

**TEKSTİL ATIK SUYUNUN *OREOCHROMIS
NILOTICUS*'DA TOKSİK ETKİSİNİN BAZI
ANTİOKSİDAN ENZİMLER KULLANILARAK
ARAŞTIRILMASI**

ABUZER ZAGAL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
TEMMUZ-2008**

**TEKSTİL ATIK SUYUNUN *OREOCHROMIS NILOTICUS*'DA
TOKSİK ETKİSİNİN BAZI ANTİOKSİDAN ENZİMLER
KULLANILARAK ARAŞTIRILMASI**

ABUZER ZAGAL

**Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji
Ana Bilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Birgül MAZMANCI**

**MERSİN
TEMMUZ-2008**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Birgül MAZMANCI

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Serap ERGENE

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Bedii CİCİK

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mahir TURHAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZ

Bu çalışmada tekstil atık suyunun antioksidan savunma sistemi ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri *Oreochromis niloticus*'da karaciğer ve solungaç dokularında incelenmiştir. Balıklar tekstil atık suyunun öldürücü olmayan konsantrasyonlarına (% 0.1, % 1 ve % 10) farklı sürelerde (15, 30 ve 45 gün) maruz bırakılmıştır. Kontrol grubu balıklar kloru giderilmiş çeşme suyu içeren akvaryumlarda bırakılmışlardır. Karaciğer ve solungaç dokularında antioksidan durumun göstergesi olarak süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri, oksidasyon göstergesi olarak malondialdehid (MDA) konsantrasyonu ölçülmüştür. SOD, CAT enzim aktiviteleri ve MDA konsantrasyonu doza bağlı değişim göstermiştir. Tekstil atık suyunun % 1 ve % 10'luk dozlarının uygulanması sonucunda SOD, CAT aktivitelerinde ve MDA seviyesinde artışlar olduğu gözlenmiştir. Karaciğer ve solungaçta 15. ve 30. günlerde ölçülen parametrelerde gözlenen artışların 45. günde muhtemel adaptif yanıtı olarak azaldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tekstil atık suyu, katalaz, süperoksit dismutaz, lipid peroksidasyonu, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

In this study, the effects of textile wastewater on antioxidant system and lipid peroxidation in the liver and gill tissues of *Oreochromis niloticus* were investigated. Fish were exposed to sublethal concentrations of the textile wastewater (0.1%, 1%, 10%) for different periods (15, 30, and 45 days). Control group fish were maintained in aquaria containing dechlorinated tap water. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities as index of antioxidant status and malondialdehyde (MDA) concentration as index of oxidation, were measured in liver and gill tissues. Dose dependent changes were found in the enzyme activities of SOD, CAT and MDA concentration. Treatment with 1% and 10% dosed of textile wastewater caused significant increases in SOD and CAT activities as well as MDA level in liver and gill tissues. The observed increases in the measured parameters in liver and gill tissues at the 15th and 30th days of exposure were found to be decreased at the 45th day as a probable result of adaptive response.

Key Words: Textile wastewater, catalase, superoxide dismutase, lipid peroxidation, *Oreochromis niloticus*.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında yol gösteren, her konuda destek olan, bilgi, görüş ve önerilerini esirgemeyen değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Birgül MAZMANCI'ya, laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Serap ERGENE'ye teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasındaki yardım ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. M. Ali MAZMANCI'ya (Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), Biyoloji Bölümündeki hocalarıma ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmama maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birliğine teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim süresince her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, Elif Halama ve GÜLER'e teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. TEKSTİL ENDÜSTRİSİ VE ATIKLARI	3
2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	7
2.2.1. Süperoksit (O_2^{\bullet})	7
2.2.2. Singlet Oksijen (1O_2).....	8
2.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	9
2.2.4. Hidroksil (OH^{\bullet}).....	10
2.2.5. Hipokloröz Asit (HOCl).....	10
2.2.6. Peroksil (ROO^{\bullet}).....	11
2.2.7. Perhidroksil ($H_2O_2^{\bullet}$).....	11
2.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN MAKROMOLEKÜLLERE ETKİLERİ.....	11
2.3.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi.....	11

2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi.....	13
2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkisi.....	14
2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi.....	16
2.4. SERBEST RADİKALLERE KARŞI SAVUNMA	
MEKANİZMALARI.....	16
2.4.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	17
2.4.2. Enzimatik Antioksidanlar.....	18
2.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	18
2.4.2.2. Katalaz (CAT)	19
2.5. OKSİDATİF STRES.....	20
2.5.1. Toksikolojide Oksidatif Stres.....	20
3. MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. MATERYAL.....	25
3.2. KULLANILAN KİMYASALLAR VE TEÇHİZATLAR.....	25
3.2.1. Kimyasallar.....	25
3.2.2. Teçhizatlar.....	26
3.3. DENEY PLANI.....	26
3.4. ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	28
3.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Yöntemi.....	28
3.4.2. Katalaz (CAT) Yöntemi.....	31
3.4.3. Malondialdehit (MDA) Yöntemi.....	32

3.4.4. Protein Miktarının Ölçülmesi.....	35
3.4.5. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	38
4.1. BULGULAR.....	38
4.1.1. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	39
4.1.2. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	41
4.1.3. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde MDA Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	44
4.1.4. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaçta SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	47
4.1.5. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaçta CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	50
4.1.6. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaç MDA Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	53
4.2. TARTIŞMA.....	57
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 2.1.	Boyama işleminde kullanılan yardımcı kimyasallar.....	5
Çizelge 2.2.	Hücrede bulunan bazı endojen antioksidanlar	17
Çizelge 3.1.	SOD standart grafiği çizmek için stok standarttan elde edilen derişimler.....	29
Çizelge 3.2.	SOD standart eğri grafiğinin hazırlanması.....	29
Çizelge 3.3.	Süperoksit dismutaz yöntemi.....	30
Çizelge 3.4.	Malondialdehit Standart Grafiğinin Hazırlanması.....	33
Çizelge 3.5.	Malondialdehid Yöntemi.....	34
Çizelge 3.6.	Protein yöntemi.....	36
Çizelge 4.1.	Tekstil fabrikası arıtma çıkış suyu analiz değerleri.....	38
Çizelge 4.2.	Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer SOD enzim aktivitesi (U/mg prot) üzerine etkisi (ort ± SH).....	39
Çizelge 4.3.	Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer CAT enzim aktivitesi (U/mL) üzerine etkisi (ort ± SH).....	42
Çizelge 4.4.	Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer MDA konsantrasyonu (nmol/mL) üzerine etkisi (ort ±SH).....	44
Çizelge 4.5.	Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç SOD enzim aktivitesi (U/mg prot) üzerine etkisi (ort ±SH).....	47
Çizelge 4.6.	Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç CAT enzim aktivitesi (U/mL) üzerine etkisi (ort ±SH).....	50
Çizelge 4.7.	Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç MDA konsantrasyonu (nmol/mL) üzerine etkisi (ort ±SH).....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucunda hidroksil radikali (OH [•]) oluşumu	10
Şekil 2.2	Lipit peroksidasyonun zincirleme reaksiyonu.....	12
Şekil 2.3.	Protein karbonil oluşum reaksiyonları	14
Şekil 2.4.	Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı	15
Şekil 3.1.	SOD Standart Eğrisi.....	30
Şekil 3.2.	Malondialdehit Standart Eğrisi.....	34
Şekil 3.3.	Protein Standart Eğrisi.....	36
Şekil 4.1.	Dozların karaciğer SOD enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.....	40
Şekil 4.2.	Dozların karaciğer CAT enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.....	43
Şekil 4.3.	Dozların karaciğer MDA konsantrasyonu üzerine süreye bağlı etkisi.....	46
Şekil 4.4.	Dozların solungaç SOD enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.....	49
Şekil 4.5.	Dozların solungaç CAT enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.....	52
Şekil 4.6.	Dozların solungaç MDA konsantrasyonu üzerine süreye bağlı etkisi.....	55

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

BOİ	: Biyolojik oksijen ihtiyacı
KOİ	: Kimyasal oksijen ihtiyacı
ROT	: Reaktif oksijen türleri
ATP	: Adenozintrifosfat
O ₂	: Oksijen
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
¹ O ₂	: Singlet oksijen
OH [•]	: Hidroksil radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
H ⁺	: Proton
RS [•]	: Tiyil radikali
R [•]	: Karbon merkezli organik radikal
RCOO [•]	: Organik peroksit
HOCl	: Hipokloröz asit
ROO ⁻	: Peroksil
H ₂ O ₂ ⁻	: Perhidroksil
L [•]	: Lipit serbest radikali
LOO [•]	: Peroksit radikali
LOOH	: Lipit peroksit
RNA	: Ribonükleik asit
HO ₂ ⁻	: Hidroperoksil
mtDNA	: Mitokondriyal deoksiribonükleik asit
Ca ²⁺	: Kalsiyum
GSH	: Glutasyon
GPx	: Glutasyon peroksidaz

GST	: Glutasyon S transferaz
CuZnSOD	: Bakır-çinko süperoksit dismutaz
MnSOD	: Mangan süperoksit dismutaz
CuSOD	: Bakır süperoksit dismutaz
FeSOD	: Demir süperoksit dismutaz
kDa	: Kilodalton
pO ₂	: Parsiyel oksijen basıncı
Cd	: Kadmiyum
Cr	: Krom
Zn	: Çinko
Pb	: Kurşun
Cu	: Bakır
Hg	: Cıva
XOD	: Ksantinoksidaz
nm	: Nanometre
CAPS	: 3-siklo heksilamino-1 propan sülfonoik asit tamponu
M	: Molar
mM	: Milimolar
mL	: Mililitre
µL	: Mikro litre
TBA	: Tiyobarbutrik asit
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
HAc	: Asetik asit
ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
SH	: Standart hata
SDBS	: Sodyum dodesilbenzen sülfonat
SPCs	: Sulfofenil karboksilik asitler
2,4-DCP	: 2,4-diklorofenol
PHE	: Fenanthren

1. GİRİŞ

Günümüzde uluslararası çevre sorunlarından biri de sucul ekosistemlerin kirlenmesidir. Sucul ekosistemlerde kirliliğin büyük kısmı endüstriyel atıklar nedeni ile meydana gelmektedir. Genellikle tekstil boya endüstrisi, deri, içki sanayi, şeker, kâğıt ve kâğıt hamuru fabrikalarından deşarj edilen atıklar göller ve akarsular gibi sucul sistemlere verilmektedir. Bu atıkların bazı arıtım proseslerinden geçirilip en zararsız hale dönüştürülerek doğaya verilmesi gerekmektedir. Ancak gelişmekte olan ülkelerin çoğunda ürün maliyetini düşük tutmak amacıyla gerek üretim gerek arıtım prosesinde eski teknolojiler kullanılmaktadır. Ayrıca bu ülkelerde çevrenin korunması ile ilgili kanunların tam uygulanmaması nedeniyle sucul ekosisteme verilen endüstriyel atıklar önemli çevre sorunlarına yol açmaktadır.

Tekstil endüstrisi, üretim ve istihdam bakımından Türkiye'nin ve Dünyanın önemli endüstrileri arasında yer almaktadır. Tekstil endüstrisi atık sularında yer alan ve özellikle çevreye zararlı olan aromatik yapıdaki organik maddeler boyama işlemlerinden kaynaklanmaktadır [1]. Tekstil endüstrisi atık sularının arıtılmasından sonra; yüksek konsantrasyonda boyar madde, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve askıda kalan madde içeren atık sular oluşmaktadır [2]. Tekstil atık suyu boyar maddelerle birlikte içerdiği çözünmüş katı partiküller, organik bileşikler, indirgenmiş ağır metaller ve yüksek pH içeriğinden dolayı çok kompleks bir yapıya sahiptir [3]. Yüksek orandaki KOİ ve renk verici maddeler, atık suyu estetik açıdan kötüleştirerek su ekosisteminde normal hayat için gerekli olan çözünmüş oksijen miktarının azalmasına neden olmaktadır [4]. Bu da sucul ekosistemde yaşayan canlılara zarar vermektedir.

Sucul ortamlarda ki canlılarda, çevresel kirleticilerin reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturarak ya da antioksidan enzimler adını verdiğimiz enzimlerin sentezini etkileyerek hücresel hasara neden oldukları yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir [5, 6, 7, 8]. Canlı organizmaların çoğu mitokondriyel ATP üretimi için oksijene (O_2) bağımlı yaşarlar. Mitokondriyel oksijenin yaklaşık % 4'ü, solunum zinciri reaksiyonlarındaki elektron akışı ile süperoksit (O_2^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), hidroksil radikali (OH^{\bullet}) gibi reaktif oksijen türlerini (ROT)

oluşturarak eksik redüksiyona uğramaktadır. Bütün dokular ve hücreler biyolojik reaktif ara ürünlerin detoksifikasyonu ve oksidatif stresten kaynaklanan hücresel hasarı önlemek veya azaltmak için antioksidan adı verilen çeşitli sistemler içerirler [9]. Antioksidan savunmanın enzimatik basamağını süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1), katalaz (CAT: EC 1.11.1.6) ve peroksidazlar olmak üzere üç önemli enzim grubu oluşturmaktadır [10]. Canlı vücudunda oksijen radikali oluşumu ile ortadan kaldırılması arasında bir denge vardır. Radikal oluşumundaki artış ya da antioksidan savunma sisteminin zarar görmesi ile bu denge bozulur ve oksidatif stres olarak bilinen durum ortaya çıkar. Yabancı kimyasallar gerek antioksidan enzim aktivitesini azaltarak, gerekse ROT oluşumunu arttırarak oksidatif strese neden olmaktadır [11]. Bu nedenle oksidatif stres ekotoksikolojik çalışmalarda giderek önem kazanmıştır.

Balıklar, sucul ekosistemin toksikolojik açıdan değerlendirilmesi amacıyla çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Balıklarla yapılan çalışmalar, kontaminantların biyoakümülyasyon ve biyomagnifikasyon yoluyla insan besin zincirine girerek yapacakları zararlar hakkında bilgi sağlamaktadır [12]. Ayrıca çalışmalar balıklarla memelilerin oksidatif strese karşı benzer toksikolojik ve adaptif yanıtlar verdiğini ve kirleticilerin zararlarını ortaya koymak için balıklarda oksidatif stres ile ilgili parametrelerin kullanılabileceğini göstermiştir [13, 14].

Yapılan bu çalışmada sucul ekosistemlere deşarj edilen tekstil atık suyunun olası toksik etkileri incelenmiştir. Bu amaçla tekstil atık suyunun, kirleticilere karşı memelilerle benzer toksikolojik ve adaptif yanıtlar veren balıklardaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ve lipit peroksidasyonun sekonder ürünlerinden malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler genotoksik ve mutajenik etkileri bilinen tekstil atık suyunun toksikolojik açıdan değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Ayrıca tekstil atık suyunun sucul ekosistemdeki etki potansiyelini değerlendirmek için bundan sonra yapılacak çalışmalara basamak teşkil edecektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. TEKSTİL ENDÜSTRİSİ VE ATIKLARI

Tekstil endüstrisi, işletim sisteminden kaynaklanan fazla miktarda atık su oluşturması ve bu atık suların aromatik yapıda organik bileşikler içermeleri önemli çevresel sorunlara neden olmaktadır [15, 16]. Çevresel yük getiren tekstil endüstrisi atıkları özellikle boyama prosesinden kaynaklanmaktadır. Boyama işleminden gelen atık suların içerisinde önemli miktarda boya kalıntıları ve fiske olmamış boyar maddeler bulunmaktadır [1].

İlk sentetik boyar madde 1856 yılında W.H. Perkin tarafından bulunan Mauvein'dir. Mauvein boyar maddesinin bulunmasından 50 yıl sonra boyar madde endüstrisi özellikle İngiltere, Fransa, Almanya ve İsviçre'de büyük gelişmeler göstermiştir [17]. Günümüzde endüstriyel olarak yaklaşık 10.000 farklı boya ve pigment üretilmektedir. Dünya çapında bu boyaların yıllık üretimi 7.10^5 tonun üzerindedir. Bu boyaların % 10-15'i boyama işlemleri sonucunda atık su ile alıcı ortama deşarj edilmektedir [18, 19, 20, 21].

<u>Kimyasal yapı grupları</u>	<u>İçerdikleri bağlar</u>
i- Nitrosa grubu:.....	-NO(veya =N-OH)
ii- Nitro grubu :.....	-NO ₂ (veya =NO'OH)
iii- Azo grubu :.....	-N=N-
iv- Etilen grubu :.....	=C=C=
v- Karbonil grubu:.....	=C=O
vi- Karbon-azot grubu:.....	=CONH ve -CH=N-
vii- Kükürt grubu :.....	=C=S ve ≡C-S-S-

Basit aromatik yapıya renk veren kromofor gruplar; yer değiştirebilir ve görünür spektrumda absorban bantlarının gözlenmesini sağlarlar. Kromoforlar, boyaların sınıflandırılmasında oldukça önemlidir [17]. Boyar maddeler boyama özelliklerine göre bazik, asidik, direkt, mordan, küpe, inkişaf, metal kompleks,

dispersiyon, pigment, reaktif ve azo boyar maddeler şeklinde sınıflandırılmaktadırlar [22].

Alıcı sulara verilen renkli atık sular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltır ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkiler. Bu bağlamda boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularının renk giderim işlemleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır. Ancak kompleks kimyasal yapılarına ve sentetik kökenlerine bağlı olarak, boyar maddelerin giderilmesi oldukça zor bir işlemdir [23].

Boyama ve sonlandırma işlemlerinde boyalar hariç farklı yardımcı kimyasallar kullanılmaktadır. Bu nedenle atık sular koyulaştırıcı ajanlar gibi fazla miktarda organik madde bulundurmaktadır. Gerek boyamada gerekse diğer işlemlerde kullanılan bu organik ve inorganik formdaki bileşiklerin çeşitliliğine bağlı olarak, ortaya çıkan atık suların özellikleri de farklı olmaktadır [23, 24, 25].

Çizelge 2.1. Boyama işleminde kullanılan yardımcı kimyasallar [23].

