Bununla birlikte, bu tür modellerin sonuçlarının duruma göre değerlendirilmesi yararlı olabilir ve hatta maddelerin bozunmamış çevresel ortamlara (örneğin açık deniz) önemli ölçüde maruz kalıp kalmayacağını (yani atmosfer yoluyla uzun süreli çevresel taşımacılık için önemli bir potansiyele işaret edip etmediğini) belirtebilir.

Dikkate alınması gereken en önemli hususlardan biri, bileşiğin uçuculuğudur. Kaynak ortam(lar)dan diğer ortamlara dağılımı ve bu taşımının kinetiğini etkileyerek, uçuculuk, ortam içi ve transfer süreçleri dikkate alınarak belirlenen bir molekülün sistemde bulunduğu ortalama süre ile tanımlandığı üzere ortamdaki maddenin genel kalıcılığını büyük ölçüde etkileyebilen önemli bir fiziko-kimyasal özelliktir (OECD, 2002b).

Webster ve ark. (1998), çevresel sürekliliğin belirlenmesi ve davranış/ortam girişinin ihmal edilebilmesi için sadece özel bozunurluk yarı ömürlerinin kullanıldığı durumlarda sonuçlanan tutarsızlıkların ve diğer ortamlardaki dağılımlara ilişkin etkilerin üzerinde yoğunlaşmıştır.

Sürekliliğin değerlendirilmesinde genel olarak iç ortam ve aktarım süreçleri göz ardı edilirken, şu hususlar dikkate alınmalıdır:

- ortama özgü bozunma yarı ömürleri, bir maddenin bu ortamda önemli ölçüde dağılmadığı durumda önemli ölçüde koruyucu olabilir;
- ortama özgü bozunma yarı ömürleri birbirinden bağımsız değildir;
- Belirli bir ortamda bozunma yoluyla kaybedilen miktar, hem ortama özgü bozunma hızı sabiti hem de o ortamda bulunan madde miktarı ile belirlenir (Wania ve Mackay, 2000).

Suda çözünürlük ve buhar basıncı (VP) dahil olmak üzere, bir maddenin uçuculuğu ve ortamlar arası dağılımı üzerinde etkili olan birkaç parametre mevcuttur.

Oktan-ol-hava dağılım sabiti ve Henry Kanunu sabiti dahil olmak üzere uçuculuğun ve ortamlar arası dağılımın değerlendirilmesi için yararlı olabilecek bir dizi parametre de mevcuttur. Bu nedenle, yüksek uçuculuğa sahip bir maddenin kalıcılığı değerlendirilirken yalnızca özel-orta bozunma yarı ömürlerine güvenilmemesi, aynı zamanda bu yarı ömürlerin genel olarak ortamdaki maddenin kalıcılığını kapsayıp kapsamayacağını duruma göre dikkate alınması önerilir. Bu, çoklu ortam davranış modellerinin kullanılmasıyla başarılabılır.

R.7.9.4.4 Bozunma/biyobozunma için kalan belirsizlik

Kolay biyobozunurluk kriterlerini karşılayan maddeler, birçok koşul altında ortamda hızlı bozunmaya uğrayabilir (OECD, 2006b). Ancak, bu testlerin çok sıkı olduğu ve çoğu maddenin kolay biyobozunurluğa ilişkin geçme kriterlerini karşılamayacağı bilinmelidir. Kolay biyobozunurluk testinde %40 ile %60 arasında mineralizasyon gösteren maddeler için, DOC ve BOD gibi özel olmayan sonlanma noktalarının kullanımını bunu doğrudan ölçmese bile önemli ölçüde birincil biyobozunurluk meydana gelmiş olabilir.

Bu nedenle, birçok maddenin biyobozunurluğuna ilişkin büyük ölçüde belirsizlik olacaktır ve daha yüksek seviyelerde veya kademelerde test yapılması gerekecektir.

Mevcut durumda, OECD 308 testi gibi daha yüksek kademeli çalışmalarda genel maddelerin biyobozunurluğuna ilişkin veri seti nispeten küçüktür. Bu testler orijinal olarak bitki koruma ürünleri için tasarlanmıştır ve genel maddelere rutin olarak uygulanmamıştır. Bu tür testlerin biyobozunurluğun en yüksek aşamalı testini oluşturmasına rağmen, kullanımları ile ilgili belirsizlikler vardır.

Bir örnek, bozunma yarı ömürlerinin çevresel ortamlardan inokülüm ve test ortamı numunelerinin alındığı farklı alanlar arasında çeşitlilik gösterebilmesidir. Diğer bir örnek, OECD 308 testinin katı anaerobik test kısmını yürütmenin değerinin ne olduğunun ve bu verilerin KGD'de nasıl kullanılabileceğinin belirsiz olmasıdır.

İlgili ortamların belirlenmesi, doğru kullanımın ve emisyon verilerinin veya çevresel uzun süreli transfer için potansiyel olarak ilgili verilerin bulunmadığı durumlarda sorunlu olabilir. Bu tür veriler kapsamlı ve doğru ise güven artırılabilir.

R.7.9.5 Bozunmaya/biyobozunmaya ilişkin sonuçlar

R.7.9.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç³⁶

Çevresel zararlılık sınıflandırması, sucul toksisite, bozunma ve biyobirikim hakkında bilgi gerektirir. "Kimyasalların sınıflandırılması ve etiketlenmesine ilişkin Küresel Uyumlaştırılmış Sistem (GHS)" (Birleşmiş Milletler GHS (Rev.1) 2005³⁷) / SEA'da uygun risk ifadeleri veya zararlılık ifadeleri genellikle bu bilgilerin birleştirilmesine dayanmaktadır. Ancak, BTS tek başına bozunma hususlarıyla ilgili olduğundan, bu bütünleşik yaklaşım burada ele alınmamaktadır.

AB ve GHS sınıflandırma kriterlerinin bozunurluk ile ilgili bölümünün altında iki hususun değerlendirilmesi gerekir:

³⁶ Daha güncel bilgiler için, Nisan 2012'de güncellenen *SEA Kriterleri Uygulama Rehberi*, Bölüm 4.1.3.2.3.2 ve Ek 2'ye bakınız.

³⁷ Lütfen rev. 4'ün mevcut olduğunu unutmayınız (http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/04files_e.html)

GHS/SEA:

- "Kolay bozunabilirlik eksikliğinin" olup olmadığı
- "Kolay bozunurluğa ilişkin başka kanıtların" olup olmadığı

Bozunma ile ilgili bilgilerin yorumlanmasına ilişkin rehberlik Ek 9'da daha da geliştirilmiştir (Birleşmiş Milletler GHS (Rev.1) 2005²¹)/ SEA. OECD tarafından uluslararası kabul görmüş olan bu ikinci rehber, sınıflandırma ile ilgili bozunma verilerinin uygunluğuna ilişkin bu rehberin temel dayanağını oluşturmaktadır. Sınıflandırma ve test stratejilerine ilişkin kararların amaçları için, "kolay bozunur değildir" ve "hızlı bozunma yoktur" terimleri eş anlamlı olarak kabul edilebilir.

Karar kriterleri, çevresel zararlılık sınıflandırmasına ilişkin bir kararda kullanım ile ilgili mevcut bilgilerin uygunluğunun değerlendirilmesi için bu hususlara odaklanmalıdır. BTS'nin her adımında, mevcut bilgilerin yukarıda açıklanan hususlara göre değerlendirilmesi gerekmektedir. Kolay (veya hızlı) bozunabilirliğin tanımı hem biyotik hem de abiyotik bozunmayı kapsamaktadır. Çoğu çevresel koşul altında hidroliz, başlıca abiyotik uzaklaştırma süreci olacaktır. Biyotik veya abiyotik bozunmanın biri veya her ikisi ile ilgili veriler, hızlı bozunmaya ilişkin bir kararın verilmesinde yeterli olacaktır.

Bozunma, maddenin karbondioksite ve suya tamamen ayrışmasının (nihai bozunma) veya daha basit bir şekilde, ana maddenin ortamdaki uzaklaştırılmasının (birincil bozunma) ölçülmesiyle izlenebilir. Nihai bozunmanın tercih edilmesine rağmen birincil bozunma, belirli koşulların karşılanmadığı durumlarda her bir bozunma testindeki geçiş seviyelerinin tanımlanabilmesi için kullanılabilir. Birincil biyobozunurluğa ilişkin veriler, oluşan bozunma ürünlerinin sucul ortam için zararlı olarak sınıflandırılmasına yönelik kriterleri karşılamadığının tatmin edici bir şekilde gösterilebilmesi halinde hızlı bozunabilirliğin gösterilmesi için kullanılabilir.

Genel olarak, deneysel verilerin ve yapısal olarak benzer maddelerden ek verilerin bulunmadığı durumlarda, bir maddenin hızlı bir şekilde bozunmadığı kabul edilmelidir. Bununla birlikte, aşağdaki test dışı veri türlerinin sınıflandırma amaçları için kolay veya hızlı bozunurluk kararına katkıda bulunduğu düşünülebilir.

QSAR Verileri

Deneysel veya çevresel verilerin bulunmadığı durumlarda, Bölüm R.7.9.3.1'de açıklanan QSAR modellerinden elde edilen tahminler düşünülebilir. Biyobozunurluğa ilişkin (Q)SAR'dan türetilmiş bilgilerin AB'de sınıflandırma amacıyla nasıl kullanılacağına dair resmi bir karar alınmamıştır. GHS'nin geliştirilmesiyle ilgili olarak, nicel yapı-aktivite ilişkilerinin kolay biyobozunurluğun tahmin edilmesindeki kullanımını dikkate alınır (Birleşmiş Milletler GHS (Rev.1) 2005). Kolay biyobozunurluğun tahminine ilişkin nicel yapı-aktivite ilişkilerinin normalde hızlı bozunmanın tahmin edilebilmesi için yeterince doğru olmadığı belirtilmektedir. Bununla birlikte, bozunabilirliğe ilişkin hiçbir yararlı bilginin mevcut olmadığı durumlarda - deneysel olarak türetilmiş ya da tahmin edilmiş - maddenin kolay biyobozunur olmadığının veya hızlı bir şekilde bozunmadığının kabul edilmesi ve (Q)SAR tahmininin bunun destekleyici bir kanıtı olarak kullanılabilmesi genel bir kuraldır.

(Q)SAR tahminlerinin farklı sonuçlarının kullanılabilirliğine ilişkin bu ayrımın nedeni, test verileri ve (Q)SAR tahminleri arasında yürütölen doğrulamaların ve karşılaştırmaların, genel olarak yavaş biyobozunurluğun doğru bir şekilde tahmin edilme olasılığının yüksek olduğunu, ancak hızlı biyobozunurluğun doğru bir şekilde tahmin edilme olasılığının önemli ölçüde daha düşük olduğunu göstermesidir (örneğin, OECD 2004).

Ancak bu, (Q)SAR tahminlerinin kolay biyobozunabilirlik test verileriyle karşılaştırılması ve kolay olmayan biyobozunurluk tahminlerinin hassasiyeti ile özgüllüğünün söz konusu belirli (Q)SAR modeline bağlı olması doğrulama çalışmalarına dayanmaktadır (bkz. OECD 2004:ENV/JM/TG(2004)26Rev1 ve buradaki referanslar). Bununla birlikte, genel olarak bir maddenin yavaş biyobozunur olduğunun tahmin edildiği ve hiçbir test verisinin bulunmadığı durumlarda, zararlılık sınıflandırmasının amaçları doğrultusunda biyobozunurluğa ilişkin yeterli bilgilerin mevcut olduğu kabul edilir. Bir maddenin kolay biyobozunur olduğunun tahmin edildiği durumlarda, normalde daha fazla bilginin toplanması gereklidir (Birleşmiş Milletler GHS (Rev.1) 2005³⁸).

Yapısal olarak ilgili maddeler

Deneysel verilerin bulunmadığı durumlarda, sucul ortamdaki hızlı bozunma potansiyeli, yapısal olarak ilgili maddelere ilişkin mevcut verilerin incelenmesiyle de değerlendirilebilir. Böyle bir değerlendirmede her zaman uzman değerlendirmesinin bir unsuru olması gerekecektir, ancak bu yaklaşım özellikle yukarıda açıklanan QSAR tahmininin hızlı bozunmayı önerdiği durumlarda ilgili olabilir. Böyle bir tahminin yapısal olarak benzer maddelerden elde edilen deneysel kanıtlarla desteklendiği durumlarda, bu tahmin, sınıflandırma amacıyla hızlı bozunurluğa ilişkin ikna edici bir kanıt olarak düşünülebilir. Aynı şekilde, benzer yapılara ilişkin bu tür veriler, hızlı bozunurluğun olmadığına dair kanıt sağlayabilir. Genel olarak, uzman görüşünün koruyucu bir şekilde kullanılması gereklidir.

Sınıflandırmada kullanıma uygun bozunma verileri

Kolay Biyobozunurluk

Kolay biyobozunurluk, OECD Test Rehberleri No. 301'de (OECD 1992) tanımlanmıştır. Standart bir OECD kolay biyobozunurluk testinde veya benzer bir testte geçme seviyesinden daha yüksek bir seviyede bozunan tüm organik maddeler, kolay biyobozunur ve dolayısıyla da hızlı bozunur olarak kabul edilmelidir. Bununla birlikte, literatürden elde edilen birçok test verisi, testin kolay biyobozunabilirlik testinin gerekliliklerini karşılayıp karşılamadığının gösterilebilmesi için değerlendirilmesi gereken tüm koşulları belirtmemektedir.

Bununla birlikte, Bölüm R.7.9.4'te tanımlanan kısıtlamaların ve kalite kriterlerinin kapsamında bir test yapılması koşuluyla, sınıflandırma amaçları doğrultusunda kolay biyobozunurluk testi olarak kabul edilebilir. Sınıflandırma kapsamında, bireysel test geçiş seviyeleri kriterlerin önemli bir parçası olarak kabul edilir.

Kolay biyobozunurluk testlerinde çelişkili sonuçlar elde edildiğinde, pozitif sonuçların bilimsel kalitesinin iyi olduğu ve bu sonuçların önceden maruz kalmamış inokülüm (alıştırılmamış) kullanımının güvenilirliği ile birlikte iyi bir şekilde belgelendiği durumlarda pozitif sonuçlar negatif sonuçlara bakılmaksızın geçerli sayılabilir. (Birleşmiş Milletler GHS (Rev.1) 2005³⁹). Ancak, kullanılacak uygun sonuca karar verilmeden önce, sonuçtaki farklılıklar için basit veya net bir açıklamanın olup olmadığının belirlenebilmesi amacıyla veriler dikkatli bir şekilde incelenmelidir. Çeşitli tarama testlerinin tümü, her maddenin testi için uygun değildir ve belirli bir madde için uygun olmayan bir test işleminin kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar, kullanıma ilişkin bir karar alınmadan önce dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir (bkz. Bölüm R.7.9.4).

Lütfen rev. 4'ün mevcut olduğunu unutmayınız
(http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/04files_e.html)

³⁹ Lütfen rev. 4'ün mevcut olduğunu unutmayınız
(http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/04files_e.html)

Aynı şekilde, mümkün olması halinde pozitif bir sonucun yapay olarak önceden alıştırılmış inokülümün bir sonucu olmadığından emin olunabilmesi için inokülüm kaynağı kontrol edilmelidir.

Bununla birlikte, standart ve geçerli bir metodoloji kullanılarak olumlu bir sonucun elde edildiği durumlarda, bu sonuç, diğer olumsuz sonuçlardan bağımsız olarak sınıflandırma için hızlı bozunmanın belirlenebilmesi amacıyla kullanılacaktır. Bu sonucun sorgulanabilmesine ilişkin güçlü *Kanıt Ağırılığı* veya yapısal nedenler olmadığı sürece bu durum doğru olacaktır.

Değiştirilmiş kolay biyobozunurluk testleri

Belirli bir maddenin test edilmesine ilişkin standart rehberlerin değiştirilmesinin gerekli olabileceği durumlar vardır. Bu özellikle suda az çözünür maddeler ve ayrıca mikroorganizmalarda toksik etkiye neden olan test konsantrasyonlarındaki maddeler için geçerlidir. Bu değişiklikler Bölüm R.7.9.4'te açıklanmaktadır. Bu tür testler, kolay biyobozunurluk testleri olarak kabul edilir ve sınıflandırmada doğrudan kullanılabilir.

BOD5/COD

5 günlük biyokimyasal oksijen ihtiyacına (BOD5) ilişkin bilgiler, yalnızca ölçülen başka bozunabilirlik verilerinin mevcut olmadığı durumlarda sınıflandırma amacıyla kullanılabilir. Bu nedenle, kolay biyobozunurluk testlerinden ve sucul ortamdaki bozunabilirlikle ilgili simülasyon çalışmalarından elde edilen verilere öncelik verilmektedir. BOD5 testi yerini artık kolay biyobozunurluk testlerinin aldığı klasik bir biyobozunurluk testidir. Bu nedenle, maddelerin kolay biyobozunurluğunun değerlendirilmesi için bu testin günümüzde gerçekleştirilmemesi gerekir. Bununla birlikte, bozunurluğa ilişkin başka test verilerinin mevcut olmadığı durumlarda eski test verileri kullanılabilir. Kimyasal yapısı bilinen maddeler için teorik oksijen ihtiyacı (ThOD) hesaplanabilir ve bu değer kimyasal oksijen ihtiyacı (COD) yerine kullanılmalıdır.

28 günden az test süresi

Bazı durumlarda standartlarda belirtilen 28 günlük test süresinden önce sonlandırılan testler için bozunurluk rapor edilir (örneğin, MITI (1992) test verileri). Elbette bu veriler, geçiş seviyesinden daha büyük veya geçiş seviyesine eşit bir bozunma elde edildiğinde doğrudan uygulanabilir. Daha düşük bir bozunurluk seviyesine ulaşıldığında, sonuçların dikkatle yorumlanması gerekir. Olasılıklardan biri, test süresinin çok kısa olması ve kimyasal yapının 28 günlük bir biyobozunurluk testinde muhtemelen bozunmuş olmasıdır. Kısa bir süre içinde önemli ölçüde bozunmanın meydana gelmesi halinde, bu durum BOD5/COD ≥ 0.5 kriteri veya 10 günlük (OECD 301A, C, D, E ve F) veya 14 günlük (OECD 301B) zaman penceresi içindeki bozunma gereklilikleri ile karşılaştırılabilir. Bu gibi durumlarda, bir madde aşağıdaki durumlarda kolay bozunabilir (ve dolayısıyla hızlı bozunabilir) kabul edilebilir:

- nihai biyobozunabilirliğin 5 gün içinde %50'yi aşması halinde ve
- bu süre içinde test sistemindeki nihai bozunurluk hızı sabitinin, test sisteminde 7 günlük bir yarı ömre karşılık gelen 0.1 gün^{-1} 'den büyük olması halinde (bkz. Bölüm R.7.9.11).

Diğer ikna edici bilimsel kanıtlar

Sucul ortamdaki hızlı bozunma, yukarıda kapsanan standart değerlendirme yöntemleri kullanılarak atıfta bulunulan verilerden farklı verilerle gösterilebilir. Bu veriler, biyotik ve/veya abiyotik bozunma verileri olabilir. Birincil bozunmaya ilişkin veriler, yalnızca bozunma ürünlerinin sucul ortam için zararlı olarak sınıflandırılmaması gerektiğinde, yani sınıflandırma kriterlerini karşılamadıklarının kanıtlandığı durumlarda kullanılabilir.

Maddenin sucul ortamda 28 günlük bir süre içinde > %70 seviyesine bozunduğuna dair bilimsel kanıt sağlanmalıdır. Çoğu sucul ortamda yaygın olan düşük madde konsantrasyonlarında uygun birinci dereceden kinetiğin varsayılması halinde, bozunma hızı 28 günlük dönem için nispeten sabit olacaktır. Böylece, bozunma gereksinimi, 16 günlük bir bozunma yarı ömrüne karşılık gelen ortalama bir bozunma hızı sabiti, $k > 0.043 \text{ gün}^{-1}$ ile karşılanacaktır. Bu yarı ömür kriterinin karşılanıp karşılanmadığı belirlenirken, çalışmanın sıcaklığının uygun bir şekilde göz önünde bulundurulmasını sağlayabilmek için özen gösterilmelidir.

Bu kriterin yerine getirilmesine ilişkin verilerin değerlendirilmesi, uzman kararı ile duruma göre gerçekleştirilmelidir. Bununla birlikte, sucul ortamda hızlı bir bozunmanın olduğunun gösterilebilmesi için kullanılacak çeşitli veri türlerinin yorumlanmasına ilişkin rehberlik aşağıda sağlanmıştır. Genel olarak, yalnızca sucul simülasyon testlerinden elde edilen veriler doğrudan uygulanabilir kabul edilir. Bununla birlikte, diğer çevresel ortamlardan elde edilen simülasyon testi verileri de kabul edilebilir, ancak bu tür veriler, kullanılmadan önce genel olarak daha bilimsel yargı gerektirir.

Hidroliz

Hidroliz, nihai bir bozunma değildir ve bazılarının sadece yavaş bir şekilde bozunabildiği çeşitli ara bozunma ürünleri oluşabilir. Hidroliz çalışmalarından elde edilen veriler, yalnızca oluşan hidroliz ürünlerinin sucul ortam için zararlı olarak sınıflandırılma kriterlerini karşılamadığının tatmin edici bir şekilde kanıtlandığı durumlarda dikkate alınabilir.

Bir madde hızlı bir şekilde hidrolize edildiğinde (örneğin $t_{1/2} < \text{birkaç gün}$ ile), bu süreç biyobozunurluk testlerinde belirlenen bozunmanın bir parçasıdır. Hidroliz, genel olarak biyobozunumda ilk dönüşüm sürecidir.

Sucul simülasyon testleri

Sucul simülasyon testleri, laboratuvarında yapılan ancak çevresel koşulları temsil eden ve inokülüm olarak doğal numuneler kullanan testlerdir. OECD 303 testinin sucul ortamdaki koşulları temsil etmediği, ancak atık su arıtma tesislerindeki koşulları temsil ettiği ve dolayısıyla bu testin sonuçlarının sınıflandırma için geçerli olmadığı unutulmamalıdır. Sucul temsil testlerinin sonuçları (mineralizasyon hızı, bozunma yarı ömrü), yüzey sularındaki gerçekçi çevre koşullarının temsil edildiği durumlarda sınıflandırma amacıyla doğrudan kullanılabilir. Bu tür testler Bölüm R.7.9.3'te açıklanmaktadır.

Toprağa ve çökeltiye ilişkin bozunma verileri

Emici olmayan (lipofilik olmayan) çoğu madde için topraktaki ve yüzey suyundaki bozunma hızlarının az ya da çok aynı bulunduğu iddia edilmiştir. Yüzeye tutunan maddeler için, emiciliğin neden olduğu sınırlı hareketsizleşmeye bağlı olarak genellikle toprakta su fazındaki bozunma hızından daha düşük bir bozunma hızı beklenir.

Bu nedenle, toprakta gerçekleştirilen bir temsil çalışmasında yüze tutunan bir maddenin hızla bozunduğunun gösterildiği durumlarda bu madde büyük olasılıkla sucul ortamda da hızla bozunur. Bu nedenle, toprakta deneysel olarak belirlenen bir bozunmanın yüzey sularında meydana gelen hızlı bir bozunma için yeterli belge oluşturduğu önerilmektedir. Bu tür testler Bölüm R.7.9.3'te açıklanmaktadır.

Saha incelemeleri:

Laboratuvar simülasyon testlerine paralel olarak gerçekleştirilen testler, saha araştırmaları veya mezokozma deneyleridir. Bu tür çalışmalarda, ortamlardaki veya çevresel muhafazalardaki maddelerin davranışı ve/veya etkileri araştırılabilir. Bu tür deneylerden elde edilen davranış verileri, hızlı bir bozunurluk potansiyelinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılabilir. Ancak bu, nihai bir bozunmanın gösterilebilmesini gerektirdiğinden, genellikle zor olabilir. Bu, bozunmayan ara ürünlerin oluşmadığını gösteren ve örneğin diğer işlemler (örn. çökeltiye emilim veya sucul ortamdan uçuculuk) nedeniyle sucul sistemden giderilen oranları göz önünde bulunduran kütle dengelerinin hazırlanması sonucunda belgelenebilir. Genel olarak mezokozmalar ve saha çalışmaları, sınıflandırma ve etiketleme amacıyla kullanılmaz.

İzleme verileri

Temsili izleme verileri, kirleticilerin sucul ortamdan giderildiğini gösterebilir. Bununla birlikte, bu tür verilerin sınıflandırma amacıyla kullanılması çok zordur. Kullanılmadan önce aşağıdaki hususlar dikkate alınmalıdır:

- gidermenin bozunmanın bir sonucu mu, yoksa diğer işlemlerin (örneğin, ortamlar arasındaki seyreltme veya dağılım (soğurma, buharlaşma)) bir sonucu mu olduğu
- bozunmayan ara ürünlerin oluşumunun dahil edilip edilmediği

Bu tür veriler, yalnızca nihai bozunmanın bir sonucu olarak gidermenin hızlı bozunabilirlik kriterlerini karşıladığının kanıtlandığı durumlarda sınıflandırma amaçları için doğrudan kullanılabilir. Genel olarak, izleme verileri yalnızca sucul ortamdaki kalıcılığın veya hızlı bir bozunmanın gösterilebilmesine ilişkin destekleyici kanıt olarak kullanılabilir.

Sınıflandırmada kullanıma uygun olmayan bozunma verileri

Kendiliğinden biyobozunurluk testleri

Kendiliğinden biyobozunurluk testlerinde %70'den fazla bozunan maddeler nihai biyobozunurluk potansiyeline sahiptir (OECD Test Rehberleri). Bununla birlikte, bu testlerdeki optimum koşullar nedeniyle, kendiliğinden biyobozunabilen maddelerin ortamda hızlı biyobozunur olduğu varsayılmaz. Kendiliğinden biyobozunurluk testlerindeki optimum koşullar, mikroorganizmaların alıştırılmasını teşvik eder ve böylece doğal ortamlara kıyasla biyobozunurluk potansiyelini artırır.

Bu nedenle, bu testlerdeki olumlu sonuçlar, ortamdaki hızlı bozunmanın kanıtı olarak yorumlanmamalıdır.

AAT simülasyon testleri

Bir atık su arıtma tesisinde (AAT) (örneğin, OECD 303) koşulları simüle eden testlerin sonuçları, sucul ortamdaki bozunmanın değerlendirilebilmesi amacıyla kullanılamaz.

Fotokimyasal bozunma

Fotokimyasal bozunmaya ilişkin bilgilerin (bkz. OECD Rehber Dokümanı (97)21) sınıflandırma amacıyla kullanılması zordur. Sucul ortamdaki fotokimyasal bozunmanın gerçek derecesi yerel koşullara (suyun derinliği, askıda katı maddeler, bulanıklık, vb.) bağlıdır ve bozunma ürünlerinin zararlılığı genel olarak bilinmemektedir. Muhtemelen, fotokimyasal bozunmaya bağlı kapsamlı bir değerlendirmeye ilişkin yeterli bilgi bazı durumlarda mevcut olacaktır.

Uçuculuk

Maddeler bazı sucul ortamlardan buharlaşma yoluyla uzaklaştırılabilir. Genel olarak bu veriler bozunmayı temsil etmez ve sınıflandırmada kullanılmaz. Bunun nedeni, sucul ortamdaki buharlaşma derecesinin, derinlik ve gaz değişimi katsayıları (rüzgar hızına ve su akışına bağlı olarak) gibi söz konusu özel su kütlesinin çevresel koşullarına büyük ölçüde bağlı olmasıdır. Bu nedenle, genel olarak Henry Kanunu sabiti, maddelerin sudaki zararlılık sınıflandırmasıyla ilişkili olarak bozunmanın (bir maddenin su fazından giderilmesi) değerlendirilebilmesi amacıyla kullanılamaz. Bununla birlikte, ortam sıcaklığında gaz olan maddeler bu genel tavsiyeden muaf tutulabilir.

R.7.9.5.2 PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç

PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11'de sağlanmaktadır.

R.7.9.5.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Bozunma verileri kimyasal güvenlik değerlendirmesinde şu amaçlarla kullanılır:

- Atık Su Arıtma Tesisindeki bir maddenin atık sudan giderilme seviyesinin belirlenmesi
- $PEC_{\text{toprak, yerel}}$ değerinin hesaplanabilmesi için ilk toprak konsantrasyonunu belirlenmesi
- her bir çevresel ortam için kararlı durum $PEC_{\text{bölgesel}}$ değerinin belirlenmesi.

