

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

REMAZOL BRILLIANT BLUE R TEKSTİL BOYAR MADDESİNE
MARUZ BIRAKILAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI'NDA (*Oncorhynchus mykiss*)
BİYOKİMYASAL YANITIN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Leyla DOĞAN

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM

TUNCELİ – 2016

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

REMAZOL BRILLIANT BLUE R TEKSTİL BOYAR MADDESİNE
MARUZ BIRAKILAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI'NDA (*Oncorhynchus mykiss*)
BİYOKİMYASAL YANITIN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Leyla DOĞAN
(10881003)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Doç. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM

TUNCELİ- 2016

ÖZET

Tekstil endüstrisi üretiminde kullanılan boyalar biyolojik arıtmaya dirençli, toksik maddeler olup, birçoğu polimer yapılara sahiptir. Bu boyalar baskı ve boyama gibi çeşitli aşamalar aracılığıyla sucul çevreyi kirletirler ve moleküler, hücresel, biyokimyasal ve fizyolojik bozukluklara neden olabilirler.

Bu çalışmada; çeşitli konsantrasyonlarda tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Remazol Brilliant Blue R' ye maruz bırakılan gökkuşağı alabalığında biyokimyasal yanıtın araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla lokal çiftliklerden 56 adet *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşağı Alabalığı) temin edilmiştir. Bir kontrol grubu ve üç uygulama grubu olmak üzere Gökkuşağı Alabalıklarına (*Oncorhynchus mykiss*) boyar madde uygulandı. Bu grupların Glutasyon S-Transferaz (GST), Sitokrom P-450 (CYP1A1) ve Laktat Dehidrojenaz (LDH) enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Bu ölçümler ELISA yöntemiyle ticari kitler kullanılarak Mikroplaka okuyucuda okunmuştur. GST enzim aktivitesinde genel olarak 24. saatte kontrol grubu ile kıyasladığımızda B (1 mg l⁻¹) ve C (2 mg l⁻¹) gruplarında artış göstermiş olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05). 48. saatte ise A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında artış gözlemlenmiştir (p<0.05). CYP1A1 enzim aktivitesinde B (2 mg l⁻¹) grubunda T₀ ile karşılaştırıldığında 24. saatle artmış, 48. saatte ise azalmıştır (p>0.05). CYP1A1 düzeyleri farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatte kontrol grubuyla kıyasladığımızda A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında artış (p<0.05), C (2 mg l⁻¹) grubunda ise azalma görülmektedir (p<0.05). LDH enzim aktivitesinde farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatte kontrol grubu ile kıyaslandığında A (0,5 mg l⁻¹), B (1 mg l⁻¹) ve C (2 mg l⁻¹) gruplarında anlamlı bir artış gözlenmiştir (p<0.05). 48. saatte ise kontrol grubu ile kıyaslandığında A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (p>0.05).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; RBBR tekstil boyasına maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşağı Alabalığı)' ın toksik etkinin belirlenmesinde GST, CYP1A1 ve LDH enzimlerinin biyobelirteç olarak kullanılmasının yararlı olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tekstil Boyar Madde, Remazol Brilliant Blue R (RBBR), GST, CYP1A1, LDH, *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşağı Alabalığı)

ABSTRACT

Investigation of Biochemical Response in Rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Remazol Brilliant Blue R Textile Dye

The dyes used in textile industry production are toxic substances and most of them have polymer structures. These dyes pollute the aquatic environment via various stages such as printing and dyeing, and may cause molecular, cellular, biochemical and physiological disorders.

In this study, it was aimed to investigate the response of Rainbow Trout exposed to Remazol Brilliant Blue R, which is widely used in textile industry in varying concentrations. With this purpose, 56 *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow Trout) individuals were obtained from local farms. The Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) were applied a dyeing substance in an experimental setting with a control group and three experiment groups. The Glutathione S-transferase (GST), Cytochrome P-450 (CYP1A1) and Lactate Dehydrogenase (LDH) enzyme activities of these groups were measured. These measurements were read in a microplate reader using commercial kits with ELISA method. In comparison with the control group, the GST enzyme activity increased in the groups B (1 mg l⁻¹) and C (2 mg l⁻¹) in the 24th hour, and the difference between the groups was significant (p<0.05). Increases were observed in the groups A (0,5 mg l⁻¹) and B (1 mg l⁻¹) in the 48th hour (p<0.05). In comparison with T₀, the CYP1A1 enzyme activity in the group B (1 mg l⁻¹) increased by the 24th hour, and decreased by the 48th hour (p>0.05). In comparisons of the groups with different dosages and the control group in the 24th hour, CYP1A1 enzyme activity increased in the groups A (0,5 mg l⁻¹) and B (1 mg l⁻¹) (p<0.05), and decreased in the group C (2 mg l⁻¹) (p<0.05). In comparisons of the groups with different dosages and the control group in the 24th hour, LDH enzyme activity showed a significant increase in the groups A (0,5 mg l⁻¹), B (1 mg l⁻¹) and C (2 mg l⁻¹) (p<0.05). When compared to the control group in the 48th hour, the groups A (0,5 mg l⁻¹) and B (1 mg l⁻¹) showed a significant increase (p>0.05).

According to the results of this study, it was shown that GST, CYP1A1 and LDH enzymes may be useful as biomarkers in determining the toxic effects in *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow Trout) exposed to the RBBR textile dye.

Key Words: Textile Dye, Remazol Brilliant Blue R (RBBR), GST, CYP1A1, LDH, *Oncorhynchus mykiss* (Rainbow trout)

TEŞEKKÜRLER

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

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 CIKCIKOĞLU YILDIRIM' a değerli katkısından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen Çevre Mühendisliği Bölüm Başkanı sayın Doç. Dr. Numan YILDIRIM' a ve Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Durali DANABAŞ' a teşekkürlerimi borç bilirim.

Laboratuvar ve arazi çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan yüksek lisans öğrencileri Nuran ÖZER, Rahime KAYAR ve Ömer ŞAMASAS' a teşekkür ederim.

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

Leyla DOĞAN

TUNCELİ-2016

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Su Kirliliği.....	2
1.2. Suyun Kalite Kriterleri ve Atık Su Standartları.....	2
1.3. Atık Sular ve Özellikleri.....	5
1.3.1. Evsel Atık Sular.....	6
1.3.2. Endüstriyel Atık Sular.....	6
1.4. Boyar Maddenin Tarihi Gelişimi.....	7
1.5. Boya ve Boyar maddeler.....	7
1.6. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddeler.....	8
1.7. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması.....	8
1.7.1. Boyama Özelliklerine Göre Sınıflandırma.....	8
1.7.2. Kimyasal Yapılarına Göre Boyar Maddeler.....	10
1.8. Boyar Maddelerin Çevreye Etkileri.....	12
1.9. Remazol Brilliant Blue R (RBBR).....	12
1.10. Alabalıkların Genel Özellikleri.....	13
1.11. Alabalığın Biyolojisi ve Su Kalitesi.....	13
1.12. Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)'nin Özellikleri.....	14
1.13. Ksenobiyotikler.....	15
1.13.1. Ksenobiyotiklerin Etki Mekanizması.....	16
1.14. Ksenobiyotik Metabolizmasında Glutatyonun Rolü.....	18
1.15. Biyotransformasyon.....	18

1.16. Mikrozomal Enzimler.....	19
1.17. Sitokrom P450 Enzimleri (CYP1A1) (EC 1.14.1.1).....	20
1.18. Sitokrom P450 İnhibitörleri.....	21
1.19. Sitokrom P450 Elektron Transport Sistemleri.....	21
1.20. Glutasyon S-Transferaz (GST) (EC 2.5.1.18).....	22
1.21. GST Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler	24
1.22. Laktat Dehidrojenaz (LDH, EC 1.1.1.28)	26
2. MATERYAL METOD.....	28
2.1. Diseksiyon işlemleri ve dokuların hazırlanması.....	28
2.2. Glutathione S-Transferase Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	31
2.3. SitokromP450 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	31
2.4. Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
3. BULGULAR.....	33
3.1. Glutathione S-Transferase Düzeyleri	34
3.2. Sitokrom P-450 (CYP1A1) Düzeyleri.....	35
3.3. Laktat Dehidrojenaz (LDH) Düzeyleri.....	36
4. TARTIŞMA.....	38
5. SONUÇLAR.....	44
6. ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	55

SEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Remazol Brilliant Blue R' nin molekül yapısı.....	12
Şekil 1.2. Gökkuşuğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	15
Şekil 1.3. Oksitlenmiş, semikinon (1 elektronla indirgenmiş form) ve tamamen indirgenmiş (2 elektronla indirgenmiş form) durumdaki FMN veya FAD' ının izoallaksazin halkası.....	22
Şekil 1.4. Glutasyon S-Transferazın yapısı.....	24
Şekil 1.5. LDH enzimi tarafından L-laktatın pürivata oksidasyonunu ve pürivatın laktata redüksiyonu.....	26
Şekil 2.1. Gökkuşuğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) bulunduğu cam akvaryumlar.....	28
Şekil 2.2. Homojenizatör.....	29
Şekil 2.3. Süpernatanı alınmış dokular.....	30
Şekil 2.4. Soğutmalı Santrifüj.....	30
Şekil 2.5. Derin Dondurucu (-86 °C).....	31
Şekil 3.1. Tekstil boyar maddesine RBBR' ye maruz kalan <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşuğu Alabalığı) GST (nmol/dk) düzeylerindeki değişiklikler.....	35
Şekil 3.2. Tekstil boyar maddesine RBBR' ye maruz kalan <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşuğu Alabalığı) CYP1A1 (pg/ml) düzeylerindeki değişiklikler.....	36
Şekil 3.3. Tekstil boyar maddesine RBBR' ye maruz kalan <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşuğu Alabalığı) LDH (U/L) düzeylerindeki değişiklikler.....	37

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Kimya sanayisi atık su deşarj standartları(Boya üretimi ve benzerleri).....	3
Tablo 1.2. Kimya sanayisi atık su deşarj standartları (Boya üretimi ve benzerleri).....	4
Tablo 1.3. Tekstil sanayisi atık su deşarj standartları (Açık elyaf, iplik üretimi ve terbiye).....	4
Tablo 1.4. Tekstil sanayisi atık su deşarj standartları (Dokunmuş kumaş terbiyesi ve benzerleri).....	5
Tablo 1.5. Remazol Brilliant Blue R' nin fiziksel özellikleri.....	13
Tablo 3.1. Tekstil boyar maddesine RBBR' ye maruz kalan <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşuğu Alabalığı) CYP1A1 (pg/ml), GST (nmol/dk) ve LDH (U/L) düzeyindeki değişiklikler.....	33

KISALTMALAR

BOİ	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
AKM	: Askıda Katı Madde
RBBR	: Remazol Brilliant Blue R
ER	: Endoplazmik Retikulum
GST	: GlutasyonS-Transferaz
LDH	: Laktat Dehidrojenaz Enzimi
CYP1A1	: Sitokrom P-450
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PCB	: Poliklorlanmış Bifeniller
HRP	: Horseradish Peroxidase
ZSF	: Biyobalık Deneyi
ATP	: Adenozintrifosfat
DNA	: Deoksiribo nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
NAD+	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	: Nikotiamid Adenin Dinükleotid (İndirgenmiş)
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
G6PD	: Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon

SEMBOLLER LİSTESİ

Ca⁺²	: Kalsiyum
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür
CN⁻¹	: Toplam Siyanür
Co	: Kobalt
CO	: Karbonmonoksit
-COOH	: Karboksilik Asit
Cu	: Bakır
Fe	: Demir
Mn	: Mangan
NH₄-N	: Amonyum Azotu
-NH₂	: Amino
-OH	: Hidroksil
Pb	: Kurşun
S⁻²	: Sülfür
-SH	: Sülfidril
-SO₃H	: Sülfonik Asit
Zn	: Çinko
°C	: Derece-Santigrat

1.GİRİŞ

Endüstriyel üretim kapasitesi, artan nüfus ve gelişen teknoloji ile orantılı olarak artmaktadır. Bu durum doğal kaynakların ve suyun kullanımının artmasına neden olmaktadır. Endüstriyel faaliyetlerde kullanılan sular doğaya atıksu olarak deşarj edilmektedir. Bu nedenle, atıksuların su kaynaklarının kirlenmesine neden olmayacak biçimde arıtılmalıdır (Şener, 2008).

Tekstil, kâğıt, deri, kauçuk işleme, ilaç endüstrisinde, temizlik ürünlerinin imalatında boya ve metal eşya endüstrisi gibi çeşitli endüstri faaliyetlerinde oluşan atıksular yüksekmiktarda ağır metal, sentetik boyalar ve fenol gibi kirleticileri içermektedir. Bu tip toksik kirleticileri içeren endüstriyel atıksuların arıtım yapılmadan doğal kaynak sularına deşarj edilmesi ortamda bulunan canlılar üzerinde toksik etki oluşturmaktadır (Şener, 2008).

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyaların atık olarak çevreye deşarj edilmesi ekolojik dengede büyük sorunlara neden olmaktadır (Ahmad ve ark., 2007). Boyar maddelerin suda bulunmaları ise hem estetik yönden hem de ışık nüfuzunu engellediği için suda yaşayan bitkilerin yaşamında fotosentetik aktiviteyi önemli ölçüde etkilemektedir (Şener, 2008). Bu boyar malzemeler içerisinde toksikolojik etkisi çok yüksek olan boyalarda bulunmaktadır (Ahmad ve ark., 2007).

Tekstil atık suları kompleks bir yapıya sahiptirler (Robinson ve ark., 2001). Tekstil endüstrisinde oluşan atık sular yüksek konsantrasyonda boyar madde, biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve askıda katı madde (AKM) bulundurmaktadırlar (Crini, 2006). Bu sularda yüksek miktarda bulunan kimyasal oksijen ihtiyacı ve renk verici maddeler atık suyu estetik görüntüyü bozup, günlük hayatın sürdürülebilmesi için ihtiyaç duyulan çözünmüş oksijen miktarını azaltmakta ve atık suların arıtımını güçleştirmektedir (Maurya ve ark., 2006).

Tekstil atık sularında boyar maddeler dışında biyolojik olarak zor ayrışan organik maddeler ve inhibitör bileşikler, adsorplanabilir klorlu bileşikler, pH ve tuzlar gibi önemli kirleticiler bulunmaktadır (Şen ve Demirer, 2003).

Atık sularda renk belirlenen ilk unsurdur. Bu atıksuların su kaynaklarına verilmeden önce uzaklaştırılması gerekmektedir (Zollinger, 1991). Atık sudan su

kaynaklarına geçen rengin g n     n n filtrelemesi ve besin zincirinde k r lmalara neden olmaktadır (Shreve ve Brink, 1993; Al-Degs ve ark., 2000).

1.1. Su Kirliliği

 stenmeyen zararlı maddelerin, suyun kalitesini  l   lebi ecek seviyede bozulmasını sağlayacak miktar ve yoğunlukta suya kar   ması olayıdır. Su kirliliğini meydana getiren başlıca etkenler; konutlar, kimyasal mücadele ilaçları, termik santraller, nükleer santrallerden çıkan sıcak sular, gübreler ve toprak erozyonu gibi nedenler gösterilebilmektedir.

Kitlesel zehirlenmeler, g l ve akarsuların tahrip olması, toprak kalitesini bozması ve ürünlerin veriminin azalması gibi olumsuzluklar su kirliliği sonucu yaşanabilmektedir. Ayrıca organik madde bakımından zengin olan sular oksijen dengesini bozarak içinde yaşayan canlılar için toplu ölümlere varan sonuçlara neden olmaktadır.

1.2. Suyun Kalite Kriterleri ve Atık Su Standartları

Toplumun içme ve kullanma gibi ihtiyaçlarının kar   land ı hijyenik sulara içme suları denir. Doğadaki tüm suların ve su rezervlerinin kaynağı havanın su buharı, bulutlarıdır. Su bulut halinde iken temiz ve saf su niteliğine sahiptir. Ancak yağmur halinde yere d   erken havanın çeşitli gazlarını, tozlarını vb. maddeleri bünyesine alarak safiyetini kaybeder ve yeryüzü ile temasa geçtiğinde yeryüzünün çeşitli maddelerini eritip bünyesine alarak sürüklenir ve yeraltına doğru akar. İnsan ve hayvanlar için gerekliolan içme suyunun kalitesinde bozukluğa neden olmaktadır.