Kimyasal Madde	Bileşim	Fonksiyon
Tuzlar	Sodyum klorür, Sodyum sülfat	Elyafın zeta potansiyelini nötralize edici, yavaşlatıcı
Asitler	Asetik asit, sülfürik asit	pH kontrolü
Bazlar	Sodyum hidroksit, Sodyum karbonat	pH kontrolü
Tamponlar	Fosfat	pH kontrolü
Kompleks yapıcılar	EDTA	Kompleks yapma
Dispers edici ve yüzey aktif maddeler	Anyonik, katyonik ve noniyonik	Boyaları dağıtma
Okside edici maddeler	Hidrojen peroksit, Sodyum nitrit	Boyaları çözünmez yapma
İndirgeyici maddeler	Sodyum hidrosülfid, Sodyum sülfid	Boyaları çözünebilir yapma
Taşıyıcılar	Fenilfenoller, klorlubenzenler	Adsorbsiyonun artırılması

Tekstil boyama endüstrilerinden alıcı ortama deşarj edilen atık sular önemli sağlık ve çevre kirliliği sorunlarına sebep olmaktadır [15]. Tekstil boya endüstri atıklarının, içermiş olduğu boya ve çeşitli kimyasallardan dolayı sucul canlılarda mutajenik ve karsinojenik potansiyele sahip olduğu bilinmektedir [26, 27].

Al-Sabti [27], mikronükleus testi kullanarak yaptığı çalışmada, laboratuvar koşullarında tekstil atık suyunda da bulunan Klorotriazin Reaktif Azo Kırmızı 120 tekstil boyasının purussion carp (*Carassius auratus gibelio*) eritrositlerinde mikronükleus miktarını artırarak genotoksik etki yaptığını bildirmiştir.

Farklı konsantrasyon ve sürelerde verilen tekstil atık suyunun, *O. niloticus*'un eritrosit ve solungaç hücrelerinde mikronükleus miktarını ve diğer nükleus anormalliklerini arttırdığı Çavaş ve ark. [28], tarafından bildirilmiştir.

Clarias lazera ile yapılan diğer bir çalışmada da tekstil atık suyunun mikronükleus oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir [29].

Sumathi ve ark. [30], komet testi kullanarak yaptıkları çalışmada tekstil boya atık suyuna maruz kalan *Cyprinus carpio* türü balıkların eritrositlerinde ve karaciğer hücrelerinde DNA hasarının meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Tekstil endüstrisi atık sularında kirletici parametrelerin çok çeşitli olması, bu sektöre ait atık suların arıtılmasında farklı arıtma yöntemlerinin kullanılmasını gerektirir. Atık su arıtım tesislerinin ilk yatırım ve işletme maliyetlerinin en aza indirilebilmesi için en uygun arıtma tipinin belirlenmesi gerekir. Tekstil atık suyunun arıtımı için fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotların bileşiminden meydana gelen geleneksel metotlar mevcuttur [31]. Tekstil atık suyunun arıtımı sonrasında oluşan bazı maddeler de canlılarda toksik etkilere neden olmaktadır. Azo grubundaki boyar maddelerin bir kısmı anaerobik ortamda kendini oluşturan benzidin gibi canlılar üzerinde toksik etkisi bilinen aromatik aminlere dönüşmektedir [32]. Oluşan aromatik bileşikler; insanlarda mesane kanseri, deney hayvanlarında dalak sarkomları, hepatokarsinomlar ve nükleer anormalikler ve memeli hücrelerinde kromozomal aberasyonlara neden olabilmektedirler [33, 34].

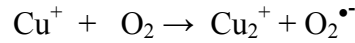
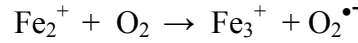
Boyar maddelerin aktiveştirilmesinde kullanılan krom, nikel, kobalt ve çinko gibi toksik ağır metallerde arıtım işlemleri sonrasında atık sulara geçer [35]. Ayrıca tekstil endüstrisinde tekstil ürünlerinin korunmasında kullanılan pestisitler ve diğer yardımcı kimyasalların içerdiği organohalojen bileşikler, amonyak, florlu karbonlar, formaldehit gibi toksik etkisi olan bileşikler de arıtım işlemi sonrasında tekstil atık sularına geçmektedir [36].

2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, moleküler ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir ve aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak meydana gelmektedir. Oldukça reaktif olan bu bileşikler reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılır. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROT oluşmaktadır [37]. Oksijenden oluşan başlıca reaktif türler şunlardır.

2.2.1. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)

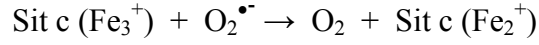
Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit radikali meydana getirebilir.



Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir. Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O_2 ve H_2O_2 meydana gelir.



Süperoksit radikalli hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin; ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.



Ayrıca süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve H₂O₂ indirgenir [38].

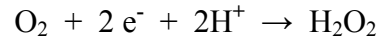
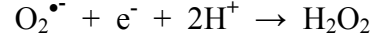
Süperoksit, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksit düzeyleri bakteriyal enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile H₂O₂ ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süper oksit düzeyleri sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur [39, 40].

2.2.2. Singlet Oksijen (¹O₂)

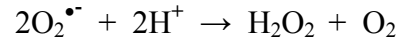
Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT'leri arasında yer alan singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Delta ve sigma olmak üzere iki tipi mevcuttur. Sigma tipi daha reaktif olduğu için hızla delta tipine dönüşür. Singlet oksijen, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süper oksit radikallerinin dismutasyonu ve hidrojen peroksidin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir. Singlet oksijen, nötrofillerin aktivitesi sırasında ve O₂^{•-}'in dismutasyonu sırasında da meydana getirilmektedir [41].

2.2.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.



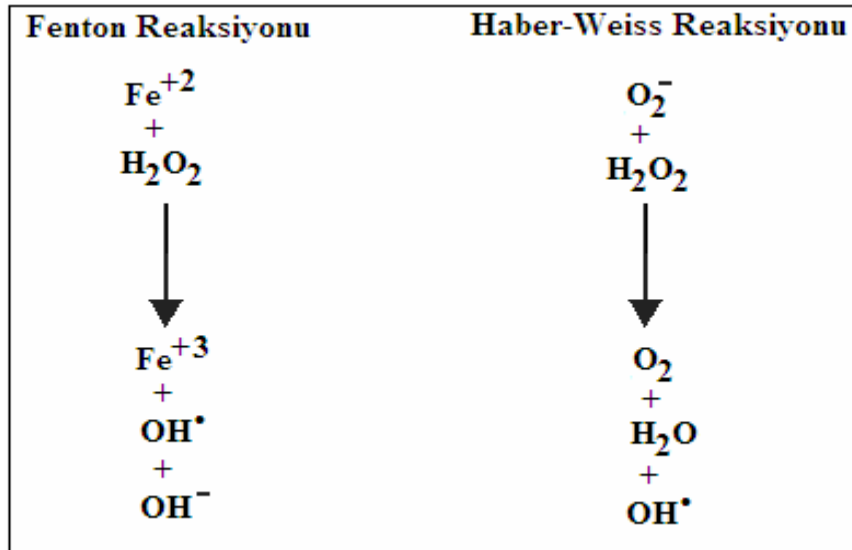
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O₂^{•-}) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak H₂O₂ ve O₂ oluştururlar.



Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da SOD enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'ta daha belirgindir. H₂O₂ bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROT) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe²⁺ veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O₂^{•-}) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH[•]) oluşturur. Süperoksit radikalinin lipit çözünürlüğü sınırlı olduğu halde H₂O₂ lipitte çözünürdür. Bu nedenle H₂O₂ kendisinin olduğu yerden uzakta olan Fe²⁺ içeren membranlarda hasar oluşturabilir [41]. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökositler savunmasının diğer önemli bir unsurudur [40].

2.2.4. Hidroksil (OH[•])

Hidroksil radikali (OH[•]), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda da oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipitler ve şekerler gibi biyomoleküllerin birçoğuyla reaksiyona girebilir. Hidroksil radikali ROT'nin en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına neden olarak büyük hasarların meydana gelmesine neden olurlar [41].



Şekil 2.1. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucunda hidroksil radikali (OH[•]) oluşumu [41].

2.2.5. Hipokloröz Asit (HOCl)

Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde ROT arasında yer almaktadır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, monositler ve makrofajlar, eozinofiller O₂^{•-} üretirler. Özellikle nötrofiller

içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla $O_2^{\bullet-}$ 'in dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksidi klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl dönüştürür [41].

2.2.6. Peroksil (ROO^{\bullet})

Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikallerini oluştururlar. Bu peroksil radikali lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup uzun ömürlüdür [41].

2.2.7. Perhidroksil ($H_2O_2^{\bullet}$)

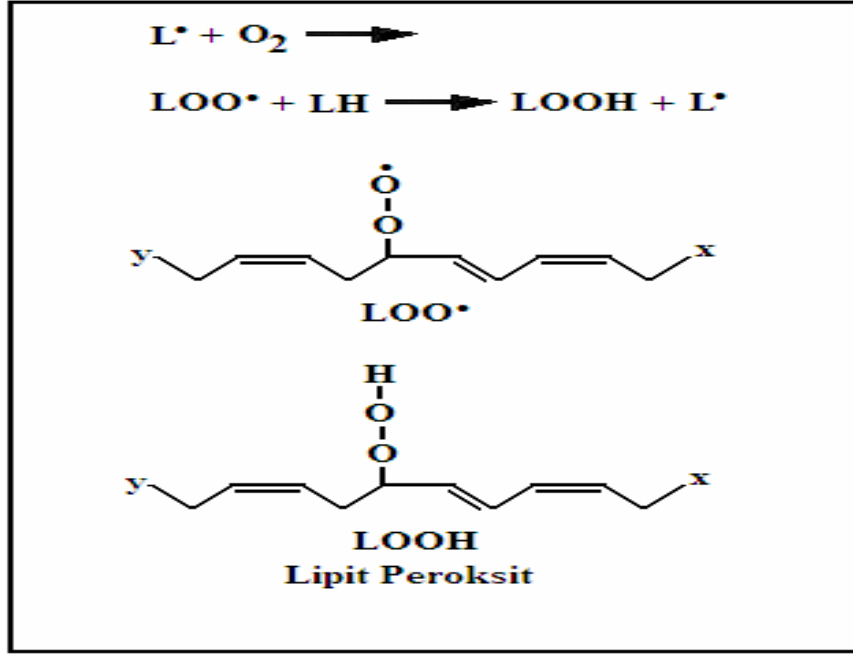
Süperoksit radikalinin düşük pH'ta daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan oluşturmasıyla meydana gelen bir radikaldir [41].

2.3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN MAKROMOLEKÜLLERE ETKİLERİ

2.3.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkisi

Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipit peroksidasyonu, biyolojik zararların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparlar [42, 43]. Lipit peroksidasyonu çok iyi tanımlanmış bir hücre hasar mekanizması olup doku ve hücrelerde oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır [10]. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L^{\bullet}) ve lipid

peroksit radikallerinin (LOO^\bullet) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu" denir [44].



Şekil 2.2. Lipit peroksidasyonun zincirleme reaksiyonu [44].

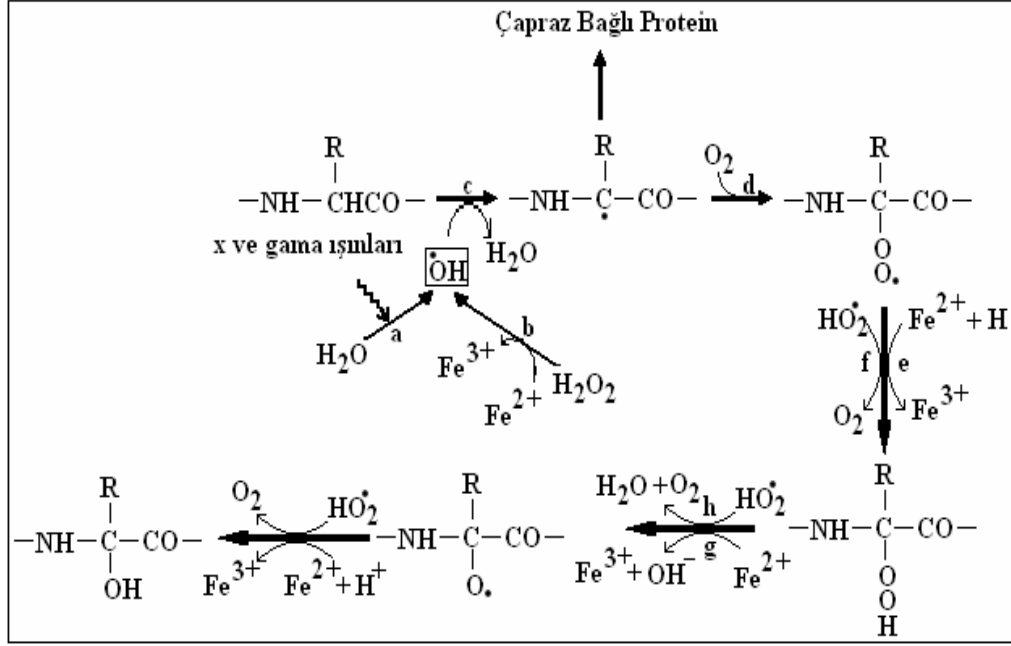
Biyolojik sistemlerde; lipitlerin peroksidasyonu; başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç evreden meydana gelmektedir [19]. Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali niteliği kazanmasıyla başlar. Lipit radikali (L^\bullet) dayanıksız bir bileşiktir bir dizi değişikliğe uğrar. L^\bullet 'nin moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri (LOO^\bullet) oluşur. LOO^\bullet , membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipit peroksidasyonu; plazma membranı ve subzellüler organellerin membranlarında serbest radikallerle uyandırılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar [44].

Aerobik organizmalarda lipit peroksidasyon ürünleri DNA hasarına ve glutamat taşıyıcıları gibi proteinlerin inhibisyonuna neden olurlar [45]. Artan lipit peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu epoksitler oluşur. Bunlar hücre içinde nükleofilik merkezler ile spontan olarak reaksiyona girerek DNA, RNA ve proteinlere kovalent olarak bağlanırlar [46]. Böylece bu reaksiyonlar sitotoksositeye, alerjiye, mutajeniteye ve karsinogenezise neden olurlar [47].

2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağlar ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur [44].

Proteinlerin reaktif oksijen türleri veya oksidatif stres ürünleriyle kovalent modifikasyonu sonucu protein oksidasyonu meydana gelir [48]. Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde moleküler oksijenle birlikte süperoksit anyon radikali ve süperoksitin protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO_2^\cdot)'in varlığı da gereklidir. Adı geçen bu reaktif oksijen türleri aminoasitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olurlar [49, 50]. Protein moleküllerinde, tiyolasyon, metilasyon ve karbonilasyonu içeren çok farklı şekillerde oksidatif hasar meydana gelebilir. Bunlardan tiyolasyon ile metilasyon dönüşümlüdür ve bu moleküller bazı antioksidan fonksiyonlarda rol oynar [51]. Diğer taraftan protein karbonilasyonu oluşumu dönüşümsüzdür ve proteinlerin enzimatik parçalanmasına yol açar. Ayrıca protein karbonillerin oluşumu, serbest radikallerin yağlar, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi diğer hücresel bileşenlerle etkileşmesi sonucunda oluşan ikincil tepkimelerle de gerçekleşir [52].

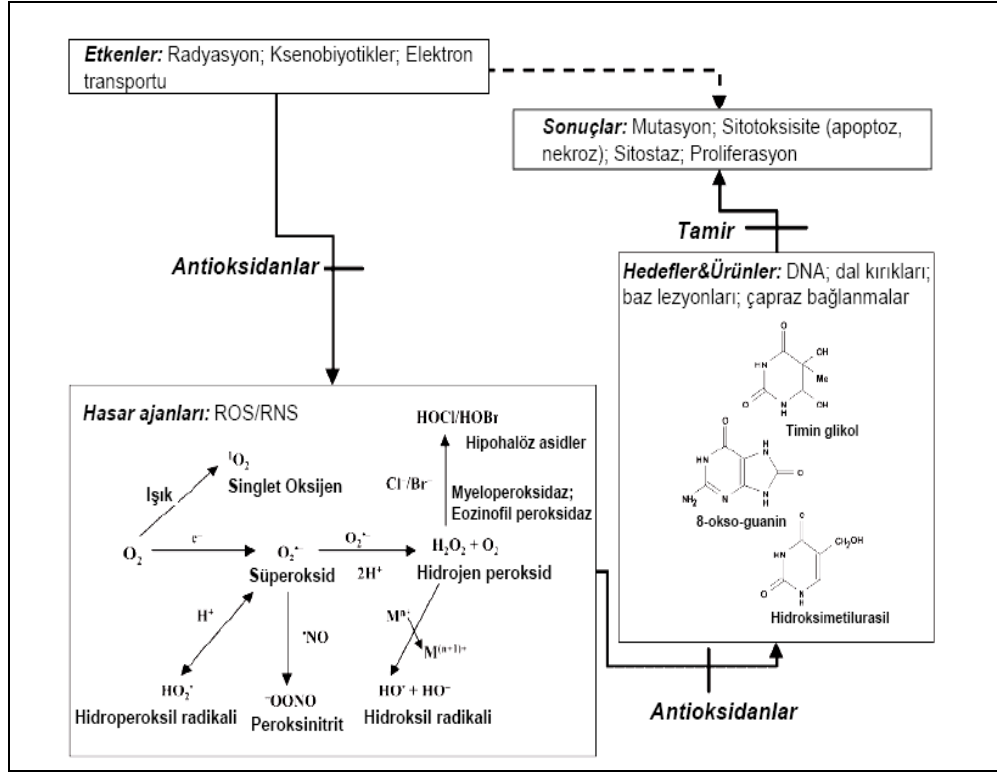


Şekil 2.3. Protein karbonil oluşum reaksiyonları [49].

Protein oksidasyonun biyokimyasal sonuçları; enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir [53, 54].

2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkisi

ROT oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve DNA onarım enzimlerinde defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da tek ve çift zincir kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile proteinler arasında çapraz bağlanma olabilir [55, 56].



Şekil 2.4. Serbest radikal aracılı oksidatif DNA hasarı [55].

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH^{\bullet}) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçer, hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Oksidatif modifikasyon sonucunda DNA antijenik karakter kazanmakta ve antiDNA antikoru oluşmaktadır. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir [44].

Mitokondriyal DNA (mtDNA) da oksidatif hasar ve bu hasara bağlı mutasyonların gerçekleşmesi yaşlanma sürecinde önemli rol oynar. ROT'lerin artmasına bağlı olarak mitokondride membran potansiyeli azalır, ATP sentezinde azalma olur, potansiyel toksisitesi olan Ca^{+2} iyonlarının tutulumu azalır. Oksidatif strese bağlı olarak, mutasyonel yük artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin

azalması veya zarar görmesi mitokondrilerin hasar ve mutasyonunu artırır. Bunun sonucunda da hücrel yaşlanma hızlanır [57].

2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler meydana gelir, bunlar çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet ya da diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatit artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir [44].

2.4. SERBEST RADİKALLERE KARŞI SAVUNMA MEKANİZMALARI

Canlılarda ROT oluşumunu ve ROT'nin meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar, enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar [44].