Kolay Biyobozunurluk

Kolay biyobozunurluğa ilişkin veriler kullanılabilir ve Ek 7'nin bir gerekliliğidir. Veriler, 10 günlük pencere kriterlerinin karşılanıp karşılanmadığı da dahil olmak üzere, uygun test eşiklerine göre geçme veya kalma durumu bilgilerini içermelidir. Çözünürlüğü düşük olan maddeler için, [Bölüm R.7.9.4](#)'te açıklanan test protokolündeki düzenlemeler kabul edilebilir. Aynı şekilde, bu verilerin mevcut olması halinde birincil bozunma temelinde test eşikleri de uygulanabilir, ancak birincil bozunmanın temel bozunma yolu olarak kabul edildiği durumlarda bozunma ürünlerine ilişkin daha fazla bilgi gerekebilir.

Kolay biyobozunabilir maddeler için, çevresel ortamdaki (örneğin yüzey suyu, çökelti ve toprak) bölgesel konsantrasyonlar Mackay seviye 3 modelleri kullanılarak hesaplanabilir. Bu tür kolay biyobozunabilir maddeler için varsayılan bozunma hızları girdi değerleri olarak kullanılabilir (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.16'daki Başlık R.16.4.2.3 ve Ek A.16.3.2.2'ye bakınız).

Hidroliz

Hidrolizin baskın bir bozunma yolu olması durumunda hidroliz testinden elde edilen veriler kullanılabilir. Bu veriler aynı zamanda aşağıdakilerin belirlenebilmesi için de kullanılabilir:

- sucul toksisite verilerinin oluşturulmasında ve yorumlanmasında sorunların ortaya çıkabileceği yerler
- başlıca bozunma ürünlerinin daha fazla dikkat gerektirdiği bir bozunmanın meydana gelebileceği yerler
- PEC_{bölgesel} değerinin belirlenmesinde bozunma hızı sabitinin düzenlenmesi gerektiğinde

Örneğin hızlı hidroliz, birincil biyobozunurluk ile aynı şekilde AAT'ye giren bir maddenin davranışını etkileyebilir ve potansiyel hidroliz ürünlerinin daha fazla araştırılmasını gerektirebilir. Verilerin, hidroliz çalışmasının yalnızca tarama kısmı için mevcut olduğu durumlarda, niceliksel çok az bilgi mevcuttur ve bir çevresel hız sabitinin hesaplanması mümkün değildir. Bu durum, tahmini bozunma yarı ömrünün < 24 saat olduğu durumlarda çevresel bozunmanın açık bir kanıtını da sağlayacaktır ve herhangi bir bozunma ürününün tanımlanması ve daha fazla değerlendirilmesi dikkate alınmalıdır.

4 - 9 arasındaki çevresel pH değerlerinde (bkz. Test Rehberi 111) hidroliz verilerine ihtiyaç vardır ve bu veriler KGD'de kullanılmadan önce sıcaklık için düzeltilmelidir. (bkz. Bölüm R.7.9.4).

Kendiliğinden biyobozunurluk:

Özellikle Zahn-Wellens veya MITI (II) çalışmalarından (OECD 302B ve C) olmak üzere, kendiliğinden biyobozunurluk ile ilgili bilgilerin mevcut olduğu durumlarda bu veriler, Bölüm R.7.9.4'te ayrıntılı olarak açıklanan özel kriterlerin karşılanıp karşılanmadığının belirlenebilmesi amacıyla incelenmelidir. Bu kriterlerin karşılandığı durumlarda bilgiler, Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi sırasında bir maddenin AAT'deki davranışının belirlenmesine ve kendiliğinden bozunabilen maddeler için varsayılan bozunma hızları ile Mackay seviye 3 modelleri kullanılarak yüzey suyundaki, çökeltideki ve topraktaki bölgesel çevresel konsantrasyonların hesaplanabilmesine yardımcı olmak amacıyla kullanılabilir (bkz. Bölüm R.16).

Kendiliğinden biyobozunurluk testindeki geçiş seviyesi (> %70) bozunması, belirli bir AAT'nin alıştırılmış olarak kabul edilebileceği kolay biyobozunurluk testindeki bir geçiş seviyesine benzer şekilde kullanılabilir. Bu, KGD Rehberi'nde daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır (*BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.16.4.2.3'e ve Ek A.16.3.2.2'ye bakınız). Yukarıda açıklananlara göre diğer durumlarda, kendiliğinden biyobozunurluk testlerinden elde edilen veriler KGD'de kullanılmaz.

Fotokimyasal bozunma

Doğrudan fotolize ilişkin bilgilerin KGD'de yorumlanması zordur çünkü sucul ortamdaki önemi yerel koşullara (suyun derinliği, askıda katı maddeler, bulanıklık vb.) bağlıdır. Bununla birlikte, çevresel açıdan gerçekçi ve sahaya özgü koşullar için bir bozunma hızı sabitinin türetilmediği durumlarda bu bilgilerin yerel koşullara ilişkin bilgiler ile gerekçelendirildikleri bir değerlendirmede kullanılması mümkündür. Dolaylı fotolitik bozunma yarı ömrüne ilişkin bilgiler, ışık yoğunluğu (enlem ve mevsim, gün uzunluğu) ve havadaki hidroksil radikallerinin konsantrasyonu hakkındaki genel varsayımlar kullanılarak havadaki genel bölgesel konsantrasyonların tahmininde kullanılabilir.

Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesini Yinelenmesi

Aşağıdaki bilgiler ve testler, mevcut olması halinde tarama değerlendirmesinin daha fazla geliştirilmesi gerektiği durumlarda dikkate alınabilir veya Ek 6 - Ek 10'a göre gerçekleştirilen testlerin bir sonucu olarak oluşturulabilir.

Atık Su Arıtma Tesisi Simülasyon Testi

Tarama seviyesinde SIMPLETREAT gibi modeller, yukarıda tarif edilen basit biyobozunurluk tarama testlerine bağlı olarak bir AAT'deki bozunma seviyesinin tahmin edilebilmesi amacıyla kullanılır. Bir AAT simülasyon testi, gerçekçi çalışma koşulları altında bir maddenin doğrudan giderilmesine ilişkin ölçü sağlamalıdır. Bu nedenle, atık su arıtma tesislerinde biyobozunurluğun ve/veya giderimin değerlendirilmesi, OECD 303A veya OECD 314 serisi testleri gibi arıtma tesislerindeki koşulları simüle eden testlerin sonuçlarına dayanmalıdır. Önceki testin bozunmaya ilişkin doğrudan bir ölçüm vermediği, ancak bozunma ve yüzeye tutunma dahil olmak üzere bir AAT ile karakterize edilen test maddesinin giderilmesini sağladığı belirtilmelidir. Normalde iç akış ve dış akış DOC veya özel bir analiz kullanılır, konsantrasyon malzemesi kullanılabilir ve tam bir kütle dengesi elde edilebilir.

Standart hale getirilmemiş testlerden ve/veya İLU ilkelerine göre gerçekleştirilmeyen testlerden elde edilen veriler, uzman değerlendirmesinde, bunlara ilişkin hesaplama modellerinin (örneğin, SimpleTreat) dayandığı standart hale getirilmiş bozunma testlerinin sonuçlarına eşdeğer olduğunun doğrulandığı durumlarda kullanılabilir.

Aynı AAT izleme verileri (yani yerinde giriş suyu/çıkış suyu) için de geçerlidir.

Çevresel Simülasyon Testleri

KGD bazı durumlarda belirli bir emisyonun veya yüklemekten çevresel ortama gelebilecek 'bölgesel' konsantrasyonun veya temel kararlı hal konsantrasyonunun oluşturulmasını gerektirecektir. Bu konsantrasyonlar, çevresel ortamlar arasındaki taşıma özelliklerinin girdilerini ve her ortam için bozunma hızlarını gerektiren standart termodinamik basınç modelleri kullanılarak hesaplanır. Tarama seviyesinde, bunlar yukarıda açıklanan basit tarama verilerinden tahmin edilmektedir. Bu bozunma hızlarının iyileştirilmesi gerektiğinde, çevresel simülasyon testlerinden elde edilen veriler kullanılabilir. Seçilen belirli testler, ilgili ortam(lar)ı simüle etmeye çalışmalıdır. Bu testler Ek 9 - Ek 10'da listelenen gerekliliklerdir. Özel testlerden hangisinin seçilmesi gerektiğine ilişkin karar Bölüm R.7.9.4 ve R.7.9.6'da ele alınmıştır.

Buna ilave olarak, toprak çevre simülasyon testi, yerel PEC toprağının daha sonra yenilebilmesi için de kullanılabilir. Bu durumda ilk konsantrasyon, birkaç yıllık maruz kalma varsayımına bağlı olarak hesaplanır ve bunu atık su çamurunun araziye dağılımından kaynaklanan ek bir yük takip eder.

Hem başlangıç konsantrasyonu hem de eklenen konsantrasyon, bir simülasyon testinde ölçülen toprak bozunma hızı sabiti ile yenilenebilir.

Saha verileri

Mezokozmalar, lizimetreler vb. gibi bir dizi saha araştırma yaklaşımı Bölüm R.7.9.4'te açıklanmaktadır. Bu yaklaşımlar normalde sadece bozunma süreçlerinin ölçülebilmesi için tasarlanmamıştır. Bu nedenle, kriterlere karşı doğrudan okunabilen bir bozunma yarı ömrü sağladıkları düşünülemez.

R.7.9.5.4 Yeterli olmayan bilgiler

KKDİK'in bilgi gerekliliklerinde belirtilen bilgi türlerinin dışındaki diğer bilgilerin kullanımının ön koşulu, bu tür bilgilerin tek başına veya diğer bilgilerle birlikte aşağıdakileri karşılamasıdır:

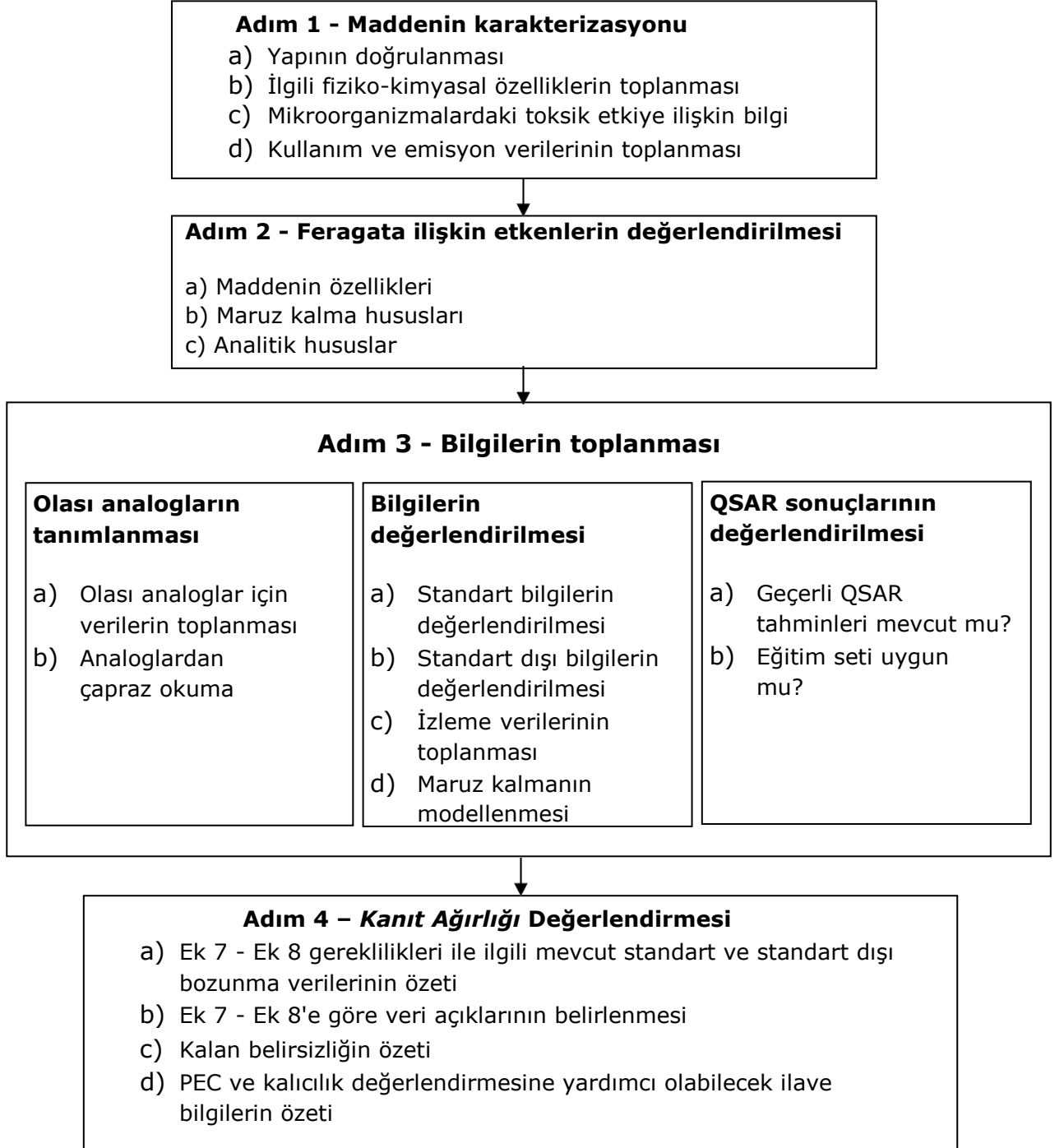
- standart testlerle elde edilebilecek sonuçlara eşdeğerdir
- üç düzenleyici sonlanma noktası (Sınıflandırma ve Etiketleme, PBT değerlendirmesi ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi) için yeterlidir. Eşdeğerliğin ve yeterliliğin, uzman görüşü kullanılarak ve mevcut tüm bilgilerden en iyi şekilde yararlanılarak bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı ile doğrulanması gerekecektir.

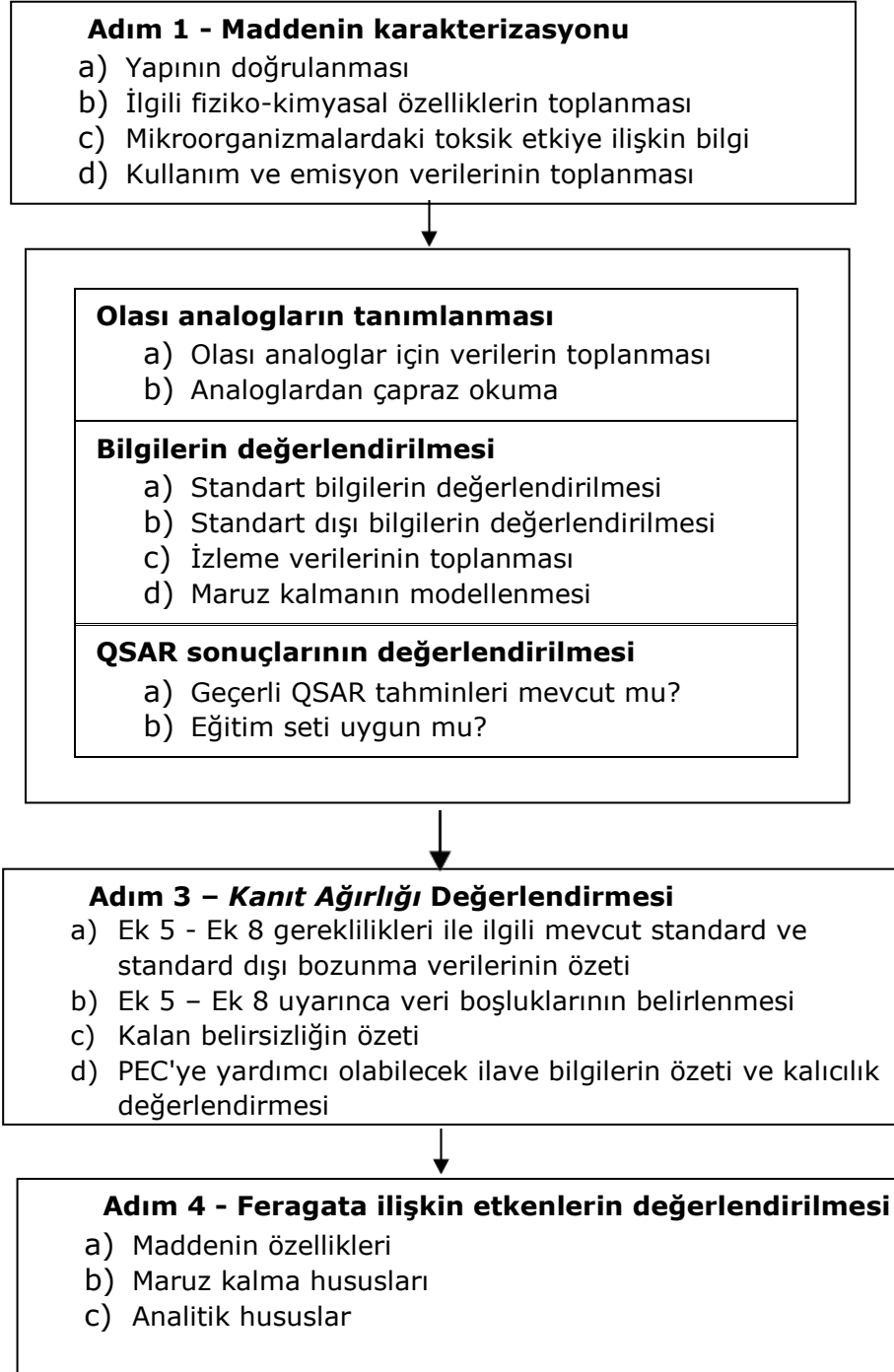
Kanıt Ağırlığı, "bütünleşik test stratejileri (BTS)" ile yakından bağlantılıdır, çünkü mevcut kanıtlar daha sonraki test aşamalarının belirlenmesine yardımcı olabilir. Daha sonraki testlerden elde edilen sonuçlar *Kanıt Ağırlığı* etkiler, bu da daha fazla teste ihtiyaç olup olmadığı konusunda yeni bir karara yol açar. Bütünleşik test stratejileri esnek olacak şekilde tasarlanmıştır ve duruma göre uygulanır.

Aşağıdaki şema, bir *Kanıt Ağırlığı* kararına ilişkin mevcut tüm bozunurluk verilerinin nasıl kullanılacağı ile ilgili sistematik bir yaklaşımın ana hatlarını çizmektedir (Sekil R.7.9-2). Ek veri gerekliliğini içerebilecek ve genel bir sonuca varılabilmesi hususunda yararlı olabilecek farklı bilgi türlerinin değerlendirilmesi için aşamalı bir işlem sağlar. Şema, sırası verilerin kalitesine ve miktarına bağlı olan esnek bir adım dizisi önerir. Mevcut bilgilerin değerlendirmesinden ziyade fiziko-kimyasal özelliklerle ilgili bilgilerin toplamı olan Aşama 1, diğer bilgilerin daha fazla değerlendirilebilmesi için bir ön koşuldur. Tüm adımlar, üç ayrı faaliyetle ilişkilendirilir: (i) bilgilerin toplanması, (ii) her bir bilgi parçasının kalitesinin değerlendirilmesi ve son olarak (iii) mevcut tüm bilgilerin genel değerlendirilmesi.

Kanıt Ağırlığı, farklı kaynaklardan gelen bilgilerin birleştirilmesini ve belirsizliğin çeşitli yönlerine bağlı olarak bir maddenin bozunurluğu hakkında sonuca varmayı amaçlayan bir karar verme eylemidir. Genellikle uzman görüşü gerektirir. Bu uzman görüşünün şeffaf ve anlaşılır kılınabilmesi için kullanılan tüm bilgilerin, değerlendirme sürecinde gerçekleştirilen tüm adımların ve çıkarılan tüm sonuçların eksiksiz belgelendirilmesi ve gerekçelendirilmesi esastır.

Şekil R.7.9—2 Bozunurluk Değerlendirmesine İlişkin Kanıt Ağırlığı Yaklaşımı





Adım 1 - Maddenin Karakterizasyonu

Başlangıçta, maddeye ilişkin çok fazla verinin toplanması önemlidir. Bu bilgiler arasında CAS numarası, kimyasal formülü, kimyasal yapısı, saflığı ve bilinen herhangi bir izomerinin olup olmadığı yer alır.

İlgili OECD teknik rehberleri kullanılarak belirlenen aşağıdaki fiziko-kimyasal özelliklere ilişkin bilgiler de istenir: buhar basıncı, suda çözünürlük, kesikli denge yöntemi kullanılarak yüzeye tutunma - yüzeyden sıyrılma, dağılım katsayısı (n-oktanol/su), sudaki ayrışma sabitleri, dağılım katsayısı (n-oktanol/su) - HPLC yöntemi ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak Toprak ve Atık Su Arıtma Çamuru Üzerindeki Yüzeğe Tutunma Katsayısının (K_{oc}) Tahmini.

Mevcut biyobozunurluk verileri değerlendirilmeden veya yeni biyobozunurluk verilerine gerek duyulmadan önce, maddelerin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisine ilişkin bilgilerin değerlendirilmesi önemlidir. Aktif çamur solunum inhibisyonu testi (OECD 209) gibi testlerden elde edilen veriler uygundur.

Son olarak, maddenin kullanımına ve emisyonuna ilişkin toplanabilecek herhangi bir bilgi, mevcut verilerin potansiyel ilgisinin belirlenmesine ve ayrıca bozunmayla ilgili Adım 2 ve 3'teki veri gerekliliklerinin önceliklendirilmesine yardımcı olacaktır.

Adım 2 - Feragata ilişkin etkenlerin değerlendirilmesi

Maddenin özelliklerine ve maruz kalma türüne göre testten feragat edilmesine ilişkin bir dizi faktör vardır. Bunlar şunları içerir:

- Biyobozunurluk açısından test edilememeleri sebebiyle inorganik maddeler için biyobozunurluk çalışmaları gerekli değildir.
- Kolay biyobozunabilir maddeler için hidroliz testleri gerekli değildir, çünkü maddenin ortamdaki mineralizasyonun hızlı olduğunun varsayılması sebebiyle test çok az sayıda ek bilgi sağlayacaktır. İlave olarak, maddenin hidrolize uğraması halinde bu durum kolay biyobozunurluk testinde meydana gelecektir ve mineralizasyon $> \%60$ ise herhangi bir terminal bozunma ürününün mevcut olması olası değildir. Hidroliz testlerinin suda yüksek oranda çözünmeyen maddelerle gerçekleştirilmesi de zordur ve bu tür maddelerin ortamda su ile ilişkilendirilmesi olası olmadığından ilgililikleri muhtemelen düşüktür.
- Ortamda hızlı bir şekilde bozunmaya uğrayacaklarının varsayılması sebebiyle, kolay biyobozunur maddeler için yüzey suyunda, toprakta ve çökeltide simülasyon çalışmaları gerekli değildir. Doğrudan veya dolaylı maruz kalmanın olası olmadığı durumlarda, özel simülasyon çalışmaları da gerekli değildir. PBT değerlendirmesi için gerekli olmadığı durumlarda (örneğin, vB olmayan veya B veya T olmayan madde), maruz kalmanın $PEC_{bölgesel}$ için hiçbir iyileştirilmenin belirlenmeyeceği kadar düşük olması halinde risk değerlendirmesi amaçları için gerek duyulmayabilir.
- $\% 60$ geçiş kriterinin, kalan $\% 40$ 'ının yeni mikrobiyal biyokütleyle asimile edildiğini ve herhangi bir geçici metabolitin bozunduğunu varsayması sebebiyle, kolay biyobozunur maddeler için bozunma ürünlerinin tanımlanması gerekli değildir.

Adım 3 - Bilgilerin toplanması

Bilinen analogların mevcut olduğu maddeler için, ilgili fiziko-kimyasal ve bozunma verilerinin toplanması gerekir. Analoglar, biyobozunurluğun biyokimyasının bilindiği biyobozunurluk durumunda eş mekanizmalar (örneğin, belirli hidrokarbonların β -oksidasyonu) aracılığıyla bozunduğu bilinen maddeleri içerebilir. Yakından ilgili analoglar için farklı biyobozunurluk yollarının mevcut olabileceği de bilinmektedir. Kimyasal bir molekül üzerinde gerçekleştirilen basit yapısal değişikliklerin maddenin ortamdaki davranışını değiştirebilmesi sebebiyle, fiziko-kimyasal özelliklerdeki farklılıklara özel dikkat gösterilmesi gerekmektedir.

Maddenin dosyasında genel olarak karışık bilgi türleri mevcuttur. Bilgiler, belirli bir düzenleyici karar türüne ilişkin doğruluk, yorumlanabilirlik ve ilgi düzeyine bağlı olarak özelliklerine ve türlerine göre düzenlenebilir:

- izleme çalışmaları ve saha çalışmaları,
- simülasyon testi verileri,
- kendiliğinden biyobozunurluk verileri,
- kolay biyobozunurluk ve değiştirilmiş kolay biyobozunurluk çalışmaları
- kalıcılığın olmadığını gösteren gelişmiş tarama çalışmaları
- standart dışı test verileri (saf mikrobiyal kültür verileri dahil)
- eksik tanımlanmış test verileri
- deniz suyunda biyobozunurluk verileri
- abiyotik bozunma verileri
- atık su arıtma tesisi giderme verileri
- QSAR verileri

Bir bilgi kaynakları kombinasyonunun en kapsamlı değerlendirmeyi sağlaması gerektiği her zaman dikkate alınmalıdır. İlgili ve güvenilir test verileri ile test dışı verilerin arasında bir uyumun olmaması için hiçbir nedenin bulunmadığı durumlarda, test dışı veriler belirleyici olmamalıdır.

Bir dizi bozunma verisinin mevcut olduğu maddeler için, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı kullanılmalıdır. Birden fazla simülasyon testinin sonucunun mevcut olduğu durumlarda, çevresel koşullarla ilgili (örneğin, test maddesinin konsantrasyonu ve sıcaklık) çalışmaların gerçekçiliği, ilgi düzeyi, kalitesi ve dokümantasyonu dikkate alınarak, gözlemlenen aralığın daha yüksek noktasında uygun bir bozunma yarı ömrü seçilmelidir. Pozitif test sonuçları, birden fazla tarama testinin sonucunun mevcut olduğu durumlarda bilimsel kalitenin iyi olması ve test koşullarının iyi bir şekilde belgelendirilmesi halinde (yani, alıştırılmamış inokülümün kullanımı da dahil olmak üzere rehber kriterlerinin karşılanması halinde), negatif sonuçlara bakılmaksızın geçerli kabul edilmelidir (bkz. OECD, 2001c). Test maddesinin toksik etkilerinden dolayı tarama testlerinin sonuçlarının negatif olabileceği, test maddesinin düşük konsantrasyonunu kullanan temsil testlerinin ortamdaki bozunmanın daha gerçekçi bir tahminini sağlayabileceği de unutulmamalıdır.

Yetersiz bir şekilde rapor edilen veya standart dışı veriler değerlendirilirken (örneğin, karışımın veya saf kültürün kullanıldığı biyokimyasal çalışmalar), verilerin potansiyel kullanımının en üst seviyeye çıkarılabilmesi için aşağıdaki bilgiler çıkarılmalıdır:

- İnokülümün kaynağı ve yoğunluğu tanımlanmalıdır; ideal olarak bu inokülüm endüstriyel bir sahadan alınmamalıdır ve yoğunluk, kolay biyobozunurluk testindeki yoğunluğa eşit olmalıdır.
- Test maddesinin önceden maruz kalmasını içeren herhangi bir inokülümün ön işlemi.
- Test maddesi, test maddesinin saflığı ve testte kullanılan konsantrasyonu.
- Çalışmaya ilişkin motivasyon (örneğin, ilgili mikroorganizmanın izolasyonu veya biyobozunurluk yolunun belirlenmesi)
- Ölçülen analit (örneğin ana bileşik, DOC, BOD veya CO₂ gelişimi)
- Tanımlanmış bir süre boyunca giderme yüzdesi ve bozunma hızı.

Bu rehberde sağlanan vaka çalışmalarında Toluen için yayınlanmış literatürün örnek bir incelemesi verilmiştir.

Kolay biyobozunur olarak tanımlanan maddeler için, bu bileşiklerin bilinen herhangi bir metabolitin de kolay biyobozunur olduğu kabul edilebilir. Halka açık literatür ve Minnesota Biyobozunurluk Veritabanı, bu tür metabolitlerin tanımlanmasında yardımcı olabilir ([http://umbbd.ethz.ch /](http://umbbd.ethz.ch/)).

İzleme verilerinin mevcut olduğu maddeler için, bu verilerin izleme programıyla ilişkili uygun meta verilerle (örneğin numune alma noktaları, tarihleri, zamanları, sıklığı, ilgili hidrojeolojik ve meteorolojik veriler vb.) birlikte toplanması önemlidir.

Bu noktaya kadar toplanan bilgiler kullanılarak, bu aşamada maddenin maruz kalmasının modellenebilmesi, 1) mevcut bilginin uygunluğunun belirlenebilmesi için ilgili çevresel ortamların tespit edilmesi ve 2) mevcut herhangi bir izleme verisinin maruz kalma modelinin tahminlerini destekleyip desteklemediğinin belirlenmesi ile mümkün olabilir.

