

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**METİL ORANJ TEKSTİL BOYAR MADDESİNE MARUZ KALAN
Gammarus pulex 'de BAZI ANTİOKSİDAN VE DETOKSİFİKASYON ENZİM
AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Metin YAMAN

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM

TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METİL ORANJ TEKSTİL BOYAR MADDESİNE MARUZ KALAN
Gammarus pulex'de BAZI ANTİOKSİDAN VE DETOKSİFİKASYON ENZİM
AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metin YAMAN

(11881026)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM

TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METİL ORANJ TEKSTİL BOYAR MADDESİNE MARUZ KALAN
***Gammarus pulex*'de BAZI ANTİOKSİDAN VE DETOKSİFİKASYON ENZİM**
AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Metin YAMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez **19/03/2018** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Doç. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi E. Işıl
ARSLAN TOPAL
(Fırat Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Mehtap
TANYOL
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

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

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB017-05

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

Metil Oranj Tekstil Boyar Maddesine Maruz Kalan *Gammarus pulex*'de Bazı Antioksidan ve Detoksifikasyon Enzim Aktivitesindeki Değişiklikler

ÖZET

Tekstil boyaları bugün dünyada büyük ölçüde kullanılmaktadır ve tekstil endüstrisi ulus ekonomisinde önemli bir rol oynamaktadır. Boya imalatı, baskı, boyama ve tekstil endüstrilerinden gelen boya kirleticileri çevre kirliliğinin ana kaynaklarını oluşturmaktadır. Bu endüstri kuruluşlarının çıkış suları genellikle renklidir ve atıksuyun alıcı su kaynaklarına doğrudan deşarjı, sucul yaşama hasara neden olacaktır.

Bu çalışma, *Gammarus pulex*'teki bazı antioksidan ve detoksifikasyon enzimi aktivitelerinin değişimlerini kullanarak metil oranj (MO) toksisitesini belirlemek için yapılmıştır. LC50 (letal konsantrasyon 50) değerini belirlemek için statik bir test kullanıldı. MO LC değeri 1737,3 ppm olarak tespit edildi ve sonra *G. pulex* üç subletal dozda (LC değerinin 1/4; 1/8 ve 1/16) oranında MO'ya 24 ve 96 saat boyunca maruz bırakıldı. ELISA kiti kullanılarak Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GP_x), Sitokrom p450 (CYP1A1), glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ve glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlendi.

Farklı MO dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda CAT ve CYP1A1 aktivitelerinin arttığı bulunmuştur. GST aktivitesi ve GSH, MDA düzeyleri, farklı MO dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda artmıştır. GP_x faaliyetleri tüm gruplarda değişmiş fakat gözlenen bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Farklı konsantrasyonlardaki MO'nun SOD aktivitesini farklı düzeylerde etkilediği görülmüştür. Çalışmamızda, maruz kalma süresinin, GST ve GSH dışındaki biyokimyasal biyolojik belirteçleri önemli ölçüde etkilemediği bulunmuştur.

Sonuç olarak, antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerindeki değişiklikler ve lipid peroksidasyonu potansiyel olarak çevre içindeki boyaların risk değerlendirmesi için hassas biyolojik belirteç olarak kullanılabilir ve deşarj düzenlemelerinin yapılmasına katkıda bulunabilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzim, Detoksifikasyon enzimi, *G. pulex*, Metil oranj

Changes in Some Antioxidant and Detoxification Enzyme Activities in *Gammarus pulex* Exposed to Metil Orange Textile Dye

ABSTRACT

Textile dyes are largely used in the World today and textile industry plays an important role in nation's economy. Dye pollutants from the dyestuff manufacturing, dyeing, printing and textile industries are major sources of environmental pollution. The effluents of these industries are usually strongly colored, and the direct release of the wastewater into receiving water body will provoke damage to aquatic life.

The present study was undertaken to determine the toxicity of the methyl orange by using the changes of some antioxidant and detoxification enzyme activities in *Gammarus pulex*. A static test was used to determine the LC50 value. LC value of methyl orange (MO) was determined as 1737,3 ppm and then three sublethal dose of MO (1/4; 1/8 and 1/16 of LC value) were exposed to *G.pulex* during 24 and 96 hours. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GP_x), cytochrome p450 (CYP1A1), Glutathione S-transferase (GST) activities and glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels were determined by using ELISA kit.

The CAT and CYP1A1 activities were decreased in all the groups exposed to different doses of MO. GST activity and GSH, MDA levels were increased all the groups exposed to different doses of MO. The GP_x activities were changed in all the groups. It is observed that MO affected SOD activity in different levels and in different concentrations. In our study, it has been found that exposure duration didn't significantly affect the biochemical biomarkers except GST and GSH.

In conclusion, alterations in antioxidant and detoxification enzymes and lipid peroxidation may potentially be used as sensitive biomarkers for risk assessment of dyes in the environment and may contribute to the establishment of discharge regulations.

Key words: Antioxidant enzyme, Detoxification enzyme, *G. pulex*, Methyl orange

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmayı destekleyen Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim (YLMUB017-05).

Bu çalışmanın planlanması, hayata geçirilmesi, tezimin yazımı ve deneysel aşamamda her an yanımda olan, bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım saygı değer danışmanım Sayın Doç. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM' a değerli katkısından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen Fen Bilimleri Enstitü Müdürü sayın Doç. Dr. Numan YILDIRIM'a ve Su Ürünleri Fakültesi öğretim elemanı Sayın Osman SERDAR'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan yüksek lisans öğrencileri Eşref GEZER ve Elif KARDAŞ' a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmam süresince maddi, manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

METİN YAMAN

TUNCELİ-2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜRLER.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VII
RESİMLER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Su Kirliliği.....	2
1.1.1. Atıksu.....	3
1.2. Tekstil Boyama Endüstrisinde Kullanılan Başlıca Boyalar.....	4
1.2.1. Azo Boyalar.....	5
1.2.1.1. Metil Oranj.....	5
1.3. Biyoindikatörler ve Biyobelirteçler.....	6
1.3.1. Biyoindikatör Bir Tür Olarak <i>Gammarus pulex</i>	7
1.3.2. <i>Gammarus pulex</i> Türünün Sistemdeki Yeri.....	7
1.3.3. Biyobelirteçler.....	8
1.4. Oksidatif Stres.....	8
1.4.1. Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Savunma Sisteminin Rolü.....	9
1.4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	10
1.4.3. Katalaz (KAT).....	10
1.4.4. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	11
1.4.5. Glutasyon (GSH).....	11
1.4.6. Malondialdehit (MDA).....	12
1.5. Biyotransformasyon.....	12
1.5.1. Sitkrom P450 (CYP1A1).....	14
1.5.2. Glutasyon S-transferaz (GST).....	15

2.	MATERYAL METOD.....	16
2.1.	Model Canlının Doğadan Temini.....	16
2.2.	<i>G.Pulex</i> 'lerin Labaratuvar Koşullarına Adaptasyonu.....	17
2.3.	Çalışmada Boyar Madde.....	18
2.4.	Metil Oranj'ın LC50 Değerlerinin Belirlenmesi.....	19
2.5.	<i>G.Pulex</i> 'in Metil Oranj Tekstil Boyar Maddesine Maruz Bırakılması...	19
2.6.	Diseksiyon İşlemleri ve Dokuların Hazırlanması.....	19
2.7.	Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi.....	19
2.7.1.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	20
2.7.2.	Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	20
2.7.3.	Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	20
2.7.4.	Glutasyon Düzeylerinin Belirlenmesi.....	20
2.7.5.	TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi) Düzeylerinin Belirlenmesi.....	21
2.7.6.	Glutathione S-Transferase Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	21
2.7.7.	SitokromP450 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	21
3.	BULGULAR.....	22
3.1.	Enzimatik Antioksidanlar.....	23
3.1.1.	SOD Aktivitesi.....	24
3.1.2.	KAT Aktivitesi.....	24
3.1.3.	GP _x Aktivitesi.....	25
3.2.	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	25
3.2.1.	GSH Düzeyleri.....	26
3.3.	MDA Seviyeleri.....	27
3.4.	Detoksifikasyon Enzimleri.....	28
3.4.1.	CYP1A1.....	28
3.4.2.	GST Aktivitesi.....	29
4.	TARTIŞMA.....	31
5.	SONUÇLAR.....	37
6.	ÖNERİLER.....	38
	KAYNAKÇA.....	39
	ÖZGEÇMİŞ	50

SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Metil oranj.....	6
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de SOD (u/ml) düzeylerindeki değişiklikler.....	24
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de CAT (nmol/dk/ml) düzeylerindeki değişiklikler.....	25
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya Maruz Kalan <i>g. pulex</i> 'de gpx (nmol/dk/ml) Düzeylerindeki Değişiklikler.....	26
Şekil 3.4. farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de GSH (nmol/gdoku) düzeylerindeki değişiklikler.....	27
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de MDA (nmol/gdoku) düzeylerindeki değişiklikler.....	28
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de CYP1A1 (pg/ml) düzeylerindeki değişiklikler	29
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan <i>G. Pulex</i> 'de GST (nmol/dk/ml) düzeylerindeki değişiklikler.....	30

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Tekstil boyama endüstrisindeki kullanılan başlıca boyalar.....23

Tablo 3.1. Tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G.Pulex*'te bazı
antioksidan ve detoksifikasyon enzim aktivitesindeki
değişimler.....20



RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1.1. <i>Gammarus pulex</i>	7
Resim 2.1. <i>G.pulex</i> 'in toplandığı alan.....	16
Resim 2.2. <i>G. pulex</i> 'in doğadan toplanması.....	17
Resim 2.3. <i>G.pulex</i> 'lere uygulama yapılan akvaryumlar.....	18



KISALTMALAR

MO	: Metil Oranj
LC₅₀	: Letal Konsantrasyon 50
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
CAT	: Katalaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
PUFA	: Poliansatüre Yağ Asitleri
MDA	: Malondialdehit
GSH	: Glutasyon
TNB	: Nitrobenzoik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
HRP	: Horseradish Peroxidase
CaE	: Karboksil Esteraz
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
CYP1A1	: Sitokrom P450
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
BOİ	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı

1. GİRİŞ

Çevre kirliliği bütün canlıların sağlığını olumsuz yönde etkileyen ve çevre üzerinde yapısal zararlar meydana getiren, onun niteliklerini bozan yabancı maddelerin; hava, su ve toprağa yoğun bir şekilde karışması olayıdır. Başka bir tanımla çevre kirliliği, ekosistemlerde doğal dengeyi bozan çeşitli ekolojik zararlardır. Değişik kaynaklardan çıkan katı, sıvı ve gaz halindeki kirlletici maddelerin hava, su ve toprakta yüksek oranda birikmesi ile çevre kirliliği meydana gelmektedir (Serin, 2010; Yağız, 2016). Çevre kirliliği türlerinden birisi olan su kirliliği, akarsu ve nehirlerin çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilerle, doğal niteliğinin ve görünümünün istenmeyen ölçüde bozulması olarak ifade edilmektedir (Erdem, ve ark.,2004; Eser, 2013). Konutlar, endüstri kuruluşları, termik santraller, gübreler, kimyasal mücadele ilaçları, tarımsal sanayi atık suları, nükleer santrallerden çıkan sıcak sular ve toprak erozyonu gibi süreçler su kirliliğini meydana getiren başlıca etkenlerdir. Bu kirlilik canlı ve cansız varlıklara zarar vermektedir.

Tekstil sektöründe renklendirme işlemleri neticesinde ortaya çıkan kirlletici yükü, tekstil atıksuları içerisindeki en büyük miktarı oluşturmaktadır. Tekstil ürünlerine renk vermek amacıyla eskiden bitki kökenli boyar maddeler kullanılırken son yıllarda ucuz ve yüksek boyama kapasitesine sahip boyar maddeler tercih edilmektedir. Ancak bu boyar maddelerin dezavantajı, toksik ve kimyasal yapıya sahip olmasıdır. Günümüzde yaklaşık olarak 10.000 farklı yapıya sahip boyar madde bulunmakta dünyada yılda 700.000 tonun üstünde üretim yapılmaktadır (Aksakal ve Ucu, 2010). Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar madde ve pigmentlerin uygulamalar esnasında oluşan kayıplar sonucunda yaklaşık %10-15'inin alıcı ortama verildiği ön görülmektedir (Dizge ve ark., 2008). Ülkemizde tekstil sektörünün sanayi üretimindeki payının %25 civarında olduğunu göz önünde bulundurursak tekstil atıksularının arıtımının gerekliliği aciliyetle önem kazanmaktadır. Su tekstil endüstrisinde fazlaca kullanıldığından fazla miktarda atıksu oluşur. Bu atıksuların içeriğini ise liflerdeki safsızlıklar, kullanılan boyar maddeler ve çeşitli kimyasallar oluşturmaktadır. Atıksularda bulunan boyar maddeler suya renk vererek suyun görünümünü bozmanın yanında ışık geçirgenliğini de azaltarak suda bulunan canlıların yaşam kaynağı olan çözünmüş oksijen miktarının azaltmakta ve canlıların

ölümüne yol açmaktadır. Günümüzde tekstil endüstrisindeki boyalı atıksular, içerdikleri maddeler nedeniyle canlılara zarar vermekte, renkli oldukları için de çevre estetiği açısından çirkin görüntülere neden olmaktadır. Boya ve tekstil fabrikalarının pek çoğunda arıtma sistemleri olmadığından atıksular direkt alıcı ortama verilmektedir. Tekstil endüstrisi atıksuları, içerdiği çeşitli boyar maddeler ve bazı boyar maddelerin yapısal bozunmaya uğramasıyla alıcı ortama yayılan ağır metal iyonlarından dolayı ciddi boyutta kirliliğe neden olmaktadır. Meydana gelen bu kirliliğin alıcı ortamlarda estetik görüntüyü bozduğu, suyun ışık geçirgenliğini ve gazların çözünürlüğünü etkilediği, metal iyonlarının ve klorürlerin suda yaşayan canlılar için toksik etki yaptığı bilinmektedir (Serin, 2010; Yağız, 2016).

1.1. Su Kirliliği

Su kirliliği göl, deniz, yeraltıları gibi su birikintilerinde görülen, çevresinde ve içinde yaşayan tüm canlı türlerine zarar veren bir kirlilik türüdür. Su kirliliğine genel olarak insanların neden olduğu bilinse de bazı zamanlarda canlı türleri arasında bozulan dengeler sonucunda da kirliliğin oluştuğu gözlemlenmiştir.