Yeryüzünde ve yeraltında bulunan sular çeşitli amaçlar için kullanılmakta olan sulamada ve endüstride yararlanılmaktadır. Çeşitli amaçlar için kullanılan bu sulara doğada    şekilde rastlanmaktadır;

- 1-) Meteor Suları
- 2-) Yeraltı Suları
- 3-) Yeryüzü Suları

Doğal kaynak sularının doğru alanlarda kullanılabilmesi için; fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik özelliklerinin biliniyor olması gerekmektedir. Bu özelliklerin sınır değerlerin üzerinde olmaması gerekmektedir. Bu yüzden suların kullanılacakları alanlar ve işlere göre su standartları hazırlanmış olması gerekmektedir. Ayrıca miktarı, maliyeti ve diğer faktörlerin de analizleri yapılması gerekmektedir. Suların içinde yer alan çözünmüş maddeler, kimyasal bileşikler ve mikroorganizmalar bölgenin genel yer yapısı, hareket ve akış yönleri vb. özellikleri hakkında bilgi vermektedir. Suların kalitesi oldukça önemlidir. Her suyun ayrı önemi bulunmaktadır. Suların her kullanımında ise ayrı spesifikasyonlar yer almaktadır. İçme, sulama vb. endüstrinin çeşitli dalları için istenilen su kalitesi birbirinden farklıdır. Bundan dolayı, su teknolojisinde her iş için farklı standart tablolar hazırlanmıştır. Endüstriyel atıklardan meydana gelen renkler zararlı etkiler de ortaya çıkarabilmektedir (Tasmakıran, 2010). Su kirliliği kontrolü yönetmeliğinde yer alan bazı sektörler için atık su deşarj standart değerleri Tablo 1.1., Tablo 1.2., Tablo 1.3. ve Tablo 1.4.' te gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Kimya sanayisi atık su deşarj standartları (Boya üretimi ve benzerleri)

Parametre	Birim	Kompozit Numune 2 Saatlik (Max)	Kompozit Numune 24 Saatlik (Max)
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)	(mg/L)	200	150
Askıda Katı Madde	(mg/L)	60	40
Balık Biyodeneyi (Zsf)	-	3	-
pH	-	6-9	6-9

Tablo 1.2. Kimya sanayisi atık su deşarj standartları (Boya, boya hammadde ve yardımcı madde üretimi ve benzerleri)

Parametre	Birim	Kompozit Numune	Kompozit Numune
		2 Saatlik (Max)	24 Saatlik (Max)
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOI)	(mg/L)	200	150
Krom (Cr ⁺⁶)	(mg/L)	0,5	0,3
Kadmiyum (Cd)	(mg/L)	-	0,2
Çinko (Zn)	(mg/L)	4	3
Toplam Krom	(mg/L)	2	1
Kurşun (Pb)	(mg/L)	2	1
Demir (Fe)	(mg/L)	30	-
Toplam Siyanür (CN ⁻¹)	(mg/L)	2	1
Balık Biyodeneyi (Zsf)	-	6	-
pH	-	6-9	6-9

Tablo 1.3. Tekstil sanayisi atık su deşarj standartları (Açık elyaf, iplik üretimi ve terbiye)

Parametre	Birim	Kompozit Numune	Kompozit Numune
		2 Saatlik (Max)	24 Saatlik (Max)
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)	(mg/L)	300	240
Amonyum Azotu (NH ₄ -N)	(mg/L)	5	-
Serbest Klor	(mg/L)	0,3	1
Toplam Krom	(mg/L)	2	3
Sülfür (S ⁻²)	(mg/L)	0,1	1
Sülfıt	(mg/L)	1	1
Yağ ve Gres	(mg/L)	10	-
Balık Biyodeneyi (ZSF)	-	4	3
pH	-	6-9	6-9

Tablo 1.4. Tekstil sanayii atıksu deşarj standartları (Dokunmuş kumaş terbiyesi ve benzerleri)

Parametre	Birim	Kompozit Numune	Kompozit Numune
		2 Saatlik (Max)	24 Saatlik (Max)
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)	(mg/L)	400	300
Askıda Katı Madde	(mg/L)	140	100
Amonyum Azotu (NH ₄ -N)	(mg/L)	5	-
Serbest Klor	(mg/L)	0,3	-
Toplam Krom	(mg/L)	2	1
Sülfür (S ⁻²)	(mg/L)	0.1	-
Sülfıt	-	1	-
Fenol	(mg/L)	1	0,5
Balık Biyodeneyi (ZSF)	-	4	3
pH	-	6-9	6-9

1.3. Atık Sular ve Özellikleri

Evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özelliklerinin bir kısmı veya tamamı değişmiş olan sular ile maden ocakları ve cevher hazırlama tesislerinden kaynaklanan sular ve yapılaşmış kaplamalı ve kaplamasız şehir

bölgelerinden cadde, otopark ve benzeri alanlarda yağışlarda yüzey ya da yüzey altı akışa dönüşmesi sonucunda meydana gelen sular atık su olarak tanımlanmaktadır (Tünay, 1996a, 1996b).

Atık sular evsel ve endüstriyel atık sular olmak üzere iki grupta incelenmektedir.

1.3.1. Evsel Atık Sular

Evsel atıksular evlerden, ticari işletmelerden, kurumlardan ve benzer binalardan gelen sularla oluşan atık sulardır. Bu sular insan ve hayvan dışkısı ve idrarı ile gri su denilen banyo, lavabo ve yıkamadan gelen sular oluşturmaktadır. Evsel atık sular renkli, kötü görünümlü ve içinde bir miktar çözünebilen ve çözünemeyen maddeleri bulundurmaktadır. Evsel atık sular bunların dışında bakteri, protozoa, virüs, helmint gibi patojenik olabilecek mikroorganizma türleri barındırmaktadır. Bu atık suların doğal su kaynaklarının kirlenmesini önleyecek ve insan sağlığını tehlikeye atmayacak biçimde arıtılması gerekmektedir. Evsel atık suların arıtılmasında fiziksel, biyolojik ve kimyasal arıtım yöntemleri uygulanmaktadır (Karacakaya, 2009).

1.3.2. Endüstriyel Atık Sular

Endüstri tesislerindeki atıkların çeşitli kaynağı bulunmaktadır. Bunlar başlıca proses ve işlemlerden kaynaklanan atık akışkanlar, soğutma suları, alet, teçhizat, bina, temizlik, yıkama suları, yardımcı işletmelerden kaynaklanan başlıca buhar santralleri blöf suları, kazan kondensat suları, su yumuşatma tesisleri yıkama ve rejenerasyon suları olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir (Can, 1995).

Tekstil endüstrisi atık suları çok fazla kimyasal madde ve boyar madde içermektedir. Bu nedenle arıtılmaları uzun işlemler ve fazla çaba gerektirmektedir. Farklı organik maddeler, çözünmüş tuzlar ve ağır metal içerdikleri için büyük derecede boyanmış ve renkli görünümde olup, bulanıklık ve değişen pH'larda dış ortama deşarj edildiklerinde birinci derecede arıtıma ihtiyaç duymaktadır (Eren ve Anış, 1998).

1.4. Boyar Maddenin Tarihi Gelişimi

Doğada bitkiler, hayvanlar, likenler ve mantarlar tarafından sentezlenen maddelere doğal boyar maddeler denir. Doğal boyarmaddeler ve doğal boyamacılık en az tekstil tarihi kadar eskilere dayanmaktadır. Doğal boyamacılığın tekstil elyafında MÖ. 4000 yıllarında Hindistan'da ve Mezopotamya'da kullanılmaya başlanmıştır (Karadağ, 2007).

İnsanlar doğal elyaf olan yünü, pamuğu vb. ürünleri tarihin ilk çağlarından bu zamana kadar boyamaktadırlar. Kullanılan bu boyarmaddeler bitkilerden, hayvanlardan ve topraktan elde edilmektedir. Doğal boyamacılık 1856 yılında William Henry Perkin tarafından ilk sentetik boyar maddenin bulunuşundan günümüze kadar değişmeden sürmüştür. 1862 yılında Hofmann anilin mavisini keşfetmiş, 1863 yılında Martius ise Bismark kahverengisi elde etmiştir. Günümüzde ise en önemli boyarmadde sınıfını azo boyalar oluşturmaktadır (Altunay, 2010).

1863 yılında Graebe ve Liebermann alizarin boyasını (1,2-dihidroksi-antrakinon) sentetik olarak üretmeyi başarmışlardır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda organik bileşiklerin yapıları hakkında çok az bilgi bulunuyordu. 1865 yılında ise August von Kekulevalens teorisini ileri sürerek benzenin aromatik yapıda olduğunu açıkladı. 1878 yılında Baeyer sentetik indigoyu keşfetti fakat endüstriyel üretimi 1897 yılında gerçekleşmiştir. 1873 yılında ise kahverengi күкүрт boyası ise Fransa'da Croissant ve Bretonnarie tarafından elde edilmiştir (Altunay, 2010).

1956 yılında sentetik boyar madde endüstrisinde önemli bir aşama olan reaktif boyar madder keşfedilmiştir (Altunay, 2010).

1.5. Boya ve Boyar Maddeler

Boyamak, cisimlerin renklendirilmesi olarak adlandırılmaktadır. Boya, cisimlerin yüzeyinin dış etkilerden korumak ya da güzel bir görünüm elde etmek için kullanılan maddelere denmektedir (Arslan, 2004).

Cisimlerin (kumaş, elyaf vb.) renkli hale getirmede uygulanan maddelere boyarmadde denir. Bütün boyar maddeler organik bileşikli yapılara sahiptirler.

Boyar maddeler, çoğunlukla çözeltiler veya süspansiyonlar halinde çeşitli boyama yöntemleri kullanılarak uygulanmaktadırlar. Boyanacak cisimler boyar madde ile devamlı olarak ve dayanıklı bir şekilde birleşerek cismin yüzeyini yapı bakımından

değiştirmektedirler. Genellikle boyarmadde, cismin yüzeyi ile kimyasal veya fizikokimyasal bir tepkimeye girerek birleşmiştir.

Doğal boyar maddeler genellikle hayvanların deri ve salgı bezlerinden, bitkilerin kök, kabuk gibi kısımlarından ve maya bakterileri gibi mikroorganizmalardan basit kimyasal işlemler uygulanarak elde edilmektedirler (Başer ve İnancı, 1990).

1.6. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddeler

Sentetik boyaların yaygın olarak kullanıldığı alanlar tekstil, boya, kâğıt ve baskı endüstrileridir. Boya üretimi yılda 700.000 ton yapılmaktadır. Üretim ve kullanım sırasında ortaya çıkan boya miktarı, atıksuların çevresel açıdan önemli miktarda risk taşıdığını ortaya çıkmaktadır (Kapdan ve Kargı, 1998).

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar maddeler tabii ve sentetik elyafın renklendirilmesinde kullanılmaktadırlar. Boyar maddeler organik yapıya sahiptirler. Bu maddeler boyanacak malzeme ile sürekli ve dayanıklı bir şekilde birleşerek cismin yüzeyini değiştirmektedirler. Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar maddeler, zararlı atık sınıfında değerlendirilmektedir. Boyalar kompleks organik bileşik özelliğine sahiptir. Bu boyalar biyolojik olarak indirgenmeye uygun değildirler (Yılmaz, 2010).

1.7. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması

1.7.1. Boyama Özelliklerine Göre Sınıflandırma

Direkt (substantif) boyar maddeler; $[BmSO_3]-Na^+$ formülü ile gösterilen sülfonik asitlerin ve karboksilli asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapı bakımından genellikle bu boyar maddeler azo boyar maddeleri grubuna girmektedirler.

Direkt boyar maddeler, herhangi bir işlem yapılmadan selülozik elyafa veya yüne doğrudan bağlanabilmektedirler. Elyafın iç misellerinde herhangi bir kimyasal bağ oluşturmada depo edilmektedirler. Suyu karşı dayanıklı olmamakla birlikte bu durum boyama sonrası yapılan farklı işlemlerle düzeltilebilmektedir (Sülkü, 2012).

Küpe boyar maddeler; bu boyalar suda çözünme özelliğine sahip değildirler fakat sodyum hidroksit ve sodyum hidrosülfid gibi bir indirgenin etkisiyle suda çözünebilecek

leuko adı verilen bileşiklere dönüştürülmektedirler. Selüloz ve leuko bileşikleri arasında doğrudan bir ilişki vardır (Karaoğlu, 2007).

Küpe boyar maddesindeki karbonil grubu oksijeni indirgendiğinde enolat oksijeni ortaya çıkmaktadır. Bunlardan karbonil grubu oksijeni iki farklı grup olarak davranmaktadır; birincisinde kromofor, ikincisinde ise oksokrom grup. Bu nedenle küpeleme (indirgeme) işlemi sırasında bir renk değişimi görülmektedir (Sülkü, 2012).

Asit boyar maddeler; sülfonik asitlerin veya ender olarak karboksilli asitlerin sodyum tuzları şeklindedirler. Boyar madde molekülünde bir veya birden fazla $-SO_3H$ veya $-COOH$ grubu içermektedirler. Bu boyar maddelerin kullanıldığı alanlar yün, ipek, poliamit elyaf, kâğıt, deri vb. maddelerdir. Bu boyaların asit boyar maddeleri olarak adlandırılmasının nedeni, uygulamanın asidik banyolarda yapılması ve hepsinin organik asitlerin tuzları olmasıdır. Asit boyar maddeler anyonik boyar maddeler grubunda adlandırılmaktadırlar (Sülkü, 2012).

Bazik boyar maddeler; bu gruptaki boyalar elyafıta bulunan tuz bağlarını kırarak reaksiyona girmektedir. Bazik boyar madde (+) yüklüdür. Bu özellik boyar maddedeki 'Kuarterner amonyum' grubundan kaynaklanmaktadır. Bazik boyalar çoğunlukla trifenilmeten tipleridir. Poliakrilonitril elyafını ve mordanlı selüloz elyafını boyamakta bu tip boyalar kullanılmaktadır (Kuyucu, 2013).

Reaktif boyar maddeler; ülkemizde en çok kullanılan boyar maddeler arasında yer alır. Reaktif grupların reaktifliklerine göre 2 sınıfta incelenmektedir. Bu boyar maddeler yüksek reaktifliğe sahip boyar maddeler ve düşük reaktifliğe sahip boyar maddeler olarak adlandırılır.

Yüksek reaktifliğe sahip boyar maddelerle düşük reaktifliğe sahip boyar maddeler karşılaştırıldığında düşük reaktifliğe sahip boyar maddeler daha hızlı boyama sağlar ve aynı zamanda enerji tüketimi daha azdır (Karacakaya, 2009).

Reaktif boyar maddeler kromofor renkli grupları içermektedirler (Sülkü, 2012) Genellikle soğuk çözeltide boyayabilmektedirler. Boyama metotları için kullanılan en uygun boyar maddelerdir (Karaoğlu, 2007).

Mordan boyar maddeler; mordan sözcüğü, boyar maddeyi elyafa sabitleştiren madde veya bileşim olarak adlandırılmaktadır. Bu boyar maddeler asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içermektedir. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler meydana getirmektedirler (Kuyucu, 2013).

Mordan olarak suda çözünmeyen hidroksitler oluşturan Al, Sn, Fe ve Cr tuzları kullanılmaktadır. Bu tuzların katyonları ile boyar madde molekülleri bir araya gelerek elyaf üzerinde suda çözünmeyen kompleksler haline gelmektedirler (Sülkü, 2012).

Dispers boyar maddeler; suda çok az miktarda çözünebilen ve bu nedenle sudaki dispersiyonlar şeklinde uygulanabilen boyar maddelerdir. Boyar madde, boyama işlemi sırasında dispersiyon ortamdan hidrofobik elyaf üzerine difüzyon yolu ile taşınmaktadır. Bu boyar maddeler poliester, poliamid ve akrilik elyafın boyanmasında kullanılmaktadır (Sülkü, 2012).

Hidrofob özelliğe sahip olan primer, sekonder asetat ve sentetik elyafın boyanmasında da dispers boyar maddeler kullanılmaktadır (Elemenli, 2010).

Pigment boyar maddeler; suda çözünme özelliğine sahip değildirler. Genellikle antrakinon, azoik, ftalociyanin özelliklerine sahiptirler. Mürekkep, deri ve selüloz için kullanılan çeşitleri vardır. Pigment boyalar genellikle anorganik ve organik bileşiklerin birleşiminden meydana gelmektedir. Bu boyalar Mangan (Mn), Cobalt (Co) ve Bakır (Cu) gibi elementleri içermektedirler (Kuyucu, 2013).

Pigment boyalar kumaş yüzeyine ince dağılmış bir halde bulunmaktadır. Bu boyar maddelerin olumsuz etkileri arasında koyu renklerin oluşturulamaması, bağlayıcı filmin hava etkisiyle parçalanması ve kumaşa sertlik vermesi yer almaktadır (Sülkü, 2012).

İnkişaf boyar maddeler; elyaf üzerinde oluşturulup dönüştürülebilen boyarmaddeler bu sınıfta adlandırılmaktadır (Kuyucu, 2013).

İnkişaf boyar maddeleri, elyaf üzerinde oluşturularak son şeklini alacak hale dönüştürülmektedir. Elyaf afinitesi olan bileşen iki aşamadan geçirilerek suda çözünmeyen boyar maddeye dönüştürülmektedir. Bu aşamalardan birincisi bileşen elyafa emdirilmekte, ikinci aşama ise bileşenle reaksiyona sokulur. Böylece bütün renk çeşitleri elde edilmektedir (Elemenli, 2010).

Oksidasyon boyar maddeler; küçük moleküllere sahip ara maddelerin asidik ortamda oksidasyon olması sonucu lifler üzerinde oluşan boyarmaddelerdir (Barışık, 2009).

1.7.2. Kimyasal Yapılarına Göre Boyar Maddeler

Kimyasal yapı grupları içerdikleri bağlar şöyledir (Yılmaz, 2010).

- Nitroso Grubu -NO (veya =N-OH)
- Nitro Grubu -NO₂(veya =NO·OH)
- Azo Grubu-N=N
- Etilen Grubu =C=C=
- Karbonil Grubu =C=O
- Karbon-Azot Grubu=C=NH VE -CH=N
- Kükürt Grubu =C=S ve ≡C-S-S-C≡

Azo boyar maddeleri; tekstil endüstrisinde yaygın kullanılmaktadır. Azo boyar maddeler renkleri, biyolojik olarak parçalamaya dirençli olmaları ve canlılar üzerinde potansiyel toksik madde oluşturdıkları için atık su arıtımında problem yaratmaktadırlar. Yüksek organik ve inorganik kirlilik ve yoğun renk içeriği atıksuların kirlilik seviyesini arttırmaktadır (Gülin ve Ersöz, 2012). Boyar madde çeşitleri ve uygulama tipleri arasında en çok kullanılan boyar madde azo-reaktif boyar maddelerdir (Mıdık, 2011).

Nitro ve nitrozo boyar maddeleri; nitro ve nitrozo boyar maddeleri, iki ya da daha fazla nitro grubu içeren aromatik halkadan oluşmaktadırlar. Ticari açıdan çok önemli değildirler. Pikrik asit ticari olarak kullanılan ilk nitro boyarmaddesidir (Altunay, 2010).

Polimetin boyar maddeleri; polimetin boyar maddeleri, uzun konjuge zincir içermektedir. Karotenler en önemli polimerin boyası olarak bilinmektedir (Altunay, 2010).

Arilmetin boyar maddeleri; bu boyarmaddelerin formülleri Ar-X = Ar şeklinde ifade edilir. Bu formülde X kısmı, -CH= veya -N= şeklinde olabilmektedir. X' in -CH= şeklinde olduğu bileşiklere diarilkarbonyum, -C(Ar)= şeklinde olmasına ise triarilkarbonyum bileşikler adı verilir. Bu grup -N= ise azo türevi olur (Elemenli, 2010).

Kükürt boyar maddeleri; kükürtlü boyalar kükürt içeren karmaşık yapıları organik bileşiklerdir. Kükürt boyar maddeler amino ve nitro grupları içeren organik bileşiklerin sülfür veya sodyum sülfid ile yüksek sıcaklıkta ki tepkimeleri sonucunda elde edilmektedir.