Bir QSAR modelinin tahmininin güvenilirliği, modeller için doğrulama durumunun bir değerlendirmesine (hassasiyet ve özgüllük vb.) ve tahminin modelin uygulanabilirlik alanına girip girmediğine ilişkin bir değerlendirmeye bağlı olarak dikkate alınmalıdır. Bozunabilirlikle ilgili kimyasal kategorilerin sağlamlığı değerlendirilirken de benzer hususlar geçerlidir. Genel olarak daha fazla QSAR modelinden elde edilen tahminlerin kullanılması - mümkün olması halinde çapraz okuma veya kimyasal kategorizasyonla desteklendiğinde - kolay biyobozunurluğa ilişkin sağlam bir genel tahminin yapılma olasılığını artırabilir (ayrıca bkz. Bölüm R.7.9.4.1).

Mevcut tüm bozunabilirlik testi verileri kullanılarak, maddenin bozunabilirliğinin kapsamlı bir değerlendirmesinin yapılması mümkün olabilir. Örneğin, özellikle önemli ölçüde mineralizasyon (>%40) gösteren ancak kolay biyobozunurluk için geçiş kriterine ulaşamayan maddelere ilişkin kolay biyobozunurluk testi verileri mevcut olabilir. Geçerli bir QSAR'ın ve/veya herhangi bir önemli metabolitin yokluğunda hızlı bozunmayı gösteren test verilerinin kullanımı gibi biyobozunurluğa ilişkin diğer kanıtların mevcut olduğu durumlarda, bu tür veriler kalıcı olmamanın bir kanıtı olarak birlikte kullanılabilir.

Adım 4 - Kanıt Ağırlığı Değerlendirmesi

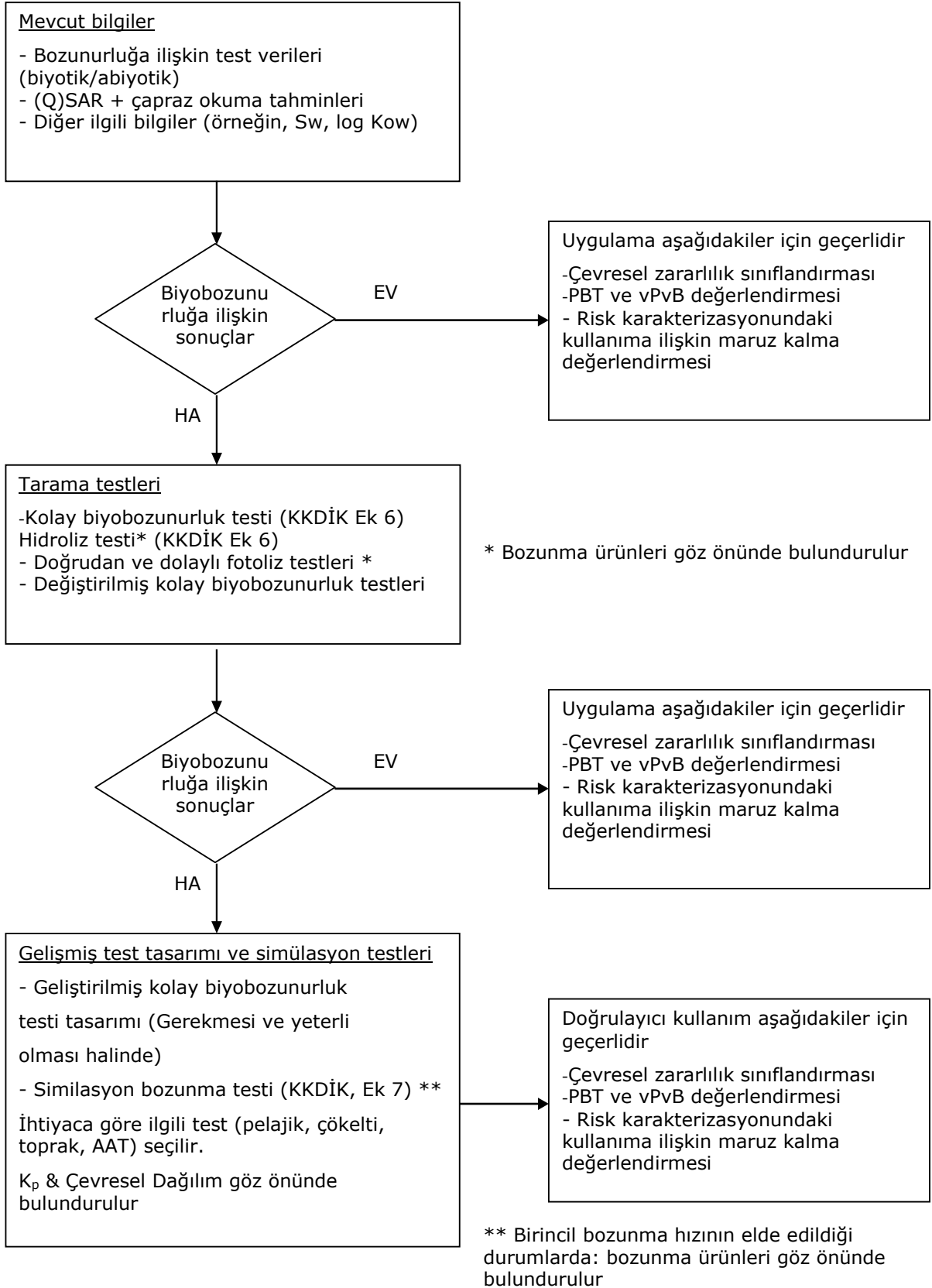
KKDİK gerekliliklerine ilişkin ilgili tüm bilgiler toplandıktan sonra, üç düzenleyici sonlanma noktasının her biri için sonuçlara varılması hususunda yeterli bilginin olup olmadığının belirlenmesi gerekir: zararlılık değerlendirme (örneğin, sınıflandırma ve etiketleme için), maruz kalma değerlendirme (PEC'in belirlenmesi için) ve kalıcılık değerlendirmeleri (PBT/vPvB değerlendirme için).

Yetersiz bilgilerin mevcut olduğu durumlarda, her bir düzenleyici sonlanma noktası için veri boşlukları ile kalan belirsizliğin bir özetinin birlikte tanımlanması gerekir. Similasyon verilerini gerektiren tonajlardaki maddeler için, hem P/vP değerlendirmesini hem de maruz kalma değerlendirmesini destekleyen en uygun çevresel ortamlar tanımlanmalıdır.

R.7.9.6 Bozunma/biyobozunma için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

Sekil R.7.9-3'te sunulan BTS, üç düzenleyici sonlanma noktasına karşı bozunma verilerinin kullanımının en üst seviyeye çıkarılması için gereken yaklaşımı özetlemeye çalışır. Şema, tarama ve similasyon testi seviyelerindeki testlere gerek duyulmadan önce mevcut tüm bilgilerin bir araya getirilmesi ile başlar.

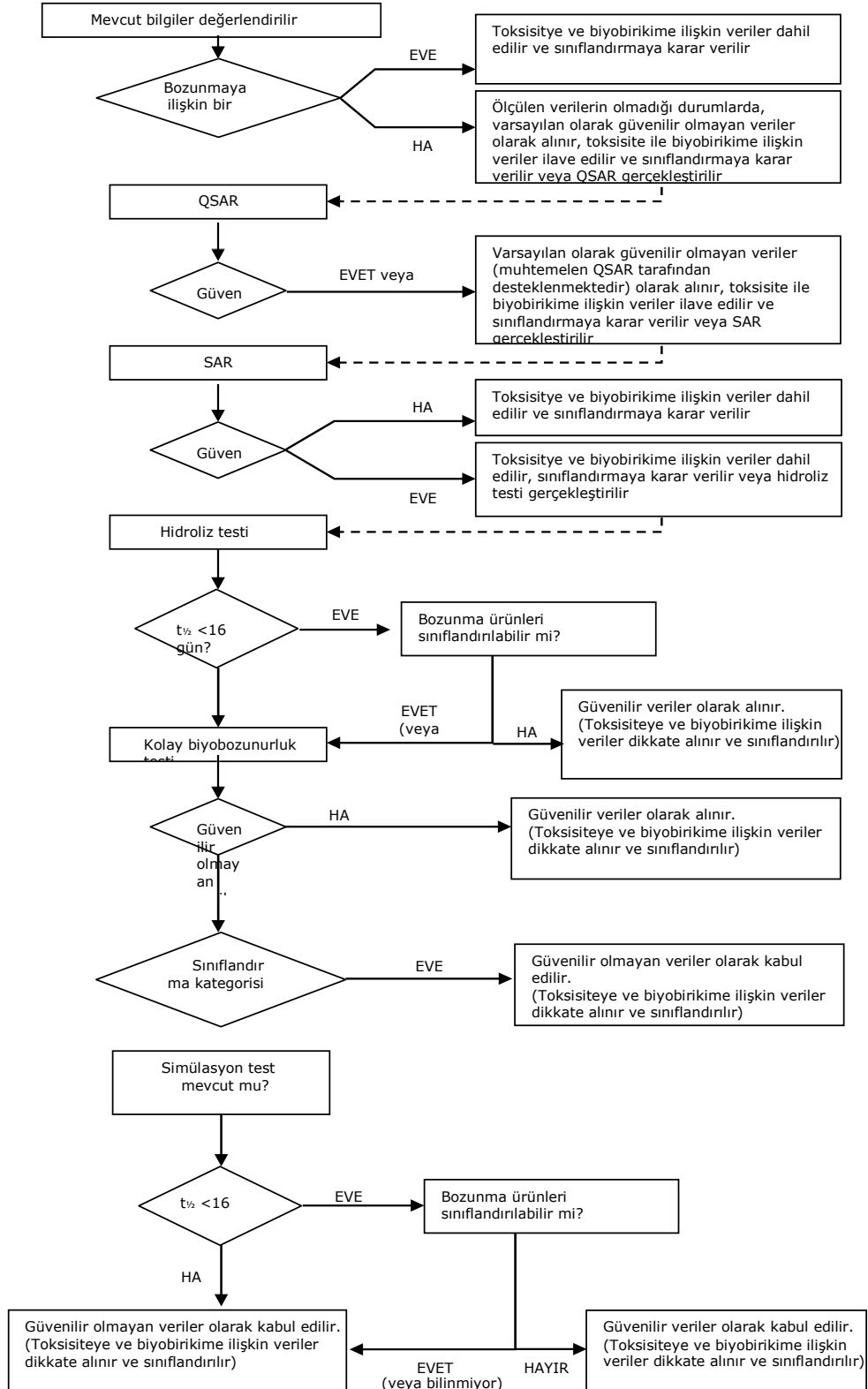
Şekil R.7.9—3 Üç düzenleyici ihtiyaç için bozunmaya ilişkin genel karar şeması Çevresel zararlılık sınıflandırması, PBT/vPvB değerlendirmesi ve risk karakterizasyonundaki kullanıma ilişkin maruz kalma değerlendirmesi



R.7.9.6.1 Sınıflandırma ve Etiketleme

Sınıflandırma ve etiketlemede bozunma verilerinin uygunluğunun belirlenmesine yönelik bir BTS, Şekil R.7.9-4'te verilmiştir.

Şekil R.7.9—4 S&E'de bozunma verilerinin kullanımına ilişkin BTS.



Zararlılık sınıflandırması, tonaj seviyesinden bağımsız olarak ve mevcut bilgilere dayanılarak düşünülmelidir (GHS, Ek 9[1]). Bir maddenin çevresel zararlılık sınıflandırması (OECD Test Rehberleri 301 A-F veya OECD Test Rehberi 310 veya QSAR tahminleri) amacıyla, mevcut durumda yılda 1 ton tonaj seviyesindeki kolay biyobozunurluğa ilişkin bilgiler gereklidir. Altı OECD 301 testinin arasındaki bir seçim veya OECD Test Rehberi 301B'nin OECD Test Rehberi 310 *headspace düzenlemesi*, maddenin özelliklerine bağlıdır (bkz. OECD girişi 'Organik Kimyasalların Bozunması' [2] ve bireysel test rehberlerindeki bilgiler).

R.7.9.6.2 Kimyasal güvenlik değerlendirme

KKDİK kapsamında, çevresel zararlılık değerlendirme ve PBT/vPvB değerlendirme dahil olmak üzere bir kimyasal güvenlik değerlendirme (KGD), yalnızca kayıt ettiren başına yıllık tonajı 10 tonu aşan maddeler için gerçekleştirilmelidir. Madde 15(4) zararlılık sınıflarından, kategorilerinden veya özelliklerinden herhangi biri için kriterlerin karşılandığı durumlarda, bir maruz kalma değerlendirme (PEC karakterizasyonu) ve ayrıca bir risk karakterizasyonu (PEC/PNEC oranları) yapılmalıdır.

Tablo R.7.9-3, bozunmaya ilişkin BTS ile ilgili bilgileri ve kayıt ettiren başına 10 tonun üzerindeki her yıllık tonaj seviyesi için mevcut olması gereken minimum bilgileri göstermektedir.

Tablo R.7.9-3 Bozunurluğa ilişkin BTS için gerekli test verileri

Tonaj bandı (ton/yıl/kayıttiren)	Gerekli bozunma verileri	Diğer ilgili bilgiler
10-100	Kolay biyobozunurluk Hidroлиз	Log Kow Buhar basıncı Suda çözünürlük Yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma
100-1000	Kolay biyobozunurluk Hidroлиз Suda biyobozunurluk simülasyonu ¹ Çökeltide biyobozunurluk temsili ² Toprakta biyobozunurluk temsili ³	Log Kow Buhar basıncı Suda çözünürlük Yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma Ayrışma sabiti Bozunma ürünleri BCF ₄

>1000	Kolay biyobozunurluk Hidroliz Suda biyobozunurluk temsili 1 Çökeltide biyobozunurluk similasyonu ² Toprakta biyobozunurluk temsili 3 KGD'nin maddenin bozunurluğuna ilişkin ilave verilere ihtiyaç olduğunu göstermesi halinde daha fazla test önerilecektir	Log Kow Buhar basıncı Suda çözünürlük Yüzeğe tutunma/yüzeğden sıyrılma Ayrışma sabiti Bozunma ürünleri BCF ₄
-------	--	---

1. Madde suda çok az çözünüyorsa ve/veya kolay biyobozunursa gerekli değildir (bkz. Bölüm R.7.9.2)
2. Madde kolay biyobozunursa ve/veya maddenin çökeltiye doğrudan ve dolaylı maruz kalma olasılığı düşükse gerekli değildir (bkz. Bölüm R.7.9.2)
3. Madde kolay biyobozunursa ve/veya maddenin toprağa doğrudan ve dolaylı maruz kalma olasılığı düşükse gerekli değildir (bkz. Bölüm R.7.9.2)
4. Maddenin biyobirikim potansiyeli (örneğin, $\log K_{ow} < 3$) ve/veya biyolojik zarları geçme potansiyeli düşükse ve/veya sucul ortamın doğrudan ve dolaylı maruz kalması olası değilse gerekli değildir.

Kolay biyobozunurluk bilgilerine bağlı olarak bir maruz kalma değerlendirmesi yapılabilir. Bir maddenin çevresel risk değerlendirmesinin yalnızca kolay biyobozunurluğa ilişkin bilgileri kullanarak riskin olmadığı sonucuna vardığı durumlarda biyobozunurluğun daha fazla test edilmesine gerek yoktur.

Bununla birlikte, risk değerlendirmesinin bir veya daha fazla çevresel ortam için potansiyel bir risk olduğunu gösterdiği durumlarda, maddenin biyobozunurluğunun (ve/veya ekotoksitesinin) daha fazla test edilmesi gerekli olabilir.

Maruz kalma değerlendirmesinde, ilgili PEC değerlerinin oluşturulması için çeşitli ortamlardaki biyobozunurluk hızları kullanılır. Şu ortamları içerir:

- Atık su arıtma tesisi
- Tatlı su
- Tatlı su çökeltisi
- Deniz suyu
- Deniz suyu çökeltisi
- Toprak

PEC_{yerel} ve PEC_{bölgesel} değerlerinin iyileştirilmesi için kendiliğinden biyobozunurluk testi verilerinin (OECD 302) veya atık su arıtma simülasyon testi verilerinin gerekip gerekmediğine ilişkin ek bir değerlendirmenin yapılması gerekecektir. Bu testler mevcut durumda KKDİK Ekleri kapsamında gerekli değildir, ancak PEC değerinin iyileştirilmesi için kullanılabilir ve simülasyon testlerinin gerekli olup olmadığını veya simülasyon testlerinden hangisinin daha ilgili olduğunun belirlenmesinde yardımcı olabilir.

Tablo R.7.9-4, dış ortamdaki (tatlı su, deniz suyu veya toprak) gerçekçi koşulları veya atık su arıtma tesisindeki biyobozunurluğu ve maddenin giderilmesini temsil edebilen (örneğin CAS testine bağlı olarak çıkış suyunun konsantrasyonunun tahmini) ilave biyobozunurluk testlerinin seçimine ilişkin bir yaklaşımı göstermektedir.

Tablo R.7.9-4 PEC değerlendirmeleri için uygun biyobozunurluk çalışmalarının seçimi

İlgili çevresel ortam ¹	Önerilen biyobozunurluk çalışmaları
Tatlı su	Tatlı su simülasyon testi (örneğin, OECD 309) ve/veya CAS testi (OECD 303)
Tatlı su çökeltisi	Tatlı su/çökelti simülasyon testi (örneğin, OECD 308) ve/veya CAS testi (OECD 303)
Deniz suyu	Deniz suyu simülasyon testi (örneğin, OECD 309) ve/veya CAS testi (OECD 303)
Deniz suyu çökeltisi	Deniz suyu çökeltisi simülasyon testi (örneğin, OECD 308) ve/veya CAS testi (OECD 303)
Toprak	Toprak simülasyon testi (örneğin, OECD 307)

1: İlgili çevresel ortam(lar), maddenin kendine özgü özelliklerinin bir analizi ile taşıma ve davranış modellemesi temelinde belirlenebilir.

R.7.9.6.3 PBT/vPvB değerlendirmesi

Önceki bölümlerde özetlenen aşamalardan toplanan bilgiler, PBT/vPvB için bir değerlendirme yapılmasını sağlar. Buna ilişkin rehberlik *BG ve KGD Rehberi'nin* R.11 Bölümü'nde sağlanmaktadır.

R.7.9.7 Biyobozunurluğa ilişkin referanslar

Belanger SE, Dorn PB, Toy R, Boeije G, Marshall SJ, Wind T, van Compernelle R ve Zeller D (2006) Aquatic risk assessment of alcohol ethoxylates in North America and Europe. (Kuzey Amerika'da ve Avrupa'da alkol etoksilatların sucül risk değerlendirmesi). *Ecotoxicol Environ Saf* 64:85-99.

Boethling RS, Howard PH, Meylan W, Stitler W, Beaumann J ve Tirado N (1994) Group Contribution Method for Predicting Probability and rate of Aerobic Biodegradation. (Olasılığın ve Aerobik Biyobozunurluk Hızının Tahmin Edilebilmesine İlişkin Grup Katkı Yöntemi). *Environ Sci Technol* 28:459-65.

Boethling RS, Lynch DG ve Thom GC (2003) Predicting Biodegradability of Premanufacture Notice Chemicals (İmalat Öncesi Bildirim Kimyasallarının Biyobozunurluğunun Tahmin Edilmesi). *Environ Toxicol Chem* 22:837-44.

Boethling RS, Lynch DG, Jaworska JS, Tunkel JL, Thom GC ve Webb S (2004) Using BIOWIN, Bayes and batteries to Predict Ready Biodegradability (Kolay Biyobozunurluğun Tahmin Edilebilmesi için BIOWIN, Bayes ve Pillerin kullanılması). Environ Toxicol Chem 23:911-20.

Castro-Jiménez J ve van de Meent D (2011) Accounting For Photo Degradation In P-Assessment Of Chemicals (Kimyasalların P-Değerlendirmesinde Işıkla Bozunumun Hesaplanması). Reports Environmental Science, No 381. 31 Mart 2011. Çevre Bilimi Bölümü, Fen Fakültesi, Radboud Üniversitesi Nijmegen, Heyendaalseweg 135, 6525 AJ Nijmegen, Hollanda.

Cavicchioli R (2006) Cold-adapted archae (Soğuğa alıştırmış arkeler). Nat Rev Microbiol 4:331-43. Cornelese A, Boesten JJTI, Leistra M, Linden van der AMA, Linders JBHJ, Pol JW, Verschoor AJ (2003) Monitoring data in pesticide registration (Pestisit kaydındaki izleme verileri), RIVM raporu 601450015, s. 27, İngiltere.

Culp JM, Lowell RB ve Cash KJ (2000) Integrating mesocosm experiments with field and laboratory studies to generate *Weight-of-Evidence* risk assessments for large rivers (Büyük nehirler için *Kanıt Ağırlığı* risk değerlendirmelerinin oluşturulması amacıyla mezokozma deneylerinin saha ve laboratuvar çalışmalarıyla birleştirilmesi). Environ Toxicol Chem 19:1167-73.

Deneer JW, Adriaanse PI, van Griethuysen C ve Boesten JJTI (2015) Estimation of degradation rates in cosm water (Kozma suyunda bozunurluk hızlarının tahmini). Guidance for inverse modelling using TOXSWA (TOXSWA kullanılarak ters modellemeye ilişkin rehberlik). Alterra Wageningen. Alterra Raporu 2679, ISSN 1566-7197.

Dimitrov S, Dimitrova G, Pavlov T, Dimitrova D, Patlevisz G, Niemela J ve Mekemyan O (2005) A stepwise approach for defining the applicability domain of SAR and QSAR models (SAR ve QSAR modellerinin uygulanabilirlik alanının tanımlanabilmesi için kademeli bir yaklaşım). J Chem Inf Model 45:839-49.

Dimitrov S, Pavlov T, Dimitrova N, Georgieva D, Nedelcheva D, Kesova A, Vasilev R ve Mekenyan O (2011) Simulation of chemical metabolism for fate and hazard assessment (Davranış ve zararlılık değerlendirme için kimyasal metabolizmanın simülasyonu). II. Abiyotik ve mikrobiyal bozunmanın CATALOGIC simülasyonu, SAR QSAR Environ Res 22:719-55.

Dubus IG, Beulke S, Brown CD, Gottesbüren B ve Dieses A (2004) Inverse modelling for estimating sorption and degradation parameters for pesticides (Pestisitler için soğurma ve bozunma parametrelerinin tahmin edilebilmesine ilişkin ters modelleme). Pest Manag Sci 60:859-74.

Eadsforth CV, Sherren AJ, Selby MA, Toy R, Eckhoff WS, McAvoy DC ve Matthijs E (2006) Monitoring the environmental fingerprints of alcoholethoxylates in Europe and Canada (Avrupa'da ve Kanada'da alkololetoksilatların çevresel parmak izlerinin izlenmesi). Ecotoxicol Environ Saf 64:14-29.

ECETOC (2013) Çevresel Kalıcılığın Değerlendirilmesi, 6-7 Kasım 2012, Paris, Çalıştay Raporu No. 24, ECETOC, Aralık 2013. <http://www.ecetoc.org/publications/workshop-reports/>

Yüksek Önem Arz Eden Maddelere ilişkin AB Çalışma Rehberi (2002): Çalışma belgesi: SHC/TS 2-3/029, QSAR kullanımıyla potansiyel PBT ve vPvB Değerlerinin Belirlenmesi. Danimarka Çevre Koruma Ajansı (EPA), Kopenhag 2002-06-27.

EFSA (2007) Sıcaklığın topraktaki pestisitlerin dönüşüm hızları üzerindeki etkisinin açıklanabilmesi amacıyla kullanılan varsayılan Q10 değerlerine ilişkin EFSA'nın talebi üzerine görüş. EFSA Journal 622:1-32.

EFSA (2014) Bitki koruma ürünlerinin aktif maddelerinin ve bu aktif maddelerin topraktaki dönüşüm ürünlerinin DegT50 değerlerinin elde edilebilmesi için laboratuvar ve saha dağılım çalışmalarının değerlendirilmesine ilişkin EFSA Rehber Dokümanı. EFSA Journal 12:3662, 37 ss.

EFSA (2015) Bitki koruma ürünlerinin aktif maddelerinin ve bu aktif maddelerin topraktaki dönüşüm ürünlerinin çevresel konsantrasyonlarının tahmin edilebilmesine ilişkin EFSA Rehber Dokümanı, EFSA Journal 13: 4093, ss. 102.

AB (2003) Risk Değerlendirmesine ilişkin Teknik Rehber Doküman. Başlık II - Çevresel Risk Değerlendirmesi. Erişim adresi: https://echa.europa.eu/documents/10162/16960216/tgdpart2_2ed_en.pdf

Avrupa Komisyonu (2014) Aktif Maddelerin ve Metabolitlerinin Yeraltı Sularına Taşınma Potansiyelinin Değerlendirilmesi. FOCUS Yeraltı Suyu Çalışma Grubu Raporu, EC Belgesi Referansı Sanco/13144/2010 sürüm 3, ss. 613.

Avrupa Toplulukları (2011). Su Çerçevesi Direktifi için Ortak Uygulama Stratejisi (2000/60/EC). Rehber Döküman No: 27. Çevresel Kalite Standartlarının Oluşturulmasına İlişkin Teknik Rehber. Teknik Rapor - 2011 - 055. Erişim adresi: <https://circabc.europa.eu/sd/a/0cc3581b-5f65-4b6f-91c6-433a1e947838/TGD-EQS%20CIS-WFD%2027%20EC%202011.pdf>

FOCUS (2014) AB Kayıt Sisteminde Pestisitler Üzerine Çevresel Davranış Çalışmalarından Kalıcılığın ve Bozunma Kinetiğinin Tahmin Edilebilmesine İlişkin Genel Rehber. Bozunma Kinetiği üzerine FOCUS Çalışma Grubu Raporu. 18 Aralık 2014. sürüm 1.1, ss. 440.

Feijtel T, Struijs J ve Matthijs E (1999) Exposure modelling of detergent surfactants – Prediction of 90th percentile concentrations in the Netherlands (Deterjanların ve yüzey aktif maddelerin maruz kalma modellemesi - Hollanda'da %90'lık konsantrasyonların tahmini). Environ Toxicol Chem 18: 2645-52.

Forney LJ, Liu W-T, Guckert JB, Kumagai Y, Namkung E, Nishihara T ve Larson RJ (2001) Structure of microbial communities in activated sludge: Potential implications for assessing the biodegradability of chemicals (Aktif çamurdaki mikrobiyal toplulukların yapısı: Kimyasalların biyobozunurluğunun değerlendirilmesine ilişkin potansiyel çıkarımlar). Ecotoxicol Environ Saf 49:40-53

Gartiser S, Schneider K, Schwarz MA ve Junker T (2016a) Biodegradability tests for assessing persistence (Kalıcılığın değerlendirilmesine ilişkin biyobozunurluk testleri). Çalıştay 16-17 Şubat 2016, Umweltbundesamt, Dessau- Roßlau, Almanya.

Gartiser S, Schneider K, Schwarz MA ve Junker T (2016b) Assessment of environmental persistence: regulatory requirements and practical possibilities (Çevresel sürekliliğin değerlendirilmesi: yasal gereklilikler ve uygulamalı olasılıklar), UBA Araştırma Projesi No. 54429, Nihai Rapor, Mart 2016.

Goodhead AK, Baş IM, Snape JR ve Davenport RJ (2014) Standard inocula preparations reduce the bacterial diversity and reliability of regulatory biodegradation tests (Bakteri çeşitliliğini ve düzenleyici biyobozunurluk testlerinin güvenilirliğini azaltan standart inokülüm karışımları). Environ Sci Pollut Res 21:9511-21.

Grice GD ve Reeve MR (1982) *Marine Mesocosms: Biological and chemical Research in Experimental Ecosystems* (Deniz Mezokozmaları: Deneysel Ekosistemlerde Biyolojik ve Kimyasal Araştırma). Springer-Verlag, NY, ABD.

Kästner M, Nowak KM, Miltner A, Trapp S ve Schäfer A (2014) Classification and Modeling of Nonextractable Residue (NER) Formation of Xenobiotics in Soil - A synthesis (Topraktaki Ksenobiyotiklerin Özütleme-yen Kalıntılar (NER) Oluşumunun Sınıflandırılması ve Modellenmesi - Bir sentez). *Crit Rev Env Sci Technol* 44:2107-71.

Kayashima T, Taruki M, Katagiri K, Nabeoka R, Yoshida T ve Tsuji T (2014) Comparison of biodegradation performance of OECD Test Guideline 301C with that of other ready biodegradability tests (OECD Test Rehberi 301C'nin biyobozunurluk performansının diğer kolay biyobozunurluk testleriyle karşılaştırılması). *Environ Toxicol Chem* 33:328-33.

Knepper TP, Barcelo D ve de Voogt P (2003) Analysis and fate of surfactants in the aquatic environment (Sucul ortamdaki yüzey aktif maddelerin analizi ve davranışı). *Comprehensive analytical chemistry*, Cilt LX, Elsevier, ISBN 0- 444-50935-6.