Su kirliliği, küresel olarak büyük bir sorun olduğu gibi, birçok ölüm ve salgın hastalık olaylarının nedeni olarak görülmektedir. Günde 14,000 insan doğrudan veya dolaylı olarak su kirliliğinin neden olduğu hastalıklar sonucunda yaşamını yitirmektedir (West, 2006). Buna ek olarak gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde görülen akut sorunların yanında, bu kirliliğin azaltılması için çalışmalar yapılmaktadır. Bugün dünyada yüzde olarak en çok kirli su havzasına sahip olan ülke Amerika Birleşik Devletleri'dir. Son zamanlarda yapılan ulusal bir araştırmada bu ülkedeki nehir havzalarının yüzde kırk beşi, göl havzalarının yüzde kırk yedisi, liman ve haliçlerin yüzde otuz ikisi kirlenmiş durumdadır (EPA, 2007).

Su kirliliğinin başlıca nedenleri; endüstriyel kirlenme, evsel kirlenme, tarımsal kirlenme ve ısı kirlenmesidir. Başlıca su kirlilik kaynakları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Güler, 1994)

- Endüstriyel: Kağıt imalathaneleri, kağıt hamuru hazırlama atölyeleri, kimyasal üretim, çelik fabrikaları, tekstil fabrikaları, gıda işleme birimleri.

- Kentsel: Küçük fabrika ve iş alanlarından lağım sularına karışan maddeler, yetersiz işlenmiş lağım suları, evsel atıklarla sulara ulaşan kimyasallar.

- Kombine lağım tesisatları: Yüzeysel akıntılarla sürüklenen kimyasalların karışmasına neden olabilir.

- Tarımsal kirleticiler: Hasat, otlaklar, ambarlar, değişik doğal alanlar, tarlalar

- Silvikültürel: Ormancılık, ekip biçme yol inşaatı

- İmar çalışmaları: Toprak ıslahı, otobanlar

- Doğal kaynakların eldesi: Petrol kuyuları, maden atıklarından sızıntılar.

- Atık yoketme uygulamaları: Septik tanklardan, gömülen çöplerden, zararlı atık yok etme bölgelerinden olan sızıntılar.

- Hidrolojik müdahaleler: Baraj yapımı, kanal açma, sulama çalışmaları vb.

1.1.1. Atıksu

Evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özellikleri kısmen veya tamamen değişmiş sular ile maden ocakları ve cevher hazırlama tesislerinden kaynaklanan sular ve yapılaşmış kaplamalı ve kaplamasız şehir bölgelerinden cadde, otopark ve benzeri alanlarda yağışlarda yüzey veya yüzey altı akışa dönüşmesi sonucunda oluşan sular atıksu olarak tanımlanabilir (Kertmen, 2006).

Atıksular evsel atıksular, endüstriyel atıksular ve sızıntı suları olmak üzere kaynaklarına göre üç ana başlıkta incelenebilirler.

Evsel atıksular; evler, kurumlar, ticari işletmelerden boşaltılan; insan ve hayvan dışkısı, banyo, lavabo ve yıkamadan kaynaklanan sulardır (Alkan vd., 1998). Bu tür sular; % 99' unun su, % 1'inin organik ve inorganik maddeler ile hastalık yapıcı mikroorganizmalardan oluştuğu pis görünüşlü ve kokulu sular olarak adlandırılmaktadır (Başar vd., 1998).

Sızıntı suları; katı atık depolama sahalarından salınan ya da yeraltısuları ile yerüstü sularının birleşmesiyle oluşan atıksu çeşidi olup; içerdikleri kimyasal elementler sebebiyle genellikle fiziksel ayırma teknikleriyle arıtılamayan, ileri arıtma yöntemleri gerektiren sulardır (Kızıltaş, 2013).

Endüstriyel atıksu; endüstri kuruluşlarından, imalathanelerden, atölyelerden, tamirhanelerden, küçük sanayi sitelerinden ve organize sanayi bölgelerinden kaynaklanan her türlü işlem ve yıkama artığı suları, proses suları ile karıştırılmadan ayrı olarak işlem görüp uzaklaştırılan kazan ve soğutma sularını kapsamaktadır (Demir., 2016). Endüstriyel atıksular, en önemli atıksu sınıfını oluşturmaktadır. Yapılarında ağır metaller, pestisitler, deterjan ve tuz içermektedir. Tarım arazilerini, yeraltı kaynaklarını olumsuz etkilemekte; canlı sağlığını tehdit etmektedir. Tarımda verimin azalmasına ve toprak kirliliğine bağlı olarak bitkilerde başlamak üzere besin döngüsünde aksamalara yol açmaktadır. Endüstriyel atıksular ortaya çıktıkları endüstrilere göre farklı zararlı maddeler içermektedirler. En çok madencilik, tekstil ve kimya sektörlerinden açığa çıkan atıksuların tahribat gücü yüksektir (Filiz, 2007).

1.2. Tekstil Boyama Endüstrisinde Kullanılan Başlıca Boyalar

Tekstil endüstrisinde elyafa renk vermek için boyama prosesinde oldukça çeşitli boyar maddeler kullanılmaktadır.

Tablo 1.1. Tekstil boyama endüstrisinde kullanılan başlıca boyalar (Demirbaş, 2009)

Boya Sınıfı	Özellik
Asit Boyalar	Suda çözünen, anyonik içerikli boyalardır.
Bazik Boyalar	Suda çözünen, zayıf asidik boyama tankında uygulanan, çok parlak boyalardır.
Direkt Boyalar	Suda çözünen, anyonik içerikli, mordant (krom ve bakır gibi metaller) olmaksızın selüloza doğrudan uygulanabilen boyalardır.
Dispers Boyalar	Suda çözünmeyen boyalardır.
Reaktif Boyalar	Suda çözünen, anyonik içerikli, en fazla çeşide sahip boyalardır
Sülfür Boyalar	Sülfür veya sodyum sülfid içeren organik yapıli boyalardır
Vat Boyalar	Suda çözünmez, en eski boyalar olup kimyasal olarak çok kompleks boyalardır

1.2.1. Azo Boyalar

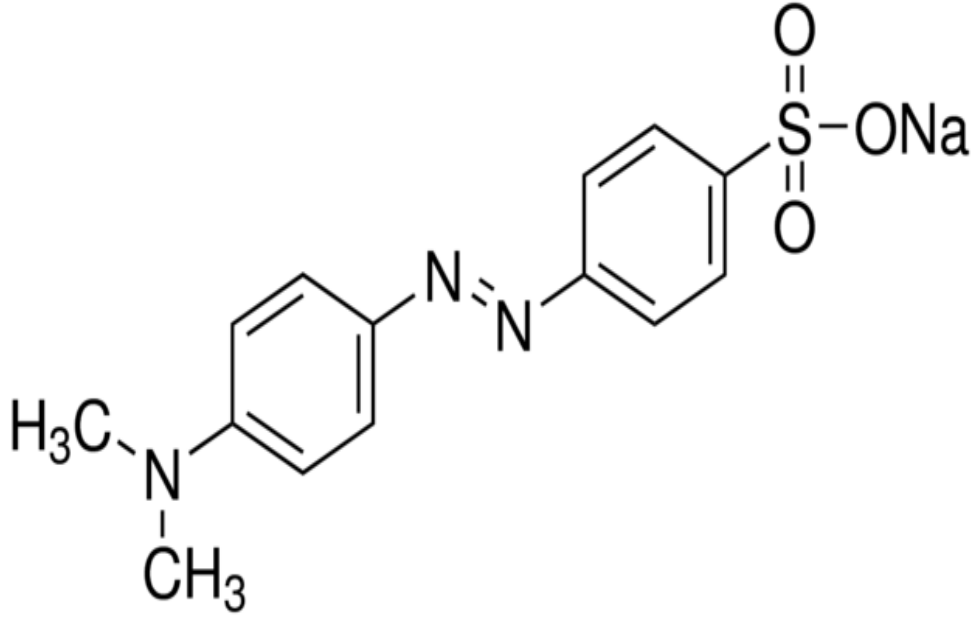
Başlıca azo boyar maddeler, nitro ve nitrozo boyar maddeler, karbonil boyar maddeler, kükürt boyar maddeler, polimetin boyar maddeler, arilmetin boyar maddeler ve aza annulen boyar maddeler olmak üzere ana gruplara ayrılır.

Azo boyalar yapısında azo grup içeren (-N=N-) tekstil endüstrisinde en yaygın kullanılan boyalardır ve çeşitli doğal ve yapay materyallerin boyanmasında kullanılır (Chung ve Stevens, 1993; Chung ve ark., 1992). Azo boyalar, elyafların (pamuk, yün, naylon, ipek) yapısında bulunan -OH, -NH, -SH grupları ile kovalent bağ meydana getiren reaktif gruplarla ifade edilirler. Sarı, turuncu ve kırmızı gibi renkleri elde etmek için azo boyar maddeler tercih edilmektedir (Dos Santos ve ark., 2007). İstenilen rengi elde etmek için boyar madde karışımları kullanılmaktadır. Azo boyalar: asit, reaktif, dispers, vat, metal kompleks, mordant, direkt, bazik ve sülfür boyalardır.

1.2.1.1. Metil Oranj

Metil oranj, tekstil, baskı, kağıt, ilaç, gıda endüstrisinde ve araştırma laboratuvarlarında geniş kullanım alanı olan suda çözünebilen bir monoazo boyadır (Şimşek, 2011).

Bir mono azo boyası olan metil oranj, $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ moleküler formülüne ve 327,33 molekül ağırlığına sahiptir. Mavi-yeşil renkteki ışığı absorplayan metil oranjın yapısı 4-(4-(Dimetilamino) fenilazo) benzen sülfonik asit sodyum tuzu şeklindedir (Tükenmez, 2013).



Şekil 1.1. Metil oranj

1.3. Biyoindikatörler ve Biyobelirteçler

Artan insan aktivitesi, su kaynaklarındaki fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçleri değiştirmektedir. Bu değişim kaynaklarda yaşayan biotayı da etkilemektedir. Yapılan araştırmalar bu değişimin düzeyini belirlemek için kimyasal incelemelerin yanısıra biyolojik incelemelerin de yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Biyolojik incelemeler kimyasal yöntemler ile tespit edilemeyen bazı verilerin elde edilmesi bakımından avantaj sağlamaktadır. Biyoindikatör ve biyobelirteç (biomarker) kavramları bu incelemelerin kaynağını oluşturmaktadır. Biyoindikatörler sucul ortamlarda yaşayan bazı spesifik tür veya tür gruplarını içerirken, biyobelirteçler bu canlılara ait bazı biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik parametreleri içermektedir. Sucul ekosistemlerde meydana gelen değişikliklerin izlenmesi için oluşturulan biyoizleme programlarına biyoindikatör türler ve biyobelirteç parametreler mutlaka dahil edilmelidir (Dönmez ve Yılmaz, 2015).

1.3.1. Biyoindikatör Bir Tür Olarak *Gammarus pulex*

Gammarus üyeleri, sulara karışan çevresel kirleticilere karşı balıklardan daha duyarlı organizmalardır. Çeşitli kirleticilere olan hassasiyetlerinden, çabuk üretilibilmelerinden ve çok sayıda toplanabilmelerinden dolayı bu cinsin toksikolojik çalışmalarındaki kullanımı giderek artmaktadır (Arthur, J.W. 1980; Graney, L.R. 1986).

1.3.2. *Gammarus pulex* Türünün Sistematikteki Yeri

Alem: Animalia

Şube : Arthropoda

Altşube : Crustacea

Sınıf : Malacostraca

Takım : Amphipoda

Aile : Gammaridae

Cins : *Gammarus*

Tür : *Gammarus pulex*



Resim 1.1. *Gammarus pulex*

Su kalitesi değerlendirme çalışmalarında *Gammarus*'un etkin bir şekilde kullanıldığı yapılan literatür araştırmalarında kanıtlanmıştır. Coulaud ve ark., (2011) yaptıkları laboratuvar çalışmalarda kabuklulardan olan gammaridlerin su kalitesinin tanı ölçümü için umut vadeden araçlar olarak öne sürmüşlerdir. Maltby ve Crane., (1994)'de yaptıkları çalışmada *G. pulex*'in (amphipoda, crustacea) metalik atıklara

karşı tepkilerini araştırmışlar, toksik bileşenleri belirlemişler ve popülasyonlar arası varyasyonu incelemişlerdir. Metalik atıkların atıksu kalitesine etkisini değerlendirmek için *G. pulex*'in duyarlı bir indikatör tür olduğu kanıtlanmıştır. Marmonier ve ark., (2013)'de yaptıkları çalışmada *G. pulex*'in yeraltı su kalitesini değerlendirmede etkin bir indikatör tür olduğunu önermişlerdir.

1.3.3. Biyobelirteçler

Biyobelirteçler saha veya labaratuvar çalışmaları için değerli bilgiler sağlayan ve kimyasalların biyokimyasal hücresel ve doku düzeyindeki fizyolojik etkilerini ölçmek için kullanılan araçlardır. 1980'lerin sonundan beri yaygın olarak kullanılan biyobelirteçler kirleticilerin ve çevresel stresin biyolojik etkilerini izleme çalışmalarında kullanılmaktadırlar (Beliaeff ve Burgeot, 2002). Biyokimyasal belirteçler önemli kirleticilerin toksikolojik mekanizmalarında meydana gelen erken moleküler olaylar arasından seçilmektedir (Banni ve ark. 2005).

1.4. Oksidatif Stres

Biyokimyasal parametreler sucul organizmaların sağlık durumlarının bir göstergesi olarak sıkça kullanılmaktadır. Bu bakımdan herhangi bir stresin göstergesi olarak biyokimyasal metotların kullanımı, bu değişen çevreye karşı canlıların fizyolojik tepkileri hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (Blaxhall, 1973). Aerobik organizmalarda normal fizyolojik ve metabolik süreçler sonucunda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) çok toksiktir ve birçok biyomolekülü oksitleyerek hücre ölümüne ve doku hasarlarına yol açarlar. Bu reaktif oksijen türleri insan vücudunda devamlı oluşturulurlar ve normal şartlar altında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaktadırlar. Prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge, aerobik organizmaların fonksiyonu ve yaşamı için önemlidir. Prooksidanlar lehine ve/veya antioksidanlar aleyhine bir dengesizlik, canlı vücudunda güçlü bir şekilde hasara yol açar ve bu oksidatif stres olarak adlandırılır (Meotti ve ark, 2004). Bir başka deyişle oksijen radikallerinin fazla yapımının neden olduğu etkilerin toplamı oksidatif stres olarak adlandırılır

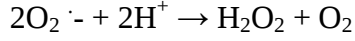
(Yurdakul, 2003). Serbest oksijen radikallerinin uzaklaştırılmasında bir azalma olduğu zaman ya da aşırı üretilmeleri durumunda patolojik bir durum oluşabilir. (Meotti ve ark, 2004).

