T.C.
ADIYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE AZİNPHOS-METHYL VE DİMETHOATE PESTİSİTLERİNİN ETKİSİ

FATMA TEMİZ UZUN

KİMYA ANABİLİM DALI

ADIYAMAN, 2019

T.C.
ADIYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE AZİNPHOS-METHYL VE DİMETHOATE PESTİSİTLERİNİN ETKİSİ

FATMA TEMİZ UZUN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 30/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARADAĞ
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Esra BARIM
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Murat GENÇ
Üye

Prof. Dr. Refet KARADAĞ
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu'ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE AZİNPHOS-METHYL VE DİMETHOATE PESTİSİTLERİNİN ETKİSİ

FATMA TEMİZ UZUN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Dr.Öğr.Üyesi Hasan KARADAĞ
Yıl : 2019, Sayfa sayısı: 52

Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Esra BARIM
Dr. Öğr. Üyesi Murat GENÇ
Dr.Öğr.Üyesi Hasan KARADAĞ

Bu çalışmada organik fosforlu pestisitler olan azinphos-methyl ve dimethoate'ın sığır karaciğer katalaz enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Katalaz enzimi azinphos-methyl ve dimethoate'ın 0'dan 500 ppm'e değişen derişimlerine maruz bırakılmıştır. Azinphos-methyl ile etkileşen katalaz aktivitesinde geri dönüşümsüz inhibisyon gözlemlenmiştir. Dimethoate'ın 25, 50 ve 100 ppm derişimlerinde katalaz enzim aktivitesinde düşüş gözlemlenirken, 250 ve 500 ppm derişimlerinde katalaz enzim aktivitesinde artış gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Azinphos-methyl; Dimethoate; Katalaz; Pestisit

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECT OF AZINPHOS-METHYL AND DIMETHOATE PESTICIDES ON CATALASE ACTIVITY

FATMA TEMİZ UZUN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ
Year : 2019, Number of pages: 52

Jury : Asst. Prof. Dr. Esra BARIM
Asst. Prof. Dr. Murat GENÇ
Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

In this study, the effect of organic phosphorus pesticides azinphos-methyl and dimethoate on bovine liver catalase enzyme activity were investigated. The catalase enzyme was exposed to concentrations ranging from 0 to 500 ppm of azinphos-methyl and dimethoate. Irreversible inhibition was observed in catalase activity interacting with azinphos-methyl. Decrease in catalase enzyme activity was observed at the concentrations of 25, 50 and 100 ppm dimethoate while an increase in catalase enzyme activity was observed at the concentrations of 250 and 500 ppm dimethoate.

Key Words: Azinphos-methyl; Dimethoate; Catalase; Pesticide

DESTEKLER

Bu tez çalışması Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi Başkanlığı tarafından FEFYL/2017-0005 numaralı proje ile desteklenmiştir.

BEYAN

"Katalaz Aktivitesi Üzerine Azinphos-methyl ve Dimethoate Pestisitlerinin Etkisi" başlıklı tezimde çalışmaların tamamen akademik kurallara ve etik değerlere sadık kalınarak yürütüldüğünü ve yazımda yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ayrıca alıntılardan bilimsel etiğe uygun atıf yaparak yararlanmış olduğumu beyan ederim.

Fatma TEMİZ UZUN

İmza

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda gündüz gece demeden yardım eden saygıdeğer danışman hocam sayın Doktor Öğretim Üyesi Hasan KARADAĞ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde bilimsel desteklerinden dolayı Adıyaman Üniversitesi Kimya Bölümü hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca, tez çalışmamın malî desteğini sağlayan Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi Başkanlığına teşekkür ederim.

Eğitimim konusunda her zaman bana destek olan sevgili annem Şerife TEMİZ'e ve babam Ahmet TEMİZ'e teşekkür ederim.

Fatma TEMİZ UZUN

İÇİNDEKİLER

ÖZET……I
ABSTRACT……..II
DESTEKLER……..…III
BEYAN……..IV
TEŞEKKÜR……V
İÇİNDEKİLER……..VI
ÇİZELGELER DİZİNİ……VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ……...IX
SİMGELER VE KISALTMALAR……X
1.GİRİŞ……1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR……2
2.1.Pestisitler……..……..……2
2.1.1.Pestisitlerin Sınıflandırılması……..…...2
2.1.2. Pestisitlerin Kullanım Alanları……..……7
2.1.3. Pestisit Kullanımının Avantaj ve Dezavantajları……7
2.1.4. Güvenli Pestisit Kullanımı İçin Dikkat Edilmesi Gerekenler……8
2.1.5. Pestisit Uygulama Ekipmanları……8
2.1.6. Pestisitlerin Hayvansal Organizmaya Girişi……9
2.1.7. Pestisit Zehirlenmeleri……..9
2.1.8. Pestisitlerin Olumsuz Ekolojik Etkileri……...9
2.1.9. Pestisit Zehirlenmelerinde Alınacak İlk Yardım Önlemleri……10
2.2.Enzimler……..……11
2.2.1. Enzimlerin Tarihçesi……11
2.2.2. Enzimler……..11
2.2.3. Enzimlerin Yapısı……11
2.2.4. Enzimlerin Adlandırılması……..12
2.2.5. Enzimlerin Özellikleri……13
2.2.6. Enzim Kinetiği……13
2.2.7. Tepkime Hızını Etkileyen Faktörle……..15
2.2.7.1. Sıcaklık Etkisi……...15
2.2.7.2. Substrat Etkisi……...15
2.2.7.3. pH Düzeyi……16
2.2.7.4. İnhibitör……16
2.2.8. Enzimlerin İnhibisyonu……..16
2.2.8.1. Geri Dönüşümlü İnhibisyon……...16
2.2.8.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon……...17
2.2.8.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon……...17
2.2.8.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon……..18
2.2.8.2. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon……..……18
2.3. Katalaz Enzimi……..……..…….18
2.4. Azinphos-methyl İle İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar……..……..19
2.5. Dimethoate İle İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar……20
3. MATERYAL ve YÖNTEM……23

3.1. Materyal……23
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar……...23
3.1.2. Kullanılan Cihazlar……23
3.2. Yöntem……23
3.2.1. Kullanılan Çözeltiler……23
3.2.2. Pestisit Etkisi……24
3.2.3. Protein Tayini……...24
3.2.4. Katalaz Aktivitesinin Ölçülmesi……...……25
3.2.5. İstatistik……27
4. BULGULAR ve TARTIŞMA……28
4.1. Bulgular……28
4.1.1. Azinphos-methyl ve Katalaz'ın Etkileştirilmesi……28
4.1.2. Dimethoate ve Katalaz'ın Etkileştirilmesi……...29
4.2. Tartışma……31
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……..35
5.1. Sonuçlar……35
5.2. Öneriler……35
KAYNAKLAR……...36
KİŞİSEL BİLGİLER……...40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Farklı azinphos-methyl derişimlerinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi…28
Çizelge 4.2 Farklı dimethoate derişimlerinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi…….30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Azinphos-methyl'in molekül modeli……..5
Şekil 2.2 Azinphos-methyl'in molekül yapısı……...5
Şekil 2.3 Dimethoate'ın molekül modeli……...5
Şekil 2.4 Dimethoate'ın molekül yapısı……6
Şekil 2.5 Bir enzimin yapısı……12
Şekil 2.6 Reaksiyon hızına substrat etkisi……14
Şekil 2.7 Lineweaver-Burk grafiği……..15
Şekil 2.8 Geri dönüşümlü inhibisyon çeşitleri……17
Şekil 3.1 Standart protein grafiği……25
Şekil 4.1 Azinphos-methyl'in katalaz aktivitesi üzerine etkisi……29
Şekil 4.2 Dimethoate'ın katalaz aktivitesi üzerine etkisi……30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

E : Enzim
ES : Enzim Substrat Kompleksi
I : İnhibitör
Km : Michaelis sabiti $=(k_1+k_2)/k_1$ (hız sabiti)
pH : "Power of Hydrogen" (Hidrojenin Gücü): Hidrojen derişiminin eksi logaritması

S : Substrat
[S] : Substrat konsantrasyonu
U : Ünite
U/mg : Spesifik aktivite
V_0 : Başlangıç tepkime hızı
Vmax : Maksimum hız

Kısaltmalar

AZM : Azinphos-methyl
CAT : Katalaz
DM : Dimethoate
ROT : Reaktif Oksijen Türleri

1.GİRİŞ

Katalaz (EC 1.11.1.6.) (CAT), antioksidan bir enzimdir. Katalaz, hidrojen peroksidin su ve oksijene parçalanmasını katalizler. Pestisitler ise enzimi bloke ederek faaliyetlerini engeller [1].

Azinphos-methyl (O,O-dimethyl S-[4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3(4H)-yl) methyl]triazin-3-ylmethyl]dithiophosphate (AZM), dünyanın değişik bölgelerinde, gıda ürünlerinin zararlılardan korunmasında kullanılan geniş spektrumlu organofosfat insektisittir [2-4]. Azinphos-methyl, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek toksitesini gösterir. Asetilkolinesteraz, sinir ve kasların birleşme yerinde asetilkolinin, asetat ve koline hidrolizini sağlar. Bu enzimin inhibisyonu ile asetilkolin hidrolizlenemeyip, kasların kasılıp felce yol açmasına neden olur.

Dimethoate [O,O-dimethyl-S(N-methyl-carbomethyl)phosphorodithioate] (DM), yaygın olarak kullanılan organofosfat insektisit ve akarasittir. Diğer organofosfatlar gibi dimethoate da asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Temas ve yutma ile etkisini gösterir [5]. Dimethoate, tarımda, elma, armut gibi ağaç meyvelerini ve tütünü, yaprak bitleri ve yaprak kemirgenlerinden korumak için kullanılır [6]. Dimethoate'ın yaygın kullanımı, toprakta, üründe ve suda kalıcılığından dolayı, sağlık üzerine yan etkiler ortaya çıkarabilir [7]. Dimethoate zehirlenmesi hücresel hasara ve oksidatif strese neden olur. Bu ise lipid peroksidasyonuna ve serbest radikal oluşumuna yol açar [8].

Bu tez çalışmasında, azinphos-methyl ve dimethoate pestisitlerin sığır karaciğer katalaz enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelenmiştir.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Pestisitler

Pestisit kelime kökeni olarak pestten gelir ki haşere demektir. Uzun bir zaman pestisit kelimesi haşerekıran anlamında kullanılmıştır. Zararlıları yoketmek için üretilmişlerdir. Fakat pestisitler sadece zararlı canlıları yoketmeyip zararsız canlıları da ortadan kaldırmaktadır [9].

Besin maddelerinin üretilmesi, tüketilmesi ya da depolanması gibi aşamalarda kullanılan kimyasal maddelere pestisit adı verilmektedir [10].

2.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler kullanıldıkları zararlı grubuna, bileşimindeki etken maddeye, etki şekillerine ve formulasyonlarına göre sınıflandırılabilirler [11].

A. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Sınıflandırma

1.Böcekkıranlar (İnsektisitler)

Böceklere karşı kullanılırlar. Bunlar böceklerin yumurta ve larvalarına uygulanabilmektedirler. Böcekkıranlar zirai, tıbbi, endüstriyel ve ev içinde de kullanılmaktadırlar.

2. Mantarkıranlar (Fungusitler)

Mantar ve mantar sporlarının yok edilmesi amacıyla kullanılan pestisitlerdir. Fungusitler tarımsal verimi artırmak amacıyla kullanılırlar.

