



Araştırma Makalesi /Research Article

Perflorooktan Sülfonat (PFOS)'ın Tatlı Su İstakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Akut Toksik Etkilerinin Belirlenmesi

Determination of The Acute Toxic Effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) on Narrow Clawed Crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823)

Nesli BELEK^{1*}, Aysel Çağlan GÜNAL²

¹Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri ABD, Ankara

²Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi ABD, Ankara

Öz

Amaç: Kalıcı organik kirleticiler, doğada uzun süre bozulmadan kalabilen, uzun mesafeler boyunca taşınan, yağ dokuda birikme özelliği ile çevre ve insan sağlığı üzerinde yüksek risk taşıyan kimyasallardır. Perflorooktan sülfonat (PFOS) (Heptadecafluorooctanesulfonic acid potassium salt; CAS NO: 2795-39-3) kalıcılığı yüksek önemli ölçüde biyolojik birikim ve biyomagnifikasyon özelliklerine sahip endüstriyel bir kalıcı organik kirleticilerdendir. Bu çalışma ile, sucul ekosistemler için indikatör tür olan tatlı su istakozunda (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) PFOS'un akut toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Deneyler ön deney ve asıl deney şeklinde iki aşamalı yapılmıştır. Deneylerde farklı PFOS konsantrasyonları ve iki kontrol grubu kullanılmıştır. Finney'in probit analiz yöntemi ile LC₅₀ değerleri, U.S. EPA bilgisayar programına göre hesaplanmıştır.

Bulgular: Ana deney esnasında, tatlı su istakozlarında kontrol grubuna göre davranış değişiklikleri görülmüştür. Deneylerde, PFOS'un tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus*) 48 ve 72 saatlik akut LC₅₀ değerleri (%95 güven sınırları) 74.49 (57.16-94.85) ve 59.33 (43.16-76.27) mg/L olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: PFOS'un sucul ekosistemde hedef olmayan organizmalardan tatlı su istakozlarında orta derecede toksik olduğu görülmüştür. PFOS'un tatlı su kaynaklarına karışmaması için tedbirlerin alınması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalıcı organik kirleticiler, Perflorooktan sülfonat, PFOS, tatlı su istakozu, *Astacus leptodactylus*

Abstract

Objective: Persistent organic pollutants are chemicals that can remain intact in nature for a long time, are carried over long distances and carry a high risk to the environment and human health with the ability to accumulate in adipose tissue. Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) (Heptadecafluorooctanesulfonic acid potassium only; CAS NO: 2795-39-3) is an industrial permanent organic pollutant with high permanence, significant biological accumulation, and biomagnification. In the present study, it is aimed to investigate the acute toxic effects of PFOS in freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823), the indicator species for aquatic ecosystems.

Materials and Methods: The experiments were conducted in two stages with preliminary experiments and main experiments. Different PFOS concentrations and two control groups were used in the experiments. LC₅₀ values were calculated according to the U.S. EPA computer program as Finney's probit analysis method.

Results: During the main experiment, behavioral changes were observed in freshwater crayfish according to the control group. In the experiments, 48- and 72-hour acute LC₅₀ values (95% confidence limits) in freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*) of PFOS were calculated as 74.49 (57.16-94.85) and 59.33 (43.16-76.27) mg/L.

Conclusion: PFOS has been found to be moderately toxic to freshwater crayfish, non-target organisms in the aquatic ecosystem. Measures should be taken to prevent PFOS from interfering with water bodies.

Key Words: Persistent organic pollutants, perfluorooctane sulfonate, PFOS, crayfish, *Astacus leptodactylus*

İletişim adresi/Address for Correspondence:

Nesli Belek* <http://orcid.org/0000-0002-3936-0236>

E-mail: nesliyildiz@yahoo.com

Aysel Çağlan Günal <http://orcid.org/0000-0002-9072-543X>

Geliş tarihi/Received: 26 Ağustos 2021 Kabul Tarihi /Accepted: 15 Ekim 2021 Çevrimiçi Yayın/Published Online: 20 Aralık 2021

GİRİŞ

Kalıcı organik kirleticiler, doğada uzun süre bozulmadan kalabilen, uzun mesafeler boyunca taşınan, yağ dokuda birikme özelliği olan ve aynı zamanda çevre ve insan sağlığı üzerinde yüksek risk taşıyan kimyasallardır. Bunların bir grubu olarak perflorlu bileşikler (PFCs) geniş bir ürün yelpazesi ve binlerce kimyasal içerirler. Bu antropojenik bileşikler altmış yıldan uzun süredir dünyada kullanılmaktadır. Perflorooktan sülfonat (PFOS) bu sınıf içerisinde en çok bilinen bileşiklerden biridir¹.