Howard P, Meylan W, Aronson D, Stiteler W, Tunkel J, Penye M ve Parkerton T (2005) A new biodegradation prediction model specific to petroleum hydrocarbons (Petrol hidrokarbonlarına özgü biyobozunurluğun yeni bir tahmin modeli). *Environ Toxicol Chem* 24:1847-1860.

Howard PH, Stiteler WM, Meylan WM, Hueber AE, Beauman JA, Larosche ME ve Boethling RS (1992) Predictive Model for Aerobic Biodegradability Developed from a file of evaluated Biodegradation Data (Değerlendirilmiş Biyobozunurluk Verileri Dosyasından Geliştirilen Aerobik Biyobozunurluğa İlişkin Tahmin Modeli). *Environ Toxicol Chem* 11:595-603.

Kowalczyk A, Martin TJ, Price OR, Snape JR, van Egmond RA, Finnegan CJ, Schäfer H, Davenport RJ and Bending GD (2015) Refinement of biodegradation tests methodologies and the proposed utility of new microbial ecology techniques (Biyobozunurluk testlerine ilişkin metodolojilerinin iyileştirilmesi ve yeni mikrobiyal ekoloji tekniklerinin önerilen kullanımı). *Ecotoxicol Environ Saf* 111:9-22.

Nendza M, Gabbert S, Kühne R, Lombardo A, Roncaglioni A, Benfenati E, Benigni R, Bossa C, Stempel S, Scheringer M, Fernandez A, Rallo R, Giralt F, Dimitrov S, Mekenyan O, Bringgezu F ve Schüürmann G (2013) A comparative survey of chemistry-driven in silico methods to identify hazardous substances under REACH (KKDİK kapsamındaki zehirli maddelerin belirlenebilmesine ilişkin kimyaya bağlı in silico yöntemlerinin karşılaştırmalı bir incelemesi). *Regul Toxicol Pharmacol* 66:301-14.

Lauth JR, Scott GI, Cherry DS ve Buikema AL (1996) A modular estuarine mesocosm (Modüler bir nehir ağızı mezokozması). *Environ Toxicol Chem* 15:630-7.

Lyman WJ, Reehl WF ve Rosenblatt DH (1990) *Handbook of Chemical Property Estimation, Environmental Behavior of Organic Compounds* (Kimyasal Özelliklerin Tahminine İlişkin El Kitabı, Organik Bileşiklerin Çevresel Davranışı, Amerikan Kimya Derneği), Washington, DC, ABD.

Morrall SW, Dunphy JC, Cano ML, Evans A, McAvoy DC, Proce BP ve Eckhoff WS (2006) Removal and environmental exposure of alcohol ethoxylates in US sewage treatment (ABD atık su arıtımında alkol etoksilatların giderilmesi ve çevresel maruz kalma), *Ecotoxicol Environ Saf* 64:3-13.

Müller M (2005) Study for validation of Models for estimation of Atmospheric Degradation Based on data Set of 768 Substances (768 Maddenin Veri Setine Bağlı Atmosferik Bozunmanın Tahmini için Modellerin doğrulanmasına ilişkin bir çalışma). Nihai rapor. Fraunhofer Inst., Schmallenberg, Almanya.

NAFTA (2006) Karasal Saha Dağılımı Çalışmalarının Yürütülmesine İlişkin Rehber Doküman. ABD EPA (Washington [DC]: Pestisit Programları Ofisi) ve Health Canada (Ottawa [CN]: Pest Management Regulatory Agency). Mart 31, 2006.

OECD (1992) Test No. 301: Kolay Biyobozunurluk, OECD Yayınları, Paris

OECD (1993) Çevre Monografı No. 68 "Biyobozunurluk için Yapı-Aktivite ilişkileri", OECD, Paris. Erişim adresi: http://www.oecd.org/document/30/0,2340,en_2649_34365_1916638_1_1_1_1,00.html

OECD (2000a), Test ve Değerlendirme Serileri No. 22, Dış ortamdaki monolit lizimetre çalışmalarının performansına ilişkin rehber doküman. OECD Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları, 2001.

OECD (2000b) ZOR MADDELERİN VE KARIŞIMLARIN SUCUL TOKSİSİTE TESTİNE İLİŞKİN REHBER DOKÜMAN, OECD TEST VE DEĞERLENDİRME SERİSİ, Sayı 23, Paris 2000

OECD (2002a) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik Rehber, Taslak Doküman, "Kimyasalların Toprak Yüzeylerinde Işıklı Dönüşümü"; Ocak 2002'de kullanılmaya başlanmıştır.

OECD (2002b). PBT/KOK değerlendirme kapsamında genel çevresel sürekliliğin ve uzun süreli taşımanın tahmin edilebilmesi için çoklu ortam modellerinin kullanımına ilişkin OECD/UNEP çalıştay raporu. OECD, "Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi, No. 36.

OECD (2004) ENV/JM/TG(2004)26Rev1: "SIDS Testi Verilerinin SIAM11-18'de Tartışılan Organik Kimyasalların Akut Sucul Toksikitesine, Biyobozunurluğuna ve Mutajenesine İlişkin SAR Tahminleri ile Karşılaştırılması", Paris, Ekim 2004.

OECD (2006a) Temsili tatlı su lenitik saha testlerine ilişkin rehber doküman (dış ortam mikrokozmları ve mezokozmları). Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi No. 53, ENV/JM/MONO (2006) 17.

OECD (2006b) OECD Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik Rehberler, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberlerine Gözden Geçirilmiş Giriş, Bölüm 3, Başlık I: Organik Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin İlkeler ve Stratejiler. 23 Mart 2006'da kullanılmaya başlanmıştır.

OECD (2006c) (Q)SAR modellerinin doğrulanmasına ilişkin rehber doküman

OECD (2008) Test No. 316: Kimyasalların Suda Işıklı Dönüşümü - Doğrudan Fotoliz, OECD 16 Ekim 2008, ISBN:9789264067585.

OECD (2016) Pestisit Karasal Saha Dağılımı Çalışmalarının Yürütülmesine İlişkin Rehber Doküman. OECD Test ve Değerlendirme Serisi, No. 232, Pestisit Serileri, No. 82, ENV/JM/MONO(2016)6.

Pavin M ve Worth AP (2006) Review of QSAR Models for Biodegradation (Biyobozunurluğa İlişkin QSAR Modellerinin İncelenmesi). Avrupa Komisyonu Ortak Araştırma Merkezi Raporu EUR 22355 EN. Avrupa Toplulukları.

Prosser CM, Redman AD, Prince RC, Paumen ML, Letinski DJ, Butler JD (2016). Aerobik sucul ortamda petrol hidrokarbonlarının kalıcılığının değerlendirilmesi. Chemosphere. 155:542-9.

Rorije E, Loonen H, Müller M, Klopman G ve Peijnenburg WJ (1999) Evaluation and Application of Models for the Prediction of ready Biodegradability in the MITI-I test (MITI-I Testinde Kolay Biyobozunurluğun Tahminine İlişkin Modellerin Değerlendirilmesi ve Uygulanması). Chemosphere 38:1409-17.

Rorije E (2005) EU TCNES QSAR WG'ye Sunum, Ocak 2006: QSAR Deneyim Projesi 177 SIAM maddeleri ve BIOWIN modelleri.

Rorije E, Verbruggen EMJ ve de Knecht JA (2012) Service Request on a critical review of the environmental and physicochemical methodologies commonly employed in the environmental risk assessment of petroleum substances in the context of REACH registrations (REACH kayıtları kapsamında petrol maddelerinin çevresel risk değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılan çevresel ve fizikokimyasal metodolojilerin eleştirel bir incelemesine ilişkin Hizmet Talebi). Çerçeve Sözleşmesi No ECHA/2008/2 Referans No ECHA/2008/02/5R30

TemaNord (1995) Çevresel Zararlılık Sınıflandırması - Verilerin Toplanmasına ve Yorumlanmasına İlişkin Rehber (2. baskı), Nordic Council of Ministers, Kopenhag, s. 166.

Tunkel J, Howard PH, Boethling RS, Stiteler W ve Loonen H (1999) Predicting Ready Biodegradability in the Japanese Ministry of International Trade and Industry Test (Japon Uluslararası Ticaret ve Sanayi Bakanlığı Testinde Kolay Biyobozunurluğun Tahmini). Environ Toxicol Chem 19:2478-85.

Birleşmiş Milletler (2005) Sınıflandırma ve etiketleme için Küresel Uyumlaştırılmış Sistem (GHS). ST/SG/AC. 10/30/Rev. 1. Birleşmiş Milletler, New York ve Cenevre.

ABD EPA (1998a) Dolaylı Fotoliz Tarama testleri (OPPTS 835.5270) s. 24 (3) ABD EPA (1998b) Güneş Işığı ile Sudaki Doğrudan Fotoliz Hızı (OPPTS 835. 2210).

ABD EPA (1998b) Güneş Işığı ile Sudaki Doğrudan Fotoliz Hızı (OPPTS 835. 2210).

Bölüm R.7.9'a Ekler

- Ek R.7.9—1** **Biyobozunurluğun
Değerlendirilmesine İlişkin
Uluslararası Rehber**
- Ek R.7.9—2** **Raporlama Gereklilikleri**
- Ek R.7.9—3** **Suda Çözünürlüğü Düşük Olan Maddelerin
Biyobozunurluğunun Test Edilmesi**
- Ek R.7.9—4** **Çok Bileşenli Maddelerin (örneğin UVCB Petrol
Maddeleri) Biyobozunurluğunun Test Edilmesine İlişkin Rehber**

Ek R.7.9—1 Biyobozunurluğun Değerlendirilmesine İlişkin Uluslararası Rehber

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
Kolay Biyobozunurluk Testleri					
OECD 301A DOC Giderme (ISO 7827)	28 güne kadar	Yüzey sularındaki mikroorganizmalar ($\sim 10^7 - 10^8$ hücre/ml), kloru giderilmiş atık su arıtma çıkış suları veya aktif çamurları. Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta veya yayılan ışıkta 20-24 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama	DOC giderme	Test maddesi çözünebilir olmalıdır, uçucu olmamalıdır, kap veya çamur tarafından emilmemelidir ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır
OECD 301B CO ₂ gelişim testi (ISO 9439, OPPTS 835.3120)	28 güne kadar	Yüzey sularındaki mikroorganizmalar ($\sim 10^7 - 10^8$ hücre/ml), kloru giderilmiş atık su arıtma tesisi çıkış akımları veya aktif çamurlar. Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta veya yayılan ışıkta 20-24 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama	CO ₂ oluşumu	Test maddesi, test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.
OECD 301C Değiştirilmiş MITI Testi	28 güne kadar	Yüzey sularındaki mikroorganizmalar ($\sim 10^7 - 10^8$ hücre/ml), kloru giderilmiş atık su arıtma tesisi veya endüstriyel çıkış akımları veya aktif çamurlar. Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta aerobik koşullar altında 24-26 °C'de çalkalama	O ₂ alımı	Test maddesi, nitrifikasyondan kaynaklanan etkileşime bağlı olarak test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.
OECD 301D Kapalı Şişe Testi (ISO 10707)	28 güne kadar	Yüzey sularındaki mikroorganizmalar ($\sim 10^5$ hücre/ml) veya kloru giderilmiş atık su arıtma tesisi çıkış akımları Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta aerobik koşullar altında 20-24 °C'de çalkalama	O ₂ alımı	Test maddesi, nitrifikasyondan kaynaklanan etkileşime bağlı olarak test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

256

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
OECD 301E Değiştirilmiş OECD Tarama Testi (ISO 7827)	28 güne kadar	Kloru giderilmiş atık su arıtma tesisindeki atık sularda bulunan mikroorganizmalar ($\sim 10^7 - 10^8$ hücre/ml) Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta veya yayılan ışıkta 20-24 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama	DOC giderme	Test maddesi çözünebilir olmalıdır, uçucu olmamalıdır, kap veya çamur tarafından emilmemelidir ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır
OECD 301F Manometrik Respirometri Testi (ISO 9408)	28 güne kadar	Yüzey sularındaki mikroorganizmalar ($\sim 10^7 - 10^8$ hücre/ml), kloru giderilmiş atık su arıtma tesisi çıkış akımları veya aktif çamurlar. Önceden alıştırmamış inokülüm	Karanlıkta veya yayılan ışıkta 20-24 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama	O ₂ alımı	Test maddesi, nitrifikasyondan kaynaklanan etkileşime bağlı olarak test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.
OECD 310 (Headspace testi) ISO 14593	28 güne kadar	Aerobik karışık mikroorganizmaların inokülümü (yaklaşık $10^7 - 10^8$ hücre/l). Önceden alıştırmamış inokülüm	Kesikli kültür, 20-25 °C'de tek karbon kaynağı olarak test maddesinin kullanıldığı havalandırılmış su testi. Nihai biyobozunurluğu değerlendirir.	% bozunurluk sağlayan kapalı kaplarda CO ₂ oluşumu	Test maddesi, test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
Tatlı Su ve Çökelti Sistemleri için Simülasyon Testleri					
OECD 308 Sucul Çökelti Sistemlerinde Aerobik ve Anaerobik Dönüşüm	100 günden az	Çökeltideki mikroorganizmalar (önceden alıştırmamış)	Doğal sularla ve çökeltiyle, doğal seviyelerde uçucu olmayan ¹⁴ C etiketli bileşikler ile statik testi	Etiketlemenin kullanıldığı yerlerde dönüşüm ürünlerinin kimyasal analizi veya ¹⁴ CO ₂ analizi.	Yalnızca askıda çökeltiyi temsil eder. Test maddesi toksik ve uçucu olmamalıdır ve çözünür olmalıdır. Çökeltiye bağlı olarak sahaya özel olmalıdır. ¹⁴ C'nin kullanılmaması halinde çökeltiye soğurma yanıltıcı olabilir.
OECD 309 Yüzey suyunda aerobik mineralizasyon	Kesikli test için 90 güne kadar	Yüzey suyundaki mikroorganizmalar (önceden alıştırmamış) Askıda çökeltiyi ve/veya yarı sürekli çalışmayı içerebilir			
ISO 14592-1 (OPPTS 835.3170)	Sabit bir süre bulunm amaktadır	Yüzey suyu numunelerindeki mikroorganizmalar, bir 'pelajik test' için 100 µm'lik bir filtreden süzölmüştür; bu, 'askıda çökelti testi' için çalışma sahasından elde edilmiş aerobik bir çamur ile değiştirilebilir.	Karanlıkta veya yayılan ışıpta, saha sıcaklığında veya 20-25 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama	1. dereceden hız sabitini sağlayan özel kimyasal analiz veya radyo-kimyasal analiz (ve mümkün olduğu durumlarda DOC veya TOC)	Test maddesi toksik ve uçucu olmamalıdır ve çözünür olmalıdır. Çökeltiye bağlı olarak sahaya özel olmalıdır. ¹⁴ C'nin kullanılmaması halinde çökeltiye soğurma yanıltıcı olabilir.

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

258

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
ISO 14592-2	Sabit bir süre bulunmamasıdır ancak 60 günden azdır	Yüzey suyundaki mikroorganizmalar	Su yüzeyinde 50 µE/m ² /s'lik enerji ve doğal yayılan gün ışığı veya yapay beyaz ışık ile (400-700 nm) sürekli aydınlatma	Birinci dereceden hız sabitini sağlayan özel kimyasal analiz veya radyo-kimyasal analiz.	Test maddesi toksik ve uçucu olmamalıdır ve çözünür olmalıdır. Çökelti açısından sahaya özel cam boncuklar kullanılmaları halinde çökeltiyi temsil etmeyebilir. ¹⁴ C'nin kullanılmaması halinde çökeltiye soğurma yanıltıcı olabilir.
OPPTS 835.3180 Çökelti/su mikrokozması	60 günden az	Doğal mikrobiyal topluluk.	(Yarı) sürekli su değişimi ile bozunmamış bileşenleri kullanan çökelti mikrokozmaları. Çevresel açıdan gerçekçi seviyelerde ¹⁴ C etiketlemesi önerilir.	Etiketlemenin kullanıldığı yerlerde dönüşüm ürünlerinin kimyasal analizi veya ¹⁴ CO ₂ analizi.	Test maddesi toksik ve uçucu olmamalıdır ve çözünür olmalıdır. Çökeltiye bağlı olarak sahaya özel olmalıdır. ¹⁴ C'nin kullanılmaması halinde çökeltiye soğurma yanıltıcı olabilir.
Atık Su Arıtma Simülasyon Testleri					
OECD 303A Aerobik atık su arıtma: birleştirilmiş ünite testi (ISO 11733)	12 haftaya kadar	Aerobik atık su	Sürekli beslenen ve laboratuvar ölçekli birleştirilmiş atık su arıtma ünitelerinden test maddelerinin (20 mg/l DOC) giderilmesi	% bozunurluğu sağlayan DOC veya COD	Test maddesi suda çözünür olmalıdır ve uçucu olmamalıdır.

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
OECD 314 Atık Suyu Boşaltılan Kimyasalların Biyobozunurluğunun Değerlendirilmesine İlişkin Simülasyon Testleri	314 A: tipik olarak < 96 saattir ancak bu süre uzatılabilir 314 B: tipik olarak 28 gündür, ancak bu süre uzatılabilir veya kısaltılabilir 314 C: tipik olarak 60 gündür, ancak bu süre uzatılabilir veya kısaltılabilir 314 D: tipik olarak 28 gündür, ancak bu süre uzatılabilir veya kısaltılabilir 314 E: tipik olarak 28 gündür, ancak bu süre değiştirilebilir.	314 A: ham atık su 314 B: aktif çamur 314 C: anaerobik çamur 314 D: arıtılmış çıkış suyu ile değiştirilmiş yüzey suyu 314 E: arıtılmamış çıkış suyu ile değiştirilmiş yüzey suyu	Açık kesikli sistem veya kapalı, sürekli akışlı kesikli sistem. Uçucu test malzemeleri için, buharlaşmadan kaynaklanan kayıpları ölçebilmek amacıyla uygun değişiklikler yapılmalıdır.	Özel kimyasal analiz veya radyo-kimyasal analiz.	Bu rehber, atık suyun taşınmasının temel aşamaları ile arıtma ve çevresel salım sırasında organik kimyasalların birincil ve nihai biyobozunurluk kapsamının ve kinetiklerinin belirlenmesine ilişkin yöntemleri açıklamaktadır. Ortama girişlerinin atık suya boşaltılmaları ile başladığı organik kimyasallar için geçerlidir. Yüzey suyu, çökelti veya toprak gibi çevresel ortamlardaki bozunmaya ilişkin temsil testlerinin yerine kullanılmamalıdır.

Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi

260

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
Birincil Biyobozunurluk Testleri					
OPPTS 835.3220 Gözenekli Kap Yöntemi,	En az 21 gün	Evsel bir tesisten aktif çamur karışımı çözeltisi.	İnokülüm ve 10-20 mgC/l test maddesi ile doldurulmuş test ve kontrol kapları.	Brincil biyobozunurluk test maddesinin giderilmesiyle belirlenir, DOC analizi nihai biyobozunurluğun ölçümünü sağlar.	Test maddesi çözünebilir olmalıdır, uçucu olmamalıdır, kap veya çamur tarafından emilmemelidir ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.
Deniz Suları için Simülasyon Testleri					
OECD 306 (ISO 7827 ve 10707, OPPTS 835.3160)	60 güne kadar	Deniz suyundaki mikroorganizmalar ² Önceden alıştırlmamış inokülüm	Karanlıkta veya yayılan ışıkta 15-20 °C'de aerobik koşullar altında çalkalama 5-40 mg DOC/l aralığındaki konsantrasyonlar	DOC	Test maddesi, test konsantrasyonlarında toksik olmamalı, çözünür olmalı ve kap tarafından emilmemelidir. Nitrifikasyonun neden olduğu etkileşimlere tabi tutulan kapalı şişe testi. Deniz suyuna göre yüksek besin konsantrasyonları

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
Toprak için Simülasyon Testleri					
OECD 307 Toprakta aerobik ve anaerobik dönüşüm	120 güne kadar, bazı durumlarda daha uzun sürebilir				
Kendiliğinden Biyobozunurluk Testleri – Su					
OECD 302A Değiştirilmiş SCAS testi (OPPTS 835.3210)	Aylar (genellikle 120 güne kadar).	Çökelmiş evsel atık su ve aktif çamur. İnokülüm, evsel atık su arıtma tesisinden temin edilir.	Çökelmiş evsel atık su ve aktif çamur (yaklaşık 2500 mg/l TSS) ile 20-25 °C'de 23 saat boyunca havalandırılmış test maddesi (20 mg DOC/l ⁻¹). Havalandırma durdurulur, çamur çöker ve süpernatant giderilir. Taze atık su ve test maddesi eklenir ve döngü tekrarlanır. ¹⁴ C- radyoaktif etiketli maddeler, artan hassasiyet için kullanılabilir.	DOC % bozunurluk sağlayan kapalı kaplarda CO ₂ oluşumu ¹⁴ CO ₂ 'nin ölçülme potansiyeli	Test maddesi uçucu olmamalı, köpürerek kaybolmamalı ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır. Soğurma potansiyelinin belirlenmesi gerekir.
OPPTS 835.5045 Çözünmeyen ve uçucu maddeler için değiştirilmiş SCAS	Aylar (genellikle 120 güne kadar).	Çökelmiş evsel atık su ve aktif çamur.		% bozunurluk sağlayan kapalı kaplarda CO ₂ oluşumu ¹⁴ CO ₂ 'nin ölçülme potansiyeli	

**Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel
rehberi**

262

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
OECD 302B Zahn Wellens (ISO CD9888) (OPPTS 835.3200)	28 gün	200 - 1000 mg/l (TSS) aktif çamur inokülümü. Alistırılmamış veya önceden alıştırılmış inokülüm	Tek karbon kaynağı olarak test maddesini (50 - 100 mg/l DOC) kullanan ve 20-25 °C'de inokülüm ile havalandırılmış kesikli kültür. Nihai biyobozunurluğu değerlendirir.	DOC veya COD veya Birincil dönüşümler için özel analiz	Test maddesi uçucu olmamalı, köpürerek kaybolmamalı ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır. Soğurma potansiyelinin belirlenmesi gerekir.
OECD 302C MITI (II)	14-28 gün	100 mg/l'de (TSS veya yaklaşık 3×10^7 - 3×10^8) aerobik karıştırılmış, özel olarak yetiştirilmiş, alıştırılmamış mikroorganizmalar.	İnokülüm ile tek karbon kaynağı (30 mg ThOD/l) olarak test maddesini kullanan çalkalanmış kesikli kültür. Nihai biyobozunurluğu değerlendirir.	O ₂ ihtiyacı ve muhtemelen özel kimyasal analiz	Test maddesi uçucu olmamalı, köpürerek kaybolmamalı ve test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.
OPPTS 835.3100 Aerobik sucul biyobozunurluk	Ön alıştırmadan 28 gün sonra	Önceden alıştırılmış inokülüm	20-25 °C'de aerobik karışık mikroorganizmaların bir ortam konsantrasyonundan elde edilen önceden alıştırılmış inokülüm test maddesi (10 mg/l DOC) kullanılarak karıştırılmış ve havalandırılmış sucul test ¹⁴ C etiketli bileşikler kullanılabilir	DOC giderme ve CO ₂ gelişimi ¹⁴ C, kütle dengesi faz dağılımı verilerini sağlar	Test maddeleri çözünür olmalıdır ve uçucu olmamalıdır.

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
OPPTS 835.5045 Çözünür olmayan ve uçucu olan maddeler için değiştirilmiş SCAS testi	40 - 120 gün	Çökeltmiş evsel atık su ve aktif çamur Alıştırılmamış veya önceden alıştırmış inokülüm	OECD 302A ile aynı prensibe sahiptir, ancak havalandırma ünitesinde bir uçucu tuzak ve tutulmuş uçucular ile katı çamurlar için ilave analitik gereklilikler mevcuttur. 20-25 °C'de 20 mg/l DOC test konsantrasyonu ¹⁴ C etiketli bileşikler kullanılabilir	DOC Özel analiz, birincil dönüşüm verilerini sağlayabilir. Kinetik veriler ve yarı ömür belirlenmesi mevcuttur. DOC'nin > %20 giderilmesi = kendiliğinden biyobozunurluk, > %70 = nihai biyobozunurluk.	Ek analitik gereklilikler.
Kendiliğinden Biyobozunurluk – Toprak					
OECD 304A (ISO 14239 – biyometre sistemi) OPPTS 835.3300	64 güne kadar	Dağılmış toprak - alfisol, spodosol, entisol. Özel durumlarda silt oranı yüksek topraklar veya yüksek kil içerikli (% 30) topraklar kullanılabilir.		% bozunurluğu sağlayan CO ₂ gelişimi	
Anaerobik Bozunmaya İlişkin Test Yöntemleri					
OECD 311 ISO 11734	60 güne kadar	Kapalı kaplarda redoks indikatörü içeren, besleyici ile değiştirilmiş anaerobik ortamda 1-3/l yıkanmış sindirici çamur.	35 °C'de 20-100 mg/l test konsantrasyonu ile OC cinsinden kesikli kültür. Nihai biyobozunurluğu değerlendirir.	Bir basınç dönüştürücü ve DIC kullanılarak toplam gaz üretimi (CH ₄ + CO ₂)	Test maddesi, test konsantrasyonunda toksik olmamalıdır.

Yöntem	Test süresi	İnokülüm	Test koşulları	Ölçümler	Sınırlamalar
OPPTS 835.3400 Organik maddelerin anaerobik biyobozunurluğu	56 güne kadar.	Anaerobik çamur sindiriciden elde edilen çamur. Öneriler, 15 - 25 günlük tutma süresine sahip bir sindiriciden elde edilen iyi bir şekilde karıştırılmış birincil çamur içindir.	35 °C'de yürütülen testlerdeki numune konsantrasyonları yaklaşık 50 mg/l ⁻¹ 'dir.	CO ₂ ve CH ₄ oluşumu	Toksik maddeler için geçerli değildir, tekrarlanabilirlik henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Yüksek konsantrasyonlardaki test maddesi kullanılır.

Ek R.7.9—2 Raporlama Gereklilikleri

Hidroliz Testi Gereklilikleri (OECD 111)

Test raporu aşağıdaki bilgileri içermelidir:

- Test maddesi:
 - ortak ad, kimyasal ad, CAS numarası, yapısal formül (radyo-etiketli malzeme kullanıldığında etiketin konumu belirtilir) ve ilgili fiziko-kimyasal özellikler;
 - test maddesinin saflığı (safsızlıkları);
 - etiketli maddelerin etiket saflığı ve (uygun olan yerlerde) molar aktivitesi;
- Tampon çözeltiler: - kullanılan tamponlar ve sular; - tampon çözeltilerin molaritesi ve pH değeri.
Test koşulları:
 - uygulanan test maddesi miktarı;
 - test maddesinin uygulanmasında kullanılan çözücüler (tür ve miktar);
 - inkübe edilen tamponlu test maddesi çözeltilerinin hacmi;
 - kullanılan inkübasyon sisteminin tanımı;
 - çalışma sırasındaki pH ve sıcaklık
 - numune alma zamanları;
 - özütleme yöntemi (yöntemleri);
 - tampon çözeltilerinde test maddesinin ve hidroliz ürünlerinin miktar tayinine ve tanımlanmasına ilişkin yöntemler;
 - tekrar sayısı;
- Sonuçlar:
 - kullanılan analitik yöntemlerin tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti;
 - geri kazanım;
 - tablo şeklindeki tekrar verileri ve ortalamaları
 - çalışmalar sırasında ve çalışma sonundaki kütle dengesi (etiketli test maddesi kullanıldığında);
 - ön testin sonuçları;
 - sonuçların tartışılması ve yorumlanması;

- tüm orijinal veriler ve şekiller

Aşağıdaki bilgiler yalnızca hidroliz hızının belirlendiği durumlarda gereklidir:

- test maddeleri için ve uygun olduğu durumlarda hidroliz ürünleri için her pH değerindeki ve sıcaklıktaki zamana karşı konsantrasyon grafikleri;
- 20 °C/25 °C sıcaklık için Arrhenius denkleminin sonuçlarına ilişkin tablolar pH, hız sabiti [saat^{-1} veya gün^{-1}], bozunma yarı ömrü veya DT50, güven sınırları ve korelasyon katsayıları (r^2) dahil sıcaklıklar [$^{\circ}\text{C}$] veya karşılaştırılabilir bilgiler;
- önerilen hidroliz yolu.