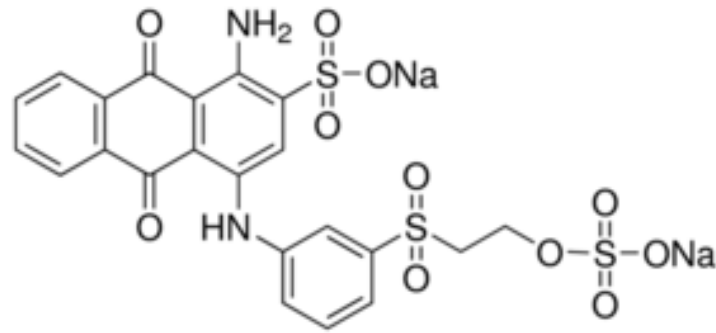
Selülozik elyafın boyanmasında kükürt boyar maddeler kullanılmaktadır. Sülfür boyalar suda çözünme özelliğine sahip değildirler fakat kimyasal indirgeyici maddelerle alkali çözeltide çözünüp 100⁰C gibi yüksek sıcaklıkta kullanılabilmektedir (Gazigil, 2014).

1.8. Boyar Maddelerin Çevreye Etkileri

Tekstil ve boyar madde üretim endüstrilerinden çıkan ve boyar madde içeren atık sular, arıtılması oldukça güç atık sulardan biri olarak bilinmektedir. Atıksuların arıtılmasının zor olmasının sebebi boyar maddelerin genellikle sentetik kaynaklı ve kompleks aromatik moleküler yapıya sahip olmaları ve biyolojik parçalanmaya karşı dirençli hale getirmesidir (Fu ve Viraraghavan, 2001). Tekstil ve boyama endüstrilerinde sentetik boyaların kullanımının artmasının nedeni, bu boyaların sentezinin kolay ve ucuz olması ve doğal boyalarla karşılaştırıldığında renklerinin çeşitli olmalarıdır (Wong ve Yuen, 1996). Bu boyar maddelerin, güneş ışığına ve yıkama proseslerine karşı dirençli oldukları ve mikrobiyal parçalanmaya karşı da direnç gösterdikleri belirtilmektedir (Pagga ve Brown, 1986).

1.9. Remazol Brilliant Blue R (RBBR)

Remazol Brilliant Blue R (RBBR) tekstil endüstrilerinde kullanılan bir antrakinon boyadır. Bu zararlı boya sucul yaşam ve bitkisel hayata zarar vermektedir. Remazol brilliant blueR'nin molekül yapısı Şekil 1.1.'de ve fiziksel özellikleri ise Tablo 1.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Remazol Brilliant BlueR'nin molekül yapısı (Bilir, 2009)

Tablo 1.5. Remazol Brilliant Blue R'nin fiziksel özellikleri (Bilir, 2009)

Yaygın adı	Remozal Brilliant Blue R
Diğer adı	Reaktif Blue
Sınıfı	Asidik
Etanolde çözünürlük	İyi
Sudaki çözünürlük	İyi
Renk indeks numarası	61200
$\lambda_{\max}$	593 nm
Renk	Mavi
Molekül ağırlığı	626,54
Molekül formülü	$C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$

1.10. Alabalıkların Genel Özellikleri

Salmonidae familyası içinde bulunan alabalıkların bir kısmı sadece tatlı suda yaşarken, diğer kısmı aktif olarak tatlı sudan deniz suyuna göç etmektedir (Boeuf, 1993). Deniz suyuna göç eden alabalıklar, üreme ve yaşamlarının ilk evrelerini tatlı suda geçirmektedirler. Belli bir büyüklüğe ulaştıklarında denize göç etmeden önce smoltifikasyon geçirmektedirler.

Smoltlar deniz ortamına kolayca uyum sağlama yeteneğine sahiptirler ve bu yetenekleriyle tuzlu suya göç etmektedirler. Alabalıklar yaşamlarının tümünü tatlı suda geçirir denize göç etmezler. Ancak örihalin özellikleri sayesinde geniş tuzluluk değişimlerine dayanabilen türlerdir (Boeuf, 1987).

1.11. Alabalığın Biyolojisi ve Su Kalitesi

Yaşama ortamı bakımından berrak, temiz, serin ve oksijen yönünden zengin suları tercih eden alabalık halkımız tarafından özellikle etinin lezzetli oluşuyla bilinen balıklar arasında yer almaktadır. Alabalık türleri sistematikte Salmonidae familyası içerisinde yer almaktadırlar. Morfolojik bakımdan ise yağ yüzgeci ile karakterize olmuşlardır. Kuzey Amerika kökenli Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği en yaygın olan alabalık türüdür (Scott ve Crossman 1973; Yıldırım, 1998).

Kültür koşullarına uygun niteliklerinden dolayı günümüzde gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği hızlı bir artış göstermekte ve bir endüstri haline gelmiştir. Gökkuşağı alabalığının tercih edilmesinin sebepleri aşağıdaki başlıklar halinde incelenmektedir (Scott ve Crossman 1973; Yıldırım, 1998).

- Gökkuşağı alabalığının çevre koşullarına uyum göstermesinin yanında özellikle yüksek sıcaklıklara dayanıklı olması,
- Aktif yem alması nedeniyle yemlenmesinin kolay olması ve yemi değerlendirmesinin çok iyi olması yönünden iyi bir büyüme göstermesi,
- Yüksek ilkbahar sıcaklığında dere alabalığı ve kaynak alabalığı gibi diğer alabalık türlerine göre kısa süreli kuluçka dönemine sahip olması

1.12. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin Özellikleri

Salmonidae familyasına ait olan bir balıktır. Kuzey yarım kürede fazla olmasına rağmen günümüzde güney yarım kürede de görülebilmektedir (Muus ve Dahlstrom, 1971; Çelikkale, 1994). Gökkuşağı alabalığı oldukça yüksek sıcaklık ve su kirliliğine daha fazla dayanıklılık göstermektedir (Muus ve Dahlstrom, 1971). Gökkuşağı alabalığı en fazla 70 cm uzunluğa ve 7 kg vücut ağırlığına erişebilmektedirler. Gökkuşağı alabalığı beslenme olarak karnivor beslenme özelliğine sahiptir ve çoğunlukla hayvansal gıdalarla beslenmektedir (Baba, 2014).

Gökkuşağı alabalığını ilk kez Richardson 1836'da çelikbaş alabalık (*Salmo gairdneri*) olarak Colombia nehrinde adlandırmıştır. Çelikbaş (*Steelhead*) anadrom özellik gösteren bir gökkuşağı alabalığı çeşididir. Bu türün farklı sülardaki popölasyonları uzun zamandan beri çeşitli yöresel isimlerle adlandırılmıştır. Örneğin Asya'nın *Salmomykiss*'i, Kaliforniya'nın Altın alabalığı (*Salmo aqua-bonita*) gibi (Scott ve Crossman 1973; Yıldırım, 1998).

1988 yılında ise Amerikan Balıkçılar Derneği, Balık İsimleri Komitesi tarafından tüm Pasifik alabalık ve salmonlarını, Atlantik alabalık ve salmonlarından ayırt etmek için “*Oncorhynchus*” cins isminin kullanılması kararını almıştır. Ayrıca Gökkuşağı alabalığı (*Salmo gairdneri*) ile Kamchatka alabalığının (*Salmo mykiss*) aynı biyolojik tür olduğu kanıtlandığından “*gairdneri*” tür adı yerine “*mykiss*” tür adının kullanılması kararlaştırılmıştır. Bu değişiklikler tüm uluslararası bilim çevrelerince kabul edilmiştir. Bu

durum Gökkuşığı alabalığı ve onun tüm formları “*Oncorhynchus mykiss*” olarak adlandırılmasını sağlamıştır (Gall ve Crandell, 1992)

Bu türün anavatanı Kuzey Amerika’nın Pasifik bölgesindeki nehir ve göller olup özellikle bulunduğu nehir Mc-Cloud-River’dır. Daha sonra Kuzey Amerika’nın diğer bölgelerine aşılanmıştır. Başlangıçta faunayı zenginleştirmek amacıyla yapılan bu aşılama daha sonra bu türün ekonomik oluşu göz önünde tutularak devam edilmiştir. Yıllar içinde gelişen durumlara rağmen, suni üretim stoklarından takviye edilmeden, varlığını doğal olarak sürdürebilen birkaç gökkuşığı alabalığı popülasyonu oluşmuştur (Scott ve Crossman, 1973).



Şekil 1.2. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (URL-1, 2010)

1.13. Ksenobiyotikler

Besin amaçlı doğal bileşikler dışında farklı yollarla vücuda giren ve yabancı olan bileşiklerin tamamına ksenobiyotik denir. Bu maddeler inhalasyon, deriden emilim ve parenteral enjeksiyon gibi çeşitli yollarla vücuda alınabilmektedir. Ksenobiyotikler suda çözünabilir (hidrofilik) özellikte ve suda çözünmeyen (lipofilik) olmak üzere 2 gruba ayrılır. Hidrofilik ksenobiyotikler parçalandıktan sonra idrar ve safra yolu ile dışarı atılabilirken lipofilik ksenobiyotikler vücuttan kolayca atılamamaktadır. Bu nedenle lipofilik ksenobiyotikler idrar ve safra yolu ile atılabilecek suda çözünür bileşiklere dönüştürülürler. Bu işleme ksenobiyotik metabolizması adı verilmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasında temel organ karaciğerdir (URL-2-3, 2011). Ksenobiyotikler biyolojik sistemlerde birbirinden farklı etkiler göstermektedirler. Ksenobiyotiklerin oluşturduğu bu etki maruziyet ve ksenobiyotiğin mekanizması ile orantılıdır. Bu çok basamaklı etki süreci

adımları kimyasal maruziyetle başlayıp yapı ve fonksiyonlarda değişiklikler oluşturduktan sonra hastalık belirtileri ile son bulmaktadır (Akay, 2004).

1.13.1. Ksenobiyotiklerin Etki Mekanizması

Ksenobiyotiklerin hücredeki hedef molekülleri proteinler (reseptörler, enzimler, taşıyıcılar ve yapısal proteinler), lipidler ve nükleik asitlerdir. Bu moleküller ile etkileşimleri sonucu toksik etkiler meydana gelmektedir (Moeller, 2005). Ksenobiyotiklerin etki mekanizması 5 farklı şekilde sınıflandırılabilir:

1. Reseptörler ile etkileşimi
2. Membran fonksiyonunu etkileme
3. Hücresel enerji üretiminin engellenmesi
4. Biyomoleküllerekovalent bağlanma
5. Kalsiyum homeostazının bozulması

Plazma membranına, sitoplazmaya veya çekirdeğe yerleşmiş olan bu reseptörler fiziksel veya kimyasal sinyallerin hücreye aktarılmasını sağlayan makro moleküllerdir. Reseptöre bağlanan ligandagonist reseptörün fizyolojik fonksiyonunu indükler antagonist ise reseptör fonksiyonunu iptal eder. Her reseptör birleştiği toksik maddelere karşı kimyasal yapı bakımından farklılık göstermektedir. Eter ve halotan gibi birçok madde hücre membranında birikime neden olur ve hücre içine oksijen ve glikoz taşıyan transport ile hücre içine alınmaktadır. Bu yüzden hücrelere oksijen ve glikoz taşınmasında azalma meydana gelmektedir. Membranın organik solventler ve deterjanlar ile temas etmesi sonucunda membran ayrışması meydana gelebilmektedir. Cıva ve kadmiyum iyonları fosfolipitler ile kompleks oluşturmaktadır ve membran yüzey alanını artırarak fonksiyonlarının değişmesine neden olmaktadır. Kuvvetli asit ve bazlar hücre membranındaki proteinlerin denatürasyon olmasına neden olmaktadır. Karbontetraklorür gibi birçok toksik maddenin nekrotik etkisinden dolayı hücre membran fonksiyonu etkilenmesine ve membran bütünlüğü bozulmasına neden olmaktadır ve hücre fonksiyonu durdurmaktadır. Ksenobiyotik toksiklerin birçoğu etkisini, hücresel enerji oluşumunu engelleyerek göstermektedir. Hücrenin birçok yapım ve yıkım reaksiyonlarının gerçekleşmesi için ATP formundaki yüksek enerjili fosfat gerekli olmaktadır. ATP

oksidatif fosforilasyon (aerobik yol) ve glikolitik yol (anaerobik yol) olmak üzere iki farklı yolla üretilmektedir. Memeli hücreler için önemli olan yol oksidatif fosforilasyondur. Nitritler gibi bazı oksidan maddeler hemoglobinde demir-2 iyonunun (ferro), demir-3 iyonuna (ferri) yükseltgenerek methemoglobin oluşturmalarını engellemektedir bu da dokulara oksijen taşınmasını engellemektedir. Karbonmonoksit (CO), hemoglobindeki ferro kısmına bağlanarak oksijenin yerine geçer ve nitritlerde olduğu gibi dokulara oksijen taşınmasına engel olmaktadır. Siyanür, kükürt, hidrojen gibi maddeler sitokromoksidaz enzimini inhibe ederek, dokulara oksijen taşınmasını engellemektedir. Toksik maddelerin proteinlerle etkileşimi enzimin, taşıyıcının ve yapısal proteinlerin inaktivasyonu ile sonuçlanmasına neden olmaktadır. Karbonmonoksitin bir taşıyıcı protein olan hemoglobine bağlanması sonucu dokulara oksijen taşınmasının engellemektedir. Kollojen gibi ekstrasellüler yapısal proteinler toksik maddelerden etkilenmemektedir. Ancak ozon ve asbest gibi toksik maddeler akciğerlerde kollojen artışına neden olabilmektedir. Toksik maddeler, enzimleri yarışmalı (kompetitif) veya yarışmasız (nonkompetitif) olmak üzere iki farklı şekilde inhibe etmektedirler. Yarışmalı inhibisyonda, substrata yapı olarak benzeyen toksik madde, enzimin benzer aktif bölgesi için substratla yarışmaktadır. Toksik madde enzim kompleksikovalent bir bağ özelliğine sahip değilse reversibldir. Yarışmasız inhibisyon ise toksik maddenin enzimi Hidroksil (-OH), Sülfidril (-SH), Amino (-NH₂), imidazol gruplarına bağlanmaktadır. Bu durumda enzim normal substratı ile birleşmiş olsa da enzim fonksiyonu gerçekleşmez. Yarışmasız inhibisyon genellikle irrevesibl özelliğe sahiptir. İnhibe olan enzimlerin fonksiyonu, yeni enzim sentezine kadar devam etmemektedir. Cıva, arsenik, kurşun, bakır ve siyanür gibi çeşitli toksik maddeler sülfidril grubu içeren bu enzimleri yarışmasız şekilde inhibe ederek toksik etki meydana getirmektedir. Toksik maddeler (alkilleyici ajanlar gibi) ile DNA ve RNA arasındaki kovalent bağlanma sonucu kanser, mutasyon ve teratojenenezise meydana gelmektedir. Hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesinde hücresel kalsiyum homeostazı önemli bir yere sahiptir. Ekstrasellüler Ca⁺² seviyesi sitoplazma konsantrasyonuna göre 10 kat daha fazla seviyeye sahiptir. Bu iyonik denge plazma membranına yerleşmiş olan Ca⁺² taşıyıcı ATPaz, Endoplazmik retikulum (E.R.), mitokondri ve nükleustaintrasellülerkalmoduline bağlanarak depolanması ile korunur. Hücre içinde Ca⁺² artışı hücreye potansiyel zarar verebilecek birçok enzimin aktif hale geçmesine neden olur. Kalsiyumun artışı ile aktifleşen bu enzimler fosfolipazlar, proteazlar, ATPazlar ve endonükleazlardır. Bu enzimler hücre hasara yol açarlar (Moeller, 2005).

1.14. Ksenobiyotik Metabolizmasında Glutatyonun Rolü

Doğal ve antropojenik kimyasallar çoğunlukla biyolojik aktif olma özelliğine sahiptir. Fizyolojik süreçlerde canlılarda farklı değişimlere yol açmaktadırlar. Bu kimyasalların bir kısmı lipid membranlardan geçme yeteneğine sahiptir. Bu bileşikler lipofilik bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Lipofilik kimyasalların polar metabolitlerine dönüştürülebilmesi için iki metabolik faz gerçekleşmelidir. Faz I tepkimelerinde moleküle bir oksijen transferi yapılarak veya indirgenerek -OH ve -COOH gibi işlevsel gruplar oluşturmaktadırlar. Ana bileşikten daha hidrofilik olan bu metabolitler faz II tepkimelerinde glukuronik asit, sülfat ve glutatyon (GSH) gibi endojensubstratlarla konjuge ederek vücuttan atılımları daha kolay gerçekleştirmektedirler. GSH konjugasyonu hücrelerin ksenobiyotik etkisinden korunmasını sağlayan önemli metabolik süreçlerdendir (Ioannides, 2002).

1.15. Biyotransformasyon

Biyotransformasyon, genel olarak hayatın devamı için gerekli olan ve organizmada meydana gelen bütün kimyasal reaksiyonlar olarak adlandırılmaktadır. Başka bir ifadeyle bir organizma için yabancı olan ksenobiyotikler gibi kimyasal maddelerin kimyasal değişimlerine de metabolizma adı verilse de biyotransformasyon kullanılması daha uygun olmaktadır (Lüleyap, 2008)

Biyotransformasyonla toksik maddelerin daha az etkili veya etkisiz bileşiklere dönüşmesine 'detoksifikasyon' denir. Bazen biyotransformasyon sonucu daha çok aktif ya da toksik bileşikler oluşabilmektedir. Bu durumda toksifikasyon (biyoaktivasyon) söz konusu olmaktadır. Biyotransformasyon kapasitesi tür, nesil, cinsler arasında birçok farklılık göstermektedir. Bunun yanında yaş, cinsiyet, beslenme ve maruz kalınan diğer kimyasal maddeler de biyotransformasyonu etkileyebilmektedir. Biyotransformasyon için en önemli organ karaciğer olmanın yanı sıra akciğer, mide, bağırsak, cilt, böbrekler, burun mukozası ve gözde ksenobiyotiklere maruz kalan ve biyotransformasyon yapan organlardır (Ergun, 2008).

1.16. Mikrozomal Enzimler

Mikrozomal enzimler, o organı oluşturan hücrelerin endoplazmik retikuluma yerleşmişlerdir. Doku homejenatına farklı devirlerde santrifüj işlemi uygulanarak, endoplazmik retikulumun çöktürülmesiyle elde edilen pellete ‘mikrozom’ olarak adlandırılmaktadır. Ultrasantrifüj bulunamazsa CaCl_2 ile çöktürülerek 10.000 devir/dk ile de elde edilebilmektedir (Şahin, 2008). Mikrozom, hangi doku olursa olsun elde edilebilmektedir. Endoplazmik retikulum’da bulunan ilaç metabolize edici enzimlere bu nedenle ‘mikrozomal enzimler’ adı verilmektedir.

