

6SP15

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEMLERLE VERİLEN SELENYUMUN SAZAN (*Cyprinus carpio* L.)  
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Habibe ÖZMEN

DOKTORA TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

1997

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEMLERLE VERİLEN SELENYUMUN SAZAN (*Cyprinus carpio* L.)  
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Habibe ÖZMEN

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez,.....Tarihinde, Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından  
Oybirliği/Oyçokluğu ile Başarılı/Başarısız Olarak Değerlendirilmiştir.

İmza

İmza

İmza

Danışman

Prof. Dr. Alaattin ÇUKUROVALI

**ÖZET****Doktora tezi****Yemlerle Verilen Selenyumun Sazan (*Cyprinus carpio* L.)  
Üzerine Etkisinin İncelenmesi****Habibe ÖZMEN****Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü****Kimya Anabilim Dalı****1997, Sayfa: 102**

Yemle verilen selenyumun Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* L.) üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada, 2.5, 5.0, 10.0 ve 20.0 ppm Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) yeme katılarak, balıklar 5 ay beslendi. Laboratuvar ortamında yapılan çalışma 3 defa tekrarlandı. Selenyum analizi için yöntem seçimi yapılarak uygun çalışma şartları optimize edildi. Su ve yemde bazı kimyasal parametreler ayarlandı. Balığın karaciğer, böbrek, et, deri, solungaç, bağırsak örneklerinde biriken ve dışkı ile atılan selenyum düzeyleri belirlenerek sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Se analizi HG-AAS kullanılarak yapıldı. 10.0 ve 20.0 ppm Se'lu yemle beslenen balıkların derilerinde siyahlaşma, gözde fırlama, karında su toplaması ve şişkinlik, kuyruk ve dorsal yüzgeçte kanlanma görüldü. Sonuçlar, yemde artan selenyum miktarına bağlı olarak, dışkı ile atılan, dokular ve organlarda biriken Se miktarında da artma olduğunu gösterdi. Doku ve organlarda birikimin, en fazla karaciğerde en az ise kasta olduğu belirlendi. Kondisyon Katsayısı ve Bağıl Büyüme Oranı değerlerine göre 2.5 ppm Se'lu yemle beslenen balıklarda büyümenin kontrol grubu dahil, diğer gruplara göre daha iyi olduğu belirlendi.

---

**ANAHTAR KELİMELER:** Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* L.), Yem, Selenyum,  
Birikim, Sindirim, Büyüme, HG-AAS.

**SUMMARY****Ph.D. Thesis****Investigation of Selenium on Carp (*Cyprinus carpio* L.)  
by Adding to the Food****Habibe ÖZMEN****Firat University****Graduate School of Applied Science****Department of Chemistry****1997, Page: 102**

In this study, effect of selenium on Carp (*Cyprinus carpio* L.) was investigated. Fish were fed with selenium added to food at 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 ppm Se ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), in three replicates. Appropriate method and laboratory conditions for selenium analysis were selected. Some chemical parameters in water and food were detected. Selenium levels in liver, kidney, muscle, skin, gill, intestine and feces of fish were determined and compared to control group. Selenium analysis were conducted by using HG-AAS method. Fish fed with food which containing 10.0 and 20.0 ppm Se had dark skin, exophthalmos, edema and swollen stomach and hemorrhage on kaudal and dorsal fins. Results showed that, the accumulation of selenium in tissue and organs increased by the increasing selenium concentration in food. The highest accumulation was occurred in liver and the lowest occurred in muscle. According to the condition coefficient and Relative Growth Rate of fish, including control group, growth of fish fed with 2.5 ppm Se was higher than other groups.

---

**KEY WORDS:** Carp (*C. Carpio* L.), Food, Selenium, Accumulation, Digestion, Growth, HG-AAS.

**TEŞEKKÜR**

Bu alıőmanın planlanması ve yűrűtűlmesinde, araőtırma sűresince devamlı yakın ilgi ve yardımlarını gűrdűğűm saygıdeğەر Hocam Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI'ya sonsuz űkranlarımı sunarım.

Araőtırmalarım esnasında bana her tűrlű imkanı sađlayan, deđerli Hocam Prof. Dr. Bűlent ŐEN'e, Yard. Doç. Dr. Metin ALTA'ya, űekillerin çiziminde yardımcı olan Teknisyen Cemile KADIYORAN'a ve F. Ŭ. Su Ŭrűnleri Fakűltesi elemanlarına, HG-AAS'nin kullanılmasında yardımlarını esirgemeyen Veteriner Kontrol ve Araőtırma Enstitűsű'nde Uzman Dr. Necla ERKAL ve Dr. Nurhan ŐAHİN'e, her zaman manevi desteđini gűrdűğűm eőim ve aileme içtenlikle teőekkűr ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET .....	II
SUMMARY .....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	VIII
TABLolar LİSTESİ .....	X
KISALTMALAR .....	XII
1. GİRİŞ .....	1
1. 1. Selenyum Kimyası Doğada Bulunuşu ve Kullanım Alanları.....	3
1. 2. Selenyumun Canlı Organizmada Önemi ve Metabolizması.....	6
1. 3. Akuatik Ortamda Selenyumun ve Önemi.....	15
1. 4. Selenyumun Toksisitesi.....	20
1. 5. Sazan Balığı (Cyprinus carpio L.)'nin Özellikleri.....	21
1. 6. Balık Yemleri ve Balıkların Yemleri Sindirmelerine ait Özellikler.	26
1. 7. Selenyumun Tayin Yöntemleri.....	29
2. MATERYAL VE METOD.....	36
2. 1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	36
2. 2. Balıklar ve Akvaryum.....	37
2. 3. Yemler.....	38
2. 4. Balıkları Yemleme ve Akvaryum Sularını Değişirme Periyodu..	39
2. 5. Balıklardan Dışkı Alımı.....	40

2. 6. Balıklardan Doku ve Organ Örneklerinin Alınması.....	40
2. 7. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	40
2. 7. 1. Su Analizlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	41
2. 7. 2. Yem Analizinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	41
2. 7. 3. Spektrofotometrede Selenyum Analizi için Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	42
2. 7. 4. HG - AAS de Selenyum Analizi için Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	42
2. 8. Teflon Bombanın Hazırlanması.....	43
2. 9. Çözücü Seçimi.....	44
2. 10. Spektrofotometrik Yöntemle Selenyum Tayini .....	46
2. 11. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile Selenyum Tayini...	48
2. 12. Numunelerin Analize Hazırlanması.....	55
2. 12. 1 Su Numunesi.....	56
2. 12. 2. Yem Numuneleri.....	56
2. 12. 3. Dışkı Numuneleri.....	57
2. 12. 4. Organ ve Doku Numuneleri.....	58
3. BULGULAR.....	59
3. 1. Akvaryum Suyunun Kimyasal Analiz Sonuçları.....	59
3. 2. Yem Analiz Sonuçları.....	60
3. 3. Yemdeki Selenyumun Sindirilmesi.....	61
3. 4. Balıklar.....	62
3. 4. 1. Balıkların Ağırlık, Uzunluk ve Ağırlık-Uzunluk İlişkisi.	65

3. 4. 2. Balıkların Büyüme Oranının Belirlenmesi.....	70
3. 4. 3. Kondisyon Faktörü.....	71
3. 5. Balık Dışkısında Selenyum Miktarları.....	71
3. 6. Balık Dokularında Selenyum Miktarları.....	73
3. 7. Balık Organlarında Selenyum Miktarları .....	76
4. TARTIŞMA.....	82
5. KAYNAKLAR.....	89
6. EKLER	



## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. 1. Selenit Metabolizması (Petterson vd., 1993).....	14
Şekil 1. 2. Sazan Balığının İç Organları.....	25
Şekil 2. 1. Teflon Bombanın Genel Görünüşü.....	44
Şekil 2. 2. Spektrofotometrik Yöntemle Selenyum -DAN Kompleksinin Çalışma Eğrisi.....	48
Şekil 2. 3. Hidrür Sisteminin Çalışma Şeması.....	52
Şekil 2. 4. HG-AAS 660'ın Akım Şeması.....	53
Şekil 2. 5. HG-AAS ile Selenyum Tayininde Kullanılan Çalışma Eğrisi.....	55
Şekil 2. 6. Hazırlanan Yemlerde Bulunan Se Miktarlarının Dağılımı.....	57
Şekil 3. 1. Balıkların Dış Görünüşleri. a; Kontrol Grubu, b; 20.0 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıklar.....	63
Şekil 3. 2. Balıklarının İç Organlarının Görünüşü a; Kontrol Grubu b; 20.0 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıklar.....	64
Şekil 3. 3. Kontrol Grubu ve 20.0 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıkların Solungaçlarının Görünüşü.....	65
Şekil 3. 4. Selenyumlu Yemlerle Beslenen Balıkların Aylara Göre Ağırlıkları.....	67
Şekil 3. 5. Selenyumlu Yemlerle Beslenen Balıkların Aylara Göre Uzunlukları.....	67

Şekil 3. 6. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Dışkısında Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	73
Şekil 3. 7. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemlerle Beslenen Balıkların Etinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	75
Şekil 3. 8. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Derisinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	76
Şekil 3. 9. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Bağırsağında Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	78
Şekil 3. 10. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Solungaçında Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	79
Şekil 3. 11. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Böbreğinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	79
Şekil 3. 12. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Karaciğerinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.....	80

## TABLOLARIN LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. 1. Önemli Selenyum Bileşikleri.....	5
Tablo 1. 2. Yemlerin Kimyasal Yapısı .....	27
Tablo 1. 3. Alabalık Rasyonu.....	28
Tablo 1. 4. Selenyumun Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	30
Tablo 1. 5. Biyolojik Materyallerde Selenyum Tayini için Uygun Şartlar ve Analiz Yöntemleri.....	35
Tablo 2. 1. Yemlerin Hazırlanması (1 kg yem için).....	39
Tablo 2. 2. Açıkta ve Teflon Bombada, Farklı Çözücülerin Kontrol Yemdeki Selenyum Miktarına Etkisi.....	45
Tablo 2. 3. Se Tayini için Kullanılan Shimadzu Marka HG-AAS 660'da Uygun Optimal Şartlar.....	51
Tablo 2. 4. HG-AAS de Kullanılan Reaktiflerin Selenyum İçeriği.....	54
Tablo 3. 1. Akvaryum Sularındaki Kimyasal Ölçümlerin, Aylara Göre Değerleri.....	60
Tablo 3. 2. Yem Analiz Sonuçları.....	61
Tablo 3. 3. Farklı Miktarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıklarda Selenyumun Sindirim Katsayıları .....	62
Tablo 3. 4. Akvaryumlardaki Balıkların, Aylara göre Ağırlıkları.....	66
Tablo 3. 5. Akvaryumlardaki Balıkların Aylara Göre Uzunlukları.....	66
Tablo 3. 6. Farklı Gruplardaki Balıkların 5 Aylık Ortalama Ağırlıkları.....	68

Tablo 3. 7. Deney Grupları Arasında Ağırlığın İstatistiksel Verileri.....	68
Tablo 3. 8. Farklı Gruplardaki Balıkların 5 Aylık Ortalama Uzunlukları.....	69
Tablo 3. 9. Deney Grupları Arasında Uzunluğun İstatistiksel Verileri.....	69
Tablo 3. 10. Balıklarda Bağlı Büyüme Oranı .....	70
Tablo 3. 11. Farklı Miktarlarda Selenyum İçeren Yemle Beslenen Balıklarda Ortalama Kondisyon Faktörü .....	71
Tablo 3. 12. Dışkı Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg) .....	72
Tablo 3. 13. Dışkı Örneklerindeki Selenyum Miktarlarının İstatistiksel Verileri.....	72
Tablo 3. 14. Et Örneklerindeki Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).....	74
Tablo 3. 15. Deri Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).....	74
Tablo 3. 16. Et Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Veriler.....	74
Tablo 3. 17. Deri Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Veriler.....	75
Tablo 3. 18. Bağırsak Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları.....	77
Tablo 3. 19. Solungaç Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg)..	77
Tablo 3. 20. Böbrek Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).....	77
Tablo 3. 21. Karaciğer Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg)...	78
Tablo 3. 22. Bağırsak Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.....	80
Tablo 3. 23. Solungaç Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.....	81
Tablo 3. 24. Böbrek Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Veriler.....	81
Tablo 3. 25. Karaciğer Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Veriler.....	81

**KISALTMALAR**

HG-AAS	: Hidrür Oluşumlu Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
DAB	: 3,3'-Diamino benzidin
DAN	: 2,3- Diamino naftalin
dak.	: Dakika
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
HG-AAS	: Hidrid Oluşumlu AAS
EDTA	:Etilen diamin tetra asetik asit
EPA	: Çevre koruma örgütü
GSH	: Glutation
GSH-Px	: Glutation peroksidaz
HA-EDTA	: Hidroksil Amin Etilen Diamin Tetra Asetik asit
HC	: Hallow katod
ICP-AES	: İnduktif Bağlantılı Plazma-Alev Emisyon Spektrofotometresi
LC <sub>50</sub>	: Lethal Konsantrasyon (%50'sini öldüren konsantrasyon)
µCi/gr	: Radyoaktif birim
MCT	: Maksimum kritik sıcaklık
PLOOH-GSH-Px	: Fosfolipit peroksidaz glutation perksidaz
PTFE	: Politetrafloroetilen
RNA	: Ribonükleik asit
SD	: Standart sapma

## 1. GİRİŞ

Canlıların, yaşamlarını sürdürebilmek ve hayati faaliyetlerini yerine getirebilmeleri için beslenmeye ihtiyaçları vardır. İnsanlar besinlerini, genellikle hayvansal ve bitkisel kökenli gıdalardan temin ederken, bitkiler toprakta bulunan besin maddelerinden veya yapay olarak verilen gübrelerden; hayvanlar ise ya tabiatta buldukları diğer hayvan ve bitkilerden ya da yapay olarak verilen yemlerden karşılarlar.

Yem; madde ve enerji bakımından hayvanların yaşama ve verim ihtiyaçlarını karşılamak amacı ile, belli sınır ve koşullarda yedirildiğinde, hayvan sağlığına zarar vermeyen, organik ve inorganik maddelerdir. Yemler, genel olarak içinde organik ve inorganik maddeleri ihtiva eden kuru madde ve sudan oluşmaktadır. Organik maddeler; ham yağ, ham protein, ham selüloz ve azotsuz öz maddelerden, inorganik maddeler ise makro ve mikro elementlerden oluşur. Makro elementler (Ca, Mg, K, Na, Cl, S, P) vücut ağırlığındaki miktarı 50 mg/kg'dan fazla, mikro elementler (Fe, Cu, Zn, Mn, Co, Mo, F ve Se) ise 50 mg/kg'ın altında olanlardır (Çelikkale , 1988; Chow, 1978).

Yemlerdeki inorganik maddeler genellikle mineral madde olarak tanımlanır ve canlı organizmanın yapısına iştirak ederek çeşitli görevler üstlenirler. Örneğin; demirin, kanın renk maddesinin yapısında etkin olması, kalsiyum-fosforun kemiğin yapı maddesi olması gibi. Buna rağmen besin maddelerinin içeriğinde bulunan mineraller ihtiyaç düzeyinin üzerine çıktığı zaman, canlıda toksik etki yapmaktadır. Doğrudan toksik etki yapan Cd, Cr, Hg, As, Ba, Be, Tl ve Pb gibi elementlerin dışında, Co, Mn, Mo, Ni, Se, ve V gibi oligodinamik elementlerin de ihtiyaç üzerindeki konsantrasyonları toksik etki göstermektedir. Son zamanlarda, besinde ve besin maddelerinde bulunan oligodinamik elementler, sağlık açısından önem taşıdığı için, bu elementlerin canlı üzerine etkisi

konusunda bir çok çalışma yapılmıştır (Amund vd., 1989; Baysal, 1988; Coyle vd., 1993; Doğan vd., 1993; Gillespre vd., 1986).

