

BÜYÜK MENDERES DELTASINDAN AVLANAN KEFAL VE LEVREKLERDE Cu, Zn VE Cd DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE METALLOTİYONİN İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*

Tuğçe Bayhan, Serap Ünübol Aypak**

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın

Geliş tarihi / Received: 03.03.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 25.03.2016

Kabul tarihi / Accepted: 28.03.2016

Özet

Çalışmamızda, Büyük Menderes Deltasından avlanan 15'er adet kefal ve levreğin karaciğer ve kas doku örnekleri mikrodalga fırında çözünürleştirilmiş ve ICP-OES ile Cu, Zn ve Cd analizleri yapılmıştır. Balıkların karaciğer dokularındaki metallothionein düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. En yüksek Cu değerleri levrek karaciğerinde (3485.20 ± 543.80 µg/kg), en yüksek Zn düzeyleri kefal karaciğerinde (522.60 ± 91.46 µg/kg), en yüksek Cd düzeyleri levrek kasında (9.43 ± 1.26 µg/kg) tespit edilmiştir. Kefal karaciğerindeki metallothionein düzeyi 115.62 ± 571.51 mg/kg, levrek karaciğerindeki metallothionein düzeyi 109.44 ± 159.54 mg/kg'dır. Elde edilen sonuçlar; literatür verileri ve ilgili bakanlığın açıklamış olduğu tolere edilebilir sınırlar göz önüne alınarak değerlendirildiğinde, Büyük Menderes Deltasından avlanan kefal ve levreklerde sağlık açısından tehlike oluşturacak bir ağır metal kontaminasyonunun olmadığı anlaşılmıştır. Dokulardaki ağır metal ve metallothionein düzeyleri arasındaki ilişkinin istatistik olarak önemli olmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kefal, levrek, Cu, Zn, Cd, Büyük Menderes, metallothionein

DETERMINATION OF Cu, Zn AND Cd CONCENTRATIONS OF MULLET AND PERCHES HUNTED IN BÜYÜK MENDERES DELTA AND INVESTIGATION OF THEIR RELATIONSHIP WITH METALLOTHIONEIN*

Abstract

In our study, liver and muscle samples of 15 pieces mullet and perchs fish samples hunted from Büyük Menderes Delta were solubilised in the microwave and Cu, Zn, Cd analyzes were performed by ICP-OES. Metallothionein levels in fish liver tissues were determined by ELISA method. The highest Cu values were found at perch liver (3485.20 ± 543.80 µg/kg), the highest Zn values were found at mullet liver (522.60 ± 91.46 µg/kg), the highest Cd values were found at perch muscle (9.43 ± 1.26 µg/kg). The metallothionein level in mullet liver is 115.62 ± 571.51 mg/kg and in perch liver is 109.44 ± 159.54 mg/kg. When obtained results are compared to the literature data and related ministry regulations with considering the tolerable limits, it is concluded that mullet and perchs samples hunted from Büyük Menderes Delta do not constitute risk for public health in respect to their heavy metal contamination levels. There was no statistical significance between the levels of heavy metals and metallothionein concentrations in tissues.

Keywords: Mullet, perch, Cu, Zn, Cd, Büyük Menderes, metallothionein

* Bu makale Tuğçe BAYHAN'ın yüksek lisans tezinden özetlenmiş olup, araştırma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (proje kodu: VTF-14022) desteklenmiştir. Çalışmanın özeti 27. Ulusal Biyokimya kongresinde yayınlanmıştır. *This article summarizes Tuğçe Bayhan's master thesis. The research was supported by Adnan Menderes University Scientific Research Projects Unit (project code: VTF-14022). The summary of the study were published in the 27th National Biochemistry Congress.*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ serapunubol@yahoo.com,

© (+90) 256 247 0700,

☎ (+90) 256 247 0120

GİRİŞ

Yirmi birinci yüzyılda dünya ülkelerinin en büyük sorunlarından biri, gelişen teknolojiye paralel olarak gün geçtikçe artan ve yaşamı olumsuz etkileyen çevre kirliliğidir. Çevre kirliliğinin artış göstermesi ile birlikte yeryüzünde yaşayan canlılar beslenme ortamlarının ve besin maddelerinin kirlenmesi nedeniyle tehlike altındadırlar. Doğaya yayılmış bulunan her türlü kirlilikte metal kalıntılarının önemli bir payı vardır. Bunlar; bitkiler, hayvanlar ve besin zinciri içinde son tüketici olan insanlar üzerinde toksik etkiler yapmaktadır.