3. Yabancı Otlara Karşı Olanlar (Herbisitler)

Çalı, yabancı ot, rakip bitki ve istenmeyen ağaç gibi canlıların yok edilmesinde veya gelişimlerinin durdurulmasında kullanılan pestisitlerdir.

4. Akarlara Karşı (Akarasitler)

Sistematikte araknitler sınıfının akarina alt sınıfında yer alan akarlar; evlerin halı, perde gibi tozlu kısımlarında yaşarlar. Canlı kalıntılarıyla beslenirler. Çıplak gözle pek görülmezler. Kanatsızlar ve antensiz eklem bacaklılardır.

Akarlara karşı kullanılan kimyasallara ise akarasit adı verilmektedir. Zaman zaman akarasitler insektisitler ile birlikte de kullanılabilmektedir.

5. Bakterikıranlar (Bakterisitler)

Bakteriler gözle görülemeyen tek hücreli bir mikroorganizma çeşididir. Şekillerine, beslenme şekillerine, boyanma şekillerine ve solunumlarına göre adlandırılmaktadırlar. Bunlar dezenfektan, temizleyici, antiseptik (enfeksiyon önleyici) ve antibiyotik (mikroorganizma öldürücü) olarak kullanılabilmektedir.

6. Yaprak Bitikıranlar (Afisitler)

Bir bitkinin özsuyunu emerek, bitkinin kurumasına sebep olan canlılara yaprak biti adı verilmektedir [12].

Yaprak bitlerini yok etmek için kullanılan kimyasallara ise afisit adı verilmektedir.

7. Kemirgenkıranlar (Rodentisitler)

Fare, sincap, tavşan gibi hayvanlar kemirgen olarak adlandırılmaktadır. Bu kemirgenlere karşı kullanılan pestisitlere rodentisit adı verilmektedir. Kemirgenler hem evlerde hemde tarım arazilerinde çeşitli zararlar vermektedir. Rodentisitler bu zararların önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır.

8. Nematodkıranlar (Nematositler)

Nematodlar toprakta, suda yada bitkilerde yaşayan bir çeşit yuvarlak solucan olup parazit olarak beslenmektedir. Renksiz olup vücutlarına aldıkları besine göre farklı renklerde görülmektedirler.

Nematodlara karşı kullanılan kimyasallara nematosit adı verilmektedir.

9. Yumuşakçakıranlar (Mollusitler)

Midye, sümüklü böcek, salyangoz gibi canlılar yumuşakçalar olarak adlandırılmaktadırlar. Bu canlılarla mücadelede mollusit adı verilen pestisitler kullanılmaktadır.

B. Kullanım Alanlarına Göre Sınıflandırma

- Tarımsal üretimde
- Balık yetiştiriciliğinde
- Ormancılıkta
- Bahçecilikte
- Gıda saklamada
- Beşeri ilaçlarda da pestisit kullanımı gerçekleştirilmektedir.

C. Bileşimdeki Etken Maddeye Göre Sınıflandırma

1. Organik Klorlu (Klorlanmış Hidrokarbonlar) Pestisitler

Karbon, hidrojen ve klordan oluşan basit yapılı kimyasal grubudur [11]. 1940'larda böcek öldürücü olarak kullanımı yaygındır. Özellikle DDT (diklorodifeniltrikloroetan) bu yıllarda kullanılan ve en bilinen pestisittir.

2. Karbamat Pestisitler

Calabar fasulyesinden elde edilir ve N,N-dimethyl carbamate olarak adlandırılır [11]. Karbamatlı pestisitler temas yoluyla etkili olabilmektedir [11].

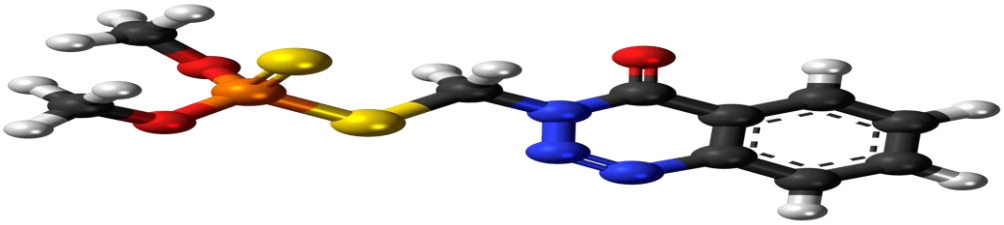
3. Organik Fosforlu Pestisitler

Ucuza maledilen bu pestisit çeşidi özellikle 1940'lı yıllarda yaygın olarak kullanılmıştır [12]. Bu pestisitlerin kalıcılığı, fosfor atomu üzerine bağlanan kimyasal yapının özelliğine bağlıdır [11].

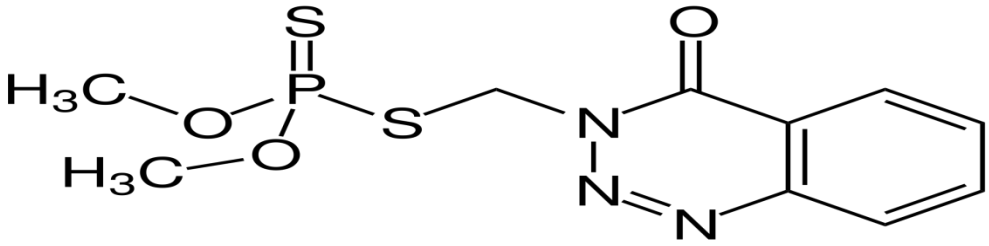
Sentezlenmesinin kolay oluşu dünya üzerinde kullanımını yaygınlaştırmakla birlikte hemen hemen her zararlıya uygun pestisit elde edilmesini sağlamıştır [11].

3.a. Azinphos-methyl ($C_{10}H_{12}O_3N_3PS_2$)

Etki alanı geniş böcek öldürücü bir pestisit olup, renksiz ve kristal yapıdadır [13]. Katarakt ve sindirim sisteminde etkili olan bu pestisit, yararlı böcekler için çok zehirlidir [13].



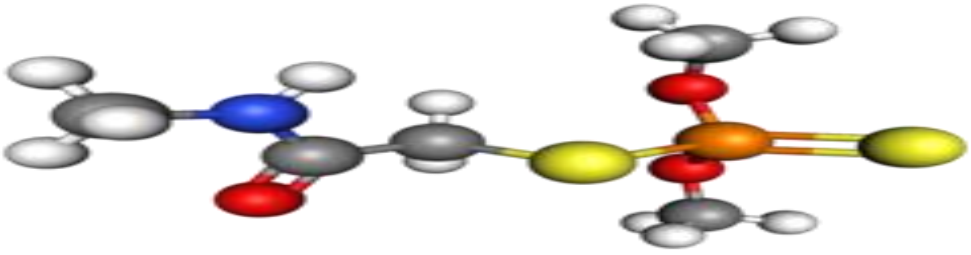
Şekil 2.1 Azinphos-methyl'in molekül modeli [14]



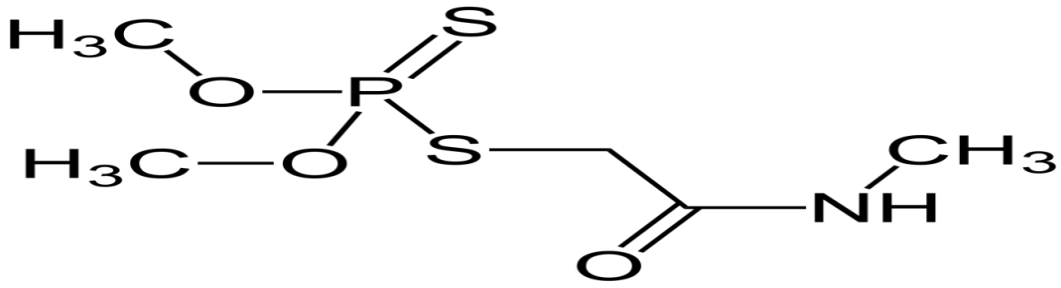
Şekil 2.2 Azinphos-methyl'in molekül yapısı [15]

3.b. Dimethoate ($C_5H_{12}NO_3PS_2$)

2. dereceden zehirliliğe sahip olan bu pestisit renksiz ve kristal yapılıdır. Kontakt ve sistemik mide zehiri etkisine sahip olan bu pestisit; balarıları, balıklar, av hayvanları, kuşlar, parazitoit ve predatörler için çok zehirlidir [13].



Şekil 2.3 Dimethoate'ın molekül modeli [16]



Şekil 2.4 Dimethoate'ın molekül yapısı [17]

Organik fosforlu pestisit zehirlenmelerinin etkileri sinir gazı zehirlenmelerine benzemekte olup mesleki zehirlenmelerin genelinde bu pestisitlerin sebep olduğu görülmektedir [9].

Orta derecedeki zehirlenmelerde ise bitkinlik, tükürük salgısında artış, kas titremeleri; merkezi sinir sisteminde ise bilinç kaybı gibi durumlara sebebiyet vermektedirler.

D. Formulasyonlarına Göre Pestisitlerin Sınıflandırılması

- Toz ilaçlarda
- Emülsiyon konsantre ilaçlar
- Solüsyon konsantre ilaçlar
- Suda çözünebilen toz ilaçlar
- Islanabilir toz ilaçlar
- Granüller
- Toz tohum ilaçları

E. Etki Şekillerine Göre Pestisitlerin Sınıflandırılması

Bitkide; sistemikler, yarı sistemikler ve sistemik olmayanlar. Zararlıda; mide zehiri, temas zehiri ve solunum zehiri olarak sınıflandırılabilirler.

2.1.2. Pestisitlerin Kullanım Alanları

Pestisitler;

- Tarımda
- Bahçecilikte
- Balık yetiştirmede ve balık üretiminde
- Endüstriyel böcek kontrolünde
- Ormancılıkta ve kerestecilikte
- İnşaat malzemelerini koruma ve ömrünü uzatmada
- Ev ve bahçelerde
- Denizcil ve sucul böcek korumada
- Gıda saklamada
- Hayvancılıkta
- Beşeri ilaçlarda kullanılmaktadırlar.

2.1.3. Pestisit Kullanımının Avantaj ve Dezavantajları

1. Avantajları

Kimyasal mücadele etkinliğinin fazla olması, hızlı sonuç vermesi, bilinçli ve kontrollü kullanım imkanlarının olması sebepleriyle pestisit kullanımı diğer mücadele yöntemlerine göre daha çok tercih edilmektedir [18].

Tarımsal üretimi artırmak için pestisit kullanımı gerekmektedir. Pestisit kullanılmadığında tarımsal verim %60 ile %100 arasında düşmektedir [19].

Dünya nüfusu hızla artmakta olup gıda teminini kolaylaştırması, kullanılan pestisitlerin gıda temininde avantaj sağlamaktadır [20].

Tarım ürünlerinin (özellikle taze sebze ve meyvelerin) zararlı canlılardan korunması aynı zamanda insan sağlığını da bu canlıların zararlı etkilerinden korumaktadır [21].

2. Dezavantajları

Bilinçsiz pestisit kullanımının sebep olduğu bazı dezavantajları şunlardır [22]:

Kanser, doğum anomalileri, sinir sistemi gibi hastalıkların artışına sebep olmaktadırlar.

Pestisitlerin parçalanmasıyla zehirli madde oluşabilmektedir.

Pestisitlerin parçalanması sonucu oluşan yeni madde pestisitlerin kendisinden daha zehirli olabilmektedir.