Doğal ortamda yetişen balıklar, beslenmelerini genellikle besin zincirine uygun olarak fitoplankton, zooplankton ve daha küçük balıklardan temin ederler. Mineral maddeleri, buldukları su ortamından ve beslendikleri besin maddelerinden sağlarlar. Sudaki mineral madde, topraktan çözünen, erozyonla sürüklenen veya ölü organizmaların parçalanması sonucu açığa çıkar. Osmoregulasyon için oldukça önemli olan mineral maddeler, balıkların gelişmesine de etkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Amund vd., 1989; Coyle vd., 1993; Johansson,1993;). Ogino ve Kamizono (1975) hazırlamış oldukları % 0-8 düzeyinde mineral madde ihtiva eden yemlerle yavru sazanlar beslemişler ve en iyi gelişimin % 4-5 düzeyinde mineral madde içeren yemle olduğunu tespit etmişlerdir.

Oligodinamik ve ekzojen nitelikte bir element olan Se, canlı bünyesinde birikim yapmakta ve daha çok böbrek, karaciğer ve pankreasta, sistin ve selenometionin gibi bileşikler üzerinden proteinlerin yapısına girdiği belirtilmektedir (Gerald ve Stephane, 1986 ; Özgen, 1970).

Günümüzde, insan ve hayvanlar için önemi gittikçe artmakta olan Se'un birçok hastalıklara karşı koruyucu etki yaptığı anlaşılmıştır. Buna rağmen yemle verilen selenyumun dışarı atılmasıyla ilgili fazla bilgi yoktur. Farklı balıklara su, enjeksiyon ve yemle verilen Se'un etkisinin incelendiği, toksik düzeyi ve vücutta birikmesi ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Baysal, 1988; Watenpaug ve Beitinger, 1985; Jaiswal ve Waghray, 1987; Stephen vd., 1987; Hermautz vd., 1992; Mclougin vd., 1992; Bell vd., 1986; Cleveland vd., 1993; Tallandini vd., 1996).

Sazan balığı, günümüzde kültür balıkçılığında önemli bir yere sahiptir ve bölgemizde en çok tüketilen bir balık türüdür. Kültür balıkçılığında, bu balıkların beslenmesinde kullanılan yemlerdeki mineral maddelerden, selenyumun optimum miktarının belirlenmesi de ticari açıdan oldukça önemlidir

Yapılan bu çalışmada; yeme katılan farklı miktardaki selenyumun Sazan Balığı (*Cyprinus carpio L.*)'nin uzunluk ve ağırlığına etkisi, balıkta meydana getirdiği bazı septomlar, dışkıyla atılan ve organ ve dokularda biriken Se miktarları incelenmiştir. Literatürlerde, bu konuyla ilgili, kapsamlı bir çalışmaya rastlanmadığından bu çalışma ile görülen eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, balığın en iyi gelişim gösterdiği ve dışkı ile atılan selenyum miktarının belirlenmesi bu çalışma ile ilk defa yapılmaktadır.

### 1. 1. Selenyumun Kimyası , Doğada Bulunuşu ve Kullanım Alanları

Atom ağırlığı 78.96 olan selenyum, selenür (-II), selenit (IV), ve selenat (VI) iyonları formundadır ve doğada alın kadar az bulunur. Bunlardan, Se(IV) bileşikleri daha karardır.  $SeO_2$ , selenöz asit gibi suda çözünür ve kendiliğinden kolaylıkla süblimleşir ve buharlaşır. Metalik selenyum,  $HNO_3$ 'de çözündüğünde, Se(IV), Se(VI)'ya yükselgenir. Se(IV) yapısının, klorür ve bromür bileşikleri de sulu ortamda düşük sıcaklıkta ısıtıldığında buharlaşabilir (Zygmunt, 1976). Selenyum oda sıcaklığında hava oksijenine karşı dayanıklıdır. Yüksek sıcaklıkta yanar ve kötü bir koku açığa çıkarır.  $H_2SO_4$ 'de yeşil bir çözümlü vererek çözünür.  $HNO_3$  ve kral suyunda selenöz asit ( $H_2SeO_3$ ) veya selenyum dioksit ( $SeO_2$ ), HCl'de kaynatılırsa  $SeCl_4$  halinde uçar. Bazlarda selenürler ( $Se^{-2}$ ) vererek çözünür ve kolaylıkla yükselgenerek selenyumu verir.

Selenyumun başlıca kompleksi,  $(\text{SeSO}_3)^{-2}$  olup, suda az çözünen bileşikler;  $\text{SrSeO}_3$ ,  $\text{BaSeO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaSeO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{PbSeO}_3$ ,  $\text{Ag}_2\text{SeO}_3$ ,  $\text{BaSeO}_4$ ,  $\text{SrSeO}_4$ ,  $\text{PbSeO}_4$ ,  $\text{Ag}_2\text{SeO}_4$  dır (Gündüz, 1993).

Selenyumun selenik ve selenöz asit tuzları çok toksiktir. Selenik asit, korrosif özelliğe sahiptir. Selenyum dioksit, beyaz bir bileşik olup selenöz asidin anhidritidir (Stewart ve Stolman, 1961).

Selenyumun halojen bileşikler ve oksijenli bileşikler oldukça uçucudur. Mesela  $\text{SeF}_6$  bileşiği  $-34^\circ \text{C}$ 'de kaynamaktadır. Selenat ve selenit yapıları suda kolaylıkla çözünür. Önemli selenyum bileşikler Tablo 1.1'de verilmiştir.

Doğada seyrek olarak bulunan metallere biri olan selenyum; metal halinde veya kükürt, demir ve kadmiyumla birleşmiş halde bulunur. Çeşitli mineraller içinde Clausthalite ( $\text{PbSe}$ ), Naumannite [ $(\text{Ag,Pb})\text{Se}$ ], Tremannite ( $\text{HgSe}$ ), Ferroselite ( $\text{FeSe}_2$ ), Berzelianite ( $\text{Cu}_2\text{Se}$ ), Umangite ( $\text{Cu}_4\text{Se}$ ), Challomenite ( $\text{CuSeO}_3$ ) halinde bulunan selenyum, 1812 yılında Berzelius tarafından pirit ( $\text{FeS}_2$ ) mineralinin işlendiği yerlerdeki tozlardan keşfedilmiştir (Roger ve Lawrence, 1982; Dökmeci, 1994).

Doğadaki selenyum döngüsünde yeryüzündeki eriyik ve volkanik kayalardan, atmosfere geçer. Kayalardan yağmur ve yeraltı sularına, eriyik kayalardan atmosfere, okyanuslara, deniz ve göllere, akuatik ortamda yaşayan canlılara, sedimentlere, bitkilere, toprak ve hayvanlardan, insanlara geçmektedir (Anonymous, 1989). Kömürün yanması sonucu, atmosferde 0.7-7.4 ppm selenyum olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. 1. Önemli Selenyum Bileşikleri (Gerald ve Stephanie, 1986)

Selenyumun Yükselgenme Basamağı	Selenyum Bileşimi
Se <sup>-2</sup>	H <sub>2</sub> Se, Na <sub>2</sub> Se, (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Se <sup>+</sup>
	Selenomethionin, Selenosistein
	Selenosistation, Selenotaurin
Se <sup>0</sup>	Selenodiglutathion, Amorf selenyum
	Kırmızı selenyum (alfa-monoclinic)
	Koyu kırmızı selenyum (beta-monoclinic)
	Kül rengi (gri) selenyum (hexagonal)
Se <sup>+4</sup>	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> , Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>
Se <sup>+6</sup>	Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>

Çevrede coğrafi olarak bazı topraklarda yüksek miktarda bulunan selenyum, bu topraklardan bitkilere, besin zinciri ile de hayvan ve insanlara ulaşarak, direk ve indirek toksisiteye neden olur. Volkanik sülfür tabakalarında 120 ppm, carbonaceous siltstone de 680 ppm, fosfat kayalarında 212 ppm selenyum bulunmaktadır. Havada jeolojik faktörlere bağlı olarak 0.02 ppm Se bulunabilir. *Astragalus* denilen bitki, özellikle kurak alanlarda yetişmekte ve 1000-10000 ppm Se içermektedir. Selenyum akümülatörü veya indikatörü olarak bilinen bu bitkilerde selenyum, metilselenosistein ve selenosistation şeklinde birikmiştir. Bu bitkiler hayvanlar tarafından yenildiği zaman ani ölümlere neden olmaktadır (Roger ve Lawrence, 1982; Vural, 1984).

Denize selenyumun girişi genellikle selenit içeren kayalardan havanın değişimi ile olmakta ve 0.09 ppm düzeyinde litosferde yaygın dağılım göstermektedir. Özellikle sülfid materyallerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Son zamanlarda, yılda 7200 ton Se okyanuslara, bunların doğal proseslerle girdiği görüşleri mevcuttur. Bununla birlikte

fosil yakıtların yanması sonucu, atmosfere yılda 450 ton kadar taşındığı ve sonuçta okyanuslara girdiği görüşleri hakimdir. Çevredeki toplam selenyum akışını antropojenik bileşen olarak tanımlayan bazı yazarlar, bu toksik elementin deniz çevresindeki potansiyelini göz önünde tutmuşlardır. Maden kömüründe 5 ppm, petrolde 1.4 ppm selenyum mevcuttur. Çevre kirliliğine sebep olan kimyevi gübrelerde de selenyum mevcuttur. Son zamanlardaki ölçümlerde, deniz organizmaları tarafından selenyumun biriktiği Atlantik memelilerinde ve kuşların karaciğerlerinde 100 ppb'ye ulaştığı görülmüştür (Baysal, 1988).

Selenyum başlıca bakır rafinesinde yan ürün olarak elde edilir. Özellikle elektronik alanında, rektifikasyon sağlayıcı olarak, fotosel üretiminde, güneş bataryaları, cam ve seramik endüstrisinde, vulkanizasyon yapıcı, çelik alaşımları, boya ve vernik üretimiyle ilgili endüstri dallarında, insanlarda, kepek önleyici ilaçların hazırlanmasında, bazı makine yağlarının üretiminde oksitleyici madde olarak işe yaradığı gibi fungusit ve sinek kovucu ilaçların bileşiminde de selenyum kullanılır (Şanlı, 1992; Dökmeci, 1994; Vural, 1984).

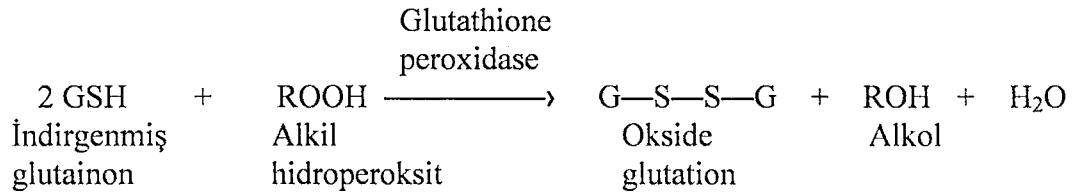
## **1. 2. Selenyumun Canlı Organizmadaki Önemi ve Metabolizması**

Temel besin elementleri, makro elementler (H, C, N, P, S, Cl, K ve Ca) ve mikro elementler (B, Si, F, Br, Se, As, Zn, Cu, Co, Fe, Mn, Cr, V ve Mo) olmak üzere iki grupta toplanır. Konsantrasyonu 100 ppm'den az olan elementler mikro element grubuna girer. Bunların dışında diğer bir grup ise toksik elementlerdir. Bunların başlıcaları Cd, Hg, Tl ve Be'dur. Bazı durumlarda makro elementler, mikro düzeyde olabilirler ve birkaç element de hem temel hem de toksik özellik gösterebilir (Kent ve John, 1984)

Temel bir element olan selenyum, canlılar için çok düşük konsantrasyonlarda gereklidir. Eksikliğinde çeşitli hastalıklar olabilir, fakat bu elementin insan besinindeki rolü, henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. 1957 yılında Schwarz, selenyumun biyolojik olaylarda önemli rolü olduğunu belirtmiş ve selenyum eksikliği olan farelerde, selenyum ilavesiyle, yağlı karaciğer necrosis'inin önlendiği görülmüştür.

Rotruck vd. (1973) tarafından, selenyumun glutation peroksidaz enziminin aktivitesi üzerine etkisi tartışılmıştır. Glutation peroksidaz'ın molekül ağırlığı 84.000 dalon' dur ve içeriğinde 4 atom gram Se bulunmaktadır. Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi % 0.37 oranında Se içeren bu enzim, GSH-Px olarak adlandırılmakta ve karaciğer, akciğer, kalp, böbrek, eritrosit, iskelet kası, endotelial hücre damarlarında ve göz merceğinde bulunur. Ayrıca, selenyum ilavesiyle hemoglobinin oksidasyonunun ve crythrocyt hemolysis'in azaldığını bildirmişlerdir (Rotruck vd., 1973).

Selenyumun, GSH-Px' in bir bileşeni olduğu ve aşağıda görülen yolla dokulardaki toksik hidroperoksit bileşiklerini parçalayıp etkisiz hale getirdiği bilinmektedir (Gökalp, 1993).



Vücut toksik hidroperoksitlerden korunmada iki şekilde faydalanmaktadır

1. a-tokoferol (E vitamini) bu bileşenlerin oluşumunu engellemektedir.

2. Glutation peroksidaz, toksik hidroperoksitleri zararsız birincil ve ikincil alkollere dönüştürmektedir (Gökalp , 1993; Kılınç vd., 1983).

Selenyumun fizyolojik fonksiyonlarından biri de E-vitamini taşıyıcısı olmasıdır. E -vitamini selenoprotein fonksiyonunda taşınmaktadır. Selenyum, a-tokoferol'un (vit-E) bozunmasının önlenmesinde, absorpsiyonunda ve biyolojik aktivitesinin artmasında etkili olabilmektedir (Oldfield, 1987, Coşkun vd., 1993). E-Vitamini hidrojen iyonları ile peroksit ve hidroperoksitleri doyurup, peroksit radikallerinin aktivitesini azalarak, otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonu inhibe eder. Oksidadif zararlara karşı selenyum ve E-vitamini birbirlerini tamamlayıcı rol oynar. Ayrıca normal pankreas fonksiyonunda, Se ve E-vitamini lipidlerin sindirilmesi ve absorpsiyonu için gereklidir. Se, peroksitlerin yok olmasına ve E-vitamininin kan plazma lipoproteinleri içinde tutulmasına, yardım eder (Menteş, 1988, Kutsky, 1981; Chow, 1985). E-Vitamini, besin bileşeninde bulunduğu hemoglobin oksidasyonunu önleyemediği halde zarın oksidasyonunu önlemektedir. GSH-Px enzimi ise hücre zarını ve eritrosit zar lipidlerini oksidadif zarardan koruyucu rol oynamaktadır. Selenyum hücre zarını korumada tek başına gerekli değildir, fakat kullanılması durumunda, eritrosit içindeki glutation' u redükte etmektedir. (Kılınç vd., 1983). Bağışıklık fonksiyonunda selenyumun antioksidant koruyucu rolü vardır. Se, iki enzimin temel bileşenidir. Bunlar, glutation peroxidase (GSH-Px) ve phospholipit peroxidase glutation peroxidase (PLOOH-GSH-Px). Bu enzimler hidrojen peroksidin azalmasında önemlidir ve cytoplasmik organelleri ve zarları, aksi tesir yapan ve sağlığa zararlı metabolitlerden korur. Yaşlı insanların besinine Se ilave edildiği zaman bağışıklık sistemini harekete geçirici özelliğe sahip olduğu görülmüştür (Harik vd. 1993; Korpela 1993).

Hücresele ve al hücresele zarlardaki, damar sertliğine karşı koruyucu olan fosfolipitler ve E-vitamini ile uzun süre etkili olan Se, glikoz metabolizmasında bir ko faktör olarak teşhis edilip oksidasyonundan dolayı zarar verebilir (Lovell, 1989).

Atopik deri iltihabı ve sedef hastalığı, kırmızı hücredeki glutation peroxidase aktivitesinin düşmesi sonucu olduğu tespit edilmiştir ve sodyum selenit ilavesiyle ciltteki bu tahriş edici reaksiyonların önleniği rapor edilmiştir (Perone vd., 1978)

Yapılan bir çalışmada insanlara, selenyum verilmesi ile GSH-Px aktivitesinin %30'lardan, %1400'lere vardığı gözlenmiştir (Underwood, 1977).