Endojen enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar hem ROT'nin zararsız metabolitlere dönüştürülmesi hem de normal hücrel metabolizmanın ve fonksiyonların korunması ve devamlılığında önemlidirler [58].

Çizelge 2.2. Hücrede bulunan bazı endojen antioksidanlar.

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz	Melatonin	
Glutasyon peroksidaz	Seruloplazmin	
Glutasyon S-Transferazlar	Transferin	Miyogloblin
Katalaz	Hemoglobin	Ferritin
Mitokondriyal sitokromoksidazlar	Bilirubin	Glutasyon
Hidroperoksidazlar	Sistein	Metiyonin
	Ürat	Laktoferrin
	Albümin	Vitaminler

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler;

1) Toplayıcı Etki; Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmez. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

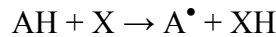
2) Bastırıcı Etki; Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmez. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir Kırıcı Etki, Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Onarıcı Etki; Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasıdır.

2.4.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanların etkisi aşağıdaki reaksiyonda olduğu gibi antioksidan (X) moleküle bir elektron veya hidrojen transferi şeklinde özetlenebilir.



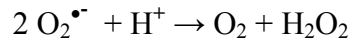
Oluşan antioksidan türevli radikal, bir redüksiyon potansiyeline sahip olmakla beraber kimyasal reaktivitesi çok düşüktür. Böylece yüksek reaktiviteye sahip oksidanın zararlı etkisi azaltılmış olur [44]. Enzimatik olmayan antioksidantlardan en önemlileri; E vitamini (α - tokoferol), C vitamini (askorbik asit), glutatyon (GSH), melatonin, seruloplazmin, transferin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin, sistein, metiyonin, laktoferrin, albümindir [59].

2.4.2. Enzimatik Antioksidanlar

Bir diğer antioksidan savunma sistemi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerle olan savunmadır. Bu enzimler dioksijen redüksiyonu ara bileşiklerini veya oksidan zararına uğramış bileşikleri doğrudan uzaklaştırabilirler.

2.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD (EC 1.15.1.1) $O_2^{\bullet-}$ radikalinin O_2 ve H_2O_2 dismutasyonunu katalizleyerek oksidatif zarara karşı koruma sağlar [60].



Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalinin anyon ve kation formlarının eşit oranlarda bulunduğu pH 4,8’de kendiliğinden meydana gelir. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH 7,35–7,45 arasında bu reaksiyon çok daha yavaş olur. SOD enzimi varlığında ve pH’ın 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon dört kat daha hızlı gerçekleşir [61].

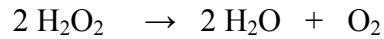
SOD enzimi, aktif merkezinde bulunan metale göre bakır-çinko (CuZnSOD), mangan (MnSOD) ve demir (FeSOD) olmak üzere üç çeşittir. MnSOD ve CuZnSOD hayvanlarda baskın olan formlardır. FeSOD ise bazı alg ve yüksek yapılı bitkilerde bulunmasına karşın genellikle prokaryotlarda bulunan formdur. SOD aktivitesi omurgasızlarda büyük ölçüde değişkenlik gösterir, fakat omurgalılara göre

aktivitesi genellikle daha düşüktür. Omurgasız CuZnSOD formu memelilerdekine benzer özellik gösterir, amfibilerdeki SOD beyinde en yüksek aktivite ve akciğerde en düşük aktiviteyi gösterirken yüksek omurgalılarda karaciğerde aktivite genellikle en yüksektir. CuZnSOD 32 kDa ortalama ağırlığa sahip dimerik bir proteindir. Birçok izoenzimi olduğu rapor edilmiştir. MnSOD 86 kDa ortalama moleküler ağırlığa sahip tetramerik bir proteindir. FeSOD 41 kDa moleküler ağırlıklı dimer bir proteindir. Metal kofaktörleri olmaksızın bütün SOD formları $O_2^{\bullet -}$ dismutasyonunda benzer mekanizma ve hızı paylaşırlar [59].

SOD'nin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikalinin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku parsiyel oksijen basıncı (pO_2) artışıyla artar. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi yoktur [44].

2.4.2.2. Katalaz (CAT)

CAT (EC 1.11.1.6) hücrel metabolizma sonucu oluşan H_2O_2 'in moleküler oksijene ve suya dönüşmesini katalizler [44].



Enzim genellikle bir birinin aynısı olan dört alt üniteden oluşan yaklaşık 240 kDa ağırlığında tetramerik bir moleküldür. Aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. CAT genellikle H_2O_2 üreten enzimlerin lokalize olduğu peroksizomlarda bulunmaktadır. Balıklarda, amfibilerde ve memelilerde karaciğer, böbrek, kalp ve beyinde yüksekten en düşüğe doğru aktivite dağılımı göstermektedir. CAT kan plazması, dokular arası sıvı, sinoviyal sıvı gibi hemen hiçbir ekstrasellüler sıvıda bulunmaz [59].

CAT hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan H_2O_2 'i hidroksil (OH^\bullet) serbest radikali oluşumunu önlemek için ortamdandır [44].

2.5. OKSİDATİF STRES

Hücrede oluşan ROT'i antioksidan savunma sistemleri olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda vücutta oluşabilen ROT (süperoksit, hidroksil, hidrojen peroksit vb.) ve antioksidan özellikteki enzimler denge halinde çalışmakta ve herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkmamaktadır. Yaşamın devamı için her iki sisteme de ihtiyaç vardır. Ancak endojen ya da eksojen nedenlerle bu dengenin oksidanlar lehine bozulması oksidatif stresin oluşumuna yol açmaktadır [41]. Oksidatif strese neden olan tehlikeli reaktif oksijen türleri çeşitli biyolojik moleküllerle kolaylıkla etkileşebilmektedir. Bu etkileşimin şiddetli olması, hücre ya da dokularda hasara neden olmaktadır [56, 57].

2.5.1. Toksikolojide Oksidatif Stres

Birçok kirletici hücre içi ROT miktarını arttırarak, DNA hasarı, lipit peroksidasyonu ve enzim inhibisyonu gibi toksisitede önemli rol oynayan oksidatif stres biyomarkerlarının oluşmasına neden olur. Deney hayvanlarında serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif stresi ölçmek için çeşitli biyomarkerler kullanılır. Kullanılan biyomarkerler, radikaller tarafından oluşturulan birincil ya da ikincil ürünler olabildiği gibi, radikallere karşı koyan antioksidan savunma sistemi elemanları olabilir [5]. Pek çok çevresel kirleticinin toksisite mekanizmasında serbest radikallerin rol oynadığı tespit edilmiş, bu nedenle oksidatif stres ekotoksikolojik çalışmalarda yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır [62].

Endüstriyel kirleticileri içeren atık sular sucul ortamlara geçer ve burada yaşayan canlılar tarafından alınırlar. Atık sular; aromatik hidrokarbonlar, organoklorlu yada organik fosfatlı pestisitler, endüstriyel ürünler, heterosiklik bileşikler, organometalik bileşikler ve ağır metalleri [kadmium (Cd), krom (Cr),

Çinko (Zn), kurşun (Pb), bakır (Cu), civa (Hg)] içeren büyük oranda organik ve metalik kirleticilerden oluşmaktadırlar. Atık sulardaki bu kirleticilerin çoğu etkili oksidanların oluşumuna yol açar, zararlı etkilerini oksidatif strese neden olarak gösterirler [63]. Sturve ve ark. [64], yaptıkları çalışmada, Kuzey Denizinde petrol ve alkilfenole maruz kalan *Gadus morhua*'nın karaciğerinde CAT enzim aktivitesinin yüksek olduğunu; ancak karaciğerde MDA miktarının değişmediğini bildirmişlerdir.

Vieira ve ark. [65], petrokimyasal kirleticilerden benzopiren, anthrasin ve benzine maruz kalan *Pomatoschistus microps* karaciğerinde CAT ve SOD enzim aktivitesinin artığını bildirmişlerdir.

Ali ve ark. [66], çevresel kirletici olarak termik santrallerin bacalarından çıkan uçucu kllere maruz bıraktıkları *Channa punctatus*'un karaciğer ve solungaç dokularında; CAT enzim aktivitesinin ve MDA konsantrasyonunun artığını bildirmişlerdir.

Kentsel, endüstriyel ve zirai atıkların doğrudan karıştığı kirli sulara maruz kalmış *Mugil cephalus* ve *Platichthys flesus*'un karaciğer dokularında MDA konsantrasyonlarının artığı Ferreira ve ark. [67] tarafından bildirilmiştir.

Kâğıt fabrikası atık suları ile yapılan çalışmada, *C. punctatus*'un karaciğer MDA düzeyinin sabit kaldığı; böbrek ve solungaçlarda MDA da artışlar meydana geldiği, CAT enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak karaciğerde artarken böbrek ve solungaçta azaldığı bildirilmiştir [68]. Oakes ve ark. [69], *Catostomus catostomus* türü kullanarak yaptıkları çalışmada kâğıt, kâğıt hamuru ve yerel tesislerden gelen atık sulara maruz kalmış balıklarda karaciğerde lipit peroksidasyonu miktarında artışlar olduğunu bildirmişlerdir.

SOD, CAT ve MDA ağır metal toksisitesi ve pestisit toksisitesi çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bhattacharya ve ark. [70], ağır metallere maruz bırakılan *Clarias batrachus*'un karaciğer SOD enzim aktivitesinin arttığını, CAT enzim aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada karaciğerde lipit peroksidasyonunun arttığı bildirilmiştir.

Berntssen ve ark. [71], metil cıva ve inorganik cıvaya maruz bırakılan *Salmo salar* karaciğerinde SOD enzim aktivitesi ve lipit peroksidasyonunun arttığını bildirmişlerdir.

Vega-Lopez ve ark. [72], poliklorobifenile maruz bırakılan *Girardinichtys viviparus*'un karaciğerinde SOD enzim aktivitesinin azaldığını, CAT enzim aktivitesinin ve lipit peroksidasyonunun arttığını bulmuşlardır.

Potasyum dikromata maruz bırakılan havuz balıklarında karaciğer SOD ve CAT enzim aktivitelerinin azaldığı Lushchak ve ark. [73], tarafından rapor edilmiştir.

Endosulfona maruz bırakılan *C. punctatus*'un karaciğer ve solungaç dokularında CAT enzim aktivitelerinin azaldığı, MDA konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir [74].

Sayeed ve ark. [75], tarafından yapılan çalışmada deltamethrine maruz bırakılan *C. punctatus*'un karaciğer ve solungaç dokularında CAT enzim aktivitelerinin azaldığı, MDA miktarının arttığı bildirilmiştir.

Zhang ve ark. [76], *C. auratus* ile yaptıkları çalışmada, 2,4-diklorofenol maruziyeti sonucunda karaciğerde CAT enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada karaciğerde SOD enzim aktivitesinin 2,4-diklorofenol konsantrasyonu artışına bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir.

Matos ve ark. [77], karbarile maruz bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda CAT ve SOD enzim aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir.

O. niloticus ile yapılan diğerk bir çalışmada, diazonin maruziyetinde solungaç dokusunda SOD enzim aktivitesinde değişimler olduğu; ancak CAT enzim aktivitesi ve MDA konsantrasyonunda anlamlı bir değişim olmadığı Durmaz ve ark. [78], tarafından bildirilmiştir.

Song ve ark. [79], tarafından *C. carpio* ile yapılan çalıřmada, heksaklorobenzen maruziyeti sonucunda karaciėerde dūřuk dozlarda SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir deėiřim olmadıėı, yūksk dozlarda ise SOD enzim aktivitesinin azaldıėı bildirilmiřtir.

Sun ve ark. [80], *C. auratus* ile yaptıkları çalıřmada, fenanthren maruziyeti ile karaciėerde SOD enzim aktivitesinin sūreye baėlı olarak artıėını bildirmiřlerdir. Aynı çalıřmada karaciėerde CAT enzim aktivitesinin kısa sūreli maruziyetlerde azaldıėı; ancak uzun sūreli maruziyetlerde artıėı bildirilmiřtir.

Peixoto ve ark. [81], oksiflorfen maruziyeti sonucunda *O. niloticus*'ta karaciğer CAT enzim aktivitesinin artığını, SOD enzim aktivitesinin ise sūreye bağlı olarak azaldığını bildirmişlerdir.

Ahmad ve ark. [82], su ekosistemlerine atık sularla taşınan ve ulaştıkları yerdeki canlılarda toksik etkisi bilinen polisiklik aromatik hidrokarbonlardan β-naftoflavon ve ağır metallerden krom kombinasyonuyla yaptıkları çalışmada, bu kirleticilere maruz kalan *Anguilla anguilla*'da solungaç ve bōbrek dokularında LPO'da artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada kroma maruz kalmış balıkların solungaç ve bōbrek dokularında CAT aktivitesinde dūřūřler olduğu bildirilmiştir.

Ferrari ve ark. [83], karbarilin pestisitinin *Oncorhynchus mykiss*'in karaciėer dokularında CAT enzim aktivitesini artırdıėını; buna karřılık azinfosmetilin pestisitinin CAT enzim aktivitesini dūřūrdūėünü bildirmiřlerdir.

Tekstil endüstrisi Türkiye'nin en çok üretim yapan sanayi kolu olup; ihracat sektöründe önemli bir yere sahiptir. Türkiye % 3,5'lik üretimi ile dünya tekstil üretiminde ilk altı içinde yer almaktadır, Çin'in ardından Avrupa Birliğine tekstil ürünleri ihraç eden ikinci büyük ülkedir [84]. Tekstil endüstrisi atıkları; tekstil ürünleri hammaddelerinin elde edilışinden, ürünün son haline kadar geçen süreçte kullanılan kimyasal maddeler nedeniyle oldukça kompleks bir yapıya sahiptir. Tekstil atık suyunun yapısında boyalarla birlikte çok farklı organik ve inorganik maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler çevre ve insan sağlığı için zararlı olabilmektedir [85]. Tekstil atık suyunun genotoksik etkilerinin yaygın şekilde çalışılmasına rağmen, oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Sucul ortamlara geçen çok miktarda çevresel kirleticinin ROT oluşturarak oksidatif hasara yol açtığı bilinmektedir [86]. Bundan dolayı sucul canlılar, memelileri de içeren karasal canlılara göre çevresel faktörlerin etkisiyle oluşan ROT maruziyetlerine ve toksisiteye daha duyarlıdırlar [87]. Toksikolojide oksidatif stresin hücrenel bileşenlere nasıl zarar verdiği, hücrenel yanıtların nasıl olduğunun, oluşan hasarların nasıl düzeltildiğinin ve oksidatif stresin hastalıklara nasıl yol açtığı araştırılmasında sucul organizmaların kullanılması önem kazanmıştır [88, 89]. Bu nedenle çalışmada tekstil atık suyunun toksik etkisini ölçmek için test materyali olarak balık kullanılmıştır. Atık suyun letal olmayan üç farklı dozu 15, 30 ve 45 gün boyunca balıklara uygulanmış, maruziyet sonrası karaciğer ve solungaç CAT, SOD ve MDA değışimleri incelenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

Çalışmada test materyali olarak Nil tilapyası olarak da bilinen *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) kullanılmıştır. *O. niloticus* nehir, göl ve sulama kanalları gibi tatlı su habitatlarında yaşayan tropikal bir türdür. Sıcaklık ve pH toleransı geniştir, omnivor olarak beslenir [90]. Bu tür, ekonomik öneme sahip olması, yaygın olarak yetiştiriciliğinin yapılması, kolay temin edilebilmesi [91] nedeniyle tercih edilmiştir.

Çalışmada $45,2 \pm 2,54$ g ağırlığında ve 13 ± 2 cm boyundaki balıklar kullanılmıştır. *O. niloticus* örnekleri Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak, laboratuvarımızda dinlendirilmiş musluk suyu içeren 100 L'lik cam stok akvaryumlarda bir ay süreyle laboratuvar koşullarına adapte edilmişlerdir. Balıklar deneme süresince günde bir kez aynı saatlerde toplam ağırlığın % 3'ü kadar hazır balık yemiyle (Pınar Yem, Türkiye) beslenmiştir.

3.2. KULLANILAN KİMYASALLAR VE TEÇHİZATLAR

3.2.1. Kimyasallar

3-siklo heksilamino-1 propan sülfonoik asit		Sigma
Asetik Asit	CH ₃ COOH	Merck
Bakır Sülfat	CuSO ₄ .5H ₂ O	Fluka
di-Sodyum Hidrojen Fosfat	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Merck
Etilendiamin Tetraasetik Asit	EDTA	Sigma
Folin-Ciocalteu Fenol Ayracı		Merck
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Merck
Ksantin		Sigma
Ksantin Oksidaz		Sigma
n-Butanol		Merck

Sodyum Dihidrojen Fosfat	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Merck
Sodyum Dodesil Sülfat	SDS	Merck
Sodyum Hidroksid	NaOH	Merck
Sodyum Karbonat	Na ₂ CO ₃	Merck
Sodyum Potasyum Tartarat		Merck
Piridin		Merck
p-iyodonitrotetrazolium		Sigma
Tiyobarbitürik Asit	TBA	Sigma

3.2.2. Teçhizatlar

Analitik Terazî	Kern ALJ 220-4
Benmari	Nahita
Buz Makinesi	Uğur – buzal 60
Distile Su Cihazı	GFL
Homojenizatör	Heidoph DIAX900
Otomatik Pipetler	Biohit/Gilson
pH Metre	WTW inoLab pH Level 1
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Universal 32 R
Santrifüj	Nüve NF 815
Kaba Terazî	SCALTEC
Ultra Derin Dondurucu	Nunre
UV-Visible Spektrofotometre	Perkin Emler Lambda EZ210
Vorteks	Velp Scientifica

3.3. DENEY PLANI

Kumaş boyama ünitesinden çıkan ve boyar madde içeren atık sular dengeleme havuzuna alındıktan sonra aerobik arıtım ünitesine alınmaktadır. Aerobik arıtım ünitesinde savaklardan süzölen arıtılmış atık su çöktürme ünitesine gönderilmekte ve ardından alıcı ortama deşarj edilmektedir. Çalışmada kullanılan

atık su numunesi arıtılmış atık suyun deşarjından hemen önce alınmıştır. Atık suyun kimyasal analizleri Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümün'de yaptırılmıştır. Analizde su kirliliği çalışmalarında ölçülmesi gereken parametrelerden pH, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ), fenol, sülfat ve çinko değerleri ölçülmüştür.