Pestisit kullanımı arttıkça çevre kirliliğinde artış görülebilmektedir. Fazla pestisit kullanımı bazı organizmalarda pestisit direnci oluşturmaktadır.

2.1.4. Güvenli Pestisit Kullanımı İçin Dikkat Edilmesi Gerekenler

Bilinçli bir şekilde pestisit kullanımı yapılmalıdır [20].

Düşük maliyetli, kaliteli, yeterli ve arazi yapısına uygun sürdürülebilir tarım uygulamalarına ağırlık verilmelidir [23].

Canlının yapısına göre en etkin ilaçlama zamanı seçilmelidir [20].

En iyi koruma önlemleri alınarak ilaçlama yapılmalıdır.

İlk etkisi en fazla, kalıcılığı en az olan pestisit kullanılmalıdır [20].

Uygulamayı yapacak aletin bakım ve ayarlaması önceden yapılmalıdır [20].

Karışım halinde pestisit kullanılacaksa uygulama yerinde karıştırılmalıdır.

Uygulamacılara gereken eğitimler verilmeli, uygulama alanında besin maddesi tüketilmemelidir [20].

Sağlam ambalajlı ürünler alınmalı ve çocukların ulaşamayacağı yerlerde saklanmalıdır [20].

2.1.5. Pestisit Uygulama Ekipmanları

- Elle çalışan pulverizatörler
- ULV(ultra low volume) cihazları

- Termal sisleme cihazları

2.1.6. Pestisitlerin Hayvansal Organizmaya Girişi

- Ağız yoluyla
- Deri yoluyla
- Solunum yoluyla

2.1.7. Pestisit Zehirlenmeleri

Pestisit zehirlenmelerinin belirtileri:

Topikal (lokal) Belirtileri: cilt yanması, tahriş olma, iltihaplanma gibi dermatolojik belirtilerdir [11].Solunum yoluyla oluşan etkileri ise hırıltı, hapşırma, öksürme; boğazın tahriş olmasıdır [11].

Sistemik Belirtileri: Bulantı, kusma halsizlik başlıca belirtilerdir [11]. Pestisitlerin bu hızlı zehirlenme belirtilerinin yanı sıra kanser yapıcı etkisi de mevcuttur [13].

2.1.8. Pestisitlerin Olumsuz Ekolojik Etkileri

Pestisitlerin olumlu yönlerinin yanında ekolojik açıdan olumsuz etkileri de mevcuttur. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz:

1.Evcil Hayvanlara Olumsuz Etkileri: büyükbaş, küçükbaş ve kümes hayvanlarının kullanılan pestisitlerin vücutlarında birikmesi sonucunda et, süt, yumurta gibi besin maddeleriyle insan vücuduna geçer [13].

2.Kuşlara Etkileri: Kuşların pestisit kullanımından iki şekilde etkilendiği görülmektedir; ya direkt uygulamaya maruz kalarak ya da pestisit uygulanan canlıları tüketerek olumsuz olarak etkilenirler [13].

3.Balıklara ve Suda Yaşayan Canlılara Etkileri: Pestisit kalıntılarının yağmur, kar gibi doğa olaylarıyla yer altı sularına karışarak balıklara ve suda yaşayan canlılara zarar verdiği görülmektedir.

4.Diğer Hayvanlara Etkileri: Pestisitler sadece evcil ve uygulanan canlıları değil doğadaki yabani hayvanları da olumsuz etkilemektedir.

5.Balarıları ve Polinatör Böceklere Etkileri: Uygulama yapılan sahalardaki balarılarını ve tozlaşma sağlayan böcekleri de etkiler.

6.Toprak Mikroorganizmalarına Etkileri: Pestisit kullanımı toprakta kalıntı oluşturduğu için toprak mikroorganizmalarının da dengesinin bozulmasına neden olur.

2.1.9. Pestisit Zehirlenmelerinde Alınacak İlk Yardım Önlemleri

1.İlk olarak zehirlenmenin nedeni ve çeşidi öğrenilmelidir.

2.Zehire maruz kalan kişi zehirlenmenin olduğu ortamdan uzaklaştırılmalıdır.

3.Üzerinde pestisit kalıntısı olan kıyafet çıkarılmalı ve zehirlenen kişinin vücudu bol miktardaki temiz su ile yıkanmalıdır. Su yoksa vücut silinmelidir.

4.Zehirlenen kişinin durumu ağırsa kişi yere yatırılıp; başı geri alınıp çene öne çıkarılıp yan olarak yatırılmalıdır.

5.Vücutta titreme ve kasılma varsa hareketi engellenmemeli; dişleri arasına bez konularak ağızdaki kasılmalar önlenmelidir.

6.Zehirlenen dik konumdayken boğazına parmak bastırılarak kusturulmalıdır.

7.Zehirlenenin ateşi yükselmiş ise ılık su ile ateşi düşürülmelidir.

8.Kişi en kısa sürede en yakındaki sağlık kuruluşuna götürülmelidir [13].

2.2. Enzimler

2.2.1. Enzimlerin Tarihçesi

1800lü yıllara kadar ekşime, fermantasyon gibi olayların sadece canlılar tarafından gerçekleştirilebileceğine yönelik bir düşünce hakimdi; 1833 yılında amilazın sentezi yapıldı. Bir süre sonra mideden pepsinin eldesi gerçekleştirildi. Bu tip maddelere fermet ismi verildi. Liebig bu maddeleri canlı varlıklardan elde edilebilen cansız maddeler olarak görürken; Pastör ve arkadaşları canlı maddeler olmaları gerekliliğini savunuyorlardı. 1878 yılında Kühne tarafından "enzim" kelimesi tercih edilmeye başlandı ki Yunanca "maya içinde" anlamına gelmektedir. Sumner uzun bir çalışma sonucu üreazı elde etmiştir. Sumner, J.Northrop ve W.M Stanley birbirinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarla pek çok enzimi elde ederek 1946'da Nobel ödülünü almışlardır [24].

2.2.2. Enzimler

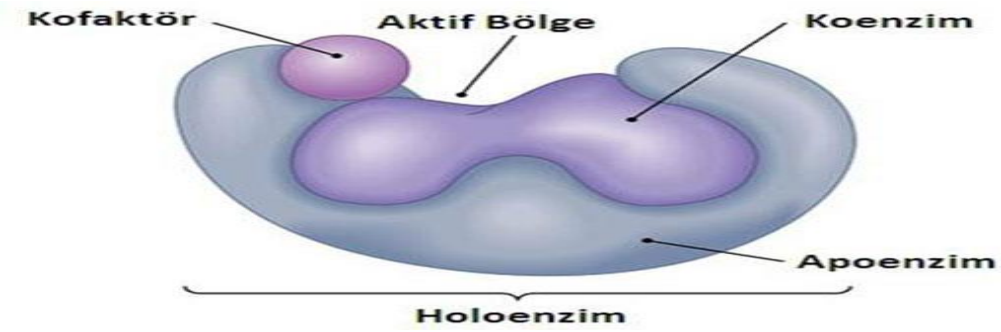
Enzimler protein yapısındaki, kimyasal tepkimeleri hızlandıran biyolojik katalizörlerdir. Kendileri protein yapısında olmasına rağmen yan grup olarak metal iyonları da barındırabilirler ki bunlara ko-faktör denir [25]. Bazı metalik ko-faktörler Fe^{+3}, Ni^{+2}, Zn^{+2}, K^{+}, Mg^{+2} örnek verilebilir. Enzimin etki ettiği maddeye substrat denir.

2.2.3. Enzimlerin Yapısı

Enzimler basit yapılı ve bileşik yapılı olmak üzere iki çeşittir.

Basit yapılı enzimler sadece protein kısımdan oluşur. Bunlara apoenzim de denilmektedir. Üreyi parçalayan üreaz ve midedeki pepsin basit yapılı enzime örnektir

Bileşik yapılı enzimler ise protein kısma bağlanan vitamin ya da minerale göre isimlendirilirler. Bileşik yapılı enzimlere holoenzim de denir



Şekil 2.5 Bir enzimin yapısı [26]

Bazı holoenzimler ise şunlardır; karbonik anhidraz (çinko-protein) trozinaz, sitokromlar, katalaz ve nikotinamidler verilebilirler.

2.2.4. Enzimlerin Adlandırılması

Enzimlerin önerilen ve sistematik olmak üzere iki çeşit isimlendirilmesi mevcuttur [25].

Önerilen isimlerde genellikle "az" eki ve "in" eki kullanılmıştır. Glikosidaz, üreaz, sükraz ya da tripsin, pepsin gibi. Bu isimlendirme yetersiz kalınca Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Derneği (IUBMB) 1964 yılında sistematik bir adlandırma yaparak enzimleri gruplandırmış, 1972 ve 1978'de düzenlemelerle geliştirmiştir. Böylece enzimler 6 gruba ayrılmıştır. Bunlar;

1.Oksidoredüktazlar: oksidasyon ve redüksiyon tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir. Substratları hidrojen ve elektron taşıyıcılığı yapar [25].

2.Transferazlar: iki molekül arasında atom ya da grup taşıyan enzimlere denir. Genellikle taşıdıkları gruplar C, N ve P içerir [25].

3.Hidrolazlar: Hidroliz reaksiyonlarında görev alırlar. Hidroliz gerçekleşirken bağlara su eklenir [25].

4.Liyazlar: Substrattan hidroliz dışında bir grubun ayrılmasıyla meydana gelirler [24]. Sistematik adlandırmaları substrattan sonra "liyaz" eki gelmesiyle olur.

5.İzomerazlar: İzomerizasyon reaksiyonlarında yapısal ve geometrik değişiklik oluşturan enzimlere denir. Rasemizasyon veya epimerizasyon, cis-trans izomeri, intramoleküler oksidoredüksiyon örnek verilebilir.

6.Ligazlar (Sentetazlar): ATP ve diğer trifosfatlardaki, profosfat grubunu hidroliz ederek; bu molekülleri birbirine bağlar.

2.2.5. Enzimlerin Özellikleri

Enzimler substrata göre spesifiktir [24]. Enzimler reaksiyon hızını 10^3 ile 10^{17} kat arasında artırabilirler [24].

1. Aktif Bölge: Enzim üzerinde substratın bağlandığı kısımdır. Enzim+substrat bileşiğini enzim+ürün bileşiğine dönüştürür. Daha sonra enzim ve ürün birbirlerinden ayrılırlar. Enzim-substrat ilişkisini ifade eden iki model kullanılır. Bunlar anahtar-kilit modeli ve indüklenmiş uyma modelleridir [25].

2. Katalitik Etki: enzimler genellikle reaksiyonların hızlarını artırırlar.

3. Spesifik Etki: Enzimler substrata özgü olup etki ettiği bir ya da birkaç substrat mevcuttur.

4. Düzenleyici Etkisi: Enzimler tepkimelerdeki inhibisyon ve aktivasyonları düzenlerler.

5. Hücredeki Yerleri: Enzimler hücrelerde işlevlerine göre organellerde yer alırlar.

2.2.6. Enzim Kinetiği

Enzim kinetiği, enzimatik reaksiyonların nasıl meydana geldiğini ve hızını inceler [27].

Enzimatik reaksiyonlar için 1903'te Henri ve 1913'te Michaelis ve Menten tarafından iki model geliştirilmiştir [27].

Michaelis-Menten Eşitliği

Michaelis Menten eşitliği substrat konsantrasyonuyla tepkime hızı arasındaki ilişkiyi gösterir.