Kolay biyobozunurluk testi gereklilikleri (OECD 301 dizisi ve OECD 310)

- Test maddesi:
 - fiziksel yapı ve ilgili olduğu durumlarda fiziko-kimyasal özellikler;
- Test koşulları:
 - inokülüm: yapısı ve numune alınan bölgeler, konsantrasyonu ve herhangi bir ön alıştırma işlemi;
 - bilindiği durumlarda, atıktaki endüstriyel atık suyun oranı ve yapısı;
 - test süresi ve inkübasyon sıcaklığı;
 - az çözünür test maddelerinin bulunduğu durumlarda, test çözeltilerinin/süspansiyonların hazırlanma yöntemleri;
 - uygulanan test yöntemi; herhangi bir işlem değişikliğinin bilimsel nedenleri ve açıklaması;
 - kontrollerin ayrıntıları.
- Sonuçlar:
 - tablo halindeki veriler;
 - gözlemlenen herhangi bir inhibisyon veya toksisite;
 - gözlemlenen herhangi bir abiyotik bozunma;
 - mevcut olması halinde özel kimyasal analitik veriler;
 - mevcut olması halinde ara ürünlerle ilgili analitik veriler;
 - test ve referans maddeler için gecikme fazını, bozunma fazını, 10 günlük pencereyi ve eğimi içerecek şekilde zamana karşı bozunma yüzdesi grafiği (tanımlar için Ek 1'e bakınız);
 - platoda, testin sonunda ve/veya 10 günlük pencereden sonra giderme yüzdesi.
- Sonuçların tartışılması

Deniz Suyunda Biyobozunurluk Testine İlişkin Gereklilikler (OECD 306)

- Test maddesi:
 - fiziksel yapı ve ilgili olduğu durumlarda fiziko-kimyasal özellikler;
- Test koşulları:
 - numunenin alındığı bölgenin yeri ve tanımı; kirlilik ve besin durumu (koloni sayısı, nitrat, amonyum, uygun olması halinde fosfat);
 - numunenin özellikleri (numune alma tarihi, derinlik, görünüm, sıcaklık, tuzluluk, DOC (isteğe bağlı), testteki toplanmanın ve kullanımın arasındaki gecikme);
 - deniz suyunun yaşlandırılması için (mevcut olması halinde) kullanılan yöntem;
 - deniz suyunun ön arıtımı için kullanılan yöntem (filtrasyon/çöktürme);
 - DOC belirlemesi için kullanılan yöntem;
 - özel analizin (isteğe bağlı) belirlenmesi için kullanılan yöntem;
 - deniz suyundaki heterotrofların sayısının belirlenebilmesi için kullanılan yöntem (plaka sayma yöntemi veya alternatif işlem) (isteğe bağlı);
 - deniz suyunun karakterize edilebilmesi için kullanılan diğer yöntemler (isteğe bağlı).
- Sonuçlar:
 - Bozunma testinin seyri, yüzde 50 gidermeye (t50) ulaşılabilmesi için gecikme fazını (tL), eğimi ve zamanı (gecikme fazının sonundan başlayarak) gösteren bir diyagramda grafiksel olarak temsil edilir. Gecikme fazı, "Sonuçların geçerliliği ve yorumlanması" bölümündeki şekilde gösterildiği gibi grafiksel olarak tahmin edilebilir veya yüzde 10 bozunma için gereken süre olarak uygun bir şekilde alınabilir;
 - 60 gün sonra veya testin sonunda ölçülen bozunma yüzdesi.
- Sonuçların tartışılması

Kendiliğinden Biyobozunurluk Testinin Gereklilikleri (OECD 302 Dizisi)

Test raporu aşağıdaki bilgileri içermelidir:

- Test maddesi:
 - fiziksel yapı ve ilgili olduğu durumlarda fiziko-kimyasal özellikler;
- İnokülüm:
 - kaynak, konsantrasyon, ön işlem ve adaptasyon durumu.
- Test koşulları:

- kullanılan analitik yöntemler;
- işlemin kontrolü ve kontrolde kullanılan bileşik.
- Sonuçlar:
 - biyobozunurluk eğrisi;
 - toksisite değerlendirmeleri;
 - testin sonunda 28 gün sonra veya 28 günden daha kısa bir sürede tam bozunmaya ulaşırsa "x gün sonra statik testte kendiliğinden biyobozunurluk" olarak elde edilen biyobozunurluk derecesi;
 - testin başlatılmasından 3 saat sonra ilk numunedeki DOC (veya COD) ile "aktif çamur aracılığıyla yüzeye tutunan" (OECD 302B) olarak eklenen test bileşiğinin miktarından hesaplanan değer arasındaki herhangi bir önemli fark;
 - alıştırma aşaması (günler), biyobozunurluk aşaması (günler) ve biyobozunurluk eğrisinden belirlenen x gün sonra ulaşılan biyobozunurluğun sonlanma noktası.
- Sonuçların tartışılması

Ek R.7.9—3 Suda Çözünürlüğü Düşük Olan Maddelerin Biyobozunurluğunun Test Edilmesi

Bu ek, suda çözünürlüğü düşük olan maddelerle biyobozunurluk deneylerinin yürütülmesi ile ilgili teknik konuları ve bu tür maddeler için elde edilen verilere olan güveni artıracak verilerin raporlanmasına ilişkin gereklilikleri tartışmaktadır. Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin test edilmesine yönelik OECD ve ISO Rehberi 10634 (1995), tartışmanın temelini oluşturacaktır. Bu belgenin odak noktası, suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin (OECD 301 serisi ve OECD 310 testi) kolay biyobozunurluğunun değerlendirilmesine ilişkin yöntemler olmakla birlikte, aynı hususlar diğer biyobozunurluk deneyleri için de geçerlidir.

Az Çözünür Maddelerin Biyobozunurluğunun OECD Değerlendirmesi

OECD, az çözünür bileşiklerin biyobozunurluğu değerlendirilirken aşağıdaki hususlara özel dikkat gösterilmesini gerektirir (OECD, 1992: Ek 3):

- Bazı durumlarda homojen sıvılarda numunenin alınmasına ilişkin problemler ortaya çıkarken, homojen olmama durumundan kaynaklanan hataların önlenmesi için katı malzemelerin uygun araçlarla homojenize edilmesi önerilir. Çok bileşenli maddelerden veya çok miktarda safsızlık içeren maddelerden birkaç miligramlık temsili numunelerin gerektiği durumlarda özel dikkat gösterilmelidir.
- Test sırasında çeşitli çalkalama biçimleri kullanılabilir. Maddenin dağılmış halde kalmasını sağlamak ve aşırı ısınmayı, aşırı köpürmeyi ve aşırı kayma kuvvetlerini önlemek için yalnızca yeterli çalkalamanın kullanılmasına özen gösterilmelidir.
- Maddenin kararlı bir dağılımını sağlayan bir emülgatör kullanılabilir. Bakteriler için toksik olmamalı ve biyobozunur olmamalı veya test koşulları altında köpüklenmeye neden olmamalıdır.
- Emülgatörlere ilişkin kriterler çözücüler için de geçerlidir.
- Katı taşıyıcıların kullanımı katı test maddeleri için tavsiye edilmez ancak bu taşıyıcılar yağlı maddeler için uygun olabilir.
- Emülgatörler, çözücüler ve taşıyıcılar gibi yardımcı maddeler kullanıldığında, yardımcı maddeyi içeren temel bir çalışma gerçekleştirilmelidir.
- Dört respirometrik testten herhangi biri (301 B, 301 C, 301 D, 301 F), az çözünür bileşiklerin biyobozunurluğunun incelenmesi için kullanılabilir.

OECD, çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyobozunurluğunun test edilmesinde dikkatli değerlendirmeler gerektiren bir dizi geçerli husus ortaya koyarken, bu değerlendirmeler açık bir rehberlik oluşturmaz. Sağlanmış olan kritik tek rehberlik, 301 test serisinin (7. nokta) sınırlı bir aralığının uygulanabilirliği ile emülgatörlerin, çözücülerin ve taşıyıcıların kullanıldığı (6. nokta) ilave kontrol kaplarının gerekliliğidir. Taslak OECD 310 testi "Kolay Biyobozunurluk - Kapalı Kaplarda CO₂ (Headspace Testi)" ile yapılan testler de az çözünen maddelerin biyobozunurluğunun değerlendirilmesi için uygundur.

Emülgatörlerin, çözücülerin ve taşıyıcıların kullanımı savunulurken, hiçbiri özel olarak tanımlanmamıştır ve test sistemine dahil edilebilecek her birinin kabul edilebilir seviyesiyle ilgili hiçbir rehberlik sağlanmamıştır.

Sonuç olarak, test maddesinin dahil edilmesine ilişkin çeşitli yaklaşımlar uygulanabilir ve bu, temel olarak kabul edilebilir veya uygulanabilir bir dizi çözümün tanımlanmasını zorlaştıracaktır.

Sucul ortamda biyobozunurluğun eş zamanlı olarak değerlendirilmesi için suda çözünürlüğü düşük olan organik bileşiklerin hazırlanmasına ve işlenmesine yönelik ISO Rehberi

1995 yılında Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) suda çözünürlüğü düşük olan organik maddelerin biyobozunurluğunun değerlendirilmesi için tek bir yöntemin geliştirilmesinin yakın gelecekte gerçekleştirilemeyebileceği sonucuna varmıştır. Sonuç olarak, ISO, son seçimin test maddesinin fiziko-kimyasal özelliklerinin bir değerlendirmesine dayandığı bir dizi yöntem önermiştir (ISO, 1995).

ISO standardı (1995), suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin hazırlanması ve bunların test kaplarına dahil edilmesi için dört tekniği ele almıştır. Suda çözünen test maddelerinin genel olarak konsantre bir stok çözeltisi yoluyla test ortamına dahil edildiğine dikkat edilmelidir. ISO tarafından az çözünür maddeler için önerilen yöntemler, 1) doğrudan ekleme, 2) ultrasonik dağılım, 3) inert destekleyici bir maddenin yüzeyine tutunma ve 4) bir dağılımın veya emülsiyonun oluşturulmasıdır. ISO tarafından önerilen tüm bu teknikler, OECD 301 ve 310 test rehberlerine dahil edilmeleri için uygundur. ISO, çözünürlüğü düşük olan uygun referans standartlarının kullanımına ilişkin herhangi bir tavsiyede bulunmaz. ISO yöntemlerinin her biri aşağıda kısa bir yorum <veya değerlendirme ile açıklanacaktır.

Doğrudan ekleme

ISO, 1) maddenin doğrudan test kabına tartılması, 2) test bileşiğinin inert destekleyici bir madde (tipik olarak bir cam lamel veya bir parça folyo) üzerinde tartılması ve bunun test kabına eklenmesi veya 3) uçucu bir çözücü içinde test maddesinin bir çözeltisinin hazırlanması, çözücünün testten önce giderilmesi yoluyla test bileşiğinin uygulanması gerektiğini önermiştir.

Doğrudan ekleme, çeşitli maddeler (kristalli katılar ve viskoz olmayan sıvılar) için geçerlidir. Bu maddeler, hassasiyeti yüksek olan mikro pipetler aracılığıyla veya doğrudan tartım yoluyla verilir. Kristalli bileşiklerin genel olarak çok düşük ağırlıklar (mg) aralığında dahil edilmesi sebebiyle, doğrudan tartım durumunda bu tür bileşikler için tekrardan tekrara bazı değişiklikler beklenebilir. Viskoz sıvıların kullanılmasıyla gerçekleştirilen doğrudan pipetleme bir soruna neden olabilirken, bir cam lamel veya folyo yardımıyla bu sorunun üstesinden gelinebilir. Bununla birlikte, cam lamelin yukarı baktığından emin olunabilmesi için özen gösterilmelidir, cam lamelin ters dönmesi halinde mikrobiyotaya test maddesine ulaşamayacaktır.

Tüm çözücünün giderildiğinden emin olmak için taşıyıcı çözücülerin kullanıldığı yerlerde kontrol şişelerine ihtiyaç duyulacağına dikkat edilmelidir. Bu durumda, test maddesi içermeyen aynı hacimdeki çözücünün test şişesinde olduğu gibi test sistemine dahil edilmesi gereklidir. Çözücüyle ilişkili düşük solunum seviyelerinin de, test şişelerinden elde edilen veriler yorumlanırken göz önünde bulundurulması gerekecektir. Kontroller lameller vb. için kullanılmalıdır ancak temelde herhangi bir solunumun gözlemlenmesi olası değildir.

Doğrudan tartma (veya pipetleme) yoluyla veya destek kullanılarak gerçekleştirilen doğrudan ekleme, bir 'kıyaslama noktası' görevi görmeli ve suda çözünürlüğü düşük olan tüm maddelerin değerlendirilmesinde uygulanmalıdır, yani ISO tarafından önerilen diğer rehber yöntemlerin herhangi birine paralel olarak kullanılmalıdır. Doğrudan ekleme, biyobozunurluğun en koruyucu tahminini verebilir.

Ultrasonik dağılım

ISO (1995), bileşiğin bir dağılımının, test kabına dahil edilmesinden önce ultrasonik bir sonda kullanılarak hazırlanmasını önermektedir. 20 kat konsantrasyonlu bir stok çözeltisinin elde edilebilmesi için gerekli ultrasonikasyon sıklığı ile ilgili özel rehberlik sağlanır, ancak elde edilen konsantrasyonun doğrulanması için toplam karbon analizi gereklidir.

Bu yaklaşımın termal ayrışmaya maruz kalan maddeler için uygun olmadığı ve bazı durumlarda kararlı bir emülsiyonun oluştuğu unutulmamalıdır. Sonuç olarak, bu yöntem ISO rehberinde önerilen en uygun yaklaşım olmayabilir. Bu özellikle, kararlı emülsiyonların oluşturulmadığı ve her bir şişeye zamana karşı azaltılmış konsantrasyonların (yani bir konsantrasyon derecesinde) verilmesi olasılığı bulunmasından ötürü sayıda öldürme deneyi şişesinin hazırlandığı durumlarda doğrudur. Bu tekniğin, öldürme analizini kullanan testlere uygulanması halinde (örneğin, OECD 310) analizin her zaman noktasında gerçekleştirilebilmesi için test şişelerinin rastgele olarak öldürülmesi gerekir.

İnert destekleyici bir maddenin yüzeyine tutunma

ISO (1995) silika jellerin, cam filtrelerin veya test ortamına organik karbon salmayan ve biyobozunur olmayan diğer inert destekleyici maddelerin kullanımını önermektedir. Destekleyici maddenin inert olduğunun ve karbon içermediğinin gösterilebilmesi için destekleyici kanıtlara ihtiyaç vardır ve kullanılan destekleyici maddenin miktarının minimum düzeyde olması gerekir. Kromatografi için kullanılan silika bazlı jeller, başarılı bir şekilde kullanılan inert destekleyici bir maddeyi temsil eder.

Test bileşiği genel olarak bir taşıyıcı çözücü (örneğin aseton veya diklorometan) aracılığıyla gerekli konsantrasyonda inert destekleyici bir maddeye eklenir. Çözücünün giderilmesi için döner buharlaştırma ve fırında kurutma kullanılır. Kontrol testi şişelerinde kullanılmak üzere test maddesi içermeyen inert destekleyici bir maddenin ve taşıyıcı çözücünün kullanıldığı paralel bir işlem gereklidir. Kararlı destekler, çözünmeyen katı maddelerle de kullanılabilir.

Testten önce test maddesini içeren inert destekleyici bir maddenin veya inert destekleyici maddede bulunan özel maddenin karbon seviyesinin nicel olarak belirlenmesi ve nominal ile karşılaştırılması gerekir. İnert destekleyici maddenin gerekli miktarı daha sonra test kabında doğrudan tartılabilir. Paralel kontrol kapları kullanılarak çözücünün biyobozunurluğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu işlem, döner buharlaştırma ve fırında kurutma işlemleri sırasında kaybolmayacak bileşikler için geçerlidir. Test şişesine doğrudan tartılacak malzeme miktarının artırılmasına ve böylece tekrarlı deney şişeleri arasındaki doğruluğun artırılmasına olanak tanır.

Emülgatör bir kimyasal ile dağılım.

ISO (1995), biyobozunur olmayan ve biyobozunurluk testi koşulları altında toksik olmayan az çözünür test maddesinin kullanılabilirliğinin artırılması için emülgatör kimyasalların kullanımını önermektedir. Synperonic PE/P94, Synperonic PE/P103 veya Tween 85, emülgatör kimyasallar olarak kullanılabilen ticari maddeler olarak tanımlanmıştır. Aynı zamanda toksik olmayan ve biyobozunur olmayan taşıyıcı çözücüler de bu emülsiyonların oluşturulması için gereklidir.

ISO, en homojen emülsiyonun biyobozunurluk testinde kullanılmak üzere seçilmesinden önce üç emülsiyonun hazırlanmasını önerir. Testin geçerli sayılabilmesi için kontrol kaplarında (test bileşiği içermeyen çözücü ve emülgatör) gözlemlenen bozunmanın test şişelerinde gözlemlenen bozunmanın %10'unu geçmemesi gerektiğini belirten çok açık bir rehber de sağlanmıştır.

Çözücünün ve emülgatör kimyasalların mikroplar için toksik olmadığını veya biyobozunur olmadığını gösterilebilmesi için destekleyici kanıtlar sunulmalıdır.

Suda Az Çözünür Maddelere İlişkin Minimum Test ve Veri Gereklilikleri

Aşağıdaki bilgiler rapor edilmelidir:

- Maddenin suda çözünürlüğü, buhar basıncı ve yüzeye tutunma özelliklerine ilişkin bilgiler önemlidir.
- Maddenin diğer çözücüler (özellikle, maddenin emülsifikasyonlarda ve inert destekleyici maddelerde dağılması için kullanılan çözücüler) içindeki çözünürlüğü belirtilmelidir.
- Teorik değerlerin hesaplanabilmesi ve/veya parametrelerin ölçülen değerlerinin (örneğin ThOD, ThCO₂, DOC, TOC ve COD) kontrol edilebilmesi için kimyasal yapı veya formül tanımlanmalıdır. Sonucun geçiş seviyesine yakın olduğu durumlarda, elde edilen sonuçların yorumlanabilmesi için test malzemesinin ana bileşenlerinin saflığına veya bağlı oranlarına ilişkin bilgi gereklidir.
- Test maddesinin veya herhangi bir emülgatörün veya taşıyıcı çözücünün bakteriler üzerindeki toksisitesine ilişkin bilgiler, uygun test konsantrasyonlarının ve hazırlama stratejilerinin seçilmesinde çok faydalı olabilir.
- Testten önce bileşiğin herhangi bir ön işlemi.
- Test maddesinin ilave edilme yöntemi, özellikle çözücülerin, emülgatörlerin ve inert destekleyici maddelerin kullanımına ilişkin destekleyici kanıtlarla ayrıntılı olarak açıklanmalıdır.
- İnert destekleyici maddeler ve emülsiyonlar kullanılmadan önce test maddesinin konsantre stok karışımlarının oluşturulabilmesi için nominal konsantrasyonlara karşı ölçülen karbon konsantrasyonları kullanılır. Bu, geri kazanım derecesini içermelidir.
- Herhangi bir ön işlemin süresi.

- Kontrol şişelerinde gözlemlenen bozunma hızı (test maddesi olmayan uygulama).
- Az çözünürlüğe ilişkin uygun pozitif referans veriler (aşağıya bakınız).

Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyobozunurluk testlerine ilişkin Sonuçlar ve Öneriler

Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin biyobozunurluğunun değerlendirilmesine ilişkin tek bir yöntem yoktur. ISO'nun 1995'te yayınladığı rehberden itibaren bilimin durumu değişmemiştir. Yaklaşımların bir kombinasyonu kullanılmalı ve bunlar en azından doğrudan ekleme ile gözlemlenen biyobozunurluk ile karşılaştırılmalıdır. Doğrudan ekleme, genel olarak biyobozunurluğun en koruyucu tahminini sağlayacaktır.

Sodyum asetat, sodyum benzoat, anilin veya glikoz gibi normal pozitif referans maddeler, inokülüm maddesinin aktif olduğunu göstermelerinin dışında, az çözünür maddelerin değerlendirilmesine ilişkin çok az destek sağlar. Yetersiz çözünen maddelerin değerlendirilmesine yönelik "kıyaslama" yöntemleri için, yaygın olarak az çözünür referans maddeler kullanılmalıdır. ISO rehberinin Eklerinde iki örnek verilmiştir. Bunlar, diizooktilfталat (inert destekleyici maddenin yüzeyine tutunmanın ve emülgatör kimyasal ile dağılımın, doğrudan ilaveye kıyasla bozunmayı artırdığı) ve antrakınon (inert destekleyici maddenin yüzeyine tutunmanın ve emülgatör kimyasal ile dağılımın, doğrudan ilaveye kıyasla bozunmayı artırdığı) için biyobozunurluk eğrileridir. Her iki durumda da ultrasonikasyonun kullanılması önemli bir fayda sağlamamıştır.

Pozitif kontrol olarak diizooktilfталat veya antrakınon kullanılarak, az çözünür maddelerin mevcudiyetinin artırılması ile ilgili yöntemlere daha fazla güven sağlanacaktır. Referans kontrol, doğrudan ekleme ve karışım seçimi ile test sistemine dahil edilmelidir. Bu nedenle, herhangi bir biyobozunurluk değerlendirmesi için aşağıdaki şişe serilerinin olması gerekecektir:

- Kör Kontrol (inokülüm ve test bileşiği içermeyen ortam);
- Biyobozunurluğa ilişkin pozitif referans (sodyum asetat, sodyum benzoat, anilin veya glikoz);
- Az çözünür pozitif kontrol (diizooktilfталat veya antrakınon, doğrudan ekleme yoluyla ilave edilir);
- Test maddesi (koruyucu bir değerlendirme için doğrudan eklenerek dahil edilir);
- Doğrudan ekleme kontrolü;
- Ekleme yöntemiyle (örneğin, kararlı bir desteğin yüzeyine tutunma) birlikte test maddesi;
- Test maddesiyle aynı dahil edilme yöntemini kullanan az çözünür pozitif kontrol; ve
- İlave edilen kontrolün (örneğin, inert destek ve test maddesi içermeyen çözücü) seçimi.

Yukarıdaki yöntemler meşakkatli görünmektedir ancak çok fazla ekstra çaba veya masraf oluşturmazlar. İlave bilgi sağlamanın uzun süreli değeri, üzerinde anlaşılan kıyaslama standartlarına göre az çözünür malzemenin değerlendirilmesine ilişkin daha büyük bir güven sağlamasıdır.

Ek R.7.9—4 Çok Bileşenli Maddelerin (örneğin UVCB Petrol Maddeleri) Biyobozunurluğunun Test Edilmesine İlişkin Rehber

UVCB ve iyi tanımlanmış çok bileşenli maddelerin PBT/vPvB değerlendirmesine ilişkin rehberlik için, lütfen *BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.11'deki Başlık R.11.4.2.2'ye bakınız.

Petrol maddeleri, doğal ham petrolardan oluşturulması ve ardından çeşitli arıtma işlemlerinin kullanımından elde edilen üretim nedeniyle birden çok hidrokarbon bileşeni içeren karmaşık maddelerdir ve genel olarak çeşitli bileşimlere sahiptir. Pek çok petrol maddesi çok yüksek tonajlarda, bir dizi teknik özelliklerle ve benzersiz yapıların hassas kimyasal bileşimi ile bazı durumlarda karakterize edilebilmeleri halinde üretilir. Bu malzemelerin tipik olarak damıtma temelinde ayrılabilmesi sebebiyle, teknik özellikler genel olarak bir kaynama noktası aralığını içerir. Bu aralıklar, yaklaşık karbon sayısı aralıkları ile ilişkililikten, orijinal ham petrolün doğası ve rafineri işlemi, mevcut hidrokarbon yapılarının türlerini etkiler. Çeşitli petrol maddesi akışları için oluşturulan CAS tanımları, nihai rafineri süreci dahil olmak üzere genel olarak şu ayrıntıları yansıtır; kaynama aralığı; karbon sayısı aralığı ve mevcut baskın hidrokarbon türleri.

Çoğu petrol maddesi için, kimyasal bileşimin karmaşıklığı, tam bir karakterizasyonun elde edilebilmesi için yaygın analitik metodolojinin kapasitesinin ötesinde olacak şekildedir. GC-MS ve GCxGC (CONCAWE, 2012) gibi yararlı olan teknikler vardır, ancak bunlar yaygın değildir. Tipik maddeler, ağırlıklı olarak düz ve dallanmış zincirli alkanlardan, tekli ve çoklu naftenik halka yapılarından (genel olarak alkil yan zincirleri ile), tekli ve çoklu aromatik halka yapılarından (genellikle alkil yan zincirlerle) oluşabilir. Hidrokarbonları içeren bileşenlerin moleküler ağırlıkları arttıkça, olası yapıların (izomerik formlar) sayısı ve karmaşıklığı üstel olarak artar.

Petrol kimyasalları için çevresel test stratejilerinin bu kimyasalların bileşimlerinin karmaşıklığını yansıtmaması gerekir. Bileşenlerdeki hidrokarbonların özelliklerini yansıtan petrol maddeleri tipik olarak hidrofobiktir ve suda düşük çözünürlük sergiler. Bununla birlikte, bireysel bileşenli hidrokarbonlar, suda çok çeşitli çözünürlük sergileyecektir. Karmaşık bir petrol maddesinin artan miktarları suya ilave edilirken, en az çözünür bileşenin çözünürlük sınırının aşıldığı ve kalan bileşenlerin su ile çözünmemiş hidrokarbon fazları arasında dağılacığı bir noktaya ulaşılacaktır. Sonuç olarak, sudaki toplam çözünmüş hidrokarbonların bileşimi, ana maddenin bileşiminden farklı olacaktır.

Kompleks bileşim ve genellikle düşük olan suda çözünürlük, biyobozunurluk çalışmalarının seçimini ve yürütülmesini etkiler. Diğer bir karışıklık, petrol maddelerinde bulunan karbon sayıları ile hidrokarbon yapıları aralığında geniş bir çeşitlilik gösteren hidrokarbon bileşenlerinin uçuculuğudur. Çevreye salım koşullarının birçoğunda, kapalı sistemlerde gerçekleştirilen testler aracılığıyla (uçucu kayıpların en aza indirilmesini sağlamak için her yöntemle başvurulması) petrol maddelerinin doğasında bulunan zararlılıkların değerlendirilmesi yararlı olmuştur, hidrokarbon bileşenlerin çoğunda yüksek miktarda buharlaşma olacaktır.

Biyobozunurluğa İlişkin Test Yöntemleri

Daha düşük moleküler ağırlığa sahip hidrokarbonlar, standart OECD testlerinde kolay biyobozunur olma eğilimindedir ve moleküler ağırlık arttıkça (suda çözünürlüğün azalmasına ve dolayısıyla biyoyararlanımın azalmasına karşılık gelir) biyobozunurluğun azalmasına rağmen, hidrokarbonlar genellikle kendiliğinden biyobozunur maddeler olarak kabul edilir. Hidrokarbonların ilk metabolitleri karboksilik asitler olacaktır ve bu nedenle ana yapılardan daha az endişe verici olacaktır.

Tipik olarak, petrol maddelerinin sudaki biyobozunurluğuna ilişkin laboratuvar çalışmaları, sadece suda çözünür olan kısmın değil, tüm maddenin biyobozunurluk potansiyelini değerlendirmiştir. Yeterli hassasiyetin elde edilebilmesi için çoğu biyobozunurluk testi, ortamda yaygın olarak bulunan maddelerin konsantrasyonlarına göre daha yüksek konsantrasyonlarda bir madde kullanır. Bir petrol maddesi için bu, maddenin büyük bir kısmının çözünmemiş fazda olacağı ve bu nedenle bozucu organizmalar tarafından tam olarak elde edilemeyeceği anlamına gelir. Bu, ortamda biyobozunurluğa yönelik gerçek potansiyelinin hafife alınmasına neden olacaktır. Biyobozunurluk hızının da etkilenmesi muhtemeldir; ilk olarak, biyobozunurluk hızı, muhtemelen bireysel hidrokarbon bileşenlerinin çözünme hızı ve çözünürlüğü ile sınırlandırılacaktır. İkinci olarak, petrol maddelerinin karmaşık bir bileşen bileşimine sahip olması, bireysel hidrokarbonları kullanabilmeleri için mikroorganizmaların kademeli bir alıştırmalarıyla sonuçlanır ve yine 'tipik' kinetiklerden sapmaya neden olur. Bu nedenle, tipik logaritmik büyüme fazı (Monod) biyobozunurluk kinetiği (Kolay biyobozunurluk testlerinde meydana geldiği varsayılır) petrol maddelerinde gözlemlenmeyebilir, böylece bireysel bileşenlerin kolay biyobozunur olduğu durumlarda, petrol maddesi OECD tarafından tanımlanan 10 günlük pencereye ulaşamayabilir (Deneer ve ark., 1988).

Çözünme hızlarının artırılmasına ilişkin test yöntemlerinde yapılan bazı değişiklikler bu durumu iyileştirebilir. Çözünürlüğü düşük olan maddelerin test edilmesine yönelik yaklaşımlara ilişkin rehberler yayınlanmıştır (Whitehouse ve Mallet, 1994). Deneysel yöntemler arasında ultrasonik dağılım, dağılıma yardımcı olmak için inert destekleyici bir maddenin veya emülgatörün ilave edilmesi veya inert destekleyici bir maddeye test maddesinin ilave edilmesi (yüzey alanının artırılması ve dolayısıyla mikroorganizmaların erişimine yardımcı olabilmek için) yer alır. Bkz. bölüm R.7.9.4.1.