PFOS kumaş ve kaplamalar gibi materyallere su ve yağ tutmaz özelliği sağladığı için tekstil ürünlerinde, halılarda ve kağıt işlemede kullanılır. PFOS'un diğer kullanım alanları metal kaplama, fotoğraf görüntüleme yarı iletken ve tıbbi cihaz endüstrileri ve sızdırmazlık malzemeleri, sulu film oluşturan köpükler, havacılık için hidrolik sıvılar ve insektisit formülasyonlarıdır^{2,3,4,5}. Bu geniş uygulamalar nedeniyle PFOS, çevrede en bol bulunan ve en sık tespit edilen PFAS' lardan biridir⁶.

PFOS ve bunları içeren ürünlerin evsel atıklar ile birlikte bertarafı ve endüstriyel üretimleri ve geniş kullanım alanları ile atık sular ve yağmur suları ile sucul ortama karışabilmektedirler⁷. Onlara eşsiz özellikler veren güçlü karbon-flor bağı aynı zamanda onları biyolojik bozulmalara karşı da dirençli hale getirmektedir. Çevresel olarak kalıcılığı ve küresel olarak yaygın halde kullanımı havada, suda, toprak ve sedimentte, yaban hayatta, Arktik gibi uzak bölgelerde ve insan vücudunda tespit edilmesine neden olmuştur⁸. Çok sayıda karasal ve sucul türler üzerinde yapılan çalışmalar sonucu bu bileşiklerin canlılarda toksik etki meydana getirdiği belirlenmiştir. Amerika, Kanada ve Avrupa Birliği ülkelerinde üretimlerinin sonlandırılması ve kullanımlarının kısıtlanmasına rağmen hala birçok canlıda ve çevrede yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmektedir. Bu yüzden hala risk etmeni olarak kabul edilmektedir⁹.

Astacus leptodactylus (Eschscholtz,1823) Türkiye tatlı sularının doğal tatlı su istakozu türüdür. Ülkemizde tatlı su istakoz tüketimi alışkanlığı çok olmamasına karşın yurtdışında lüks sayılabilecek su ürünleri arasında yer almaktadır¹⁰. Bu sebeple ülkemiz için ekonomik öneme de sahiptir. Ayrıca tatlı su kaynaklarında ekotoksikolojik açıdan indikatör ve standart organizma kabul edilmesi bu türü bu çalışmada tercih etmemize neden olmuştur.

Yapılan literatür araştırmalarında, PFOS'un sucul canlılar üzerindeki etkileri hakkında yapılan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmüştür.

Ülkemiz tatlı su istakozu olan *Astacus leptodactylus*'a

PFOS'un akut toksik etkisine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada PFOS'un akut toksisitesi (48 ve 72 saatlik LC₅₀ değerleri) belirlenmiş ve davranışlarına etkisi gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürde ilk defa bu maddenin bu organizmada toksik etkisinin incelendiği çalışma olması nedeniyle özgün değere sahiptir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tatlı su istakozlarının temini

Tatlı su istakozları *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz,1823) intermoult döneminde ve av sezonunda Eğirdir Gölü'nden temin edilmiştir. Deneylerde ortalama 10,37±0,53 cm boy ve 31,10±4,55 gr. ağırlığındaki tatlı su istakozları kullanılmıştır. Tatlı su istakozları uygun koşullarda laboratuvar ortamına getirilmiş ve en az 48 saat dinlendirilerek kloru giderilen şebeke suyu ile doldurulan ve hava pompaları takılarak yeterli havalandırma sağlanan cam akvaryumlara yerleştirilmiştir. Akvaryumlara rastgele alınan tatlı su istakozları iki hafta kadar adaptasyon sürecine tabi tutulmuştur. Deneyler, ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri tarafından yayınlanan "Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu" kurallarına göre yapılmıştır. Adaptasyon döneminde tatlı su istakozları günlük olarak çiğ alabalık ile beslenmiştir.