Selenyum eksikliğinde oluşan septomlar türlere göre farklılık gösterir. Çeşitli hemolitik kansızlıkta peroksidaz ile hemolisizin artmakta olduğu ve kansızlık hastalığı olan hastaların plazma ve eritrositinde selenyum tayini yapılmış ve kontrol grubundan daha düşük düzeyde selenyum bulunmuştur. Ayrıca cardiomyopathy, muscular dystrophy, pankreas ve karaciğer hastalığı ile selenyum eksikliği arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Selenyum eksikliğinde testisler, karaciğer, kalp kası ve iskelet kası oldukça fazla etkilenir. Öldürücü bir hastalık olan cardiomyopathy (kalp büyümesi) hastalığında selenyumun koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir (Behne, 1990).

Doğan vd. (1993) yapmış olduğu bir çalışmada ise, Behçet hastalarının kanlarındaki selenyum düzeyinin, kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Farelere, düşük ve yüksek düzeyde selenyumun verildiği bir çalışmada, yüksek konsantrasyonda selenyum içeren besinle beslenen farelerde, hipofiz, testis, adrenal, kas, eritrosit, karaciğer ve plazmadaki selenyum düzeylerinde artma; düşük selenyumla beslenen farelerde ise, bu dokularda belirgin azalma gözlenmiştir. Farelerdeki selenyumun %60 dan fazlasının enzime bağlı olmadığı, selenyum ihtiva eden diğer proteinlere bağlı olduğu kanıtlanmıştır. Dokulardaki Se, selenoproteinler halinde beyin, üreme organları ve endokrinde daha fazla bulunmuştur. Canlı organizmadaki selenyum dimetilselenür gibi düşük moleköl ağırlıklı bileşikler halinde veya proteinlere bağlı

olarak bulunur. Se, insan ve hayvanlara inorganik yapıda verildiği zaman kolayca organo-Se bileşiklerine dönüşür (Underwood, 1977).

Selenyumun S atomları ile S-Se-S şeklinde, P atomları ile P-Se-P şeklinde bağ oluşturduğu belirlenmiştir (Wilson vd. 1993). Ayrıca bakteriyal RNA'nın yapısına girdiği, plazma proteinlerinde taşıma görevi yaptığı ve testis proteinlerinde mitokondriyal yapıya katıldığı bildirilmektedir (Oldfield, 1987; Arthur, 1982).

Se, plazma proteinlerinde  $\alpha$ -1,2 globülinlere ve  $\beta$ -lipoproteinlere bağlanarak, kemik, saç, eritrosit, böbrek, karaciğer, kalp ve pankreas dokularına, hemoglobin, süt ve lökositlere taşınmaktadır. Se, ulaştığı dokuların yapısına girer ve onun bileşeni olur (Grønbeak, ve Ussing, 1989; Underwood, 1977). Ayrıca canlı sistemde DNA sentezi ve hücre çoğalmasında inhibitör etki yapmaktadır. DNA ve RNA sentezinin ve hücre membranında iyon geçişinin kontrolü, keratin bütünlüğünün sürdürülmesi ve antikor sentezinin uyarılması gibi önemli hücresel göreve sahip olduğu bilinmektedir (Li vd. 1989; Şanlı ve Kaya, 1992).

Diyetle organik yapıda alınan ya da organizmada organik forma dönüştürülen Se'un emilimi kolay olduğu gibi oranı da oldukça yüksektir. Selenür ve selenat gibi anorganik Se bileşikleri organizmadan hızla atılır veya selenyum kaynağı olan semete dönüşür. Semet hücreler tarafından daha yavaş emilir. Ayrıca diyetteki A, C ve E vitamini miktarları da Se emilimini artırıcı yönde etki etmektedir (Lombs, 1984).

Sodyum selenitin monensin denilen ionophoric antibiyotiğin üzerine etkisi incelenmiş ve sonuçta tavuklara oral yolla verilen monensitin dozu, sodyum selenitin miktarına bağlı olarak arttığı, 350 mg monensitin 2.5-15 mg/kg Se değerinde toksik etki yaptığı belirlenmiştir (Vanderkop ve MacNeil, 1989).

Canlılarda Hg zehirlenmelerinde selenyumun rolünün çok önemli olduğu ve civanın toksik etkisini, selenyumun azaldığı çeşitli canlılar üzerinde denenmiş ve olumlu sonuç alınmıştır (Cuvin ve Furness, 1988 ; Klaverkamp vd., 1983; Siegel, vd., 1991)

Elemental haldeki Se, mide ve bağırsak sisteminde absorbe olmamaktadır. İnsan vücudunun ortalama taşıma kapasitesi yaklaşık 14.6 mg dır. En büyük konsantrasyonu karaciğerdedir. Karaciğerin yarısı kadar da böbrektedir. Selenyum saçta da birikir. Kan örneklerinde genellikle eritrosit/plazma arasındaki selenyum oranı 3/1'dir. Selenyum idrarla atıldığı gibi dışkı ile de atılmaktadır (Louis ve John, 1975).

Selenyumun organizmadaki absorpsiyonu kesin bir faktör olarak görülmemektedir. Farelerdeki çalışmalarda, farklı miktarlarda selenit selenyumu ihtiva eden besinlerle beslenmiş ve sonuçta selenyumun %95-100 arasında absorplandığı görülmüştür. Bu absorplanma insanlarda da görülmüştür. Çeşitli formlardaki selenyumun oral yollarla alındığında absorpsiyonunun, organizmadaki selenyumun durumuna bağlı olduğu görülmemiştir. Selenyumlu yem kesildikten 20 gün sonra bile idrarda iz miktarda rastlanmıştır (Behne, 1990).

Selenyum tuzları sindirim, solunum ve cilt yoluyla absorbe olabilmektedir. En fazla böbrek, dalak ve karaciğerde birikmektedir. Vücuttan atılışı büyük ölçüde idrar, biraz da solunum, süt, ter ve dışkı ile olmaktadır (Dökmeci, 1994). Toksik selenyum bileşikleri, başlıca sindirim yoluyla absorbe olurlar. Selenyumun başlıca atılım yolu böbrektir. Önemli bir kısmı, dimetil selenüre metabolize olarak akciğerlerle atılır ve bu nedenle nefeste sarımsak kokusu duyulur (Vural, 1984). Selenyumun vücutta absorplanmasını çeşitli faktörler etkilemektedir (bağırsak hücrelerinden dolayı). Aynı

zamanda bağırsak hücrelerinde absorplama, bağırsakta yeterince uzun olmakta ve bazı sebeplerle elementler bağırsakta fazla kalmamaktadır (Baysal, 1988).

Selenyumun canlı vücudunun bütün dokuları ve hücrelerindeki oluşumu, beslenme ve bulunduğu ortamdaki Se'un kimyasal formu ve düzeyi ile değişiklik gösterir. Genellikle karaciğer ve böbrekte yüksek düzeyde taşındığı, kemik, kas ve kanda düşük düzeyde olduğu, yağlı et dokularında ise oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Kalp kasındaki selenyumun iskelet kasındaki selenyumdan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Selenyumun absorpsiyonu, vücutta dağılımı ve tutulması, alınan elementin beslenmedeki düzeylerine, kimyasal formlarına, ayrıca boşalımdaki miktarlarına göre değişim gösterir. Selenyum metabolizması hayvanlar arasında da farklılık gösterir.

Elemental selenyum ve selenürler, daha düşük absorpsiyona sahip oldukları, dokulardaki selenit ve selenatlardaki selenyuma rağmen seleniferrustaki selenyum daha yüksek absorpsiyona sahiptir. Selenodiasetik ve selenopropiyonik asit içeren bazı organik bileşikler, selenitten daha az absorblaması sonucu daha az toksiktir. Absorbe olan selenyum önce plazmalara oradan da bütün dokulara girmektedir. Selenit selenyumu kimyasal değişime uğrayarak eritrositlerde plazma proteinleri tarafından bağlanır. Eritrositlerdeki Se, bu hücrelerdeki uygun glutation'a bağlanır.

Alınan selenyumun dışkıyla boşalımı, genellikle idrarla boşalımından daha yüksektir. Fakat bu, geniş getiren hayvanlar için geçerli olup monogastrik türlerde geçerli değildir. Feceste selenyumun çoğu beslenmedeki selenyumun absorbe olmamasından meydana gelmektedir. Küçük miktarlarda, pankreasta, safrada, bağırsakta ve bağırsaklara ait bölümlerde salgılanmaktadır. Safra sıvısından geçerek bağırsak-mide sisteminde, selenyum boşalımının belirgin derecede arttığı ve karaciğerde tutulduğu,

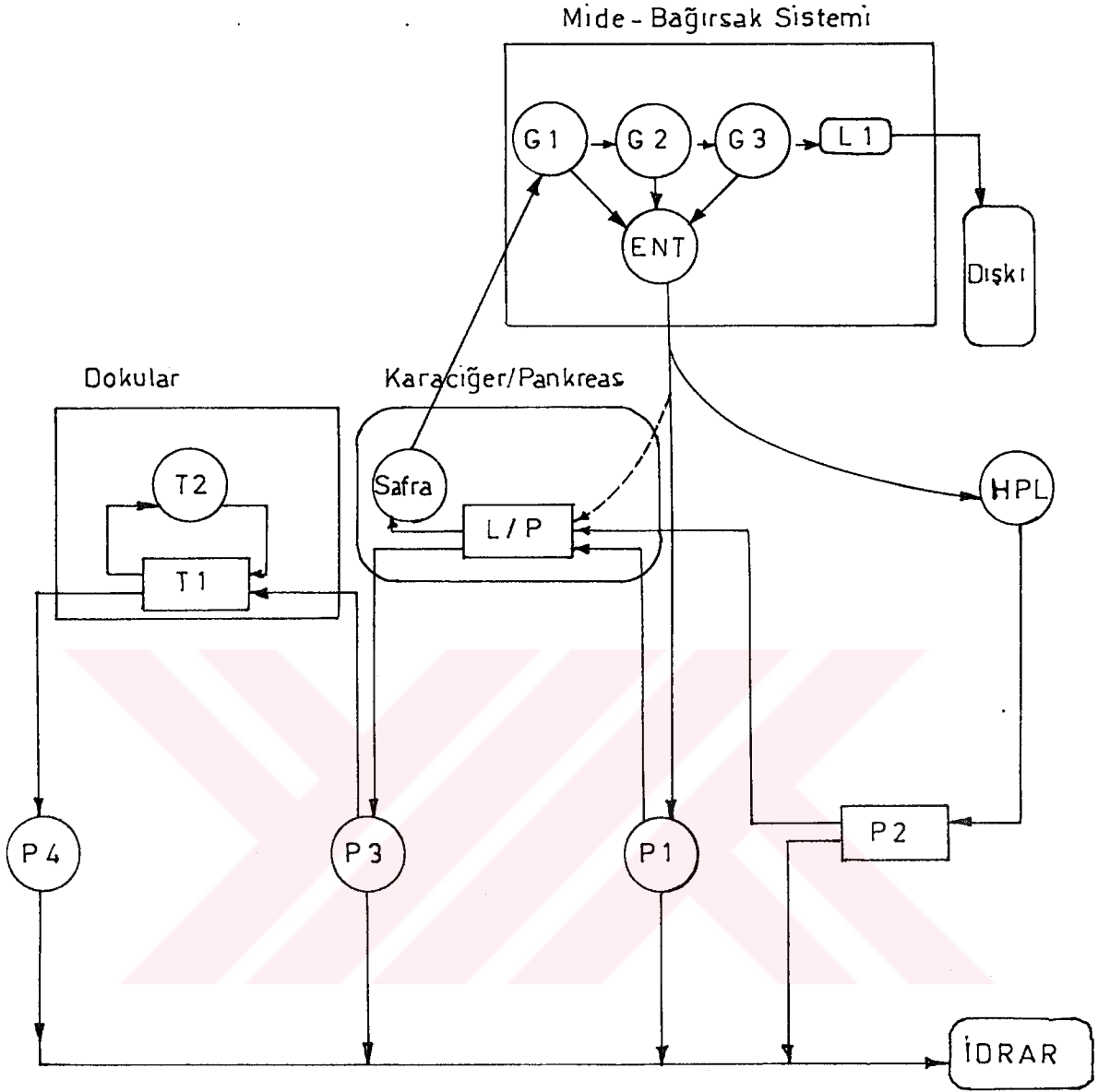
kanda ise büyük miktarda azaldığı bulunmuştur. Se'un hem inorganik hem de organik formlarının fetusa geçtiği bildirilmiştir (Underwood, 1977; Johansson ve Westermarck, 1993).

Farklı türlerde selenyum eksikliğinde iodoironine deiodinases enziminin aktivitesi incelenmiş ve bu enzimin karaciğer, böbrek, beyin ve kasta bulunduğu selenyum eksikliğinde bu enzimin sentezinin ve selenoenzimin oluşmadığı görülmüştür (Beckett vd., 1993).

Selenyumun insan sağlığı ve hastalığı üzerine rolü ve etkisi tartışılmış ve beslenmedeki rolü, sağlığa etkisi ve ilişkisi, organik ve inorganik selenyum formlarının beslenmedeki önemi ve eksikliğinin giderilmesi, farklı selenyum formlarının kinetik metabolizması ve enzim ve protein sisteminde selenyumun etkin rol oynadığı belirlenmiştir (Johansson, 1993).

Yeni yapılan çalışmalarda da Se'un kanser, yetişkinlerde solunumla ilgili stres, sendrom ve Parkinson hastalığı üzerine de koruyucu etki yaptığı bulunmuştur. Romatizması olan hastalarda da selenyum düzeyi düşük çıkmıştır.

Hayvanlarda, yetersiz Se ile beslendikleri zaman, beyaz kas hastalığı, düşük üreme yeteneği, doğum sonrası yavruların ölümü ve mide bağırsak bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Ayrıca karaciğer, kalp, böbrek, iskelet kası ve testislerde nekrozlar şekillenmiştir. Canlılara verilen sodyum selenitin vücutta çeşitli organlarla olan ilişkisi Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1. 1. Selenit Metabolizması (Pettersen vd., 1993)

G1, G2, G3: Sindirim sistemi bölümleri.

ENT: Enterocytes (Bağırsak hücreleri).

HPL: Hepato-pancreatic alt sistem veya Lymphatic sistem.

L/P: Karaciğer/pankreas.

L1: Büyük bağırsak.

T1, T2: Perpheral dokular, mesela; iskelet kası, kemik, böbrek, dışkı ve idrar bölümlerine tek tek birikmektedir.

P1, P4: Karaciğer ve pankreastan ibaret olan alt sistem ve küçük sıvı dokuları.

### 1. 3. Akuatik Ortamda Selenyum ve Önemi

Memeliler için gerekli olan bütün elementler balıklar için de gerekli olabilmektedir. Ayrıca suda ve beslenme kaynaklarında bulunan mineraller ve iz elementler salmonidler tarafından hemen absorbe olurlar (Amund vd., 1989). Ca ve P'un yanı sıra, balıkların Mg, Fe, I, Se, Zn, Cu ve Mn'a da ihtiyaçları olduğu bilinmektedir (Ketola, 1977, 1979, Ogino ve Yang, 1980).

Selenyumun suya girmesi, insan etkileri ve doğal jeolojik faktörlerin kombinasyonundan oluştuğu ve selenyumun toksik düzeyinde balık popülasyonlarında ve su kamışlarında azalma, alg patlamaları gibi çeşitli problemlere sebep olduğu belirlenmiştir. Selenyum iz elementler gibi akuatik organizmalarda birikme eğilimi gösterir (Anonymous, 1989).

Balıklarda selenyumun birikim düzeyleri, türler arasında farklılık gösterir. Selenyumun çok düşük olduğu sularda, tuna balığında yüksek birikme gözlenmiştir. Burada besin zinciri ve ekolojik faktörlerin etkili olduğu belirtilmiştir (Roger ve Lawrence, 1982). Salmon ve Ringa (*Clupea harengus*) balıklarının zengin Se kaynakları olduğu tespit edilmiştir (1,9 ppm Se). Tuna balığında ise düşük miktarda selenyum bulunmaktadır (Underwood, 1977). Ton balığında 0.97-1.07 mg/kg Se tayin edilmiştir (Dörner, 1990).