Çalışmada kullanılacak atık su konsantrasyonlarının belirlenmesi için, ortam % 50 konsantrasyonda atık su içerecek şekilde hazırlanmış ancak kullanılan bu konsantrasyon balıkların ölümüne neden olmuştur. Çalışmada uzun süreli maruziyet planlandığı (15, 30 ve 45 gün) ve % 50 konsantrasyonda hazırlanan ortamda balıkların ölmesinden dolayı letal olmayan daha düşük dozların (% 0,1, % 1 ve % 10) kullanılmasına karar verilmiştir.

Denemeler 20 L dinlendirilmiş musluk suyu ile doldurulmuş 4 cam akvaryumda yürütülmüştür. Her bir akvaryumda 21 balık olacak şekilde balıklar adaptasyona bırakılmıştır. Deney balıkları; tekstil atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk üç farklı konsantrasyonunda 15, 30 ve 45 gün süreyle yaşatılmıştır. Tekstil atık suyu içeren akvaryumlardaki su, doz etkinliğinin sağlanması amacıyla 24 saatlik aralıklarla balıklar aktarılarak yenilenmiştir.

Deney grupları;

1. Akvaryum: Kontrol
2. Akvaryum: % 0,1 tekstil atık suyu (Doz 1)
3. Akvaryum: % 1 tekstil atık suyu (Doz 2)
4. Akvaryum: % 10 tekstil atık suyu (Doz 3) olarak düzenlenmiştir.

Her süre sonunda her doz grubundan 7 balık akvaryumlardan çıkarılıp ağırlıkları tartılarak dekapitasyon uygulanmıştır. Karaciğer ve solungaç dokuları disekte edilerek, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra tartılmış ve analizlere kadar -70 °C'de saklanmıştır.

Analiz öncesi dokular 0,05 M Na-P tamponu ile pH 7,4 ayarlanmış 0,25 M sükröz ile 1/10 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde Heidolph DIAX900 homojenizatör ile 10000 rpm'de 3 dakika homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C'de 10000 rpm'de 30 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant, süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) ve protein miktarlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.4. ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.4.1. Süperoksid Dismutaz (SOD) Yöntemi

SOD, $O_2^{\bullet-}$ radikalinin su ve moleküler oksijene dismutasyonunu kataliz eder. Ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikalleri 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-(feniltetrazolium klorid) ile kırmızı renkli formazon boyası oluşturur. Eğer ortamda SOD varsa süperoksit radikalleri ortamdaki uzaklaştırıldığı için formazon oluşumu inhibe olur. SOD enzim aktivitesi 505 nm dalga boyunda formazon oluşumunun % inhibisyonu ile ölçülür [92].

Ayırıcılar:

1. 3-siklo heksilamino-1 propan sülfonoik asit (CAPS) tamponu (pH 10.2)
2. Sub strat karışımı
3. Günlük substrat karışımı
4. Ksantin oksidaz (80 U/L)
5. 0.01 M Fosfat tamponu (pH 7)

Standart Grafiğin Hazırlanması:

Liyofilize olarak hazırlanmış, SOD standartı (S6), 10 mL bidistile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak diğer SOD derişimleri fosfat tamponu ile aşağıdaki şekilde hazırlanır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. SOD standart grafiği çizmek için stok standartdan elde edilen derişimler.

Tüp no	Kullanılan standart	0,01 M fosfat tamponu	SOD derişimi (U/mL)
S5	S6 5 mL	5 mL	2,8
S4	S5 5 mL	5 mL	1,4
S3	S4 5 mL	5 mL	0,7
S2	S3 3 mL	6 mL	0,23

Çizelge 3.1’de belirtildiği şekilde hazırlanan standartlar kullanılarak ayraçlarla beraber tüplere aşağıdaki şekilde eklenir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. SOD standart eğri grafiğinin hazırlanması.

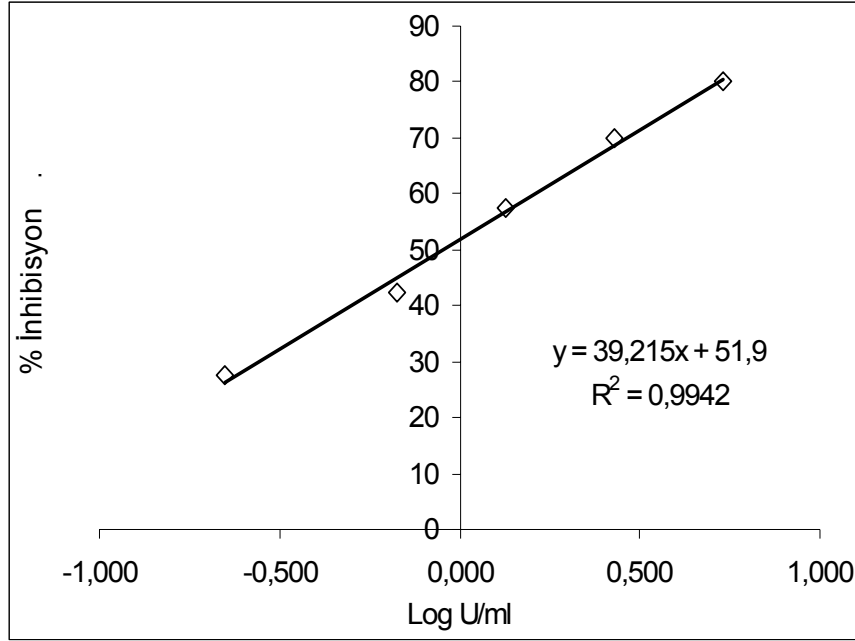
Çözeltiler	Kör	Standart
Standart	–	25 µL
Fosfat tamponu	25 µL	–
Substrat karışımı	850 µL	850 µL
İyice karıştırılır		
Ksantin oksidaz	125 µL	125 µL

Tekrar karıştırıldıktan 30 sn sonra 37 °C’de 505 nm dalga boyunda başlangıç absorbansı 0. dak okunur (A1), 3. dakika sonra son absorbans okunur (A2). Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri % 100 olarak alınır. Tüm standartlar için % de inhibisyon değeri bunlara ait değerlerin çalışma körü ile oranlanarak 100’den çıkarılması ile bulunur.

$$\Delta A/\text{dak}_{\text{standart}} = A2-A1/ 3 \text{ dak}$$

$$\% \text{ inhibisyon}_{\text{standart}} = 100 - (\Delta A/\text{dak}_{\text{standart}} \times 100/ \Delta A/\text{dak}_{\text{çalışma körü}})$$

Hesaplama yapıldıktan sonra yatay eksene SOD değerlerinin logaritmik dönüşüm değeri, dikey eksene standartlara ait % de inhibisyon değerleri yazılarak standart eğri grafiği elde edilir (ekil 3.1).



Şekil 3.1. SOD Standart Eğrisi.

Yöntem:

SOD aktivitesini ölçmek için çözeltiler kr ve örnek olmak üzere farklı küvetlere aşağıdaki şekilde eklenir (izelge 3.3).

Çizelge 3.3. Süperoksit dismutaz yöntemi.

Çözeltiler	Kr	rnek
rnek	–	25 µL
Fosfat tamponu	25 µL	–
Substrat karışımı	850 µL	850 µL
İyice karıştırılır		
Ksantin oksidaz	125 µL	125 µL

Ksantin oksidaz eklendikten sonra tekrar karıştırılır. 37 °C’de 30 saniye sonra 505 nm dalga boyunda 0. ve 3. dakikaların absorbansları kaydedilir. Örnekler ait % de inhibisyon değeri aşağıdaki şekilde hesaplanır.

$$\Delta A/\text{dak}_{\text{örnek}} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dak}$$

$$\% \text{ inhibisyon}_{\text{örnek}} = 100 - (\Delta A/\text{dak}_{\text{standart}} \times 100 / \Delta A/\text{dak}_{\text{çalışma körü}})$$

Örnekler ait % de inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri standart eğriden bulunur. Örnekler ait protein değerine bölünerek spesifik aktivite hesaplanır.

3.4.2. Katalaz (CAT) Yöntemi

CAT enzimi H₂O₂’in H₂O ve O₂’e dönüşümünü kataliz eder. CAT enzim aktivitesi H₂O₂’in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür [93].

Ayırıklar:

1. 50 Mm Fosfat tamponu (pH 7.0)
2. H₂O₂ (30mM): Stoktan %3’lük H₂O₂.

Yöntem:

240 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede küvete saf su katılır ve absorbans sıfırlanır, daha sonra tamponun absorbansı okunur. % 3’lük stok H₂O₂ ile hazırlanmış olan % 30’luk H₂O₂ ile tamponun optik dansitesi 0.5’e ayarlanır. Optik dansite 0.5 olduktan sonra spektrofotometre küvetine 3 ml tampon konur, 10 µl örnek eklenir, 0. ve 2. dakikadaki absorbanslar okunur, protein miktarı ölçülerek CAT spesifik aktivitesi hesaplanır.

3.4.3. Malondialdehit (MDA) Yöntemi

Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonun sekonder bir ürünü olup, lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. MDA tiyobarbitürik asit (TBA) ile aerobik koşullarda pH 3,5'te ve 95 °C'de reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur ve bu kompleksin spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülmesiyle MDA ölçümü yapılır [94].

Ayırıcılar:

1. % 8,1'lik SDS
2. % 20'lik Asetik asit (HAc) (pH 3.5)
3. % 0,8'lik TBA (pH 3.5)
4. n-Butanol-Piridin: 14/1 oranında hazırlanır.

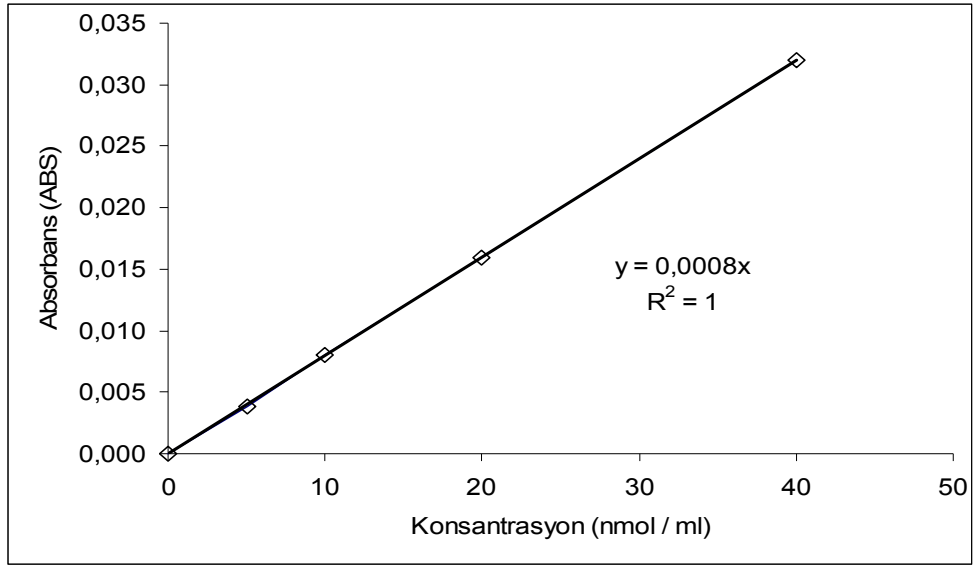
Standart Grafiğin Hazırlanması:

Günlük standart; 400 nmol/mL'lik günlük standarttan hazırlanan 10, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/mL'lik çalışma standartları standart eğri çizimi için kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere aşağıdaki şekilde eklenir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Malondialdehit Standart Grafiğinin Hazırlanması.

Çözeltiler	Kör	Standart (nmol)					
Derişim		10	20	40	60	80	100
Standart(μ L)	-	50	50	50	50	50	50
SDS (μ L)	100	100	100	100	100	100	100
Hac (μ L)	750	750	750	750	750	750	750
TBA (μ L)	750	750	750	750	750	750	750
Saf su (μ L)	400	350	350	350	350	350	350
95 °C de 30 dakika inkübe edilir							
Saf su (μ L)	500	500	500	500	500	500	500
nBut/ piridin (mL)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

Çözeltilerin eklenmesi bitikten sonra vorteks edilir. 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir. Üsteki organik kısım alınır ve 532 nm dalga boyunda absorbanslar okunur. Standart eğri grafiğı çizilir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Malondialdehit Standart Eğrisi.

Yöntem:

MDA miktarını ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere aşağıdaki şekilde eklenir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Malondialdehid Yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Örnek
Örnek	–	50 µL
SDS	100 µL	100 µL
Hac	750 µL	750 µL
TBA	750 µL	750 µL
Saf su	400 µL	350 µL
95°C’de 30 dakika inkübe edilir.		
Saf su	500 µL	500 µL
n-Butanol/Pridin	2.5 mL	2.5 mL

Çözeltilerin eklenmesi bitikten sonra vorteks edilir. 4000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilir. Üsteki organik kısım alınır ve 532 nm dalga boyundaki absorbanslar

kaydedilir. Ölçülen absorbansa karşılık gelen MDA konsantrasyonu standart eğriden bulunur.

3.4.4. Protein Miktarının Ölçülmesi

Doku protein miktarları; MDA değerleri, CAT ve SOD spesifik enzim aktivitelerini hesaplamak amacıyla ölçülmüştür.

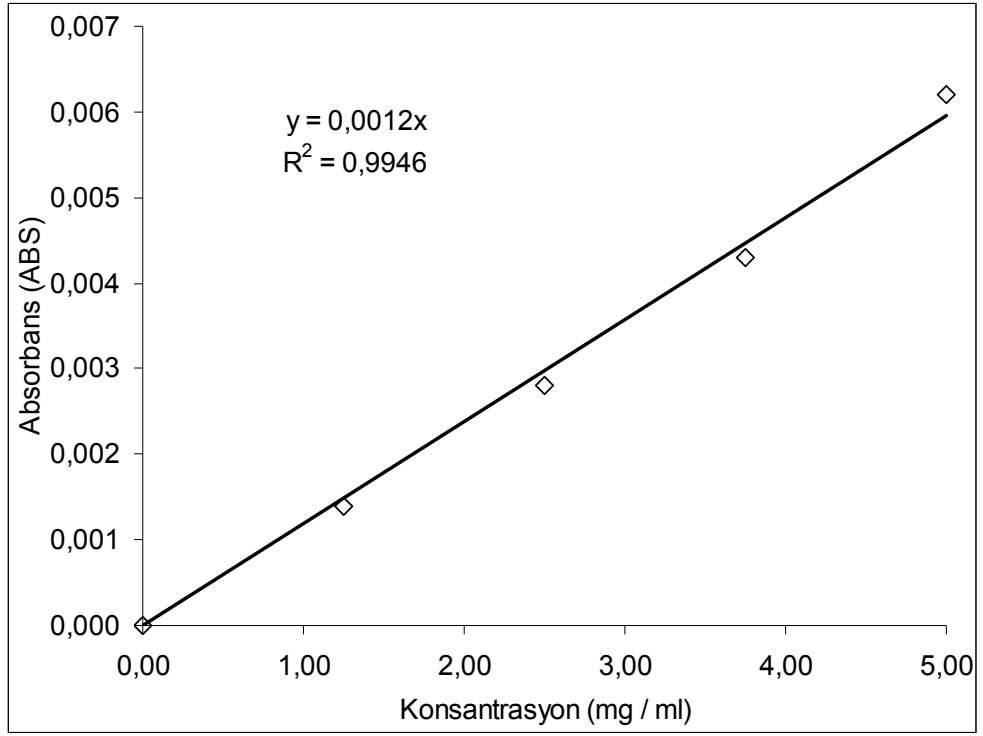
Proteinlerin çoğu tirozin, triptofan veya her iki amino asidi de içerirler. Bu amino asitler serbest veya katlanmamış bir polipeptid zincirinde mavi renk oluşturmak üzere fosfotungstik asit-molibdik ayıracını (Folin-Ciocalteu ayıracı) indirgerler. Bu yöntemde proteinler bakır-peptid bağı komplekslerini oluşturmak üzere alkali çözeltilerde Cu^{+2} ile reaksiyona girerler. Ortama Folin-Ciocalteu ayıracı eklendiğinde indirgenme süreci içerisinde bakır-protein kompleksleri ile tirozin, triptofan rezidüleri birleşirler. Renklendirilmiş çözeltinin absorbansı 750 nm dalga boyunda ölçülür [95].

Ayıraçlar:

1. Ayıraç A: NaOH içinde çözülmüş % 2'lik Na_2CO_3
2. Ayıraç B₂: % 1'lik $CuSO_4.5H_2O$
3. Ayıraç B: % 2'lik Na-K Tartarat
4. Ayıraç C: 50ml Ayıraç A + 0.5 ml Ayıraç B₂ + 0.5 ml Ayıraç B karışımı
5. Folin-Ciocalteu: 1/1.5 oranında sulandırılarak hazırlanır.

Standart Grafiğin Hazırlanması:

Sığır serum albumini kullanılarak 1000 $\mu g/mL$ 'lik stok protein çözeltisi hazırlanır. Çalışma için bu çözelti 100, 200, 300, 400, 500 $\mu g/mL$ derişimlerde seyreltilir. 750 nm dalga boyunda bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri okunarak standart eğri çizilir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Protein Standart Eğrisi.

Yöntem:

Örneklerin protein miktarını belirlemek amacıyla çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere aşağıdaki şekilde eklenir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. Protein yöntemi.

Çözeltiler	Kör	Örnek
Saf su	300 µL	–
Örnek	–	300 µL
Ayıraç C	3.0 mL	3.0 mL
Tüpler karıştırılır, 15 dakika oda sıcaklığında bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	300 µL	300 µL

Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm dalga boyunda köre karşı okunan absorbanlar kaydedilir. Ölçülen absorbansa karşılık gelen protein konsantrasyonu standart eğriden bulunur.

3.4.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilere göre doz ve sürenin etkisini belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Varyans analizinde grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda LSD (Least Significant Difference) testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

Çalışmada kullanılan tekstil atık suyunun analiz sonuçları ve su kirliliği kontrol yönetmeliği değerleri karşılaştırılmalı olarak Çizelge 4.1’de verilmiştir. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında kullanılan tekstil atık suyu değerlerinin yönetmeliklerde belirtilen limit değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1. Tekstil fabrikası arıtma çıkış suyu analiz değerleri.

Ölçülen Parametreler	Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği Değerleri	Kullanılan Atık Suyun Analiz Değerleri
pH	6-9	6,4
BOİ- mg/L	80	203,63
KOİ- mg/L	300	1024
Fenol- mg/L	0,5	1,80
Sülfat- mg/L	0,1	64
Çinko- mg/L	10	186

Çalışmada tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10’luk üç farklı konsantrasyonu kullanılmış, balıklar atık suya 15, 30 ve 45 gün boyunca maruz bırakılmıştır. *O.niloticus*’da karaciğer ve solungaç dokularında antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktiviteleri ile lipit peroksidasyonu göstergesi olarak malondialdehit (MDA) konsantrasyonu ölçülmüştür.