1.4.1. Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Savunma Sisteminin Rolü

Normal fizyolojik koşullarda hücreler, oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Enzimatik olanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR)'dır. Enzimatik olmayanlar ise; glutatyon, Vitamin E, Vitamin C, Vitamin A gibi vitamin türleri ile Flavonoidler, Melatonin, Hemoglobin, Miyoglobin Askorbik asit, Transferrin, Laktoferrin, Albümin, Sistein, Bilirubin, Mannitol, Lipoik asit, Hemopeksin, Glutatyon, Koenzim Q, karotenoidler ve bazı eser elementlerdir (De Zwart ve Meerman, 1999; Deaton ve Marin, 2003, Valavanidis ve ark, 2005). Lipid peroksidasyonu, poliansatüre yağ asitlerinin zincirleme bir radikal reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonu serbest radikaller tarafından sebep olunan oksidatif stresin bir göstergesi olarak en yaygın kullanılan metotlardan biridir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitleri (PUFA) grubu serbest radikallerle olan reaksiyonlara karşı çok hassastır. Yağ asitlerinde lipidlerin peroksidasyonu bir radikal zincir reaksiyonuna sebep olabilir ve bu reaksiyon kendi kendine katalizlenerek devam etmektedir (De Zwart ve Meerman, 1999). Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerin başlıcaları malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal, 4-hidroksi-2,3-transnonenaldır. Lipid peroksitlerinin konsantrasyonları arttıkça, membranların akışkanlıkları azalır ve kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişi kolaylaşıp, sonuçta hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkmaktadır (Deaton ve marlin, 2003; Valavanidis ve ark, 2005). Antioksidan enzimlerin seviyeleri, organizmanın antioksidan durumunun bir indikatörü ve oksidatif stresin biyobelirteci olarak kullanılabilir (Barim ve Karatepe, 2010).

1.4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

O_2^- anyonunun H_2O_2 'ye dismutasyonunu gerçekleştiren enzimdir (Valko vd., 2004).

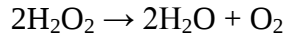


Bu tepkime oksidatif strese karşı savunmayı ilk olarak başlatır (Gilbert vd., 2002). Bu tepkime sonucunda oluşan ürünler ya lizozomlardaki katalaz (CAT) tarafından ya da mitokondrideki glutatyon peroksidaz tarafından H_2O 'ye detoksifiye edilir (Johansen vd., 2005).

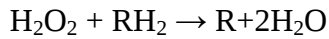
1.4.3. Katalaz (CAT)

Yaklaşık 240 kDa molekül ağırlığında olup, aktif kısmında dört tane Fe^{+3} bulunduran bir hemoproteindir. Her alt ünite aynı zamanda enzimi kendi substratı H_2O ye karşı koruyan ve etkinliğini artıran NADPH içerir (Halliwell ve Gutteridge 1999, Nordberg ve Arner, 2001, Young ve Woodside 2001, Memişoğulları 2005). Katalaz, SOD a benzer bir dismutasyon mekanizması ile hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalayarak biyolojik sistemleri H_2O_2 'nin zararlarına karşı korurlar (Duthie 1989, Halliwell ve Gutteridge 1999).

Katalaz hidrojen peroksinin su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizler.



Katalaz ayrıca fenol, alkol gibi farklı substratların, hidrojen peroksinin çift redüksiyonu ile detoksifikasyonunu sağlar.



1.4.4 Glutatyon Peroksidaz (GP_x)

Glutatyon peroksidaz (GP_x; EC 1.11.1.9) indirgenmiş glutatyonu kullanarak hidrojen peroksit (H_2O_2) veya organik hidroperoksitlerin su veya alkollere indirgenmesini katalizler (Doroshov, 1995). Glutatyon peroksidazın

biomembranların doymamış lipidlerini oksidatif zarardan koruduğu bildirilmiştir. Glutasyon peroksidaz inorganik ve organik peroksitlerin yıkımlanmasını katalizler (Rayman, 2000). Bu şekilde lipid peroksidasyonu önler ve böylece hücre membranlarını oksidatif zarardan korur (Czuczejko ark., 2003).

GSH-Px enzimi dört protein alt biriminden oluşur. Tetramerik yapıda olup, her bir aktif bölgesinde selenyum taşımaktadır. Aktif katalizde prostetik grup olarak selenyum fonksiyon gösterir (Awasthi ark., 1979).

1.4.5. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) canlı organizmalarda çok fonksiyonlu bir tripeptittir (L-y-glutamil-L-sisteinilglisin). Bir sistein kalıntısı şeklindeki bir aktif tiol grubunun bir taşıyıcısı olarak, doğrudan reaktif oksijen / azot türleri ve elektrofiller ile etkileşerek veya çeşitli enzimler için bir kofaktör olarak çalışarak bir antioksidan olarak işlev görür. İndirgenmiş ve oksitlenmiş glutasyon formları (GSH ve GSSG) diğer redoks-aktif bileşiklerle (örn., NAD(P)H) birlikte çalışarak belirli hücresel redoks durumlarını regüle ederler. GSH, oksidasyon konjugasyon ve hidroliz gibi birçok yolla tüketilir. GSH doğrudan ROS ve RNS ile dolaylı olarak da GSH bağımlı peroksidaz katalizleyici reaksiyonlar sırasında okside edilebilir. Endojen ve eksojen elektrofiller ile konjugasyon hücresel GSH'nin önemli miktarını tüketir. Glutasyon hücrelerde birkaç ek fonksiyona sahiptir. Sisteinin rezerv formunu oluştururlar, nitrik oksit depolar ve nakleder, östrojen, lökotrien ve prostaglandinlerin metabolizmasına katılır, ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere indirgenmesini sağlar, demir- çeşitli proteinlerin sülfür kümeleri, (iv) bazı transkripsiyon faktörlerinin yönetilmesinde yer alır ve birçok ksenobiyotiklerin ve endojen bileşik detoksifikasyonunda rol oynarlar (Halliwell ve Gutteridge 1999; Aksoy 2002; Mytilineou, ve ark. 2002; Memişoğulları, 2005).

1.4.6. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden bir tanesi olup, oksidatif hasar düzeyini göstermede kullanılır (Nielsen vd., 1997; Dinçel ve

ark., 2009). Önemli serbest oksijen radikallerinden olan süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil iyonlarının (OH) fosfolipidler ve yağ asitleri ile birleşmeleri sonucu aldehitleri de içine alan çok sayıda yapı oluşmaktadır (Kaklıkkaya vd., 2010). Bu olay genellikle lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Lipid peroksidasyonu, normal fizyolojik olaylarda gerçekleşmekle birlikte, viral veya bakteriyel enfeksiyon, ksenobiyotikler, yangı ve radyasyona maruz kalma gibi durumlarda da dikkati çekmektedir (Esterbauer vd., 1991). ROS'lar sayesinde oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membranında hasar meydana getirerek, hücrenin geçirgenliğini etkiler ve hücre içine aşırı Ca^{+2} birikmesine neden olarak, hücre membranı disfonksiyonu sonucu hücre şişmesi ve hücre ölümü ile son bulur (Kaçmaz vd., 2004). Kontrol edilemeyen peroksidasyon, membran geçirgenliğini ve permeabilitesini değiştirir. Bu nedenle lipid peroksitler ve MDA gibi ikincil metabolitler dolaşım yoluyla diğer dokularda hasara sebep olabilirler (Suhail vd., 2009). Lipit peroksitler kararsız bileşikler olup hızlıca bozunma eğilimi gösterdiklerinden kısa zincirli alkan ar, aldehitler gibi çeşitli ürünlere dönüşebilirler. Dolayısı ile genelde tiyobarbitürik asit-reaktif maddeler (TBARS) ve sitotoksik aldehitlerin ölçümleri yapılmaktadır (Meagher ve Fitzgerald, 2000).

1.5. Biyotransformasyon

Kimyasal kirlenmeye bağlı olarak organizmada ortaya çıkan biyolojik değişimlerin en önemlilerinden birisi enzim aktivitelerinde gözlenen farklılıklardır. Biyotransformasyon enzimlerinin belirli kirleticiler yolu ile indüksiyonu gibi moleküler etkilerinin çalışılması, bizlere kirletici düzeyleri, bu kirleticilerin sinerjistik veya antagonistik etkileri ve organizmanın savunma tepkileri hakkında önemli bilgiler verebilir. Bu tip araştırmalar çalışılan alanın su kalitesinin belirlenmesinde çok büyük kolaylıklar sağlamaktadır (Göksoy ve Förlin, 1992) .

Sucul ve karasal hayvanlar çeşitli enzimler tarafından katalize edilen oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjügasyon reaksiyonları ile yabancı bileşikleri metabolize ederler. Ksenobiyotikler böylece biotransforme edilir daha az toksik ve daha polar hale getirilir ve vücuttan atılır (Buhler ve Williams, 1989).

Ksenobiyotiklerin metabolizması iki aşama içerir; birincisi reaktif alan oluşturmak için oksijenin kullanıldığı ve Faz 1 metabolizması olarak bilinen fonksiyonel aşama, ikincisi reaktif alana suda çözülebilir grupların eklenmesiyle sonuçlanan ve faz 2 metabolizması olarak bilinen konjugasyon aşamasıdır (Karakurt, 2008). Vücut ksenobiyotiklerin yüksek dozuna maruz kaldığında Faz 1 ve Faz 2 enzimleri bu bileşikleri detoksifiye etmek amacıyla indüklenir (Keskinaya, 2015). Sitokrom P450 monooksijenaz enzim sistemi, steroidler, yağ asiti, prostaglandinler, lökotreinler ve daha birçok doğal bileşiklerin olduğu kadar karsinogenlerin, mutagenlerin ve ilaçların oksidatif mekanizmasına katılan ‘‘hemtiyolat’’ yapısından protein enzimlerden oluşur (Nebert ve Gonzalez, 1987). Sucul ortamdaki kirleticiler; poliaromatik hidrokarbonlar, poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve dibenzofuranlar (PCDD/PCDF), polihalojenlenmiş bifeniller (PCB, PBB) ve pestisit, herbisit gibi diğer halojenlenmiş bileşiklerin sucul canlılarda CYP450 aktivitelerini indüklediği kanıtlanmıştır (Goksoy ve Förlin, 1992) .

GST'ler, hem ksenobiyotiklerin hem de endojen maddelerin biyotransformasyonunda önemli rol oynayan enzimlerin bir ailesidir ve GST indüksiyonu, farklı ksenobiyotiklere maruz kalmanın bir biyolojik belirteçi olarak kullanılmıştır (Osten ve ark., 2005).

Yapılan çeşitli çalışmalarda Sitokrom p450 kirliliğin bir biyokimyasal biyobelirteçi olarak kullanılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlarda tekstil atıksuyuna maruz bırakılan tatlı su ıstakozunda CYP1A1 aktivitesinin azaldığı bulunmuştur (Aksu ve ark., 2015). Yapılan bir başka çalışmada çevresel kirletici bir olarak kurşunun etkileri *Gammarus pulex* (L) 'de araştırılmış ve 7-etoksiresolufin O-deetilaz (EROD) enzimi üzerindeki değişimler incelenmiştir. Kurşun asetatın muamelesinin CYP1A indüksiyonun bir göstergesi olan EROD aktivitesini inhibe ettiği önerilmiştir (Kutlu ve Susuz, 2004). Keskinaya, (2015) Çavuşçu ve Beyşehir Göllerinde organik kirliliğin neden olduğu etkileri belirleyebilmek için o göllerde yaşayan sazan balığı örneklerinde CYP450 enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

1.5.1. Sitokrom P450 (CYP1A1)

Bilindiği üzere vücuda giren her çeşit yabancı kimyasal (ksenobiyotikler), Faz I ve Faz II enzimleri ile metabolitlerine çevirilerek vücuttan atılır. Vücuda alınan ve çoğunluğu hidrofobik yapıdaki ksenobiyotikler karaciğerde önce Faz I enzimleri tarafından katalizlenen redüksiyon, oksidasyon ve hidroliz reaksiyonları sonucunda kısmen daha suda çözünür metabolitlere dönüştürülürler. Faz I reaksiyonları, substratın doğasına göre kimi zaman aktivasyon kimi zaman deaktivasyonla sonuçlanır. Bu metabolitlerin bir kısmı bundan sonra, Faz II enzimleri olarak adlandırılan konjugasyon enzimleri tarafından daha da hidrofilik yapıda olan sülfat, glukuronik asit gibi konjugatlarına çevirilirler. Faz II reaksiyonları çoğunlukla deaktivasyonla sonlanır ve oluşan metabolit vücuttan atılır (Buhler ve Williams, 1989).

Sitokrom P450 enzimleri ise, farklı ve çok çeşitli substrat özgüllüklerine sahip bir enzim süper ailesidir. Bu enzimler; çevresel kirleticiler, kimyasallar, ilaçlar, antioksidanlar, organik çözücüler, anestezi ajanlar, boyalar gibi ekzojen bileşiklerin metabolizmasında rol almalarının yanı sıra, steroid hormonlar, yağ asitleri, kolesterol, safra asidi, prostoglandinler, biojenik aminler, retinoidler gibi endojen kaynaklı bileşiklerin de oksidatif, redüktatif ve peroksidatif metabolizmasından da sorumludur (Gonzalez, 1989; Guengerich, 1992; Waterman, 1996). Organizmada endojen ve ekzojen kaynaklı bileşiklerin metabolizmasında ve çeşitli fizyolojik işlevlerinde çok önemli role sahip sitokrom P450 enzimleri arkelerden, funguslara mayalara; bitkilerden hayvanlara kadar yaşamın tüm formlarında bulunmaktadır (Wright ve ark., 1996).

Bazı sitokrom P450'lerin seviyeleri ve aktiviteleri çeşitli kimyasallara maruz kalma neticesinde de artma veya azalma gösterebilir (Conney ve ark., 1956). Sitokrom P450'lerin substratı olan pek çok endojen ve ekzojen maddenin aynı zamanda enzimin yarışmalı, yarışmasız ve geri dönüşümsüz inhibitörü, indükleyicisi veya baskılayıcısı oldukları durumlar da söz konusudur (Coleman, 2005; Estabrook, 2003).

1.5.2. Glutasyon S-transferaz (GST)

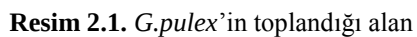
Ksenobiyotik metabolizmasında oldukça önemli role sahip bir diğer enzim ailesi GST' lar (glutasyon-S-transferaz) [E.C.2.5.1.18], ilaçların ve ksenobiyotiklerin büyük bir kısmının Faz II metabolizmasından sorumludur. Bu enzimler, çeşitli ekzojen veya endojen kaynaklı elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin, glutasyon (GSH) ile konjugasyonunu sağlayarak vücuttan atılımlarını gerçekleştirir (Bulavin ve ark., 1996; Mosialou ve ark., 1993).