Michaelis-Menten eşitliği;

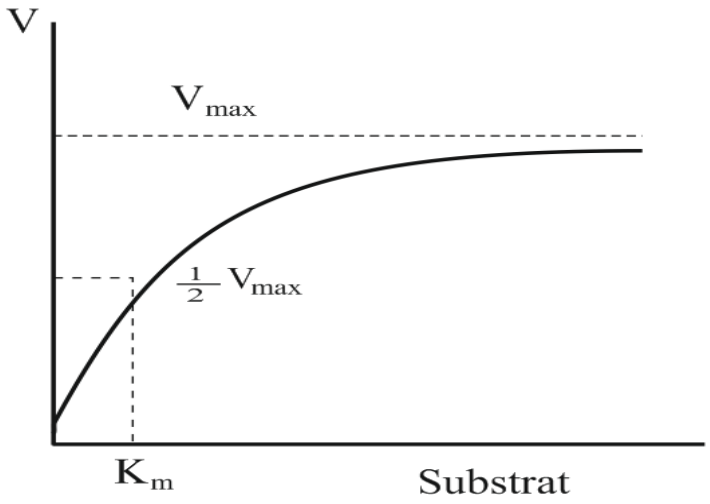
$$V_0 = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m + [S]} \qquad K_m = \frac{(k_2 + k_3)}{k_1}$$

V_0: Başlangıç tepkime hızı

V_{max}:Maximal hız

K_m:Michaelis sabiti $=(k_1+k_2)/k_1$ (hız sabiti)

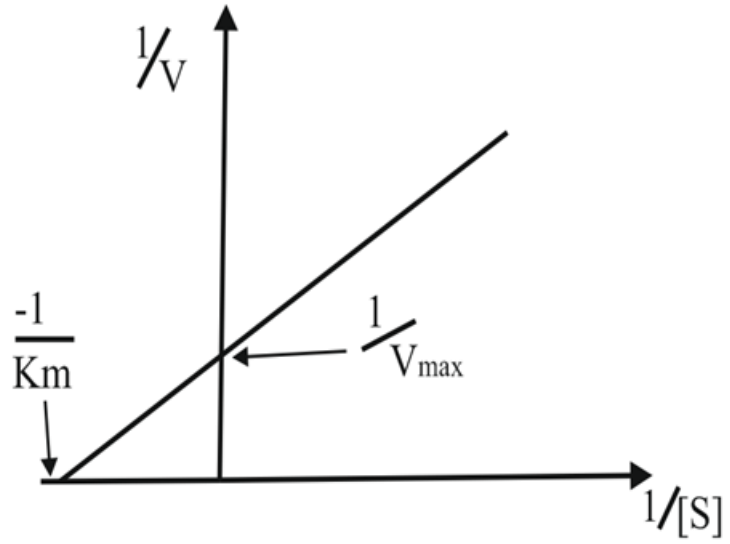
S:Substrat konsantrasyonu



Şekil 2.6 Reaksiyon hızına substrat etkisi [27]

Bu eşitlik tersi alınırsa Lineweaver-Burk denklemi elde edilir:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



Şekil 2.7 Lineweaver-Burk grafiği [27]

2.2.7. Tepkime Hızını Etkileyen Faktörler

Substrat konsantrasyonu, ısı etkisi(sıcaklık), pH düzeyi, ko-faktör konsantrasyonu, inhibitör ve aktivatör konsantrasyonu enzim aktivitesini etkiler.

2.2.7.1. Sıcaklık Etkisi

Sıcaklık artışı enzim aktivitesini artırır. Buna bağlı olarak tepkime hızı da artar. Fakat belli bir sıcaklıktan sonra (60^0C civarı) enzim yapısının denatüre olmasına bağlı olarak aktivite düşer [25].

2.2.7.2. Substrat Etkisi

Substrat artışı enzim aktivasyon hızını artırır. Tüm enzimlerin aktif bölgeleri substrata doyduğunda ise hız sabit kalır.

2.2.7.3. pH Düzeyi

Enzimler pH değişiminden hızlı bir şekilde etkilenirler. Bir enzimin en çok aktivite gösterdiği pH'a optimal pH denir.

2.2.7.4. İnhibitör

Enzimlerin aktifliğini azaltan maddelere inhibitör adı verilmektedir. Siyanid, hidrojen sülfür ve karbonmonoksit inhibitörlere örnek olarak verilebilir [24].

2.2.8. Enzimlerin İnhibisyonu

Geri dönüşümlü (tersinir-reversibl) ve geri dönüşümsüz (tersinmez-irreversibl) olmak üzere ikiye ayrılır.

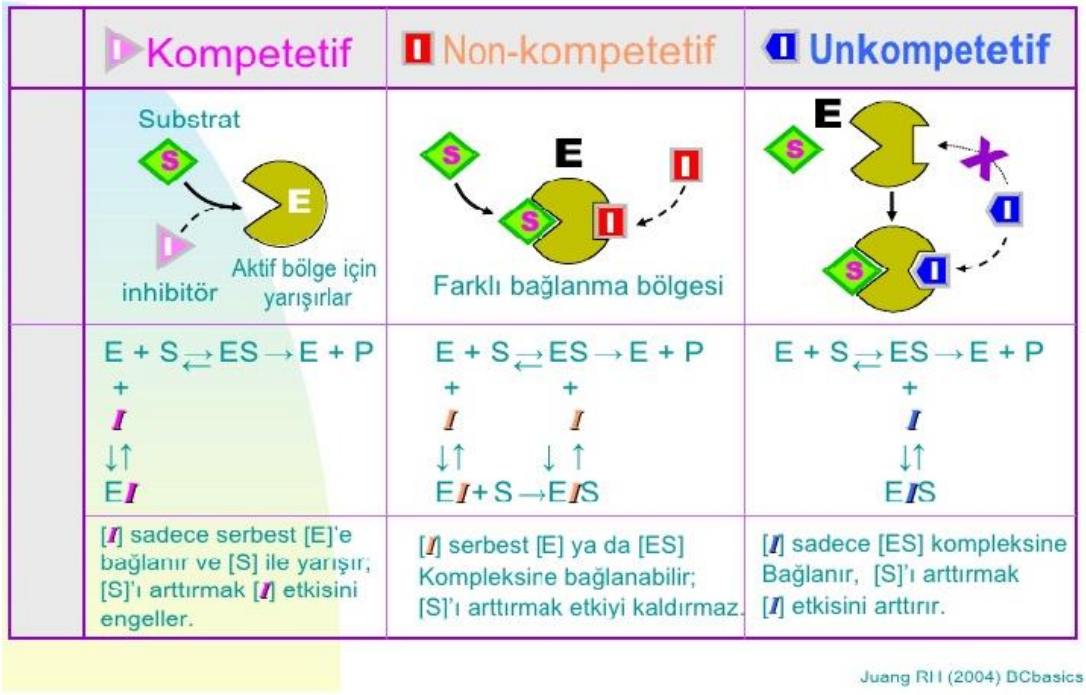
2.2.8.1. Geri Dönüşümlü İnhibisyon

Substrat konsantrasyonunun veya inhibitöre kıyasla enzim miktarının artırılmasıyla enzim-inhibitör ilişkisi tersine dönebilmektedir.

Yarışmalı (kompetitif) inhibisyon

Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon

Yarı Yarışmalı (unkompetitif) inhibisyon olmak üzere üç gruba ayrılır.



Şekil 2.8 Geri dönüşümlü inhibisyon çeşitleri [28]

2.2.8.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon

Kompetitif inhibitörler (I) enzimin (E) aktif bölgesine bağlanan inhibitörlerdir. Böylece substrat değil de inhibitör bağlanmış olur. Bundan dolayı ürün oluşmaz.

Substrat artışıyla maksimal hıza kompetitif inhibitör etkisiyle dönüşümlü olur. Yani substrat konsantrasyonunun yüksek oluşu ve miktarın yeterli olması durumunda, inhibitör yokluğundaki miktarın yeterli olması durumunda, inhibitör yokluğundaki gibi maksimal hıza ulaşır [25].

2.2.8.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon

İnhibitör enzime aktif bölge dışında bir noktadan bağlanıyorsa bu tip inhibisyonlara yarışmasız-nonkompetitif inhibisyon denir.

2.2.8.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon

Bu inhibisyon çeşidinde inhibitör serbest enzime değil, sadece enzim-substrat kompleksine (ES) bağlanabilir [27].

2.2.8.2. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon

Geri dönüşümsüz inhibisyonda, inhibitör enzimin aktif bölgesine kuvvetli bağlar ile bağlanır. Bu bağ genellikle kovalent bağ olmaktadır. Enzimlerin aktif bölge tayininde kullanılan geri dönüşümsüz inhibitörler, enzime aktif bölgeden ya da başka bir kısımdan bağlanabilirler [24]. İnhibitör enzimden ayrılmadığı için enzimatik aktivasyon düşer. Geri dönüşümlü inhibisyonda, inhibitör ortamdan çıkarıldığında enzim aktivitesi normale döner. Geri dönüşümsüz inhibisyonda, enzim-inhibitör bileşiği enzim bozunmuştur. Ağır metallerle gerçekleşen zehirlenmeler geri dönüşümsüz inhibisyondur. Bazı geri dönüşümsüz inhibisyon çeşitleri şunlardır [24]:

İnhibitör	İnhibitörle Bağlanan Enzim Grubu
Iodoasetat	Sülfidril, karboksil, tioeter, imidazol
Diizopropiflorofosfat	Serin hidroksil
p-merküribenzoat	Sülfidril

2.3. Katalaz Enzimi

Canlılarda sık rastlanan, kolay elde edilebilen CAT (EC 1.11.1.6.); hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştüren bir enzimdir [29]. Katalaz enzimi çeşitli bitkilerden (patates, salatalık [30]) ve bazı hayvanlardan (sığır karaciğeri, palamut karaciğeri gibi) saflaştırılarak elde edilebilmektedir. Katalaz antioksidan bir enzim olup, hücre yapısının korunmasında ve zehirli madde yıkımında görevlidir.

CAT, dört alt ünite veya tetramer içerir, her alt ünite 1 Fe-protohem IX bölümü (tetramer başına 4 hem grubu) içerir [31-32]. CAT canlı organizmalarda bulunur. Hidrojen peroksit oksidan ajandır. CAT, hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalize eder [33].

2.4. Azinphos-methyl İle İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar

AZM ile şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, AZM'nin katalaz aktivitesini etkilediği belirlenmiştir. Bu konu ile yapılan çalışmalardan bazıları aşağıdaki gibidir:

Ferrari ve ark. (2007), gökkuşağı alabalıklarını, öldürücü dozun altında, 2,5 ve 5 µg/L AZM ile 24, 48 ve 96 saat süresince etkileştirmişlerdir. Pestisitin etkisine karaciğer ve böbrekte bakmışlardır. AZM'nin sürekli bir şekilde, CAT aktivitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir [34].

Cacciatore ve ark. (2015), tatlı su salyangozunu, AZM ve chlorpyrifos'un yalnız başına (2,5 mg/L AZM ve 7,5 µg/L chlorpyrifos) ve ikili karışımını (1,25 mg/L AZM artı 3,75 µg/L chlorpyrifos) akut olarak uygulamışlardır. 48 saat maruz bırakma ile chlorpyrifos ve chlorpyrifos artı AZM grubunda katalaz aktivitesinde önemli bir artma gözlemlemişlerdir [35].