Ağır metaller, canlılar tarafından belirli bir konsantrasyonun üzerinde alındığında hücrenin metabolizmasına ve gelişimine zarar verirler. Çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeni ile diğer kimyasal kirleticiler arasında ilk sırada yer alırlar (1). Çinko, bakır, kadmiyum gibi ağır metallerin, elektrik, kâğıt, boya, plastik, metal kaplama ve cam sanayi gibi çeşitli endüstri alanlarında kullanımı, tarımda verimi arttırmak amacı ile yaygın olarak kullanılan pestisit ve yapay gübrelerin bileşimine girmeleri, bu metallerin su ortamındaki derişimlerini arttırır (2). Bu birikimin sonucu olarak su ortamında yaşayan canlılar üzerinde kısa ya da uzun vadede ortaya çıkabilen zararlı etkiler meydana gelir (3). Son yıllardaki hızlı nüfus artışı ve hızlı endüstrileşmenin sonucu olarak, özellikle akuatik ortamlardaki toksik ağır metal seviyesi artmaktadır. Büyük Menderes Akarsuyu ve yan kolları, çevresindeki yerleşim birimlerinde ve sanayi tesislerinde oluşan atıklar için bir alıcı ortam oluşturmaktadır. Bu durum yakın zamana kadar ciddi bir sorun oluşturmamıştır ancak kentsel nüfus artışı ile birlikte sanayi ve bazı altyapı yatırımlarındaki artış, Büyük Menderes Akarsuyundaki kirliliğin artmasına neden olmuştur (4).

Çevre kirliliğine sebep olan ve yaşamı olumsuz etkileyen ağır metaller organizmada akut ve kronik çeşitli zehirlenme belirtileri meydana getirmektedirler. Bu sebeple gıdaların ağır metallerle kirlilik düzeylerinin belirlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması son derece önemlidir. Metalloiyoninler (MT), sülfürden zengin, enzimatik olmayan, Zn, Cu ve Cd gibi metallere affiniteli, hücre içi metal şelatlayıcılardır. Karaciğer, pankreas,

bağırsak ve böbrekte çok yoğun olarak bulunurlar. Küçük molekül ağırlıklı (6000-7000 Da), sisteince zengin proteinler olup, metal iyonlarını diğer proteinlere transfer ederek metalloşaperon olarak davranırlar. Esansiyel iz elementlerden çinko ve bakırın serbest iyon derişimini kontrol ederken, aynı zamanda ağır metal olan bu elementlerin ve diğer ağır metallerin detoksifikasyon ajanı olarak görevlidirler (5). Bakır, molibden, çinko gibi esansiyel metaller ile kadmiyum, civa, kurşun gibi esansiyel olmayan elementlerin organ, doku ve hücrelerde aşırı miktarda birikmesi toksikasyona sebep olmaktadır. Bu toksikasyonun önlenmesinde, MT'ler devreye girmekte ve ağır metalleri bağlayarak onları zararsız hale getirmektedir (6). Metalloiyoninler ağır metalleri sadece metal bağlama kapasiteleri ile değil aynı zamanda hücreleri oksidatif hasardan koruyarak da detoksifiye ederler (7).

Bu çalışmanın amacı; Büyük Menderes nehrindeki kefal ve levreklerin kas ve karaciğerlerindeki Cu, Zn ve Cd düzeylerini belirlemek ve bu elementlerin en fazla bulunduğu organ olan karaciğerdeki MT düzeylerini araştırarak, olası bir ağır metal kirliliği durumunda bu iki balık türünün detoksifikasyon kapasitelerini karşılaştırmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada gereç olarak 15'er adet kefal (*Leuciscus cephalus*) ve levrek (*Perca fluviatilis*) balığı örnekleri kullanıldı. Çalışma, Büyük Menderes Deltasında bulunan Deringöl Lagününden avlanan bu balıkların karaciğer ve kas dokuları ile yapıldı. Balıklar, yaz döneminde, ağustos ayında avlandı. Buz içerisinde laboratuvara getirilen örnekler numaralandırıldı, balıkların boyları (40-50 cm) ölçüldü ve ağırlıkları (1000-1500 g) tartıldı. Kas ve karaciğer örnekleri alınarak çözünürleştirme işlemine kadar -18 °C'lik derin dondurucularda muhafaza edildi.

Örneklerin Çözünürleştirilmesi

Teflon tüplere 1'er gram yerleştirilen örneklerin üzerine önce 15 ml % 65'lik HNO₃ ilave edilip mikrodalga fırında asitle yakma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra 2 ml % 30'luk H₂O₂ ilave edilerek yakma işlemi tekrarlandı. Çözündürülmüş olan bu örnekler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 0.45 µm'lik Whatman filtrelerle süzülerek 25 ml'lik balon jojelere alındı ve 25 ml çizgisine kadar deiyonize su ile tamamlanarak analize hazırlandı (7, 8).

Ağır metal analizleri

Karaciğer ve kaslardaki ağır metal düzeyleri Prism marka (Teledyne Leeman Lab, ABD) ICP-OES ile okundu. ICP-OES'te kullanılmak üzere her bir element için 5 tane standart ve bir tane kör olmak üzere 6 adet standart çözelti hazırlandı. Bu çözeltiler kullanılarak 5 noktalı kalibrasyon eğrileri çizildikten sonra ağır metal düzeyleri analiz edildi.