Akuatik ortamda bulunan alg, bitki, invertebrates ve balıklarda Se içeriği analizlenmiş, kontrol bölgelerde yakalanan bu türlerde Se konsantrasyonları bakımından önemli farklılıklar olmadığı fakat akuatik ekosistemde selenyumun birikme eğilimi gösterdiği bulunmuştur (Norman vd. 1992).

Salmonlarda ve diğer bazı balık türlerinde, E vitamini ve selenyum eksikliğinde kasta dejenerasyon, nekrosis gibi bazı histopatolojik bulgulara rastlanmıştır ve ölümlerle sonuçlanmıştır (McLoughlin vd. 1992). Tuna balığındaki selenyum tayininde ortalama  $0.68 \pm 0.27$  ppb Se olduğu ve bu değer önemsiz olduğu belirtilmiştir (Higham ve Tomkins, 1993). İnorganik ve organik selenyum içeren bir karışımın (selenat, selenit ve seleno-L-methionine), alg, su piresi (*Daphnia magna*) ve balıkta su ve besin zinciriyle etkisinin incelendiği bir çalışmada, bu üç organizmadaki selenyumun, sudaki seleno-L-methioninin diğer inorganik türlerden daha büyük olduğu görülmüştür (Besser vd. 1993).

Selenyum eksikliği, balıklarda kas erimesi ve küçülmesine sebep olmaktadır. Alabalığın besinindeki selenyum ihtiyacı, 0.15-0.4 mg/kg Se olarak tespit edilmiştir. 13 mg/kg ve daha fazlası toksik etkiye sahip olduğu ve 2 mg/kg Se'un kronik toksisitenin minimum olduğu değer olarak tespit edilmiş ve bu değer maksimum değeri ise 20 mg/kg Se olduğu belirlenmiştir. (Çetinkaya, 1995). Ergin blue gills üzerine yem ve sudaki selenyumun kronik toksik etkisinin incelendiği çalışmada, yemdeki 33.3 ppb (kuru ağırlık) Se ile birlikte 10 ppb Se'a maruz kalan anaç balıkların yavrularında kalım azalmış ve selenyumun besin zinciri ile biriktiği, bu balıkların üretiminde başarının hızla azalmasına neden olduğu görülmüştür (Coyle vd. 1993).

Yüksek konsantrasyonda toksik olan selenyumun eksikliğinde, Atlantik salmonunda ölümlerin arttığı, GSH-Px aktivitesinin ve kas gelişmesinin engellendiği bulunmuştur (Poston vd., 1976). Hilton vd. (1980)'de 13 ppb Se içeren suda yetiştirilmiş gökkuşacağı alabalığında 0.07-13 ppm arasında Se içeren yemle beslenmiş, Se eksikliğinde gözlenen belirtilerin ortaya çıkmadığı, bununla beraber 0.15 ile 0.38 ppm düzeyinde GSH-Px plazma aktivitesinin arttığı ve 13 ppm Se içeren kuru yemin kronik

toksik etki gösterdiği ve bu değerin büyümenin durmasına ve ölümlerin artmasına neden olduğu belirtilmiştir. Çoğu balıkta 2 ppm'den daha yüksek konsantrasyondaki Se'un kronik toksisiteye neden olduğu belirlenmiştir (Lo ve Sandy, 1980). Gatlin ve Wilson (1984), kanal yayın balığı yemindeki, 0.25 ppm Se'un GSH-Px aktivitesinin ve büyümenin maksimum olduğu değer olarak bulmuştur. 15 ppm Se ise bu tür için toksik olduğu belirtilmiştir (lovell, 1989).

Fabrika tozlarının soğutulduğu sudaki, balık popülasyonunda azalma ile fabrikada kullanılan kömür külündeki selenyum arasında ilişkinin kurulduğu çalışmada, bu alanda yaşayan balıkların üreme ve yaşamları üzerine, fazla selenyumun etki ettiği bulunmuştur. Bu ortamda yaşayan Bluegils (*lepomis macrochirus*)'in larvalarında bazı deformasyonlar ve ölümler gözlenmiştir. Balıklarda selenyum, hem su hem de besin yolu ile biriktiği, fakat en fazla birikmenin besin yolu ile olduğu tespit edilmiştir. Anaç balıkların yemlerindeki Se'un, yemdeki inorganik selenyumdan daha toksik olduğu, ayrıca sudaki artan selenyum miktarı larvaları ve anaç balıkları daha çok etkileyip toksisitenin arttığı tespit edilmiştir (Stephen vd. 1987 ; Hermanutz vd. 1992).

1937'de Ellis vd. sıcaklık artıka kanal yayın balığında, selenyum toksisitesinin arttığını belirtmişlerdir. 58.5 mg/kg Se, 35.1° C'de balıkları öldüren maksimum kritik sıcaklık (MCT) olduğu tespit edilmiştir. Selenat selenyumunu için bulunan bu konsantrasyon *Pimephales promelas* için 24 saat LC<sub>50</sub> değeri olarak bulunmuştur. 60 mg/L Se içeren sularda %8 ölüm gözlenmiş, bunun alındaki konsantrasyonlarda ölüm gözlenmemiştir. 82 mg/L Se konsantrasyonunda ise 21° C'de 24 saatte LC<sub>50</sub> değeri bulunmuştur. Sıcaklık 15 ile 21° C arasında değiştirilmiş, sıcaklık artışına bağılı olarak toksik etki artmıştır (Watenpaugh ve Beitinger, 1985). Jaiswal ve Waghay (1987) da yapmış olduğu çalışmada, Cyprinus carpio'nun sıcaklık artışına bağılı olarak selenyumun

toksitesinin artması ve ölümlerin daha kısa sürede ve daha düşük konsantrasyonlarda olduğu belirlenmiştir. Selenyumun kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*)'nda bazı histolojik değişimler meydana getirdiği, ayrıca 3 mg Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>/kg, 10° C'de genellikle 7. saatten önce balığı etkilemeye başladığı, 48 saatten önce ise öldürücü olduğu belirtilmiştir. Su sıcaklığı 27° C olduğu zaman toksitenin arttığı ve bu sıcaklıkta 0.35 mg/kg Se'un 28. saatten daha önce öldürücü olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada kronik selenyum toksitesinde, balıkta göz küresinin fırlaması, karında çıkıntı ile karının suya değen kısmında kanlanma, kırmızı kan hücrelerinde azalma ve dalak, karaciğer, iskelet kası, mide ve yumurtalıkta ödemlerin oluştuğu belirlenmiştir (John, 1972 ; Eisler, 1985).

Çevre Koruma Birliği (EPA) su kalite kriterlerinde, selenyumun güvenilir düzeyi 26 µg/L olarak bildirmesine rağmen, son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu değerin daha düşük düzeylerde olabileceği vurgulanmış olup, bu değer 5 µg/L ye kadar düşmüştür (Roger vd., 1992 ; Crane vd. 1992).

Baysal (1988)'de yaptığı çalışmada, *Scardinius erythrophthalmus* (LİNNE)'a enjeksiyon yöntemi ile karın kasına <sup>75</sup>Se izotopunun sodyum tuzundan 0.05 cc (0.34 µCi/g) enjekte etmiş ve balığın organlarında radyoaktivite ölçümler yapmıştır. Sonuçta en fazla sindirim sistemi, karaciğer, dalak, böbrek ve safra kesesinde biriktiği sonucuna varılmıştır. Talladini vd. (1996), *Zosterisessor ophiocephalus*'a enjeksiyonla selenit selenyumu vermişler ve 0.29 ppm Se'u 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri olarak tespit etmişlerdir. Bu konsantrasyonda, kasta birikimin kontrol grubundaki değere yakın olduğu, enjeksiyondan 1 hafta sonra dokulardaki Se konsantrasyonunun ve GSH-Px değerlerinin normal düzeylere geldiğini tespit etmişlerdir.

Sodyum selenitin tatlı su organizmalarında akut ve kronik toksite düzeyleri *Ceriodaphnia affinis* üzerinde denenmiş ve akut toksite konsantrasyonunun 0.29-3.20

mg/L Se, kronik toksisite konsantrasyonunun ise 0.05-0.8 mg/L Se olduğu bulunmuştur (Owsley ve McCauley, 1986). Coates vd. (1967)'de gökkuşuğu alabalığını bir yıl süre ile 0.1 ppm Se içeren yemle beslemiş, balıklarda belirli aralıklarla yapılan testlerde hiçbir patolojik etki gözlememişlerdir. Ellis vd. (1937) de, 2 ppm sodyum selenitin nehir suyundaki Japon balıkları için lethal doz olduğunu bulmuşlar ve 18. günde ilk ölümler gözlenmiş, 46. günde ise tüm balıklarda ölmüştür. Atlantik salmonu ile yapılan bir çalışmada uzun süre 3 mg/kg Se içeren yemle beslendiğinde toksik olduğu ve birikinti yaptığı, 1.5-2.5 mg/kg Se ihtiva eden yemle beslenen balıkların daha iyi büyüme gösterdiği belirlenmiştir (Amund, vd. 1989).

Kuzey Kaliforniyada kömürle çalışan elektrik santrallerinin soğutma sularının boşaltıldığı gölde yaşayan organizmalarda ve suda Se tayini yapılmış, sonuçta soğutma suyunda çok yüksek miktarda Se tespit edilmiştir. Soğutma suyunun deşarj edildiği göl suyundaki Se miktarı 10 µg/L olarak bulunmuştur. Bu su ortamındaki en küçük organizma olan perifitondan balıklara kadar olan besin zincirinde ise bu değer sudakinin 519-3975 katı olarak bulunmuştur. Plankton ve detritüs üzerinden beslenen balıklarda Se konsantrasyonunun, suda bulunan konsantrasyondan 519-1395 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi Se'un akuatik canlılarda biriktiği ve sudaki konsantrasyonu µg düzeyinde olmasına rağmen canlıda toksik düzeylere ulaştığı sonucuna varılmıştır (Lemly, 1985).

#### 1. 4. Selenyumun Toksisitesi

Selenyumun toksik etkisinin metabolizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla beraber bazı proteinlerdeki kükürtle yer değiştirerek, deri solunumuyla ilgili enzimleri inhibe ettiğine inanılmaktadır. Bazı araştırmacılara göre selenit şeklindeki selenyum, bir kapiller zehiridir ve arseniğe benzeyen toksik etkiler meydana getirir. Selenyum zehirlenmeleri 3 şekilde olmaktadır. Bunlar akut, subakut ve kronik zehirlenmelerdir.

Akut selenyum zehirlenmelerinde çok şiddetli septomlar ortaya çıkar. Zehirlenmeler bir kaç saat ile bir iki gün içinde ölümle sonuçlanır. Çabuk ve zayıf nabız atışı, dispnoe, timpani, sancı, poliüri ve siyanozdan oluşan zehirlenme septomları ile karşılaşılır. Genellikle solunum yetmezliği ve durması sonucu ölüm meydana gelir.

Subakut selenyum zehirlenmelerinde zayıflık, sendeleme, görüş bozukluğu ve ileri safhada görme yeteneği tamamen azalır. Hayvanlarda kıl dökülmesi, salivasyon, göz yaşı akıntısı, yutkunma güçlüğü, şiddetli karın sancısı ve sonuçta tam felç olayı gerçekleşir.

Kronik zehirlenme ise, genellikle 5 ppm'den daha düşük konsantrasyonda Se içeren tahıl, ot, saman ve benzeri bitkilerle beslenen hayvanlarda görülür. Kıl dökülmesi, tırnaklarda kalınlaşma ve çatlama, eklemlerde sertleşme ve katılaşma, anemi ve kısırlaşma, yaşamsal faaliyetlerde azalma ve durma görülür (Şanlı ve Kaya, 1992). Kronik seleniosis ile insanlarda zihinsel depresyon, belirgin solgunluk, iradesizlik, sinirlilik, baş dönmesi, bağırsak düzensizliği ve fazla terleme görülür (Roger ve Lawrence, 1982).

Elemental haldeki selenyum sindirim kanalında absorbe olmaz. Buna karşılık selenyum tuzları sindirim, inhalasyon ve cilt yolu ile absorbe olabilir. Vücutta en çok böbrek, dalak ve karaciğerde birikir. Vücuttan atılışı büyük ölçüde idrarla, biraz da solunum, süt, ter ve fecesle olmaktadır (Dökmeci, 1994). Oral yolla sodyum selenit ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) şeklinde alınan selenyumun en küçük öldürücü dozu, atlarda 3.3 mg/kg, ineklerde 10 mg/kg ve domuzlarda 17 mg/kg düzeyinde belirlenmiştir. Tavşan, kedi ve köpekler üzerinde yapılan toksisite denemelerinde, selenit şeklindeki bileşiklerin toksisitesi, selenat şeklinde olanlardan daha yüksektir. Belirtilen türlerde, selenit için bu değer 1-5 mg/kg Se'un toksik dozu olarak belirlenmesine karşı, selenat bileşiklerinin toksik dozu 2-5 mg/kg Se civarındadır. Organik selenyum bileşikleri inorganik selenyum bileşiklerinden daha toksiktir. Selenodiasetik ve selenopropiyonik asit içeren bazı organik selenyum bileşikleri selenitten daha az toksiktir. Sodyum selenatın insanlarda 0.2 gramının toksik, hayvanlarda 0.5 gramının öldürücü olduğu belirlenmiştir (Şanlı ve Kaya, 1992; Vural, 1984; Underwood, 1977).

### 1. 5. Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* L.)'nin Özellikleri

Çok geniş bir aile olan Cyprinidae'nın Güneydoğu Asya kökenli olduğu kabul edilmesine rağmen günümüzde Avrupa, Asya, Afrika ve Kuzey Amerikanın bütün tatlı sularında bulunan 1500'ü aşkın türü yaşamaktadır. Süs ve akvaryum balıklarının birçoğu bu aileye bağlıdır. Sazan balığı bunların en önemli olanlarından ve dünyanın pek çok yerinde kültür balığı olarak önem kazanmıştır.

Omnivor bir balık olan sazan karbonhidratları daha iyi sindirebilir, göl balığı olmasına rağmen akarsularda da yaşar (Ekingen, 1988). Yutak boşluğundan ibaret olan

baş bağırsak, ağızla başlayıp, son solungaç yayında son bulur. Baş bağırsağın ön tarafının tabanında yer alan dil, genellikle belirgin bir biçimde farklılaşmamıştır ve serbestçe hareket edemez, diğer visseral iskelet öğeleri ile birlikte hareket eder ve kas dokusu içermez; ağızda dişler bulunabilir. Sazanlarda yutağın tavanında yerleşmiş olan palatal organda, tat alma tomurcuklarından ve mukus bezlerinden zengin bir oluşum olup, besinleri ayırt etmeye ve kayganlaştırmaya yarar. Ön bağırsak, son solungaç yayından midenin sonuna kadar uzanır. Fakat sazan balığında mide yoktur, görevi ön bağırsak üstlenmiştir.

Böbrekler, metabolizma atıklarının bir kısmıyla, fazla suyun dışarı atılmasında rol oynamasından başka, kimi madensel tuzların dışarı atılmasını veya vücutta tutulmasını da sağlar. Balıklarda böbrekler, vücut boşluğunun dorsalinde, periton epitelininin dışında, omurganın ve dorsal aorta'nın ventralinde yerleşmiş ince, uzun, koyu kırmızı renkli bir organdır. Vücutta kaybedilen tuzların bir kısmı besinlerle alınırken bir kısmı da solungaçlarla aktif iyon taşınım yoluyla su ortamından alınır. Etkin iyon taşınım; iyonların hücrelerce normal diffüzyon yönünün tersi yönde alınmasıdır. Yapılan araştırmalar Li, Na, Co, Sr, Ca, Cl, Br,  $\text{HPO}_4^{-2}$  ve  $\text{SO}_4^{-2}$  iyonlarının etkin taşınım yoluyla alındığını göstermiştir.

Solungaçlar yutak bölgesinde her iki yanda içten dışa doğru uzanan, bir seri cep ya da yarık içinde bulunurlar. Solungaçlar iyon değişimi ve osmoregülasyonda önemli rol oynarlarsa da başlıca işlevleri solunum yapmaktır (Demir, 1992).