Bianco ve ark. (2013), tatlı su salyangozunu, 0,02 µg/L AZM ile etkileştirdiklerinde, CAT aktivitesinin % 85 arttırdığını bulmuşlardır [36].

Ferrari ve ark. (2011), karakurbağa larvalarına carbaryl 10 ve 20 mg/L'sini veya AZM'nin 3 ve 6 mg/L'sini 48 saat etkileştirmişlerdir. CAT'ın önemli bir şekilde iki pestisit tarafından inhibe edildiğini belirtmişlerdir [37].

Kristoff ve ark. (2008), tatlı su solucan (0,006 mg/L AZM) ve salyangoz (5 mg/L AZM) omurgasızlarının yumuşak dokularını, AZM'nin kolinesterazı % 50 inhibe eden dozu ile 48 ve 96 saat etkileştirmişlerdir. Her iki omurgasızın dokularında CAT aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır [38].

Ozcan Oruc ve ark. (2004), 96 saat Nil tilapyasını (O. niloticus) ve sazanı (C. carpio) 87 ppm 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ve 0,23 ppm AZM, sublethal konsantrasyonları ve bunların kombinasyonuna maruz bırakılmışlardır. Onların tek

ve kombine uygulamaları C. Carpio nun böbreğinde CAT aktivitesinde artmaya neden olmuştur. *O. niloticus*'un beyinde CAT aktivitesi değişmemiştir. Bu sonuçlar, AZM ve 2,4-D toksitesinin oksidatif stresle ilişkili olabileceğini göstermiştir [39].

Cossi ve ark. (2018), tatlı su salyangozu *Biomphalaria straminea* üzerine çalışmışlardır. Yetişkin organizmaları 14 gün boyunca AZM'ye (20 ve 200 μg L^{-1}) maruz bırakmışlardır. Kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde artış olduğunu bulmuşlardır [40].

2.5. Dimethoate İle İlgili Daha Önce Yapılan Çalışmalar

DM ile şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, DM'nin CAT aktivitesini etkilediği belirlenmiştir. Bu konu ile yapılan çalışmalardan bazıları şunlardır:

Sharma ve ark. (2005), DM'yi akut (kısa süreli) olarak, 45, 75 ve 90 mg/kg vücut ağırlığı oranında erkek Wistar sıçanlarına 24 saatliğine uygulamışlardır. 75 ve 90 mg/kg dozunda uyguladıklarında, sıçanların karaciğer ve beyninde, CAT aktivitesinin arttığını bulmuşlardır [41].

Saafi ve ark. (2011), sıçanlara DM'yi 20 mg/kg/gün oranında uygulamışlardır. CAT'ın önemli oranda azaldığını bulmuşlardır. Hurma meyve ekstaktını önceden sıçanlara verdiklerinde, karaciğer hasarının onarıldığını, CAT aktivitesinde düzelme olduğunu bildirmişlerdir [42].

John ve ark. (2001), sıçanları 0.03 mg/kg vücut ağırlığı oranında (% 0,01 LD_{50}) DM ile etkileştirmişlerdir. Sıçanların eritrositlerinde CAT aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. DM'nin tek doz uygulamasından önce, sıçanları 6 ay boyunca haftada iki kez 250 mg/kg vücut ağırlığı oranında E vitaminiyle muamele ettiklerinde oksidatif stresin azaldığını bulmuşlardır [43].

Amara ve ark. (2011), Wistar sıçanlarına, DM (0,2 g/L içme sularında), DM + selenyum (0,5 mg/kg diyetlerinde), DM + E vitamini (100 mg/kg diyetlerinde) veya DM + selenyum + E vitaminini 30 gün boyunca uygulamışlardır. DM ile muamele edilen sıçanlarda CAT aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Sıçanların

DM diyetlerine selenyum ve/veya E vitaminini koyduklarında, biyokimyasal parametrelerin düzeldiğini bulmuşlardır [44].

Al-Awthan ve ark. (2012), oral yoldan vit C (200 mg kg^{-1} vücut ağırlığı) ve vit E (200 mg kg^{-1} vücut ağırlığı), 1/50 LD_{50} dimethoate (DM) (7 mg kg^{-1} vücut ağırlığı) ve 1/50 LD_{50} DM + vit C ve vit E'yi günlük olarak 28 gün Gine domuzlarına uygulamışlardır. DM'ın uygulanması çeşitli serum markır enzimlerinin (AST ALT ve ALP) seviyelerinde ve Lipid Peroksidasyon (LPO) seviyesinde önemli bir artışa, buna karşın karaciğer Katalaz (CAT) ve Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitelerinde azalmaya neden olmuştur [45].

Ansari ve Ansari (2014), yetişkin erişkin zebrabalıklarını 96 saat LC_{50} dimethoate değerinin % 20 (12,00 μg L^{-1}), % 40 (24,00 μg L^{-1}), % 60 (36,00 μg L^{-1}) ve % 80 (48,00 μg L^{-1}) konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır. Dimethoate, zebra balıklarının solungaçlarında ve karaciğerlerinde katalaz aktivitesinde ve indirgenmiş glutatyon seviyelerinde azalmaya ve lipid peroksidasyonunda artmaya neden olmuştur [46].

Barski ve ark. (2007), sıçanlara dimethoate'ı ardışık 5 gün 38,7 mg/kg vücut ağırlığı dozunda uygulamışlardır. 12 saat insektisit uygulamasından sonra süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde artış, katalaz (CAT) aktivtesinde azalış ve malondialdehit konsantrasyonunda artış gözlemlemişlerdir [47].

Abu El-Saad ve Elgerbed (2010), Dawley sıçanlarına ağızdan 7 hafta boyunca dimethoate (21 mg/kg vücut ağırlığı); E vitamini (200 mg/kg vücut ağırlığı); N-asetilsistein (NAC) (100 mg/kg vücut ağırlığı) ve E + NAC uygulamışlardır. Dimethoate'ın ağızdan uygulanması, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon-S-transferaz antioksidan enzimlerinin aktivitelerinin azalmasına neden olmuştur. Vit.E ve NAC'ın kombinasyonu dimethoate'ın neden olduğu oksidatif hasarı tamamen iyileştirmiştir [48].

Ajitha ve Jayaprakas (2017), tatlı su balığı Nile Tilapia'ya *(Oreochromis niloticus)* dimethoate'ın 96 saatlik LC50 değerinin 1/5 ini (0,047ppm) uygulamışlardır. Nil Tilapyasının solungaç, karaciğer ve böbreğinde katalaz aktivitesinde azalma olduğunu bulmuşlardır [49].

Eken ve ark. (2017), sıçanlara dimethoate (7 mg/kg/gün), C vitamini (100 mg/kg/gün) ve *L. officinalis* meyve özü (4 mg/kg/gün) uygulamışlardır. Dimethoate uygulamasından sonra, katalaz aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte, *L. officinalis* veya C vitamini, dimethoate'a maruz bırakılan sıçanlara tatbik edilmesi biyokimyasal ve oksidatif stres parametrelerini neredeyse normal seviyelere getirmiştir [50].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Azinphos-methyl ($C_{10}H_{12}N_3O_3PS_2$) (45333), dimethoate ($C_5H_{12}NO_3PS_2$) (45449), sığır karaciğer katalazı (C40, ≥10 000 U/mg, Enzim Komisyon (EC) Numarası: 1.11.1.6) sığır serum albumin, NaOH (sodyum hidroksit), HCl (aq) (hidroklorik asit), Na_2CO_3 (sodyum karbonat), NaCl (sodyum klorür), $CuSO_4.5H_2O$ (bakır iki sülfat pentahidrat), Folin-Ciocalteu, K_2HPO_4 (potasyum hidrojen fosfat), KH_2PO_4 (potasyum dihidrojen fosfat), H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve $Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$ (trisodyum sitrat dihidrat), etil alkol, Sigma-Aldrich'ten alınmıştır. Kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Analitik terazi, otomatik pipet, pH metre, etüv, girdap karıştırıcı, manyetik karıştırıcı, UV-Vis Spektrofotomete (Perkin Elmer Lambda 25) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan Çözeltiler

Fosfat Tamponu (50 mM, pH=7,5) : 2,273g KH_2PO_4ve 5,8g K_2HPO_4 saf suda çözünüp saf su ile 1L' ye yakın tamamlanır. 1M HCl ve 1M NaOH ile çözeltinin pH' sının 7,5 olması sağlanır ve daha sonra üzeri saf su ile 1L' ye tamamlanır [51].

10 mM, 50 mL H_2O_2: Yoğunluğu 1,13 g/mL olan % 35 lik H_2O_2 den 43 µL alınıp 50 mL fosfat tamponuna eklenir.

1M HCl çözeltisi: % 37'lik stok HCl'den saf su üzerine 8,3 ml HCl (stok, derişik) eklenip saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

1M NaOH çözeltisi: 4 g NaOH alınıp balon jojeye konur, biraz saf su ile çözülür, saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.
CAT Çözeltisi (0,5 mg/ml): 0,025 g CAT tartılarak balon jojeye konur, biraz fosfat tamponu ile çözülür, üzeri fosfat tamponu ile 50 ml'ye tamamlanır.
Serum Fizyolojik (% 0,9 NaCl): 9 g NaCl tartılarak, balon jojeye konur, biraz saf su ile çözülür, üzeri saf su ile 1000ml'ye tamamlanır.
Standart Protein Çözeltisi: 0,025 g sığır albümini tartılır ve üzerine serum fizyolojik konup yavaşça karıştırılarak (köpürmemesi için) 50 ml'ye tamamlanır.

3.2.2. Pestisit Etkisi

Pestisitler saf etil alkol içinde hazırlanmıştır. 0,0100g pestisit alınıp üzerine 2 ml etil alkol eklenmiştir. Böylece 5000 ppm (mg/L) pestisit çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok pestisitten 0, 25, 50, 100, 250, 500 ppm derişimlerinde pestisit ile mutlak etil alkol ve yaklaşık 0,5 mg protein/mL derişiminde 700 µL CAT enzim çözeltisi oda sıcaklığında yarım saat etkileştirilmiştir. Kontrolde 300 µL mutlak etil alkol ve 700 µL CAT enzim çözeltisi etkileştirilmiştir [52]. Bu etkileşimden sonra CAT aktivitesi ölçülmüştür.

3.2.3. Protein Tayini

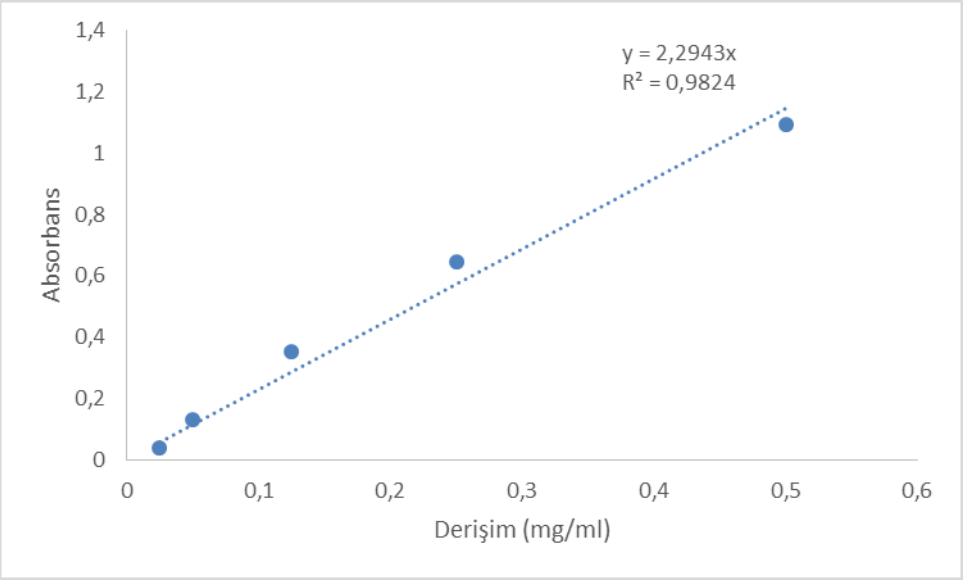
Protein tayini metodu Lowry ve Ark (1951) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır [53]. Protein tayini için aşağıda özellikleri bildirilen A, B ve C çözeltileri hazırlanmıştır.