Faz I reaksiyonlarında bulunan enzimler özellikle ER’de bulunurlar. Faz II konjugasyon enzim sistemleri ise çoğunlukla sitozolik özelliğe sahiptirler. ER’de faz I reaksiyonu ile biyotransformasyona uğrayan bir ilaç aynı hücrenin sitozolik fraksiyonunda konjuge olmaktadır.

Faz I reaksiyonları; oksidasyon (yükseltgenme), redüksiyon (indirgenme) ve hidroliz özelliklerine sahiptir.

Oksidasyon; Karışık fonksiyonlu oksidasyonlar, birçok oksitlenme reaksiyonlarını kataliz etmektedirler. Mikrozomal oksidasyon tiplerinden bazıları başlıklar halinde incelenmektedir:

- a. Aromatik hidroksilasyon ve epoksit oluşumu
- b. Dealkilasyon
- c. N-dealilasyon
- d. Oksidatifdeaminasyon
- e. Tersiyer azot oksidasyonu

Redüksiyon; bu reaksiyonlar hem mikrozomal hem de sitolojikredüktazlar tarafından katalizlenebilirken redüktaz ihtiva eden bağırsak bakterileri tarafından da katalizlenebilmektedir. Nitro, diazo, karbonil, disülfir, sülfoksit ve alkon gibi fonksiyonel gruplar organizmada indirgenebilmektedirler.

Hidroliz; ester, amid veya substitüe ve fosfat ester bağınyı içeren ksenobiyotiklerin büyük kısmı organizmada hidrolizlenebilmektedir. Esterler esterazlar tarafından, amidler ise amidazlar tarafından hidrolizlenmektedirler.

Faz II reaksiyonları; konjugasyon reaksiyonları olarak da bilinen bu reaksiyonlar, polar bir grubun yabancı moleküllere eklenmesi ile oluşmaktadır. Bu polar grup ya bileşik

üzerinde hazır bulunan bir gruba ya da Faz I reaksiyonları sonucunda meydana gelen hidroksil gibi gruplara konjuge olabilmektedir. Polar gruplar, yabancı molekülleri suda daha çok çözücü kılar ve böylece vücuttan uzaklaştırmayı kolaylaştırarak toksik etkiye de bir azalmaya neden olmaktadır (Korkmaz, 2005).

1.17. SitokromP450 Enzimleri (CYP1A1) (EC 1.14.1.1)

Sitokrom P450 enzimleri oksidasyon ve redüksiyona uğrayabilme, organik moleküllere oksijen ve elektron taşıyabilme ve bağlanabilme kapasiteleri olan izoenzimlerin oluşturduğu geniş bir gruba sahiptir (Pollock, 1994). Sitokrom P450 enzimleri steroidlere, yağ asitlerine vitaminlere ve yabancı maddelere çok fazla oksijen taşıyabilmektedirler. Bu enzimler ışığı 450 nm. frekansında emdikleri için Sitokrom P450 olarak adlandırılmışlardır ve bunlar hepatositlerde en yüksek konsantrasyonda bulunmakla beraber farklı dokularda da görülebilmektedirler (Preskorn, 1996).

Sitokrom P450 sistemleriyle ilgili olarak, belirli bir ilacın metabolizmasında bulunan spesifik izoenzimlerin belirlenmesi çok önemlidir. Belirli Sitokrom P450 izoenzimlerinin standardizasyonunun yapılabilmesi için araştırma ilaçları kullanılmıştır (Lerena ve ark., 1993).

Sitokrom P450 enzim sistemi, dışarıdan alınan ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, pestisidler, petrol ürünleri, alkaloidler gibi maddeleri metabolize yapan sistemdir. Sitokromlar tüm doku ve ince bağırsak sistemi, akciğerler, böbrek, beyin, lenfositler ve plasenta gibi organlarda, en fazla da karaciğer hücrelerinin ER membranları üzerinde bulunmaktadır. Steroidler, yağ asitleri, prostaglandinler, lökotrienler ve biyogenaminleri bu enzimlerin fizyolojik substratları olarak bilinmektedir. İlaçlar, bitki toksinleri ve toksik kimyasallar gibi xenobiyotikler de bu enzimler tarafından metabolize edilmektedir (Rozman, 2001).

Sitokrom P450 enzimleri Fe^{+3} içeren proteinlere sahiptir. İsimlerinde yer alan “450” rakamının nedeni ise bu proteinlerin karbonmonoksit bağlandıktan sonra absorbe ettiği ışığın dalga boyunun 450nm’de pik gösterebilmesidir. Bu şekilde enzim sistemi keşfedilmiştir (Lewis, 2003; Gueguen, 2006). Bu sistemdeki enzimler adlandırılırken “Cytochrome P450” nin kısaltılmış hali olan “CYP” harfleri ile gösterilmektedir. Bu harflerden sonra sitokrom P450 ailesinin rakamsal olarak grubu ve

büyük harfle alt grubu gösterilmektedir. Bu alt grupta bulunan her bir enzim izoformu da ayrı ayrı sayılarla gösterilmektedir.

1.18. Sitokrom P450 İnhibitörleri

CYP450 formu enzimlerin fonksiyon yaptıkları organlardaki metabolik rollerinin bilinmesi zorunludur. Böbrek üstü bezinde ve üreme organlarında CYP450'nin bazı metabolik yollara nasıl katıldığını belirlemek için inhibitör ajanlarından faydalanılmaktadır. Birçok dokuda CYP450, indirgenmiş karbondioksit spektrumu ile tespit edilmektedir. Karbonmonoksit, oksijen yerine daha yüksek bağlanma afinitesi gösteren demire bağlanır ve böylece demirin fonksiyonunu güçlü bir şekilde inhibe edilmiş olur. Metabolik yollarla bir substratın katalizinde terminal oksijenaz olarak CYP450'nin tanımlanması, indirgenmiş CO'nin maksimum absorpsiyon verdiği 450 nm'de CO inhibisyonunu geriye dönmesine neden olmaktadır. Bu olay ilk kez böbrek üstü mitokondrilerindeki CYP450 enzimlerinin substratı olarak steroidlerde ortaya çıkmış ve daha sonra karaciğer mikrozomlarında metabolize edilen ilaçlarla da ortaya çıktığı anlaşılmıştır. Bununla birlikte, bu birçok CYP450'nin nonspesifik bir inhibisyonudur. Bu enzim çeşitli formlar arasında ayırım sağlamaz (Eisen, 1986).

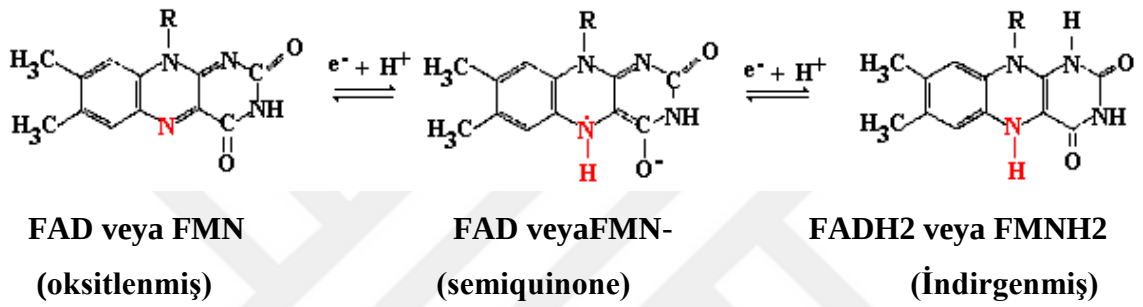
Bu nedenle, belirli bir metabolik olayda spesifik bir CYP450'nin rolünü daha kolay tespit etmek için spesifik inhibitörlerin dizayn edilmesi gereklidir. Sayısız CYP450 için monospesifik poliklonal ve monoklonal antikorlar geliştirilmiş olmasına rağmen belirli bir reaksiyonu inhibe eden bir tek CYP450 formu tayin etmek olanaksızdır. Çeşitli formlar arasında kuvvetli yapısal homoloji olması nedeniyle CYP450 arasında kros-reaktivite oluşmaktadır. Bu olay özellikle immün kros-reaktivite gösteren benzer gen ailesinde sık sık görülmektedir (Eisen, 1986).

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, spesifik P450'lerin substrat veya substratlarına güçlü yapısal benzerliği olan inhibitörlerin geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Eisen, 1986).

1.19. Sitokrom P450 Elektron Transport Sistemleri

CYP450 ile katalizlenen reaksiyonlarda, demirin indirgenmesi, oksijenin bağlanması ve ayrılması için 2 elektrona ihtiyaç vardır fakat mekanizma ile ilgili küçük bir

problem ortaya çıkmaktadır. NADPH' dan da CYP450' ye elektronlar taşınmaktadır. Piridin nükleotidler 2 elektron vermesine rağmen prostetik grubu olan CYP450, aynı anda sadece bir elektron kabul edilebilmektedir. Bu nedenle, NADPH' dan CYP450 molekülüne elektron transferi yapabilen bir protein 2 elektron kabul edebilmektedir. Flavin molekülünün aktif redoks grubu izoalloksazin halkasıdır. İzoalloksazinnükleusukimyasal görevi üstlenecek benzersiz bir yapıya sahip oksidize formdadır yani, 1 veya 2 elektronla indirgenmiş haldedir (Şekil 1.3.) NADPH' dan CYP450' ye elektronların transferi, genellikle ya mitokondri ya da endoplazmik retikulum (ER)' da bulunan iki farklı elektron taşıma sistemi ile sağlanmaktadır (Peterson ve ark.,1986).



Şekil1.3. Oksitlenmiş, semikinon (1 elektronla indirgenmiş form) ve tamamen indirgenmiş (2 elektronla indirgenmiş form) durumdaki FMN veya FAD'nin izoalloksazin halkası (Özerol, 1996).

1.20. GlutatyonS-Transferaz (GST) (EC 2.5.1.18)

GST enzimi memelilerde, böceklerde, balıklarda, bitkilerde, Crustacea'da, Planaria'da ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır. GST başta karaciğer olmak üzere böbrek, incebağırsak, kalın bağırsak, akciğer ve meme gibi organlarda en çok bulunmaktadır. GST enzimi, bu organların sitosollerinin total protein içeriğinin %5'ini meydana getirmektedir. Bu organlarda yüksek oranda bulunmasının sebebi; sözü edilen organların dışarıdan alınan ksenobiyotikler ile doğrudan temas halinde olmalarıdır (Boyer, 1989; Waxman, 1990).

Toksik moleküller organizmada bulunan DNA ve proteinlerin yapılarına zarar vererek metabolizmanın bozulmasına ve hücrenin ölümüne yol açmaktadırlar. Bu toksik çevresel şartlar altında yaşamın devamı için gerekli olan detoksifikasyon sistemleri vücudumuzda bulunmaktadır. Ksenobiyotiklerin enzimatik detoksifikasyonu üç fazda gerçekleşmektedir. Faz I reaksiyonları yükseltgenme, indirgenme, hidroliz gibi reaksiyonlar ile substrata aktif gruplar ilave ederek, Faz II konjugasyon reaksiyonlarına

substrat hazırlanmasında. Faz III'de Faz II'de oluşan daha çok suda eriyebilen nonpolarksenobiyotikler ve daha az toksik olan metabolitlerin elde edilmesinde kullanılmaktadır (Autrup, 2000; Sheehanet ve ark,2001; Lee, 2003).

Her enzimin yapısında, kendine özgü substratının bağlanabildiği bir veya birkaçkatalitik bölge bulunmaktadır. GST enzimi birden fazla substratı tanıyabilme özelliğinden dolayı, kısmi özgüllük gösterir. GST enzimi iki substrat bağlama bölgesine sahiptir.

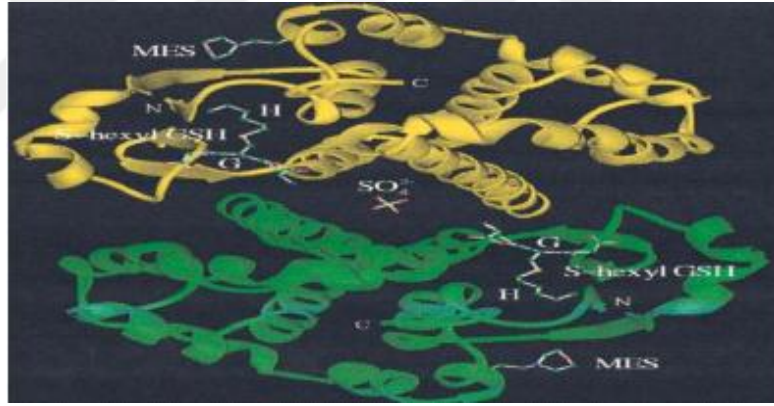
G Bölgesi; GSH kosubstratına özel olan ve GSH'ın bağlandığı cep bölgesidir. GSH' intiyol grubu (SH) cebin kapalı olmayan kısmına dönük olarak yerleşmiştir. Çünkü diğer substratlara bağlanan grup tiyol grubu olarak adlandırılmaktadır. GST enziminin GSH ile konjugasyonu yapabilmesi için tiyol grubunun pozisyonu oldukça önemlidir. Dolayısıyla L-sistein'in, D-sistein, L-homosisteinve L-penisilamin ile substitusyonu sonucu oluşan GSH analogları, GSTiçinkosubstrat olarak GSH ile yer değiştiremezler. GST tarafından bu analoglar kullanılmamaktadır. Çünkü GST' nin bağlayacağı substratın seçilmesinde önemli bir yere sahip olan tiyol grubu bulunmaktadır. Aktivitenin kaybına sebepolan, GSH molekülünün tek grubu olan tiyol grubudur (Anton ve ark., 1990).

H Bölgesi; Hidrofobik elektrofilik substratların, GST enziminin katalitik merkezindebağladığı hidrofobik bölgeye H bölgesi adı verilmektedir. Nishihira ve ark' nın (1995), GSH ve CDNB substratınakarşı olan katalitik aktiviteyi kompetatifbir şekilde inhibe eden bir GSH analogu olan S-[2-(2-floro-4-nitrofenoksi)etil]glutatyonu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada, sıçankaraciğer GST π enziminin elektrofiliksubstrat bağlanma bölgesini açığa çıkarmıştır.

Çalışmalar GSH analogunun, G ve H bölgelerini bulunduran aktif bölgeye spesifik bir şekilde bağlanabildiğini göstermiştir. Analogun GST π ile tepkime gerçekleştirdikten sonra aminoasit dizianalizi gözlendiğinde aktif bölgenin 122-128. aminoasitleri (Ala-Leu-Pro-Gly-Xaa-Leu-Lys) bulundurduğu gözlenmiştir. Yine GST π 'nin H bölgesinde 126 kalıntısının var olduğu düşünülmektedir. Sıçan GST π izoenziminin C terminal bölgesinin rolünü araştırmak için karboksi peptidaz A ve B ile delesyona uğratarak yapılan başka bir çalışmada, bubölgenin 201. ve 209. aminoasit kalıntıları arasında yer aldığı bulunmuştur (Arg-Pro-Ile-Asn-Gly-Lys-Gln). Karboksipeptidaz aktivitesi ile bu yedi aminoasit çıkarıldığında katalitik aktivite %5 oranında azaldığı görülmüştür. Bu bölgedeki 9 aminoasit çıkarıldığında iseaktivite tamamen durduğu gözlenmiştir. Veriler C terminalinin, aktif bölge konformasyonunun stabilizasyonunda önemli bir yere sahip olduğunu

göstermiştir. Bir başka çalışmada Tyr108'in Phe ile yer değiştirmesi sonucu Kcat değerini 14 kat azaltmıştır. Fakat H bölgesinin substrataffinitesi değişmemiştir. Tyr 108'in OH grubunun rolü, GSH'ne elektrofilik substrat ile konjugasyonu gibi kimyasal aşamanın bir kısmı için transisyon durumunu korumak olabilmektedir (LoBello, 1997; Orozco ve ark., 1997). Serbest enerji perturbasyon tekniklerini kullandıkları bir çalışmada, Tyr 7'nin görevi su molekülleri ile hidrojen bağı aracılığı ile hidratlaşarak, tiyolat anyonunu durgun hale getirmek olduğunu görmüşlerdir.

GST aktivitesinin ölçümü, iki farklı yöntemle yapılmaktadır. Bunlardan birincisi spektrofotometrik yöntemle yapılır. Bu yöntem Habig ve arkadaşları ve Howie ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu GST'ye özgül substratın, GSH konjugasyonu ile meydana gelen bileşiğin renk şiddetinin ölçülmesine dayanır. İkinci yöntem ise immüno radyometrik yöntem ile yapılmaktadır. Bu yöntem ise serum doku örneklerinde ki GST aktivitesini radyoimmünassay ile tayin etmek için kullanılmaktadır (Howie ve ark., 1988).



Şekil 1.4. Glutatyon S-transferazın yapısı (Oakley ve ark., 1997)

1.21. GST Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Yaş; doğum sonrası GST seviyesindeki artış başlar ve 7 hafta sonra erişkin seviyesi haline gelir. Peters ve ark., (1995) insan lenfositleri üzerinde yaptıkları çalışmada, GST-GSH sisteminin yaşlanma ile birlikte azaldığını göstermişlerdir. GST'nin farklı izoenzimlerinin yaş artışı ile artış hızı birbirinden farklıdır.

Cinsiyet; GST aktivitesi erkek bireylerde daha fazladır. Karaciğer ve böbrekteki GST'nin cinsiyete bağlı olarak oranları farklıdır. Kadında renal korteks ve akciğerde GSH

ve CDNB konjugasyon hızı azancak önemli derecede erkekte daha fazla oranda olduğu gözlenmiştir (Temellini ve ark., 1995).

Doku çeşidi; GST enzim aktivitesi karaciğer, bağırsak, böbrek gibi dokularda yüksektir.

Hormonlar; cinsiyet farklılığından dolayı hormon çeşidi ve miktarındaki farklılık GST aktivitesini de etkilemektedir. Carillo ve ark., (1995) insülin ve glukagonun sıçan hepatosit GST enzimi üzerine etkisinin olup olmadığını incelemişlerdir. Sıçanda insülin ve glukozun intravenöz uygulaması sonucu hepatik sitosolik GST aktivitesi 30 dakikada % 56 artıyorken mikrozomal GST aktivitesinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Glukagon enjeksiyonu, hepatik sitosolik GST aktivitesinde % 43 azalma meydana getirirken, mikrozomal GST'yi etkilememiştir.