Karaciğer tüm balıklarda büyüktür; sazanlarda ön bağırsağın üstünde uzanır veya ön bağırsağı sarar. Tipik olarak iki loplulu olan karaciğer, her lobundan bir hepatik kanal çıkar ve safra kesesinden çıkan sistik kanalla birleşip, genel safra kanalını oluşturur. Safra yağları emülsiyon haline getiren safra tuzlarıyla, kırmızı kan hücreleri

ve hemoglobinin parçalanmasından oluşan billirubin ve billiverdin gibi safra pigmentleri de içerir. Safra tuzları, yalnız yağların hidrolizine yardım etmeye değil, aynı zamanda bağırsaktaki sindirim öz sularının, sindirim enzimlerinin iş görebilmesi için uygun alkaliniteye getirilmesine de yarar. Karaciğer safra salgılama dışında, yağ, glikojen, A ve D vitaminlerini de depo eder. Bu organın, kan hücrelerinin yıkımında ve kan kimyasında rolü olduğu gibi üre ve diğer azotlu boşalım maddelerinin oluşumuyla ilgili metabolik işlevleri de vardır. Kemikli bir balık olan Sazan balığının iç organları Şekil 1.2'de verilmiştir.

Balıkların çoğu besinlerini günlük olarak ve çoğunlukla istemli alırlar. Balıklar vücut ağırlıklarının %2-3'ü kadar günlük besin alırlar.

Alınan besinin ağız yutak boşluğundaki mukus yardımı ile geçişi kolaylaşır. Sazanlarda sindirim ön bağırsakta başlar; burada mukus bezlerinin yanı sıra birtakım sindirim enzimleri ve asit salgılayan bezler de vardır. Ayrıca pankreas ve karaciğer de sindirimde önemli rolleri olan salgılar salgırlar. Bileşimi oldukça karmaşık olan safra, içinde bulunan safra tuzları, yağların emülsiyon haline gelmesini sağlamaktan başka, yağ asitlerinin, monogliseridlerin ve yağda çözünen vitaminlerin suda çözünür hale getirilmesinde de önemli rol oynar.

Sindirim hızı balığın türüne, besinin cinsi ve miktarı ile sıcaklığa bağlı olarak değişim gösterir. Sıcaklık sindirim enzimlerinin salgılanma hızına ve etkinliğine, sindirilmiş besinin emiliş hızına ve sindirim kanalının kas etkinliğine etki eder.

Sazan balığının büyümesi sınırlı değildir. Büyümeye etki eden faktörler, biyotik olanlardan besin bolluğu, abiyotik olanlardan ise, sıcaklık ve ışıktır. Sıcaklık ve ışık, mevsimlere göre değişir ve balığın büyümesini, metabolizmasını doğrudan ve besin

bolluğunu etkileyerek dolaylı yolla etkiler. Ilıman bölgelerde besin ve sıcaklık, genellikle ilkbahar ve yazın, kısmen de sonbaharda büyüme için elverişlidir.

Balıklar cinslerine bağlı olarak yaşamlarının ilk birkaç ay ya da yılında, eşeyssel olgunluğa ulaşınca kadar hızlı büyürler, eşeyssel olgunluğa eriştikten sonra ise enerjinin bir kısmı, gonad dokularının gelişmesine harcandığından büyümede yavaşlama olur.

Balıklarda büyümenin sağlıklı olup olmadığının göstergesi olarak, kondisyon faktörü (K)'ünden faydalanılır ve

$$K = \frac{W}{L^3} \times (100)$$

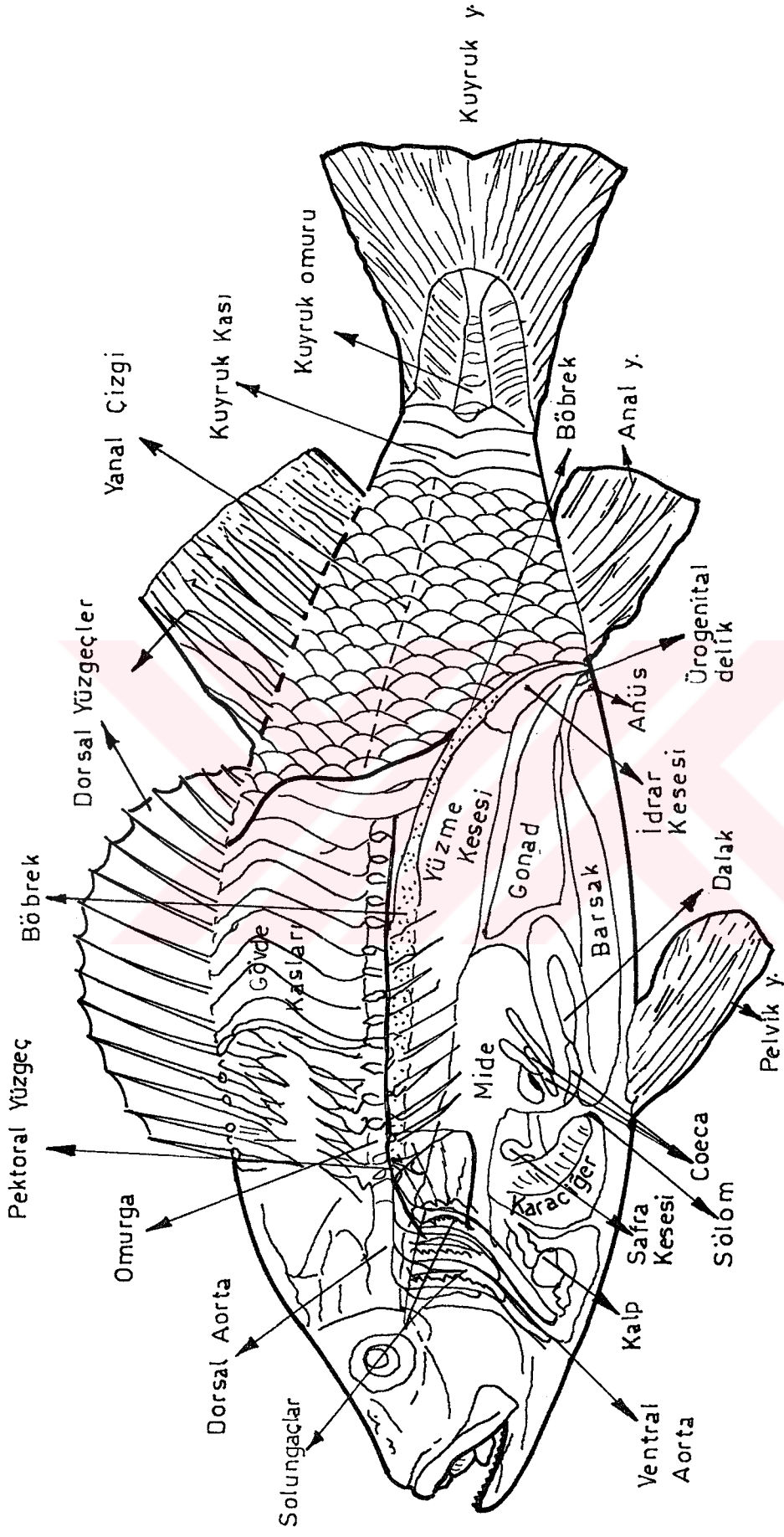
biçiminde ifade edilir.

K = Kondisyon Faktörü

W = Balığın gram ağırlığı,

L = Balığın cm olarak boyudur.

K değerinin büyük olması hem somatik büyüme hem de gonadların gelişmesi için elverişli besinin ortamda bol olduğu anlamına gelir.



Şekil 1. 2. Sazan Balığının İç Organları.

## 1. 6. Balık Yemleri ve Balıkların Yemleri Sindirmelerine ait Özellikler

Balık yemleri, sıcak kanlı hayvanların etleri ve iç organları, bitkisel unlar, kepek, bitkisel küspeler, yeşil unlar, maya, vitamin ve mineral karması katılarak hazırlanmaktadır. Türkiye koşullarında önerilebilecek bir alabalık rasyonu Tablo 1.3'de verilmiştir. Yeme bunların dışında katkı maddeleri olarak, antioksidantlar, pres maddeleri, renk maddeleri ve koruyucu ilaçlar da katılmaktadır. Yemlerin kimyasal yapıları Tablo 1. 2'de verilmiştir.

Balıklarda günlük yem miktarı tespit edilirken yemin kalitesi, suyun oksijen miktarı, sıcaklığı, pH değeri ve bahğın büyüklüğü dikkate alınır (Çelikkale, 1988; Alpaz ve Hoşsucu, 1989).

Balık tarafından alınan bir yemin sindirilme dereceleri henüz tam olarak tespit edilememektedir. Yemlerle alınan besin maddelerinin bir kısmı dışkı ile atılırken, bir kısmı da sindirim kanalından kan ve lenf yoluna geçer ve bu kısma sindirilmiş gözü ile bakılır. Yemlerde ve dışkıda bulunan besin maddelerinin farkı, söz konusu yemin sindirilen miktarını ve % olarak tanımlanması da sindirim katsayısını (sindirilme derecesi) (Mc Donald vd. , 1983; Sarı, 1994; Windell, 1978) verir.

$$\text{Sindirilen miktar} = \frac{Y_t - D_t}{Y_t}, \quad \text{Sindirim Katsayısı \%} = \frac{Y_t - D_t}{Y_t} \times 100$$

$$\text{Emilme Derecesi \%} = \frac{Y_t - (D_t - m)}{Y_t} \times 100 \quad \text{Burada;}$$

$Y_t$  = Yemdeki t maddesi

$D_t$  = Dışkıdaki t maddesi

Tablo 1. 2. Yemlerin Kimyasal Yapısı (Akkılıç ve Sürmen, 1979)

Yem											
Su	Kuru Madde										
	Organik Madde										
Kum vb.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Anorganik Madde</th> <th>Ham protein</th> <th>Ham yağ</th> <th>Ham selüloz</th> <th>N 'suz ekstrakt maddeler</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Saf kül (Makro ve mikro elementler)</td> <td> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Saf protein</li> <li>2. Amidler                             <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1. Aset amidler</li> <li>2.2. Serbest aminoasitler</li> <li>2.3. Basit peptitler</li> <li>2.4. N'lu Glikozitler</li> <li>2.5. Betain</li> <li>2.6. Guanin vd.</li> </ol> </li> </ol> </td> <td> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Trigliseridler</li> <li>2. Fosfatitler</li> <li>3. Cerobrositler</li> <li>4. Sterinler</li> <li>5. Balmumu</li> <li>6. Klorofil</li> <li>7. Ksantophil</li> <li>8. Etherik yağlar</li> <li>9. Organik asitler</li> </ol> </td> <td> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Selüloz</li> <li>2. Pentozonlar</li> <li>3. Lignin</li> <li>4. Suberin</li> <li>5. Kutin</li> </ol> </td> <td> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Şekerler</li> <li>2. Nişasta</li> <li>3. Glikojen</li> <li>4. İnulin</li> <li>5. Ham selülozlar</li> <li>6. Pektinler</li> </ol> </td> </tr> </tbody> </table>	Anorganik Madde	Ham protein	Ham yağ	Ham selüloz	N 'suz ekstrakt maddeler	Saf kül (Makro ve mikro elementler)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Saf protein</li> <li>2. Amidler                             <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1. Aset amidler</li> <li>2.2. Serbest aminoasitler</li> <li>2.3. Basit peptitler</li> <li>2.4. N'lu Glikozitler</li> <li>2.5. Betain</li> <li>2.6. Guanin vd.</li> </ol> </li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Trigliseridler</li> <li>2. Fosfatitler</li> <li>3. Cerobrositler</li> <li>4. Sterinler</li> <li>5. Balmumu</li> <li>6. Klorofil</li> <li>7. Ksantophil</li> <li>8. Etherik yağlar</li> <li>9. Organik asitler</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Selüloz</li> <li>2. Pentozonlar</li> <li>3. Lignin</li> <li>4. Suberin</li> <li>5. Kutin</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Şekerler</li> <li>2. Nişasta</li> <li>3. Glikojen</li> <li>4. İnulin</li> <li>5. Ham selülozlar</li> <li>6. Pektinler</li> </ol>
Anorganik Madde	Ham protein	Ham yağ	Ham selüloz	N 'suz ekstrakt maddeler							
Saf kül (Makro ve mikro elementler)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Saf protein</li> <li>2. Amidler                             <ol style="list-style-type: none"> <li>2.1. Aset amidler</li> <li>2.2. Serbest aminoasitler</li> <li>2.3. Basit peptitler</li> <li>2.4. N'lu Glikozitler</li> <li>2.5. Betain</li> <li>2.6. Guanin vd.</li> </ol> </li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Trigliseridler</li> <li>2. Fosfatitler</li> <li>3. Cerobrositler</li> <li>4. Sterinler</li> <li>5. Balmumu</li> <li>6. Klorofil</li> <li>7. Ksantophil</li> <li>8. Etherik yağlar</li> <li>9. Organik asitler</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Selüloz</li> <li>2. Pentozonlar</li> <li>3. Lignin</li> <li>4. Suberin</li> <li>5. Kutin</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Şekerler</li> <li>2. Nişasta</li> <li>3. Glikojen</li> <li>4. İnulin</li> <li>5. Ham selülozlar</li> <li>6. Pektinler</li> </ol>							
	vd.										

Tablo 1. 3. Alabalık Rasyonu (Çelikkale, 1988)

Rasyona girecek ham maddeler	Rasyondaki % oranları
Balık Unu	50
Et-kemik Unu	11
Soya K�spest	7
Mısır Gl�teni	6
Melas Mayası	7
Ay �i�eği Toh. K�spest	5
Sarı Mısır Unu	5
�g�t�lm�ş Buğday Unu	6
Vitamin Karması	2
Mineral Karması	1
Toplam	100

Dışkı içerisinde yemin sindirilmeden atılan kısmının yanı sıra sindirim enzimleri, ölmüş bağırsak hücreleri, parazit, protozoon gibi yemlerden kaynaklanmayan, diğer bir deyiŐle metabolik (endojen) kökenli maddeler de bulunur. Bu nedenle bunlar m ile gösterilmiŐtir.

Balıklarda sindirim denemeleri çeşitli yöntemlerle belirlenir. Bunlardan en çok kullanılan yöntem indikatör yöntemidir. Diğer klasik yöntemin balıklarda yürütülmesi oldukça güçtür. Çünkü yem tüketimi ve atılan dışkı miktarının belirlenmesi oldukça zordur (Maynard vd., 1985). İndikatör yönteminde, tüketilen yem ve atılan dışkı miktarı önemli değildir. İndikatör olarak kullanılan maddenin, yem ve dışkıdaki miktarı önemlidir. İndikatör olarak kullanılan maddenin sindirim kanalında hiç deđiŐmeden geçmesi ve balığın sağlığına zarar vermemesi gerekir (Anonymous, 1981, Mc. Donald

vd., 1983). Doğal indikatör yönteminde yem veya rasyonun yapısındaki lignin, selüloz gibi doğal indikatörlerden yararlanılır.  $Cr_2O_3$ 'ün sindirim sisteminde absorbe olmadığı ve mide asitinin  $Cr_2O_3$ 'ü çözemediği için suni indikatör olarak, balıklarda sindirim denemelerinde oldukça sık kullanıldığı belirtilmiştir (Austreng, 1978; De La Noue ve Choubert, 1986; Tacon vd. 1984). Dış (eksternal) indikatör yönteminde ise yem veya rasyona  $Cr_2O_3$  gibi indikatörler belirli oranlarda (%0.5-1.0) katılır. (Streckney, 1983).

Balıklardan dışkı alımında masaj, diseksiyon, anüsten kanülle çekme, pipetle emme ve sürekli filtrasyon metotları kullanılabilir. Bunlardan en iyi sonuç, pipetle emme ve sürekli filtrasyonla alınmıştır (Spyridakis, 1989).