1) Çözelti A: Bu çözelti 2 g Na_2CO_3, 0,1 M NaOH (0,4 g) çözeltisinde çözülerek ve aynı çözelti ile son hacim 100 ml'ye seyreltilerek hazırlanmıştır.
2) Çözelti B: 0,5 g. $CuSO4.5H_2O$, %1'lik tri sodyum sitrat. 2 H_2O (1 g) çözeltisinde çözülerek son hacim aynı çözelti ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
3) Çözelti C: 50 ml A çözeltisi ile 1 ml B çözeltisi karıştırılarak hazırlanmıştır. (Kullanılacağı an hazırlanmasına dikkat edilmiştir.)

4) Folin-Ciocalteu Çözeltisi: Folin-Ciocalteu saf su ile 1:1 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır.

5) Standart Protein Çözeltisi: 1 ml'sinde 0,5 mg sığır albümini olacak şekilde %0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltisiyle hazırlanmıştır.

6) Standart Protein Eğrisinin Çizimi: 6 adet deney tüpü alınarak tüplere sırasıyla standart protein çözeltisinden (0,5 mg/ml) 0; 50; 100; 250; 500; 1000 µl eklenip serum fizyolojik ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplerin protein derişimleri sırasıyla 0; 0,025; 0,05; 0,125; 0,25; 0,5 mg/ml'ye karşılık gelir. Her tüpe 5 ml C çözeltisi ilave edilip, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra her tüpe 1:1 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisinden 0,5 ml eklenmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilip tüp içeriklerinin absorbansları köre karşı 750 nm'de okunmuştur. Okunan bu absorbanslar standart protein derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 3.1 Standart protein grafiği

3.2.4. Katalaz Aktivitesinin Ölçülmesi

Katalaz aktivitesi, Bergmeyer (1974) [54] tarafından çalışılan Lartillot ve ark. (1988) [55] tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Enzimatik aktivite tayini,

hidrojen peroksidin 240 nm'deki absorbansının enzim ile etkileşmesinden sonra zamanla azalmasına bağlı olarak yapılmıştır. Yöntemde 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=7,5) içinde 10 mmol/L H_2O_2 olacak şekilde substrat çözeltisi hazırlanır. 2,5 ml substrat çözeltisi üzerine 20 µL test edilecek enzim çözeltisi eklenir ve oda sıcaklığında 2 dakika bekletilir. Reaksiyonu durdurmak için ortama 0,5 ml 1 M HCl çözeltisi ilave edilir. 240 nm'de absorbansı (Ar) ölçülür.

Kör olarak 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=7,5) ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözelti kullanılır.

H_2O_2'in başlangıçtaki absorbansını (As) belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür.

Proteinin neden olacağı absorbansı (At) belirlemek için 20 µL enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür.

Enzimatik aktiviteden dolayı absorbans (A) değişimi;

A = (As + At)- Ar

Enzim aktivitesinin U/mL cinsinden hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılır.

$$\text{Aktivite} = \frac{A.Vt}{\varepsilon.t.Ve}$$

Vt = Toplam reaksiyon hacmi (mL)

Ve = Kullanılan enzim çözeltisinin hacmi (mL)

ε = H_2O_2'nin molar ekstinksiyon katsayısı (0.040 $cm^2/\mu mol$)

t = Reaksiyon zamanı (dakika)

Her örnekteki protein miktarı belirlenerek aktivite $\mu molH_2O_2$.mg $protein^{-1}$.$dakika^{-1}$ (U/mg protein) olarak ifade edilmiştir.

3.2.5. İstatistik

Değerler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Her bir pestisit etkisinde derişimler arasındaki aktivite düzeylerini karşılaştırmak için, tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ardından Student Newman-Keuls'un testi uygulanmıştır. SPSS in 22 sürüm istatistik yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Farklılıklar, $p < 0,05$ ise anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

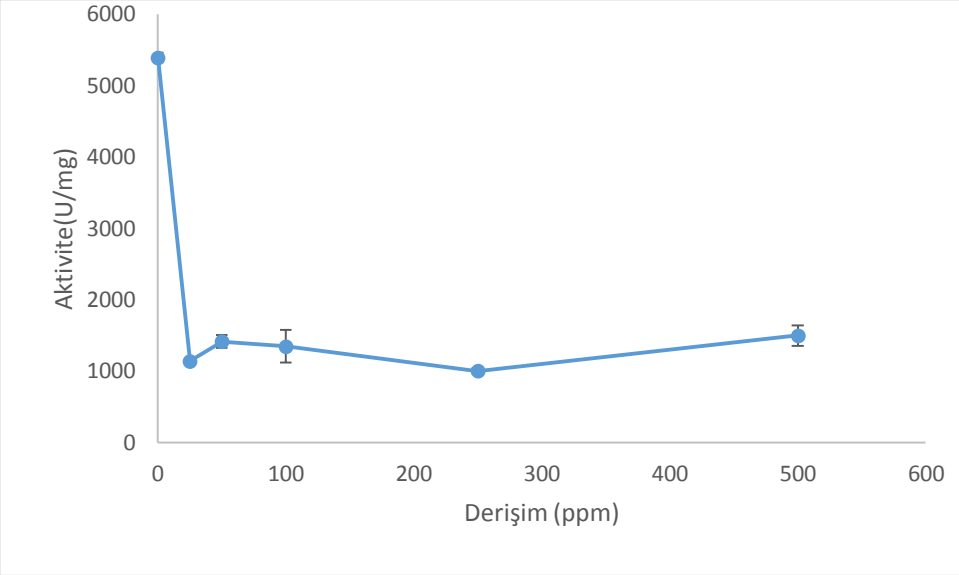
4.1.1. Azinphos-methyl ve Katalaz'ın Etkileştirilmesi

Farklı derişimlerde hazırlanan AZM ve CAT etkileştirilerek, CAT enzimi aktivite ve standart sapma değerleri ölçülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 4.1'de verilmiştir. Aktivite-derişim grafiği ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı azinphos-methyl derişimlerinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi

Derişim (ppm)	Aktivite±standart sapma(U/mg)
0	5393±69a
25	1141±34bd
50	1417±91c
100	1348±226bc
250	1003±34d
500	1498±140c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki "a, b, c ve d" harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayrım vardır ($P < 0,05$; n=3).



Şekil 4.1 Azinphos-methyl'in katalaz aktivitesi üzerine etkisi

Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 incelendiğinde AZM derişimi artarken CAT enzim aktivitesinin keskin bir şekilde düştüğü gözlemlenmiştir. AZM ile etkileşen CAT aktivitesinde **geri dönüşümsüz inhibisyon (irreversible inhibition)** gözlemlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim konsantrasyonlarda CAT enzim aktivitesindeki azalışların istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlenmiştir. ($P < 0,05$; n=3). AZM'nin 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm (mg/L) etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 78,8; 73,7; 75,0; 81,4 ve 72,2 olduğu hesaplanmıştır.

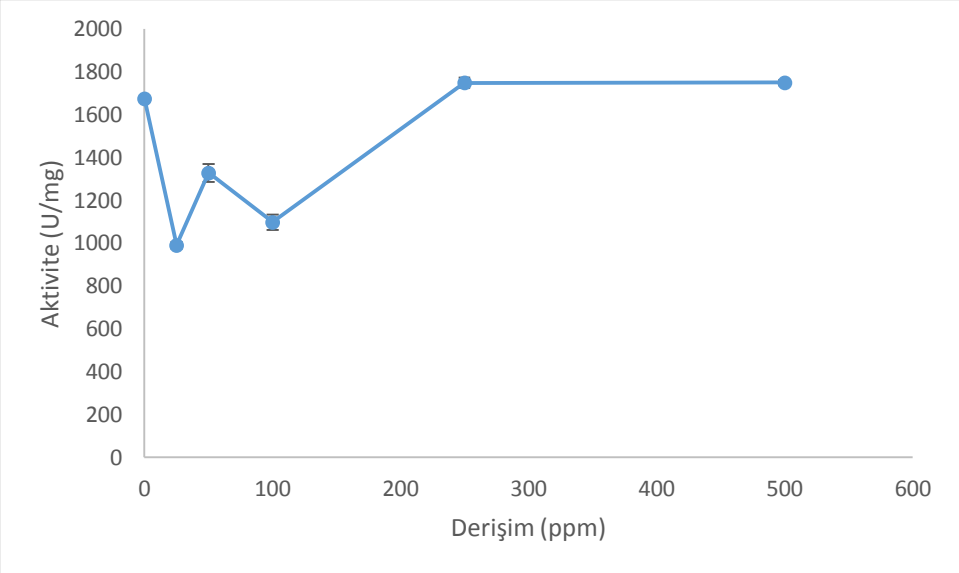
4.1.2. Dimethoate ve Katalaz'ın Etkileştirilmesi

Farklı derişimlerde hazırlanan DM ve CAT etkileştirilerek, CAT enzimi aktivitesi ve standart sapma değerleri ölçülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 4.2'de verilmiştir. Aktivite-derişim grafiği ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı dimethoate derişimlerinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi

Derişim (ppm)	Aktivite±standart sapma(U/mg)
0	1673±7a
25	989±14b
50	1327±41c
100	1097±35d
250	1747±24e
500	1749±12e

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart sapma şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki "a, b, c, d ve e" harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayrım vardır ($P < 0,05$; n=3).



Şekil 4.2 Dimethoate'ın katalaz aktivitesi üzerine etkisi

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 incelendiğinde 25, 50 ve 100 ppm (mg/L) DM derişimlerinde CAT enzim aktivitesinde düşüş gözlemlenirken, 250 ve 500 ppm (mg/L) DM derişimlerinde CAT enzim aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim derişimlerinde CAT enzim aktivitesindeki azalışların ve artışların istatistiksel açıdan önemli olduğu

gözlemlenmiştir ($P < 0,05$; n=3). DM'nin 25, 50, 100 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 40,9; 20,7; 34,4 olduğu, 250 ve 500 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde artışların sırasıyla 4,4 ve 4,5 olduğu hesaplanmıştır.

4.2. Tartışma

Yaptığımız çalışmada, AZM ile etkileşen CAT aktivitesinde geri dönüşümsüz inhibisyon (irreversible inhibition) gözlemlenmiştir. Bu çalışmamızla örtüşen benzer çalışmayı, Margoliash ve Schejter (1962)'de 3-amino-1,2,4-triazol bileşiği ile ilgili yaptıkları çalışmada elde etmişlerdir [56]. 3-amino-1,2,4-triazol bileşiği, katalazı geri dönüşümsüz inhibisyona uğratmıştır. AZM, 3-amino-1,2,4-triazol'deki 1,2,3-benzotriazin ile benzer grup içerir. Benzer bir çalışma Aksoy ve ark. (2004) tarafından yapılmıştır. İnsan eritrosit katalazın azit tarafından yarışmasız olarak inhibe edildiğini bulmuşlardır [57]. Azit, AZM'nin yapısındaki gibi kovalent bağlı üç azot elementi içerir.