GST' lar, elektrofilik substratların, GSH'a nükleofilik ataklarını katalize eder dolayısıyla, bu substratların hücre içerisindeki makromoleküllere karşı reaktivitelerini azaltır (Armstrong, 1997). Bu enzimler, ksenobiyotikleri GSH'daki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder. Bu sayede oluşan GSH konjugatlarıyla bileşiğin daha fazla suda çözünür hale gelmesi sağlanır. Bu aşamanın ardından GSH'dan koparılan glutamat ve glisin, serbest amino grubu ile asetillenip, merkapturik asitlere dönüştürülür ve safra yolu ile vücuttan atılır. Bu şekilde, pekçok potansiyel kanserojen, sitotoksik ve genotoksik bileşiğin GSH ile konjugasyonu sonucu vücuttan atılımlarını sağlayan bu enzim ailesi, vücut için oldukça önem taşıyan enzim gruplarından biridir (Canuto ve ark., 1993; Listowsky ve ark., 1988; Onat ve Emerk, 1996; Thomas ve ark., 1989).

Bu çalışmada; çeşitli konsantrasyonlarda metil oranj tekstil boyar maddesine maruz bırakılan *G. pulex*'de bazı antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerindeki değişimlerin araştırılması amaçlanmıştır.

2.1. Model Canlının Doğadan Temini

G. pulex’ler haziran 2017 – temmuz 2017 döneminde, örnekleme noktasının akıntılı kısımlarından dip kepçesi yardımıyla, durgun kısımlarından hortumla vakumlanmak suretiyle toplanarak, hava takviye edilmiş tanklarla Munzur Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Akuatik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına canlı olarak getirilmiştir.





Resim 2.2. *G. pulex*'in doğadan toplanması

2.2. *G. pulex*'lerin Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu

Laboratuvara canlı olarak getirilen *G. pulex* örnekleri doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlara yerleştirilmiştir. Bu amaçla canlı materyalin yaşam ortamından getirilen sedimentler distile su ile yıkanarak 80x40x25 cm ebatlarındaki stok akvaryumlarına ilave edilmiştir. Akvaryumlara örneklerin temin edildiği doğal ortamlardan alınan dinlenmiş su konulmuştur. Laboratuvar aydınlatmasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde fotoperyot uygulanmıştır (Welton ve Clarke, 1980). Ortam sıcaklığı termostatlı klima sayesinde hem adaptasyon hem de test aşamalarında 10, 14 ve 18°C'ye ayarlanarak sabit tutulmuştur. *G. pulex*'lerin doğal ortamlarından toplanan salkım söğüt ve çayır söğüdü ağaç yaprakları cam bir kapta, suyun içinde çürütülerek *G. pulex*'lerin beslenmesinde kullanılmıştır (Cold ve Forbes, 2004).

Stok akvaryumlarında su sirkülasyonu için harici filtre, *G. pulex*'lerin oksijen ihtiyacını karşılamak için hava motoru kullanılmıştır. Akvaryumlardaki suların %70'i canlıların doğal ortamından temin edilen dinlenmiş suyla haftada bir

değiştirilerek yenilenmiştir. Adaptasyon süresince canlıların beslenmesi ve hareketliliği gözlemlenmiştir.



Resim 2.3. *G. pulex*'lere uygulama yapılan akvaryumlar

2.3. Çalışmada Boyar Madde

Çalışmada kullanılan boyar madde metil oranj ($C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$) Merck firmasından ticari olarak satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan K_2HPO_4 Merck firmasından ve KH_2PO_4 ise Sigma-aldrich firmasından temin edilmiştir.

2.4. Metil Oranj'ın LC50 Değerlerinin Belirlenmesi

96 saat maruziyet sonrasındaki Metil oranj'ın LC₅₀ değeri belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle aralık belirleme çalışması yapılmış,sonrasında statik test uygulanmıştır (APHA, 1998).

2.5. *G.pulex*'in Metil Oranj Tekstil Boyar Maddesine Maruz Bırakılması

Metil oranj'ın (MO) LC değeri 1737,3 ppm olarak tespit edildi ve sonra üç subletal dozda MO (LC değerinin 1/4; 1/8 ve 1/16 oranında) 24 ve 96 saat boyunca *G. pulex*'e uygulandı. *G. pulex* (her grup için n: 10), 24 saat ve 96 saat boyunca MO içeren sentetik solüsyonlara maruz bırakılmıştır. Dört deney grubu aşağıdaki şekilde tasarlanmıştır: A (434,3 ppm MO içeren Grup); B (217,1 ppm MO ihtiva eden grup); C (108,5 ppm MO içeren grup) ve Kontrol Grubu.

2.6. Diseksiyon İşlemleri ve Dokuların Hazırlanması

Bu kısımda yapılacak tüm çalışmalar Munzur Üniversitesi Merkezi ARGE Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda model canlı olarak *G. pulex* kullanılmıştır. Dokular tartılmış ve 1/5 w / v oranında PBS tamponu (fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) eklenerek, buz ile birlikte homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu örnekler soğutmalı santrifüjde 17000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek ve elde edilen süpernatantlar -86 °C' de derin dondurucuda ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.7. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi

Çalışmamızda biyokimyasal yanıtın belirlenmesi için, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), sitokrom p450 (CYP1A1), glutatyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ve glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlendi.

Çalışmada kullanılan SOD, KAT, GP_x, GST, GSH ve MDA ELISA kitleri CAYMAN firmasından satın alınmıştır. Katalog numaraları: (KAT: 707002, SOD: 706002, GP_x: 703102, GST: 703302, GSH: 703002, MDA: 10009055)

CYP1A1 kiti ise CUSABIO firmasından satın alınmıştır (katalog no: CSB-EL006395FI).

2.7.1. Süper Oksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kit içeriğinin belirlediği bu yöntem, ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikallerinin belirlenmesi için tetrazolium tuzunu kullanılır. Bir ünite SOD Süperoksit radikalının % 50'sinin dismutasyonunu gösteren enzim miktarı olarak tanımlamaktadır. Bu yöntem üç tip SOD'un aktivitesini de belirlemektedir Cu/Zn, Mn, Fe -SOD).

2.7.2. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kullandığımız kit enzim aktivitesinin belirlenmesi için CAT'nin peroksidatik fonksiyonunu kullanır. Yöntem enzimin optimal bir H₂O₂ konsantrasyonunun varlığında metanol ile reaksiyona girmesine dayanır. Üretilen formaldehit, 4-amino-3-hidrazino-5-merkapt-1,2,4-triazol (Purpald) ile kromojen olarak spektrofotometrik olarak ölçülür. 1,2 Purpald, özellikle aldehitlerle bisiklik bir heterosikl oluşturur; oksidasyon değişimine bağlı olarak renksizden mor renge doğru bir değişim gözlenir.

2.7.3. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kullanılan Kit, GP_x aktivitesini glutatyon redüktaz (GR) ile birleşmiş reaksiyon ile dolaylı olarak ölçer. GP_x tarafından bir organik hidroperoksidin indirgemesi sonucunda üretilen okside glutatyon (GSSG), GR ve NADPH ile indirgenmiş durumuna geri dönüştürülür. NADPH'nin NADP + 'ya oksidasyonu, 340 nm'de absorbandsa bir azalmayı tetikler. A340'daki düşüş oranı, numunedeki GP_x etkinliği ile doğru orantılı olarak hesaplanır.

2.7.4. Glutasyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Cayman'ın GSH analiz kiti, GSH miktarının belirlenmesi için glutasyon redüktazı kullanan özenle optimize edilmiş bir enzimatik geri dönüşüm yöntemini kullanır. GSH'nin sülfhidril grubu, DTNB (5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit, Ellman's reaktif) ile reaksiyona girer ve sarı renkli 5-tio-2-nitrobenzoik asit (TNB) üretilir. Eşzamanlı olarak üretilen karışık disülfür, GSSTNB (GSH ve TNB arasında) GSH'yi geri dönüştürmek ve daha fazla TNB üretmek için glutasyon redüktazı ile indirgenir. TNB üretimi oranı doğrudan bu örnekte GSH konsantrasyonu ile orantılı olan bu geri dönüşüm reaksiyonu ile orantılıdır. TNB'nin 405 veya 412 nm'de absorbasının ölçülmesi, numunede GSH miktarının belirlenmesi için kullanılır.

2.7.5. TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi) Düzeylerinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu, bitkilerde hücrel hasarın iyi bilinen bir mekanizması olup, hücrelerdeki ve dokulardaki oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır. Poli doymamış yağ asitlerinden türetilen lipid peroksitler dengesizdir ve malondialdehit (MDA) gibi reaktif karbonil bileşiklerini içeren kompleks bir dizi bileşik oluşturmak üzere ayrışır. MDA, tiobarbitürik asit ile kontrollü bir reaksiyon vasıtasıyla nicelleştirilebilir ve 'Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri' (TBARS) üretir. Cayman firmasının TBARS kiti yüksek sıcaklık (90-100 °C) ve asidik koşullar altında MDA ve TBA reaksiyonu sonucu oluşan MDA-TBA adüktünün 530-540 nm'de kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

2.7.6. Glutathione S-Transferase Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Glutathione S-transferase enzim aktivitesi (Cayman Chemical Company) Cayman firmasının Glutathione S-Transferase Assay kiti (Catalog No: 703302) ile 340 nm' de mikroparka okuyucuda ölçülmüştür. Yapılan ölçümler sonucunda kit içeriğinde bulunan protokole göre standart grafik çizilmiştir. Enzim aktivitesi standart grafik kullanılarak nmol/dk/ml olarak hesaplanmıştır. Yöntemin esası,

Cayman Glutathione S-Transferase Assay kiti redükte glutatyon ile 1-chloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB) konjugasyonunun ölçümü yoluyla toplam GST aktivitesini ölçmektedir. Konjugasyon 340 nm’ de bir artışa neden olur. Bu artış örnekteki GST aktivitesinin oransal artışı anlamına gelir.

2.7.7. Sitokrom P450 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Sitokrom P450 enzim aktivitesi The Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1A) Elisa Kit (Catalog No: CSB-EL006395FI; Cusabio Chemical Company) ile kompetitif inhibisyon immuno assay ölçüm yöntemi ile çalışılmıştır. Mikroplaka okuyucu ile sağlanan bu kit CYP1A1’e özgü bir antikor ile kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler biyotin konjuge CYP1A1 ile birlikte uygun mikroplaka hücrelerine ilave edilir. Kompetitif inhibisyon reaksiyonu CYP1A1 ile CYP1A1’e özgü önceden antikora bağlı olan Biyotin CYP1A1 arasında başlar. Örneklerdeki fazla miktarda bulunan CYP1A1, biyotin konjuge CYP1A1 tarafından daha az antikor bağlar. Yıkama işleminden sonra Horseradish Peroxidase (HRP) konjugeti hücrelere ilave edilir. Substrat solüsyonu hücrelere ilave edilir ve örneklerde ki CYP1A1 miktarı renk değişimini gerçekleştirir. Hücrelerdeki renk değişimi durdurulur ve renk yoğunluğu ölçülür.

3. BULGULAR

Bu çalışmada tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan metil oranj tekstil boyar maddesinin farklı dozlarına maruz kalan *G.pulex*'de süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Sitokrom p450 (CYP1A1), glutasyon S-transferaz (GST) aktiviteleri ve glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G.Pulex*'de bazı antioksidan ve detoksifikasyon enzim aktivitesindeki değişimler

	Antioksidan parametreler	24.SAAT	96.SAAT
SOD (U/ml)	Kontrol	0,04±0,002 ^a	0,03±0,003 ^a
	A(434,3 ppm)	0,008±0,002 ^a	0,002±0,001 ^a
	B(217,1 ppm)	2,32±0,33 ^a	0,008±0,004 ^a
	C(108,5 ppm)	1,39±0,25 ^a	1,55±0,54 ^a
KAT(nmol/dk/ml)	Kontrol	28,46±4,76 ^a	30,6±3,48 ^{ab}
	A(434,3 ppm)	18,25±2,07 ^a	14,55±3,42 ^c
	B(217,1 ppm)	25,50±3,24 ^a	19,03±2,33 ^{bc}
	C(108,5 ppm)	23,48±9,5 ^a	36,75±7,44 ^a
GP _x (nmol/dk/ml)	Kontrol	150,67±2,96 ^a	150,27±1,27 ^a
	A(434,3 ppm)	149,42±1,12 ^a	148,14±5,32 ^a
	B(217,1 ppm)	151,11±0,85 ^a	146,87±1,70 ^a
	C(108,5 ppm)	150,69±0,85 ^a	150,69±0,43 ^a
GST (nmol/dk/ml)	Kontrol	41,08±5,89 ^b	50,36±6,32 ^a
	A(434,3 ppm)	66,27±3,31 ^a	60,96±12,27 ^a
	B(217,1 ppm)	43,73±2,29 ^{b*}	55,66±3,04 ^{a*}
	C(108,5 ppm)	56,32±5,78 ^{ab}	59,64±8,97 ^a
GSH (nmol/g doku)	Kontrol	2,67±0,37 ^{a*}	1,01±0,07 ^{c*}
	A(434,3 ppm)	3,75±0,12 ^a	3,58±0,17 ^a
	B(217,1 ppm)	3,62±0,83 ^a	2,37±0,43 ^b
	C(108,5 ppm)	3,58±0,91 ^a	2,94±0,24 ^{ab}
MDA (nmol/g doku)	Kontrol	2,50±0,69 ^b	4,32±1,60 ^a
	A(434,3 ppm)	5,53±0,30 ^{ab}	6,74±0,40 ^a
	B(217,1 ppm)	6,89±0,84 ^a	7,04±1,84 ^a
	C(108,5 ppm)	4,62±1,75 ^{ab}	5,38±1,49 ^a
CYP1A1 (pg/ml)	Kontrol	426,89±29,52 ^a	374,92±25,40 ^b
	A(434,3 ppm)	344,39±30,43 ^{ab}	507,23±4,95 ^a
	B(217,1 ppm)	384,52±81,02 ^{ab}	342,52±27,75 ^b
	C(108,5 ppm)	197,29±0,37 ^b	307,33±30,66 ^b

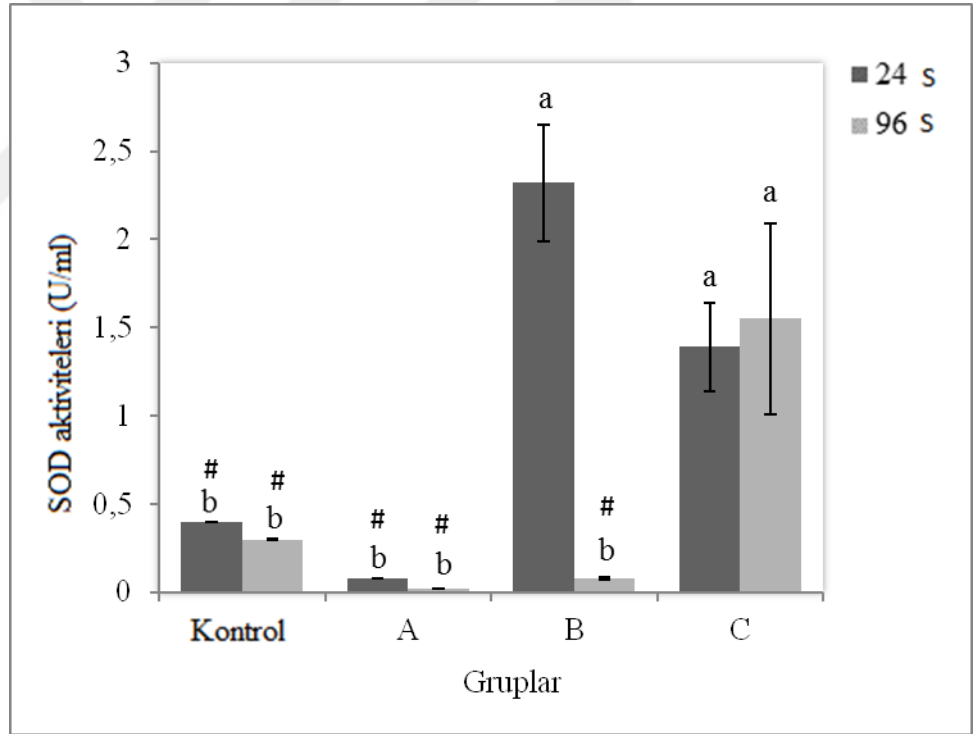
*Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve alt simgedeki * ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.