Elde edilen verilerin istatistik değerlendirmeleri yapılmış bulgular çizelge ve grafikler halinde düzenlenmiştir. Çizelgelerde doz gruplarının, kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel önem “*” simgesi ile ifade edilmiştir. Doz grupları etkileri açısından kendi aralarında değerlendirilmiş ve istatistiksel önemi belirtmek

için harfler kullanılmıştır. Aynı harf doz grupları arasında istatistiksel olarak farkın olmadığını, farklı harfler dozlar arası istatistiksel farkın olduğunu ifade etmektedir.

4.1.1. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk konsantrasyonlarına 15, 30 ve 45 gün boyunca maruz kalan *O. niloticus* karaciğerinde SOD enzim aktivitesi değişimi Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer SOD enzim aktivitesi (U/mg prot) üzerine etkisi (ort ± SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		%0,1	%1	%10
15 gün	0,17±0,01	^c 0,24±0,04	^b 0,39±0,02***	^a 0,58±0,05***
30 gün	0,16±0,02	^c 0,31±0,02	^b 0,57±0,1***	^a 0,67±0,02***
45 gün	0,21±0,02	^b 0,19±0,02	^b 0,32±0,04	^a 0,73±0,09***

* p<0,05; ** p< 0,01; *** p<0,001

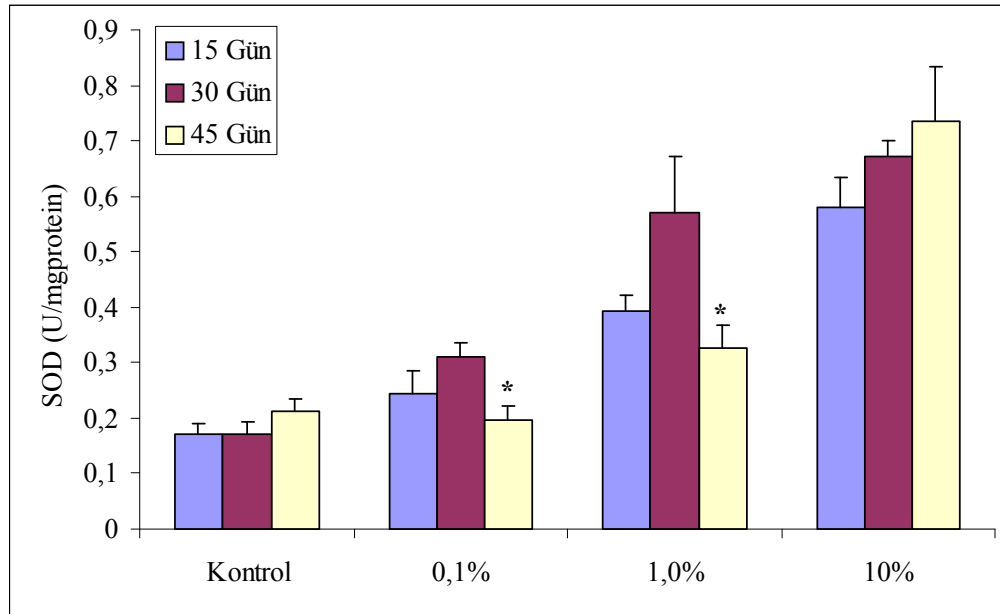
15 günlük tekstil atık suyu uygulama sonrası % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz gruplarında SOD enzim aktivitesi kontrole göre artmış, % 1 ve % 10'luk doz gruplarındaki artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). 15 günlük uygulama sonrası dozların etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). Karaciğer SOD enzim aktivitesi 15 günlük uygulamada doz artışına bağlı olarak artmıştır.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 30 günlük uygulama sonrasında % 1 ve % 10'luk dozlarda artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). 30 günlük

uygulamada SOD enzim aktivitesi üzerine dozların etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1'lik doz grubu, % 1'lik doz ve % 10'luk doz grupları ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Karaciğer SOD enzim aktivitesi 30 günlük uygulama sonrası da doz artışına bağlı olarak artmış, en fazla artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir.

SOD enzim aktivitesi doz gruplarında 45 günlük uygulama sonrasında kontrole göre artmış, istatistiksel olarak önemli artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir ($p<0,001$). 45 günlük uygulama sonrası dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında; SOD enzim aktivitesi % 10'luk doz grubunda, % 0,1'lik ve % 1'lik dozlara göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p<0,001$). % 0,1'lik ve % 1'lik dozlar arasında ise fark önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol ve doz gruplarında karaciğerde SOD enzim aktivitesi değişimi süreye bağlı olarak değerlendirilmiş elde edilen veriler Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Dozların karaciğer SOD enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.
* $p<0,05$

Kontrol grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonundaki SOD enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında, SOD enzim aktivitesinde az miktarda değişimlerin

olduğu ve bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$). Kontrol grubunda 15. gün değeri $0,17 \pm 0,01$, 30 gün değeri $0,16 \pm 0,02$ ve 45. gün değeri $0,21 \pm 0,02$ olarak ölçülmüştür.

% 0,1'lik doz grubunda 15 günlük uygulama sonrası SOD aktivitesi $0,24 \pm 0,04$ olarak ölçülmüştür. 30 günlük uygulama sonrası aktivite $0,31 \pm 0,02$ ye yükselmiş, 45. günde ise $0,19 \pm 0,02$ değerine düşmüştür. 15. gün ile 30. gün ve 45 günler arası fark istatistiksel olarak önemli değil ($p > 0,05$), 30 gün ve 45. günler arası istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). SOD aktivitesi bakımından bu doz grubunda en yüksek değer 30. günde, en düşük değer 45. günde ölçülmüştür.

Karaciğer SOD enzim aktivitesi % 1'lik doz grubunda da günlere bağlı olarak değişmiştir. 15. günde $0,39 \pm 0,02$ olan SOD aktivitesi 30. günde $0,57 \pm 0,1$ 'e yükselmiş, 45. günde ise $0,32 \pm 0,04$ 'e düşmüştür. 30.gün ile karşılaştırıldığında, 45. günde azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

% 10'luk doz grubunda SOD enzim aktivitesinde günlere bağlı olarak artış meydana gelmiştir. Karaciğer SOD aktivitesi 15. günde $0,58 \pm 0,05$, 30. günde $0,67 \pm 0,02$ ve 45. günde $0,73 \pm 0,09$ olarak ölçülmüştür. % 10'luk doz grubunda günlere bağlı olarak meydana gelen aktivite artışları istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

4.1.2. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk dozlarına 15, 30 ve 45 gün boyunca maruz kalan *O.niloticus* karaciğerinde CAT enzim aktivitesi değişimi Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4. 3. Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer CAT enzim aktivitesi (U/mL) üzerine etkisi (ort ± SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		%0,1	%1	%10
15 gün	0,35±0,05	^b 0,46±0,04	^b 0,53±0,03**	^a 0,72±0,03***
30 gün	0,40±0,05	^a 0,62±0,03***	^a 0,71±0,04***	^a 0,70±0,01***
45 gün	0,19±0,02	^b 0,28±0,02*	^b 0,32±0,03**	^a 0,40±0,02***

* p<0,05; ** p< 0,01; *** p<0,001

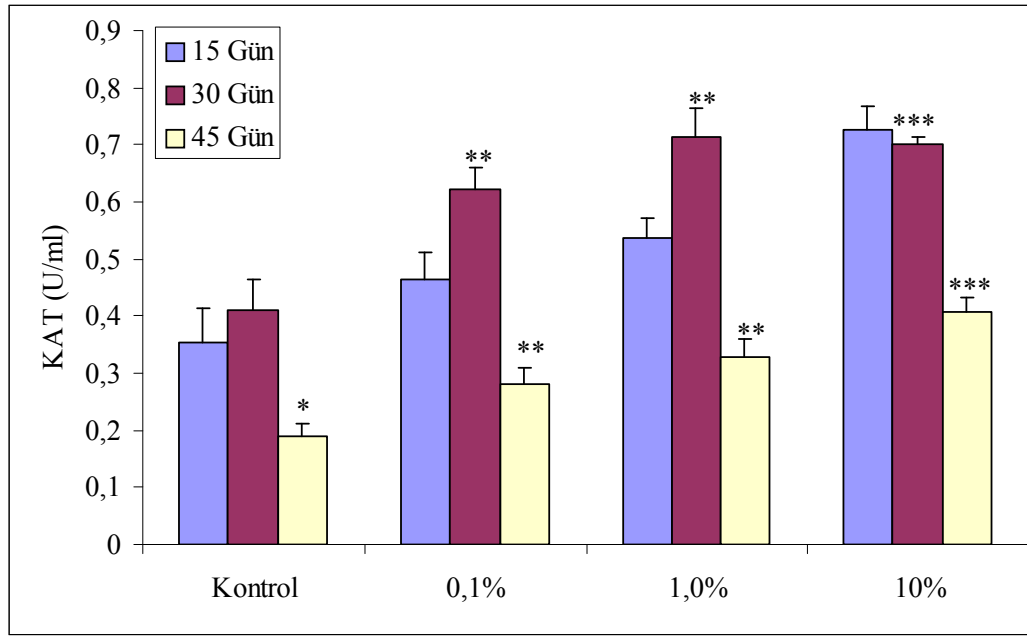
15 günlük tekstil atık suyu uygulama sonrası, % 1 ve % 10'luk doz gruplarında CAT enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak önemli şekilde artmıştır (p<0,01; p<0,001). 15 günlük uygulamada dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasında CAT enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak önemli değilken (p>0,05), % 0,1'lik doz ile % 10'luk doz arasında ve % 1'lik doz ile % 10'luk doz arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,01). CAT enzim aktivitesi 15 günlük uygulamada en yüksek % 10'luk doz grubunda bulunmuştur.

30 günlük uygulama sonrasında dozların etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % 0,1, % 1 ve % 10'luk üç doz grubunda da CAT enzim aktivitesi kontrole göre artmıştır (p<0,001). 30 günlük uygulamada dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında; en fazla artış % 1'lik dozda meydana gelmiştir ve dozlar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05).

CAT enzim aktivitesi 45 günlük uygulama sonrasında % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz gruplarında kontrole göre artmıştır (p<0,05; p< 0,01; p<0,001). Doz gruplarını kendi aralarında karşılaştırdığımızda; % 0,1 ve % 1'lik dozlar arasında fark istatistiksel olarak önemsizken (p>0,05), % 0,1'lik ve % 10'luk dozlar arası

($p<0,01$); % 1'lik ve % 10'luk dozlar arası fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). 45 günlük uygulamada en yüksek artış % 10 luk doz grubunda meydana gelmiştir.

Kontrol ve doz gruplarında meydana gelen CAT enzim aktivitesi değişimi günlere bağlı olarak değerlendirilmiş elde edilen veriler Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Dozların karaciğer CAT enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$

Kontrol grubunda 15. günde $0,35\pm0,05$ olan CAT enzim aktivitesi değeri 30. günde $0,40\pm0,05$ 'e yükselirken 45. günde $0,19\pm0,02$ 'e düşmüştür.

% 0,1'lik doz grubunda CAT enzim aktivitesi 15. günde $0,46\pm0,04$ olarak belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesi 30. günde 15. güne göre önemli şekilde artmış $0,62\pm0,03$ ($p<0,01$); ancak 45. günde 15. güne ve 30. güne göre önemli şekilde azalmıştır $0,28\pm0,02$ ($p<0,01$).

CAT enzim aktivitesi % 1'lik doz grubunda 15. günde $0,53\pm0,03$, 30. günde $0,71\pm0,04$ ve 45. günde $0,32\pm0,03$ olarak ölçülmüştür. % 1'lik doz grubunda en yüksek aktivite 30 günlük uygulamada, en düşük aktivite 45 günlük uygulama

sonrası belirlenmiştir. 15. günle karşılaştırıldığında 30. ve 45. günlerdeki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

% 10'luk doz grubunda CAT enzim aktivitesi 15 günlük uygulama sonrası $0,72\pm 0,03$ ölçülmüştür. Daha sonraki günlerde CAT enzim aktivitesi azalmış, 30 günlük uygulama sonrası $0,70\pm 0,01$, 45 günlük uygulama sonrası da $0,40\pm 0,02$ olarak belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesi değişimi bakımından 15. ve 30. günler arası fark istatistiksel olarak önemli değil ($p>0,05$), 15 ve 45 günlük uygulamalar arası fark ise önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Yine 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda meydana gelen aktivite azalması istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). En düşük aktivite 45. günde ölçülmüştür.

4.1.3. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Karaciğerde MDA Konsantrasyonu Üzerine Etkisi

Tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk dozlarına 15, 30 ve 45 gün boyunca maruz kalan *O.niloticus*'da karaciğer MDA konsantrasyonu değişimi ile ilgili elde edilen bulgular Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Tekstil fabrikası atık suyunun karaciğer MDA konsantrasyonu (nmol/mL) üzerine etkisi (ort \pm SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		% 0,1	% 1	% 10
15 gün	$3,76 \pm 0,3$	^b $4,17 \pm 0,3$	^b $5,14 \pm 0,45^*$	^a $6,46 \pm 0,58^{***}$
30 gün	$5,91 \pm 0,47$	^a $7,81 \pm 0,79^*$	^a $8,62 \pm 0,54^{**}$	^a $9,11 \pm 0,6^{***}$
45 gün	$5,21 \pm 0,3$	^a $7,61 \pm 0,52^{**}$	^a $7,51 \pm 0,56^{**}$	^a $8,33 \pm 0,5^{***}$

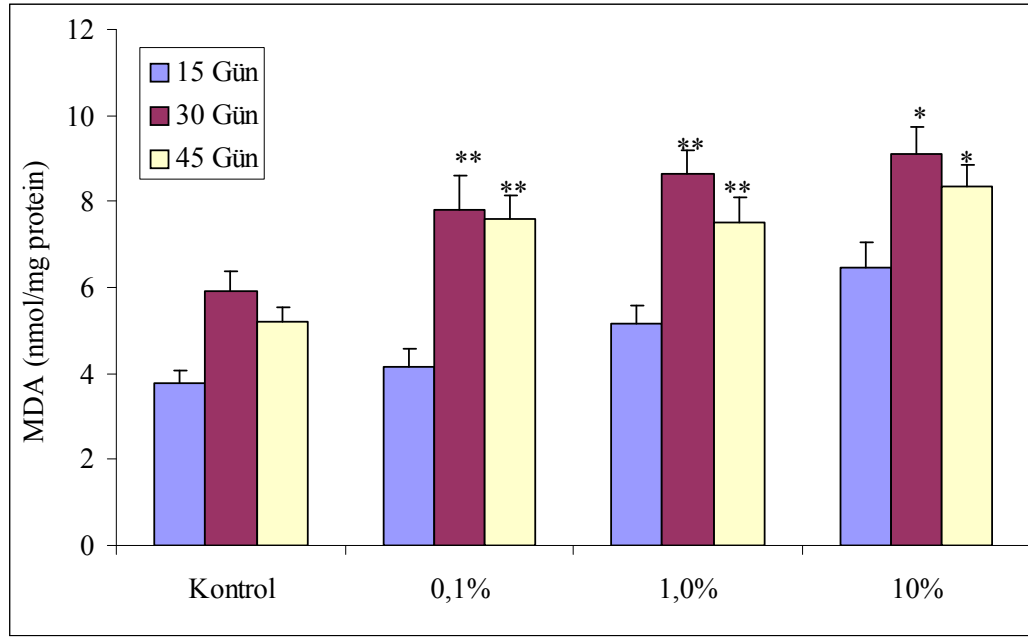
* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$

Bulgulara göre; 15 günlük uygulama sonrasında % 0,1'lik doz grubundaki MDA konsantrasyonu artışı istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). % 1'lik ve % 10'luk doz gruplarında MDA konsantrasyonu artmıştır. Kontrolle karşılaştırıldığında artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$; $p<0,001$). 15 günlük uygulamada dozları kendi aralarında karşılaştırdığımızda en yüksek artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir. % 10'luk doz ile % 0,1 ve % 1'lik dozlar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). % 0,1'lik doz ile % 1'lik dozlar arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

30 günlük uygulama sonrasında % 0,1, %1 ve % 10'luk doz gruplarının hepsinde kontrole göre MDA konsantrasyonu anlamlı şekilde artmıştır. Artışların istatistiksel anlam sınırı % 0,1 doz için $p<0,05$, % 1 doz grubu için $p<0,01$ ve % 10'luk doz grubu için $p<0,001$ olarak belirlenmiştir. 30 günlük uygulamada doz gruplarının etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında dozlar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

45 günlük uygulama sonrasında % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonu istatistiksel olarak önemli şekilde artmıştır ($p<0,01$; $p<0,001$). 45 günlük uygulamada da dozlar arası fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). Karaciğerde MDA üzerine dozların etkisi genel olarak değerlendirildiğinde 15., 30. ve 45. günlerde kontrole göre doz gruplarında farklı düzeylerde artışların olduğu belirlenmiştir.

Karaciğerde MDA konsantrasyonu bakımından kontrol ve doz gruplarında meydana gelen değişimler süreye bağlı olarak değerlendirilmiş elde edilen veriler Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Dozların karaciğer MDA konsantrasyonu üzerine süreye bağlı etkisi.
* p<0,05; ** p< 0,01; *** p<0,001

Kontrol grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda karaciğer MDA konsantrasyonunda değişimler olmuştur; ancak bu değişimler istatistiksel olarak önemli değildir. MDA konsantrasyonu % 0,1'lik doz grubunda 15. günde $4,17 \pm 0,3$ iken 30. günde $7,81 \pm 0,79$ ve 45. günde $7,61 \pm 0,52$ olarak belirlenmiştir. Artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). % 0,1'lik doz grubunda MDA konsantrasyonundaki en fazla artış 30. günde meydana gelmiştir.

% 1'lik doz grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda karaciğer MDA konsantrasyonunda artışlar olmuştur. 15. günde $5,14 \pm 0,45$ olan MDA konsantrasyonu 30. günde $8,62 \pm 0,54$ ve 45. günde $7,51 \pm 0,56$ olarak belirlenmiştir. 15. güne göre 30. ve 45. günlerde meydana gelen MDA artışları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). MDA konsantrasyonunda en yüksek değer 30 günlük uygulamada ölçülmüştür.