Biyobozunurluk potansiyelinin belirlenebilmesi için kabul edilen birkaç yöntem, az çözünür maddeler için uygun değildir (çünkü bunlar toplam çözünmüş organik karbonun ölçümüne dayanmaktadır) veya uçucu maddeler için uygun değildir (çünkü uçucu bileşenler, biyobozunurluk ile değil, buharlaşma ile kaybolmaktadır).

Maddelerin bağıl biyobozunurluğunun tahmin edilebilmesine ilişkin üç temel biyobozunurluk testi türü (yani, kendiliğinden biyobozunurluk ve birincil biyobozunurluk yöntemleri) kullanılır. Petrol maddelerinin test edilmesinde bu işlemlerin kullanımı aşağıdaki paragraflarda ele alınmaktadır. Genel olarak sınıflandırma için yalnızca kolay biyobozunurluk verileri kullanılır, ancak GHS şeması altında başka tür bilgiler de (simülasyon testi verileri veya birincil bozunma verileri ve bozunma ürünlerinin değerlendirilmesi) kullanılabilir.

Karışımların biyobozunurluk potansiyelinin değerlendirilebilmesi için standart laboratuvar testlerini kullanmanın mantığı bir AB çalıştayında tartışılmıştır (Avrupa Kimyasallar Bürosu, 1996); mevcut yöntemlerin, homolog hidrokarbon serileri (petrol maddeleri gibi) içeren karışımların biyobozunurluk potansiyelinin değerlendirilebilmesi hususunda uygun olduğu kabul edilmiştir, ancak bu tür yöntemlerin karışımlar için genel olarak uygulanabilir olmadığına karar verilmiştir.

Kolay Biyobozunurluk Testleri

Bunlar, 28 günlük bir süre boyunca alıştırılmamış bir inokülümün⁴⁰ kullanılmasıyla test maddesinin tam mineralizasyonunu veya nihai biyobozunurluğunu (karbondioksite ve suya oksidasyon) ölçen, yaygın olarak kullanılan laboratuvar testlerinin en tutarlı olanıdır. Kolay Biyobozunurluk, OECD tarafından yayınlanan (ve daha sonra AB tarafından benimsenen) altı test yönteminin her biri için kararlaştırılmış geçme/kalma kriterleri açısından tanımlanır (AB, 1967; OECD, 2000); özellikle gerekli biyobozunurluk seviyesi, %10 biyobozunurluğun elde edilmesinin ardından 10 gün içinde elde edilmelidir. 28 günlük biyobozunurluk testlerinin tümünde, mineral tuzu konsantrasyonu, sıcaklık ve pH sürekli kontrol edilir ve mikrobiyal inokülümün test maddesine önceden maruz bırakılmasına izin verilmez. OECD yöntemlerine ek olarak, BOD5:COD oranının 0.5 veya daha yüksek olması durumunda maddenin kolay biyobozunur olarak kabul edildiği bir vekil işlem vardır. Bu test yöntemlerinin zorluğu nedeniyle, kolay biyobozunurluğu gösteren herhangi bir maddenin sucul ortama salınması halinde hızlı biyobozunur olacağı varsayılmaktadır.

Uçucu olmayan maddeler için Değiştirilmiş Sturm testi (OECD 301B) ve Respirometrik Yöntem (OECD 301F), petrol maddeleri için en yaygın kullanılan yöntemlerdir. Daha yakın bir zamanda, uçucu maddelerin biyobozunurluğunu ele alan bir test rehberi, OECD 310 yayınlanmıştır.

Kendiliğinden Biyobozunurluk Testleri

Bu laboratuvar yöntemleri, Kolay Biyobozunurluk testlerinden daha kolaydır ve bu nedenle, belirli bir test sistemi içinde biyobozunurluğun gözlemlenmesi olasılığını artırır. Test maddesinin karbondioksite ve suya tam oksidasyonu kapsamı hala ölçülmektedir.

Kendiliğinden Biyobozunurluk, yine testte kaydedilen biyobozunurluk yüzdesi cinsinden tanımlanır; Kendiliğinden Biyobozunurluk gösteren maddelerin sucul ortama salındığında kalıcı olmayacağı varsayılabilir.

Ne yazık ki, OECD (OECD, 2000) tarafından tanımlanmış Kendiliğinden Biyobozunurluğa ilişkin mevcut test yöntemleri petrol maddeleri için uygun değildir (CONCAWE, 1992).

Bununla birlikte, ISO dahilinde yeni bir Kendiliğinden Biyobozunurluk testinin geliştirilmesinin ve onaylanmasının ardından (Battersby, 1997; ISO, 1996), CONCAWE, bu Headspace Yöntemi'nin petrol maddeleri için daha uygun bir hale getirilebilmesi için uyarlanmış versiyonunu yakın zamanda onaylamıştır; bu araştırmanın sonuçları yakın zamanda yayınlanmıştır (Battersby ve ark., 1999). Bu yöntem, uygunluğu açısından hala tartışılmaktadır.

Birincil Biyobozunurluk Testleri

Başlangıçta iki zamanlı çevrimli dış motor yağlarının biyobozunurluğunun değerlendirilmesi amacıyla geliştirilen CEC L-33-A-93 biyobozunurluk yöntemi (CEC, 1995), çok çeşitli yağ ürünlerinin biyobozunurluk potansiyelinin değerlendirilmesi için yağ endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

⁴⁰ Kolay biyobozunurluk testi, belediye AAT'lerinden elde edilen inokülümün kullanımı anlamına gelir ve bu nedenle yerel AAT'lerde meydana gelen alıştırma dolaylı olarak dikkate alınır.

Test, kimyasal bileşimdeki belirli bir değişikliğin temelinde (yani mineralizasyondan ziyade ana maddenin kaybı) biyobozunurluğu tahmin eder. Maddenin daha karmaşık bir hale gelmesine rağmen, benzer testler özel GC ve CG-MS analitik yöntemleri kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Bu işlemlerin kullanılması ile elde edilen sonuçlar genel olarak sınıflandırma amaçları açısından sınırlı değere sahiptir, ancak belirli durumlarda maddeler arasındaki bağıl biyobozunurluğun karşılaştırılmasının yanı sıra kalıcılığın ve risk değerlendirmesinin desteklenebilmesi için veri sağlama hususunda yararlı bilgiler sağlayabilir. Bu gibi durumlarda, bozunma ürünlerinin de değerlendirme amaçları için gerekli olduğu ölçüde değerlendirilmesi gerekir.

Abiyotik Bozunma

Hidroliz, hidrokarbonların su ile reaksiyona girmemesi sebebiyle petrol maddeleri için önemli bir davranış süreci değildir. Bununla birlikte, doymamış hidrokarbonların, özellikle de aromatik hidrokarbonların oksijen varlığında güneş ışığı ile reaksiyona girerek bozunması, bu tür maddelerin su yüzeyinde veya yakınında mevcut olduğu önemli bir uzaklaştırma işlemi olabilir. Çevresel zararlılık sınıflandırması için mevcut kriterlerin ışıkla bozunmayı ele almaması ile birlikte, bu belirli petrol akışlarında bulunan bir dizi aromatik hidrokarbon için önemli bir davranış sürecidir. Konunun risk değerlendirmesi açısından önemi gözden geçirilmiştir (CONCAWE, 2013). Sudaki maddelerin doğrudan fotoliz hızı büyük ölçüde enlem, mevsim, su sütunu ve su sütunundaki askıda malzemenin gölgeleme etkisine bağlıdır.

Eklere Referanslar

Battersby, N.S. (1997) ISO üst boşluk yöntemi CO₂ biyobozunurluk testi. Chemosphere, 34, 8, 1813-1822.

Battersby N.S, ve ark. (1999) Petrol için kendiliğinden biyobozunurluk testi [ürünler: uluslararası halka testinin tanımı ve sonuçları. Chemosphere, 38, 14, 3219-3235.

CEC (1995) Biodegradability of two-stroke cycle outboard engine oils in water (İki zamanlı çevrimli dış motor yağlarının suda biyobozunurluğu). Test Yöntemi CEC L-33A-93. Brüksel: Avrupa Konseyi Koordinasyonu.)

CONCAWE (1992) Ecological testing of petroleum products: test methodology (Petrol ürünlerinin ekolojik testi: test metodolojisi). Report No. 92/56. Brüksel: CONCAWE.

CONCAWE (2012) REACH - Petrol UVCB maddelerinin analitik karakterizasyonu. Report No. 7/12. Brüksel: CONCAWE.

CONCAWE (2013) Sucul Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların çevresel risk değerlendirmesinde fototoksitenin ve fotobozunmanın ele alınmasına ilişkin zorluklar. Report No. 9/13. Brüksel: CONCAWE.

Deneer, J.W. ve ark. (1988) The joint toxicity to *Daphnia magna* of industrial organic chemicals at low concentrations (Düşük konsantrasyonlardaki endüstriyel organik kimyasalların Dafniya magna'ya ortak toksisitesi). Aquatic Toxicology, 12, 33-38

AB (1967) Zararlı maddelerin sınıflandırılması, ambalajlanması ve etiketlenmesine ilişkin kanunların, düzenlemelerin ve idari hükümlerin yaklaşımına ilişkin 27 Haziran 1967 tarihli Konsey Direktifi (67/548/EEC). Avrupa Toplulukları Resmi Gazetesi No. L196, 16.08.1967

Avrupa Kimyasallar Bürosu (1996) Biyobozunurluk üzerine bir çalıştayın taslak özet raporu. Doc. No. ECBI/17/96-Add.2 Revize Edilmiştir. 12-14 Haziran Çalıştayı, 1996, Arona.

ISO 10634:1995 Sucul ortamda biyobozunurluğun eş zamanlı olarak değerlendirilmesi için suda çözünürlüğü düşük olan organik bileşiklerin hazırlanmasına ve işlenmesine yönelik ISO Rehberi

ISO (1996) Su kalitesi - sucul ortamda organik bileşiklerin nihai aerobik biyobozunurluğunun değerlendirilmesi - kapalı kaplarda salınan inorganik karbonun analizi ile yöntem. Taslak Uluslararası Standartlar ISO/DIS 14593. Cenevre: Uluslararası Standartlar Organizasyonu.

OECD (1992) Test No. 301: Kolay Biyobozunurluk, OECD Yayınları, Paris

OECD (2000) Kimyasalların test edilmesine yönelik OECD rehberi. Cilt 1 ve 2. Paris: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü

Whitehouse, P. ve Mallet, M, (1994) Aquatic toxicity testing for notification of new substances: an advisory document on dealing with 'difficult' substances (Yeni maddelerin bildirim için sucul toksisite testi: 'zor' maddelere ilişkin bir tavsiye belgesi). Rapor No. CP 722(P). Londra: HMSO

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi
Bölüm R7b Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1

Şubat 2021

YASAL UYARI

Bu belge, kullanıcılara Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik uyarınca yükümlülüklerini yerine getirmelerine yardımcı olma amaçlı bir dizi rehber belgeden biridir. Bununla beraber, söz konusu Yönetmeliğin tek gerçek referans olduğu ve işbu belgede yer verilen bilgilerin yasal tavsiye niteliğinde olmadığı hatırlatılır. Bilgilerin kullanımı tamamen kullanıcının sorumluluğundadır. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı işbu belgenin içindeki bilgilerin kullanımından açığa çıkabilecek hiçbir yükümlülük kabul etmemektedir.

Bu rehber, Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency-ECHA) tarafından REACH Tüzüğü'nün uygulanmasına ilişkin hazırlanan "Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Appendix R7-1 for nanomaterials applicable to Chapter R7b Endpoint specific guidance" adlı rehberden Türkçe'ye çevrilmiş ve Türkiye'deki mevzuata göre uyarlanmıştır. Rehberin İngilizce orijinal metnine ECHA'nın web sitesinden erişilebilir (<https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach>).

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi

Bölüm R7b - Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1

BELGENİN TARİHÇESİ

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1	İlk baskı	Nisan 2012
Versiyon 2	<ul style="list-style-type: none">Nanomalzemeler için ekotoksosite ve çevresel davranış testlerinin yürütülmesi amacıyla genel tavsiye sağlamak üzere ekotoksosite ve davranış testlerine ilişkin yeni tavsiye notları (bölüm 1.1).Yüksek çözünmezliğin bir feragat olarak kullanılamayacağını açıklığa kavuşturmak ve bu sonlanma noktası için gerçekleştirilecek metne daha fazla tavsiyede bulunmak için sucül pelajik toksisite hakkındaki bölüm 1.2.1'in güncellenmesi.Çökelti organizmaları için toksisite üzerine ekleme yöntemleri hakkında tavsiye sağlamak ve mevcut OECD rehberlerinin uygulanabilirliğini dahil etmek amacıyla 1.2.2 bölümünün güncellenmesi.Hidroliz ve bozunma temsil testi için feragatlerin tek kanıt olarak uygulanamayacağını açıklığa kavuşturmak, fotokatalitik bozunma hakkında tavsiye ve testlerin gerçekleştirilmesi hakkında genel tavsiye sağlamak amacıyla bozunma/biyobozunurluk hakkındaki bölüm 1.2.3'ün güncellenmesi. <p>Bölümlerin numaralandırmasının değiştiğine dikkat edilmelidir, yukarıdaki bölüm numaraları rehber bölümlerin güncellenmiş numaralandırmasını ifade eder.</p>	Mayıs 2017

ÖNSÖZ

Kayıt ettirenlere, "nanoformları"¹ kapsayan KKDİK kayıt dosyalarını hazırlarken kullanılmak üzere tavsiye sağlamak için bilgi gerekliliklerine ilişkin üç ek (BG ve KGD Rehberi Bölümleri R7a, R7b ve R7c ekleri) geliştirilmiştir.

Bu belgede verilen tavsiyeler, nanomalzemelerin test edilmesine yönelik özel önerilere odaklanmaktadır². Sağlanan tavsiyenin bir kısmı tamamen nanomalzemelere özgü değildir (örneğin diğer tanecikli malzemeler için de geçerli olabilir). Bununla birlikte, bu tür bir tavsiye dahil edildiğinde, kapsanan konunun özellikle nanomalzemeler ile ilgili olduğu ve nanomalzemelere özel rehberin bir parçası olması gerektiğinin düşünülmesidir.

Herhangi uygun özel bir tavsiyenin yokluğunda (halihazırda sağlanan rehberin nanomalzemeler için eşit derecede geçerli olduğu düşünüldüğünde sonlanma noktasının nanomalzemeler için ilgili olmaması ya da tavsiyenin geliştirilmesinden önce daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulması sebebiyle) bu eke sonlanma noktası için ilave bir rehber dahil edilmemiştir.

Bu ek, nanomalzemelere özel tavsiyeler sağlamayı amaçlamaktadır ve Bölüm R.7b'de (ana rehber) verilen genel ilkelerin uygulanabilirliğini engellemez.

Ayrıca, bu ekte belirli bir sonlanma noktası için herhangi bir tavsiye verilmemişse ana Rehberde verilen tavsiyelere uyulmalıdır.

Lütfen bu belgenin (ve ana rehberin) KKDİK Yönetmeliği Ek 6 - Ek 11'de belirtilen bilgi gerekliliklerinin karşılanması konusunda özel rehberlik sağladığını unutmayınız.

Mevcut bilgilerin toplanması ve değerlendirilmesi ile bilgi gerekliliklerinin uyarlanması gibi bilgi gerekliliklerini karşılamaya yönelik genel bilgiler, BG ve KGD Rehberi, Bölüm R.2 ile R.5'te mevcuttur.

Ayrıca, mevcut olan verilerin kullanımı dikkate alındığında, *Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri ve Kimyasalların Gruplandırılmasına İlişkin Rehber için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R.6-1* [1], aynı maddenin nanoformları (ve nanoform olmayan türleri) arasında zararlılık verilerinin kullanımının nasıl gerekçelendirileceğine dair bir yaklaşım sağlaması sebebiyle yararlı olabilir.

¹ Lütfen bkz. nanoformları kapsayan kayıt dosyaları nasıl hazırlanır: en iyi uygulamalar [57]

² Bkz. Avrupa Komisyonu tarafından benimsenen [Nanomalzeme tanımına ilişkin tavsiyeler](#).

İçindekiler

2	NANOMALZEMELER İÇİN EKOTOKSİKOLOJİK SONLANMA NOKTALARINA İLİŞKİN TAVSİYELER:	282
2.1	Nanomalzemelerin ekotoksosite ve davranış testlerinin nasıl yapılacağına dair Genel Tavsiyeler	282
2.1.1	Test dışı veriler.....	284
2.2	Sonlanma noktaları için özel tavsiye	284
2.2.1	Sucul pelajik toksisite.....	284
2.2.1.1	Sucul toksisite için özel test rehberleri	286
2.2.2	Çökelti organizmaları için toksisite	287
2.2.2.1	Çökelti toksisitesi için test rehberleri	289
2.2.3	Bozunma/Biyobozunurluk/Dönüşüm	289
2.2.3.1	Biyobozunurluk.....	290
2.2.3.2	Abiyotik bozunma	290
2.2.3.3	Dönüşüm	291
2.2.3.4	Bozunma/dönüşüm testinde yüzey kimyası	292
2.2.3.5	Bozunma/biyobozunurluk için test rehberleri	292

1 NANOMALZEMELER İÇİN EKOTOKSİKOLOJİK SONLANMA NOKTALARINA İLİŞKİN TAVSİYELER:

1.1 Nanomalzemelerin ekotoksisite ve davranış testlerinin nasıl yapılacağına dair Genel Tavsiyeler

Bu bölüm, test ortamı veya sonlanma noktasından bağımsız olarak ekotoksikolojik ve davranış testleri için genel tavsiyeler sunar. Sonlanma noktasına özel rehberlik, ilgili sonlanma noktasına özel bölümler altında sağlanmaktadır.

Bu bölüm, aşağıda listelenen belgelerde ve Petersen ve ark. [2] ve Rasmussen ve ark. [3] tarafından yayınlanan yayınlarda sağlanan tavsiyeleri (numune alma, test için hazırlık, test etme ve sonuçları raporlama hakkında) özetlemektedir.

- OECD No. 36 : İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenlik Testleri için Numune Hazırlama ve Dozimetri Rehberi [4];
- OECD No. 40 : İmal Edilen Nanomalzemelerin Ekotoksikolojisi ve Çevresel Davranışı: Test Rehberleri. Uzman Toplantı Raporu [5];
- OECD No. 40 (1): İmal Edilen Nanomalzemelerin Ekotoksikolojisi ve Çevresel Davranışına İlişkin Ekler: Test Rehberleri. Uzman Toplantı Raporu [6];
- OECD No. 62 : Çözünürlüğün, Risk Değerlendirmelerinde Nanomalzemelerin Çevresel Davranışının Değerlendirilmesi için Yüzey Kimyasının Bir Fonksiyonu Olarak Kullanılmasına İlişkin Hususlar. Gümüş Nanotanecikleri Kullanılan Bir Vaka Ön Çalışması [7];
- OECD No. 64 : Düzenleyici Sistemler için Fiziksel-Kimyasal Özelliklere (Gera-Pc) Dayalı Nano Gruplama/Eşdeğerlik/Çapraz Okuma Kavramları Üzerine Yaklaşımlar [8].

Teknik dosyada nanoform/nanoformlar ile ilgili sonuçlar raporlandığında (sonlanma noktası ile ilgili olduğunda) aşağıda detaylandırılan rehber dikkate alınmalıdır.

Önkoşullar

Nanomalzemeler test edilirken aşağıdaki hususların dikkate alınması tavsiye edilir:

- Test için temsili kontroller tanımlanır (örneğin, metal oksit nanomalzemeler için, kıyaslama olarak metal tuzu çözeltileri)
- Çözünme hızı ve potansiyel iyon salımı (yüksek, orta, düşük veya ihmal edilebilir çözünme kriterleri için bkz. BG ve KGD Rehberinde Bölüm R.7a Ek R.7-1 içerisinde Bölüm 2.2.2.1).
- Aglomerasyon davranışı, bozunma ve dönüşüm (sıcak ortamdaki aglomerasyon davranışı hakkında OECD Test Rehberi ve geliştirilmekte olan bir karar ağacı bulunan ilgili rehber doküman kullanılarak, OECD No. 40 [5])
- Seçilen maruz kalma rejimlerinin gerekçeleri (örn. test süresi, statik veya sürekli akış, maruz kalma yolu, vb.).

Testin maruz kalma ortamı ve koşulları tutarlı ve tekrarlanabilir olmalıdır (*Bölüm R7a - Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1* [9] içerisindeki numune hazırlama bölümünde açıklandığı gibi).

- Test sırasında konsantrasyondaki herhangi bir düşüşü veya dönüşümü tespit etmek için test malzemesinin konsantrasyon ölçümlerinin sıklığı tanımlanır.

- Test sırasında güvenilir maruz kalma konsantrasyonları sağlamak için ilgili ölçütlerle örneğin agregasyon ve çökme veya dönüşüm nedenli konsantrasyon değişiklikleri ölçülür.
- Bir testi gerçekleştirirken, bir kütle ölçütü kullanımının yanı sıra, nanoya özel diğer ölçüler (örneğin, özel yüzey alanı, hacim) dikkate alınmalıdır. Kullanılan ölçüm teknikleri ve ölçütler, bu ölçümler yapıldığında sağlanmalıdır (bkz. örneğin [10], [11]).

Test öncesi hazırlıklar

Testi hazırlarken aşağıdaki hususların dikkate alınması gerekir:

- Stok dağılım çözeltisi³:
 - Stok dağılım çözeltisi için kullanılan, hazırlanmış dağılım ürünü raporlanmalıdır
 - Stok dağılım çözeltisinin doğrudan uygulanması ile diğer seyreltme adımlarının hazırlanması rapor edilmelidir.
 - Test malzemesinin stok dağılımı için gereken saflık seviyesi⁴ dikkate alınmalıdır.
 - Stok dağılım çözeltisinde dağılım kararlılığı ([2], [11])
- Test ortamı ve test malzemesi ile olası etkileşimler:
 - Test ortamı ve test malzemesi için uygun dağılım protokolünün seçimi (yukarıda bahsedildiği gibi). Dağılım yöntemi, test malzemesinin özelliklerini değiştirmemelidir (Örneğin bkz. [11]).
 - Kullanılan test ortamında nanomalzemenin aglomerasyon davranışı ve çözünmesi ve ilgili olan yerlerde maruz kalma üzerindeki potansiyel etkileri (bkz. OECD No. 36 [4] ve OECD No. 40 [5] ve ek [6]). Sucul Ortamdaki Nanomalzemelerin Aglomerasyon Davranışı ve Çözünme Hızı için test rehberleri ve rehberlik (mevcut olduğunda) uygulanır (Ayrıca bkz. [12], [13]).
 - Test ortamındaki partikül kararlılığı düşünülür. Bu, testin rehberin gerektirdiği şekilde, ancak test malzemesi ile test ortamı arasındaki etkileşimleri netleştirmek için test organizmaları olmadan yapılması anlamına gelir. Test malzemesinin test ortamı ile olası etkileşimleri (bkz. örneğin [10]) aşağıda belirtilen şekilde olabilir:
 - besinler ile kompleks oluşturma;
 - çözünmüş veya doğal organik madde (DOM/NOM) ile etkileşim;
 - Yüzey ilgisi;
 - Test malzemesinin çökmesi veya çökeltisi.

Nanomalzemelerin Sucul (ve Çökelti) Toksikoloji Testlerine ilişkin OECD Rehberi, mevcut olduğunda bu konular hakkında daha fazla tavsiye sağlayacaktır.

³ Kuru ekleme yöntemi, Bölüm 2.1.1'de tartışılmaktadır.

⁴ Bu bağlamda "saflık", kimyasal saflığı ve ayrıca biyolojik kirliliğin olmamasını ifade edebilir.

1.1.1 Test dışı veriler

Nanomalzemeler için veri boşluklarını ele almak üzere (Q)SAR yaklaşımları gibi test dışı yaklaşımların kullanımı hala sınırlı olsa da, ilgili ve güvenilir bilgi sağlamaları durumunda ve sağladıklarında test dışı yöntemler önerilir ve gerekli test miktarını önemli ölçüde azalttığı için uygulanabilir. Bununla birlikte, çevre için bir zararlılık değerlendirmesi oluştururken nanomalzemeler için test dışı yaklaşımların kullanılması, kapsamlı ve bilimsel olarak gerekçelendirilmelidir. Diğer test dışı yaklaşımlar, Ek R.6-1: Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Gruplandırma Rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir tavsiyeler içerisinde açıklanmıştır, aynı maddenin nanoformları (ve nanoform olmayan türleri) arasındaki zararlılık verilerinin kullanımının nasıl gerekçelendirileceğine dair bir yaklaşım sağlar. Farklı maddelerin nanoformları arasında çapraz okuma ve/veya gruplandırma düşünüldüğünde, ÇŞB BG ve KGD Rehberi Bölüm R.6 içerisinde Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Kimyasalların Gruplandırılması [10] üzerine sağlanan tavsiyeler, nanoya özel ekte [1] sağlanan tavsiyeler ile birlikte düşünülebilir.

1.2 Sonlanma noktaları için özel tavsiye

R7b Sonlanma noktası özel rehberi ana belgesi içerisinde bölüm R7.8, sucul pelajik toksisite, çökelti organizmaları ve aktif çamur için toksisite ile ilgili bölümler içerir. Ana rehberde bu sonlanma noktaları için açıklanan yaklaşımlar ve yöntemler ilke olarak nanomalzemeler için de geçerlidir.

Bununla birlikte, *Bölüm R.7a Ek R.7-1*, [9], Bölüm 2.1.1 içerisinde belirtilen tavsiyelerin, özellikle dağılım hazırlama, nanomalzemelerin uygulanma yöntemi, test malzemesinin depolanması ve kararlılığı, ilgili test ortamının kimyasal bileşimi, stok dağılım çözeltilerinin karakterizasyonu, numunelerin karakterizasyonu (uygulama / test öncesinde ve mümkünse test sırasında ve / veya sonunda stok dağılım çözeltilerinden hazırlanmış) ve farklı ölçüm protokolleri ile ilgili olarak dikkate alınması gerekir.

İncelenmekte olan nanomalzemelerin hızlı ve yüksek oranda çözünmüş olduğu kanıtlanırsa, alışıldık kimyasallarla aynı şekilde değerlendirilecektir (bkz. *Bölüm R7a Ek R7-1* içerisinde Bölüm 2.2.1). Bu durumda, ekotoksikolojik ve davranış sonlanma noktaları için, ana rehberde verilen tavsiyeler geçerli olacaktır. Nanoya özel tek test, özel test ortamındaki çözünme hızına ilişkin verileri içeren fiziko-kimyasal testler olacaktır.

1.2.1 Sucul pelajik toksisite

Nanomalzemeler için sucul toksisite testi yapılırken, ana rehberde Bölüm 7.8.1'deki tavsiyeler yerine bu bölümde verilen tavsiyelere uyulmalıdır. Aşağıdaki noktaların dikkate alınması tavsiye edilir:

- Numune hazırlama (*Bölüm R7a Ek R7-1* içerisinde bölüm 2.1.1)
- Nanomalzeme ekotoksisite ve davranış testinin nasıl yapılacağına dair genel tavsiyeler (bkz. Bölüm 1.1)
- Test rehberlerinin uygulanabilirliği
- KKDİK sütun 2 uyarlamaları uyarınca yüksek çözünmezliğe dayalı feragat için özel hususlar
- Uzun süreli test tercihi
- Sonlanma noktasına özel öneriler

Yukarıda verilen genel tavsiyelere ek olarak, sucul testler için aşağıdaki özel tavsiyeler izlenmeli, uygulanmalı ve raporlanmalıdır:

- Kaydedilen maddenin (ürün formülasyonu) bileşenleri olmadıkça, sucul toksisite testi için stok dağılımı veya çözeltisinin hazırlanması için sentetik dağıtıcıların kullanılması tavsiye edilmez; bu durumda biyoanaliz, imal edilen şekliyle malzeme kullanılarak yapılmalıdır [2]
- Ortam özellikleri sağlanır (örn. pH, iyonik kuvvet, doğal organik madde (NOM) içeriği, humik asit içeriği).
- Maruz kalma konsantrasyonunu izlemek için eşlik eden analizlerle yapılacak testler (örneğin: çökme hızı [2], [10], [14]).