Deney akvaryumları

Deneylerde 15L hacimli 7 adet akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlar sabit ısıtıcılar ile 21±10C'de tutulmuş ve havalandırma düzeneği ile sürekli havalandırılmıştır. Akvaryumlarda çözünmüş oksijen değeri 6,25±0,10 mg/L olarak ölçülmüştür. Deneyler Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Deney kimyasalı ve hazırlanması

Deneylerde CAS numarası 2795-39-3 olan Heptadecafluorooctanesulfonic acid potassium salt (purity ≥ 98%, Sigma-Aldrich, USA) kullanılmıştır. +4°C de saklanan toz haldeki PFOS deneylerde kullanılmak üzere oda sıcaklığına getirilerek tartılmış daha sonra volumetrik cam balon jodede DMSO (dimethylesulphoxide) ile çözündürülüp tamamlanarak elde edilmiştir. Stok çözeltinin belirli hacimlerinin cam kaplarda DMSO ile sulandırılması yöntemiyle diğer uygulama dozları elde edilmiştir. Stok ve doz çözeltileri, deneylerde kullanılacak zamana kadar +4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilen çözeltiler, dozlama yapılarak deney akvaryumlarına uygulanmıştır. Akvaryumlara PFOS ile dozlama yapılması sırasında otomatik pipetler

kullanılmıştır.

Deneylerin gerçekleştirilmesi

Deneylerin tümü ZSF (zehirlilik seyreltme faktörü) tayin metoduna göre yapılmıştır. Bu metoda ilave olarak APHA, ISO, FAO ve TSE'nin metodlarından da yararlanılmıştır^{11,12,13}. Akut toksik etkileri ve toksik konsantrasyonları saptamak amacıyla ön deneyler yapılmıştır. Deneylerde, yarı statik biyodene yöntemini kullanılmıştır¹¹. Çalışmalarda kimyasal maddenin kullanılmadığı iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır.

Ön Dene: 24 saat süreli ön deneylerde 1, 1/10, 1/100, 1/1000 gibi geniş konsantrasyon aralıkları kullanılarak ana deneyin konsantrasyonlarını saptamada baz alınabilecek değerler tespit edilmiştir. %100 ölüm görülen en düşük konsantrasyon ve %0 ölüm görülen (ölüm görülmeyen) en yüksek konsantrasyon aralığı belirlenmiştir.

Ana Dene: 96 saatte statik yöntem kullanılacak bu deneyde, ön deney sonucu elde edilen verilerin ışığı altında geometrik seri hesaplanmıştır. Deneyin yapıldığı şekil ve şartlarla birlikte yürütülen iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Birinci kontrol grubuna kullanılan maksimum DMSO miktarı eklenmiş, ikinci kontrol grubu hiçbir kimyasal madde katılmamıştır. Deneyde %95'lik güven sınırının belirlenmesinde her konsantrasyon üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Deney sonuçlarının değerlendirilmesi

Deney sonuçları EPA Probit Analiz Yöntemiyle değerlendirilmiştir. LC₅₀ ve %95 güven sınırında tespiti için bilgisayar programından yararlanılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada, tatlı su istakozlarına (*Astacus leptodactylus*) PFOS'un akut toksik etkisi (LC₅₀ değerleri) belirlenerek tatlı su istakozlarında meydana gelen davranış değişiklikleri gözlenmiş ve değerlendirilmiştir. Deneyler neticesinde kontrol gruplarındaki tatlı su istakozlarında ölüm görülmemiştir. Bu çalışmada, *A. leptodactylus*'larda PFOS'un 48 ve 72 saatlik akut toksik etkileri tespit edilmiş ve tatlı su istakozlarındaki davranış değişiklikleri gözlenmiştir.

48 saatlik PFOS maruziyetine ilişkin akut toksisite bulguları

Yapılan deneyler sonucunda PFOS'un tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) 48 saatlik akut LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), 74,49 mg/L (57,16-94,85 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 1'de 48 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 1. 48 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	22,04	5,45-35,02
LC 5.00	31,49	11,34-44,85
LC 10.00	38,09	16,68-51,42
LC 15.00	43,30	21,56-56,60
LC 50.00	74,49	57,16-94,85
LC 85.00	128,14	99,42-242,33
LC 90.00	145,69	109,64-312,69
LC 95.00	176,20	125,92-459,22
LC 99.00	251,71	161,52-954,40

72 saatlik PFOS maruziyetine ilişkin akut toksisite bulguları

PFOS'un tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) 72 saatlik akut LC₅₀ değeri (%95 güven sınırları), 59,33 mg/L (43,16-76,27 mg/L) olarak saptanmıştır. Çizelge 2'de 72 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 2. 72 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve %95'lik güven sınırları

Nokta	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven Sınırları
LC 1.00	14,62	3,57-24,79
LC 5.00	22,03	7,68-33,20
LC 10.00	27,42	11,51-38,97
LC 15.00	31,7853	15,08-43,57
LC 50.00	59,3342	43,16-76,27
LC 85.00	110,76	84,71-194,72
LC 90.00	128,39	95,43-253,07
LC 95.00	159,79	112,78-376,72
LC 99.00	240,86	151,95- 806,67