% 10'lük doz grubunda 15. günde $6,46 \pm 0,58$ olan MDA konsantrasyonu 30. günde $9,11 \pm 0,6$ ve 45. günde $8,33 \pm 0,5$ olarak ölçülmüştür. 15. günle karşılaştırıldığında 30. ve 45. günlerde meydana gelen MDA konsantrasyonu artışı

istatistiksel olarak önemli bulunmuş, en yüksek MDA artışı 30. günde meydana gelmiştir ($p<0,05$).

4.1.4. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaçta SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

15, 30 ve 45 gün boyunca tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk konsantrasyonlarına maruz kalan balıklarda solungaç SOD enzim aktivitesi ölçülmüş elde edilen değerler Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç SOD enzim aktivitesi (U/mg prot) üzerine etkisi (ort \pm SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		% 0,1	% 1	% 10
15 gün	0,23 \pm 0,03	^b 0,33 \pm 0,09	^{ab} 0,56 \pm 0,12*	^a 0,68 \pm 0,15**
30 gün	0,17 \pm 0,06	^b 0,25 \pm 0,11	^b 0,22 \pm 0,03	^a 0,61 \pm 0,13**
45 gün	0,15 \pm 0,03	^b 0,23 \pm 0,01	^b 0,27 \pm 0,02*	^a 0,60 \pm 0,04***

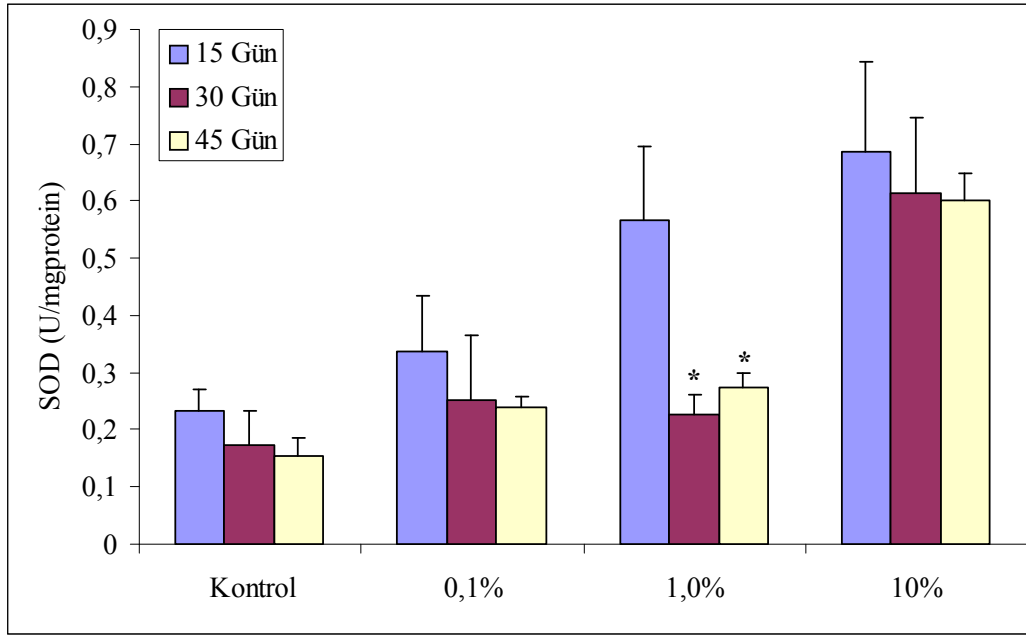
* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$

Tekstil atık suyunun 15 günlük uygulama sonrasında doz gruplarında SOD aktivitesi artmıştır. Dozları kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda; % 0,1 doz ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark yok ($p>0,05$), %1 ve %10'luk doz grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark vardır ($p<0,05$; $p<0,01$). 15 günlük uygulamada doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, % 1'lik doz ile % 0,1 ve % 10'luk dozlar arasında istatistiksel fark yok; % 0,1 ve doz % 10'luk dozlar arası istatistiksel fark vardır ($p<0,05$).

30 günlük uygulama sonrasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % 0,1'lik ve % 1'lik doz gruplarında SOD enzim aktivitesi artışı istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). % 10'luk doz grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise SOD enzim aktivitesi istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p<0,01$). 30 günlük uygulamada dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasında SOD enzim aktivitesi bakımından fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). 30 günlük uygulamada en yüksek aktivite % 10'luk doz grubunda ölçülmüştür. Diğer dozlarla (% 0,1'lik doz ve % 1) karşılaştırıldığında bu dozdaki artış istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,01$).

45 günlük uygulama sonrasında SOD enzim aktivitesi bakımından % 0,1'lik doz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında % 1'lik ve % 10'luk doz gruplarındaki artışlar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$; $p<0,001$). 45 günlük uygulamada dozların etkisini kendi aralarında karşılaştırdığımızda; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). % 10'luk doz grubu ile % 0,1'lik ve % 1'lik doz grupları karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$).

Kontrol ve doz gruplarında solungaç SOD enzim aktivitesinin günlere göre dağılımı Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Dozların solungaç SOD enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.

* $p < 0,05$

Bulgulara göre kontrol grubunda 15. günde $0,23 \pm 0,03$ olan SOD aktivitesi 30. gün ve 45. günlerde azalmış değerler sırasıyla $0,17 \pm 0,06$ ve $0,15 \pm 0,03$ olarak ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel analiz sonucu kontrol grubunda günlere bağlı değişimler istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

% 0,1'lik doz grubunda uygulama süresine bağlı olarak SOD aktivitesinde azalma gözlenmektedir. 15. günde SOD aktivitesi $0,33 \pm 0,09$, 30. günde $0,25 \pm 0,11$ ve 45. günde $0,23 \pm 0,01$ olarak ölçülmüştür. Günlere bağlı olarak istatistiksel fark önemli değildir ($p > 0,05$).

% 1'lik doz grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda SOD enzim aktivitesinin değiştiği gözlenmiştir. SOD enzim aktivitesinde en büyük artış 15 günlük uygulamada gerçekleşmiştir ($0,56 \pm 0,12$). 30 günlük uygulamada aktivite $0,22 \pm 0,03$ olarak ölçülürken; 45 günlük uygulamadan sonra $0,27 \pm 0,02$ olarak ölçülmüştür. 30. ve 45. günler arası fark istatistiksel olarak önemli değilken; 15. gün, 30. ve 45. günler ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak önemli

bulunmuştur ($p<0,05$). % 1'lik doz grubunda zaman abağlı olarak SOD aktivitesinin azaldığını söyleyebiliriz.

% 10'luk doz grubunda 15., 30. ve 45. günlerde elde edilen SOD aktivite değerleri sırasıyla $0,68\pm0,15$; $0,61\pm0,13$ ve $0,60\pm0,04$ olarak ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde günler arası fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

4.1.5. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaçta CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk dozlarına 15, 30 ve 45 gün boyunca maruz kalan balıklarda solungaç CAT enzim aktivitesi değişimi Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç CAT enzim aktivitesi (U/mL) üzerine etkisi (ort \pm SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		% 0,1	% 1	% 10
15 gün	$0,11\pm0,01$	$^b0,24\pm0,06$	$^b0,22\pm0,07$	$^a0,49\pm0,11^{**}$
30 gün	$0,12\pm0,01$	$^b0,13\pm0,01$	$^b0,18\pm0,02$	$^a0,30\pm0,05^{***}$
45 gün	$0,12\pm0,01$	$^b0,15\pm0,02$	$^b0,18\pm0,02$	$^a0,26\pm0,03^{***}$

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$

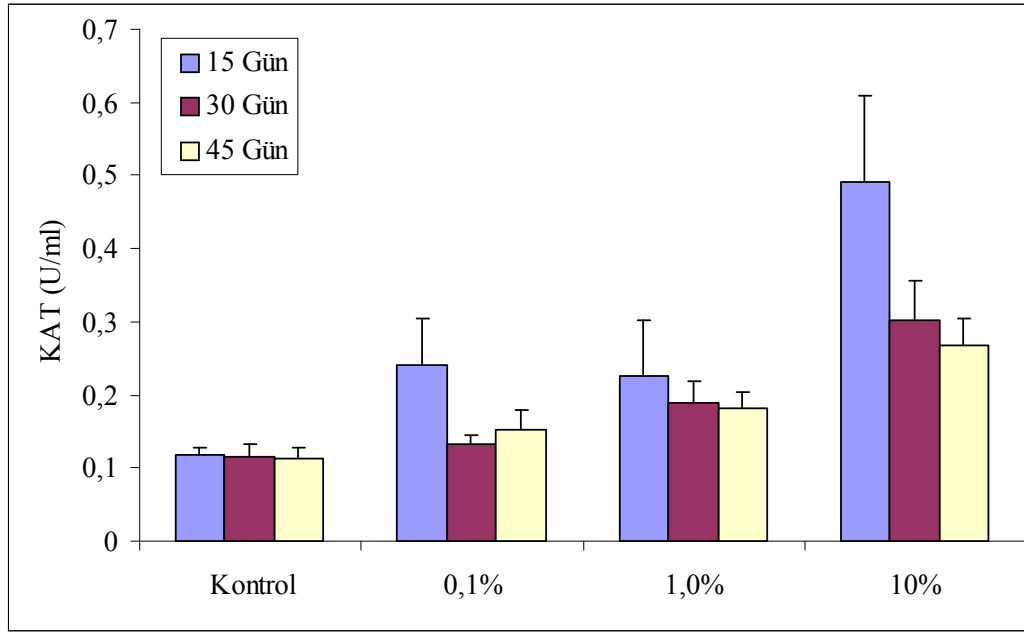
15 günlük tekstil atık suyu uygulanmasından sonra doz gruplarında CAT aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Kontrole karşılaştırıldığında % 10'luk doz grubunda meydana gelen artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Bu uygulama süresinde dozların etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değilken ($p>0,05$), % 10'luk doz grubu ile % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak

önemli bulunmuştur ($p<0,05$). 15 günlük maruziyette en yüksek aktivite % 10'luk doz grubunda ölçülmüştür.

Atık suyun 30 günlük uygulanmasından sonra CAT enzim aktivitesinde değişimler olmuş, kontrole göre önemli istatistiksel artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir ($p<0,001$). 30 günlük uygulama sonrası dozları karşılaştırdığımızda; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). En fazla artış % 10'luk dozda meydana gelmiş, % 0,1'lik ve % 1'lik doz ile karşılaştırıldığında bu doz grubundaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

45 günlük uygulama sonrasında % 0,1, % 1 ve % 10'luk dozlarda CAT enzim aktivitesi artış göstermiştir. Kontrolle karşılaştırıldığında, % 0,1'lik ve % 1'lik doz gruplarında meydana gelen artışlar istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). % 10'luk doz grubunda meydana gelen artış kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). 45 günlük uygulama sonrası dozların etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında; % 0,1 ve % 1'lik doz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değil, % 10'luk doz ile % 0,1'lik ve % 1'lik doz arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak; solungaç CAT aktivitesinde tüm uygulama sürelerinde en yüksek ve önemli artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir.

Solungaç CAT aktiviteleri bakımından kontrol ve doz gruplarında meydana gelen değişimlerin süreye bağlı dağılımları Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Dozların solungaç CAT enzim aktivitesi üzerine süreye bağlı etkisi.

Kontrol grubunda 15. günde CAT aktivitesi $0,11\pm 0,01$ olarak ölçülmüş, 30 günde $0,12\pm 0,01$ olan aktivite 45. günde değişmemiştir. Kontrol grubunda CAT aktivitesi günlere bağlı olarak değişmemiştir.

% 0,1'lik doz grubunda CAT aktivitesi 15. günde $0,24\pm 0,06$ olarak ölçülmüş, 30. günde azalmış aktivite $0,13\pm 0,01$ ve 45. günde ise $0,15\pm 0,02$ olarak ölçülmüştür. Süreler istatistiksel olarak birbiri ile karşılaştırıldığında % 0,1 lik dozda günler arası değişimler istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

% 1'lik uygulama grubunda 15, 30 ve 45 günlük CAT aktiviteleri sırasıyla $0,22\pm 0,07$; $0,18\pm 0,02$; $0,18\pm 0,02$ olarak ölçülmüştür. Bu doz grubunda da günler arası fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

% 10'luk doz grubunda 15. günde CAT enzim aktivitesi $0,49\pm 0,11$ ölçülmüştür. 30. ve 45. günlerde aktivite azalmış, sırasıyla $0,30\pm 0,05$ ve $0,26\pm 0,03$ olarak ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel analiz sonrası CAT aktivitesi bakımından günler arası fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

4.1.6. Tekstil Fabrikası Atık Suyunun Solungaç MDA Konsantrasyonu Üzerine Etkisi

Tekstil fabrikası atık suyunun % 0,1, % 1 ve % 10'luk konsantrasyonlarına 15, 30 ve 45 gün maruz kalan *O.niloticus*'ta solungaç MDA konsantrasyonu değişimi ile ilgili elde edilen veriler Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Tekstil fabrikası atık suyunun solungaç MDA konsantrasyonu (nmol/mL) üzerine etkisi (ort ±SH).

Uygulama süresi	Kontrol grubu	Tekstil atık suyu		
		% 0,1	% 1	% 10
15 gün	5,59±0,61	^b 7,85±0,84	^b 15,59±3,55*	^a 23,55±3,96***
30 gün	5,84±0,5	^b 7,8±1,08	^{ab} 10,06±1,18***	^a 12,17±0,34***
45 gün	6,3±0,5	^c 7,73±0,52	^b 10,98±0,41***	^a 11,15±0,64***

* p<0,05; ** p< 0,01; *** p<0,001

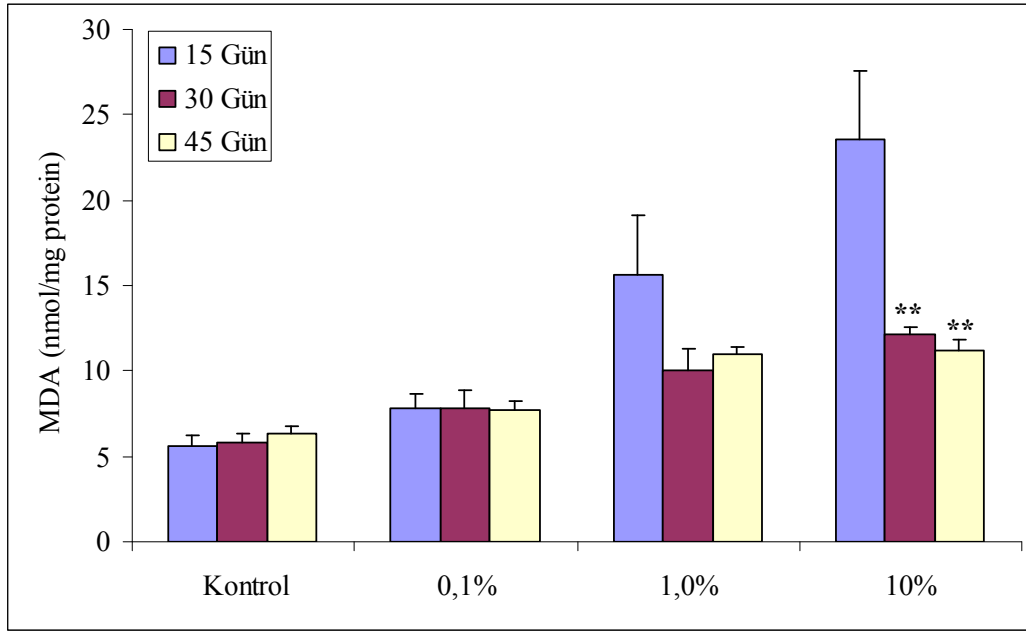
Tekstil atık suyunun 15 gün uygulanması sonrası MDA konsantrasyonu artışı % 0,1'lik doz grubunda istatistiksel olarak önemli değilken (p>0,05); % 1 ve % 10'luk dozlarda MDA artışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05; p<0,001). 15 günlük uygulamada dozlar kendi aralarında karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonundaki en büyük artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiş, % 0,1'lik ve % 1'lik dozlara göre bu doz grubundaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).

30 günlük uygulama sonrasında doz gruplarında MDA konsantrasyonu artmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında % 0,1'lik doz grubunda artış istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05). % 1 ve % 10'luk doz gruplarındaki artışlar kontrole göre önemli bulunmuştur (p<0,001). 30 günlük uygulama sonrası

dozların etkisi kendi aralarında karşılaştırıldığında, MDA konsantrasyonundaki en büyük artış yüksek doz olan % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir. % 10'luk doz grubu ile % 0,1'lik doz grubu arasındaki fark önemli iken ($p<0,001$), % 1 doz ile arasındaki fark önemli değildir.

45 günlük uygulama sonrasında % 0,1 doz grubunda meydana gelen MDA konsantrasyonu artışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). % 1'lik ve % 10'luk doz grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonu her iki dozda da artmıştır ve MDA konsantrasyonundaki artışlar kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). 45 günlük uygulamada doz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında doz artışına bağlı olarak MDA konsantrasyonun arttığı gözlenmiştir. En fazla artış % 10'luk doz grubunda ölçülmüştür. % 0,1 ile karşılaştırıldığında % 1 ve % 10'luk dozlarda meydana gelen artış istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,001$). Sonuç olarak solungaç MDA konsantrasyonu doz gruplarında tüm uygulama sürelerinde artmış, en fazla artış % 10'luk doz grubunda meydana gelmiştir.

Kontrol ve doz gruplarında solungaçta MDA konsantrasyonu değişimi günlere bağlı olarak değerlendirilmiş elde edilen sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Dozların solungaç MDA konsantrasyonu üzerine süreye bağlı etkisi.

** p< 0,01

Kontrol grubunda 15. günde $5,59\pm 0,61$ olan MDA konsantrasyonu 30. günde $5,84\pm 0,5$ ve 45. günde $6,3\pm 0,5$ olarak ölçülmüştür. Kontrol grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda solungaçta MDA konsantrasyonundaki değişimler istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

% 0,1'lik doz grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda solungaçta MDA konsantrasyonundaki değişimler istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$). MDA konsantrasyonu sırasıyla $7,85\pm 0,84$; $7,8\pm 1,08$; $7,73\pm 0,52$ olarak ölçülmüştür.

% 1'lik doz grubunda 15. günde MDA $15,59\pm 3,55$ 'iken; 30. günde azalmış $10,06\pm 1,18$ ve 45. günde de $10,98\pm 0,41$ olarak ölçülmüştür. Sürelere bağlı değişimler istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

% 10'luk doz grubunda 15, 30 ve 45 günlük uygulamalar sonunda solungaç MDA konsantrasyonunda değişimler olmuştur. 15. günde $23,55\pm 3,96$ olan MDA konsantrasyonu 30. günde $12,17\pm 0,34$ ve 45. günde $11,15\pm 0,64$ olarak ölçülmüştür.