Metallotiyonin Analizi İçin Doku**Homojenizatının Hazırlanması**

Cam homojenizatöre alınan 0.2 gram karaciğer örneğinin üzerine 1 ml PBS ilave edilerek buz içerisinde homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Sonrasında örnekler 5 dk ultrasonifikasyona tabi tutuldu ve 5000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantları alınarak MT ölçümüne geçildi (9, 10).

Metallotiyonin Analizi

Karaciğer doku örneklerinde MT analizi, Lowry yöntemiyle (11) spektrofotometrede protein düzeyleri tespit edildikten sonra ELISA (Ivymen system) yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla Fish Metallothionein ELISA Kit (*Katalog no:MBS038414*) kullanıldı.

İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışma sonunda analiz sonuçlarına ait ortalama±

Çizelge 1. Örneklerden elde edilen ağır metal sonuçları
Table 1. Heavy metal results obtained from samples

n: 15		Kefal-Mullet			Levrek-Perch		
		Min	Max	Ort değer Mean value $\bar{X}\pm S\bar{X}$	Min	Max	Ort değer Mean value $\bar{X}\pm S\bar{X}$
Cu (µg/kg)	Kas-Muscle	8.73	50.81	25.21±3.20	4.74	43.24	25.40±2.98
	Karaciğer-Liver	133.95	862.84	378.56±57.70	798.93	7492.07	3485.20±543.80
Zn (µg/kg)	Kas-Muscle	16.93	211.55	101.83±14.76	23.35	216.98	71.08±12.96
	Karaciğer-Liver	176.12	1464.85	527.60±91.46	131.20	975.46	550.10±71.59
Cd (µg/kg)	Kas-Muscle	1.24	12.47	6.07±0.90	2.07	19.63	9.43±1.26
	Karaciğer-Liver	3.43	15.09	9.13±0.94	2.82	17.03	8.22±1.21

Çizelge 2. Kas ve karaciğer dokularındaki ağır metal düzeyleri
Table 2. Heavy metal levels in muscle and liver tissue

n: 15		Kefal-Mullet $\bar{X}\pm S\bar{X}$	Levrek-Perch $\bar{X}\pm S\bar{X}$	Önemlilik Significance
Cu (µg/kg)	Kas-Muscle	25.21±3.20	25.40±2.98	ÖD-NS
	Karaciğer-Liver	378.56±57.70	33485.20±543.80	***
Zn (µg/kg)	Kas-Muscle	101.83±14.76	71.08±12.96	ÖD-NS
	Karaciğer-Liver	527.60±91.46	550.10±71.59	ÖD-NS
Cd (µg/kg)	Kas-Muscle	6.07±0.90	9.43±1.26	ÖD-NS
	Karaciğer-Liver	9.13±0.94	8.22±1.21	ÖD-NS

***P<0.001 ÖD: Önemli Değil $\bar{X}\pm S\bar{X}$: (Aritmetik ortalama ± Standart hata) NS: Not significant $\bar{X}\pm S\bar{X}$: (Arithmetic mean ± Standart error)

standart hata ($\bar{X}\pm S\bar{X}$), minimum, maksimum değerler verildi. Temel istatistik değerler, gruplar arası fark ve önemlilik için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 22.0) paket programında T testi ile Man Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Ağır Metal Düzeyleri**

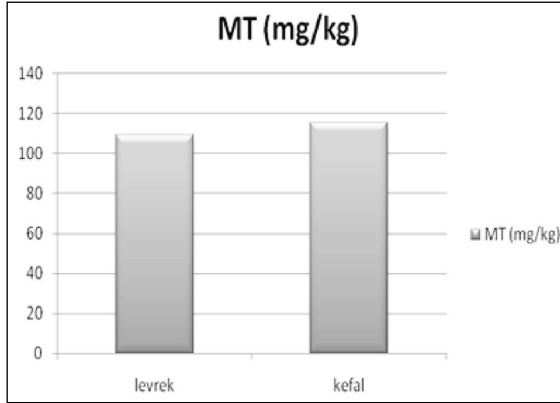
Elde edilen sonuçların minimum, maksimum ve ortalama değerleri hesaplanarak Çizelge 1'de gösterilmiştir. "n" birey sayısını göstermektedir.

Kas ve karaciğer dokusundaki ağır metal düzeyleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. "n" birey sayısını göstermektedir.