3.1. Enzimatik Antioksidanlar

3.1.1. SOD Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de SOD aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. SOD aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında 24. Saatte B ve C gruplarında arttığı, A grubunda ise azaldığı gözlenmiştir ($p < 0.05$). Yine kontrol grubu ile kıyaslandığında A ve B gruplarında 96. saatte bir azalma saptanmış fakat bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$).

Maruz kalma süreleri karşılaştırıldığında ise; istatistiksel olarak gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.1) (Şekil 3.1).

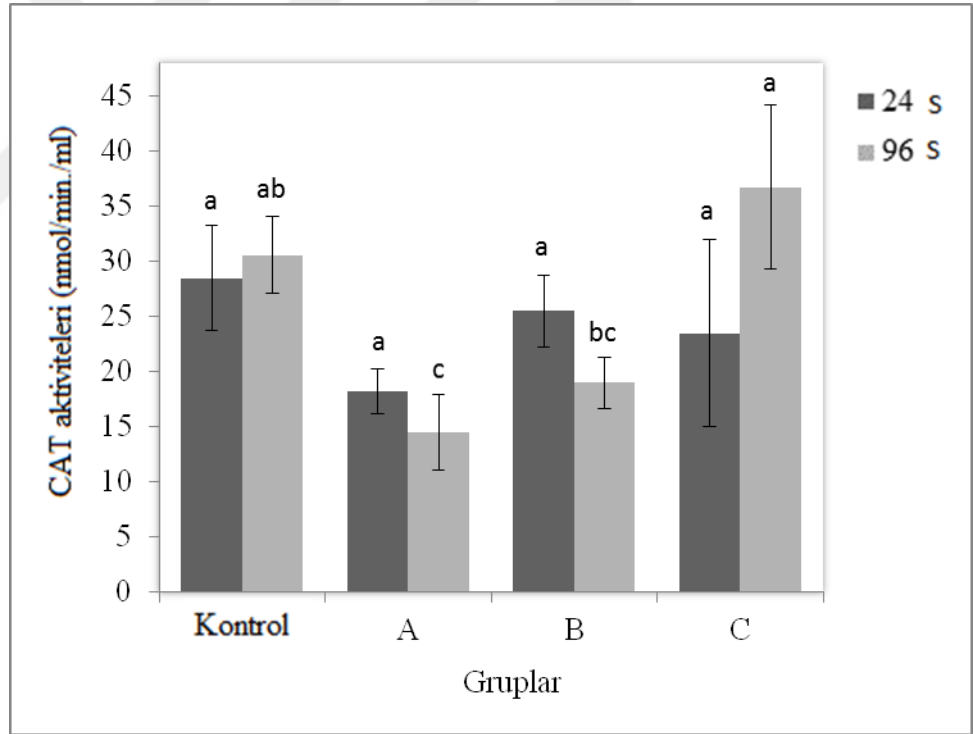


Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de SOD (u/ml) düzeylerindeki değişiklikler

3.1.2. CAT Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de KAT aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.' de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı dozlarına MO'ya maruz kalan tüm gruplarda KAT aktiviteleri 24 saat sonrasında azalmış ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$). 96. saate bakıldığında CAT aktivitesinin A ve B gruplarında azaldığı ($p < 0.05$) C grubunda ise arttığı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

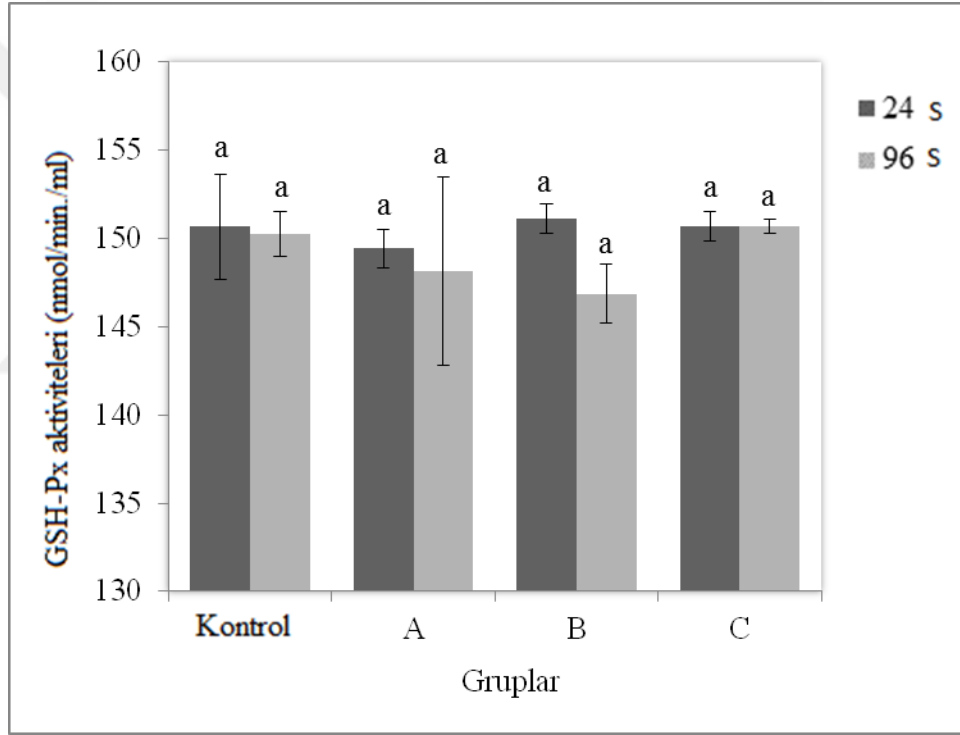
Farklı uygulama sürelerinin CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olmadığı saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3.1) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki Tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de CAT (nmol/dk/ml) düzeylerindeki değişiklikler

3.1.3. GP_x Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de GP_x aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.' de gösterilmiştir. Farklı MO dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GP_x aktiviteleri 24 saat ve 96 saat uygulama sonrasında değişmiştir. Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 3.1) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de GPX (nmol/dk/ml) düzeylerindeki değişiklikler

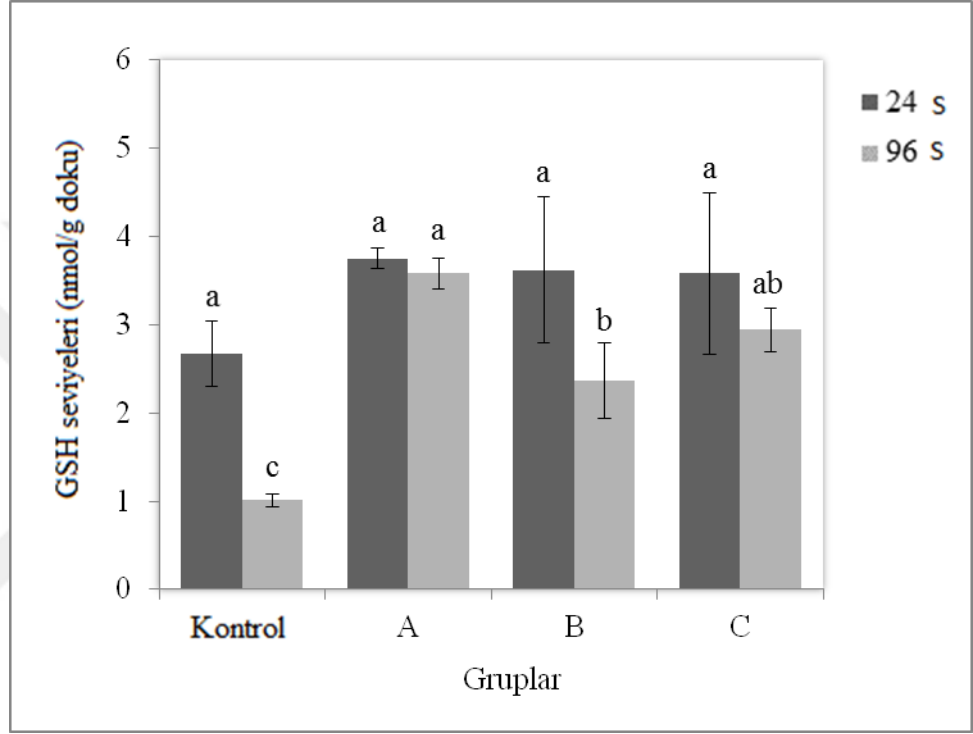
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.2.1. GSH Düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de GSH seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. GSH düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında 24 saat sonrasında A,B ve C gruplarında

artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$). 96. saate ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0.05$).

Maruz kalma süreleri kıyaslandığında ise; kontrol grubunda 96. Saat sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p > 0.05$) (Şekil 3.4).



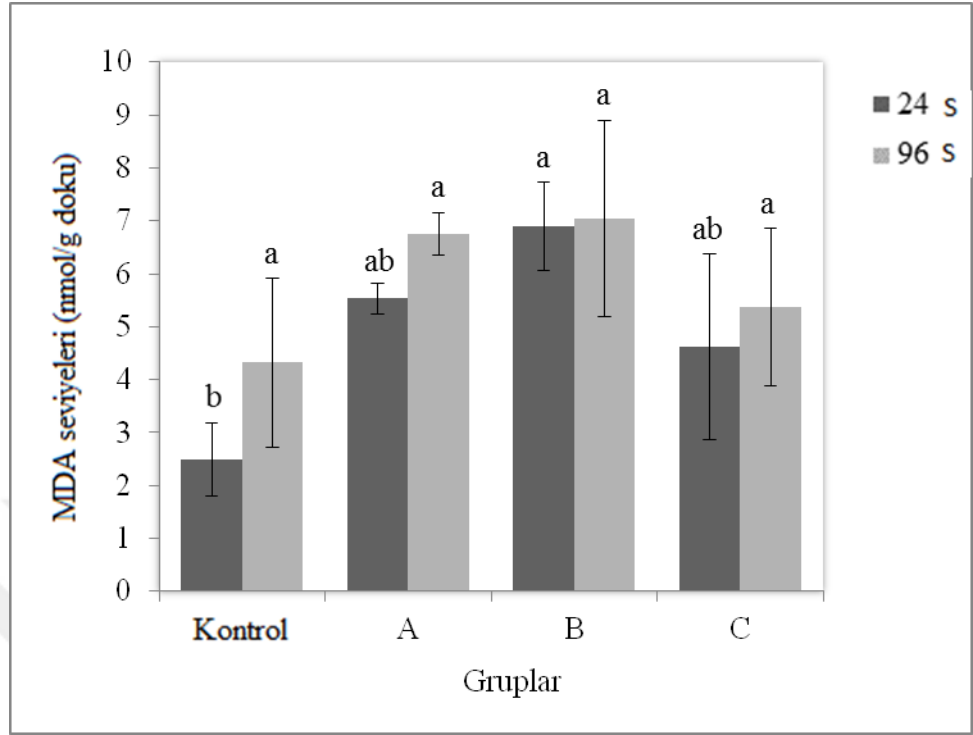
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de GSH (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler

3.3. MDA Seviyeleri

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de MDA seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.' de gösterilmiştir.

MDA düzeyleri 24 ve 96 saat sonrasında kontrol grubuna kıyasla A, B ve C gruplarında artmıştır ($p < 0.05$).

Farklı maruz kalma zamanlarında ise MDA düzeylerinde anlamlı farklılıklar bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 3.5).



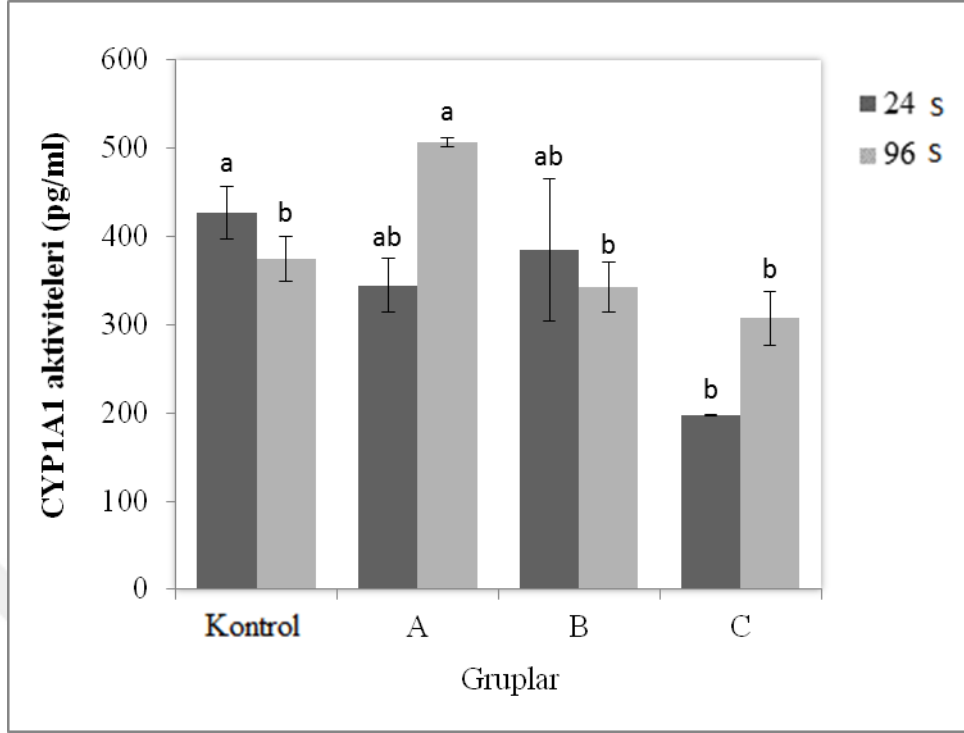
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de MDA (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler

3.4. Detoksifikasyon Enzimleri

3.4.1. CYP1A1

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de CYP1A1 seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. CYP1A1 düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında 24 saat sonrasında tüm uygulama gruplarında azalmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). 96. Saat sonrasında ise; kontrolle kıyaslandığında A grubunda artarken ($p < 0.05$), B, C gruplarında azalmıştır ($p > 0.05$).