Beslenme; GST aktivitesi açlık durumunda ve proteinin yer almadığı beslenme sonucu azaldığı görülmüştür. İnsanda glikosinolat içeren *Crucifera* tipi bitkilerin (Brüksel lahanası gibi) yüksek miktarda tüketilmesi sonucu kanser riskini önemli miktarda azalttığı söylenmektedir. Brüksel lahanası tüketiminin duodenal, rektal ve lenfotik GST ve GSH seviyelerine etkisi araştırılmıştır. Bunun sonucunda GST α ve π seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.

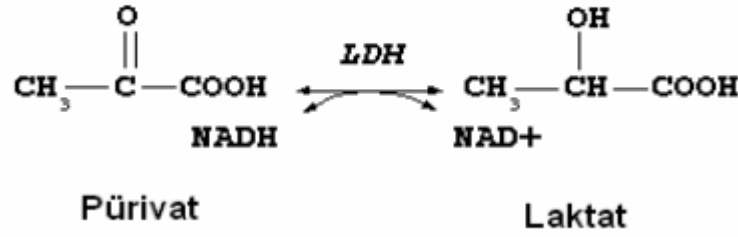
Patolojik durum; karaciğer dokusu hastalıklarında, GST aktivitesini değiştirmektedir. Kronik hepatit C'li hastalar üzerinde GST α izoenziminin klinik önemini ortaya koymak için serum GST α seviyeleri araştırılmış ve hastaların %93'ünde GST α bulunmuştur. GST α ile lobüler ve safra kanalı lezyonları arasında bir bağlantı olduğunu ve GST α 'nın serum aminotransferaz kadar diagnostik öneme sahip olduğunu ortaya koymuşlardır (Nelson ve ark., 1995).

Tür farklılıkları; ksenobiyotiklerin organizmanın türüne göre yarılanma süreleri değişmektedir. Bu durumun detoksifikasyon enzimlerinin her türde farklı miktarlarda bulunmasıdır.

Kimyasal faktörler; GST enziminin etkilediği substrat, nonsubstrat ligandlar, enzimi aktive etmesine neden olabilmektedir. Bununla birlikte detoksifikasyon metabolik yolu son ürünlerinin ortamda birikmesi sonucu ortamın pH, ısı, radyasyon vb. faktörlerde değişime yol açabilmektedir.

1.22. Laktat Dehidrojenaz (LDH, EC 1.1.1.28)

Laktat dehidrojenaz enzimi(LDH) (EC: 1. 1. 1. 27) L-laktatın pirüvata ve pirüvatın laktata dönüşmesini sağlayan bir enzimdir (Holbrook ve ark., 1975). Omurgalı LDH enziminin aktif formu 140,000 daltonluk dört altbirimden oluşur ve tetrametrik bir yapıya sahiptir. Fizyolojik koşullarda enzimin daha kararlı olmasını bu yapı sağlamaktadır (Koolman ve Röhm,2005; Markert ve Moller, 1959). Tetramerik yapıda, her alt ünitenin katalitik olarak birbirinden bağımsız aktif merkezleri yer almaktadır (Holbrook ve ark.,1975). İleri ve geri tepkimelerin pH'ları birbirinden farklıdır (Varley, 1981). Laktat dehidrojenaz enzimi birçok organizmada yer almaktadır (Yu ve ark., 2001; Prive ve Stevens,1989). LDH enzimi tarafından L-laktatın pirüvata oksidasyonunu ve pirüvatın laktata redüksiyonu Şekil 1.5. 'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5. LDH enzimi tarafından L-laktatın pirüvata oksidasyonunu ve pirüvatın laktata redüksiyonu (Price ve Stevens, 1989)

LDH enzimi üzerinde kolay çalışmalar yapılabilen ve yapısı, katalitik mekanizması bilinen bir enzimdir (Turgut, 1998). LDH enziminin katalizlediği reaksiyonda hidrojen verici olarak NADH kullanılmaktadır. Metabolizmada bu NADH ise gliseraldehit-3-fosfatın, 1,3-difosfoglisarik asite oksitlenmesi ile oluşmaktadır. Bu açıdan LDH enzimi anaerobik glikolizin son basamağını temsil etmektedir ve sabit bir NAD^+ kaynağı olduğu için önemli bir enzimdir (Price ve Stevens, 1989). Yüksek yapılı canlılarda LDH enzimi, çeşitli genler tarafından kodlanan M, H ve X alt birimlerine sahiptir (Markert ve Moller, 1959). Bu alt birimlerden toplam 5 farklı LDH izoenzimi meydana gelmektedir (Holbrook ve ark., 1975; Koolman ve Röhm, 2005; Fersht, 1985). Bu izoenzimler LDH-1 (H_4), LDH-2 (H_3M), LDH-3 (H_2M_2), LDH-4 (HM_3), LDH-5 (M_4) 10 olarak sınıflandırılmaktadır (Koolman ve Röhm, 2005). H altbirimleri M altbirimlerine oranla daha çok asidik özelliğe sahip ikendaha az temel aminoasitlere sahiptir (Koolman ve Röhm, 2005). LDH

izoenzimlerinin dağılımı, dokuların metabolik ihtiyaçlarına göre farklılık gösterebilmektedir (Musick ve Rossman, 1979). M₄ izoenzimi iskelet kasında, H₄ izoenzimi ise kalp ve karaciğerde, X₄ izoenzimi ise testis ve spermatozoada bulunmaktadır. Bu formların dışında E ve F formlarına da rastlanmıştır (Holbrook ve ark., 1975; Garvie, 1980). Her bir LDH altbiriminin aktif bölgesinde, bir katalitik bölge ve nükleotid bağlama bölgesi bulunmaktadır. Bu yapısal motif Rossmann motifi olarak adlandırılmaktadır (Deng ve ark., 1994).



2. MATERYAL METOD

Araştırmada balık materyali olarak; lokal çiftliklerden temin edilen Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) türü ve ortalama ağırlıkları 139 ± 25 g olan balıklardan 56 adet kullanılmıştır. Balıklar denemeye alınmadan önce kontrolleri yapılmış ve herhangi bir enfeksiyon ya da fiziksel zararlanma bulunmayan bireyler adaptasyon süresine alınmıştır. 90 l su hacmi bulunan cam akvaryumlara 10'ar adet balık bırakılmıştır. Araştırma süresince akvaryumlardaki ortalama su sıcaklığı $18 \pm 0,5$ °C olarak ölçülmüştür. Balıklar 2 günlük bir adaptasyon periyodundan sonra denemeye alınmış 2 gün boyunca Remazol Brilliant Blue R 3 subletal dozuna ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$, 1 mg l^{-1} ve 2 mg l^{-1}) maruz bırakılmışlardır. Adaptasyon süresince balıklarda stres, hastalık ve ölüm takibi yapılmıştır. Deneme; 3 uygulama ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$, 1 mg l^{-1} ve 2 mg l^{-1}) ve 1 kontrol olmak üzere 4 gruptan oluşmuştur.



Şekil 2.1. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) bulunduğu cam akvaryumlar

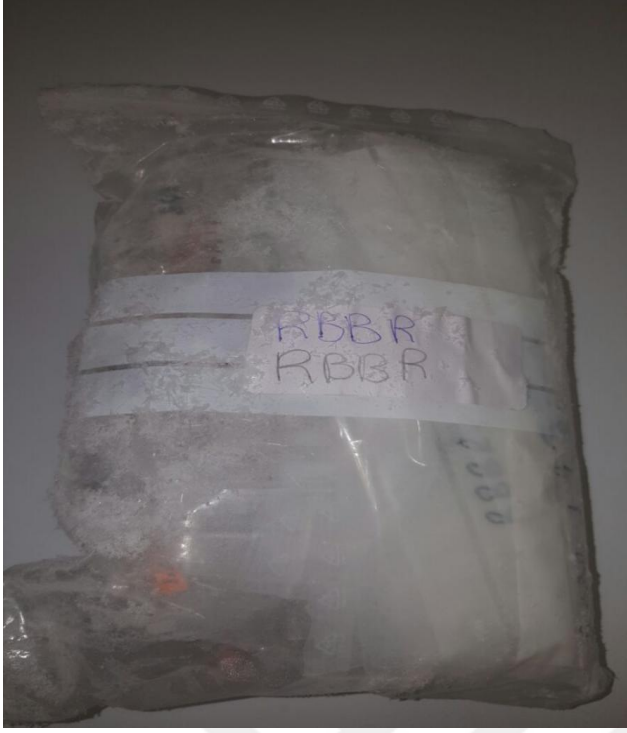
2.1. Diseksiyon işlemleri ve dokuların hazırlanması

Bu kısımda yapılacak tüm çalışmalar Munzur Üniversitesi Merkezi ARGE Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Balıklardaki enzim aktiviteleri belirlenmesi Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) türü balıklar kullanılacaktır. Balıklar anestezi altında etik

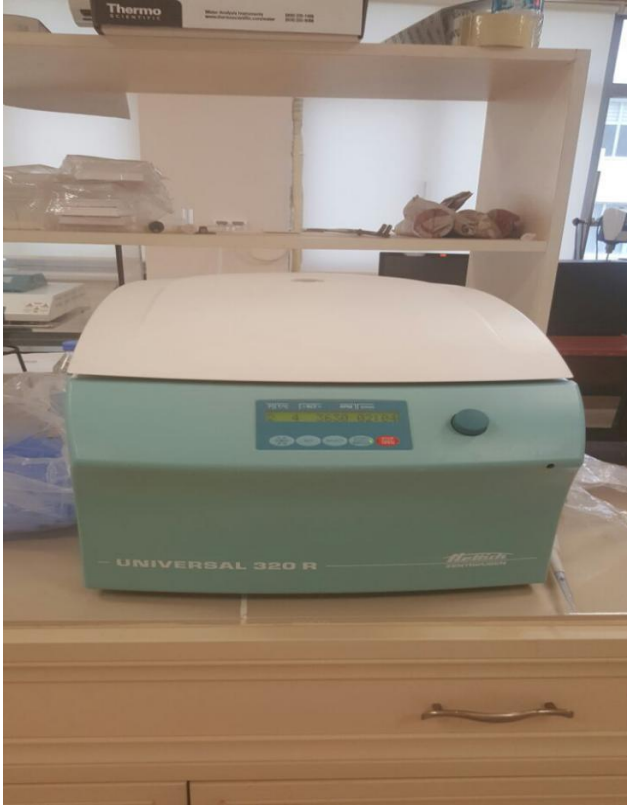
kurul onay belgesinde belirtilmiş olan usul ve esaslara göre disekte edilerek karaciğer dokuları alınmış tartılmıştır. Daha sonra 1/5 w/v oranında PBS tamponu (fosfatla tamponlanmış tuz solusyonu) (pH 7,4) eklenerek, buz ile birlikte homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu örnekler (Şekil 2.2) soğutmalı santrifüjde (Şekil 2.4.) 17000 rpm’ de 15 dakika santrifüj edilerek ve elde edilen süpernatantlar (Şekil 2.3.) -86 °C’ de derin dondurucuda (Şekil 2.5.) ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilir.



Şekil 2.2. Homojenizatör



Şekil 2.3. Süpernatanı alınmış dokular



Şekil 2.4. Soğutmalı santrifüj



Şekil 2.5. Derin dondurucu (-86 0C)

2.2. Glutathione S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer süpernatant örneklerinde Glutathione S-Transferaz enzim aktivitesi (Cayman Chemical Company) The Cayman Glutathione S-Transferaz Assay Kit (Catalog No: 703302) ile 340nm’ 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-Transferaz 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.

2.3. Sitokrom P450 Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer süpernatant örneklerinde Sitokrom P450 enzim aktivitesi The Cusabio Fish Cytochrome P450 1A1(CYP1A1A) Elisa Kit (Catalog No: CSB-EL006395FI; Cusabio Chemical Company) ile kompetitif inhibisyon immuno assay ölçüm yöntemi ile

alışılmıştır. 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) konjuğeti hücrelere ilave edilir. Substrat solüsyonu hücrelere ilave edilir ve örneklerde ki CYP1A1 miktarı renk değişimini gerçekleştirir. Hücrelerdeki renk değişimi durdurulur ve renk yoğunluğu ölçülür.

2.4. Laktat Dehidrojenez Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer süpernatant örneklerinde LaktatDehidrojenez enzim aktivitesi The My Bio Source Fish Laktat Dehidrojenez Elisa Kit (Catalog No: MBS-013278; My BioSource Chemical Company) ile kompetitif inhibisyon immunoassay ölçüm yöntemi ile çalışılmıştır. Yöntemin esası; deney ve tampon örnekleri bir saat önceden kaplanmış plaka LDH-HRP konjğatı ile birlikte inkübe edilir. Inkübasyon işleminden sonra hücrelerdeki örnekler dökülür ve 5 defa yıkama yapılır. Hücreler HRP enzimi kullanılarak inkübe edilir. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu mavi renk oluşur. Reaksiyonu sonlandırmak için stop solüsyonu eklenir ve renk sarıya dönüşür. Renk yoğunluğu 450 nm de spektrofotometre de okunur. Renkteki yoğunluk LDH konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Standartların konsantrasyonu ile renk yoğunluğu arasında bir bağ kurularak grafik çizilir. Her bir örnekteki LDH konsantrasyonu standart eğri ile çakıştırılır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Remazol Brilliant Blue R' nin farklı dozlarına maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşluğu Alabalığı) karaciğer dokusunda Glutasyon S-Transferaz (GST), Sitokrom P-450 (CYP1A1) ve Laktat Dehidrojenez (LDH) enzim aktivitesindeki değişimler araştırılmış olup, elde edilen sonuçlar Tablo 3.1.' de gösterilmiştir.

Tablo3.1. Tekstil boyar maddesine RBBR'ye maruz kalan *Oncorhynchus mykiss*(Gökkuşluğu Alabalığı) CYP1A1(pg/ml) , GST (nmol/dk) ve LDH (U/L) düzeylerindeki değişiklikler

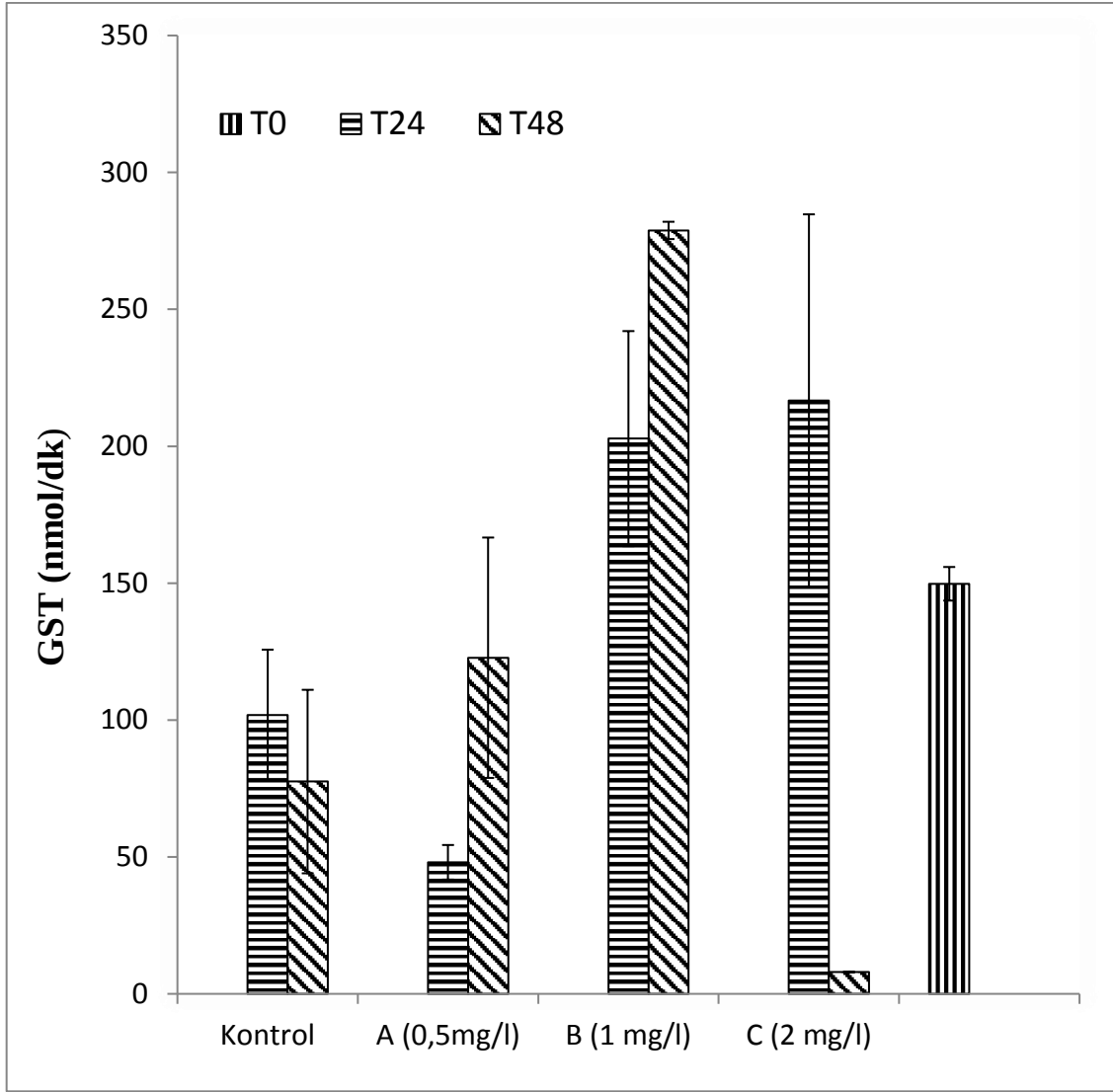
Parametreler	T ₀	Gruplar	Saatler	
			T ₂₄	T ₄₈
GST (nmol/dk)	149,76±6,14 _q	Kontrol	101,88±23,82 ^{ab} _q	77,53±33,51 ^{ab} _q
	149,76±6,14 _p	A(0,5 mg l ⁻¹)	48,04±6,32 ^a _q	122,75±43,90 ^b _{qp}
	149,76±6,14 _q	B(1 mg l ⁻¹)	202,78±49,27 ^{ab} _{qp}	278,82±3,16 ^c _p
	149,76±6,14 _{qp}	C(2 mg l ⁻¹)	216,69±78,00 ^b _p	7,95±0,03 ^a _q
CYP1A1- P450 (pg/ml)	205,82±38,72 _q	Kontrol	252,10±44,10 ^{ab} _q	198,63±40,34 ^a _q
	205,82±38,72 _q	A (0,5 mg l ⁻¹)	275,54±31,78 ^b _q	230,39±17,74 ^a _q
	205,82±38,72 _q	B (1 mg l ⁻¹)	262,16±22,43 ^{ab} _q	197,30±35,83 ^a _q
	205,82±38,72 _q	C (2 mg l ⁻¹)	160,52±13,48 ^a _q	265,85±32,17 ^a _q
LDH (U/L)	628,03±112,29 _q	Kontrol	500,18±13,45 ^a _q	582,94±80,46 ^a _q
	628,03±112,29 _q	A (0,5 mg l ⁻¹)	615,19±67,75 ^{ab} _q	780,87±16,54 ^b _q
	628,03±112,29 _q	B (1 mg l ⁻¹)	703,26±44,27 ^b _q	603,19±36,99 ^a _q
	628,03±112,29 _q	C (2 mg l ⁻¹)	657,01±56,75 ^{ab} _q	519,95±40,03 ^a _q

*Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı saatteki gruplar arasındaki ve alt simgedeki q ve p harfleri ise aynı grubun farklı saatleri (T₀, T₂₄ ve T₄₈ saatler) arasındaki “Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi” sonuçlarına göre istatistiksel farkları göstermektedir

3.1.Glutathione S-Transferaz Düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda RBBR tekstil boyar maddesine maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşığı Alabalığı) karaciğer dokusunda GST aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. GST aktivitesi kontrol grubunda 24. ve 48. saatlerde T_0 ile karşılaştırıldığımızda azalmış olup bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) uygulama grubunda ise T_0 ile karşılaştırıldığında 24. saat ve 48. saatlerde bir azalma görülmüştür ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). B (1 mg l^{-1}) ve C (2 mg l^{-1}) uygulama gruplarında ise 24. ve 48. saatlerde bir artış görülmüştür. Bu artış, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

GST aktivitesi farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatte kontrol grubu ile kıyasladığımızda A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) grubunda azalış B (1 mg l^{-1}) ve C (2 mg l^{-1}) gruplarında ise artış gözlenmiş olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). 48. saatte ise A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) ve B (1 mg l^{-1}) gruplarında artış gözlemlenmiştir ($p<0.05$). C (2 mg l^{-1}) grubunda ise azalma görülmüştür ($p<0.05$).