Balıklarda Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının açıkladığı kabul edilebilir değerler, bakır için 20.00 mg/kg, çinko için 50.00 mg/kg, kadmiyum için 0.10 mg/kg' dır (12). Sonuçlarımız bu değerler dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

Karaciğerdeki Metallotiyonin Düzeyleri

Karaciğerdeki MT düzeyleri levrek karaciğerinde 109.44 mg/kg kefal karaciğerinde 115.62 mg/kg şeklinde olup, şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Metallothionein düzeyleri
Figure 1. Metallothionein levels

Kirlenmelerin bir bölümünü oluşturan ağır metaller, metal bileşikler ve çeşitli mineraller; göller, nehirler, körfez ve okyanuslar ile bunların sedimentlerinde geniş birikim gösterirler. Bu birikim sonucunda sularda yaşayan balıklar ve diğer canlıların bünyesinde yoğunlaşan bu elementler eşik dozlarını aştıklarında, ciddi hastalıklara hatta ölümlere sebep olabilirler. Aynı şekilde ağır metalle kirlenmiş balıkların insanlar tarafından tüketilmesi durumunda ciddi sağlık problemleriyle karşı karşıya kalınmaktadır (4).

Son yıllardaki hızlı nüfus artışı ve hızlı endüstrileşmenin sonucu olarak, özellikle akuatik ortamlardaki toksik ağır metal seviyesinin arttığını gösteren çalışmaların sayısı oldukça fazladır. Öztürk ve Bat (14), Kızılırmak nehrindeki Altınkaya barajında, bazı ağır metalleri (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni ve Pb) su, sediment ve aynalı sazının (*Cyprinus carpio*) dokularında incelemişlerdir. Balıklarda Cr, Pb, Cd, Ni düzeyleri uluslararası kuruluşlar tarafından kabul edilebilir limitleri aştığını bildirmişlerdir. Brown ve Balls (15), Ege Denizindeki ekonomik balık türlerinden sultan balığı (*Mullus barbatus*), berlam (*Merluccius merluccius*), kupes (*Boops boops*) türlerindeki ağır metallerin (Cu, Zn, Cd, Pb) kas, solungaç, karaciğer ve gonadlardaki düzeylerini araştırmışlar ve bu ağır metallerin en fazla karaciğerde, en az kaslarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Kocaman (16), Marmara Denizindeki farklı istasyonlarda avlanan demersal balıklarında (berlam, mezgıt, öksüz, barbunya) bakır ve çinko düzeylerini araştırmış ve tüm türlerde kabul edilebilir limitlerin altında olduğunu, bu ağır metallerin organlarda belirlenen birikim düzeyine göre ise, Cu'nun en

fazla karaciğerde, sonra kasta ve son olarak solungaçta bulunduğu, Zn'nun ise; en fazla solungaçta, sonra karaciğerde ve son olarak kasta bulunduğunu bildirmiştir. Wong ve Chu (17), Hong Kong'daki deniz kültür alanlarından topladıkları hamur balığı (*Epinephalus areolatus*), kırmızı imparator (*Lutjanus russelli*), çipura (*Sparus aurata*) dokularında, Cu ve Zn düzeylerini incelemişlerdir. Bakırın en fazla karaciğerde (4.94-44.1 mg/kg), daha sonra solungaçlarda (0.85-4.84 mg/kg) ve son olarak kaslarda (0.77-1.41 mg/kg) bulunduğunu, Zn'nun ise, yine en çok karaciğerde (59.5-174 mg/kg), daha sonra solungaçlarda (71.5-116 mg/kg) ve en az olarak kaslarda (20.8-68.3 mg/kg) bulunduğunu bildirmişler. Bu düzeylerin kabul edilebilir limitlerin altında olduğunu belirtip, sağlık açısından herhangi bir risk taşımadığını ifade etmişlerdir. Mormede ve arkadaşları (18), İskoçya'nın batısında bulunan Rockail Boğazı'ndaki demersal balık türlerinden, fare balığı (*Nezumia aequalis*), kuzey atlantik balığı (*Lepidion eques*), yuvarlak ışın balığı (*Raja fyllae*) dokularında, Cu ve Zn düzeylerini araştırmışlar; Cu'nun en fazla karaciğerde (1.92-3.07 mg/kg), sonra solungaçlarda (0.47-0.93 mg/kg) ve son olarak kaslarda (0.17-0.33 mg/kg) biriktiğini belirtmişlerdir. Zn'nun ise en fazla karaciğerde (15.05-17.97 mg/kg), sonra solungaçlarda (12.89-29.88 mg/kg) ve son olarak kaslarda (2.62-5.53 mg/kg) bulunduğunu bildirmişlerdir. Demirak ve arkadaşları (19), Dipsiz Çayının Yatağan Termik Santrali etkisindeki bir alanında yaptıkları çalışmada, ak balığın (*L. Cephalus*) kas ve solungaç dokularındaki Cd, Cr, Cu, Pb ve Zn metallerinin birikimini incelemişler ve Zn, Cd, Pb ve Cr metallerinin solungaçta, Cu'nun ise kas dokusunda daha yüksek düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Bulunan bu değerlerden Cu ve Cd'nun yasal limitlerin altında, Cr, Pb ve Zn'nun yasal limitlerin üzerinde olduğunu ifade etmişlerdir. Dural ve Göksoy (20), Tuzla lagününden, çipura (*Sparus aurata*), Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve dubar (*Mugil cephalus*) türlerinin kas, solungaç, karaciğer ve gonadlarında Cd, Pb, Zn ve Fe düzeylerini incelemişlerdir. Ağır metal ortalamasının; en çok çipuranın kaslarında bulunduğu ve bu metallerden Cd ve Zn'nun baharda, Fe, Cu ve Pb'nun kışın arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada Zn, Cd ve Pb düzeylerinin bazı mevsimlerde kasta kabul edilebilir limitlerin üzerine çıktığı görülmüştür. Yabancı ve arkadaşları (21), Bafa Gölü'nden elde