% 10'luk doz grubunda MDA konsantrasyonunda 30. ve 45. günlerde meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

4.2. TARTIŞMA

SOD ve CAT enzim sistemi; oksijen toksisitesine karşı ilk savunma sistemini oluşturur. SOD süperoksit radikalının (O_2^{\bullet}), H_2O ve H_2O_2 'e dönüşümünü katalizlerken, oluşan H_2O_2 CAT tarafından detoksifiye edilir. Kirleticilere maruziyette bu enzim sistemleri sürekli stimüle edilir. Diğer omurgalı sistemlerle karşılaştırıldığında balıklarda SOD ve CAT bazal aktivitesi oldukça düşüktür ancak kirleticilere maruz kalındığında aktivite artışı gözlenmektedir [96].

Çalışmamızda tekstil atık suyu uygulanan *O. niloticus*'un karaciğerinde SOD enzim aktivitesi % 1 ve % 10'luk dozlarda artmış, CAT enzim aktivitesi de % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz gruplarında atmıştır. Solungaçlarda SOD aktivitesi % 1 ve % 10'luk doz grubunda önemli şekilde artmış, solungaç CAT aktivitesi % 10'luk doz grubunda yüksek bulunmuştur. Tekstil atık suları boyama prosesinde gerekli olan; taşıyıcı bileşiklerden fenil fenoller, klorlu benzenler, indirgeyicilerden sodyum hidroksil, sodyum sülfid, oksitleyici olarak sodyum nitrit, hidrojen peroksit, pH kontrolünde sodyum hidroksit, sodyum karbonat, asetik asit ve sülfürik asit gibi yardımcı kimyasalları da içermektedir [23].

Yapılan çalışmalarda kirli alanlarda yaşayan ve çeşitli kimyasallara maruz kalan farklı balık türlerinde SOD aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Ağır metaller, fenol, inorganik ve organik bileşikler içeren; zirai, endüstriyel ve kentsel atık sularla kirlenen bir sucul ortam çalışmasında, balık türü olan *Wallago attu* karaciğer ve solungaç dokularında SOD enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Bu artışın kirleticilerin etkisiyle yüksek oranda süperoksit radikalının oluşumuyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir [97].

Tekstil endüstrisinde kumaş ağartılmasında kullanılan temizleyici maddelerin yapısında bulunan kimyasallardan sodyum dodesilbenzen sülfonat (SDBS) ve sodyum dodesil sülfata (SDS) maruz bırakılan *Lateolabrax japonicus* karaciğer dokularında; 6, 12 ve 18 günlük uygulamalar sonucunda bu kimyasalların

biyotransformasyonu ile artan ROT miktarına bağılı olarak SOD aktivitesinin artığı bildirilmiştir [98].

Gül ve ark. [99], sucul ortamlarda kirliliğın artışına bağılı olarak yaptıkları çalışmada, kirlı alanda yaşıyan sazanların karaciğesinde SOD enzim aktivitesinin temiz alanda yaşıyanlardan yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. SOD artışı hücre içinde yüksek miktarda H₂O₂ oluşumuyla ilişkilendirilmiştir.

Bainy ve ark. [100], kirlı sularda yaşıyan *O. niloticus*'un karaciğesinde artan süperoksit radikali üretimine bağılı olarak SOD enzim aktivitesinin önemli derece de artığını, fakat SOD'da ki bu adaptif yanıtın ROT tarafından oluşturulan zarara karşı hücreleri korumak için yeterli olmadığını belirtmişlerdir.

P. microps ile yapılan çalışmada, petrokimyasal kirleticilerden olan benzopiren, anthrasin ve fuel oille maruz bırakılan balıklarda karaciğer SOD enzim aktivitelerinin artığı bulunmuştur [65].

Çalışmamızda tekstil atık suyu uygulama gruplarında SOD aktivitesinin yüksek olması, diğerk çalışmalarda da rapor edildiği gibi O₂^{•-} oluşumunun artmasından kaynaklanabilir. Tekstil atık sularının içerdiki ağır metaller, fenol ve sülfür bileşikleri, inorganik ve organik maddeler ROT oluşturma potansiyeline sahiptir. Ortamda SOD aktivitesinin artışı ile H₂O₂ artmış buda CAT enzim aktivitesinin artmasına neden olmuş olabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda, geçiş metalleri, kinonlar, nitroaraomatik bileşikler ve bifenil iskeletine sahip moleküllerin sitokrom P 450 enzim sisteminden CYP 1 A'yı indükleyerek ROT oluşumuna neden olduğu, bununda CAT aktivitesini arttırdığı bulunmuştur [101, 102, 103].

Ayrıca çeşitli atık su veya kirleticie maruz kalan balıklarda CAT enzim aktivitesinin değıştiki çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Ahmad ve ark., % 1'lik kâğıt fabrikası atık sularına maruz bırakılan *C. punctatus* karaciğer dokularında CAT enzim aktivitesinin kontrollerle

karşılaştırıldığında, 15 ve 30 günlük uygulamalarda azaldığını; 60 ve 90 günlük uzun süreli maruziyetlerde CAT enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Buna karşılık solungaçta 15, 30, 60 ve 90 günlük uygulamaların tümünde CAT enzim aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir [68].

A. anguilla ile yapılan çalışmada da zirai kimyasallar, ağır metaller ve evsel atık sularla kirlenen doğal su ortamında yaşayan balık solungaçlarında CAT aktivitesinin arttığı belirtilmiştir [104].

Petrole ve petrol-alkil fenol birleşimine 15 gün süresince maruz bırakılan *G. morhua*'da karaciğer CAT enzim aktivitesinin arttığı Sturve ve ark. [64], tarafından rapor edilmiştir.

Ferreira ve ark. [67]'nin doğal su ortamlarında ki kirlilikle ilişkili olarak yaptıkları alan çalışmasında, çeşitli kirleticilere maruz kalınmasıyla artan ROT oluşumuna bağlı olarak *M. cephalus* ve *P. flesus*'un karaciğer dokularında CAT enzim aktivitelerinin arttığını bulmuşlardır.

Deterjan ve diğer temizleyici ürünlerin yapımında kullanılan sulfonil karboksilik asitler (SPCs) ile yapılan çalışmada, 200, 500 ve 800µg/l konsantrasyonlarda SPCs'e maruz bırakılan *Solea senegalensis* solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesinin SPCs'nin biyotransformasyonuna bağlı olarak arttığı belirtilmiştir [105].

2,4-diklorofenol (2,4-DCP) ile yapılan diğer bir çalışmada, 40 günlük uygulama sonrasında *C. auratus* karaciğer CAT enzim aktivitesinin kontrollerle karşılaştırıldığında arttığı bulunmuştur. CAT aktivitesinin 0.1 mg/l konsantrasyonda en fazla olduğu; buna karşılık 0.1 mg/l'den büyük konsantrasyonlardaki maruziyetlerde CAT enzim aktivitesinin kontrol değerlerine düştüğü belirtilmiştir [76].

Tekstil atık suları yüksek miktarda boyar madde de içermektedir. Bu boyar maddeler de antioksidan enzim sistemlerini etkileme potansiyeline sahiptir. Tekstil boya endüstrisinde kullanılan azo boyalardan orange 7'nin degradasyonu sırasında yüksek konsantrasyonda orange 7'nin SOD ve CAT aktivitelerini inhibe ederken, düşük konsantrasyonunun SOD ve CAT aktivitelerini artırdığı bulunmuştur [106].

Çalışmamızda CAT aktivitesi artışı, SOD aktivitesine bağlı olarak artan H₂O₂ nedeni ile meydana gelmiş olabilir.

Lipitler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali niteliği kazanmasıyla başlar. Lipit radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit peroksidasyonu zincirleme reaksiyonlarının son ürünleri hidroperoksitler ve siklik endoperoksitlerdir. Bunlar metal komplekslerinin varlığında özellikle bakır iyonlarının varlığında sitotoksik aldehitlere (malondialdehit) dönüşürler [107]. Lipit peroksidasyonu ksenobiyotiklerin indüklediği oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır [13].

Karaciğer MDA konsantrasyonu da % 0,1, % 1 ve % 10'luk doz gruplarında kontrole göre yüksek bulunmuştur. Solungaç MDA konsantrasyonu % 1 ve % 10'luk dozlarda yüksek bulunmuştur.

Farklı endüstriyel atıklarla yapılan çalışma sonuçları elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir. Oakes ve ark. [108], kâğıt ve kâğıt hamuru fabrikaları ile kentsel atık sulara maruz kalan *C. catostomus* karaciğerinde kimyasal kirleticilerin ROT oluşumuna yol açmasıyla MDA miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Gül ve ark. [99], sucul ekosistemlerdeki kirliliğe bağlı olarak yaptıkları çalışmada, kirleticilerin yoğun olduğu ortamdaki sazanların karaciğerinde MDA konsantrasyonunun anlamlı olarak arttığını bulmuşlardır.

Ahmad ve ark., % 1'lik kâğıt fabrikası atık suyuna maruz kalan *C. punctatus*'ta 60 günlük uygulama sonucunda kontrollere göre karaciğerde MDA konsantrasyonunun daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Buna karşılık solungaçta MDA konsantrasyonunun 60 günlük uygulama sonucunda çalışmamıza benzer olarak arttığı belirtilmiştir [68].

Poliaromatik hidrokarbonlardan fenanthrene (PHE) maruz kalan *Sparus aurata* karaciğer dokusunda, 4 günlük maruziyet sonrasında 0.11µM uygulama grubunda artan ROT miktarına bağlı olarak MDA miktarının kontrolle göre arttığı; fakat PHE konsantrasyonundaki artışla birlikte GST aktivitesinin artmasıyla MDA miktarının azaldığı belirtilmiştir [109].

İn vivo bakır sülfat ve fenol bileşiklerden tanik asit ve ikisinin birleşimine maruz kalan *C. carpio* karaciğer dokularında kontrollerle karşılaştırıldığında MDA miktarının 24 ve 48 saatlik süreler sonunda üç uygulama grubunda arttığı bildirilmiştir. MDA miktarındaki bu artış tanik asidin biyotransformasyonu sonucu oluşan prooksidanların etkisiyle gerçekleştiği, ayrıca tanik asidin kısmen de olsa antioksidan enzimleri inhibe edebildiği belirtilmiştir [110].

Lipit peroksidasyonundaki artış, $O_2^{\bullet-}$ oluşturmak üzere moleküler oksijenin oksidasyonu yoluyla meydana gelmektedir. Bu reaksiyon aynı zamanda H_2O_2 kaynağıdır. Bu radikallerin üretimi, membranlarda doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonun başlaması ile MDA düzeyinde bir artışa neden olur [111]. Bulgularımıza göre SOD ve CAT aktivitesinin artması ROT oluşumunun arttığını göstermektedir. Enzimatik savunmanın yeterli olmaması lipit peroksidasyonu artışına yol açmıştır. Sonuçlara göre kullandığımız atığın içerdiği organik ve inorganik maddelerin, fenolik bileşiklerin ROT oluşturma potansiyeline sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda bulguları günlere bağlı olarak değerlendirdiğimizde CAT ve SOD aktivitesinin karaciğerde 30. günde; solungaçta en fazla 15. günde arttığı tespit edilmiştir. Balıklarda solungaçlar çevresel su kirleticileriyle doğrudan temas

etiklerinden sucul toksikantların alınımı en çok bu organlarda gerçekleşir [112]. Ayrıca solungaçta bulunan enzimatik veya enzimatik olmayan antiosidanların karaciğerdekilerden daha yavaş aktivite göstermesinin bu organların reaktif oksijen radikallerinden daha kolay etkilenmelerine neden olduğu belirtilmiştir [68, 89, 113, 114]. Bu nedenle solungaçlarda 15. günde daha yüksek değerlerin elde edildiği söylenebilir.

Yine bulguları günlere bağlı olarak değerlendirdiğimizde CAT ve SOD aktiviteleri ve MDA konsantrasyonlarının her iki dokuda da 45. günde 15. ve 30. güne göre azaldığı belirlenmiştir. Bu durum uzun süreli maruziyette bağlı adaptif yanıt ile açıklanabilir. Daha önce Ahmad ve ark. [68], tarafından yapılan çalışmada kâğıt fabrikası atığına kronik olarak maruz kalan balıklarda oksidatif strese karşı adaptif yanıtın geliştiğini, yükselen enzimatik aktivitenin süreye bağlı azaldığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da dokularda 15. günde yüksek olan değerler 45. günde azalmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada elde edilen sonuçları şu şekilde sıralayabiliriz;

- Kullanılan tekstil atık suyunun karaciğer ve solungaç dokularında doz gruplarında antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktivitelerini arttırdığı saptanmıştır.
- Çalışmada tekstil atık suyunun karaciğer ve solungaçta lipit peroksidasyonuna neden olarak MDA konsantrasyonu arttırdığı saptanmıştır.
- Elde edilen bulgulara göre, doz artışına bağlı olarak atık suyun etkisinin arttığı tespit edilmiştir ve % 10'luk yüksek dozun en etkili doz olduğu belirlenmiştir.
- Kullanılan atığa karşı ilk yanıt solungaç dokusunda meydana gelmiş, solungaçlarda 15 günlük uygulama sonrası incelenen parametreler artarken, karaciğerde 30. günde artışlar meydana gelmiştir.
- Ayrıca çalışmada uzun süreli maruziyete bağlı olarak balıklarda adaptif yanıt geliştiği, 15. ve 30. günde artan SOD, CAT enzim aktiviteleri ile MDA konsantrasyonunun 45. günde azaldığı tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre;

- Toksikolojik çalışmalarda oksidatif stres parametreleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan SOD, CAT ve MDA oksidatif stresi uygun şekilde ifade eden parametreler olarak değerlendirilebilir. Bundan sonraki çalışmalarda bu parametreler yanında radikal oluşum miktarının da ölçülmesi enzimatik bulguları destekler nitelikte olacaktır.
- Bulgular tekstil atık sularının sucul organizmalarda zararlı etkiler oluşturma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Çalışma, oldukça kompleks yapıya

sahip atık suyun zararlı etkisinin hangi parametreden kaynaklandığını tespit etmek için yapılacak çalışmalara öncül olma niteliğindedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda atığı oluşturan bileşiklerin oksidatif stres üzerine etkileri çalışılabilir.

- Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde arıtılmamış veya kısmen arıtılmış kentsel ve endüstriyel atık sular su habitatlarına aktarılmaktadır. Bu da sucul ekosistemde yaşayan canlıları olumsuz şekilde etkilemektedir. Gelişmiş ülkelerde çevrenin korunması ile ilgili kanunlar ve yönetmelikler oldukça sıkı kontrol edilmektedir. Ülkemizde de çevreye verilen atıkların kirlilik oranları ve kriterleri belirlenmiş, standartlar oluşturulmuştur. Ancak çalışmada kullanılan atığa ait değerler, standart değerlerin çok üstünde bulunmuştur ve toksik etki oluşturma potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle endüstriyel atıkların deşarjında atık suyun limit değerlere uygunluğu düzenli olarak kontrol edilmeli, toksikolojik veriler göz önüne alınarak limit değerler tekrar düzenlenmelidir.
- Tekstil sanayinde kumaşların boyanması ve yıkama aşamalarında çok fazla miktarda kimyasal ve su tüketilmekte, oluşan atık miktarı artmaktadır. Bu atıklarda toksik olabilmektedir. Çevreyi korumanın bir yolu da atık miktarını azaltmaktır. Bu nedenle tekstil endüstrisinde atık oluşumunun azaltılmasına yönelik yeni yöntem ve teknolojiler geliştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Grau, P. "Textile industry wastewaters treatment", *Water Science and Technology*, **24**: 97-103, (1991).
- [2] McKay, G. "Two-Resistance Mass Transfer Models For The Adsorption of Dyestuffs from Solutions Using Activated Carbon", *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **34(A)**: 294-310, (1984).
- [3] Kundu, R., Prasad, V.V.S., Mansuri, A.P. "Toxicity of diluted dyeing and printing industry effluent to a penaeid Prawn *Parapenaeopsis sculptilis*", *Acta Hydrobiol.*, **17(1)**: 1-6, (1989).
- [4] Asfour, H.M., Nassar, M.M., Fadali, O.A., El-Guendi, M.S. "Color Removal from Textile Effluents Using Hardwood Saw Dust as an Adsorbent", *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **35(A)**: 28-35, (1985).
- [5] Livingstone, D.R. "Contaminant reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organism", *Mar. Pollut. Bull.*, **42**: 656-666, (2001).
- [6] Isamah, G.K., Asagba, S.O., Coker, H.A.B. "Comparative evaluation of the levels of some antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different fish species in two rivers in the western Niger delta", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **65**: 351-356, (2000).
- [7] Santos, M.A., Pacheco, M., Ahmad, I. "Responses of European eel (*Anguilla anguilla* L.) circulating phagocytes to an in situ closed pulp mill effluent exposure and its association with organ-specific peroxidative damage", *Chemosphere*, **63**: 794-801, (2006).
- [8] Peters, L.D., Porte, C., Livingstone, D.R. "Variation of Antioxidant Enzyme Activities of spart (*Sprattus sprattus*) Larvae and Organic Contaminant Levels in Mixed Zooplankton from the Southern North Sea", *Marine Pollution Bulletin*, **42**: 1087-1095, (2001).
- [9] Reed, D.J. "Mechanisms of Chemically Induced Cell Injury and Cellular Protection", (E. Hodgson; R.C. Smart, Editörler). *Introduction to Biochemical Toxicology*. Wiley and Sons Inc., United States of America, s 221-253, (2000).

- [10] Dorval, J., Hontela, A. "Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Toxicology and Applied Pharmacology*, **192**: 191-200, (2003).
- [11] Pena-Llopis, S., Ferrando, M.D., Pena, J.B. "Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine", *Aquatic Toxicology*, **65**: 337-360, (2003 a).
- [12] Fabacher, D.L., Little, E.E. "Diversity of Fish, Early Observations and Descriptions, Fish in Experimentation (Ostrander, G.K. editor) The Handbook of Experimental Animals. The Laboratory Fish", Academic Press, London, 678s, (2000).
- [13] Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abroma, K.H., Levin, E.D. "Oxidative stress in toxicology: Established mammalian and emerging piscine model systems", *Environmental Health Perspectives*, **106**: 375-384, (1998).
- [14] Intorre, L., Soldani, G., Cognetti-Varriale, A.M., Monni, G., Meucci, V., Pretti, C. "Safety of azamethiphos in eel, sea bass and trout", *Pharmacological Research*, **49**: 171-176, (2004).
- [15] Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. "Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review", *Biosour. Technol.*, **58**: 217-227, (1996).
- [16] Mishra, G., Tripathy, M. "A critical review of the treatments for decolorization of textile effluent", *Colourage*, **4**: 35-38, (1993).
- [17] Zollinger, H. "Color Chemistry", VCH, Weinheim, Germany, 496s., (1991).
- [18] Spadaro, J.T., Renganathan, V. "Peroxidase-Catalyzed Oxidation of Azo Dyes: Mechanism of Disperse Yellow 3 Degradation", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **312(1)**: 301-307, (1994).
- [19] Rodriguez, E., Pickard, M.A., Duhalt, R.V. "Industrial Dye Decolorization by Laccases from Ligninolytic Fungi", *Current Microbiology*, **38**: 27-32, (1999).
- [20] Young, L., Yu, J. "Ligninase-Catalysed Decolorization of Synthetic Dyes", *Wat.Res.*, **31(5)**: 1187-1193, (1997).
- [21] Wong, Y., Yu, J. "Laccase-Catalyzed Decolorization of Synthetic Dyes", *Wat.Res.*, **33(16)**: 3512-3520, (1999).