Farklı maruz kalma zamanlarında CYP1A1 aktivitesinde anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 3.1) (Şekil 3.6).

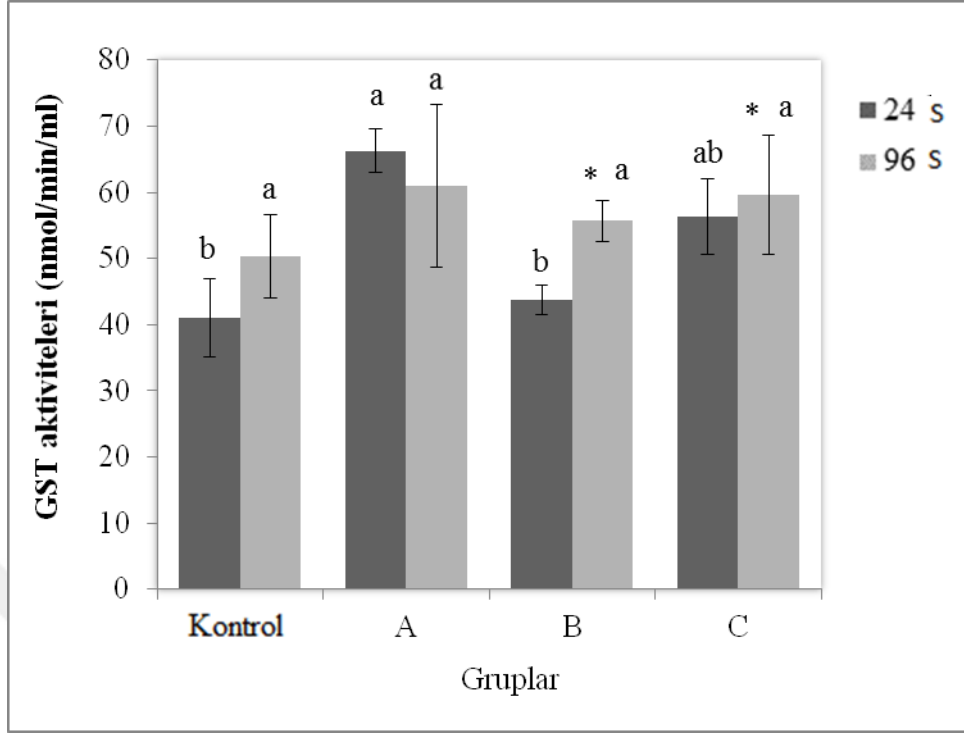


Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de CYP1A1 (pg/ml) düzeylerindeki değişiklikler

3.4.2. GST Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda MO tekstil boyar maddesine maruz kalan *G.pulex*'de GST seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.' de gösterilmiştir. GST aktivitesi, farklı dozlarda MO dozlarına maruz bırakılan grupların hepsinde kontrol grubuna kıyasla 24. ($p < 0.05$) ve 96. saat sonrasında artmıştır ($p > 0.05$).

Maruz kalma süreleri kıyaslandığında GST aktiviteleri 96. saat sonrasında, B, C ve Kontrol grubunda artmış ancak farklılıklar sadece B grubunda anlamlı olmuştur (Tablo 3.1) (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki tekstil boyar maddesi MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de GST (nmol/dk/ml) düzeylerindeki değişiklikler

4. TARTIŞMA

Sentetik boyalar tekstil, boya, kağıt ve baskı endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde 100.000'in üzerinde sentetik boya ticari olarak kullanılmakta ve yılda 700.000 ton boya üretimi yapılmaktadır. Gerek üretim, gerekse kullanım sırasında arta kalan boya miktarı göz önünde bulundurulduğunda renkli atıksuların çevresel açıdan ne kadar önemli olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır. Renkli atıksuların doğrudan alıcı ortalama deşarj edilmesinin kontrolsüz anaerobik şartlarda toksik-karsinojenik aromatik aminlerin oluşması gibi birincil çevresel etkisinin yanında estetik açıdan çevreye zarar vermesi gibi ikincil bir etkisi de vardır (Kapdan ve Kargı, 2000).

Bu çalışmada; çeşitli konsantrasyonlarda metil oranj tekstil boyar maddesine maruz bırakılan *G. pulex*'de bazı antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerindeki araştırılmış olup, literatüre bakıldığında, kirletici etkileri değerlendirilmek üzere gammaridlerle bir çok ekotoksikolojik çalışma yapılmıştır (Leroy ve ark., 2010; Gismondi ve ark., 2017; Gismondi ve Thome 2014; Lebrun ve ark., 2017) ancak yapılan bu çalışma model canlı olarak *G. pulex* kullanılarak bu boyaların canlıdaki antioksidan ve detoksifikasyon yanıtlarının araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmada, biyolojik belirteç çeşitleri arasında detoksifikasyon enzimlerinden (GST ve CYP1A1), antioksidan enzimlerinden (SOD, CAT, GP_x) ve enzimatik olmayan antioksidanlardan (MDA ve GSH) aktivitesi, MO maruziyetinin etkilerini öngörmede biyolojik belirteç olarak kullanılmıştır.

Sitokrom P450 (CYP 450), bazı kirleticilerle kontaminasyonun önemli bir biyokimyasal göstergesidir (Jung ve ark., 2001). Sucul ortamda kontaminasyonun önemli göstergesi, sitokrom P450'den 1A alt familyası olarak görünmektedir. (Anzenbacherova ve ark., 1999). Bu enzim, özellikle endüstriyel kirleticilerin (örn., Dioksinler, poliklorlu bifeniller, polisiklik aromatik hidrokarbonlar) geniş bir spektrumuna duyarlıdır (Vander ost ve diğerleri, 2003). P450 enzim aktivitesi sabit değildir, ksenobiyotikler veya bazı endojen düzenleyici moleküller P450 enzimlerinin aktivitesini arttırıp, azaltabilmektedir (Henezova, 2009). CYP1A1 aktivitesi, farklı türde arıtılmamış tekstil atıksuyuna maruz bırakılan kerevit (*A. leptodactylus*)'un hepatopankreas dokusunda azalmıştır (Aksu ve ark.2015).

CYP1A1'in aktivitesi Congo Red ve Remazol Brilliant blue R'ye maruz kaldıktan sonra kerevitin (*A. leptodactylus*) hepatopankreas dokusunda azaldığı bulunmuştur (Aksu ve ark., 2017). Bu çalışmada, CYP1A1 aktivitelerinin, farklı dozlarda MO maruz bırakılan tüm gruplarda kontrol grubuna göre 24 ve 96 saat sonrasında azaldığı bulunmuştur. ($p < 0.05$). CYP1A1 aktivitesinde farklı maruz kalma zamanlarında önemli bir fark bulunmamıştır. Azalan CYP1A1, yüksek konsantrasyonda kirleticilerin veya CYP1A1'i spesifik olarak inhibe eden MO'un varlığının bir göstergesi olabilir. Bu direncin mekanizması MO dozu ile ilgili CYP1A1'in post-transkripsiyon baskılamasına dayanabilir (ksenobiyotikler, sitokrom mRNA'sında bir artışa neden olup, miktarının veya enzimatik aktivitesinin artmasına neden olmayabilir) (Schleizinger ve Stegeman 2001; Wirgin ve Theodorakis 2002).

GST, birçok ksenobiyotik maddenin detoksifikasyonunda görev alan çok bileşenli bir enzimdir (Sun ve ark. 2006). *G. pulex*'deki GST aktiviteleri kontrol ile karşılaştırıldığında 24 saat ve 96 saat MO'ya maruziyetinden sonra artmıştır. Bu değişiklikler, artmış GST aktivitelerinin muhtemelen yüksek MO seviyelerine maruz kalma için metabolik bir adaptasyon olduğunu ve oksidatif hasara karşı bir savunma mekanizmasının devreye sokulduğunun göstergesidir. Yapılan benzer çalışmalarda diğer tekstil boya maruz kalındığında da benzer bir şekilde GST aktivitesinde artışlar gözlemlenmiştir. (Astrazon Kırmızı FBL, Remazol Kırmızı RR ve Remazol Turkuaz Mavis G-A, HC Turuncu No 1, metanil sarı, Kongo kırmızısı), (Güngördü ve ark, 2013; Ramchandani ve ark., 1997; Sun ve ark., 2006, 2007; Aksu ve ark, 2017). Atrazin, endosulfan ve indoksakarb gibi çeşitli pestisitlere maruziyet sonrası da *G. kichneffensis*'de GST aktivitesinin arttığını göstermiştir (Demirci ve ark, 2018). Yapılan bir başka çalışmada da bazı tekstil boya maruz kalan iribaşlarında toksik etkileri üzerine bir araştırma yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bu dört farklı boyaya 12 ve 24. saatlerde maruz bırakılan iribaşlarda glutatyon S-transferaz (GST) ve karboksil esteraz (CaE) enzim aktivitesi araştırıldı. Enzim aktiviteleri bazı uygulama gruplarında 24. gelişim evresinde iribaşların boyar maddeye maruz bırakılmalarını takiben önemli düzeyde artış gösterdiği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre astrazon mavisinin kurbağa iribaşlarının gelişiminin 20. ve 24. evrelerinde en yüksek toksik etkiye sahip boya olduğu bulundu (Doğan, 2002). Çeşitli dozlarda tekstil boyar maddesine maruz kalan *Xenopus laevis* üzerine etkisi araştırıldı ve astrazon

boyalarının test edilen bütün boyalardan daha toksik olduğu ve 24 saat maruziyet sonrası boyar maddelerin GST, LDH ve karboksilesteraz üzerinde değişimlere yol açtığı bulunmuştur (Birhanlı, 2003).

SOD ve CAT enzimleri oksijen toksisitesine karşı ilk savunma sistemidir (Zagal ve Mazmancı, 2011). SOD, oksijen türevi serbest radikallere karşı, reaktif ve toksik süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H_2O_2) haline dönüştüren ilk savunma hattıdır (Duman ve Kar, 2015). CAT, H_2O_2 'yi hücrelere zararsız olan toksik olmayan H_2O ve O_2 'ye indirgemektedir (Li ve ark., 2012). Bu enzimlerin aktiviteleri, oksidatif strese neden ksenobiyotiklere maruz kalmanın erken göstergeleri olarak kullanılabilir. Çalışmamızda, maruz kalma süresinin SOD aktivitesini önemli ölçüde etkilemediği bulunmuştur. En yüksek SOD aktivitesi, 2,32 ppm uygulama grubunda bulunmuş olup, B ve C gruplarında SOD aktiviteleri 24 saat sonrasında kontrol grubuna göre artmıştır ($p > 0.05$). SOD'daki artışın H_2O_2 birikimine yol açabileceği ve bunun da CAT'in işlevini sınırlandıracağı düşünülmektedir (Li ve ark., 2012). Daha önceki çalışmalarda ROS türlerinin KAT aktivitesini inhibe edebileceği gösterilmiştir (Kono ve Fridovich, 1982; Escobar ve ark, 1996). Astrazone Red FBL'nin *Phanerochaete chrysosporium*'un antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi araştırılmış ve CAT aktivitesinde azalma tespit edilmiştir (Demirci ve Hamamcı, 2013). Benzer şekilde, çalışmamızda, CAT aktivitesi 24 ve 96 saat uygulama sonrasında kontrol grubuna göre azalmıştır. Kirleticilerin neden olduğu oksidatif stres SOD ve CAT enzimlerinin tükenmesine yol açmış olabilir ve bu tükeniş antioksidan sistemin başarısızlığını yansıtabilir (Li ve ark., 2012). Zhang ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada zebra balığı üzerine tekstil atıksuyunun etkisi araştırmışlardır. Zebra balığında akut toksisite, genotoksisite ve oksidatif stres durumunu araştırmışlar ve GSH, MDA, GST, SOD enzim aktivitelerindeki değişimleri incelemişler, SOD ve GST de düşüş gözlemlemişleridir ve atıksu arıtma tesisinin boya içeren atıksuların arıtımında verimli olmadığını göstermişlerdir. Kaur ve ark., (2015) yaptıkları çalışmada 96 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda tekstil boyar maddesi Asit Siyaha maruz kalan *Labeo rohita*'daki antioksidan/detoksifikasyon enzimlerindeki değişimleri araştırmışlardır. SOD enziminin asit siyahı boyar maddesinin toksisitesini değerlendirmesinde uygun bir biomarker olduğunu önermişlerdir. Akhtar ve ark., (2016)'da yaptıkları çalışmada 60

gün boyunca sıçanları tekstil endüstrisi çıkış suyuna maruz bırakmışlardır. Uygulama sonrasında sıçanların karaciğer, böbrek ve kan/plazma'larında SOD, CAT ve H₂O₂ seviyelerinin önemli derecede düştüğünü bulmuşlardır. Sonuç olarak tekstil endüstrisi çıkış suyunun in-vitro olarak oksidatif strese, mutajeniteye, oksidatif strese bağlı DNA hasarına ve sitotoksositeye neden olduğunu önermişlerdir.

GPx, ROS'un detoksifikasyonunda rol oynayan bir antioksidan enzimdir, bu nedenle lipid peroksidasyonuna karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır (Shinde ve ark., 2014). Kaur ve ark., Acid blue -113 ve Asit siyahının, *L. rohita* kasında ROS üretimini başlattığını ve bununla GPx düzeyinde bir artışa neden olduğunu belirtmişlerdir (Kaur ve diğerleri, 2015, 2016). Turja ve ark., 2014 yaptıkları çalışmada *Gammarus oceanicus*'u 48 ve 96 saat boyunca benzoprene maruziyet sonrasında antioksidan enzim glutatyon S-transferaz'ın aktivitesi (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesindeki değişimleri incelemişlerdir. *Gammarus oceanicus* uygulama sonrası farklı biyokimyasal cevaplar vermiş olup, kullandıkları türün bioizleme için uygun olduğunu önermişlerdir. Barrosa ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada oksidatif stresin biyokimyasal belirteçlerini (katalaz (CAT), glutatyon-stransferaz (GST) ve lipid peroksidasyonu (LPO)) ve sinir iletimi (asetilkolinesteraz (AChE)) *Gammarus locusta*'da kronik triklokarban uygulamasına bağlı olarak araştırmışlardır. Biokimyasal biyobelirteçlerde önemli değişiklikler bulmuşlardır fakat oksidatif stres biyobelirteçlerinin doz bağımlı bir eğri çizmediğini önermişlerdir. Bu çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24 ve 96 saat uygulama sonrasında farklı dozlarda MO'ya maruz kalan *G. pulex*'de GP_x aktivitelerinde istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Bu nedenle, GP_x'in MO için *G. pulex*'teki bir biyomarkör enzimi olarak kullanılamayacağını önermekteyiz.