ettikleri levreklerin (*Dicentrarchus labrax*) kas dokularında Al, Cr, Ni, Cu, As, Cd, Hg ve Pb düzeylerini araştırmışlardır. Ağır metallerin kas dokudaki düzeylerinin $Al > Cu > As > Pb > Hg > Cd > Cr > Ni$ şeklinde olduğu bildirilmiştir. Balık kas dokularının analizinden elde edilen ortalama yoğunlukların, sınır değerlerde olan kadmiyum hariç tutulursa, halk sağlığı açısından bir risk oluşturmadığını belirtmişlerdir.

Büyük Menderes Deltasından avlanan kefal (*Leuciscus cephalus*) ve levrek (*Perca fluviatilis*) örnekleriyle yaptığımız bu çalışmada, balıkların yenilebilir kısımlarında (kas), karaciğere nazaran daha düşük metal düzeyleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar; literatür verileri ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının açıklamış olduğu tolere edilebilir sınırlar göz önüne alınarak değerlendirildiğinde, Büyük Menderes Deltasından avlanan kefal ve levreklerde sağlık açısından tehlike oluşturacak bir ağır metal kontaminasyonunun olmadığı anlaşılmıştır. Balıkların karaciğer ve kas dokularındaki bakır, çinko ve kadmiyum düzeylerinin güvenli sınırlar içerisinde olması, Kocaman'ın (16), Wong ve Chu'nun (17), Mormede ve arkadaşlarının (18), Brown ve Balls'ın (15), Ünsal ve Yemencioğlu'nun (1992), Öztürk ve Bat'ın (14), Yabanlı ve arkadaşlarının (21) çalışmalarına uyumludur. Dural ve Göksu (20) ise çalışmalarında, bazı dönemlerde metallerin belirtilen limitleri aştığını bildirmişlerdir. Demirak ve arkadaşları (19) ise bakır ve kadmiyumu güvenli sınırlarda, çinkoyu ise sınır değerlerin üzerinde tespit etmişlerdir.

Metallotiyoninlerin metal bağlama özelliklerinin saptanması ile birlikte ağır metal detoksifikasyonunda da potansiyel rolleri olabileceği düşünülmüş ve bu düşünce, yapılan birçok in vivo ve in vitro çalışma ile desteklenmiştir. Çeşitli metallere maruziyetten sonra, böbrek, karaciğer ve barsak gibi organlarda MT sentezinin arttığı ve bu organlarda MT birikiminin olduğu saptanmıştır. MT'ler doğrudan metal tutucu olduklarından, metallerin hücre içerisinde serbest halde dolaşarak hücreye zarar vermelerini engellemektedir. MT'lerin metal detoksifikasyonları, maruz kalınan hücrenin tipine, metalin özelliğine ve metalin konsantrasyonuna göre değişmektedir (22, 23).

Birçok ülkede ve Türkiye'nin değişik bölgelerinde, metallotiyonin proteininin araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (24-27). Gürel (24), kadmiyum ve bakıra maruz bırakılan sığanların karaciğer,

böbrek, akciğer, kalp ve beyin dokularındaki Cd, Cu ve metallotiyonin düzeylerini araştırmışlardır. Bu amaçla, dişi Sprague-Dawley sıçanlarından oluşan ve her biri sekiz hayvan içeren dokuz grup oluşturulmuştur. İçme suyu ile dört grup kadmiyuma, dört grup bakıra maruz bırakılmıştır. Kontrol grubuna ise normal içme suyu verilmiştir. Cd'a maruz bırakılan grupların karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp dokularındaki Cu, Cd ve MT düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı artışlar belirlenmiştir.