### 1. 7. Selenyumun Tayin Yöntemleri

Selenyum tayininde kullanılan yöntemler ve tayin sınırları Tablo 1.4'de verilmiştir. Biyolojik materyallerde, küçük miktardaki selenyumun tayini için uygulanan yöntemler arasında tanımlanan, direkt tayini oluşturan, yalnız Nötron Aktivasyon Analizi'dir. Fakat bunun kullanılması yaygın değildir. Diğer metotlarda organik matriksin tamamen uzaklaştırılması, parçalama basamağında yapılmaktadır ve bazı durumlarda tayin edilen Se'un ayrılması gibi sorunlar mevcuttur. Atomik Absorbsiyon Spektrometrisi (AAS) tekniğinde  $\mu L$  hacimde analiz edildiği için önemlidir. Elektrotermal Atomizasyon, Hidrür (HG) yönteminden daha hassastır. Zeeman-background etkisini gideren sistem kullanılarak bozucu etki yapan maddeler uzaklaştırılabilir (Fairris vd., 1988, Lloyd vd., 1983 ; İhnat, 1984).

Tablo 1. 4. Selenyumun Tayininde Kullanılan Yöntemler (Gerald ve Stephanie, 1986)

Metot	Tayin Sınırı (ppm)
Polarografik Tayin (Se-DAB)	0.1
Voltametik Analiz	0.001
ICP-AAS (HG)	0.0005
DGP-AES	0.02
Atom-Trapping-AAS	0.025
EAAS	0.003
AAS-HG	0.01
X-Işınları-Emisyon Analiz	0.04
Gaz-Sıvı Kromatografi/Kütle Spektrometrisi	0.0005
NAA ( <sup>75</sup> Se kullanılarak)	0.02
Fluorimetrik Analiz (Se-DAB)	0.01
Fluorimetrik Analiz (Se-DAN)	0.002

Selenyumun alev veya grafit-fırınli AAS, X-ışınları, flüoresans ve katodik veya anodik sıyırma voltametri gibi tekniklerin dışında daha popüler tayin yöntemleri ile selenyumun seçici reaksiyonu üzerine kurulan IV yükselgenme basamağı durumunda, aromatik orto diamin ile toluen içinde ekstraksiyonundan sonra piarselenol olarak adlandırılan reaksiyon ürününü oluşturarak, fluorimetrik yöntem ile tayininin yapılmasıdır. Elektron capture tayin ile gaz-sıvı kromatografi ve nikel ilave edildikten sonra grafit fırınli AAS ile de tayini yapılmaktadır (Lloyd vd., 1983).

Selenyum tayininde HG-AAS'den sonra en çok kullanılan yöntemlerden biri de Se-DAN veya Se-DAB kompleksi oluşturarak oluşan piarselenol'ün fluorimetrik veya spektrofotometrik olarak tayininin yapılmasıdır. Fluorimetride duyarlılık 20 ppb (Watkinson, 1960) , spektrofotometrede duyarlılık ise 50 ppb'dir (Marczenko, 1976).

Se(IV), DAN veya DAB ile sarı renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Oluşan kompleks floresans özelliğe sahiptir (Breyer vd., 1987). Bu iki metotta da girişimler oldukça önemlidir. Bu girişimleri maskeleyerek amacı ile ortama EDTA ilave edilmelidir (Watkinson, 1960). Ayrıca Se(IV)-DAB kompleksi oluşturularak voltametrik olarak da tayin yapılmıştır (Breyer ve Gilbert, 1987).

Analize başlamadan önce örneğin hazırlanması gerekir. Oksijen bombası ve oksijen şişeleri gibi kuru yakma işlemleri çoğu zaman tavsiye edilmez. Bunlarda, elementi tekrar geri kazanma çok zayıf olduğu için eser elementlerin tayininde uygulanmaz. Buna rağmen selenyum dioksitteki selenyumu ayırmak, iyi kontrol edilmiş oksijen akımıyla oksitleme sistemi, son zamanlarda geliştirilerek uygulanmaktadır. Hatta bu yöntem ultra eser miktardaki analizlerde bile iyi sonuç vermiştir. Organik maddedeki selenyumun tayininde, yaş yakma tekniği ile yükseltgenmesi, kolay kullanımı, düşük fiyatı ve tatmin edici performansı nedeniyle çoğu araştırmacı tarafından tercih edilmektedir. Yaş yakma tekniğinde organik maddenin parçalanması için genellikle  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  karışımı kullanılmaktadır. Bu işlem yapılırken, buharlaşma esnasında kayıplara yol açmamak için yanarak kömür haline gelmemesine dikkat edilmelidir. Bu işlemde selenyum VI değerliklidir. Fakat selenyum tayininde selenyumun IV hali gereklidir. Bu nedenle parçalama işleminden sonra derişik HCl veya  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi indirgemedede etkili maddeler kullanarak Se(VI), Se(IV)' e indirgenmelidir. Mineralizasyon işleminde ortamda bulunan bazı elementlerin engelleyici etkisi olacağından, solvent ekstraksiyon, birlikte çökelme, buharlaşma, iyon değiştirme ve hidrür oluşturma işlemleri uygulanarak selenyum ayrılabilir. Joanna ve arkadaşları (1987) insan dokularında, parçalama işlemi için, perklorik asit ( $\text{HClO}_4$ ) kullanmadan selenyum tayinini HG-AAS'de yapmayı denemişlerdir. Deney sonucunda,  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$

kullanılarak yapılan çözüme işleminde geri kazanımın  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HClO}_4$  karışımına nazaran daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Kuru yakma ile Se tayini yapılmamasının nedeni, buharlaşma ile kaybolmasıdır. Yaş yakma yöntemi için özellikle  $\text{HClO}_4$  tercih edilir. Her ne kadar bu asidin dumanlarının toksik olması ve deriye temas etmesi tehlikeli olsa da literatürlerde genellikle  $\text{HClO}_4$  verilmiştir.

Doğal sularda selenyumun -II, 0, IV ve VI şeklinde tayini yapılabilir. Ayrıca karbamat, ditizon ve aromatik ortodiaminler gibi kompleksleştirici maddeler kullanılarak Se(IV), spesifik olarak tayin edilebilir.

Organik selenyum bileşiklerinde, selenyumun geri kazanma yüzdesi en fazla  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  karışımı kullanılarak yapılan çözüme işlemindedir (Jean vd., 1983).

Zenginleştirme ile selenyumun 3 ppb düzeyinde HG-AAS ile tayinin sağlandığı bir çalışmada, buharlaşabilen elementlerin rutin analizleri için Wickbold metodu ve sulu ortamda ekstraksiyon ile zenginleştirme yapılabilen yeni bir yakma ünitesi hazırlanmıştır (Erber vd., 1993).

Hidrür yapıları elementlerin tayini için Atomik flüoresans Spektrofotometre kullanılarak, 0.05 ppb Se tayini yapılmıştır. Oluşan hidrür gazları otomatik olarak atomizere gitmektedir. Bu metot da, ışık kaynağı olarak hallow katot lambası, girişimleri engellemek için flüoresans dalga boyunda kullanılan interferans filtreleri, dedektör olarak da fotomultipler kullanılmıştır (Loins vd., 1993).

Selenyum tayini için HG-AAS'nin kullanıldığı bir çalışmada parçalama basamağında  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2/\text{HNO}_3/\text{HCl}$  kullanılan metodda,  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  karışımı,  $\text{HNO}_3$  kullanılarak kapalı bombada ve kapalı kaptaki  $\text{O}_2$  atmosferi kullanılarak yapılan parçalama işlemlerinden daha güvenilir olduğu ispatlanmıştır. Selenyumun geri

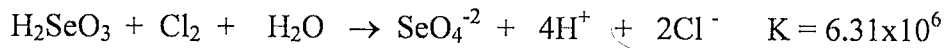
kazanılma yüzdesi en çok,  $Mg(NO_3)_2/HNO_3/HCl$  kullanılarak yapılan parçalama işleminde olmuştur (Hansson vd., 1989).

Akuatik orijinli biyolojik numunelerde selenyum tayini oldukça problemlidir. Bu elementin geri kazanılma yüzdesinin bazen çok düşük olduğu literatürlerde belirtilmiştir (Hansson vd., 1989).

Biyolojik örneklerdeki selenyumun tayini için uygulanan çözme işleminde, genellikle  $HNO_3/HClO_4/H_2SO_4$  asit karışımı kullanılmaktadır. Biyolojik örnek olarak kan, serum, idrar vs. ve bütün vücut dokularından belirli miktar alınarak asitte parçalamaya tabii tutulur. Çözünen örneklerdeki VI değerlikli selenyumu, IV değerliğe dönüştürmek için 5 M HCl olacak şekilde 90-95° C de 15-30 dakika bekletildikten sonra numuneler belirli hacme tamamlanarak seçilen herhangi bir yöntemle tayin edilir (Stacchini, 1989; Negretti, 1990; Fairris vd., 1988).

Basıncılı PTFE kaplarda çözünürleştirme, düşük sıcaklıkta çalışabilme, zamandan tasarruf edilmesi ve selenyum kaybının olmaması nedeniyle en çok kullanılan çözme yöntemi olarak literatürlerde verilmiştir (Dörner, 1990, Negretti, 1990; Knapp, 1985).

Vücut sıvıları ve dokuları asitte parçalama işleminden sonra selenyum(VI) bileşiklerine veya serbest selenyuma çevrilir. Ortamdaki selenyum(VI)'yı selenyum(IV)'e indirgemek için HCl kullanılır.



Yukarıdaki reaksiyonlarda görüldüğü gibi oluşan indirgenme oldukça hassastır. Yüksek konsantrasyonlarda  $H^+$  ve  $Cl^-$  iyonları içerirse indirgenme sol tarafa doğru değişir. Bununla beraber uygun asit konsantrasyonu, çözeltinin sıcaklığı ve reaksiyon zamanı hakkında birçok ihtilaf vardır. Bunlar da farklı sıcaklık, zaman ve HCl

konsantrasyonu kullanılarak denenmiş ve deneme sonucunda 5 M HCl ile 95° C de 15 dakika sonra Se(VI)'nin Se(IV)'e indirgenmesi %98 olarak en yüksek optimal değerler olarak bulunmuştur (Piwonka vd., 1985).

Biyolojik materyallerde selenyum tayini için gerekli şartlar ve analiz yöntemleri Tablo 1.5'de verilmiş olup günümüzde en fazla kullanılan, HG-AAS ve fluorimetrik tayin yöntemleridir.

Se(IV) yapısı, 3,3 diamino benzidin veya diamino naftalin ile şiddetli sarı bileşik olan dipiaselenol oluşturarak, oluşan bu bileşik spektrofotometrik veya fluorimetrik olarak tayin edilebilir (Stewart vd., 1961).

Lan vd. (1994), balık dokularında Se tayini için 4 farklı asit karışımı uygulayarak HG-AAS'de ölçüm yapmışlar ve sonuçta; HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılarak yapılan çözme işleminde geri kazanımın en iyi olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarında interferansları maskeleyen işleminde ise potasyum hekzasiyanoferrat(III) kullanmışlardır. Navarro vd. (1996) ise biyolojik materyallerin çözme işleminde HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> kullanarak termostatlı sindirme bombaları kullanmışlardır. Bombalara, asit karışımı ve küçük bir miktar vanadyum pentoksit ilave etmişler ve çözme işleminden sonra 7N HCl ile indirgeme işlemini yapmışlardır.

Tablo 1. 5. Biyolojik Materyallerde Selenyum Tayini için Uygun Şartlar ve Analiz Yöntemleri.

Çözücü ortamı	İndirgeme ortamı	Tayin Yöntemi	Referans
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl	DAN-Fluorimetrik	Mikac vd. 1990
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 M HCl ile 80° C 1 saat	ICP-AES (BH <sub>4</sub> ile reaksiyon)	Stacchini vd., 1989
HNO <sub>3</sub> (PTFE)	%30 HCl ile 70° C 30 dak.	HG-AAS	Dörner vd., 1990
HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6 M HCl ile 90° C 30 dak.	HG-AAS	Fairris ve Delves, 1988
HNO <sub>3</sub> /HCl	0.4 mL HCl ile buharlaştırma	DAB-Fluorimetrik	Kılıncı vd., 1983
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (PTFE)	5 M HCl ile 95° C 30 dak.	FI-HAAS (Hidrür)	Negretti vd., 1990
HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6 M HCl ile 95° C 30 dak.	HG-AAS	Lloyd vd., 1983
%20Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> +HNO <sub>3</sub> çözeltisi	8mL der. HCl ile düşük sıcaklıkta	HG-AAS	Stahr, 1991
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub>	5 M HCl ile 95° C 15dak.	HG-AAS	Piwanka vd.1985
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (PTFE)	5 M % 50 HCl ile 90° C 10 dak.	HG-AAS	Knapp, 1985

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2. 1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Tartım işlerinde, Mettler H10 marka 0.1 mg taksimatlı hassas terazi,
- Kurutmada, Dedeoğlu marka 250° C'ye kadar ısınan , termostatlı etüv,
- Etüvden çıkan numuneleri soğutma işleminde desikatör,
- 10 mL hacimli porselen krozeler,
- Kaynama taşı (cam boncuklar)
- Kartuşlar (22 × 80 mm),
- 250 mL hacimli ayırma hunileri,
- Hidrofil pamuk,
- Seyrelme ve standart çözeltiler hazırlamada, çeşitli hacimlerde, volümetrik şişeler, erlen, beher, bakalit kapaklı deney tüpleri, cam huni, pipet ve piset,
- Asit çekme işleminde üç yollu puvar,
- pH ölçüm ve ayarlama işlemlerinde, Orion Research marka Model 701/dijital pH metre,
- Su banyosu olarak, Şimşek Laborteknik marka, 95° C'ye kadar ısıtmalı, termostatlı, benmari,
- Sıcaklık ölçümünde, 300° C'lik termometre,
- Zaman ölçümünde, kronometre,
- Bausch- Lomb marka Spektrometrik 20,
- Örneklerde Se ölçümü için, Shimadzu marka HG-AAS 660

- Su banyosuna paralel bağlanmış, soxleth ekstraksiyon cihazı,
- Doku, yem ve dışkı örneklerinin çözme işlemi için teflon bomba,
- 8 adet 100 L hacimli cam akvaryum,
- Şimşek marka, 750 mL hacimli, makro kjeldahl,
- Titrasyon işlemi için, 50 mL' lik otomatik büret,
- Oksijen tayini için Winkler şişeleri (oksijen şişeleri),
- Ham kül tayininde, Nüve marka MF 120, 2000° C'ye kadar çıkabilen, termostatlı, göstergeli fırın,
- Balıklardan doku örneği almak için, makas, pens, bistüri ve küvet,
- Yem hazırlamak için, öğütücü, kıyma makinesi ve mikser,
- Balıkların ağırlığını almak için, Baster marka 200 g çekerli, 1 g taksimatlı, otomatik ibreli terazi,
- Balıkların uzunluk ölçümü için, üzerine 20 cm uzunluğunda cetvel yerleştirilmiş tahta,
- Balıkları bayılma ve dezenfekte işleminde 20 L su kapasiteli naylon kaplar,
- Akvaryum havalandırma tertibatı
- Deney sonuçlarının yazılması ve istatistiksel analizler için Mikrosoft Word ve Mikrosoft Excel paket programları donanımlı IBM uyumlu bilgisayar kullanıldı.

## 2. 2. Balıklar ve Akvaryum

Deney için kullanılan sazanlar, Fırat Üniversitesi(F. Ü.) Cip Alabalık Üretim ve Yetiştirme Tesisleri'nden temin edildi. Çalışma önce tesisteki havuzlarda başladı. Fakat

su sıcaklığının oldukça düşük olması ve suyun yüzeyden donması sonucu, balıklar yemi tüketemediği için, laboratuvarında hazırlanmış olan 100 L hacimli akvaryumlara yerleştirildi. Çiftlikten büyük bidonlara konularak laboratuvara getirilen balıklar, akvaryumlara konulmadan önce, balıkları dezenfekte etmek amacıyla 1:15 000'lik malahit yeşilinde 1 dakika bekletildikten sonra ağırlık ve uzunlukları tespit edildi. Daha sonra havalandırma düzeneği takılmış olan akvaryumlara, her akvaryum için 20 balık olacak şekilde yerleştirildi. Akvaryumlar numaralandırıldı. Bütün akvaryumdaki balıklar 1 ay süre ile, normal yemle beslendi ve ortama adapte olmaları sağlandı. 1 ay sonra hazırlanan özel yemlerle beslenmeye başlandı. Her ay ağırlık ve uzunlukları ölçüldü. Ağırlık ve uzunluk ölçümü süresince balıkların sakın kalmaları için anestezi maddesi olarak 30 µg/L Benzocaine hazırlandı ve bu anestezi solüsyonunda 5 dakika bekletildi. Bayılan balıkların tartımı ve uzunluğu alınarak hemen akvaryuma konuldu. İki günde bir akvaryumların suları sifonlama ile boşaltıldı ve su olarak F. Ü. şebeke suyu kullanıldı. Akvaryuma getirilen balıkların ortalama ağırlıkları 20-98 g arasında, uzunlukları ise, 9.5-16.0 cm arasında olup bir yaşındaki balıklar kullanıldı.