OECD Test Rehberleri ve bunların algler, suda yaşayan omurgasızlar ve balıklar için kabul edilen eşdeğerlerinin nanomalzemeler için genel olarak uygulanabilir olduğu düşünülmektedir [3]. Bununla birlikte, ana rehber R7b Bölüm 7.8.2'nin aksine, bu uyarılma genellikle nanomalzemeler için kabul edilemez çünkü suda yüksek oranda çözünmeyen bir maddeye dayalı sucul toksisite testlerinden feragat etmek üzere uyarılma, uygun ve bilimsel olarak kapsamlı bir gerekçe olmaksızın kullanılamaz (Bölüm R.7a, Ek R.7-1, Bölüm 2.2.1 içerisinde vurgulanmıştır.). Yukarıda açıklandığı gibi, düşük çözünürlük otomatik olarak sucul ortamda nanomalzemelerin sınırlı maruz kalmasına neden olmaz. Ayrıca, çoğu durumda nanomalzemeler için çözünürlük yerine çözünme hızı dikkate alınmalıdır. Çözünme hızı testinin sonuçlarına göre aşağıdaki seçenekler mümkündür:

- Nanomalzeme çözünmüştür ve ilgili ortamda yüksek bir çözünme oranına sahiptir (OECD No. 62 [7] içerisinde). Bununla birlikte, "hızlı çözünme" test süresine göre değerlendirilmelidir, örneğin bir malzemenin, uzun süreli bir balık testi için hızlı çözündüğü kabul edilebilir ancak aktif çamur inhibisyon çalışması için kabul edilmez. Yüksek çözünürlük ve hızlı çözünmenin gösterilebilmesi durumunda, dikkate alınması gereken nanomalzemelere özel başka hususlar yoktur ve ana rehber takip edilebilir.
- Nanomalzeme hızlı çözünmez, örneğin orta veya daha düşük çözünme oranı kriterlerine uygundur. Bu nedenle, kayıt ettirene, uygulanan test türüne ve deney düzeneğine bağlı olarak kısa süreli toksisite⁵ için test gerçekleştirmek yerine tercihen uzun süreli toksisite testi yapması önerilir (özellikle *Dafniya* ve Balık için uzun süreli test önerilir)⁶. Bu test değerlendirmeleri için, ana rehberde (bölüm R.7.8.2) önerilen bütünleşik test stratejisi (ITS) izlenebilir.
- Akut toksisite testi seçilirse, maruz kalma konsantrasyonunun yeterli olduğunu ve sürenin potansiyel toksik etkileri yakalayacak kadar uzun olduğunu kanıtlamak için koşullar ve test ayarları değerlendirilmelidir. Daha fazla test gerekiyorsa, ana rehberden alınan BTS izlenmelidir (bölüm R 7.8.2).
- Aksi takdirde, nanomalzemeler için, suda çözünürlükleri zayıfsa (ana rehber Bölüm R.7.8.2'de belirtildiği gibi) ve çözünme hızları ihmal edilebilir, düşük veya orta düzeydeyse, zaten belirtildiği gibi, uzun süreli toksisite testi (Algler dahil) düşünülmelidir (bkz. Bölüm R.7a, Ek R.7-1, kısım 2.2.1) [9].

⁵ Çözünme hızı yavaşsa, kısa süreli testler sınırlı maruz kalma nedeniyle güvenilir sonuçlar sağlamayacaktır. 'Hızlı' çözünmeyen nanomalzemeler için bir kronik test, çözünmeden sonra etkileri yakalamak için akut bir testten daha uygundur. Alım ve biyodağılım kinetiği, bu bağlamda, sadece çözünmüş malzeme için değil, aynı zamanda nanotaneciklerin kendileri için de anahtar faktörlerdir.

⁶ Nanotaneciklerin ortam içinde zamanla çözündüğü durumlarda, akut toksisite testleri, test ortamında sadece yeni hazırlanmış bir süspansiyon kullanılarak değil, aynı zamanda, ortamın raf ömrüne dayanılarak nanotaneciklerin ortama testten 1-3 gün önce eklendiği eski bir süspansiyon kullanılarak gerçekleştirilebilir. [10]. Bu yaşlanma adımı toksisiteyi artırabilir veya azaltabilir, bu da her takdirde toksisite hakkında önemli kanıt ağırlığı sağlar. Ayrıca, sulu süspansiyonlarda nanotaneciklerin agregasyon ve çözünme sürelerinin maruz kalmadan önce kararlı hale gelmesine izin verir. Bununla birlikte, yalnızca yaşlanmış taneciklerle test gerçekleştirilmesi, kısa süreli sucul toksisite için bilgi gerekliliğini karşılamaz.

- Nanomalzeme davranışsal özelliklerin (örn. çözünme hızı ihmal edilebilir, agregasyon veya aglomerasyon) azalmış sucul ve ilgili çökelti maruz kalmasına yol açması durumunda, çökelti toksisitesi testlerini destekleyen bir test stratejisi düşünülebilir.
- Uzun süreli toksisite testlerinin gerçekleştirilecek sucul toksisite testleri olarak seçildiği her durumda, Ek 9 bölüm 9.1.5 ve 9.1.6 içerisinde Madde 36'nın KKDİK bilgi gerekliliklerine göre hem omurgasız hem de omurgalı testleri için kayıt ettiren tarafından bir test önerisi sunulmalıdır.

1.2.1.1 Sucul toksisite için özel test rehberleri

Nanomalzemeler için sucul toksisite testleri yapıldığında, aşağıda belirtildiği gibi (sonlanma noktası başına) bazı ek parametreler ve test özel durumları dikkate alınabilir (ve uygulandığında ilave şekilde raporlanabilir). Aşağıda listelenen tüm parametrelerin ilgili rehberlerin parçası olmadığı unutulmamalıdır. Bu durumda, uygun referanslar sağlanır.

- Balık testleri için (OECD Test Rehberi 210 [15]):
 - mekanik etkiler, örn. solunum organlarının tıkanması, solunum hızının düşmesi, solungaç patolojileri ve sindirim sisteminin tıkanması, [16], [17]
 - katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPX) ve glutasyon-S-transferaz (GST) gibi ilgili antioksidan enzimlerin aktivite seviyeleri, [18], [19], [20]
 - balık mukus salgılaması [16],
 - balık beyin patolojisi [17],
 - hayvan davranışı [15],
 - balık histopatolojisi [17],
 - uygun olduğunda (örneğin renksizleşme veya diğer stres göstergeleri) nanomalzemenin fotoaktivite veya katalitik özelliklerinin toksisite üzerindeki potansiyel etkileri [19], [20]
- Dafniya testleri için (OECD Test Rehberi 202 [21] ve OECD Test Rehberi 211 [22]):
 - Sonuçların yorumlanmasında potansiyel yapay olgulardan kaçınmak için besin tüketme etkisinin rolü (uzun süreli değerlendirme için) test düzeneği ile ilgili olarak dikkate alınmalıdır.
 - Dafniya için cinsiyet oranı (OECD Test Rehberi 211 [22] uyarınca erkek ve dişi sayısı)
 - herhangi bir davranış gözlemi [21], [22], [23]
 - Nanomalzemenin mekanik etkileri (örneğin organizmaya bağlılık, oksijen yayılımının veya sindirim sisteminin tıkanması, [14], [24]) ve
 - uygun olduğunda nanomalzemenin fotoaktivite veya katalitik özelliklerinin toksisite üzerindeki potansiyel etkileri [25], [26], [27]
- Alg testleri için (OECD Test Rehberi 201 [28]):
 - renk veya gölgeleme üzerindeki etkilerin ölçülmesi, [24] ve [29] kaynağı tarafından geliştirilenler gibi protokoller kullanılarak

- nanomalzemenin mekanik etkileri (örn. organizmaya tutunma)
- çökmeyi önlemek/yavaşlatmak için test düzeneğinde (karıştırma/titreme) kullanılan çalkalama türü
- klorofil özütlerinin fluoroışımaya ölçümü (nanomalzemelerin alg büyümesi üzerindeki etkilerini test etmek için alg biyokütlesini ölçmenin en güvenilir yolu olarak kabul edilir (OECD No. 40 [5], OECD No. 40(1) [6], [30])) veya pigmentlerin miktar tayini [29].
- Nanomalzemeler ile yüzeye tutunmaya/etkileşime [30] dayanılarak klorofil özütlerinin yanlış yorumlanmasından kaçınmak için test edilen nanomalzemenin kendiliğinden fluoroışması ve örneğin farklı ışık rejimleri altında test gerçekleştirilmesi, sonuçların güvenilirliğini artırmak için ek sonlanma noktaları
 - Örneğin; alg büyüme hızı inhibisyonuna veya karbon asimilasyonuna ek olarak, tekli alg hücrelerine zar hasarı ve oksidatif stres⁷ gibi daha gizli etkiler için başka bir sonlanma noktası.
- uygun olduğunda, nanomalzemenin fotoaktivite veya katalitik özelliklerinin toksisite üzerindeki potansiyel etkileri,

Aktif çamur inhibisyonu için:

- R7b Ana Rehberi Bölüm R.7.8.17 içerisinde, AAT mikroorganizmalarına toksisite için bilgi gerekliliklerinde, maruz kalmayı sınırlandıracak yüksek çözünmezlik gibi azaltıcı faktörler varsa AAT toksisite testine gerek olmadığı belirtilmektedir. Bu uyarılma, genellikle, nanomalzemelerin aktif çamur toksisite testleri için veya yukarıda açıklandığı gibi, genel olarak nanomalzemelerin sucul toksisite testleri için kabul edilemez.

1.2.2 Çökelti organizmaları için toksisite

Çökelti organizmalarına karşı toksisitenin tahmin edilmesinde denge dağılım yönteminin (EPM) uygulanabileceği durumlar, çökelti organizmalarına karşı toksisite hakkında test dışı verilerin kullanımını kapsayan ana rehber Bölüm R.7.8.9.1 ve R.7.8.10.1'de sunulmuştur. Nanomalzemelerle ilgili olarak, "denge dağılım yöntemlerinden" (yani termodinamik dengeye dayalı olanlar) elde edilen sonuçlara dayanan tahminler, bir maddenin moleküler formdaki dağılımı ile sınırlıdır (ana rehberde açıklanan şekilde iyonik formlar hariç). Nanotanecikler söz konusu olduğunda, toprak ve çökelti ortamlarındaki maruz kalmayı olduğundan daha az tahmin edebildiklerinden ve sudaki maruz kalmayı olduğundan fazla tahmin edebildiklerinden, dağılım yöntemleri tavsiye edilmemektedir.

Çökeltideki tanecik dağılımı için herhangi bir tahmin metodu mevcut değildir, bu nedenle bu, duruma göre ele alınmalıdır. Nanomalzemeler ile ilgili olarak, testlere yönelik OECD Rehber El Kitabında [31] belirtilen öneriler ve nanomalzemeler için Numune Hazırlama ve Dozimetri üzerine güncellenmiş Rehber Notları [4], Bölüm R.7a, Ek R.7-1, Bölüm 2.1.1'deki ilave tavsiyeler ve bu bölümde kısım 1.1 ve 1.2'de yukarıda bahsedilenler de dahil olmak üzere dikkate alınmalıdır.

⁷ Hızlı etkili toksik mekanizmalara veya ortamda önemli ölçüde çözünmeye sahip nanomalzemeler için bir olasılık, potansiyel olarak bir yaşlandırma aşamasıyla birlikte kısa süreli 2 saatlik 14C-asimilasyon testi yapılmasıdır. Karbon asimilasyonu, muhtemelen büyüme hızından ziyade gölgelemeden daha az etkilenir. Ayrıca, büyüme hızı inhibisyon testlerinde sıklıkla kullanılan alg pigmentlerinin spektrofotometrik belirlemesi ile karşılaştırıldığında sintilasyon sayımıyla daha az etkileşim beklenir. Sonuç olarak, tek sonlanma noktası testinin kullanımı, özellikle çözünürlük ve kararlık test ön koşulunun ihlal edildiği ve toksik etki şekli hakkında çok az bilgi olduğu durumlarda, yapay olgulara ve yanlış yorumlamalara karşı hassastır. (Sørensen 2016)

Özellikle ele alınacaklar süspansiyon yöntemleri, nanomalzemelerin uygulanma yöntemi, test malzemesinin depolanması ve kararlılığı, test ortamının kimyasal bileşimi, stok dağılım çözeltilerinin karakterizasyonu ve uygulamadan / testten önce ve muhtemelen test sırasında ve en azından testin sonunda numunelerin karakterizasyonu (stok dağılım çözeltilerinden hazırlanmış) ile ilgili öneriler özellikle ele alınmalıdır. Yukarıda bölüm 1.2.1.1'de detaylandırıldığı üzere, nanomalzemeler için sucul toksisite testine ilişkin değerlendirmelerin çoğu çökelti testleri ile de ilgilidir [2].

Nanomalzeme süspansiyonları genellikle doğal sularda kararlı değildir (örn. aglomerasyon ve çökme nedeniyle) ve uzun bir alıkonma süresine sahip olacaktır [32]. Sonuç olarak, çökelti ortamına genellikle ilgili bir maruz kalma vardır. Çökelti ortamındaki zararlılık değerlendirmesi, çöğü durumda pelajik sucul zararlılık değerlendirmesinden ([2], [3]) daha ilgili bilgiler sağlayabilir. Nanomalzeme davranışsal özelliklerinin ve kullanımlarının, yukarıda bu belgede ve R7a bölüm 2.2.1.2 altında açıklandığı gibi, sucul ve ilgili çökelti maruz kalmasının azalmasına yol açması durumunda, çökelti toksisite testlerini içeren alternatif bir test stratejisi düşünülebilir.

Çökeltiler ile nanomalzeme etkileşimleri, özelliklerini önemli ölçüde değiştirebildiğinden, bazı ek karmaşıklıklar ortaya çıkabilir. Bu aynı zamanda, *BG* ve *KGD Rehberi Ek R7.13-2* [33] içerisinde bu yönlerinin tartışıldığı metaller ve metal oksitler için de geçerlidir.

İlave olarak, çökeltilerdeki (örn. konsantrasyon) nanomalzeme özelliklerinin miktar tayinine yönelik yöntemlerin sayısı çok sınırlıdır. Mevcut standart çökelti toksisitesi yöntemleri, test maddesi homojenliği, maruz kalma, biyoyararlanım ve sinerjizmler ile ilgili önemli miktarda belirsizliği kabul etmektedir. Bununla birlikte, çökelti toksisitesi biyoanalizlerinin tutarlılığı, yukarıda belirtildiği gibi numunenin hazırlanması ve deneysel kurulum için standartlar uygulanarak genel olarak iyileştirilebilir (bölüm 1.1 ve 1.2). Örneğin, nanomalzeme ekleme (spike) çalışmalarında standartlaştırılmış (örn. OECD) bir tatlı su çökeltisinin kullanılması, sahada toplanan çökeltilerin kullanımına göre biyoanaliz sonuçlarındaki değişkenliği azaltacaktır, çünkü toksisite analiz sonuçlarını etkileyebilecek çökeltiye özel faktörler (örn. organik karbon konsantrasyonu) kontrol edilir.

Çökelti toksisitesi testinde nanomalzemeler için iki tür ekleme yöntemi uygulanmıştır:

- (1) kuru nanomalzemelerin (kuru ekleme) veya dağıtılmış nanomalzemelerin çökeltiye (yaş ekleme) doğrudan ilave edilmesi, ardından homojenleştirme ve
- (2) nanomalzemelerin üst katmandaki suya dolaylı olarak eklenmesi ve ardından nanomalzemelerin yüzey çökeltisine çöktürülmesi.

Ekleme kuru malzeme yerine zaten dağıtılmış bir çözeltili ile yapılırsa test malzemesi çökelti içinde daha iyi dağılacaktır⁸. Bu, kimyasalların çökeltilerde homojenleştirilmesiyle ilgili genel zorluklarla ilgilidir. Bir nanomalzeme bir çökeltiye toz formunda (dağıtılmamış) eklenirse, çökelti içinde önemli miktarda tanecik kümelenmesi meydana gelir ve bu da daha fazla heterojenliğe ve dolayısıyla biyoanaliz test tekrarları arasında daha fazla değişkenliğe neden olur. Test maddesi çökelti ile karıştırıldığında (doğrudan çökeltiye ekleme) kuru stok test malzemesi yerine dağıtılmış nanomalzeme hazırlanarak kullanılması önerilir.

Üst katmandaki suya dolaylı olarak eklemenin de zorlukları vardır. Dolaylı eklemeyi, nanomalzemelerin çökelti içerisine çökmesi takip eder ve çökeltideki nanotaneciklerin homojen olmayan şekilde dağılımına (yüzeyden daha derin katmanlara değişim derecesi) neden olur ve bu nedenle alt numunelerin heterojenliğini artırır. Dolaylı ekleme uygulandığında bu göz önüne alınmalıdır ve her bir alt numunedeki maruz kalma değişkenliği en aza indirilmelidir. Optimum ekleme yöntemi hem test malzemesine hem de test yöntemine bağlıdır.

⁸ OECD Rehberi 40'a göre, çökelti ve sucul toksisite testi için aynı sulu çözeltilinin kullanılması önerilir.

Nanomalzemenin fizikokimyasal özelliklerine, hedef konsantrasyona, ortama ve seçilen biyoanaliz yöntemine ve testten önce toplanan ön verilere bağlı olacaktır.

Ekleme yöntemine ilave olarak, testin gerçekleştirilmesi ile çökeltiye eklenme arasındaki denge süresi, nanomalzemenin türüne ve aglomerasyon, agregasyon ve çökme gibi davranış parametreleri hakkındaki bilgilere bağlıdır. Örneğin, 48 saatlik bir dengeleme süresi kullanılıyorsa, aksi kanıtlanmadıkça bu kadar kısa sürede sözde denge aşamasına ulaşılmayacağından [2], test en yüksek biyoyararlanıma sahip en kötü durum senaryosu olarak kabul edilebilir.

Nanomalzeme karakterizasyon yöntemlerindeki teknik zorluklar, nanotaneciklerin tespitini ve çökeltideki tanecik özelliklerinin belirlenmesini sınırlayabilir. Metal ve metal oksit nanomalzemelerin toplam elementsel konsantrasyonunu belirlemek için indüktif olarak eşleşmiş kütle spektrometrisi (ICP-MS) kullanılması gibi bazı ölçümler hala yapılabilir. Örnek olarak, ICP-MS kullanımı, metal/metal oksit nanotanecikler hakkında tek tanecik ölçümleri ve daha detaylı bilgi sağlayan ayırma teknikleri (örn. alan-akış-oranlama) ile birleştirilebilir. Mevcut OECD çökelti testi rehberinde önerildiği gibi, en azından test başlangıcında ve sonlandırılmasında tüm çökelti, çökelti gözenek suyu ve üst katmandaki sudan bu tür ölçümler için numune almak pratiktir. Ancak, doğru sonuçlar elde etmek için gözenek suyu ayırma yöntemlerinin nanomalzemeye özel şekilde değiştirilmesine ihtiyaç duyulabilir [2]. Bu tür yöntemler, testin farklı ortamlarındaki nanomalzemelerin ölçülmesine uygulanabilir ve nanomalzemenin nerede dağıldığına bağlı olarak toksisite kaynağı/türünün daha iyi ayırt edilmesine izin verir.

1.2.2.1 Çökelti toksisitesi için test rehberleri

Aşağıdaki OECD Test Rehberleri incelenmiş ve nanomalzemeler için genel olarak uygulanabilir kabul edilmiştir: OECD Test Rehberi 225 (Çökelti Toprak Solucanı (*Lumbriculus*) Analizi [34]) ve OECD Test Rehberi 218 [35] ve 219 [36] (sırasıyla Ekleme Yapılmış Çökelti Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Toksisitesi ve Ekleme Yapılmış Su Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Toksisitesi). Ayrıca nanomalzemeler için OECD Test Rehberi 233 Ekleme Yapılmış Su veya Ekleme Yapılmış Çökelti Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Yaşam Döngüsü Toksisite Testi de uygulanabilir.

Test yöntemi ve seçilen ekleme yöntemi ne olursa olsun, testi gerçekleştirmeden önceki dengeleme süresi, numune alma yöntemi ve analiz tekniği ve sıklığı raporlanmalıdır.

Ayrıca, hazırlıktan numune alma ve deney düzeneği hakkındaki bilgilerin raporlanması *Bölüm R.7a, Ek R.7-1* [9], Bölüm 2.1.1'de açıklandığı gibi sağlanmalıdır. İlave olarak, sucul pelajik testler ile ilgili 1.1 ve 1.2 bölümlerinden bu ekte belirtilen parametrelerin de takip edilmesi gerekir (pH, iyonik kuvvet, doğal organik madde (NOM) ve hümik asit içeriği gibi). Tüm bu bilgilerin, yukarıda ve bölüm 1.1'de açıklandığı gibi analiz yöntemleri ve test sonuçlarıyla birlikte raporlanması gerekecektir.

1.2.3 Bozunma/Biyobozunurluk/Dönüşüm

Bozunma, ortamdaki bir maddenin kaybına veya dönüşmesine neden olabilen bir süreçtir. Risk değerlendirmesinde dikkate alınması gereken çevresel ortamlar su, çökelti ve topraktır. İlave olarak, atık su arıtma tesislerindeki bir maddenin bozulması ve dönüşümü, davranış ve maruz kalma değerlendirmesinde anahtar rol oynar. Bozunma/dönüşüm hızı hızlıysa, bu, zararlılık, maruz kalma ve risk değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır.

1.2.3.1 Biyobozunurluk

Bozunma süreci biyotik veya abiyotik olabilir. Biyobozunurluk, organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından ayrıştırıldığı biyolojik bir süreçtir. Mevcut biyobozunurluk test rehberleri bağlamında biyobozunurluk için bir temel, test malzemesinin organik karbon kimyasına (yığın kimyasallar ve nanomalzemeler için) dayanmasıdır. Bu, organik maddelere uygulanan haliyle biyobozunurluk kavramının, inorganik nanomalzemeler, örn. Ag, TiO₂, CeO₂, nano sıfır değerlikli demir (nZVI), ZnO, CuO ve kuantum noktaları (QD) dahil olmak üzere inorganik maddeler için sınırlı bir anlamı olduğu ya da hiç olmadığı sonucuna varmaktadır [37]. İlave olarak, karbon nanotüpler (CNT) ve karbon siyahı gibi karbon bazlı nanomalzemelerin birçoğunun inorganik özellikler gösterdiği kabul edilir. Bununla birlikte, karbon bazlı nanomalzemelerin, tek duvarlı karbon nanotüplerin (SWCNT), çok duvarlı karbon nanotüplerin (MWCNT) ve fullerenlerin (C₆₀) oksidatif enzimler ([38], [39], [40]) tarafından biyotik bozunmaya uğradığına dair kanıtlar vardır. Öte yandan, çok duvarlı karbon nanotüpler için, tek başına oksidatif enzimler tarafından bozunma olmadığını, ancak 39°C'de karışık bir bakteri kültürü ile %7'ye kadar mineralizasyonun birkaç bozunma ürünüyle sonuçlandığını gösteren sonuçlar vardır [41]. Doğal çevre koşullarında karbon bazlı nanomalzemelerin biyobozunurluğunun kapsamı sınırlı kabul edilse bile, yukarıda açıklanan çalışmalar, ilgili çevre koşullarında biyobozunurluk için bir potansiyelin oluşturulmayı beklediğini göstermektedir [37]. Bu nedenle, karbon bazlı nanomalzemeler için, bir bozunma çalışması gerçekleştirilmesinin her zaman dikkate alınması önerilir. Karbon bazlı bir nanomalzeme, test edilmeden bozunmaz olarak kabul edilirse, bunun gerekçelendirilmesi gerekir.

Kolay biyobozunurluk testi, en azından nihai biyobozunurluk parametreleri (O₂ tüketimi, CO₂ üretimi ve DOC giderimi) açısından karbon içermeyen inorganik nanomalzemeler için büyük olasılıkla alakalı değildir. İnorganik yapıdaki karbon bazlı nanomalzemeler ile ilgili olarak, bozunma potansiyelleri sınırlı olabilir de, en azından teorik olarak, O₂ tüketimine veya CO₂ üretimine dayalı nihai biyobozunurluğun kolay biyobozunurluk testlerinde tespit edilebilmesi mümkündür. İlave olarak, test yöntemlerinin nanomalzemelere uygulanabilirliği ile ilgili sorunlar olabilir (örn. sıkı test koşulları nedeniyle). Bu nedenle, inorganik yapıda karbon bazlı nanomalzemeler için, kolay biyobozunurluk testi organik maddelere kıyasla daha az alakalı olabilir. Bununla birlikte, bu sınırlamalara rağmen, kolay biyobozunurluk için testi geçme seviyesi karşılanmadığında bile, kolay biyobozunurluk testi veya başka bir tarama seviyesi biyobozunurluk testi, bozunmanın boyutu hakkında değerli bilgiler verebilir. Ayrıca, inorganik yapıda olanlar da dahil olmak üzere, nanomalzemelerin herhangi bir bozunma değerlendirmesinde bozunma/dönüşüm ürünlerinin potansiyelinin hesaba katılması tavsiye edilir.

1.2.3.2 Abiyotik bozunma

Ana rehber R7b bölüm 7.9.3.1 içerisinde hidroliz, oksitleme ve fotoliz gibi abiyotik süreçler su, toprak ve çökeltideki kimyasallar için önemli dönüşüm yolları olarak kabul edilir. Hidroliz, bazı nanomalzemeler ve/veya kaplamalar için de dikkate alınması gereken bir konu olabilir. Oksitleme-indirgeme süreci, Ag, CuO ve ZnO gibi bazı nanomalzemelerin davranışında anahtar rol oynar. Redoks potansiyelinin ölçülmesi, elektron transferine ve alımına katılabilen nanomalzemeler için önemlidir. Bu olgu, çevresel ortamla etkileşimler açısından da önemlidir ([42], [43]).

Fotokimyasal dönüşüm, nanomalzemenin yüzey özelliklerinde değişikliklere veya kaplamada bozunmaya veya nanotaneciğin kendisinin bozunmasına ([37], OECD No. 63 [44] ve OECD No. 65 [45]) neden olabileceğinden bazı nanomalzemeler için önemlidir. Bu değişiklikler, davranışın değişmesine ve zararlılığa neden olabilir ve bu nedenle bozunma/dönüşüm değerlendirmesinde dikkate alınmaları önemlidir. Nanomalzemenin çevresel davranışını açıklığa kavuşturmak için bazıları aşağıda açıklanan alternatif yolların da dikkate alınması tavsiye edilir.

1.2.3.3 Dönüşüm

Nanomalzemenin dönüşümü kimyasal olabilir, biyolojik aracılı olabilir veya test ortamında veya çevrede makromoleküllerle etkileşim olabilir. Nanomalzemelerin yüzey/hacim oranının yüksek olduğu yerlerde, dönüşüm davranışlarıyla oldukça ilgilidir. Nanomalzemelerin ilgili ortamlarda dönüşümünü incelemek için yararlı yöntemler hala azdır; standart protokoller mevcut değildir ve birçok yöntem hala geliştirme aşamasındadır. Bu nedenle, çoğu durumda, uygulanabilir test yöntemleri hakkında net öneriler vermek mümkün olmayabilir.

Bununla birlikte, standartlaştırılmış ve/veya nicel yöntemlerin yokluğunda, nitel bir değerlendirme nanomalzemelerin davranışı hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Nanomalzemeler için ilgili olduğu düşünülen dönüşüm süreçleri aşağıda açıklanmıştır (münhasır değildirler).

İndirgeme ve oksitleme, ana kimyasal dönüşüm süreçleridir. Nanomalzemeler, tüm çevresel ortamlarda oksitleme ve indirgenmeye uğrayabilir. Işıkla katalize olan redoks reaksiyonları ayrıca örneğin oksitleme durumu ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu etkileyen önemli dönüşüm süreçleri olabilir. Çözünme ve sülfidasyon, nanomalzemeler için ilgili kimyasal dönüşüm süreçleri olarak da düşünülebilir. Biyolojik aracılı dönüşümde, kimyasal dönüşümlere canlı dokudaki canlı organizmalar (hücre içi ve dışı) ve çevresel ortamda redoks-kararsız enzimler, sitokromlar ve hücre içi reaktif oksijen türleri üretimi (hidroksil radikalleri veya H₂O₂) aracılık eder. Örneğin, biyolojik oksitlemenin karbon nanotüplerin karboksilasyonuna veya çözünmez bir metal oksit kabuğun oluşumuna yol açabileceği gösterilmiştir. Makromoleküllerle (örn. proteinler, polisakkaritler ve doğal organik maddeler) etkileşimler, nanotaneciğin yüzeyine tutunarak nanotanecik etrafında bir "korona" oluşturarak nanomalzemelerin davranışını değiştirebilir. Bu korona daha sonra örneğin nano taneciklerin boyutunu, hareketliliğini ve yüzey özelliklerini değiştirebilir ve koronasız taneciklere kıyasla farklı davranışlara ve biyolojik cevaplara yol açar. Örneğin, nanomalzemenin çözünme hızı, hücrelere girişi, birikimi ve reaktif oksijen türleri üretimi etkilenebilir [46].