Van Campenhout ve arkadaşları (25), Belçika'da 10 örnekleme sitesinden 10'ar adet kaya balığı avlamışlar, sudaki metal kontaminasyonunu belirlemek için balıkların farklı dokularındaki (solungaç, kas, karaciğer) kadmiyum, çinko ve metallotiyonin düzeylerini araştırmışlardır. Karaciğer dokusunda Cd, Zn ile metallotiyonin düzeyleri arasında pozitif korelasyon, solungaç dokusundaki Cd, Zn ile metallotiyonin düzeyleri arasında negatif korelasyon görülmüştür. Böbrek dokusunda ise Cd, Zn ile metallotiyonin düzeyleri arasında bir ilişki kurulamamıştır. MT düzeylerinin böbrek ve solungaca kıyasla daha çok karaciğerde ölçülmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Kalay ve Erdem (26), Nil çipurasının (*Tilapia nilotica*) farklı dokularındaki kadmiyum düzeylerini incelemişler, karaciğer, böbrek dokularındaki kadmiyumun, total protein derişimine etkisini araştırmışlardır. Solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında kadmiyumun yüksek düzeyde olduğunu bildirmişler, bu toksik ağır metalin öncelikle karaciğer dokusunda, daha sonra böbrek dokusunda yoğunlaştığını ifade etmişlerdir. Karaciğer ve böbrek dokularındaki kadmiyum düzeyleri ile total protein düzeyleri arasında pozitif korelasyon görüldüğünü bildirmişlerdir. Metabolik olarak aktif olan karaciğer ve böbrek dokularında, total protein derişiminin artmasını, kadmiyum düzeyine bağlı olarak bu dokularda artış gösteren MT proteinine bağlamışlardır. Bervoets ve arkadaşları (27), Belçika'daki Scheldt Nehrinde, dere kaya balığı (*Gobio gobio*), kızılkanat (*Rutilus rutilus*) ve levrek (*Perca fluviatilis*) balıklarını bir referans site boyunca 6 örnekleme ile elde etmişlerdir. Sitelerden her tür için 10 balık alınmış, üç tatlı su balığının karaciğerindeki kadmiyum, bakır ve çinko düzeyleri ve metallotiyonein indüksiyonu araştırılmıştır. Tüm Cd ve Zn değerlerinin ulusal sınırları aştığı,

levrek karaciğer Cd ve Zn düzeylerinin, diğer balıkların karaciğer Cd ve Zn düzeylerinden yüksek olduğu görülmüştür. Karaciğerdeki Cu düzeylerinin ise düşük olduğu belirtilmiştir. En yüksek MT değerlerinin kayabalgısında, en düşük MT değerinin levrekte olduğu bildirilmiştir. Levreklerde görülen yüksek Cd ve Zn düzeylerine rağmen gözlenen düşük MT değerleri levreklerin detoksifikasyon kapasitelerinin düşük olduğunu göstermektedir. Böylece levreğin metal kirliliğine duyarlılığının daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. MT seviyeleri ile hepatik çinko düzeyleri arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

Büyük Menderes Deltasından avlanan kefal (*Leuciscus cephalus*) ve levrek (*Perca fluviatilis*) balıklarının karaciğer dokularında yaptığımız MT analizlerinde, levrek karaciğerinde MT düzeyinin kefal karaciğerindeki MT düzeyine yakın bir değerde olduğu görülmüştür. Bu değerler, kefal ve levrek karaciğerinde bulunan Cu, Cd, Zn değerleriyle karşılaştırıldığında bir önemlilik görülmemiştir. Balıklarımızın karaciğerindeki ağır metal düzeyleri, izin verilen limitlerden çok daha düşük olduğu için metalotiyonin değerlerinde ağır metallerle ilişkili bir değişiklik olmadığı düşünülmektedir.

SONUÇ

Akuatik ortamlar doğal ve antropojenik kirleticilerin son uğrak yerleri olduğundan, bu ortamlardaki ağır metal birikimi biyolojik yaşamı tehdit etmektedir. Balıklar çevreleriyle sürekli ilişki halinde yaşadıklarından, fizyolojik ve kimyasal değişikliklere oldukça duyarlıdır. Su ekosistemlerinin önemli bir canlı grubu olan balıklar, insanlar için değerli bir besin kaynağıdır. Yapılan bu çalışmayla, sıklıkla tüketilen iki farklı balığın karaciğer ve kas dokularındaki bakır, çinko ve kadmiyum düzeyleri araştırılmış, ayrıca ağır metallerin toksik etkilerini azaltan metalotiyonin proteininin karaciğerdeki düzeyleri belirlenmiştir. Kefal ve levreklerin karaciğer ve kas dokularındaki bakır, çinko ve kadmiyum düzeylerinin kabul edilebilir sınırların çok altında olduğu gözlenmiştir. Genel olarak ağır metaller, MT proteininin başlıca sentez yeri olan karaciğer dokusunda daha fazla görülmüştür. Ağır metal birikimi ile artış gösteren MT'ler, kefal ve levreklerin karaciğer dokularında incelenmiş ve her iki balıkta benzer değerlerde bulunmuştur. Toler edilebilir sınırlar göz önüne

alınarak değerlendirildiğinde bakıl dokularındaki ağır metal seviyeleri çok düşük olduğu için metalotiyonin düzeyleri ile ağır metal düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