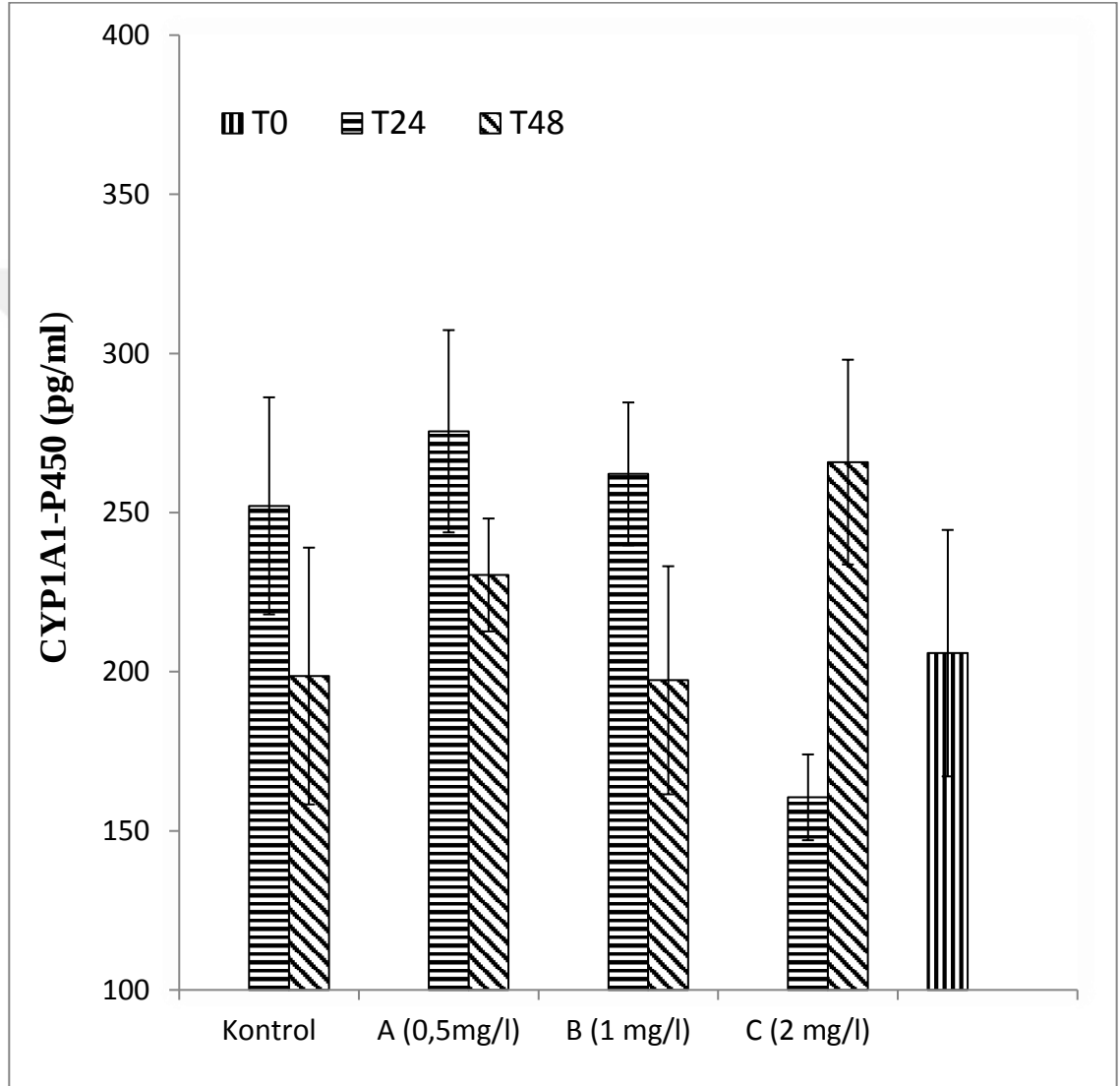


Şekil 3.1. Tekstil boyar maddesine RBBR'ye maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşığı alabalığı) GST (nmol/dk) düzeylerindeki değişiklikler

3.2. Sitokrom P-450 (CYP1A1) Düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda RBBR tekstil boyar maddesine maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşığı Alabalığı) karaciğer dokusunda CYP1A1 düzeyleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1' de gösterilmiştir. CYP1A1 düzeyleri kontrol grubunda T₀ ile karşılaştırıldığında 24. saatte artmış ($p>0.05$). 48. saatte ise azalmış ($p>0.05$). A (0,5 mg l⁻¹) grubunda T₀ ile karşılaştırıldığında, 24. ve 48. saatlerde artmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. B (1 mg l⁻¹) grubunda ise 24. saatte artmış, 48. saatte ise azalmıştır ($p>0.05$). C (2 mg l⁻¹) grubunda 24. saatte azalma 48. saatte ise artış gözlenmiştir ($p>0.05$).

CYP1A1 düzeyleri farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatle kontrol grubuyla kıyasladığımızda A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında artış,(p<0.05) C (2 mg l⁻¹) grubunda ise azalma görülmektedir (p<0.05). 48. saatte ise kontrol grubu ile kıyasladığımızda A (0,5 mg l⁻¹) ve C (2 mg l⁻¹) gruplarında artış, B (1 mg l⁻¹) grubunda ise azalma bulunmuş olup gruplararasıdaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

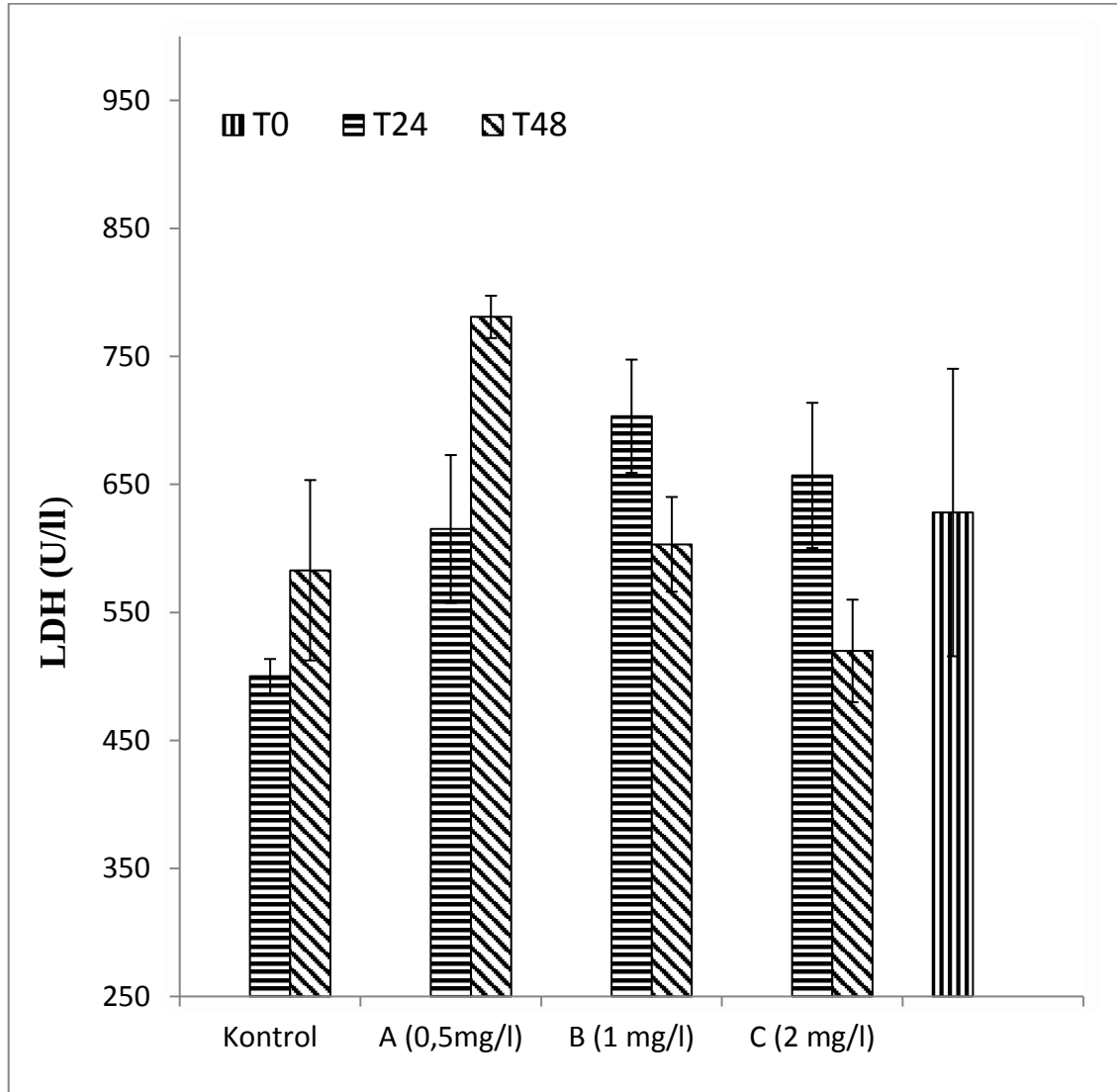


Şekil3.2. Tekstil boyar maddesine RBBR'ye maruz kalan *Oncorhynchus mykiss*(Gökkuşağı alabalığı) CYP1A1 (pg/ml) düzeylerindeki değişiklikler

3.3.Laktat Dehidrojenaz (LDH) Düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda RBBR tekstil boyar maddesine maruz kalan Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğer dokusunda LDH düzeyleri araştırılmış olup

sonuçlar Tablo 3.1’de sunulmuştur. LDH düzeyleri kontrol grubunda 24. ve 48. saatlerde T_0 ile karşılaştırdığımızda azalmıştır ($p>0.05$). A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) grubunda ise T_0 ile karşılaştırıldığında 24. saatte azalma, 48. saatte ise artış gözlenmiştir ($p>0.05$). B (1 mg l^{-1}) ve C (2 mg l^{-1}) gruplarında ise 24. saatte artış ($p>0.05$), 48. saatte ise azalma meydana gelmiştir ($p>0.05$). LDH düzeyleri farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatle kontrol grubu ile kıyaslandığında A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$), B (1 mg l^{-1}) ve C (2 mg l^{-1}) gruplarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). 48. saatte ise kontrol grubu ile kıyaslandığında A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) grubunda artış ($p<0.05$), B (1 mg l^{-1}) grubunda artış ($p>0.05$), C (2 mg l^{-1}) grubunda ise azalma bulunmuştur ($p>0.05$).



Şekil 3.3. Tekstil boyar maddesine RBBR’ye maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşluğu alabalığı) LDH (U/L) düzeylerindeki değişiklikler

4. TARTIŞMA

Boyalar baskı ve boyama gibi çeşitli aşamalar aracılığıyla sucul çevreyi kirletmektedir (Sharma ve ark., 2009). Bazı boyalar biyolojik deşredasyona karşı çok dirençlidir ve alıcı sularda estetik, akut ve kronik sorunlara yol açmaktadır (Kunz ve ark., 2002). Su ortamlarında bu boyaların çok düşük konsantrasyonlarda dahi bulunması istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle, çoğu ölkede atıksu deşarj edilmeden önce çevre düzenlemeleri zorunlu yapılmıştır (Robinson ve ark., 2002; Marungrueng ve Pavasant, 2006).

Tekstil boyaları, moleküler, hücreşel, biyokimyasal ve fizyolojik bozukluklara neden olabilmektedir (Al-Sabti, 2000). Bundan dolayı bu biyomarkırlar önemli ölçüde hedef olmayan organizmalar üzerindeki çevresel kirleticilerin toksisitesini yansıtmaktadır (Gottlieb ve ark.,2003). Boyaların biyolojik aktiviteleride yapılarına göre ayrılmaktadır. Bu nedenle özelliklerinin genelleştirilememesi gerekmektedir (Bhunja ve ark., 2001).

Bilindiği kadarıyla literatürde balıklarda tekstil boyar maddelerinin subletal konsantrasyonlarının biyomarkır enzimler üzerine etkilerinin çalışıldığı çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada seçilen bu biyomarkır bu ksenobiyotikler için ilk defa kullanılmıştır. Birhanlı (2003) yaptığı çalışmada çeşitli tipte tekstil boyar 24 saat boyunca maruz kalan *Xenopus leavis* 'lerde Glutasyon S-transferaz (GST) enzimi aktivitelerini ölçmüştür. 24 saatlik maruziyetin çeşitli enzim aktivitelerinde değişime neden olduğunu saptamıştır. Glutasyon S-transferaz enzimi (GST) enzim aktivitesinde önemli bir artış gözlenmiştir. Bu artışın nedeni organizmaların boyar maddeye karşı gösterdiği savunma mekanizması olarak düşünölebileceğini önermiştir. Doğan (2002)ise dört farklı astrazon boyasının Bufoviridis (kara kurbağası) iribaşlarına toksik etkilerini araştırmıştır. Çalışmada kullanılan bu dört farklı boyaya 12 ve 24. saatlerde maruz bırakılan iribaşlarda Faz-II enzimlerinden Glutasyon S-transferaz (GST) ile bir Faz I enzimi olan Karboksil Esteraz (CaE) enzim aktivitesi araştırılmış ve enzim aktiviteleri bazı uygulama guruplarında 24. gelişim evresinde iribaşların boyar maddeye maruz bırakılmalarını takiben önemli düzeyde artış göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre astrazon mavisinin kurbağa iribaşlarının gelişiminin 20. ve 24. evrelerinde en yüksek toksik etkiye sahip boyaaolduğu bulunmuştur. Güngördü ve ark., (2012) sazan balığını biyomonitor canlı olarak kullanarak Meriç Delta'sındaki kirliliği farklı mevsimler ve lokasyonlarda izlenmişlerdir. Glutasyon S-transferaz ve Karboksil esterazın çevresel kontaminasyonun değerlendirilmesinde yararlı

bir biyomarker olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. Yapılan bir diğer çalışma ise yerli beyaz çürüklük mantarı *Coriolus versicolor* tarafından tekstil atıksularına maruz bırakılan *Astacus leptodactylus* kerevitlerinin biyokimyasal yanıtı incelenmiştir ve arıtılmamış tekstil atık suyuna maruz bırakılan farklı türde kerevitlerin hepatopankreas dokusunda GST aktivitesinde artma görülmüştür (Yıldırım ve ark.,2015). Yoloğlu ve Özmen (2015) düşük konsantrasyonlarda metal karışımına maruz bırakılan *Xenopus leavis*da Glutathione S-transferaz (GST), Glutathione reductase (GR), Acetylcholinesterase (AChE), Carboxylesterase (CaE), Glutathione peroxidase (GPx) ve Catalase (CAT) gibi biyomarkırların değişimini araştırmışlardır. Glutathione S-transferase (GST), Glutathione peroxidase (GPx) ve Carboxylesterase (CaE) enzim aktivitelerinde önemli bir artış gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları çok düşük konsantrasyonlarda ki metal maruziyetinin dahi oksidatif stres mekanizmalarını indüklediğini göstermiştir. Özata (2006) da bazı tekstil boyalarının *Drosophila melanogaster* üzerine toksik ve genotoksik etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla Glutatyon (GSH), Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon redüktaz (GR) ile Glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri kullanılmıştır. Bu enzim aktivitelerin de önemli değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişiklikler antioksidan savunma sisteminin tekstil boyalarının maruziyetine karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu parametrelerdeki değişiklikler oksidatif stresin varlığını ve *Drosophila Melanogaster* tarafından oksiradikallerin üretiminde bir artışın olduğunu göstermektedir. Şahan ve ark., (2010) ceyhan nehrindeki tarımsal ve endüstriyel kaynaklı oluşan kirliliğin seviyesini belirlemek için sazan karaciğer ve solungaç dokularındaki biyomarkırlardan Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD), İndirgenmiş Glutatyon (GSH) ve Lipid Peroksidasyon (LPO) analiz etmişlerdir. CAT, G6PD, GST ve GSH aktiviteleri, kirli bölgede bulunan balıkların karaciğer dokularında yüksek miktarlarda gözlenmiştir. Ayrıca SOD ve LPO miktarları da kirli bölgede çok yüksek bulunmuşlardır.