- [22] Başer, İ., İnanıcı, Y. “Boyarmadde Kimyası”, Marmara Üniv.Teknik Eğitim Fak. Yayın No:2, İstanbul, s.47-52, 103-115, (1990).
- [23] Correia, V.M., Stephenson, T., Judd, S.J. “Characterisation of Textile Wastewaters-A Review”, *Environmental Technology*, **15**: 917-929, (1994).
- [24] Sostar, S., Schneider, R. “Guar gum as an environment-friendly alternative thickener in printing with reactive dyes”, *Dyes Pigments*, **39**: 211-221, (1998).
- [25] Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P. “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment Technologies with a proposed alternative”, *Bioresour. Technol.*, **77**: 247-255, (2001).
- [26] Chung, K.T., Cerniglia, C.E. “Mutagenicity of azo dyes: structure-activity relationships”, *Mutat. Res.*, **277**: 210-220, (1992).
- [27] Al-Sabti, K. “Chlorotriazine reactive azo red 120 textile dye induces micronuclei in fish”, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **47**: 149-155, (2000).
- [28] Çavaş, T., Ergene-Gözükara, S. “Micronuclei, nuclear lesions and interphase silver-stained nucleolar organizer regions (AgNORs) as cyto-genotoxicity indicators in *Oreochromis niloticus* exposed to textile mill effluent”, *Mutation Research*, **538**: 81-91, (2003).
- [29] Odeigah, P.G.C., Osanyipeju, A.O. “Genotoxic effects of two industrial effluents and methyl methane sulfonate in *Clarias lazera*”, *Food Chem. Toxicol.*, **33**: 501-505, (1995).
- [30] Sumathi, M., Kalaiselvi, K., Palanivel, M., Rajaguru, P. “Genotoxicity of Textile Dye Effluent on fish (*Cyprinus carpio*) Measured Using the Comet Assay”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **66**: 407-414, (2001).
- [31] Abo-Elela, S.I., El-Gohary, F.A., Ali, H.L., Abdel Wahaab, RSh. “Treatability Studies of Textile Wastewater”, *Environ. Technol. Letts*, **9**: 101-108, (1988).
- [32] Chung, K.T., Stevens, S.E. “Degradation of Azo Dyes by Environmental Microorganisms Helminths”, *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**: 2121-2132, (1993).
- [33] Medvedev, Z.A., Crowne, H.M., Medvedeva, M.N. “Age related variations of hepatocarcinogenic effect of azo dye (3'-MDAB) as linked to the level of hepatocyte polyploidization”, *Mechanisms of Ageing and Development*, **46**: 159-174, (1988).

- [34] Percy, A.J., Moore, N., Chipman, J.K. "Formation of nuclear anomalies in rat intestine by benzidine and its biliary metabolites", *Toxicology*, **57**: 217-223, (1989).
- [35] Seventekin, N., Özdoğan, E. "Ekotekstiller Açısından Toksik Ağır Metaller", *Tekstil Konfeksiyon*, 1, s.58-64, (1998).
- [37] Halliwell, B. "Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease", *Am. J. Med.*, **91**: 14-21, (1991).
- [36] Toprakkaya, D., Sezer, A. "Tekstil Terbiyesinde Kullanılan Bazı Kimyasalların Ekolojik Etkileri", *Tekstil ve Konfeksiyon*, 5, s.337-344, (1998).
- [38] Akkuş, İ. "Serbest radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", Mimoza Yayınları. Konya, (1995).
- [39] Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C. "Potential markers of oxidative stress in stroke", *Free Radical Biology&Medicine*, **39**: 841-852, (2005).
- [40] Sözmen, E.Y. "Yaşlanma biyokimyası", In Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y.(Eds) İnsan biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, pp:665-674, (2002).
- [41] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease", An overview (Packer, L., Glazer, A.N., Eds.). *Oxygen Radicals in Biological Systems. Methods in Enzymology*, 186, Academic Press Inc., New York, 1-19, (1990).
- [42] Aleynik, I.S., Leo, A.M., Ma, Y., Aleynik, K.M., Lieber, S.C. "Polyenylphosphatidylcholine Prevents Carbon Tetrachloride-Induced Lipid Peroxidation while it Attenuates Liver Fibrosis", *J. Hepatol.*, **27**: 554-561, (1997).
- [43] Bruce, A.F., Crapo, J.D. "Biology of Disease", *Free Radicals and Tissue Injury Lab. Invest.*, **47(5)**: 412-426, (1982).
- [44] Burtis, C.A., Ashwood, E.R. "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, (1999).
- [45] Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G. "The role of lipid peroxidation and antioksidants in oxidative modification of LDL", *Free Radic. Biol. Med.*, **13**: 341-90, (1992).

- [46] Rikans, L.E., Hornbrook, K.R. "Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging", *Biochem Biophys. Acta.*, **1362**: 116-27, (1997).
- [47] Oesch, F. "Metabolism of carcinogens, possibilities for modulation", *Acta. Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 55Suppl, **2**: 15-33, (1984).
- [48] Shacter, E. "Protein oxidative damage", *Methods Enzymol.*, **319**: 428-436, (2000).
- [49] Stadtman, E.R., Levine, R.L. "Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins", *Amino Acids*, **25**: 207-218, (2003).
- [50] Berlett, B.S., Stadtman, E.R. "Recent advances in the analysis of oxidized proteins", *Amino Acids*, **25**: 221-226, (2003).
- [51] Stadtman, E.R., Levine, R.L. "Protein oxidation", *Ann. NY Acad. Sci.*, **899**: 191-208, (2000).
- [52] Grune, T. "Oxidative stress, aging and the proteasomal system", *Biogerontology*, **1**: 31-40, (2000).
- [53] Shacter, E. "Quantification and significance of protein oxidation in biological samples", *Drug Metab. Rev.*, **32**: 307-326, (2000).
- [54] Davies, M.J., Fu, S., Wang, H., Dean, R.T. "Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease", *Free Radic. Biol. Med.*, **27**: 1151-1163, (1999).
- [55] Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J. "Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation and disease", *FASEBJ*, **17**: 1195-1214, (2003).
- [56] Evans, M.D., Cooke, M.S. "Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids", *BioEssays*, **26**: 533-542, (2004).
- [57] Luft, R. "The development of mitochondrial medicine", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91**: 3731-3738, (1994).
- [58] Bebe, F.N., Panemangalore, M. "Exposure to low doses of endosulfon and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissue of rats", *J. Environ. Sci. Health B*, **38**: 349-363, (2003).
- [59] Ahmad, S., "Oxidative stress and antioxidant defenses in biology" Chapman and Hall Inc, London, 447s., (1995).

- [60] Fridovich, I. “Oxygen radicals from acetaldehyde”, *Free Radical Biology and Medicine*, **7(5)**: 557-558, (1989).
- [61] Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C. “Potential markers of oxidative stress in stroke”, *Free Radical Biology&Medicine*, **39**: 841-852, (2005).
- [62] Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. “Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **64**: 178-189, (2006).
- [63] Avcı, A., Kaçmaz, M., Durak, I. “Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **60**: 101-105, (2005).
- [64] Sturve, J., Hasselberg, L., Falth, H., Celander, M., Förlin, L. “Effects of North Sea oil and alkylphenols on biomarker responses in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*)”, *Aquatic Toxicology*, **78(S)**: 73-78, (2006).
- [65] Vieira, L.R., Sousa, A., Frasco, M.F., Lima, I., Morgado, F., Guilhermino, L. “Acute effects of Benzo[a]pyrene, anthracene and fuel oil on biomarkers of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae)”, *Science of The Total Environment*, **395**: 87-100, (2008).
- [66] Ali, M., Parvez, S., Pandey, S., Atif, F., Kaur, M., Rehman, H., Raisuddin, S. “Fly ash leachate induces oxidative stress in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch)”, *Environment International*, **30**: 933-938, (2004).
- [67] Ferreira, M., Moradas-Ferreira, P., Reis-Henriques, M.A. “Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary, Portugal”, *Aquatic Toxicology*, **71**: 39-48, (2005).
- [68] Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jain, S.K., Athar, M., Raisuddin, S. “Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarkers of paper mill effluent exposure”, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1523**: 37-48, (2000).

- [69] Oakes, K.D., McMaster, M.E., Van Der Kraak, G.J. “Oxidative stress responses in longnose sucker (*Catostomus catostomus*) exposed to pulp and paper mill and municipal sewage effluents”, *Aquatic Toxicology*, **67**: 255-271, (2004).
- [70] Bhattacharya, A., Bhattacharya, S. “Induction of oxidative stress by arsenic in *Clarias batrachus*: Involvement of peroxisomes”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **66**: 178-187, (2007).
- [71] Berntssen, M.H.G., Aatland, A., Handy, R.D. “Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr”, *Aquatic Toxicology*, **65**: 55-72, (2003).
- [72] Vega-Lopez, A., Galar-Martinez, M., Jimenez-Orozco, F.A., Garcia-Latorre, E., Dominguez-Lopez, M.L. “Gender related differences in the oxidative stress response to PCB exposure in an endangered goodied fish (*Girardinichthys viviparus*)”, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, **146**: 672-678, (2007).
- [73] Lushchak, O.V., Kubrak, O.I., Nykorak, M.Z., Storey, K.B., Lushchak, V.I. “The effect of potassium dichromate on free radical processes in goldfish: Possible protective role of glutathione”, *Aquatic Toxicology*, **87**: 108-114, (2008).
- [74] Pandey, S., Ahmed, I., Parvez, S., Bin-Hafeez, R., Naque, R., Raisuddin, R. “Effect of endosulfon on antioxidants of freshwater fish *Channa punctatus* Bloch: Protection against lipid peroxidation in liver by copper preexposure”, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **41**: 345-352, (2001).
- [75] Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S. “Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **56**: 295-301, (2003).
- [76] Zhang, J., Shen, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y. “Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*”, *Chemosphere*, **55**: 167-174, (2004).
- [77] Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A., Pexoto, F., Carrola, J., Rocha, E. “Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis*

- niloticus* exposed to carbaryl”, Pesticide Biochemistry and Physiology, **89**: 73-80, (2007).
- [78] Durmaz, H., Sevgiler, Y., Üner, N. “Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*”, Pesticide Biochemistry and Physiology, **84**: 215-226, (2006).
- [79] Song, S.B., Xu, Y., Zhou, B.S. “Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*)”, Chemosphere, **65**: 699-706, (2006).
- [80] Sun, Y., Yu, H., Zhang, J., Yin, Y., Shi, H., Wang, X. “Bioaccumulation, depuration and oxidative stress in fish *Carassius auratus* under phenanthrene exposure”, Chemosphere, **63**: 1319-1327, (2006).
- [81] Peixoto, F., Alves-Fernandes, Santos, D., Fontainhas-Fernandes, A. “Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*”, Pesticide Biochemistry and Physiology, **85**: 91-96, (2006).
- [82] Ahmad, I., Maria, V.L., Oliveira, M., Pacheco, M., Santos, M.A. “Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to β -naphthoflavone”, Mutation Research, **608**: 16-28, (2006).
- [83] Ferrari, A., Venturino, A., Pechen de D’Angelo, A.M. “Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes”, Pesticide Biochemistry and Physiology, **88**: 134-142, (2007).
- [84] Öztürk, H.K. “Energy usage and cost in textile industry: A case study for Turkey”, Energy, **30**: 2424-2446, (2005).
- [85] Ergün, Ö. “Avrupa Birliği’nde Ekolojik Etiketler ve Ekolojik Tekstil Ürünleri”, İGEME, 5-14-18-21-22, Tekstil Ürünleri, (1996).
- [86] Livingstone, D.R. “Organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish”, Comp. Environ. Physiol., **120(A)**: 43-49, (1998).
- [87] Lackner, R. “Oxidative stress in fish by environmental pollutants”, In: Braubeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds.), Fish Ecotoxicology. Birkhauser Verlag, Basel, pp. 203-224, (1998).

- [88] Livingstone, D.R., Forlin, L., George, S. “Molecular biomarkers and toxic consequences of impact by organic pollution in aquatic organisms”, In: Sutcliffe, D.W. (Ed.), *Water Quality and Stress Indicators in Marine and Freshwater Systems: Linking Levels of Organization*. Freshwater Biological Association, Ambleside, U.K, PP. 1171-1254, (1994).
- [89] Di Giulio, R.T., Washburn, P.C., Wenning, R.J., Winston, G.W., Jewell, C.S. “Biochemical responses in aquatic animal: a review of determinations of oxidative stress”, *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**: 1103-1123, (1989).
- [90] Eli, A. (16 Ocak 2007) *Oreochromis niloticus*'un sistematigi, **ERİŞİM:** <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?d=2> [28 Mayıs 2008].
- [91] Ergene, S., Kaya, F., Pekcan, I., Oral, A. “A Karyological analysis of *Oreochromis niloticus* L., 1758 (Pisces, Cichlidae) used in aquaculture”, Celikkale, M.S., Duzgunes, E., Okumus, I. ve Mutlu, C., *The Proceedings of the First International Symposium on Fisheries and Ecology: (FISHECO, 98)*, Trabzon, Turkey, Sayfa: 191-195, (1998).
- [92] McCord, J.M., Fridovich, I. “Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte hemoglobin (hemocyanin)”, *Journal of Biological Chemistry*, **244**: 6049-6055, (1969).
- [93] Aebi H. “Catalase in vitro”, *Methods in Enzymology*, **105**: 121-26, (1984).
- [94] Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. “Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction”, *Anal. Biochem*, **95**: 351-358, (1979).
- [95] Lowry, O.H., Rosenbough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. “Protein measurement with the Folin-phenol reagent”, *The Journal of Biological Chemistry*, **193**: 265-257, (1951).
- [96] Dimitrova MST, Tsinova V, Velcheva V. “Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*)”, *Comp. Biochem Physiol Part C*, **108**: 43-46, (1994).
- [97] Padney, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B., Raisuddin, S. “Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of liver Yomuna fish *Wallago attu* (Bl. & Sehn.)”, *The Science of the Total Environment*, **309**: 105-115, (2003).

- [98] Jifa, W., Zhiming, Y., Xiuxian, S., You, W., Xihua, C. “Comparative researches on effects of sodium dodecylbenzene sulfonate and sodium dodecyl sulfate upon *Lateolabrax japonicus* biomarker system”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20**: 465-470, (2005).
- [99] Gül, Ş., Belge-Karataş, E., Yıldız, E., Şahan, A., Doran, F. “Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (*Cyprinidae*) living in Seyhan Dam Lake, Turkey”, *Environmental International*, **30**: 605-609, (2004).
- [100] Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M., Jungueria, V.B.C. “Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from polluted site”, *Aquatic Toxicology*, **34**: 151-156, (1996).
- [101] Winston, G.W., Di Giulio, R.T. “Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms”, *Aquat. Toxicol.*, **19**: 137–161, (1991).
- [102] Lemaire, P., Matthews, A., Förlin, L., Livingstone, D.R. “Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics”, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **26(2)**: 191-200, (1994).
- [103] Stephensen, E., Svavarsson, J., Sturve, J., Ericson, G., Adolfsson-Erici, M., Förlin, L. “Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland”, *Aquat. Toxicol.*, **48**: 431–442, (2000).
- [104] Ahmad, I., Pacheco, M., Santos, M.A. “*Anguilla anguilla* L. Oxidative stress biomarkers: An in situ study of freshwater wetland ecosystem (Pateira de Fermentelos, Portugal)”, *Chemosphere*, **65**: 952-962, (2006).
- [105] Alvarez-Munoz, D., Lara-Martin, P.A., Blasco, J., Gomez-Parra, A., Gonzalez-Mazo, E. “Presence, biotransformation and effects of sulfophenylcarboxylic acids in the benthic fish *Solea senegalensis*”, *Environment International*, **33**: 565-570, (2007).
- [106] Carias, C.C., Novais, J.M., Martins-Dias, S. “Are Phragmites *australis* enzymes involved in the degradation of textile azo dye acid orange 7?”, *Bioresource Technology*, **99(2)**: 243-251, (2008).

- [107] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. "Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease" *Biochem*, **219**: 1-14, (1984).
- [108] Oakes, K.D., McMaster, M.E., Van Der Kraak, G.J. "Oxidative stress responses in longnose sucker (*Catostomus catostomus*) exposed to pulp and paper mill and municipal sewage effluents", *Aquatic Toxicology*, **67**: 255-271, (2004).
- [109] Correia, A.D., Gonçalves, R., Scholze, M., Ferreira, M., Henriques, M.A-R. "Biochemical and behavioral responses in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to phenanthrene", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **347**: 109-122, (2007).
- [110] Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemesok, J., Abraham, M. "Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **128**: 467-478, (2001).
- [111] Üner, N., Oruç, E.Ö., Canlı, M., Sevgiler, Y. "Effects of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of freshwater fishes, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* L.", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **65**: 657-664, (2001).
- [112] Sayeed, I., Ahmad, I., Fatima, M., Hamid, T., Islam, F., Raisuddin, S. "Inhibition of brain Na⁺, K⁺-ATPase in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) exposed to paper mill effluent", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **65**: 161-167, (2000).
- [113] Winston, G.W., Di Giulio, R.T. "Pro-oxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms", *Aquat. Toxicol.*, **19**: 137-161, (1991).
- [114] Santos, M.A., Pacheco, M., Ahmad, I. "*Anguilla anguilla* L. antioxidants responses to in situ bleached kraft pulp mill effluent outlet exposure", *Environ. Int.*, **30**: 301-308, (2004).

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Mersin'de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Mersin'de tamamladı. 2001 yılında KTÜ Giresun Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2005 yılında aynı üniversiteden mezun oldu. 2005 yılında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Tezli Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve halen devam etmektedir.