İncelenen balıklarda bakır, çinko ve kadmiyum düzeyleri açısından Büyük Menderes Akarsuyu'ndan kaynaklanmış olabilecek önemli bir kontaminasyonun olmadığı anlaşılmıştır. Ancak sonraki dönemlerde yapılacak analizlerde, farklı sonuçlarla karşılaşılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin, suya ya da toprağa karışacak tehlikeli bir sanayi atığı, kısa ya da uzun vadede ciddi tehlikelere neden olabilir. Bu açıdan bakıldığında ilgili bakanlıkların konuya gereken hassasiyeti göstermesi, sanayinin ve endüstrileşmenin yoğun olduğu bölgelerde sıklıkla gerekli kontrollerin yapılması gerekmektedir. Özellikle ağır metal kirliliğinin bulunduğu bölgelerde değişik balık türlerinin MT düzeyleri araştırılarak detoksifikasyon kapasitelerinin karşılaştırılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Çalışkan E. 2005. Asi Nehri'nde su, sediment ve karabalık (*Clarias gariepinus burchell*)'ta ağır metal birikiminin araştırılması. T.C. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Hatay, Türkiye, 64 s.
2. Brüwer M, Schmid KW, Metz KA, Kriegelstein CF, Senninger N, Schürmann G. 2001. Increased Expression of metallothionein in inflammatory bowel disease. *Inflamm Res*, 50 (4): 289-293.
3. Karadede H. 1997. Atatürk Baraj Gölü'nde su, sediment ve balık türlerinde ağır metal birikiminin araştırılması. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Diyarbakır, Türkiye, 72 s.
4. Kayhan FE. 2006. Su Ürünlerinde kadmiyumun biyobirikimi ve toksisitesi. Ege Üniversitesi *Su Ürünleri Dergisi*, 23: 215-220.
5. Swiergosz R. 2001. Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents. *Microsc Res Techniq*, 55 (3): 208-222.
6. Dameron CT, Harrison MD. 1998. Mechanisms for protection against copper toxicity. *Am J Clin Nutr*, 67 (5): 1091-97.

7. Hidalgo J, Penkowa M, Espejo C, Carrasco J, Quintana A, Molinero A, Florit S, Giralt M. 2006. Expression of metallothionein-I, -II, and -III in Alzheimer disease and animal models of neuro inflammation. *Exp Biol Med*, 231: 1450-1458.
8. Türkmen A. 2003. İskenderun Körfezi'nde deniz suyu, askıdaki katı madde, sediment ve dikenli taş istiridyesi'nde (*Spondylus spinosus schreibers*, 1793) oluşan ağır metal birikimi üzerine araştırma. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 50 s.
9. Ikem A, Egiebor NO. 2005. Assessment of traceelements in cannedfishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America) *J Food Compos Anal*, 18: 771-787.
10. Tomita T. 2000. Metallothionein in pancreatic endocrine neoplasms. *Modern Pathol*, 13: 389-395.
11. Zhou Z, Sun X, Kang YJ. 2002. Metallothionein protection against alcoholic liver injury through inhibition of oxidative stres. *Exp Biol Med*, 227 (3): 214-222.
12. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265-275.
13. Anon 2002. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. Su ürünleri kanunu ve su ürünleri yönetmeliği. 63-78.
14. Öztürk M, Bat L. 1995. Altinkaya Barajı'nda yaşayan *C. carpio* türünün çeşitli organ ve dokularındaki bazı ağır metallerin birikimi. 2. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildiri, 11-13 Eylül, Ankara, Türkiye, 651-657.
15. Brown FM, Balls PW. 1997. Trace metals in fish and shell fish from Scottish waters. *Scot Res Rep*, 60: 30.
16. Kocaman I. 1999. Marmara Denizi demersal balıklarında ağır metal kirliliği. İstanbul Üniversitesi Deniz Bilimciliği ve İşletmeciliği Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 25 s.
17. Wong CK, Chu LM. 2001. Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong. *Arch Environ Con Tox*, 40: 60-69.
18. Mormede S, Davies I. 2001. Trace elements in deep-water fish sp. from the Rock all Trough. *Fish Res*, 51: 197-206.
19. Demirak A, Yılmaz F, Tuna AL, Özdemir N. 2005. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in south western Turkey. *Chemosphere*, 1-7 p.
20. Dural M, Göksu MZL, Özak AA, 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chem*, 5-7 p.
21. Yabancı M, Coşkun Y, Öz B, Yozukmaz A, Sel F, Öndeş S. 2013. Determination of the content of heavy metal in the lake water and seabass (*Dicentrarchus labrax*) obtained from Bafa Lake and evaluation in terms of public health. *Bornova Vet Bil Derg*, 35 (49): 15-23.
22. Kagi JH. 1991. Overview of metallothionein. *Method Enzymol*, 205: 613-626.
23. Vallee BL. 1995. The function of metallothionein. *Neurochemistry*, 27: 23-33.
24. Gürel Z. 2001. Investigation of relationship apoptosis and metallothionein in tissues of rat which to cadmium and copper. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul, Türkiye, 78 s.
25. Van Campenhout K, Bervoets L, Blust R. 2003. Metallothionein concentrations in natural populations of gudgeon (*Gobio gobio*): Relationship with metal concentrations in tissues and environment. *Environ Toxicol Chem*, 22: 1548-1555.
26. Kalay M, Erdem C. 2003. Tilapia nilotica'da kadmiyum birikiminin total protein düzeyine etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*. 27: 1367-1374.
27. Bervoets L, Knapen D, De Jonge M, Van Campenhout K, Blust R. 2013. Differential hepatic metal and metallothionein levels in three feral fish species along a metal pollution gradient. *Plos One*. 8 (3): 1-11.