Lipid peroksidasyonu oksidatif hasarın ana göstergesidir (Anane ve Creppy 2001). TBARS düzeylerinin tilapia karaciğer ve solungaç dokusunda % 1 ve% 10 tekstil atığına maruz bırakıldığında arttığı bulunmuştur (Zagal ve Mazmancı, 2011). Bu çalışmada, *G. pulex*'deki LPO seviyelerin uygulama gruplarında yüksek bulunmasının, *G. pulex*'deki tekstil boyar maddesi MO'nun indüklediği oksidatif stresin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Duman ve Kar, (2015)'de yaptıkları farklı çalışmada süre ve konsantrasyonlara da kadmiyum'a maruz kalmanın *G.*

pulex'te antioksidan savunma enzimleri (SOD, CAT ve GPx), MDA ve protein içeriği düzeylerini önemli ölçüde etkilediğini ve Cd birikimi ile MDA içeriğinin maruz kalmanın konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak arttığını bulmuşlardır. Timofeyev ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Oksidatif stres belirteçleri, örneğin lipid peroksidasyon, hücre iç hidrojen peroksit konsantrasyonu, ayrıca peroksidaz, katalaz ve glutatyon S-transferaz aktivitelerini incelemişler ve doğal organik maddelerin tatlı su amfipodu *Gammarus lacustris* Sars and *Gammarus tigrinus* (Sexton)'da oksidatif stresi indüklediğini bulmuşlardır. Serdar (2017) yaptığı çalışmada *G. pulex*'e farklı konsantrasyonlarda Cd uygulanmış ve konsantrasyona bağlı olarak ise MDA düzeylerinde, CAT ve GP_x enzim aktivitelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Funck ve ark. (2013)'de yaptıkları çalışmada gümüş maruziyeti sonrasında *G. fossarum*'da osmo/ iyonoregülasyon, antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu (LPO) düzeylerini incelemişlerdir. 48 saat uygulama sonrası KAT aktivitesi değişmemiştir fakat LPO ve Se- GPx önemli derecede artmıştır.

GSH önemli bir savunma molekülü ve radikal süpürücüdür. GSH düzeyindeki değişim, hücrel stresin önemli bir göstergesidir. Yapılan bir çalışmada, 20 ppm Astrazone Red FBL tekstil boyasına maruz bırakılan gruplarında GSH düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir (Demirci ve Asma, 2013). Benzer bir şekilde GSH artışı HC Orange No.1'e maruz bırakılan goldfish'de gözlenmiştir (Sun ve ark., 2006). GSH seviyelerinin sentezindeki bir artış oksidatif strese adaptif bir yanıt olarak değerlendirilebilir. (Zhang ve ark., 2004). Bu çalışmada GSH düzeyleri kontrol grubuna kıyasla A, B, C gruplarında 24 ve 96 saat uygulama sonrasında artmış fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken; ($p > 0.05$) 96. Saatte anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Literatüre bakıldığında boyar maddelerin, ağır metallerin, pestisitlerin ve diğer kirleticilerin farklı *Gammarus* türlerinde meydana getirdiği toksik ve biyokimyasal değişikliklerin çalışıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Atamanalp ve ark. (2003) Malahit Yeşili boyar maddesinin Subletal Dozlarının Gökkuşaağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkilerini araştırmışlar ve 0,1 ve 0,05 mg/lt dozlarının denendiği araştırmada; hematokrit değerlerinde kontrol grubuna göre azalma, eritrosit-sedimentasyon oranında artış, hemoglobinin miktarında ise dozlara göre farklı tepkiler belirlenmiştir. Demirci ve ark. (2015) Atrazin ve

tiametoksam'ın sublethal konsantrasyonlarına maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'de bazı antioksidan enzimler seviyelerindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Demirci ve Hamamcı, (2013) çeşitli pestisitlerin *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan enzim sistemi ve bazı biyobelirteçler üzerine etkisini çalışmıştır. Pestisitlerin tek ve kombine kullanımlarının *G. kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerinde modölatör etki gösterdiğini, endosulfan dışındaki tüm pestisitlerin kalıntı oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Lebrun ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada tek başına veya karışım halinde (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) bulunan metallere *Gammarus fossarum*'un davranışsal ve biyokimyasal tepkilerini araştırmışlardır.

5. SONUÇLAR

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; tekstil endüstrisinde kullanılan MO boyar maddesinin *G.pulex* üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve MO'dan kaynaklanan kirliliğin çevresel bir tehdit oluşturabileceği düşünülmektedir.

MO boyar maddesinin *G. pulex*'de yarattığı toksik etkilerin araştırılmasında kullandığımız biyobelirteçlerden SOD, KAT, GST, GSH ve MDA'nın yararlı birer biyobelirteç olduğu ve GP_x'in ise biyobelirteç olarak kullanılmasının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerindeki değişiklikler ve lipid peroksidasyonu potansiyel olarak çevre içindeki boyaların risk değerlendirmesi için hassas biyolojik belirteç olarak kullanılabileceği ve deşarj düzenlemelerinin yapılmasına katkıda bulunabileceği önerilmektedir.

Yine elde edilen verilere göre uygulama süresi ve uygulama dozundaki değişiklikler model canlı *G.pulex*'in verdiği biyokimyasal yanıtı değiştirmiştir. Antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin ve MDA içeriğindeki değişiklikler, boya metabolizmasından kaynaklanan streslerin değişebilir olduğunu ve metabolitlerin toksisitesinin detoksifikasyon ve antioksidan savunma sistemindeki değişikliklerden yola çıkılarak yorumlanabileceğini göstermiştir. Hafif oksidatif strese karşı telafi edici bir yanıt olarak Antioksidan enzim sisteminin ve detoksifikasyon enzimlerinin indüklenebileceği, aşırı toksik maddelerden kaynaklanan şiddetli oksidatif strese karşı ise; bu enzimlerin aktivitelerini baskılayabileceği ve oksidatif hasara neden olabileceği önerilmektedir.

6. ÖNERİLER

Tekstil sanayinde kumaşların boyanması ve yıkama aşamalarında çok fazla miktarda kimyasal madde ortaya çıkmaktadır bu da atık miktarında artışa neden olmaktadır. Bu atıklarda toksik etkiye neden olabilmektedir. Bu nedenle tekstil endüstrisinde atık oluşumunun azaltılmasına yönelik yeni yöntem ve teknolojiler geliştirilmelidir.

Boyar maddelere maruz bırakılan canlılar üzerinde ileri evrelerinde özellikle hormonal dengenin bozulmasına etkisinin olup olmayacağı da araştırılmalıdır.

Ayrıca tekstil sanayisinde yaygın olarak kullanılan bu boyar maddelerin kontrolsüz şekilde deşarj edilmesi de, son yıllarda suda yaşayan popülasyonların azalmasına neden olan çevresel kirletici faktörlerden birisi olabilir. Bu popülasyonların azalmaması için tekstil endüstrisi atıklarının deşarjında sınır değerlere uygunluğu düzenli olarak kontrol edilmeli, toksikolojik veriler göz önüne alınarak sınır değerler düzenlenmelidir.

KAYNAKÇA

- Akhtar, M. F., Ashraf, M., Anjum, A.A., Javeed, A., Sharif, A., Saleem, A., Akhtar, B.** Textile industrial effluent induces mutagenicity and oxidative DNA damage and exploits oxidative stress biomarkers in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 41 (2016) 180–186
- Aksakal, O., Uzun, H., Equilibrium,** Kinetic and Thermodynamic Studies of the Biosorption of Textile Dye (Reactive Red 195) onto *Pinus Sylvestris* L., *J. Hazard. Mater.*, 181, 666-672, 2010.
- Aksoy Y.** 2002. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22: 442-448
- Aksu, O., Yildirim, N.C., Yildirim, N., Danabas, D., Danabas, S.** 2015. Biochemical response of crayfish *Astacus leptodactylus* exposed to textile wastewater treated by indigenous white rot fungus *Coriolus versicolor*, *Environ. Sci. Pol. Res.*, 22: 2987–2993.
- Aksu, O., Yildirim, N.C., Danabas D. and Yildirim, N.** 2017. Biochemical impacts of the textile dyes Remazol Brilliant Blue R and Congo Red on the crayfish *Astacus leptodactylus* (Decapoda, Astacidae), *Crustaceana*, 90, 13, 1563 – 1574.
- Alkan, U., Taşdemir, Y., Karaer, F. ve Teksoy, A.,** (1998). “Evsel Atık Suların Mikrobiyolojik Kompozisyonu ve Halk Sağlığına Etkileri”, 1. Atık Su Sempozyumu, 22- 24 Haziran 1998, Kayseri.
- American Public Health Association (APHA),** 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 1998, 20th Edition
- Anzenbacherova, E., Anzenbacher, P.** 1999. Cytochrome P450 a metabolismus xenobiotik. *Bull. Ceske Spol. Biochem. Mol. Biol.* 1, 4-33
- Armstrong R.N.,** 1997. Glutathione Transferases. In: Guengerich, F. P., Ed. *Comprehensive Toxicology, Biotransformation* 3. Elsevier Science, Oxford. 307- 327.

- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, A. N., Cengiz, M.,** 2003. Bir Dezenfektanın (Malahit Yeşili) Subletal Dozlarının Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Kan Parametreleri Üzerine Etkileri, GÜ, *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23: 3 177-187
- Awasthi YC, Dao DD, Lal AK ve ark.** 1979. Purification and properties of glutathione peroxides from human placenta. *Biochem J* 177: 471-6.
- Barrosa, S., Montes, R., Quintana, J.B., Rodil, R., Jorge M.A. Oliveirac, M., Santosa, M., Neupartha, T.** 2017. Chronic effects of triclocarban in the amphipod *Gammarus locusta*: Behavioural and biochemical impairment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 135: 276–283.
- Başar, K., İleri, R. ve Şamander, A.,** 1998. “Evsel Atık Su Arıtma Tesislerinde Mikrobiyolojik Giderimin Araştırılması”, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 55 (2): 91-95.
- Banni, M., Jebali, J., Daubeze, M., Clerandau, C., Guerbej, H., Narbonne, J. F., Boussetta, H.** 2005. Monitoring pollution in Tunisian coasts: application of a classification scale based on biochemical markers. *Biomarkers*, 10: 105-116.
- Barim, O., Karatepe M.,** 2010. The effects of pollution on the vitamins A, E, C, b-carotene Contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73:138–142
- Beliaeff, B., Burgeot, T.** 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21: 1316–1322.
- Birhanlı, A.,** 2003 Bazı Tekstil Boyalarının *Xenopus laevis* Üzerine Toksik Etkilerinin Araştırılması, İnönü Üniversitesi, Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W.,** 1973. Routine haematological methods for use with fish blood, *J. Fish Biol.*, 5: 771- 781.
- Buhler, D.R., Rasmusson, M.E.** 1968. Balıklar Tarafından İlaçların Oksidasyonu. *Biochem. Physiol.* 25: 223-239.

- Buhler D.R. ve Williams D.E.**, 1989. Enzymes Involved in Metabolism of PAHs in Fishes and Other Aquatic Animals. Metabolism of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. In U. Varanasi. CRC Press, New York. 151-184.
- Bulavin D. V., Korpishchenko A. I., Gubanov A. L. ve Rechetov A. V.**, 1996. GlutathioneS-transferase PI-1 in Normal and Cancerous Lung Tissue: Properties, Function, and Possible Mechanisms for Regulating Activity. *Biokhimiia.*, 61: 1015-1027.
- Canuto R.A., Muzio G., Maggiora M., Biocca M.E. ve Dianzani M.U.**, 1993. GlutathioneS-Transferase, Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Activities During Diethylnitrosamine-Carcinogenesis in Rat Liver. *Cancer Letters*, 68: 177- 183.
- Coleman M.**, 2005. Human drug metabolism. An Introduction, Wiley, Hoboken. 5-286.
- Cold, A., Forbes V.E.**, 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67(3): 287-299.
- Czuczejko, J., Zachara, B. A., Staubach-Topczewska, E., Halota, W., Kedziora, J.** 2003 Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol.* 50: 1147-54.
- Chung, K.T., Stevens, S.E.J., Cerniglia, C.E.**, 1992. The Reduction of Azo Dyes by the Intestinal Microflora, *Critical Reviews in Microbiology*, 18:175-197.
- Chung, K.T., Stevens, S.E.J.**, 1993. Degradation of Azo Dyes by Environmental Microorganisms and Helminths., *Environmental Toxicology and Chemistry*. 54: 435-441.
- De Zwart, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur J.N.M. and Vermeulen N.P.E.** 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans, *Free. Radical Biol. Med.* 26: 202-226
- Deaton, C.M. and Marlin, D.J.** 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clin. Tech. in Equine Practice*, 2:278-291.

- Demirbaş, A.** 2009. Agricultural based activated carbons for the removal of dyes from aqueous solutions: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 1-9.
- Demir, S.K.** Farklı Endüstriyel Atıklardan Sentezlenen Hidroksiapatitin Adsorban Olarak Kullanılmasıyla Atık Sulardan Ağır Metal Geri Kazanımı, Yüksek Lisans Tezi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Program, İstanbul, 2016
- Demirci O, Hamamcı DA.** 2013. Antioxidant responses in *Phanerochaete chrysosporium* exposed to Astrazone Red FBL textile dye. *Cell Biochem Funct* 31: 86–90
- Demirci, O., Guven, K., Asma, D., Ogut, S., Ugurlu, P.** 2015. The effects of atrazine and thiamethoxam at sublethal concentrations on some antioxidant enzymes of *Gammarus kischineffensis*, *Abstracts / Toxicol. Let.* 238S S56–S383
- Demirci, Ö., Güven, K., Asma, D., Ögüt, S. Uğurlu, P.** 2018. Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 147:749– 758.
- Dinçel, A.S., Benli, A.Ç.K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, A., Erkoç, F.,** 2009. Sublethal Cyfluthrin Toxicity to Carp (*Cyprinus carpio* L.) Fingerlings: Biochemical, Hematological, Histopathological Alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1433-1439.
- Dizge, N., Aydiner, C., Demirbaş, E., Kobya, M., Kara, S.,** 2008. Adsorption of Reactive Dyes from Aqueous Solutions by Fly Ash: Kinetic and Equilibrium Studies, *J. Hazard. Mater.*, 150: 737-746.
- Doğan, U.G.** Bazı tekstil boyalarının amfibi iribaşlarına toksik etkileri üzerine bir araştırma, İnönü Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Anabilim D, 2002.
- Duman, F., Kar, M.** 2015. Evaluation of effects of exposure conditions on the biological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 12:437–444.