Yapılan bu çalışmada ise; farklı dozlarda RBBR'ye maruz kalan balıklarda Glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi araştırılmış olup, 24. saatte kontrol grubu ile kıyasladığımızda B (1 mg l⁻¹) ve C (2 mg l⁻¹) gruplarında artış göstermiş olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05). 48. saatte ise A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında artış gözlemlenmiştir (p<0.05). Genel olarak bakıldığında; GST düzeylerinde uygulama sürelerine bağlı olarak da 48 saatte GST düzeylerinde de baskılanma olduğu saptanmıştır.

Bu değişimler bu boyanın oksidatif stres metabolizmasını indüklediğine işaret eder. GST enzimi pek çok ksenobiyotiğin detoksifikasyonunu içeren çok bileşenli bir enzimdir (Sun ve ark., 2006). GST aktivitesi oksidatif hasar ve DNA ve lipidlerin peroksidasyon ürünlerine karşı bir savunma oluşturulmasında kritik bir rol oynamaktadır. Artan GST aktivitesi muhtemelen bu boyaların artan seviyelerine maruziyet sonrası metabolik bir adaptasyondan dolayıdır ve oksidatif hasara karşı açık bir savunmadır. Benzer bir şekilde Japon balığı (*Carassius auratus*)’de HC Orange No. 1 dye boyasına karşı GST indüksiyonu saptanmıştır (Sun ve ark., 2006). Ayrıca metanilsarı gibi diğer tekstil boyalarına maruziyette hepatik ve intestinal dokularda GST aktivitelerinde artışa neden olmuştur (Ramchandani ve ark., 1997). Bu konu ile ilgili yapılan önceki çalışmalarda yağlar, PAH’ lar ve PCB’ ler gibi organik kontaminantların biyolojik olarak reaktif moleküllerin sitotoksik etkilerinden korunmak için balıklarda GST aktivitesini arttırdığını göstermektedir (Lu ve ark., 2009; Tridico ve ark., 2010).

Sitokrom P450 (CYP450) monooksijenaz enzimleri olgun eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında, tüm memeli hücre tipleri ve prokaryotlarda bulunan bir protein ailesini teşkil ederler. 1958 yılında Klinberg tarafından keşfedilmiştir (Czerwinski ve ark., 1994; Özerol,1996). CYP450’ lerin tümü özellikle memelilerde membrana bağlı şekilde bulunurlar. Mitokondride lokalize olanlarının yanında endoplazmik retikulumda bulunanları da vardır. İnsan dokularındaki CYP ekspresyonları en fazla karaciğer olmak üzere, farklı düzeylerde beyin, akciğer, ince bağırsak, plasenta, böbrek, lenfositlerde ve adrenal bezde gerçekleşmektedir (Raunio ve ark.,1995). CYP1A1 ifadesi organik kirleticilere PAH (polisiklik aromatik hidrokarbonlar), PCB (poliklorlanmış bifeniller) ve diğer kirleticiler maruz kalmanın çok iyi organize edilmiş bir biyomarkırdır (Baini, Wodin ve Stegaman, 1999). Sitokrom P450 ler ksenobiyotik metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır vefonksiyonu yabancı kimyasalların toksik etkilerine karşı duyarlılıkta tür farklılığı ile ilişkililabilir (Bainy ve ark., 1999). Sitokrom p450’ ler geniş bir şekilde yaygın olan içsel ve dışsal biyolojik maddelerinin değişiminde rol almaktadırlar (Kvasniakova, 1995).

Bu çalışmada CYP1A1 düzeyleri B (1 mg l⁻¹) grubunda T₀ ile karşılaştırıldığında 24. saatte artmış, 48. saatte ise azalmıştır (p>0.05). CYP1A1 düzeyleri farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatte kontrol grubuyla kıyasladığımızda A (0,5 mg l⁻¹) ve B (1 mg l⁻¹) gruplarında artış (p<0.05), C (2 mg l⁻¹) grubunda ise azalma görölmektedir (p<0.05). Yine uygulama sürelerine bağlı olarak da 48 saatte CYP1A1 düzeylerinde de baskılanma olduğu

saptanmıştır (Tablo3.1.). Bazı durumlarda ksenobiotiklerin varlığı CYP1A1 düzeylerin, arttırmayabilir. Bu durum ya yüksek düzeyde kirletici olduğunu ya da kontaminantların varlığının CYP1A1' i özellikle inhibe ettiğini göstermektedir (Stegeman ve ark., 1997; Schlezinger ve Stegeman, 2001; Wirgin ve Theodorakis,2002). Bazı çalışmalar bu dirençin mekanizmasının ksenobiyotiklerin dozuyla ilişki olarak bir baskılamaya bağlı olabileceğine işaret etmektedir (ksenobiyotikler sitokrom mRNA sında bir artışı indüklerken proteinin kendisinin miktarını veya enzimatik aktivitesini arttırmaz (Schlezinger ve Stegeman, 2001; Wirgin ve Theodorakis, 2002).

Bazı durumlarda ksenobiotiklerin varlığı CYP1A1 düzeylerin, arttırmayabilir. Bu durum ya yüksek düzeyde kirletici olduğunu ya da kontaminantların varlığının CYP1A1' i özellikle inhibe ettiğini göstermektedir (Stegeman ve ark., 1997; Schlezinger ve Stegeman, 2001; Wirgin ve Theodorakis, 2002). Bazı çalışmalar bu dirençin mekanizmasının ksenobiyotiklerin dozuyla ilişki olarak posttranskripsiyonel bir baskılamaya bağlı olabileceğine işaret etmektedir (ksenobiyotikler sitokrom mRNA sında bir artışı indüklerken proteinin kendisinin miktarını veya enzimatik aktivitesini arttırmaz) (Schlezinger ve Stegeman, 2001; Wirgin ve Theodorakis, 2002). Ricciardi ve ark., (2006) İtalya'daki Maggiore Gölündeki midyede CYP450 enzimlerini biyomarkır olarak kullanılarak kirliliği izlemişlerdir. Bainy ve ark., (1999) Brezilya'da Billings rezervuarında tilapia üzerinde yaptıkları çalışmada kirleticilerin varlığı ile birlikte CYP450 değerlerinde artış gözlemlemişlerdir.

Laktat dehidrojenaz (LDH, EC 1.1.1.28) sitozolik bir enzimdir ve glikoliz olayında aktif durumda pirüvik asidi laktik aside dönüştürmektedir. Glikolizin düzenlenmesinde önemli bir rol oynaması nedeniyle, normal hücresel fonksiyonlar için de çok önemlidir. Hayvan dokularında, glikolizde üretilen NADH ve pirüvik asidin aerobik oksidasyonu yeterince oksijen ile desteklenmezse, LDH aktivitesi ile pirüvik asidin laktik aside redüksiyonu sonucu NAD^+ üretimi gerçekleşir. LDH organizmanın bütün dokularında vardır. Bir hastalıktan ya da toksik bir bileşikten dolayı doku hasarının olduğu çoğu durumda, LDH aktivitesinin önemli düzeyde etkilendiği rapor edilmektedir. Bu gibi hücresel bir enzimin aktivitesindeki değişimin derecesi öncelikle hücresel hasarın şiddetine ve büyüklüğüne bağlıdır (Güngördü, 2001). Çevre kirleticilerin organizma da aneorobik metabolizmayı etkileyerek LDH enzim aktivitesini arttırmaktadır (Cohen ve ark., 2001).

Pek çok çalışma enerji metabolizmasındaki değişikliklerin toksik stresin üstesinden gelmek için meydana geldiğini göstermektedir. Aerobik metabolik yollara karışan organik bileşenler mitokondriyal yapıyı değiştirebilmektedir ve enzimatik aktiviteyi bozabilmektedir (Frasco ve Guilhermino, 2002). Bunun yanı sıra toksik stres altında ihtiyaç duyulan enerjiyi karşılamak amacıyla pekçok düzenleyici enzim aktivitesi değişebilmektedir (Frasco ve Guilhermino, 2002). Hipoksi ya da kimyasal stres altında hayvanın kısa zaman içinde ek enerji ihtiyacı olabilir buda LDH enziminde bir artış ile sonuçlanabilir ki bu enzim glikolizizde pirüvatın laktata dönüşümünü katalizlemektedir (Cunha ve ark., 2007).

Laktat dehidrojenaz (LDH) gibi spesifik enzimlerin kandaki düzeylerinin artması balıkların karaciğer, kas, solungaç gibi farklı dokularında, kirleticilerin neden olduğu hasarların tanımlanmasında kullanılmaktadır (De la Tore ve ark., 2000). Bu nedenle bu serum enzimleri, sulardaki kirlilik seviyesinin belirlenmesinde yararlı biyomarkırlar olarak düşünülmektedir (Ozmen ve ark., 2006). Güngördü (2001) yaptığı çalışmada Sarıyer Baraj Gölü'nde çevresel kirleticilerin etkisini saptamak amacıyla sazan balığı, yayın balığı ve çay balığında karaciğer gibi biyomarkırlara karşı etkileri incelenmiştir. Laktat dehidrojenaz (LDH) Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat amino transferaz (AST), Alkalen fosfataz (ALP), Asit fosfataz (ACP) ve beyin dokusunda Karboksil esteraz (CaE) ve Asetil kolinesteraz aktivilerini araştırmıştır. Sazan balığında ve diğer iki tür balıkta en önemli değişim gösteren enzimin Laktat dehidrojenaz (LDH) olduğunu ve bu enziminin biyobelirteç olarak kullanılmasının daha uygun olduğunu belirtmiştir. Kirliğin laktik asit düzeyinin arttığını ve bu artışın aynı zamanda LDH aktivitesindeki artışı da gösterdiğini önermiştir. Laktat dehidrojenaz (LDH) seviyesindeki artışı ise karbonhidrat metabolizmasındaki değişime bağlamıştır. Birhanlı (2003) yaptığı çalışmada çeşitli tipte tekstil boyar 24 saat boyunca maruz kalan *Xenopus leavis* 'lerde Laktat dehidrojenaz (LDH) ve Karboksil esteraz (CaE) aktivitelerini ölçmüştür. 24 saatlik maruziyetin çeşitli enzim aktivitelerinde değişime neden olduğunu saptamıştır. Farklı dozlarda Laktat dehidrojenaz (LDH) enzim aktivitesinde ise önemli bir artış gözlenmiştir. Karboksil esteraz (CaE) enzim aktivitesinde ise düşük dozlarda artış görülürken, yüksek dozlara maruz kalan iribaşların inhibe ettiği görülmüştür. Arslan ve ark., (2015) yaptıkları bir araştırmada, asetoklor ve glifosat pestisitlerinin sub-letal dozlarına yenilenen ortamlarda maruz bırakılan Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*), yüzme performansı (kritik yüzme hızı), kan parametreleri (MCV, MCH, Fe, Cl, LDH), histopatoloji ve

genotoksik etkileri incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda pestisit uygulaması, kritik yüzme hızı, LDH, ALB, ortalama eritrosit hacmi ve trombosit sayısı üzerine önemli ($p<0,05$), eritrosit sayısı ve Cl^- değerinde ise çok önemli etki göstermiştir ($p<0,01$). Karaciğer ve solungaç dokularının histopatolojik incelemelerinde ise pestisitlerin lamellerde erime, hiperemi, epitel nekrozlar, vakuol oluşumları ve hücre infiltrasyonlarında etkili olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada ise; Laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyleri farklı doz uygulanan gruplar arasında 24. saatte kontrol grubu ile kıyaslandığında A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$), B (1 mg l^{-1}) ve C (2 mg l^{-1}) gruplarında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). 48. saatte ise kontrol grubu ile kıyaslandığında A ($0,5 \text{ mg l}^{-1}$) ve B (1 mg l^{-1}) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p>0.05$). Yine uygulama sürelerine bağlı olarak da 48 saatte LDH düzeylerinde de baskılanma olduğu saptanmıştır. Bu enzimin aktivitesindeki düşüşler ise anaerobik solunum proselerinde kötüye gidişe işaret etmektedir.

5. SONUÇLAR

Tekstil endüstrisinin hızla geliştiği ülkemizde çok sayıdaki tekstil fabrikasında sentetik boyar madde kullanılmaktadır. Çoğu kez doğrudan ya da yeterli miktarda arıtılmadan doğaya verilen tekstil boyar maddeleri ve tekstil atık sularının toksik ve genotoksik etkileri birçok çalışmaya konu olmuştur.

Toksik maddeye maruz kalma sonucu enzim aktivitelerinde ortaya çıkan değişimler çevresel etkinin belirlenmesinde kullanılabilecek biyobelirteçlerden birisidir. Çevrenin izlenmesinde biyolojik izleme yöntemleri ve biyobelirteç olarak adlandırılan yöntemlerin kullanılması, çevre ve insan sağlığı üzerinde çevresel kirleticilerin zararların belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; tekstil endüstrisinde kullanılan RBBR boyar maddesinin *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşuğu Alabalığı) üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve bu boyar maddesinin çevresel açıdan önemli risk faktörleri olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Tekstil endüstrisinde kullanılan RBBR boyar maddesine maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşuğu Alabalığı)'nda biyokimyasal yanıtın araştırılması açısından GST, LDH ve CYP1A1'in yararlı birer biyobelirteç olduğu kanatine varılmıştır. Söz konusu biyobelirteçlerin düzeylerinde doza bağlı olarak artan dozla birlikte genel anlamda bir artış gözlenmiş olup uygulama süresi değerlendirildiğinde ise; 48. saatte enzim düzeylerinde bir baskılanma gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar test organizmasının toksik maddeye karşı verdiği yanıtın toksik maddenin dozuna ve uygulama süresine göre değiştiğini göstermektedir.

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. Çevreyi korumak için oluşan atık miktarını azaltmasına neden olmaktadır. Bu nedenle tekstil endüstrisinde atık oluşumunun azaltılmasına yönelik yeni yöntem ve teknolojiler geliştirilmelidir.

Gelecek yıllarda su kaynaklarının hızla tükenmesi ve kirlenmesi göz önüne alındığında hızla tükenen su kaynakları üzerinde bir tehdit oluşturan tekstil endüstrisi için uygun arıtm yöntemleri ile sürdürülebilir bir su kullanım politikası uygulanmalıdır.

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 balık popülasyonların azalmasına neden olan çevresel kirleticilerden 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.

Daha sonra yapılacak farklı çalışmalarda farklı boyar madde veya kirleticilerin etkilerini gözlemlemek amacıyla farklı test organizmalarıyla yeni deneyler kurularak toksikolojik değerlendirmeler yapılmalıdır. Elde edilen veriler değerlendirilerek ekosisteme verilen zararlar tartışılmalı ve en aza indirilmelidir.

Yapılan ve yapılacak olan bütün çalışmaların ortak amacı gelecekteki nesiller adına emanet aldığımız doğayı kirlilikten kurtarıp daha yaşanılır bir hale getirmek olmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Akay, C.**, 2004. Biyomarkırların toksikolojide kullanımı. *Gülhane Tıp Dergisi*, 46(1):73-83.
- Al-Degs, Y., Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J., Ahmad, M.N.**, 2000. Effect of Carbon Surface Chemistry on the Removal of Reactive Dyes from Textile Effluent. *Water. Res.*, 34(3):927-935.
- Al-Sabti, K.**, 2000. Chlorotriazine Reactive Azo Red 120 textile dye induces micronucle in fish. *Ecotoxicol. Environ.*, 47:149–155.
- Altunay, V.**, 2010. Boyar madde giderimin de değişik adsorpların kullanımının araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Ankara, 106s.
- Angeletti, C. A., Mosca, F., Pacifici, G. M.**, 1995. Glutathione Conjugation with 1 chloro- 2,4-dinitrobenzene (CDNB): Interindividual Variability in Human Liver, Lung, Kidney and Intestine. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 33(9):495-503.
- Anton, E.P., Johannes, B., Vander, G.A., Gerard, J.M.**, 1990. The Glutathione-Binding site in Glutathione S-Transferases. *Biochem.*, 265:47-54.
- Arslan, H.A.**, 2004. Bazı boyar madde gruplarının aktif çamur biyoküttesi tarafından adsorplanabilme özelliği. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 69s.
- Arslan, H.**, 2015. Pestisit sinerjisinin; gökkuşağı alabalıklarında (*oncorhynchus mykiss*) yüzme performansı, biyokimyasal hematolojik, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 115s.
- Autrup, H.**, 2000. Genetic Polymorphism in Human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation. Res.*, 464:65-76.
- Baba, E.**, 2014. Gökkuşağı alabalığı (*oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792)'nda bazı mantar türlerinin spesifik olmayan immün sistem üzerine etkilerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, 177s.
- Bainy, A., C.D., Woodin, B.R., Stegeman, J.J.**, 1999. Elevated levels of multiple Cytochrome P450 forms in tilapia from Billings Reservoir-Sao Paulo, Brazil. *Aquat. Toxicol.*, 44(4):289-305.
- Bhunia, A., Durani, S., Wangikar, P.**, 2001. Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. *Biotechnol. Bioeng.*, 72:562–567