### 2.3. Yemler

Bu çalışmada F. Ü. Cip Alabalık Üretim ve Yetiştirme Tesislerinde alabalık yemi olarak kullanılan ve Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen yem kullanıldı. Pelet halde gelen yem değirmende öğütüldükten sonra ince gözenekli (0.5 mm çapında) elekten elendi. Daha sonra 1 kg'lık 5 ayrı gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışındaki gruplara öğütülmüş ve elenmiş yemle birlikte Tablo 2.1'deki miktarlarda  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  ve taşıyıcı madde olarak un kullanılarak karıştırıldı.

Tablo 2. 1. Yemlerin Hazırlanması (1 kg yem için).

Yem Grubu	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> miktarı (mg)	Taşıyıcı Madde (un) (g)
Kontrol grubu	-	10
2.5 ppm Se'lu yem	0.0083	10
5.0 ppm Se'lu yem	0.0166	10
10.0 ppm Se'lu yem	0.0333	10
20.0 ppm Se'lu yem	0.0666	10

Karışım kuru iken bir mikser yardımı ile iyice karıştırıldı. 750 mL suya ilave edildi ve mikserle 15-20 dakika daha karıştırıldı. Hamur haline getirilmiş yem, 2 mm çapındaki kıyma makinesinden geçirilerek tekrar ince pelet haline getirildi. Oda sıcaklığında bir gece bekletildikten sonra, 50° C'de 24 saat kurutulduktan sonra küçük parçalar haline getirilen yemler, her grup için ağırlıklarının % 4'ü kadar tartılıp markalanmış poşetlere konuldu.

#### 2. 4. Balıkları Yemleme ve Akvaryum Sularını Değiştirme Periyodu

Her bir akvaryum grubundaki balıkların toplam ağırlıklarının % 4'ü kadar tartılan yemler günde iki defa balıklara verildi. Bütün yemler bitince tekrar hazırlandı ve balıklar 1 ay adaptasyon süresi hariç hazırlanan yem grupları ile 5 ay beslendi. Her ay ağırlık ve uzunlukları alındı. 1 aylık adaptasyon süresi boyunca tüm balıklar kontrol yem ile beslendi. Balıkların yemleri iyi tüketip tüketmediği gözlemlendi. Yem tüketiminin az olduğu zamanlarda yemleme miktarı günde bir defaya indirildi. Yemleme, su değiştirilmeden 4-5 saat önce veya su değiştirildikten 4-5 saat sonra yapıldı.

## 2. 5. Balıklardan Dışkı Alımı

Balıklardan dışkı masaj yöntemi ile alındı. Balığın anüs kısmı, 20 cm çapında petri kutusuna doğru çevrildi. Sol elle solungaçlar ve yüzgeçleri sıkıca tutularak, sağ elle de karın kısmı anüse doğru sıvazlanarak dışkı alımı akvaryumdaki bütün balıklara uygulanarak sağlandı. Her bir gruptan alınan dışkı örnekleri kendi grubu içinde homojen hale gelecek şekilde karıştırılarak selenyum analizi yapıldı.

## 2. 6. Balıklardan Doku ve Organ Örneklerinin Alınması

Çalışma boyunca her bir akvaryumdan 20 balık alındı ve incelendi. Alınan balıklar 30 µg/L Benzocaine kullanılarak bayıltıldı. Bayılan balıklar, steril pens, bistüri ve makas yardımı ile anüsten başlamak üzere karın kısmı, çenesine kadar açıldı. Karaciğer, böbrek, bağırsak ve solungaçları alındı. Et ve deri örnekleri, balık vücudunun her tarafından belirli noktalardan (sırt, iki yan, karın ve kuyruk kısmı) alındı. Alınan doku örneklerinin yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra 20 mL hacimli bakalit kapaklı tüplere konularak belirli miktarda asit karışımı ilave edildi. Bu numuneler daha sonraki işlemlere kadar buzdolabında muhafaza edildi.

## 2. 7. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Deneylerde kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck markadır. Seyrelme ve çözeltiler hazırlama işlemlerinde bidistile su kullanıldı.

**2. 7. 1. Su analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler**

- 0.02 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 0.02 N NaOH
- Fenolftalein, Metiloranj
- Eriochrome Black T
- Nişasta indikatörü
- 0.02 N EDTA
- NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>Cl tamponu
- MnSO<sub>4</sub> çözeltisi (480 g MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O/L)
- Alkali azid çözeltisi (500 g NaOH ve 135 g NaI damıtık suda çözüldükten sonra, 1 L'ye tamamlandı. 10 g NaN<sub>3</sub>, 40 mL suda çözülerek diğer çözeli ile karıştırıldı.)
- 0.025 N Sodyum tiyosülfat

**2. 7. 2. Yem analizinde kullanılan kimyasal maddeler**

- Derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: % 98, d = 1.96 g/ mL
- Katı Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Katı CuSO<sub>4</sub>
- Toz selenyum
- % 40'lık NaOH
- Metil kırmızısı indikatörü (% 50 alkolde)

- % 4'lük  $H_3BO_4$
- Dietil eter

### 2. 7. 3. Spektrofotometrede Se analizi için kullanılan kimyasal maddeler

- Spektrofotometre, 250 mL'lik musluklu ayırma hunisi, Termostatlı su banyosu, pH metre
- Selenyum standart çözeltisi: 2.190 g  $Na_2SeO_3$  10 mL HCl içeren saf suda çözülür ve 1 L ye tamamlanır. 1 mL = 1 mg Se(IV)
- 0.1 N ve derişik HCl
- % 50 Amonyak çözeltisi
- Toluen
- 2,3-Diamino naftalin (DAN): 200 mg DAN, 200 mL 0.1 N HCl de çözülür. Bu çözeli her defasında taze hazırlanmalıdır ve 8 saat sonra bozulur.
- Hidroksil amin-EDTA çözeltisi: 4.5 g  $Na_2EDTA$  450 mL suda çözülür 12.5 g Hidroksil amin hidroklorür ( $NH_2OH \cdot HCl$ ) ilave edildi ve 500 mL ye ayarlandı.

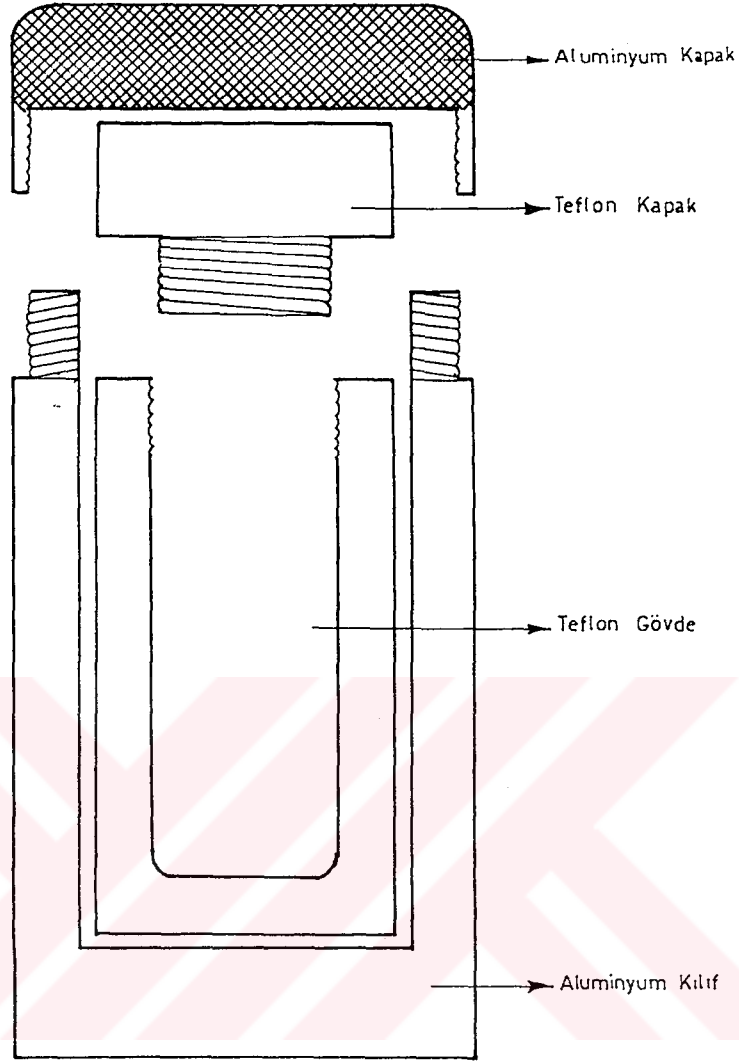
### 2. 7. 4. HG-AAS de Se analizi için kullanılan kimyasal maddeler

- Derişik  $HNO_3$ : % 65, d = 1.48 g/mL
- Derişik  $HClO_4$ : % 60, d = 1.53 g/mL
- Derişik HCl: % 37, d = 1.19 g/mL

- 1000 ppm'lik primer standart selenyum çözeltisi, bu çözeliden 1 ppm'lik stok çözeli hazırlandı. Stok ve standart çözeltilerin hepsi 1.0 M HCl ile tamamlandı.
- NaBH<sub>4</sub> çözeltisi (500 mL): 2.5 g NaOH 100 mL suda çözülüp 500 mL'lik balon jøjeye konuldu. 2.0 g NaBH<sub>4</sub> 100 mL suda çözülerek NaOH çözeltisine ilave edildi ve 500 mL'ye tamamlandı. (% 0.4 NaBH<sub>4</sub> + % 0.5 NaOH).
- 5.0 M HCl çözeltisi: 120 mL (% 38, d = 1.19 g/mL) HCl den alınarak 200 mL su içeren 500 mL'lik balon jøjeye konularak distile su ile 500 mL ye tamamlandı.

## 2. 8. Teflon Bombanın Hazırlanması

6 cm çapında 20 cm uzunluğunda içi dolu teflon kütükler temin edildikten sonra 150° C'de yaklaşık 24 saat etüvde bekletildi. Oda sıcaklığında soğutulan kütükler, 10 cm uzunluğunda tornada kesildi. Kapak için 3 cm ayrıldı 7 cm'lik kısma, al kapak kendiliğinden olacak şekilde içi oyuldu. Dış kalınlığı 1.5 cm, iç çapı 3 cm olacak şekilde içleri oyulan kütüklerin ağızdan 1.5 cm'lik kısmına iç dişler konuldu. Kapak için ayrılan içi dolu 3 cm'lik kütüğün 1.5 cm'lik kısmına dış dişler konuldu. Gövde ile kapağın dişlerinin ince ve sıkı olmasına, hava sızdırmayacak şekilde kapağın gövdeye oturmasına itina gösterildi. Hazırlanan bombaların dış kısmına rahat yerleşebileceği koruyucu kılıf olarak 1 cm et kalınlığı olan alüminyumdan yapılmış kılıf yapıldı. Bunların da al kısmı kendiliğinden, üst kısmı kapaklı, gövdede dış dişler, kapakta iç dişler yapıldı. Alüminyum kılıfdan bombanın rahat girip çıkmasına dikkat edildi (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1. Teflon Bombanın Genel Görünüşü.

## 2. 9. Çözücü Seçimi

Kontrol yem örneğinden 1.0 g alınıp, ağzı kapaklı tüplere konularak farklı asit karışımlarından eşit miktarda ilave edilerek 1 gece bekletildi. Ertesi gün açıkta 95° C'de su banyosunda 4 saat bekletildi. Aynı işlem teflon bomba kullanılarak 100° C'de 3 saat bekletilerek yapıldı. Örnekler buldukları ortamlarda 5.0 M HCl içerecek şekilde

asitlendirildi ve 80° C'de su banyosunda 30 dakika bekletilerek ortamdaki Se(VI)'nın, Se(IV)'de indirgenmesi sağlandı. Teflon bombadaki numunelerin iyi çözünmesi nedeniyle doğrudan belirli hacme tamamlandı. Açıkta farklı asit uygulanan örneklerde ise bazılarında iyi çözünme olmadığı, dipte beyaz tortu olduğu için Wathman mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek belirli hacme tamamlandı. Hazırlanan örneklerde HG-AAS kullanılarak selenyum miktarları tayin edildi.

Denemede 6 farklı asit karışımı uygulandı. Her asit karışımı için 3 tekrar yapıldı. Asit karışımları için literatürlerde verilen çözücüler örnek alındı. Tablo 2.2.'de açıkta ve teflon bombada yapılan çözme işleminde, farklı asit karışımlarının kullanılması sonucu yemdeki selenyum değerleri verilmiştir.

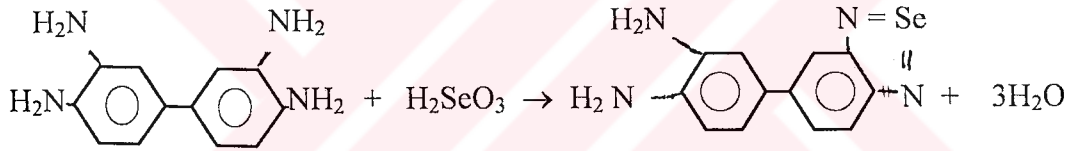
Tablo 2. 2. Açıkta ve Teflon Bombada, Farklı Çözücülerin, Kontrol Yemdeki Selenyum Miktarına Etkisi.

Çözücü Asit Karışımı	Açıkta		Teflon Bombada	
	Se (mg/kg)	SD	Se (mg/kg)	SD
HNO <sub>3</sub>	0.434	0.043	0.447	0.032
HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1/1)	0.209	0.049	0.411	0.020
HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3/1)	0.424	0.096	0.422	0.033
HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /HClO <sub>4</sub> (2/0.1/0.05)	0.378	0.223	0.504	0.023
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (3/3/0.5)	0.544	0.041	0.563	0.017
HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> (3/2)	0.553	0.048	0.581	0.011

## 2. 10. Spektrofotometrik Yöntemle Selenyum Tayini

Bu yöntem, sulu ortamdaki selenit için spesifiktir. Selenit haline getirilmiş örnekler, 2,3 Diamino naftalin ile reaksiyona girerek oluşan ürün renkli parlak ve güçlü floresans olan piazselenol bileşiğidir. Bu ürün siklo hekzan ile ekstrakte edilerek oluşan organik faz kolorimetrik veya fluorimetrik olarak ölçülür.

Piazselenol oluşturmak için 2,3 Diamino naftalin yerine 3,3 diamino benzidin de kullanılabilir. Ayrıca oluşan piazselenol'ün ekstraksiyonu için, sikloheksan yerine toluen de kullanılabilir. Oluşan ürün aşağıdaki şekildedir.



Piazselenol kompleksi için optimum pH yaklaşık 1.5'tur. Fakat 2.5'a yakın olmamalıdır. Çünkü, pH 2'de renkli bileşiğin oluşma hızı kritik pH'a bağlıdır. İndikatörler olduğu zaman kullanılan pH ayarlaması, sonuçların sık sık kararsız olmasına neden olur.

İnterferanslar: Pozitif interferans olarak bilinen inorganik bileşikler olmamalıdır. Renkli organik bileşiklerin, sikloheksan tarafından ekstrakte edilebilmesi ise ihtimal dışı değildir. Fakat bunlar yok edilmeli veya örneklerin yükseltgenmesi ile ortadan kaldırılmalıdır. 2.5 mg Fe (en az)'den ileri gelen negatif interferans EDTA ile elimine edilebilir. Bunun yanında Cr, Al, Ni, Be, Cu ve V selenyum tayininde interferans etki gösteren elementlerdir. Bijoli ve arkadaşları (1988) yapmış oldukları bir çalışmayla

60'ın üzerinde iyon ve kompleks bileşiklerinin Se(IV) tayini üzerinde interferans etkisi gösterdiğini bulmuşlardır.