AZM ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda, AZM'nin katalazı etkilediği anlaşılmıştır. Ferrari ve ark. (2007), gökkuşağı alabalıklarını, öldürücü dozun altında, 2,5 ve 5 µg/L AZM ile 24, 48 ve 96 saat süresince etkileştirmişlerdir. Pestisitin etkisine karaciğer ve böbrekte bakmışlardır. AZM'nin sürekli bir şekilde, CAT aktivitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir [34]. Ferrari ve ark. (2007)'nın uyguladıkları AZM dozu çok düşük olmasına rağmen, CAT aktivitesini etkilemiş ve düşürmüştür. Yine benzer bir şekilde Ferrari ve ark. (2011), karakurbağa larvalarına carbaryl 10 ve 20 mg/L'sini veya AZM'nin 3 ve 6 mg/L'sini 48 saat etkileştirmişlerdir. CAT'ın önemli bir şekilde iki pestisit tarafından inhibe edildiğini belirtmişlerdir [37]. Yine Ferrari ve ark. (2011) yaptıkları deneyde AZM'nin 3 ve 6 mg/L'sini kullanmalarına karşın CAT inhibe edilmiştir. Yaptığımız deneyle benzer sonuçları Kristoff ve ark. (2008) bulmuşlardır. Kristoff ve ark. (2008), tatlı su solucan (0,006 mg/L AZM) ve salyangoz (5 mg/L AZM) omurgasızlarının yumuşak dokularını, AZM'nin kolinesterazı % 50 inhibe eden dozu ile 48 ve 96 saat etkileştirmişlerdir. Her iki omurgasızın dokularında CAT

aktivitesinin azaldığını bulmuşlardır [38]. Kristoff ve ark. (2008)'da düşük dozda AZM kullanmış ve CAT aktivitesinde azalma saptamışlardır.

DM zehirlenmesi hücresel hasara ve oksidatif strese neden olur. Bu, lipid peroksidasyonuna ve serbest radikal oluşumuna yol açar [58]. Hidrojen peroksit, reaktif oksijen türlerinin (ROT) bir şeklidir. Hidrojen peroksit oluştuğunda, CAT hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştürür. CAT aktivitesindeki artışlar, hidrojen peroksit veya ROT üretimine cevap olabilir [59].

Yaptığımız çalışmada, 25, 50 ve 100 ppm (mg/L) gibi düşük DM derişimlerinde CAT enzim aktivitesinde düşüş gözlemlenirken, 250 ve 500 ppm (mg/L) gibi yüksek DM derişimlerinde CAT enzim aktivitesinde artış gözlemlenmiştir.

Yaptığımız çalışma ile benzerlik gösteren çalışmalar yapılmıştır. Düşük DM derişimlerinde CAT aktivitelerinde azalmalar görülmüştür. Örneğin, Saafi ve ark. (2011), sıçanlara DM'yi 20 mg/kg/gün oranında uygulamışlardır. CAT'ın önemli oranda azaldığını bulmuşlardır. Hurma meyve ekstaktını önceden sıçanlara verdiklerinde, karaciğer hasarının onarıldığını, CAT aktivitesinde düzelme olduğunu bildirmişlerdir [42]. 20 mg/kg gibi düşük DM derişiminde bulunan sonuç bizim bulduğumuz sonuçlarla uyum içindedir. CAT aktivitesi düşmüştür. Başka bir çalışmada, Al-Awthan ve ark. (2012), oral yoldan vit C (200 mg kg^{-1} vücut ağırlığı) ve vit E (200 mg kg^{-1} vücut ağırlığı), 1/50 LD_{50} dimethoate (DM) (7 mg kg^{-1} vücut ağırlığı) ve 1/50 LD_{50} DM + vit C ve vit E'yi günlük olarak 28 gün Gine domuzlarına uygulamışlardır. DM'ın uygulanması çeşitli serum markır enzimlerinin (AST ALT ve ALP) seviyelerinde ve Lipid Peroksidasyon (LPO) seviyesinde önemli bir artışa, buna karşın karaciğer Katalaz (CAT) ve Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitelerinde azalmaya neden olmuştur [45]. 1/50 LD_{50} dimethoate (DM) (7 mg kg^{-1} vücut ağırlığı) gibi düşük pestisit miktarının CAT aktivitesinde azalmaya yol açması sonuçlarımızla uyum içindedir. Aynı şekilde, Ansari ve Ansari (2014), yetişkin erişkin zebrabalıklarını 96 saat LC50 dimethoate değerinin % 20 (12,00 μg L^{-1}), % 40 (24,00 μg L^{-1}), % 60 (36,00 μg L^{-1}) ve % 80 (48,00 μg L^{-1}) derişimlerine maruz bırakmışlardır. Dimethoate, zebra balıklarının solungaçlarında ve karaciğerlerinde katalaz aktivitesinde ve indirgenmiş glutatyon seviyelerinde azalmaya ve lipid

peroksidasyonunda artmaya neden olmuştur [46]. Ansari ve Ansari (2014)'nin yaptıkları düşük derişimdeki DM uygulamasının sonuçları bulgularımızla paralellik göstermektedir. Diğer bir çalışmada, Barski ve ark. (2007), sıçanlara dimethoate'ı ardışık 5 gün 38,7 mg/kg vücut ağırlığı dozunda uygulamışlardır. 12 saat insektisit uygulamasından sonra süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde artış, katalaz (CAT) aktivtesinde azalış ve malondialdehit konsantrasyonunda artış gözlemlemişlerdir [47]. 38,7 mg/kg vücut ağırlığı DM dozu gibi düşük derişimde uygulanan bu çalışmanın sonuçları, bizim bulduğumuz sonuçlar gibi CAT aktivitesinde azalmaya yol açmıştır. Diğer taraftan, Abu El-Saad ve Elgerbed (2010), Dawley sıçanlarına ağızdan 7 hafta boyunca dimethoate (21 mg/kg vücut ağırlığı); E vitamini (200 mg/kg vücut ağırlığı); N-asetilsistein (NAC) (100 mg/kg vücut ağırlığı) ve E + NAC uygulamışlardır. Dimethoate'ın ağızdan uygulanması, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon-S-transferaz antioksidan enzimlerinin aktivitelerinin azalmasına neden olmuştur. Vit.E ve NAC'ın kombinasyonu dimethoate'ın neden olduğu oksidatif hasarı tamamen iyileştirmiştir [48]. 21 mg/kg DM derişiminin yarattığı etki sonuçlarımzdaki gibi CAT aktivitesini azaltmıştır. Öte yandan, Ajitha ve Jayaprakas (2017), tatlı su balığı Nile Tilapia'ya *(Oreochromis niloticus)* dimethoate'ın 96 saatlik LC50 değerinin 1/5 ini (0,047ppm) uygulamışlardır. Nil Tilapyasının solungaç, karaciğer ve böbreğinde katalaz aktivitesinde azalma olduğunu bulmuşlardır [49]. 0,047 ppm DM beklenen etkiyi yapmış ve CAT aktivitesini düşürmüştür. Aynı şekilde, Eken ve ark. (2017), sıçanlara dimethoate (7 mg/kg/gün), C vitamini (100 mg/kg/gün) ve *L. officinalis* meyve özü (4 mg/kg/gün) uygulamışlardır. Dimethoate uygulamasından sonra, katalaz aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte, *L. officinalis* veya C vitamini, dimethoate'a maruz bırakılan sıçanlara tatbik edilmesi biyokimyasal ve oksidatif stres parametrelerini neredeyse normal seviyelere getirmiştir [50]. 7 mg/kg/gün düşük DM dozu uygulanması çalışma bulgularımızla uyum içindedir. CAT aktivitesinde azalmaya yol açmıştır.

Yüksek dimethoate uygulamalarında ise katalaz aktivitesi artmıştır. Amara ve ark. (2011) yaptığı çalışmada bulunan sonuçlar sonuçlarımızla uyum içindedir. Amara ve ark. (2011), Wistar sıçanlarına, DM (0,2 g/L içme sularında), DM + selenyum (0,5 mg/kg diyetlerinde), DM + E vitamini (100 mg/kg diyetlerinde) veya DM + selenyum

+ E vitaminini 30 gün boyunca uygulamışlardır. DM ile muamele edilen sıçanlarda CAT aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Sıçanların DM diyetlerine selenyum ve/veya E vitaminini koyduklarında, biyokimyasal parametrelerin düzeldiğini bulmuşlardır [44]. 0,2 g/L yani 200 mg/L gibi yüksek DM derişimi bizim bulduğumuz sonuçlarla aynı etkiyi yaratmış, CAT aktivitesini arttırmıştır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

1) Artan AZM derişimi ile etkileşen CAT aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir.
2) AZM'nin CAT aktivitesini geri dönüşümsüz inhibisyona (irreversible inhibition) uğrattığı belirlenmiştir.
3) 25, 50 ve 100 ppm gibi düşük DM derişimlerinde CAT aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir.
4) 250 ve 500 ppm gibi yüksek DM derişimlerinde CAT aktivitesinde artma gözlemlenmiştir.

5.2. Öneriler

1) Pestisitlerin etkilerinin değerlendirilmesinde CAT enzimi biyokimyasal belirteç olarak kullanılabilir.
2) Çalışılan pestisitlerin CAT enzimi dışındaki diğer antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz gibi enzimlerin üzerine etkileri araştırılabilir.
3) Yapılan çalışma, *in vitro* olup, *in vivo* ortamda da CAT enzimi üzerine AZM ve DM etkilerine bakılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] C. Öncüer, *Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri Ve İlaçları.* Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No: 13, Genişletilmiş 4. Baskı, 379s, 2000.

[2] R.M Loewy, L.B. Monza, V.E. Kiers, M.C. Savini, "Pesticide distribution in anagricultural environment in Argentina", *J. Environ. Sci. Health B,* vol. 46, pp. 662–670, 2011.

[3] "USEPA, United States Environmental Protection Agency", *Interim registration eligibility decision for azinphos-methyl. Case no. 0235. 2001,* https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/azinphosmethyl_ired.pdf. Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[4] L.C. Cacciatore, S.I. Nemirovsky, N.R.V. Guerrero, A.C. Cochón, "Azinphos-methyl and chlorpyrifos, alone or in a binary mixture,produce oxidative stress and lipid peroxidation in the freshwatergastropod *Planorbarius corneus*", *Aquatic Toxicology*, vol. 167, pp. 12–19, 2015.

[5] "Dimethoate", *wikipedia.org,* https://en.wikipedia.org/wiki/Dimethoate. [Erişim tarihi: 22-Haziran-2016].

[6] W.J. Hayes, E.R. Laws, (Eds.), New York: Academic Press Inc., 1991.

[7] "WHO" *Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals. Environmental Health Criteria 180, Geneva, Switzerland. 1996,* https://apps.who.int/iris/handle/10665/41843. [Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[8] I.B. Amara, N. Soudani, A. Troudi, H. Bouaziz, T. Boudawara, N. Zeghal, "Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 74, pp. 811–819, 2011.

[9] Ç. Güler, *Canlıkıranlar (Pestisitler).* Ankara: Yazıt, 2011.

[10] R. Sevim, *Toksikoloji Pestisitler.* Antalya: 2011.