- Barişik Ş.**, 2009. Endüstrilerden çıkan atık çamurların boyar madde giderimin de absorban olarak kullanımının incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Adana, 100s.
- Başer, İ., İnanıcı, Y.**, 1990. Boyar madde kimyası. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Tekstil Eğitimi Bölümü yayını, İstanbul, 216 s.
- Bilir, M.**, 2009. “Yer Fıstığı Kabuğundan Üretilen Poliüretan köpük İle Safranin ve Remazol Brilliant Blue R’nin Adsorpsiyonun İncelenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi* Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Boeuf, G.**, 1987. Contribution a l’etude de l’adaptation a l’eau de mer chez les poissons salmonides determination de criteres de smoltification par mesures de l’activate Na-K-ATPase des microsomes de la branchie et des hormones thyroïdiennes plasmatique. *These de Doctorat d’Etat Universite de Bretagne Occidentale*, pp. 369.
- Boeuf, G.**, 1993. Seawater adaptation strategies in salmonides aquaculture, fundamental and applied research. Coastal and Estuarine Studies, Vol.43, *American Geophysical Union*, 18pp.
- Boyer, T.D.**, 1989. The Glutathione S-transferases: An Update. *Hepatology.*, 9(3):486–96.
- Can, Muhiddin.**, 1995. Endüstriyel atık akışkanların değerlendirilmesi ve ülke ekonomisine katkısı. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 17:22-28.
- Carrillo, M.C., Montı, J.A., Favre,C., Carnovale, C. E.**, 1995. Acute regulation of hepatic Glutathione S-transferase by insulin and Glukagon. *Toxicol.*, 76(2):105-11
- Crini, G.**, 2006. Non-Conventional Low-Cost Adsorbents for Dye Removal: a Review, *Bioresource. Tech.*, 97:1061–1085.
- Cunha, I., Neuparth, T., Caeiro, S., Costa, M., Guilhermino, L.**, 2007. Toxicity ranking of estuarine sediments on the basis of Sparus aurata biomarkers. *Environ. Toxicol. Chem.*, 26:444–453
- Czerwinski, M., McLemore, T.L., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J.**, 1994. Quantitation of CYP2B7, CYP4B1, and CYPOR messenger RNAs in normal human lung and lung tumors. *Cancer. Res.*, 54:1085-1091.
- Cohen A., Nuggeoda D., Gagnon M.M.**, 2001. Metobolic responses of fish following exposure to two different oil spill remediation techniques. *Ecotox. Environ. Safety.*, 48:306- 310.
- Çelikkale, M.S.**, 1994 İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Yayın No: 3, Trabzon

- De La Tore, F. R., Salibian, A., Ferrari, L.,** 2000. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environ. Pollut.*, 109:227-278.
- Deng, H., Zheng, J., Clark, A., Holbrook, Callender., R., Burgner, II.,** 1994. Source of catalysis in lactate dehydrogenase system. Ground-state interaction in enzyme-substrate complex, *Biochem.*, 33:2297-2305.
- Doğan, U.G.,** 2002. Bazı tekstil boyalarının amfibi iribaşlarına toksik etkileri üzerine bir araştırma. *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 49s.
- Eisen, H.J.,** 1986. Induction of hepatic P-450 isozymes. In: Ortiz de Montellano PR. (ed.). Cytochrome P-450 Structure, *Mech. and Biochem.*, New York: Plenum, 315s.
- Elemenli A.,** 2010. Katyonik gemini surfaktantlar C.I. reactive red 180 ve surfaktantlarla olan etkileşimleri. *Yüksek Lisans Tezi*, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Trakya, 140s.
- Eren, H.A., Anış, P.,** 2006. Tekstil boyama atıksularının ozonlama ile renk giderimi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 11(1):83–91.
- Ergun, B.,** 2008. Anadolu üniversitesi eczacılık fakültesi toksikoloji ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi, Ders Notları
- Erzöz G., Atalay S.,** 2012. Tekstil endüstrisi atıksularında bulunan reaktif kırmızı 2 azo boyar maddesinin aktif karbon kullanılarak katalitik ıslak hava oksidasyonu ile gideriminin araştırılması. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İzmir, 6s.
- Fersht, A.,** 1985. Structures and Mechanism of Selected Enzymes. W.H. *Freeman and Company*, New York.
- Frasco, M., Guilhermino, L.,** 2002. Effects of dimethoate and betanaphthoflavone on selected biomarkers of *Poecilia reticulata*. *Fish. Physiol. Biochem.*, 26:149–156.
- Fu, Y., Viraraghavan, T.,** 2001. Removal of Congo Red from an Aqueous Solution by Fungus *Aspergillus niger*. *Adv. Environ. Res.*, 7:239-247.
- Gall, G. A. E., Crandell, P. A.,** 1992. The Rainbow Trout, *Aquaculture.*, 100:1-10.
- Garvie, E.,** 1980. Bacterial lactate dehydrogenases, *Microbiol. Rev.*, 44:106-139.
- Gazigil L.,** 2014. Düşük maliyetli sanayi atıklardan ay çekirdeği kabuğu ile boyar madde gideriminin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Erzurum, 93s.

- Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A., Wheatley, A., Forsythe, S., 2003.** The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. *J. Biotechnol.*, 101:49–56.
- Gueguen, Y., Mouzat, K., Ferrari L., 2006.** Cytochromes P450; xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. *Ann. Biol. Clin.*, 64:535-548.
- Güngördü, A., Belda, E., Dürdane, K., 2012.** Evaluation of spatial and temporal changes in biomarker responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) for biomonitoring the Meric, Delta, Turkey. *Enviro. Toxicol. Phar.*, 33: 431–439.
- Güngördü, A., 2001.** Sarıyar baraj gölünde yaşayan balıklarda çevresel kirleticilerin etkilerinin saptanması. *Yüksek Lisans Tezi*, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 70s.
- Holbrook, J.J., Liljas, A., Steindel, S.J., Rossman, M.G., 1975.** The Enzymes. pp.191-292, Paul D. Boyer (Edit.), Vol. XI, Part A, Third Edition, *Academic Press*, New York.
- Howie, A.F., Hoyes, J.D., Beckett, G.J., 1988.** Purification of acidic glutathione Stransferase from human lung, placenta and erythrocyte and the development of a specific radioimmunoassay for their measurement. *Clinica. Chimica. Acta.*, 177:65-76.
- Ioannides, C., 2002.** Xenobiotic metabolism: An overview (C. Ioannides, Editor), Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, UK, 1-32.
- Kapdan, I., Kargı, F., 1998.** Atıksulardan tekstil boyar maddelerinin adsorpsiyonlu biyolojik arıtım ile giderimi. *Turkish. J. Eng. Env. Sci.*, 24:161-169
- Karacakaya, P., 2009.** Bazı siyanobakterilerin organik kirleticilerin giderim etkinliklerinin artırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 59s.
- Karadağ, R., 2007.** Doğal Boyamacılık, geleneksel El Sanatları ve Mağazalar İşletme Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- Karaoğlu, M.H., 2007.** Sulu çözeltilerden bazı boyar maddelerin fiziko kimyasal yöntemler ile giderimi. *Doktora Tezi*, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilim Enstitüsü, Balıkesir, 268s.
- Koolman, J., Röhm, H.K., 2005.** Color atlas of biochemistry, Second Edition, *Georg Thieme Verlag*, Stuttgart, Germany.
- Korkmaz, A., Aydoğan, M., Kolankaya, D., Barlas, N., 2009.** “C vitamininin Bisfenol A, Nonilfenol ve Oktilfenolün İndüklediği Karaciğer Hasarı Üzerindeki Etkileri.” Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Ankara.

- Kunz, A., Mansilla, H., Duran, N.,** 2002. A degradation and toxicity study of three textile reactive dyes by ozone. *Environ. Tech.*, 23:911–918.
- Kuyucu, A.E.,** 2013. Zivzik narından elde edilen aktif karbonun karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Van, 113s.
- Lerena, A., Edman, G., Cobaleda, J., Benitez, J., Schalling, D., Bertilsson, L.,**1993. Between personality and debrisoquine hydroxylation capacity: suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of cytochrome P4502D6. *Acta. Psychiatr. Scand.*, 87:23- 28.
- Lewis DF.,** 2003. P450 structures and oxidative metabolism of xenobiotics. *Pharmanogenomics.*, 4:387-395.
- Lo bello, M., Oakley, A. J., Battistoni, A., Mazzetti, A. P., Nuccetelli, M., Mazzaresse, G., Lu, G., Wang, C., Zhu, Z.,** 2009. The dose–response relationships for EROD and GST Induced by polyaromatic hydrocarbons in *Carassius auratus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 82:194–199.
- Markert, C.L., Möller, F.,** 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic, and Species patterns, *PNAS*, 45:753-763.
- Marungrueng, K., Pavasant, P.,** 2006. Removal of basic dye (Astrazon Blue FGRL) using macroalga *Caulerpa lentillifera*. *J. Environ. Manage.*, 8:268–274.
- Maurya, N.S., Mittal, A.K., Cornel, P. and Rother, E.,** 2006. Biosorption of Dyes Using Dead Macro Fungi: Effect of Dye Structure, Ionic Strength and pH. *Bioresource. Tech.*, 97:512–521.
- Mıdık F.,** 2011. Reaktif sarı 145 azo boyar maddesinin ve 2.4 diklorofenoksi asetik asit pestisitinin yüksüz nano demir, fenton ve fotofenton prosesleri ile karşılaştırılmalı giderilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Adana, 104s.
- Moeller, D.W.,** 2005. Environmental Health. Harvard University Press. London.
- Musick, W.D.I., Rossman, M.G.,** 1979. The tentative amino acid sequencing of lactate dehydrogenase C4 by X-ray diffraction analysis, *J. Biol. Chem.*, 254:7621-7623.
- Muus, B.J., ve Dahlstrom, P.,** 1971 Collins Guide to the Freshwater Fishes of Britain and Europe, Collins Ltd. England.
- Nilsson, L.O.,** 2001. Redesign of Alpha Class Glutathione Transferases to Study Their Catalytic Properties. *Acta Univ. Ups. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Sci. and Techn.* 672:30

- Nishihira, J., Sakai, M., Nishi, S., Hatanaka, Y.**, 1995. Identification of the Electrophilic Substrate-Binding Site of Glutathione S-Transferase P by Photoaffinity Labelling. *Eur. J. Biochem.*, 232(1):106-10.
- Orozco, M., Vega, C., A. Parraga, I., Garcia-Saez, M., Coll, S., Walsh, T.J., Mantle, F., Javier Luque.**, 1997. On the Reaction Mechanism of Class Pi Glutathione S-transferase. *Proteins*. 28(4):530-42.
- Ozmen, M., Gungordu, A., Kucukbay, F. Z., Guler, R. E.**, 2006. Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology*, 15:157–169.
- Özata, L.**, 2006. Bazi Tekstil Boyalarının *Drosophila Melanogaster* Üzerine Toksik ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. *Doktora Tezi*, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 102s.
- Özerol, E.**, 1996. Cytochrome P450-containing monooxygenase enzyme systems. *Turgut Özal Tıp Dergisi*, 3(3):257-275.
- Pagga, U., Brown, D.**, 1986. The Degradation of Dyestuffs: Part II Behaviour of Dyestuffs in Aerobic Bidegradation Tests, *Chemosphere*, 15:479-491.
- Preskorn, S.H.**, 1996 Clinical pharmacology of selective serotonin reuptake inhibitors. 1s ed. Professional Communications.
- Price, N.C., Stevens, L.**, 1989. *Fundamentals of Enzymology*, Second Edition, Oxford University Press, New York.
- Peters, M. M., Jones, T.W., Monks, T.J., Lau, S.S.**, 1997. Cytotoxicity and Cell-Proliferation Induced by the Nephrocarcinogen Hydroquinone and Its Nephrotoxic Metabolite 2,3,5-(tris-glutathione-S-yl) hydroquinone. *Carcinogenesis*, 18(12), 2393-401.
- Peterson, J.A., Prough, R.A.**, 1986. Cytochrome P-450 reductase and cytochrome P-450 catalysis. In: Ortiz de Montellano PR. (ed.). *Cytochrome P-450 Structure, Mechanism and Biochemistry*. New York: Plenum, 89.
- Pollock BG.**, 1994. Recent developments in drug metabolism of relevance to psychiatrists. *Harvard. Rev. Psychiatry.*, 2:204-213
- Raunio, H., Pasanen, M., Hakkola, J., Pelkonen, O.**, 1995. Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans. *Department of Pharmacology and Toxicology*, Finland.
- Robinson, T., Chandran, B. and Nigam, P.**, 2001. Studies on the Production of Enzymes by White-Rot Fungi for the Decolourisation of Textile Dyes. *Enzyme. Microb. Tech.*, 29:575–579.

- Robinson, T., Chandran, B., Nigam, P.,** 2002. Removal of dyes from a synthetic textile dye effluent by biosorption on apple pomace and wheat straw. *Water. Res.*, 36:2824–2830.
- Rossjohn, J., Parker, M. W., Ricci, G.,** 1997. Multifunctional Role of Tyr 108 in the Catalytic Mechanism of Human Glutathione Transferase P1–1. Crystallographic and Kinetic Studies on the Y108F Mutant Enzyme. *Biochem.*, 36 (20), 6207–17.
- Sarıcı-Özdemir, Ç., Önal, Y., Erdoğan, S., Akmil-Başar, C.,** 2012. Studies on removal of naproxen sodium by adsorption onto ACF in batch and column. *Fresen. Environ. Bull.*, 21:1-6.
- Schlezing, JJ., Stegeman, JJ.,** 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.
- Scott, W. B., Crossman E.J.,** 1973. Freshwater Fishes of Canada, *Fish. Res. Board. of Can.*, Ottawa.
- Sharma, S., Sharma, S., Singh, P., Swami, R., Sharma, K.,** 2009. Exploring fish bioassay of textile dye wastewaters and their selected constituents in terms of mortality and erythrocyte disorders. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 83:29–34.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., Dowd, C.A.,** 2001. Structure, Function and evolution of Glutathione Transferases: Implications for Classification of nonmammalian Members of an Ancient enzyme Superfamily. *Biochem. J.*, 360:1-16.
- Shreve, R.N., Brink, J.A.,** 1977. Chemical Process Industries. McGraw-Hill Book Company, 867s.
- Stegeman, JJ., Woodin, BR., Singh, H., Oleksiak, MF., Celandier, M.,** 1997. Cytochromes P450 (CYP) in tropical fishes: catalytic activities, expression of multiple CYP proteins and high levels of microsomal P450 in liver of fishes from Bermuda. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 116:61–75.
- Sun, Y., Yu, H., Zhang, J., Yin, Y., Shen, H., Liu, H., Wang, X.,** 2006. Bioaccumulation and antioxidant responses in goldfish *Carassius auratus* under HC orange no.1 exposure. *Ecotoxicol. Environ.*, 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.
- Sülkü, A.S.,** 2012. Atıksulardan boyar maddelerin adsorpsiyon yöntemi ile giderimi. *Yüksek Lisans Tezi*, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, İstanbul, 151s.

- Şahan, A., Kurutaş, E.B., Altun, T., 2010.** The Determination of Biochemical Indicators (Biomarkers) in the Common Carp (*Cyprinus carpio*) to the Physico-chemical Parameters of the Ceyhan River (Adana-Turkey). *Ekoloji*, 19:8-14.
- Şahin, G., 2008.** Toksikokinetik, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji Anabilim Dalı.
- Şen, S., Demirer, G.N., 2003.** Anaerobic Treatment of Real Textile Wastewater With a Fluidized Bedreactor. *Water. Res.*, 37:1868-1878.
- Şener, S., 2008.** Use of solid wastes of the soda ash plant as an adsorbent for the removal of anionic dyes: Equilibrium and kinetic studies. *Chem. Eng. J.*, 138:207-214.
- Tan, I.A.W., Ahmad, A. L., Hameed, B. H., 2007.** Equilibrium and kinetic studies on basic dye adsorption by oil palm fibre activated carbon. *Chem. Eng. J.*, 127:111-119.
- Tasmakıran, A.F., 2010.** Ziraî Yan Ürünlerin Modifiye Edilerek Yeni Adsorbanların Hazırlanması ve Boyaların Adsorpsiyonu. *Yüksek Lisans Tezi*, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Konya, 86s.
- Temellini, A., Castiglioni, M., Giuliani, L., Mussi, A., Giulianotti, P.C., Pietrabissa, A., Tridico, C., Rodrigues, A., Nogueira, L., da Silva, D., Moreira, A., de Almeida, E., 2010.** Biochemical biomarkers in *Oreochromis niloticus* exposed to mixtures of benzo[a]pyrene and diazinon. *Ecotoxicol. Environ.*, 73:858–863.
- Turgut, D., 1998,** “Over-Production of the Active Lactate Dehydrogenase from *Plasmodium falciparum* Opens Route to Obtain New Antimalarials”, *Doctor of Philosophy Thesis*, University of Bristol, UK.
- Tünay, O., 1996a.** Endüstriyel Kirlenme Kontrolü. İ.T.Ü. Yayınları, İstanbul.
- Tünay, O., 1996b.** Çevre Mühendisliğinde Kimyasal Prosesler. 1. Baskı, İ.T.Ü Basımevi, İstanbul.
- Varley, H., Gowenlock, A., Bell, M., 1981.** Practical Clinical Biochemistry, pp 714, 5 th Edition, Vol. 1, William Heinemann medical books, London.
- Yıldırım, C.N., Aksu, O., Danabas, D., Yıldırım, N., Danabas, S., 2014.** Biochemical response in crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) exposed to textile wastewater treated by indigenous white rot fungus *Coriolus versicolor*. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22:2987–2993.
- Yılmaz, K., 2010.** Tekstil endüstrisi atıksularının magnezyum flokülasyonu ile arıtılabilirliğinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 86s.

Yu, Y., Deck, J.A., Hunsaker, L.A., Deck, L.M., Royer, R.E., Golberg, E., Vander Jagt, D.L., 2001. Selective active site inhibitors of human lactate dehydrogenase A4, B4, and C4, *Biochem. Pharmacol.*, 62:81-89.

Yıldırım, Ö., 1998. Balıkthane Artıklarının Gökkuşığı Alabalığının Beslenmesinde Kullanım Olanakları. *Yüksek Lisans Tezi*, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 75s.

Wirgin II, Theodorakis CV., 2002. Molecular biomarkers in aquatic organisms. In: Adams sm (ed) Biological indicators of aquatic ecosystem stress. *Bethesda*, AFS, 73–82.

Wong, Y., Yu, J., 1999. Laccase-Catalyzed Decolorization of Synthetic Dyes. *Water. Res.*, 33(16):3512-3520.

URL-1, <http://aquacultur.blogspot.com.tr/2010/12/alabalk.html>.10 Aralık 2010.

URL-2, <http://www.mersin.edu.tr/uploads/320/files/Ksenobiyotikler.ppt#2605>. Slayt 5. 10 Kasım 2011.

URL-3, http://ocw.jhsph.edu/courses/publichealthtoxicology/PDFs/Lecture2_Trush.pdf.7 Aralık 2011.

ÖZGEÇMİŞ

25.08.1991’de Diyarbakır’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimimi Diyarbakır’da tamamladı. 2010 yılında lisans eğitimine Tunceli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği bölümünde başlayıp 2014’te lisans eğitimini tamamladı. 2014 yılında Tunceli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