PFOS'a maruz kalan tatlı su istakozlarının ölüm öncesi ters döndükleri gözlenmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada PFOS'un tatlı su istakozlarındaki (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) 48 ve 72 saatlik LC₅₀ değerleri ve akut deneyler süresince toksik maddenin tatlı su istakozları üzerinde meydana getirdiği davranışlar gözlenmiştir, Deneylerde, PFOS'un 48 ve 72 saatlik akut LC₅₀ değerleri (%95 güven sınırları), tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) 74,49 (57,16-94,85) mg/L ve 59,33 (43,16-76,27) mg/L olarak saptanmıştır, Yapılan literatür taraması ışığında, PFOS'un *Astacus*

leptodactylus türüne ilişkin toksik etkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır, Aynı şekilde *Astacidae* familyasına ait diğer türlerde ve diğer tatlı su istakozu türlerinde de PFOS'un toksik etkisinin değerlendirildiği bir araştırmaya rastlanmamıştır, PFOS'un çoğu su organizması için az ya da orta derece toksik olduğu bildirilmiştir. Li (2009) su piresi, *Daphnia magna* için 48 saatlik LC50 değerini 112 mg/L ve salyangoz *Physella acuta* için 96 saatlik LC50 değerini 178 mg/L olarak belirlemiştir¹⁴. Mavi solungaç (*Lepomis macrochirus*)'larda 96 saatlik LC₅₀ değeri 7,8 mg/L'dir¹⁵. PFOS'a en hassas tür 10 günlük EC50 değeri ile 0.0872 mg/L saptanan *Chironomus tentans* olarak görülmektedir¹⁶. Diğer çalışmalarda kabuklular olan *Neocaridina denticulata* ve *Mysidopsis bahia* sırasıyla 96 saatlik LC50 değerleri 10 mg/L ve 3,6 mg/L olduğunu bildirilmektedir^{14,17}.

Sucul ekosistemlerde PFOS konsantrasyonları tipik olarak düşük ng/L ile düşük µg/L arasında değişmektedir^{18,19,20}. *Oncorhynchus mykiss* ve *Pimephales promelas* için PFOS'un 96 saatlik LC₅₀'leri sırasıyla 22 mg/L ve 9,5 mg/L olarak saptanmıştır¹⁵. PFOS'a en dayanıklı olan tür 96 saatlik LC₅₀ değeri 247,14 mg/L ile tatlı su gastropodlarından, *Chinensis cathayensis*'tir²¹. Seyoum ve diğerleri (2020), PFOS'un üreme ve gelişim üzerine toksik etkisini *Daphnia magna* üzerinde yaptıkları çalışma ile belirtmişlerdir. Fertilitede düşüş ile üreme ve gelişim ile ilgili genlerin aşağı regülasyonunu gözlemişlerdir. *Daphnia magna*'nın vücut uzunluğu, 25 µM PFOS'a 7 günlük maruziyetin ardından kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken PFOS'un lipit metabolizmasını etkilediği bildirilmiştir²².

Gündüz ve diğerleri (2013), deniz kestanelerinde (*Paracentrotus lividus*) artan PFOS konsantrasyonlarının (0,5 ila 10 mg/L arasında değişen) embriyotoksik etkilerini bildirmişlerdir. Çalışmada düşük konsantrasyonda larvaların iskelet sisteminde malformasyonlar ve doza bağlı olarak indüklenen gelişimsel durma kaydedilmiştir. 10 mg/L PFOS'un erken evrede embriyoların gelişimini önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir²³.

SONUÇ

PFOS'un tatlı su istakozunda (*Astacus leptodactylus* Esch, 1823) orta derece toksik olduğu saptanmıştır. Sucul ekosistem açısından incelendiğinde PFOS'un kalıcı organik kirletici olması sebebiyle daha uzun süreli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Etik Onay: -

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek: Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyon Birimi tarafından 18/2018-01 nolu proje ile kısmi olarak desteklenmiştir.

Ethical Approval: -

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Support: This study was partially supported by Gazi University Scientific Projects Coordination Unit with reference no 18/2018-01.