Çevresel akıbet ve davranışı etkileyen aşağıdaki anahtar dönüşüm süreçlerinin nanomalzemeler için uygun olduğu düşünülmüştür ([37], [43], [46] ve [47] 'de):

- Oksitleme-indirgeme
- Fotokimyasal bozunma
- Biyodönüşüm
- Türleşme - kompleks oluşturma
- Kaplama kaybı
- (Diğer) maddelerin yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılması
- Korona oluşumu

Yukarıda listelenen süreçler, ayrı bir tanecik seviyesindeki süreçleri (örn. fotokimyasal dönüşüm), tanecikler arasındaki etkileşimleri (örn. korona oluşumu) ve taneciklerin katı yüzeylerle ve diğer maddelerle etkileşimlerini (örn. yüzeye tutunma/yüzeyden sıyrılma) dikkate alır. Uygulanabilir yöntemlerin eksikliği nedeniyle bu parametrelerin nicel analizi mümkün olmadığında, nitel değerlendirme nanomalzemelerin davranış değerlendirmesinde değerli bilgiler sağlayabilir. Ana rehber, sınıflandırma ve kimyasal güvenlik değerlendirmesinde fotokimyasal bozunma hakkındaki bilgilerin kullanımındaki zorlukları ve vakaya özel durumları vurgulamaktadır [48].

Bölüm R.7a, Ek R.7-1, Bölüm 2.1.1 ve 2.2.2'de açıklandığı gibi suda çözünürlük ve oktanol-su dağılım testleri nanomalzemeler için uygun olmayabilir. Bu nedenle, yukarıda belirtilen dönüşüm süreçlerinin nanomalzemeler için test stratejisinde dikkate alınması önerilir.

Bu yaklaşım aynı zamanda, nanomalzemeleri test ederken çözünme hızını ve aglomerasyon davranışını hesaba katan bir davranış karar ağacı mantığı ve test stratejisi öneren Rasmussen ve ark. [3] tarafından desteklenmektedir.

1.2.3.4 Bozunma/dönüşüm testinde yüzey kimyası

Nanomalzeme, organik ve potansiyel olarak biyobozunur malzemeler ile kaplanmış veya işlevselleştirilmişse, tek başına kaplamalar için veya kaplanmış nanomalzemeler için biyobozunurluk testinin yapılması gerekecektir. Test, kaplanmış nanomalzeme ile gerçekleştirilirse, kaplama malzemesinin miktarı, temel tanecikten önemli ölçüde daha düşük olduğunda, sonuçların yorumlanması zor olabilir. Biyobozunurluğun güvenilir bir şekilde tespit edilmesini sağlamak için karbon miktarının yeterince yüksek olması gerekir (örn. salınan karbondioksit veya tüketilen oksijen olarak ölçülür). İlave olarak, yüzey değişikliklerinin nanomalzemelerin bozunma/dönüşüm özellikleri üzerinde bir etkiye sahip olabileceği gösterildiğinden (örn. çok duvarlı karbon nanotüpler), yüzey değişikliklerinin bozunma/dönüşüm üzerindeki potansiyel etkilerinin dikkate alınması gerekebilir [49]. Kaplamanın bozunmuş/dönüşmüş olması durumunda, gözlemlenen değişiklikler ve bunların davranış, akıbet ve toksisite üzerindeki potansiyel etkileri, sonlanma noktasına özel test sistemleri içinde dikkate alınmalıdır. Örneğin, kaplamanın bozunması/dönüşümü hakkındaki bilgiler test stratejisini etkileyebilir. Nanomateryalin kaplamasının kararlı olup olmadığına bağlı olarak, kaplanmış nanomalzeme, kaplanmamış nanomalzeme veya her ikisi üzerinde zararlılık testi yapmak daha uygun olabilir. (Bkz. örn. *BG ve KGD Rehberi, Bölüm D*)

1.2.3.5 Bozunma/biyobozunurluk için test rehberleri

Abiyotik bozunma

Nanomalzemenin kimyasal yapısı ve hidrolize tabi olabilecek fonksiyonel gruplar içerip içermediği, bir hidroliz testinin gerekli veya uygun olup olmadığını belirler. Nanotanecik kaplı veya işlevselleştirilmişse, abiyotik bozunma, örneğin maddenin hidrolizi düşünülmelidir.

OECD Test Rehberi 316 (Sudaki Kimyasalların Işıklı Dönüşümü-Doğrudan Fotoliz), nanomalzemeler için özel olarak doğrulanmamış olsa da, nanomalzemelerin fotokatalitik bozunmasını veya fotolizini değerlendirmek için uygulanabilir ([37], OECD 63 [44] ve OECD 65 [45]).

Biyobozunurluk

Bozunma/biyobozunurluk hakkındaki bilgilerle ilgili olarak (ana rehber R7b Bölüm R7.9, Bölüm R.7.9.3), OECD biyobozunurluk test yöntemlerinin temel olarak organik bileşiklerin değerlendirilmesi için geliştirildiği ve onaylandığı unutulmamalıdır. Birçok nanomalzeme inorganiktir ve hatta birçok karbon bazlı nanomalzeme de inorganik yapıdadır ve bu nedenle ana rehberde şu anda önerilen biyobozunurluk test yöntemleri, çevredeki nanomalzemelerin uzun süreli davranışını tahmin etmek için yetersiz olabilir.

Ana rehberde listelenen su, toprak ve çökeltide kolay biyobozunurluk ve temsil testleri için OECD Test Rehberleri, ilke olarak bir organik nanomalzeme, organik kaplı/işlevselleştirilmiş nanomalzeme, organik kaplama veya işlevselleştirme ajanının bozunmasını test edilmesi için geçerlidir. Bir organik kaplama veya işlevselleştirme ajanının bozunması kendi başına test edilirse, taneciğe bağlı olduğu zamana kıyasla bozunma/dönüşüm potansiyelindeki potansiyel farklılıklar hesaba katılmalıdır. OECD belge No. 36 [4] ve No. 40 [5] içerisinde, bu ekte ve Bölüm R7a Ek R7-1'de numune hazırlama, dağılım ve çözünme ile ilgili sağlanan rehberlik, davranış testine geçmeden önce izlenmelidir.

Soğurmanın belirlenmesi (bkz. Bölüm R7a Ek R7-1, Bölüm 2.2.4) de yüzey sularına ve topraklara ve çöktürelere salınan nanomalzemelerin miktarlarını değerlendirmek için önemlidir ([50], [51], [52], [53]).

Geleneksel kimyasallara uygulanabilir olan denge kinetiğine göre, nanomalzemelerin katı fazlara (örn. toprakta, çökeltide veya çamurda) soğurulmayabileceğini kabul ederek nanomalzemelerin dağılımı hakkında bilgi sağlamak için, nanomalzemeler için bazı biyobozunurluk test rehberleri uygulanabilir [3].

OECD Test Rehberi 303A "Aerobik Atık Su Arıtma Temsil Testinin" özellikle atık su arıtma tesislerindeki nanotanecik dağılımını değerlendirmek için (bkz. Örneğin [54]), aşağıdaki değişiklik önerileri ile faydalı olduğu bulunmuştur:

- Nano ölçekli süspansiyonların dozlanması, taneciklerin aglomerasyonunu önlemek için organik sentetik atık sudan ayrı yapılmalıdır. (Çalışmanın amacı bu tür süreçleri araştırmak değilse).
- Test sonuçlarının daha iyi karşılaştırılabilir olmasını sağlamak için musluk suyu yerine test süspansiyonunun hazırlanmasında sentetik içme suyunun kullanılması.
- Nanomalzemelerin azotlayıcı mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin yanı sıra aktif çamurdaki organik karbon bozundurucu mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin de değerlendirilmesi için azotlama koşulları altında test yapılmalıdır.
- Laboratuvar atık su arıtma tesisinin (LAAT) çıkış sularındaki filtrelenebilir katıların belirlenmesi, çıkış suyundaki nano ölçekli taneciklerin doğası ve dağılımının belirlenmesi (filtrasyon/santrifüj) önerilir.
- Genel bir kütle dengesinin hesaplanması, test sonuçlarıyla birlikte sağlanmalıdır.

Nanomalzemelerin tanecik bağlanması ve atık su arıtımı sırasında bunların uzaklaştırılma verimini tahmin etmek için kullanılabilir yeni bir test rehberi OECD tarafından geliştirilmektedir.

Diğer yöntemler

Alternatif protokoller, bozunma ölçümlerinde çok düşük veya ihmal edilebilir bozunma gözlemlendiğinde nanomalzemelerin abiyotik bozunması/dönüşümü hakkında bilgi sağlayabilir.

- Oksitleme-indirgeme
- Fotokimyasal bozunma (ör. OECD Test Rehberi 316)
- Çözünme (bkz. Bölüm R7a, Ek R7-1, Bölüm 2.2.1 [9])
- Yüzeğe tutunma/yüzeğden sıyrılma (şu anda standart bir yöntem mevcut değildir, bkz. Bölüm R7a, Ek R7-1, bölüm 2.2.4 [9])
- Aglomerasyon (bkz. Bölüm R7a, Ek R7-1, Bölüm 2.2.1 ve 2.2.2 [9])
- Agregasyon (bkz. Bölüm R7a, Ek R7-1, bölüm 2.2.1 ve 2.2.2 [9])
- Biyodönüşüm
- Türleşme - kompleks oluşturma

Mevcut yöntemlerin uygulanabilirliği nanomalzemenin türüne bağlıdır, birçok yöntem hala geliştirilme aşamasındadır ve standart yöntemler mevcut değildir. Bununla birlikte, bu tür bilgilerin, nitel olsa bile, (biyo) bozunurluk/dönüşüm ve davranış ([4], [5], [37]) hakkındaki sonucu güçlendirmek için nanomalzemelerin bozunma değerlendirmesinde Kanıt Ağırlığının bir parçası olarak kullanılması önerilmektedir. Bu alternatif yöntemlerin ve verilerin kullanımının amaçlarından biri, nanomalzemeye çevresel (ve insan) maruz kalma düzeylerinin ve doğasının daha gerçekçi tahminlerini sağlamak ve maruz kalmanın ağırlıklı olarak meydana geldiği nanomalzeme formunun uygun şekilde test edilmesine izin vermektir.

REFERANSLAR

- [1] ECHA, "Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Gruplandırma Rehberine uygulanabilir nanomalzemeler için Ek R.6-1," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [2] E. J. Petersen, S. A. Diamond, A. Kennedy, G. Goss, K. Ho, J. Lead, S. Hanna, N. Hartmann, K. Hund-Rinke, B. Mader, N. Manier, P. Pandard, E. Salinas ve P. Sayre, "Adapting OECD Aquatic Toxicity Tests for Use with Manufactured Nanomaterials: Key Issues and Consensus Recommendations" ("OECD Sucul Toksikite Testlerinin İmal Edilen Nanomalzemeler ile Kullanım İçin Uyarlanması: Temel Konular ve Uzlaşma Önerileri"), *Environmental Science & Technology*, cilt 49, sayı 16, s. 9532-9547, 2015.
- [3] K. Rasmussen, M. Gonzalez, P. Kearns, J. Riego Sintes, F. Rossi ve P. Sayre, "Review of achievements of the OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials' Testing and Assessment Programme. From exploratory testing to test guidelines," ("İmal Edilen Nanomalzemelerin Test ve Değerlendirme Programı üzerine OECD Çalışma Grubunun başarılarının gözden geçirilmesi. Keşif testlerinden test rehberlerine") *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, cilt 74, s. 147-160, 2016.
- [4] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 36. İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenlik Testleri için Numune Hazırlama ve Dozimetri Rehberi. İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri. ENV/JM/MONO(2012)40," 2012. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [5] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 40. İmal Edilen Nanomalzemelerin Ekotoksikolojisi ve Çevresel Davranışı: Test Rehberi. Uzman Toplantı Raporu ENV/JM/MONO(2014)1," 2014. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/env/ehs/nanosafety/publications-series-on-safety-of-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [6] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 40. İmal Edilen Nanomalzemelerin Ekotoksikolojisi ve Çevresel Davranışına İlişkin Ekler: Test Rehberi. Uzman Toplantı Raporu ENV/JM/MONO(2014)1/ADD," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [7] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 62 Çözünürlüğün, Risk Değerlendirmelerinde Nanomalzemelerin Çevresel Davranışının Değerlendirilmesi için Yüzey Kimyasının Bir Fonksiyonu Olarak Kullanılmasına İlişkin Hususlar. ENV/JM/MONO(2015)44.," 2015. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [8] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 64-Düzenleyici Sistemler için Fiziksel-Kimyasal Özelliklere (Gera-Pc) Dayalı Nano Gruplama/Eşdeğerlik/Çapraz Okuma Kavramları Üzerine Yaklaşımlar-ENV/JM/MONO(2016)3," 2016. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [9] ECHA, "Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.

- [10] S. Sørensen ve A. Baun, "Controlling silver nanoparticle exposure in algal toxicity testing – A matter of timing" ("Alg toksisite testinde gümüş nanopartikül maruz kalmasının kontrol edilmesi - Bir zamanlama meselesi") *Nanotoxicology*, cilt. 9, no. 2, s. 201-209, 2015.
- [11] N. Hartmann, K. Jensen, A. Baun, K. Rasmussen, H. Rauscher, R. Tantra, D. Cupi, D. Gilliland, F. Pianella ve J.-M. Riego Sintes, "Techniques and protocols for dispersing nanoparticle powders in aqueous media – is there a rationale for harmonization?" (Nanotanicik tozlarının sucul ortamda dağılabilmesi için teknikler ve protokoller - uyumlaştırma için bir gerekçe var mı?)," *Journal of Toxicology and Environmental Health, Kısım B: Kritik İncelemeler*, cilt 18, sayı 6, sayfa 299-326, 2015.
- [12] G. Cornelis, "Fate descriptors for engineered nanoparticles: the good, the bad, and the ugly (Tasarlanmış nanotanicikler için davranış tanımlayıcıları: iyi, kötü ve çirkin)," *Environmental Science: Nano*, cilt 2, ss. 19-26, 2015.
- [13] S. Ottofuelling, F. Von Der Kammer ve Hofmann, "Commercial titanium dioxide nanoparticles in both natural and synthetic water: comprehensive multidimensional testing and prediction of aggregation behavior (Hem doğal hem de yapay suda ticari titanyum dioksit nanotanicikleri: kapsamlı çok boyutlu testler ve agregasyon davranışının tahmini)," *Environmental Science and Technology*, cilt 45, s. 10045-10052, 2011.
- [14] D. Cupi, N. Hartmann ve A. Baun, "The influence of natural organic matter and aging on suspension stability in guideline toxicity testing of silver, zinc oxide, and titanium dioxide nanoparticles with *Daphnia magna*" ("Daphnia magna ile gümüş, çinko oksit ve titanyum dioksit nanopartiküllerinin rehber toksisite testinde doğal organik madde ve yaşlanmanın süspansiyon kararlılığı üzerindeki etkisi") *Environmental Toxicology and Chemistry* cilt. 34, no. 3, s. 497-506, 2015.
- [15] OECD, "Test No. 210: Balık, Erken Yaşam Aşaması Toksikite Testi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2, "2013. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [16] C. Smith, B. Shaw ve R. Handy, "Toxicity of single-walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects" ("Tek duvarlı karbon nanotüplerin gökkuşağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) toksisitesi: Solunum toksisitesi, organ patolojileri ve diğer fizyolojik etkiler") *Aquatic Toxicology*, cilt. 82, no. 2, s. 94-109, 2007.
- [17] G. Federici, B. Shaw ve R. Handy, "Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects," ("Titanyum dioksit nanopartiküllerinin gökkuşağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) toksisitesi: Solunum yaralanması, oksidatif stres ve diğer fizyolojik etkiler") *Aquatic Toxicology*, cilt. 84, s. 415-430, 2007.
- [18] E. Oberdörster, "Manufactured nanomaterials (Fullerenes, C-60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass," ("İmal edilen nanomalzemelerin (Fulleren, C-60) genç büyük ağızlı levreğin beyinde oksidatif strese neden olması") *Environ. Health Perspect.*, cilt 112, no. 10, s. 1058-1062, 2004.
- [19] X. Zhu, L. Zhu, Y. Lang ve Y. Chen, "Oxidative stress and growth inhibition in the freshwater fish *Carassius auratus* induced by chronic exposure to sublethal fullerene aggregates" ("Ölümcül olmayan fulleren agregalarına kronik olarak maruz kalmanın neden olduğu tatlı su balığı *Carassius auratus* üzerindeki oksidatif stres ve büyüme inhibisyonu"), *Environmental Toxicology and Chemistry*, cilt. 27, no. 9, s. 1979-1985, 2008.

- [20] S. Wong, P. Leung, A. Djurišić ve K. Leung, "Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility" ("Beş deniz organizmasına karşı nano çinko oksidin toksisiteyi: agrega boyutu ve iyon çözünürlüğünün etkileri"), *Anal Bioanal Chem*, cilt. 396, s. 609-618, 2010.
- [21] OECD, "Test No. 202: Dafniya sp. Akut Hareketsizlik Testi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2," 2004. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [22] OECD, "Test No. 211: Dafniya magna Üreme Sistemi Testi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm, "2008. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [23] S. B. Lovern, J. R. Strickler ve R. Klaper, "Behavioral and physiological changes in Daphnia magna when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C60, and C60HxC70Hx)" ("Nanotanecik süspansiyonlarına (titanyum dioksit, nano-C60 ve C60HxC70Hx) maruz kalan Dafniya magna'daki davranışsal ve fizyolojik değişiklikler"), *Environ Sci Technol*, cilt. 4, no. 12, s. 4465-70, 2007.
- [24] S. Sørensen, R. Hjorth, C. Delgado, Hartmann, N.B ve A. Baun, "Nanoparticle ecotoxicity – physical and/or chemical effects?" ("Nanotanecik ekotoksitesisi - fiziksel ve/veya kimyasal etkileri?") *Integrated Environmental Assessment and Management*, cilt 11, no. 4, s. 719–728, 2015.
- [25] K. T. Kim, S. J. Klaine, J. Cho, S. H. Kim ve S. D. Kim, "Oxidative stress responses of Daphnia magna exposed to TiO(2) nanoparticles according to size fraction" ("Boyut oranına göre TiO(2) nanotaneciklerine maruz kalan Dafniya magna'nın oksidatif stres cevapları") *Science of The Total Environment*, cilt. 408, no. 10, sayfa 2268-2272, 2010.
- [26] R. Klaper, J. Crago, J. Barr, D. Amdt, K. Setyowati ve J. Chen, "Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: Changes in toxicity with functionalization" ("İmal edilen nanotaneciklere maruz bırakılan dafnitlerde toksisite biyobelirteç ifadesi: İşlevselleştirme ile toksisitede değişiklikler") *Environmental*, cilt. 157, no. 4, s. 1152-1156, 2009.
- [27] G. P. S. Marcone, A. C. Oliveira, G. Almeida, G. A. Umbuzeiro ve W. F. Jardim, "Ecotoxicity of TiO2 to Daphnia similis under irradiation" ("Işınlama altında TiO2'nin Dafniya similis'e ekotoksitesisi"), *Journal of Hazardous Materials*, Cilt. 211-212, s. 436-442, 2012.
- [28] OECD, "Test No. 201: Tatlı Su Algleri ve Siyanobakteriler, Büyüme İnhibisyon Testi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2," 2011. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [29] R. Hjorth, S. Sørensen, M. Olsson, A. Baun ve N. Hartmann, "A certain shade of green: Can algal pigments reveal shading effects of nanoparticles?" ("Yeşilin belli bir tonu: Alg pigmentleri, nanopartiküllerin gölgeleme etkilerini ortaya çıkarabilir mi?"), *Integrated Environmental Assessment and Management*, cilt. 12, no. 1, s. 200–202, 2016.
- [30] N. Hartmann, C. Engelbrekt, Zhang, U. J. J, K. Kusk ve A. Baun, "The challenges of testing metal and metal oxide nanoparticles in algal bioassays: titanium dioxide and gold nanoparticles as case studies" ("Metal ve metal oksit nanotaneciklerini alg biyoanalizlerinde test etmenin zorlukları: vaka çalışmaları olarak titanyum dioksit ve

- altın nanotaneçikler"), *Nanotoxicology*, cilt. 7, no. 6, s. v, 2013.
- [31] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri. İmal edilen nanomalzemelerin test edilmesi için rehber talimatlar: OECD'nin sponsorluk programı. İlk revizyon". ENV/JM/MONO(2009)20/REV," 2009. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2009\)20/rev&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2009)20/rev&doclanguage=en).
- [32] J. Quik, "Fate of nanoparticles in the aquatic" ("Sudaki nanopartiküllerin davranışı"), 2013. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.ru.nl/publish/pages/664721/phd_thesis_jquik.pdf.
- [33] ECHA, "Ek R.7.13-2 BG ve KGD Rehberi: Metaller ve metal bileşikleri için çevresel risk değerlendirmesi," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [34] OECD, "Test No. 225: Ekleme Yapılmış Çökelti Kullanılarak Çökelti-Su Toprak Solucanı (*Lumbriculus*) Toksisitesi Testi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2, "2007. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [35] OECD, "Test No. 218: Ekleme Yapılmış Çökelti Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Toksisitesi, OECD Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2," 2004. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [36] OECD, "Test No. 219: Ekleme Yapılmış Su Kullanılarak Çökelti-Su Kayronomid Toksisitesi, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Bölüm 2," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761.
- [37] N. Hartmann, L. Skjolding, S. Hansen, J. Kjølholt, F. Gottschalck ve A. Baun, *Environmental fate and behaviour of nanomaterials- New knowledge on important transformation processes- Environmental Project No. 1594 (Nanomalzemelerin çevresel akıbet ve davranışı - Önemli dönüşüm süreçleri hakkında yeni bilgiler - Çevre Projesi No. 1594)*, Danimarka Çevre Koruma Ajansı., 2014.
- [38] B. Allen, G. Kotchey, Y. Chen, N. Yanamala, J. Klein-Seetharaman, V. Kagan ve A. Star, "Mechanistic Investigations of Horseradish Peroxidase-Catalyzed Degradation of Single-Walled Carbon Nanotubes," ("Tek Duvarlı Karbon Nanotüplerin Yaban Turpu Peroksidazıyla Katalizlenmiş Bozunmasının Mekanik Araştırmaları"), *Journal of the American Chemical Society*, cilt. 131, no. 47, s. 17194-17205, 2009.
- [39] K. Schreiner, T. Filley, R. Blanchette, B. Bowen, R. Bolskar, W. Hockaday, C. Masiello ve J. Raebiger, "White-Rot Basidiomycete-Mediated Decomposition of C-60 Fullerol," ("Beyaz Çürükçül Basidiomiset-Aracılı C-60 Fullerol Bozunması"), *Environmental Science & Technology*, cilt. 43, no. 9, s. 3162-3168, 2009.
- [40] Y. Zhao, A. Allen ve A. Star, "Enzymatic degradation of multiwalled carbon nanotubes" ("Çok duvarlı karbon nanotüplerin enzimatik bozunması»), *The Journal of Physical Chemistry A*, cilt. 115, no. 34, s. 9536-9544, 2011.
- [41] L. Zhang, E. Petersen, M. Habteselassie, L. Mao ve H. Q, "Degradation of multiwall carbon nanotubes by bacteria" ("Çok duvarlı karbon nanotüplerin bakteriler tarafından bozunması") *Environmental Pollution*, cilt. 181, s. 335-339, 2013.

- [42] R. Tantra, A. Cackett, R. Peck, D. Gohil ve J. Snowden, "Measurement of Redox Potential in Nanoecotoxicological Investigations" ("Nanoekotoksikolojik Araştırmalarda Redoks Potansiyelinin Ölçümü") *Journal of Toxicology*, cilt. 2012, s. Makale No. 270651, 7 sayfa, 2012.
- [43] B. Nowack, J. Ranville, S. Diamond, J. Gallego-Urrea, C. Metcalfe, J. Rose, N. Horne, A. Koelmans and S. Klaine, "Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment" ("Nanomalzeme salımı ve ardından çevrede meydana gelen değişiklikler için potansiyel senaryolar") *Environmental Toxicology and Chemistry*, cilt. 31, no. 1, sayfa 50-9, 2012.
- [44] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri- No. 63- Fiziksel-kimyasal parametreler: nanomalzemelerin düzenlenmesiyle ilgili ölçümler ve yöntemler- ENV/JM/MONO(2016)2," 2016. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [45] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri. No. 65. Nanomalzemelerin Fiziksel-Kimyasal Özellikleri: OECD-WPMN Test Programında Uygulanan Yöntemlerin Değerlendirilmesi," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [46] G. V. Lowry, K. B. Gregory, S. C. Apte ve J. R. Lead, "Transformations of Nanomaterials in the Environment" ("Çevrede Nanomalzemelerin Dönüşümleri"), *Environmental Science & Technology*, cilt. 46, no. 13, s. 6893-6899, 2012.
- [47] V. Stone, B. Nowack, A. Baun, N. van den Brink, F. von der Kammer, M. Dusinska, R. Handy, S. Hankin, M. Hasselov, E. Joner ve T. Fernandes, "Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation" ("Çevre çalışmaları için nanomalzemeler: Fiziko-kimyasal karakterizasyon için sınıflandırma, referans malzeme konuları ve stratejiler"), *Science of the Total Environment*, cilt. 408, sayfa 1745-1754, 2010.
- [48] ECHA, "Bilgi gereklilikleri ve kimyasal güvenlik değerlendirme rehberi Bölüm R.7b: Sonlanma noktası özel rehberi," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [49] A. Sureshbabu, R. Kurapati, J. Russier, C. Menard-Moyon, I. Bartolini, M. Meneghetti, K. Kostarelos ve A. Bianco, "Degradation-by-design: Surface modification with functional substrates that enhance the enzymatic degradation of carbon nanotubes" ("Tasarım yoluyla bozunma: Karbon nanotüplerin enzimatik bozunmasını artıran fonksiyonel substratlarla yüzey modifikasyonu"), *Biomaterials*, cilt. 72, s.20-28, 2015.
- [50] M. Kiser, P. Westerhoff, T. Benn, Y. Wang, J. Perez-Rivera ve K. Hristovski, "Titanium nanomaterial removal and release from wastewater treatment plants." ("Titanyum nanomalzemesinin atık su arıtma tesislerinden uzaklaştırılması ve salımı."), *Environmental Science & Technology*, cilt 43, sayı 17, ss. 6757-6763, 2009.
- [51] M. Kiser, J. Ryu, H. Jang, K. Hristovski ve P. Westerhoff, "Biosorption of nanoparticles to heterotrophic wastewater biomass" ("Nanotanciklerin heterotrofik atık su biyokütlesine biyolojik olarak soğurulması"), *Water Research*, cilt 44, sayı 14, s. 4105-4114, 2010.

- [52] M. Kiser, D. Ladner, K. Hristovski ve P. Westerhoff, "Environmental Science & Technology", *Nanomaterial transformation and association with fresh and freeze-dried wastewater activated sludge: implications for testing protocol and environmental fate (Nanomalzeme dönüşümü ve taze ve dondurularak kurutulmuş atık su aktif çamuru ile ilişkisi: test protokolü ve çevresel davranışı için çıkarımlar)*, cilt 46, sayı 13, s. 7046–7053, 2012.
- [53] B. Pan ve B. Xing, "Adsorption mechanisms of organic chemicals on carbon nanotubes," (Organik kimyasalların karbon nanotüpler üzerindeki yüzeye tutunma mekanizmaları)," *Environmental Science & Technology*, cilt 42, sayı 24, s. 9005–9013, 2008.
- [54] S. Gartiser, F. Flach, C. Nickel, M. Stintz, S. Damme, A. Schaeffer, L. Erdinger ve T. Kuhlbusch, "Behavior of nanoscale titanium dioxide in laboratory wastewater treatment plants according to OECD 303 A," ("OECD 303 A'ya göre laboratuvar atık su arıtma tesislerinde nano ölçekli titanyum dioksitin davranışı") *Chemosphere*, cilt. 104, s. 197-204, 2014.
- [55] A. Jemec, A. Kahru, A. Potthoff, D. Drobne, M. Heinlaan, S. Böhme, M. Geppert, S. Novak, K. Schirmer, R. Rekulapally, Singh, V. Aruoja, M. Sihtmäe, K. Juganson, A. Käkinen ve D. Kühnel, "An interlaboratory comparison of nanosilver characterisation and hazard identification: Harmonising techniques for high quality data" ("Nano gümüş karakterizasyonu ve zararlılık tanımlamasının laboratuvarlar arası karşılaştırması: Yüksek kaliteli veriler için uyumlaştırma teknikleri"), *Environment International*, cilt. 87, s. 20–32, 2016.
- [56] OECD, "Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi. No. 29. Sucul Ortamlarda Metallerin ve Metal Bileşiklerinin Dönüştürülmesi/Çözünmesi Hakkında Rehber Doküman. ENV/JM/MONO(2001)9," 2001. [Çevrimiçi]. Erişim adresi:
[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2001\)9&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2001)9&doclanguage=en).
- [57] ECHA, "Nanofomları kapsayan kayıt dosyaları nasıl hazırlanır: en iyi uygulamalar" [Çevrimiçi]. Erişim adresi:
http://echa.europa.eu/documents/10162/13655/how_to_register_nano_en.pdf/f8c046ec-f60b-4349-492b-e915fd9e3ca0.