[11] T.C. M.E.B., *Çevre Sağlığı, Pestisitler*. Ankara: 2012.

[12] Y. K. Daş, *Pestisitler.,* Samsun: 2016.

[13] C. Öncüer, *Tarımsal Zararlılarla Saaş Yöntemleri ve İlaçları*. İzmir: Doğruluk, 1991.

[14]"Azinphos-methyl-3D-balls",*wikimedia.org,* https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d7/Azinphos-methyl-3D-balls.png/1200px-Azinphos-methyl-3D-balls.png. [Erişim tarihi: 12-Mart-2019].

[15]"Azinphos-methyl-2D-skeletal",*wikimedia.org,* https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/bd/Azinphos-methyl-2D-skeletal_V1.svg/1920px-Azinphos-methyl-2D-skeletal_V1.svg.png. [Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[16]"Diméthoate",*wikimedia.org,* https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0f/Dim%C3%A9thoate.png/270px-Dim%C3%A9thoate.png. [Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[17]"Dimethoate_Structural_Formulae",*wikimedia.org,* https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/d3/Dimethoate_Struc

tural_Formulae_.V.1.svg/1200px-Dimethoate_Structural_Formulae_.V.1.svg.png. [Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[18] E. Durmuşoğlu, O. Tiryaki ve R. Canhilal, "Türkiye de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları", *TMMOB-Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği 7. Teknik Kongresi,,* Ankara, 11-15 Ocak 2010, Bildiriler Kitabi 2: s 589-607.

[19] M.S. Turabi, "Bitki koruma ürünlerinin reçeteli satılması ile ilgili olarak düzenlenen eğiticilerin eğitimi toplantısı", Antalya, 2008.

[20] O. Tiryaki, R. Canhilal, S. Horuz, "Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Cilt: 26, Sayı: 2, s. 154-169, 2010.

[21] S. Dağ, T. Aykaç, A. Gündüz, M. Kantarcı, N. Şişman, *Türkiye'de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği.* 2000.

[22] N. Delen, *Fungisitler.* Nobel, 2008.

[23] T.C Kütahya Valiliği İl Gıda Tarım Ve Hayvancılık Müd., *Sürdürülebilir Tarım*, Kütahya: 2015.

[24] L. Kalaycıoğlu, B. Serpek, M. Nizamlıoğlu, N. Başpınar, A.M. Tiftik, *Biyokimya.* Ankara: Nobel, 2013.

[25] M. Aksoy, *Beslenme Biyokimyası.* Ankara: Hatipoğlu, 2011.

[26] "Enzim Yapısı", *enzimler.gen.tr,* https://www.enzimler.gen.tr/enzim-yapisi.html. [Erişim tarihi: 12-Mart- 2019].

[27] E. Keha ve İ. Küfrevioğlu, *Biyokimya.* Ankara: Aktif, 2011.

[28] "Enzim Kinetiği ve Regülasyonu", *slideshare.net,* https://www.slideshare.net/gulsenyilmaz/enzim-kinetii-ve-reglasyonu. [Erişim tarihi: 20-Şubat- 2019].

[29] E. Yıldırım, "Tuzlu Topraklarda Katalaz Enziminin Aktivitesi ve Kinetiği" Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2010.

[30] R. Seriner, "Katalaz enziminin hıyardan *(Cucimus sativus)* saflaştırılması" Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, 2010.

[31] H.U. Bergmeyer, M. Grassi, H.E. Walter, *Methods of enzymatic analysis.* Vol. 3, H. U. Bergmeyer, ed., Third Edition; Weinheim, West Germany: VCH, 165, 1983.

[32] H.E. Aebi, *Methods of enzymatic analysis.* Vol. 3, H. U. Bergmeyer, ed., Third Edition; Weinheim, West Germany: VCH, 273, 1983.

[33] P. Chelikani, I. Fita, P.C. Loewen, "Diversity of structures and properties among catalases", *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 61, no. 2, pp. 192–208, 2004.

[34] A. Ferrari, A. Venturino, A.M. Pechén de D'Angelo, "Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* detoxifying enzymes", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 88, pp. 134–142, 2007.

[35] L.C. Cacciatore, S.I. Nemirovsky, N.R.V. Guerrero, A.C. Cochón, "Azinphos-methyl and chlorpyrifos, alone or in a binary mixture, produce oxidative stress and lipid peroxidation in the freshwater gastropod *Planorbarius corneus*", *Aquatic Toxicology*, vol. 167, pp. 12–19, 2015.

[36] K. Bianco, M.S. Yusseppone, S. Otero, C. Luquet, M.C.R. Molina, G. Kristoff, "Cholinesterases and neurotoxicity as highly sensitive biomarkers for an organophosphate insecticide in a freshwater gastropod *(Chilina gibbosa)* with low sensitivity carboxylesterases", *Aquatic Toxicology*, vol. 144– 145, pp. 26– 35, 2013.

[37] A. Ferrari, C. Lascano, A.M.P. D'Angelo, A. Venturino, "Effects of azinphos methyl and carbaryl on Rhinella arenarum larvae esterases and antioxidant enzymes", *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, vol. 153, pp. 34–39, 2011.

[38] G. Kristoff, N.R.V. Guerrero, A.C. Adriana C. Cochón, "Effects of azinphos-methyl exposure on enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses in *Biomphalaria glabrata* and *Lumbriculus variegatus*", *Chemosphere*, vol. 72, pp. 1333–1339, 2008.

[39] E. Ozcan Oruc, Y. Sevgiler, N. Uner, "Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, vol. 137, pp. 43–51, 2004.

[40] P.F. Cossi, L.T. Herbert, M.S. Yusseppone, A.F. Pérez, G. Kristoff, "Environmental concentrations of azinphos-methyl cause different toxic effects without affecting the main target (cholinesterases) in the freshwater gastropod *Biomphalaria straminea*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 162, pp. 287–295, 2018.

[41] Y. Sharma, S. Bashir, M. Irshad, S.D. Gupta, T.D. Dogra, "Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats", *Toxicology*, vol. 206, pp. 49–57, 2005.

[42] E.B. Saafi, M. Louedi, A. Elfeki, A. Zakhama, M.F. Najjar, M. Hammami, L. Achour, "Protective effect of date palm fruit extract *(Phoenix dactylifera L.)* on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver", *Experimental and Toxicologic Pathology*, vol. 63, pp. 433–441, 2011.

[43] S. John, M. Kale, N. Rathore, D. Bhatnagar, "Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes", *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 12, pp. 500–504, 2001.

[44] I.B. Amara, N. Soudani, A. Hakim, A. Troudi, K.M. Zeghal, T. Boudawara, N. Zeghal, "Selenium and vitamin E, natural antioxidants, protect rat cerebral cortex against dimethoate-induced neurotoxicity", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 101, pp. 165–174, 2011.

[45] Y.S. Al-Awthan, M.A. Al-Douis, G.H. El-Sokkary, and E.M. Aqlan, "Dimethoate-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of Guinea pig and the protective effect of vitamin C and E", *Asian Journal of Biological Sciences*, vol. 5, no. 1, pp. 9-19, 2012.

[46] S. Ansari, B.A. Ansari, "Temporal variations of CAT, GSH, and LPO in gills and livers of Zebrafish, *Danio rerio*, exposed to dimethoate", *Arch. Pol. Fish*., vol. 22, pp. 101-109, 2014.

[47] D. Barski, A. Zasadowski, R. Wiaderkiewicz and M. Kamiński, "Effect of oral administration of dimethoate and pyrantel on selected parameters of pro- and antioxidative processes in rats", *Bull. Vet. Inst. Pulawy*., vol. 51, pp. 673-677, 2007.

[48] A.M. Abu El-Saad, M.SA. Elgerbed, "Dimethoate-induced hepatotoxicity in rats and the protective roles of vitamin E and N-acetylcysteine", *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, vol. 6, no. 2, pp. 219–230, 2010.

[49] B.S. Ajitha, C.A. Jayaprakas, "Effect of an organophosphate insecticide, dimethoate, on antioxidant enzymes of the fish Nile tilapia, *(Oreochromis*

niloticus) (L.)", *International Journal of Science and Research*, vol. 6, no. 11, pp. 2128-2132, 2017.

[50] A. Eken, B. Ünlü Endirlik, E. Bakır, A. Baldemir, A.H. Yay, F. Cantürk, "Effect of *Laurocerasus Officinalis Roem.* (Cherry Laurel) fruit on dimethoate induced hepatotoxicity in rats", *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*., vol. 23, no. 5, pp. 779-787, 2017.

[51] S.S. Tukel, O. Alptekin, "Immobilization and kinetics of catalase onto magnesium silicate", *Process Biochem*., vol. 39, pp. 2149–2155, 2004.

[52] H. Karadag, R. Bilgin, "Effect of cyprodinil and fludioxonil pesticides on human superoxide dismutase", *Asian J. Chem*., vol. 22, no. 10, pp. 8147-8154, 2010.

[53] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, "Protein measurement with the folin phenol reagent", *J. Biol. Chem*., vol. 193, pp. 265–275, 1951.

[54] H.U. Bergmeyer, *In: Bergmeyer, HU. (Ed.), Methods of enzymatic analysis*. Vol. 1, 2nd ed; New York, USA: Academic press, 438, 1974.

[55] S. Lartillot, P. Kadziora, A. Athios, "Purification and characterization of new fungal catalase", *Prep. Biochem*., vol. 18, no. 3, pp. 241–246, 1988.

[56] E. Margoliash, A. Schejter, "Kinetics of the irreversible inhibition of catalase by 3-amino-1,2,4-triazole in the presence of hydrogen peroxide and catalase-hydrogen peroxide complex I hydrogen donors", *J. Biol. Chem*., vol. 237, no. 7, pp. 2359-2363, 1962.

[57] Y. Aksoy, M. Balk, I.H Ogus, N. Ozer, "The mechanism of inhibition of human erythrocyte catalase by azide", *Turk J. Biol*., vol. 28, pp. 65-70, 2004.

[58] I.B. Amara, N. Soudani, A. Troudi, H. Bouaziz, T. Boudawara, N. Zeghal, "Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats", *Ecotox. Environ. Safe*., vol. 74, pp. 811–819, 2011.

[59] O. Ritola, D.R. Livingstone, L.D. Peters, P. Lindstrom-Seppa, "Antioxidant processes are affected in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water", *Aquaculture*, vol. 210, pp. 1–19, 2002.

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Fatma TEMİZ UZUN
Doğum Yeri :Kahramanmaraş- Andırın
Doğum Tarihi :1988
Medeni Hali :Evli
Yabancı Dili :İngilizce
E-posta : fatma.temiz.777@gmail.com

Eğitim Durumu

Derece	**Alan**	**Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Yüksek Lisans	Kimya Anabilim Dalı	Adıyaman Üniversitesi	2019
Lisans	Fen Bilgisi Öğretmenliği	Adıyaman Üniversitesi	2012
Lise		Andırın Anadolu Lisesi	2007

YAYINLAR

H. Karadağ, F. Temiz Uzun, "Evaluation of changes in catalase activity induced by azinphos-methyl and dimethoate", *1st International Balkan Chemistry Congress (IBCC-2018)*, Edirne, TURKIYE, 17-20 September 2018, pp. 83. (Oral Presentation).

H. Karadag, F. Temiz Uzun, "Determination of catalase activity exposed to organophosphate insecticides azinphos-methyl and dimethoate", *Fresenius Environmental Bulletin*, vol.28, no.4, pp. 2464-2468, 2019.