KAYNAKLAR

1. Lindstrom, A.B., Strynar, M.J., Libelo, E.L. Polyfluorinated compounds: Past, present, and future. *Environmental Science & Technology*, 2011;45(19), 7954–7961.
2. Chen, H., Han, J., Zhang, C., Cheng, J., Sun, R., Wang, X., Han, G., Yang, W., He, X. Occurrence and seasonal variations of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) including fluorinated alternatives in rivers, drain outlets and the receiving Bohai Sea of China. *Environmental Pollution*, 2017;231(2), 1223-1231.
3. Kannan, K., Hansen, K.J., Wade, T.L., Giesy, J.P. Perfluorooctane Sulfonate in Oysters, *Crassostrea virginica*, from the Gulf of Mexico and the Chesapeake Bay, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002;42, 313–318.
4. Paul, A.G., Jones, K.C., Sweetman, A.J. First global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environmental Science & Technology*, 2009;43 (2), 386-392.
5. Saikat, S., Kreis, I., Davies, B., Bridgman, S., Kamanyire, R. The impact of PFOS on health in the general population: a review. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2013;15(2), 329-335.
6. Huang, J., Sun, L., Mennigen, J.A., Liu, Y., Liu, S., Zhang, M., Wang, Q., Tu, W. Developmental toxicity of the novel PFOS alternative OBS in developing zebrafish: An emphasis on cilia disruption. *Journal of Hazardous Materials*, 2020; 409, 124491.
7. Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., Uno, A., Saijo, Y., Sata, F., Yoshimura, Y., Kishi, R., Nakazawa, H. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: Assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*, 2004;112(11), 1204–1207.
8. Wilkinson, J.L., Hooda, P.S., Swinden, J., Barker, J., Barton, S. Spatial (bio)accumulation of pharmaceuticals, illicit drugs, plasticisers, perfluorinated compounds and metabolites in river sediment, aquatic plants and benthic organisms. *Environmental Pollution*, 2018; 234, 864-875.
9. Giesy, J.P., and Kannan, K. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environmental Science & Technology*, 2001; 35(7), 1339-1342.
10. Balık, S., Ustaoglu, M.R., Sari H.M., Berber, S.

- Determination of traits some growth and morphometric of crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) at Demirkopru Dam Lake (Manisa). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2005;22(1), 83–89.
11. APHA, Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington: APHA, 1975;14,
 12. Anonim, Su kalitesi- Tatlı su balığına ani öldürücü zehir tesiri olan maddelerin tayini- Kısım 2- Yarı statik metot, TSE, TS 6021, Ankara,1989.
 13. Reish, D.L, and Oshida, P.S. Manual of methods in aquatic environment research, Part 10, Short-term static bioassays, FAO Fish Technical Paper, 1975; 247, 17-33.
 14. Li, M-H. Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to plants and aquatic invertebrates. *Environmental Toxicology*, 2009;24, 95–101.
 15. 3M Fluorochemical EPA Submissions CDs. 3M Company. 96-Hour Acute Toxicity Test on Bluegill Sunfish (FC-99, DEA salt of PFOS), 2000.
 16. MacDonald, M.M., Warne, A.L., Stock, N.L., Mabury, S.A., Solomon, K.R., Sibley, P.K. Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid to *Chironomus tentans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2004;23(9), 2116–2123.
 17. Li, M-H. Chronic Effects of Perfluorooctane Sulfonate and Ammonium Perfluorooctanoate on Biochemical Parameters, Survival and Reproduction of *Daphnia magna*. *Journal of Health Science*, 2010;56(1), 104–111.
 18. Hansen, K.J., Johnson, H.O., Eldridge, J.S., Butenhoff, J.L., Dick, L.A. Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environmental Science and Technology*, 2002;36, 1681–1685.
 19. Rostkowski, P., Yamashita, N., So, I.M.K., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Falandysz, J., Lee, K.T., Kim, S.K., Khim, J.S., Im, S.H., Newsted, J.L., Jones, P.D., Kannan, K., Giesy, J.P. Perfluorinated compounds in streams of the Shihwa industrial zone and lake Shihwa, South Korea. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006;25, 2374–2380.
 20. Wilson, S.R., Malerød, H., Holm, A., Molander, P., Lundanes, E., Greibrokk, T. On-line SPE-nano LC-nanospray-MS for rapid and sensitive determination of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in river water. *Journal of Chromatography Science*, 2007;45, 146–152.
 21. Yang, S., Xu, F., Wu, F., Wang, S., Zheng, B. Development of PFOS and PFOA criteria for the protection of freshwater aquatic life in China. *Science of the Total Environment*, 2014;470–471:677–83.
 22. Seyoum, A., Pradhan, A., Jass, J., Olsson, P-E. Perfluorinated alkyl substances impede growth, reproduction, lipid metabolism and lifespan in *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment*. 2020;737, 139682.
 23. Gunduz, G., Parlak, H., Arslan, O.Ç., Boyacioglu, M., Karaaslan, M.A. Embryotoxic effects of perfluorooctane sulfonate compounds in Sea Urchin *Paracentrotus lividus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2013;22(1a), 171-177.