- Doroshov, J. H.:** 1995. Glutathione peroxidase and oxidative stress. *Toxicol Lett.* 82- 83: 395-8.
- Dos Santos, A.B., Cervantes, F.J., Van Lier, J.B.,** 2007. Review Paper on Current Technologies for Decolourisation of Textile Wastewaters Perspectives for Anaerobic Biotechnology, *Bioresarch Technology*, 98: 2369-2385,
- Erdem, E., Karapinar, N., Donat, R.** 2004. Theremoval of heavy metal cations by naturalze olites. *Journal of Colloidand Interface Science*, 280: 309-314.
- Eser, E.,** 2013. Van Elması Atıklarından Kimyasal Aktivasyonla Aktif Karbon Eldesi, Karakterizasyonu ve Tekstil Boyalarının Adsorpsiyonunda Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Van.
- Escobar, J.A., Rubio, M.A., Lissi, E.A.,** 1996. SOD and catalase inactivation by singlet oxygen 4 and peroxy radicals. *Free Radical Bio Med.* 20:285–290
- Estabrook R.W.,** 2003. A Passion for P450s (Remembrances of the Early History of Research on Cytochrome P450). *Drug metabolism dispos.*, 31: 1461-1473.
- Funck, J. Arce M. Danger, E. Gismondi, C. Cossu-Leguille, F. Guérolde, V. Felten,** 2013. Behavioural and physiological responses of *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda) exposed to silver, *Aquat. Toxicology* 142–143: 73–84
- Filiz, E.,** 2007. Doğal Kaynaklardan Elde Edilen Adsorbanlarla Sulardan Ağır Metal Giderimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Gismondi, E., Beisel, J.N., Cossu-Leguille, C.,** 2012. Influence of gender and season on reduced glutathione concentration and energy reserves of *Gammarus roeseli*. *Environ Res.* 118:47–52
- Gismondi, E., Cossu-Leguille, C., Beisel, J.N.,** 2013. Do male and female gammarids defend themselves differently during chemical stress? *Aquat Toxicol* 140–141:432–438
- Gismondi, E., Thome, J.P.** 2014. Effects of two PBDE congeners on the moulting enzymes of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Environ Pollut.* 191:119–125.

- Gilbert DL, Colton CA.** 2002. Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Inter disciplinary Approach. Mc Graw –Hill New York. 856-867
- Gonzalez F.J.,** 1989. The Molecular Biology of Cytochromes P450s. Pharmacological Reviews, 40: 243–288
- Goksoyr A., Förlin L.,** 1992. The cytochrome P450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquat. Toxicol.* 22: 287-312.
- Guengerich F.P.,**1992. Characterization of Human Cytochrome P450 Enzymes. FASEB Journal (Bethesda, MD), 6: 745–748.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z.** (1994). Su Kirliliği Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. (Birinci Baskı). Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, 16-17.
- Güngördü, A., Birhanli, A., Ozmen, M.** 2013. Biochemical response to exposure to six textile dyes in early developmental stages of *Xenopus laevis*, *Environ Sci Pollut Res* 20:452–460
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.** 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd edn. Oxford University Press, New York.
- Henezova, M.,** Effects of heavy metals on hepatic cytochrome p450-dependent enzyme system of freshwater fish species, phd thesis, university of Szeged, Faculty Of Science, Department of Molecular Biology And Biochemistry, 2009.
- İnternet: West, L.** 2006. World Water Day: A Billion People Worldwide Lack Safe Drinking
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J., Ergul, A.** 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 29;4(1):5.
- Jung, D.K.J.; Klaus, T.; Fent, K.** 2001. Cytochrome P450 induction by nitrated polycyclic Aromatic hydrocarbons, azaarenes, and binary mixtures in fish hepatoma cell line PLHC-1. *Environ.Toxicol. Chem.* 20, 149-159.
- Kapdan, I. K., Kargı, F.,** 2000. Atıksulardan Tekstil Boyar Maddelerinin Adsorpsiyonlu Biyolojik Arıtım ile Giderimi, *Turk J Engin Environ Sci*, 24, 161 – 169

- Karakurt, S.,** 2008, Fenolik bileşik tannik asitin tavşan karaciğer ve böbreğinde faz II ve sitokrom P450 bağımlı enzimler üzerindeki etkileri.Yüksek lisans tezi. Ortaadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 129
- Kaur, S., Kaur, A.** 2015. Variability in antioxidant/detoxification enzymes of *Labeo rohita* exposed to an azo dye, acid black (AB). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C.* 167:108–116.
- Kaur S., Kaur K. and Kaur A,** 2016. Effect of Sublethal Doses of An Azo Dye, Acid Blue-11(AB 113) on biochemical responses of *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*, *J. Environ. Res. Develop.*11.02.
- Kertmen, M.** 2006. Fabrika atıklarının neden olduğu boyar madde kirliliklerinin biyolojik adsorbent kullanılarak sulu ortamdan adsorpsiyon tekniği ile uzaklaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Keskinkaya, H.B.** Beyşehir Ve Çavuşçu Göllerindeki Toksik Ve Karsinojenik Organik Kirliliğin Bu Göllerde Yaşayan Sazan Balığı (*Cyprinus Carpio* L.,1758) Üzerine Etkilerinin Biyokimyasal Olarak İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi Biyoloji Anabilim Dalı Temmuz-2015
- Kızıldaş, S.** 2013. Tunçbilek ve Çatalağzı Uçucu Küllerinin Atık Sulardan Ağır Metal Adsorpsiyon Özelliklerinin Karşılaştırılması, Lisans Tezi Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya- Metalurji Fakültesi, İstanbul.
- Kim YG, Kim SK, Kwon JW, Park OJ, Kim SG, Kim YC, Lee MY.** 2003. Effects of cysteine on amino acid concentrations and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. *Life Sci*, 72: 1171-1181.
- Kono Y, Fridovich I.** 1982. Inhibition of catalase by superoxide radicals. *Fed Proc* 41:1207
- Kutlu, M., Susuz, F.** 2004. Effects of Lead as an Environmental Pollutant on ERO Enzyme in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda) *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72:750–755.

- Lebrun, J. D., Uhera, E., Fechner, L.C.** 2017. Behavioural and Biochemical responses to metals tested alone or in mixture (Cd-Cu-Ni-Pb-Zn) in *Gammarus fossarum*: From a multi-biomarker approach to modelling metal mixture toxicity, *Aquat. Toxicol.* 193: 160–167.
- Leroy, D., Haubruge, E., De Pauw, E., Thome, J.P., Francis, F.,** 2010. Development of ecotoxicoproteomics on the freshwater amphipod *Gammarus pulex* : identification of PCB biomarkers in glycolysis and glutamate pathways. *Ecotoxicol Environ Saf* 73:343–352
- Li, Z.-H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., Randak, T.,** 2010. Physiological condition status and muscle-based biomarkers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), after long-term exposure to carbamazepine. *J.Appl.Toxicol.* 30,197–203
- Li, Y., Shi, J.Q., Qu, R.J., Feng, M.B., Liu, F., Wang, M., Wang Z.Y.** 2012. Toxicity assessment on three direct dyes (D-BLL,D-GLN,D-3RNL) using oxidative stress bioassay and quantum parameter calculation. *Ecotoxicol Environ Saf* . 86 132–140
- Listowsky I., Abramovitz M., Hama H. ve Niitsu Y.,** 1988. Intracellular Binding and Transport of Hormones and Xenobiotics by GST. *Drug Metab. Rev.*, 19: 305-318.
- Meagher, E.A., Fitzgerald. G.A.** 2000. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations.*Free Radic Biol Med.* 28(12):1745-1750.
- Memişoğulları, R.** 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidan etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.
- Meotti, F.C., Stangherlin, E.C., Zeni, G., Nogueira, C.W. and Rocha J.B.T.** 2004. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation, *Environ. Res.*, 94: 276-282
- Mosialou, E., Ekstrom, G., Adang, A. E. P. ve Morgenstern, R.,** 1993. Evidence that Rat Liver Microsomal Glutathione Transferase is Responsible for GlutathioneDependent Protection Against Lipid Peroxidation. *Biochem. Pharmacoi.*, 45: 1645-1651.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C., Yabut, J.A.** 2002. Glutathione depletion and oxidative stress. *Parkinsonism Relat Disord*, 8: 385-387

- Nebert, D. W., and Gonzalez, F. J.,** 1987, P-450 genes: Structure, Evolution, and Regulation. *Ann. Rev. Biochem.* 56, 945-993.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B.B., Nielsen, J.B., Andersen, H.R., Grandjean, P.** 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem.*,43, 1209-1214.
- Onat T. ve Emerk K.,** 1996. Karbohidratlar: Temel Biyokimya. Emerk K., ed. Saray, İzmir. 289-409.
- Osten, R-V, Ortiz-Arana A, Guilhermino, L., Soares, A.** 2005. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere*, 58:627–636
- Ramchandani S, Das M, Joshi A, Khanna SK.** (1997) Effect of oral and parenteral administration of metanil yellow on some hepatic and intestinal biochemical parameters. *J Appl Toxicol* 17:85–91
- Rayman, M. P.** 2000. The importance of selenium to human health. *Review. Lancet.* 356: 233-41.
- Schlezing, J.J., Stegeman, J.J.** 2001. Induction and suppression of cytochrome P450 1A by 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl and its relationship to oxidative stress in the marine fish scup (*Stenotomus chrysops*). *Aquat Toxicol.* 52:101–115.
- Serdar, O.** 2017. Tatlı su amfipodu *Gammarus pulex* (L., 1758)'te kadmiyum toksisitesi üzerine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi, Tunceli Üniversitesi , Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı.
- Serin, D., S.** 2010. Supranol Yellow 4 GL boyar maddesi Ve Nikel (II) İyonlarının Portakal Kabuğuna Adsorpsiyonunun Kesikli Ve Sürekli Sistemlerde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Mersin
- Suhail, M., Suhail, S., Gupta, B.K., Bharat, V.** 2009. Malondialdehyde and Antioxidant Enzymes in Maternal and Cord Blood, and their Correlation in Normotensive and Preeclamptic Women. *J Clin Med Res.*, 1, 150-15
- Sun, Y.Y., Yu, H.X., Zhang, J.F., Yin, Y., Shen, H., Liu, H.L., Wang, X.R.** 2006. Bioaccumulation And antioxidant responses in goldfish *Carassius auratus* under HC Orange No. 1 exposure. *Ecotoxicol Environ Saf* . 63:430–437

- Sun Y, Yin Y, Zhang J, Yu H, Wang X.** 2007. Bioaccumulation and ROS generation in liver of freshwater fish, *goldfish Carassius auratus* under HC orange no. 1 exposure. *Environ Toxicol* 22:256–263
- Şeker, A. F.** 2007. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Çeşitli Boyarmaddelerin Aktif Karbon İle Gideriminin İncelenmesi, Yüksel Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, Türkiye, 1-2
- Şimşek, Ş. R.,** 2011. Manyetik Hidrojel Nanokompozitlerine Lakkaz İmmobilizasyonu ve Metil Oranjin Renginin Giderilmesi Yüksek Lisans Tezi, Kimya, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Thomas, H., Schladt, L., Knehr, M. ve Oesch, F.,** 1989. Effect of Diabetes and Starvation on the Activity of Rat Liver Epoxide Hydrolases Glutathione-S-Transferases and Peroxisomal β -Oxidation. *Biochem. Pharmacol.*, 38: 4291-4297.
- Timofeyev, M.A., Zhanna, M., Shatilin , A.V., Darya, K., Bedulina , S., Viktoria, V. Pflugmacher, K., Christian S. Steinberg , E.W.** 2006. Natural organic matter (NOM) induces oxidative stress in freshwater amphipods *Gammarus lacustris* Sars and *Gammarus tigrinus* (Sexton), *Sci. The Tot. Environ.* 366:673–681.
- Turja , R., Guimarães, L., Nevala, A., Kankaanpää, H., Korpinen , S., Kar, K.** 2014. Lehtonen Cumulative effects of exposure to cyanobacteria bloom extracts and benzo[a]pyrene on antioxidant defence biomarkers in *Gammarus oceanicus* (Crustacea: Amphipoda) *Toxicon*. 78: 68–77
- Tükenmez, E.,** 2013. Tungsten oxide nanopowders and its photocatalytic activity under visible light irradiation, Degree thesis in Chemistry, Department of Molecular Biology, Umeå University, Sweden, 17 p.
- United States Environmental Protection Agency (EPA).** 2007. The National Water Quality Inventory. Report to Congress for the 2002 Reporting Cycle – A Profile. Washington, DC, 841-F-07-003.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M.,** 2005. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants, *Ecotox. Environ. Safety*.

- Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J.** 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 266: 37-56.
- Waterman, M.H.,** 1996. Introduction: Transcription and Regulation of Activities of Cytochromes P450, Metabolizing Endogenous Substrates. *FASEB Journal* (Bethesda, MD), 10: 1455.
- Welton, J.S., Clarke, R.T.,** 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod, *Gammarus pulex* (L.). *The Journal of Animal Ecology*, 581-592.
- Wirgin II, Theodorakis CV** 2002. Molecular biomarkers in aquatic organisms. In: ADAMS SM (ed) Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Bethesda, AFS, pp 73–82.
- Wright, R.L., Harris, K., Solow, B., White, R.H. ve Kennelly, P.J.,** 1996. Cloning of a Potential Cytochrome P450 from the Archaeon *sulfolobus solfataricus*. *FEBS Lett.*, 384: 235–239
- Yağız, A.,** 2016. Elma Kabuğu Kullanarak Sulu Çözeltilerden Tekstil boyar maddelerin Adsorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Ordu
- Yurdakul, Z.,** 2003. Oksijen ve Canlılar, [www. Klinik biyokimya.com./ seminer / oksijen /oksijen htm](http://www.klinikbiyokimya.com/seminer/oksijen/oksijen.htm)
- Zagal, A. and Mazmanci, B.** Oxidative stress response in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to textile mill effluent, *Toxicology and Industrial Health* 27(1) 81– 85.
- Zhang, W., Liu, W., Zhang, J., Zhao, H., Zhang, Y., Quan, X.,Jin, Y.,** 2012. Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish, *Journal of Environmental Sciences*, 24: 2019-2027

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Diyarbakır’da doğdum. Şehit Polis Mehmet Erçin ilk öğretim okulunda ilk ve ortaöğrenimimi, Yunus Emre Lisesinde ise lise öğrenimimi tamamladım. 2011 yılında girmiş olduğum Munzur Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünden 2015 yılında mezun oldum. 2016 yılında Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladım.