**Sektörde 23 yıllık tecrübe*

CND DANIŞMANLIK olarak sektörel bazda ayrıntılı referanslarımızı <http://www.cnd.com.tr/> web sayfamızdan görebilirsiniz.

CND DANIŞMANLIK, Türk Müşavir Mühendis ve Mimarlar Birliği'ne (TMMMB) üye kuruluştur.

Siz değerli müşterilerimizin Ankara'daki çözüm ortağı olarak yıllardır faaliyetlerini sürdüren CND DANIŞMANLIK, yine aynı hassasiyetle, **"Memnun müşteri en iyi referanstır."** ilkesinden yola çıkarak çalışmalarına devam etmektedir.

CND DANIŞMANLIK olarak, yatırımların projelendirilmesi ve yapılabilirlik etütlerinin hazırlanması konularında 23 yıl önce başladığımız yolculukta, günümüzde yerli ve yabancı sermayeli kuruluşların faaliyet gösterdikleri "Tarım, gıda, turizm, eğitim, sağlık, makine, enerji, tekstil ve müteahhitlik hizmetleri vb. " çeşitli sektörlerde yüzlerce kuruluşa yatırım danışmanlığı, yasal mevzuat danışmanlığı, kalite yönetim sistemleri danışmanlığı, marka ve patent danışmanlığı ile firmaların idari mevzuatlara uyumları ile ilgili her türlü belgelendirmeleri yanında Kişisel Gelişim Eğitimleri, Kalite Yönetim Sistemleri Eğitimleri (ISO 9001:2008, ISO14001:2004, ISO 22000:2005 ve OHSAS 18001:2007 Standartları ile Lejyonella vb), Gıda Güvenliği ve Hijyeni Eğitimleri vb. konularda eğitim hizmetleri de vermekteyiz.

DANIŞMANLIK ve EĞİTİM Hizmetlerimiz

1. Fizibilite Etütleri Hazırlanması
 2. Yatırım Teşvik Belgesi Alınması
 3. Dahilde İşleme İzin belgesi Alınması
 4. Turizm Bakanlığı Yatırım ve İşletme Belgeleri Alınması
 5. Yabancı Personel İzinleri Alınması
 6. Özel İthal İzinleri Alınması
 7. İhracat Sertifikaları Alınması
 8. AB Hibe Projeleri Hazırlanması
 9. Tarım Bakanlığı IPARD ve TEDGEM Hibe Projeleri Hazırlanması
 10. Marka ve Patent Tescilleri
 11. Endüstriyel Tasarım Tescilleri
 12. Kapasite Raporu Alınması
 13. Barkod Numarası Alınması
 14. Sanayi Sicil Belgesi Alınması
 15. GSM Ruhsatı, Çalışma İzni Alınması
 16. Tarım ve Hayvancılık İşletmeleri Ruhsatları Alınması
 17. Gıda Sicili Alınması
 18. Kayıt ve Onay İzni Alınması
 19. Kontrol Belgesi Alınması
 20. EPDK' dan Uygunluk Belgesi Alınması (solvent, bazyaj vb.)
 21. Gözetim Belgesi Alınması
 22. ÇED Gerekli Değildir/Muafiyet Belgesi Alınması
 23. Yabancı Firmaların İrtibat Bürosu İzinleri
 24. İŞGÜM'den ithal izinleri, Kontrol ve Uygunluk Belgesi Alınması
 25. TSE/TSEK Belgelerinin Alınması
 26. Satış Sonrası ve Garanti Belgeleri Alınması
 27. Ulaştırma Bakanlığı SRC, B3, C2 ve K Belgeleri Alınması
 28. Yüksek Öğrenim Kurumu'ndan Denklik Belgesi Alınması
 29. Entegre Kalite Sistemleri kurulumları (ISO 9001, ISO 22000 (HACCP), ISO 14001 Çevre ve OHSAS 18001 İş ve İşçi Sağlığı Standartları Kurulumları)
 30. Kalite, Çevre, Gıda Güvenliği ve Gıda Hijyeni Eğitimleri
 31. İş Güvenliği Eğitimleri
 32. Atom Enerjisi Kurumundan ithal izni ve lisans Alınması
- Ve daha fazlası...

CND MÜHENDİSLİK MÜŞAVİRLİK LTD.ŞTİ.

Adres: Büyükelçi Sokak No: 18/1 06700 Kavaklıdere-Çankaya ANKARA Telefon: 0 312 468 87 02 - 468 86 77
Fax: 0 312-468 86 58 Web : www.cnd.com.tr E-mail : cnd@cnd.com.tr