**1. Piazselenolün oluşması:** 2 mL HA-EDTA çözeltisi 10 mL örneğe konuldu ve 0.1 N HCl ve NH<sub>3</sub> kullanarak pH'ı 1.5 ± 0.3'e ayarlandı. 5ml DAN ilave edildi ve 50° C'de 30 dakika su banyosunda ağzı kapatılarak ısıtıldı.

**2. Piazselenol ün Ekstraksiyonu:** Soğutulan çözeltiliye 2 mL sikloheksan ilave edildi ve 5 dakika ağzı kapalı ayırma hunisinde şiddetli bir şekilde karıştırıldı ve Toluen tabakası oluşuncaya kadar bekletildi. Ayırma hunisinde organik faz alınarak 480 nm'de spektrofotometrede okundu.

Spektrofotometrik olarak selenyum analizi yapmak için hazırlanan bir seri standart çözeltilere yukarıdaki işlem uygulanarak absorbens değerleri alındı. Daha sonra teflon bombada çözme ve indirgeme işlemi yapılan kontrol yeme aynı işlem uygulandı ve absorbens değeri ölçüldü (Şekil 2. 2).

$$C = \frac{A + 0.0782}{0.0724}$$

Burada; C = Konsantrasyon

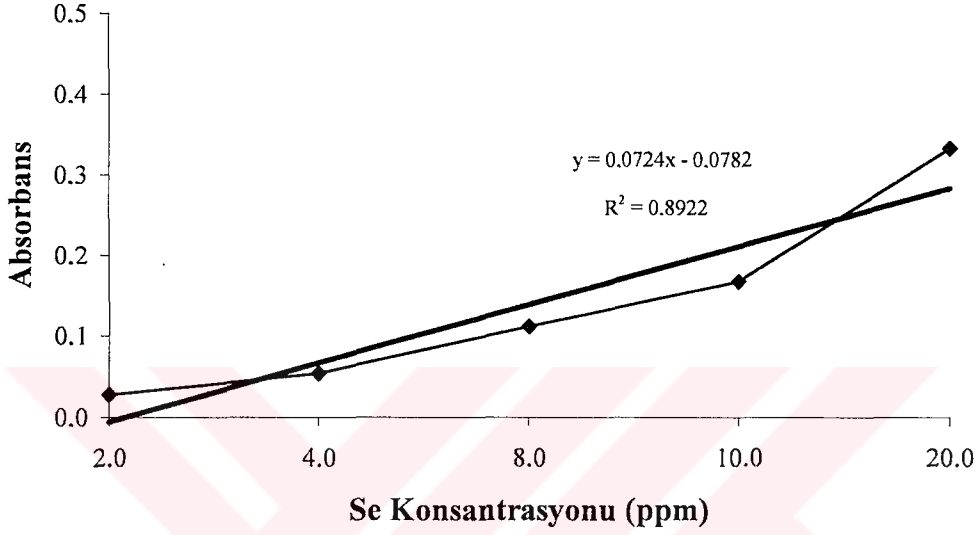
A = Absorbans

Formülden, yemdeki Se miktarı 0.349 mg/kg olarak belirlendi

Konsantrasyona karşılık alınan absorbens değerleri tam bir doğrusallık göstermemekte olup regrasyon 0.8922 olarak hesaplandı.

Spektrofotometrik ölçümlerde, selenyum tayininin fazla güvenilir olmaması, uzun zaman alması, fazla kimyasal madde harcanması ve analizlenecek numune

sayısının fazla olması nedeni ile HG-AAS ile selenyum tayininin yapılmasına karar verildi.



Şekil 2. 2. Spektrofotometrik Yöntemle Selenyum-DAN Kompleksinin Çalışma Eğrisi

## 2. 11. Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile Selenyum Tayini

AAS ile selenyum analizini sınırlayıcı etken, analiz hatlarının vakum UV bölgede bulunması, buharlaşma noktasının düşük ve oksitlerinin ayrışma enerjilerinin büyük olmasıdır. Ayrıca matriks engellemesi bu elementin tayinini zorlaştırmaktadır. Bu nedenlerden dolayı hidrür oluşum tekniği kullanılmaktadır. Hidrür, metalik çinko üzerine asit etkisiyle açığa çıkan hidrojen ile çözeltideki selenyumun tepkimeye girmesiyle oluşur. Bu yöntemde gözlenebilme sınırı oldukça yüksektir. Fakat günümüzde,  $\text{NaBH}_4$  kullanılarak hidrüre çevirme kullanılmaktadır. Bu yöntemde

asitlendirilen örnekler,  $\text{NaBH}_4$  üzerine enjekte edilerek oluşan hidrürler, sürükleyici gaz (Ar veya  $\text{N}_2$  gazı) ile küvete gönderilmektedir. Şekil 2. 3'de Hidrür sisteminin şeması verilmiştir .

Bu yöntemin avantajları hızlı, kolay, duyarlılığın yüksek ve zemin sinyalinin çok az olmasıdır (Akman, 1988).

AAS'de en önemli özelliklerden biri de zemin düzelmesi (Background correction) tekniğidir. Genel olarak AAS'de zemin düzelmesi iki ayrı teknikle yapılır. Bunlar;

1. Duterium Lamp Method

2. Self Reversal Method

Bu iki tekniğin birbirlerine göre bazı üstünlükleri olduğu gibi, birbirlerini de tamamlamaktadır. Özellikle kısa dalga boylarında duterium lambanın ışım özelliklerinden dolayı çok konsantre numunelerde ışık şiddetinin düşmesinden dolayı dedektör üzerine düşen sinyal değeri azalmaktadır. Bu yüzden özellikle kısa dalga boylarında bakgraund-correction-dueterium metodu yerine self reversal metodu kullanılmaktadır. Bu metodda duterium lamba yerine sadece Hallow Cathode Lamba kullanılmakta ve lambanın akımı düşük ve yüksek olmak üzere iki ayrı değere ayarlanmaktadır. Özellikle kısa dalga boylarında  $E=h\nu=h \times 1/\lambda$  eşitliğine göre ışığın enerji/şiddet değeri düşmektedir. Bunu self reversal metodunda yüksek akım vererek önlemek mümkündür.

Shimadzu AA-660 Model AAS cihazında yukarıda sözü edilen her iki metodda bulunmakta ve yüksek hassasiyetli ve konsantrasyon sınırlaması olmadan çalışmalar yapılabilmektedir. HG-AAS 660'ın akım şeması Şekil 2. 4'de verilmiştir.

AAS-660 ile konsantrasyon hesaplaması iki yöntemle yapılır.

1. Çalışma eğrisi metodu

2. Standart ilave metodu, her ikisi içinde 6 standart örnek kullanılır.

1. Çalışma eğrisi metodu: Aletten çalışma eğrisi metodu seçilir ve standart çözeltilerin konsantrasyonları girilir. Se için;

SD1	SD2	SD3	SD4	SD5
0 ppb	10 ppb	20 ppb	30 ppb	40 ppb

Standart örneklerin ölçümü bittiği zaman sistem çalışma eğrisini çizer. Çalışma eğrisi 2. dereceden eşitlikle hesaplanır. Konsantrasyon ve absorbans arasındaki ilişki aşağıdaki her iki yolla da ifade edilebilir.

$$1. A = kC^2 + mC + n$$

$$2. C = kA^2 + mA + n$$

Yukarıdaki eşitliklerden birincisi absorbans, konsantrasyonun 2. dereceden denklemi; ikincisi ise konsantrasyon, absorbansın 2. dereceden denklemi şeklinde ifade edilmiştir. AA-660, bu ifadelerden hangisinin gerçek değeri için daha çok uygun olacağına otomatik olarak karar verir.

HG-AAS'de selenyum tayini yapmak için uygun optimal şartlar Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2. 3. Se Tayini için Kullanılan Shimadzu 660 HVG-1 AAS Optimal Şartlar;

---

**Atomik Absorbsiyon Ölçümleri**

---

Dalga boyu: 196 nm

HC lamb current (mA): 24

Slit Width: 0.25 cm

Alevin tipi: Argon-H<sub>2</sub>

Yanıcı gaz akış hızı: 3.7

%1 absorbsiyon konsantrasyonu (ppm): 0.5

BGC-D2 Modu: Bakground absorpsiyonu douterium lambası kullanıldığı zaman doğrudur. Bu metot 190-430 nm dalga boyu arasında analitik hatta sahip olan elementler için uygundur.

---

**Hidrür Üretimi;**

---

Absorbsiyon Hücresinin sıcaklığı : 900 °C

Taşıyıcı Gaz : Argon

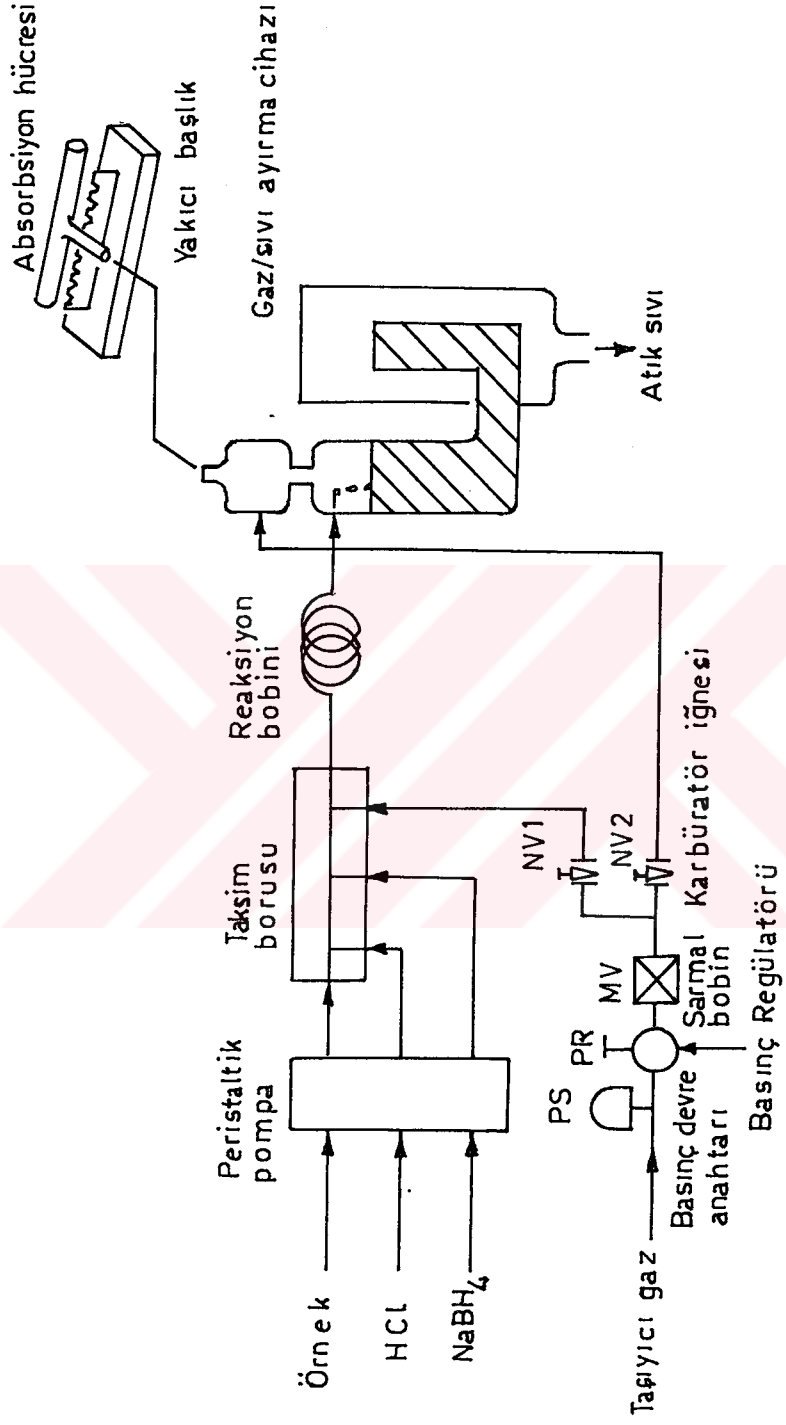
Purge I : 42 s

Purge II : 30 s

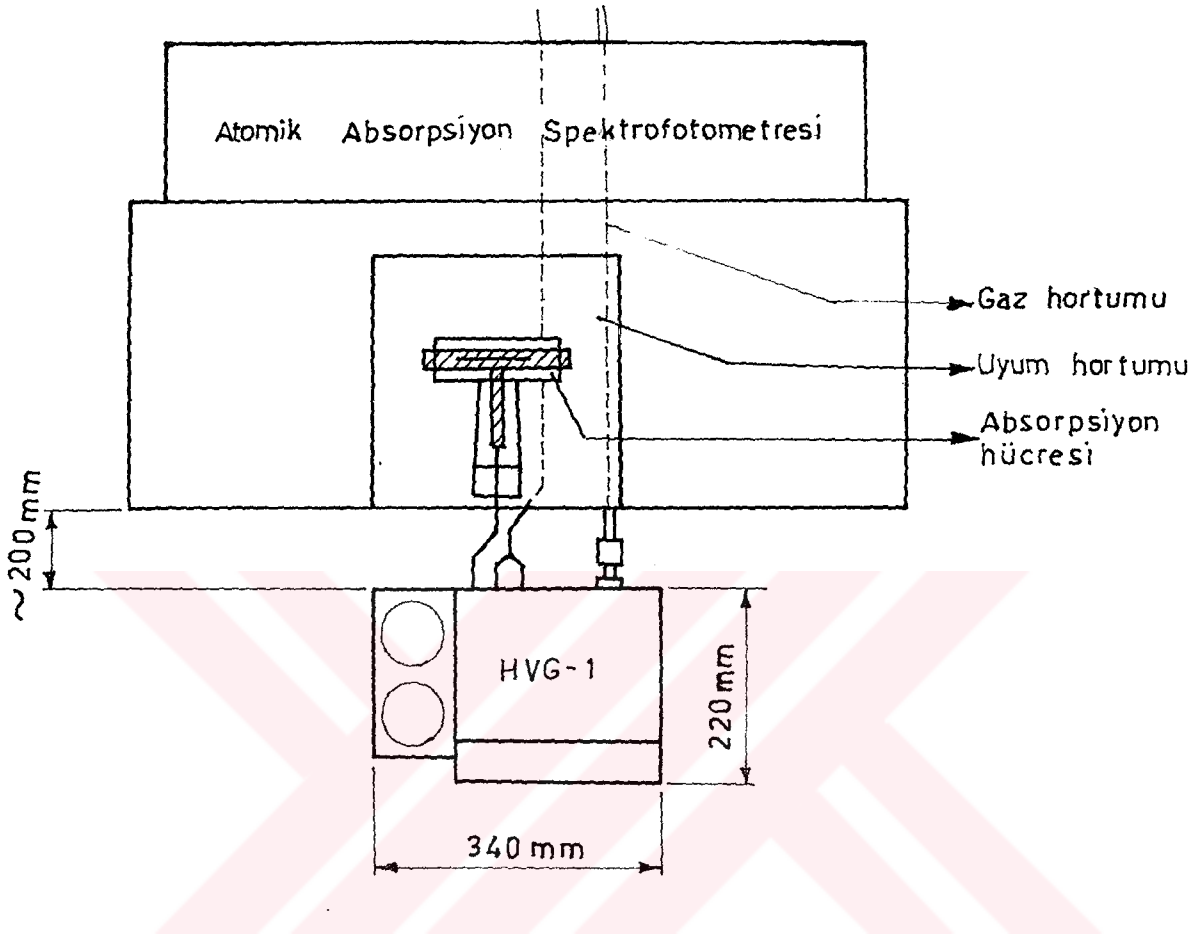
Reaksiyon zamanı : 10 s

Reaksiyon Hacmi : 20 mL

---



Şekil 2. 3. Hidrür Sisteminin Çalışma Şeması.



Şekil 2. 4. HG-AAS 660'ın Akım Şeması.

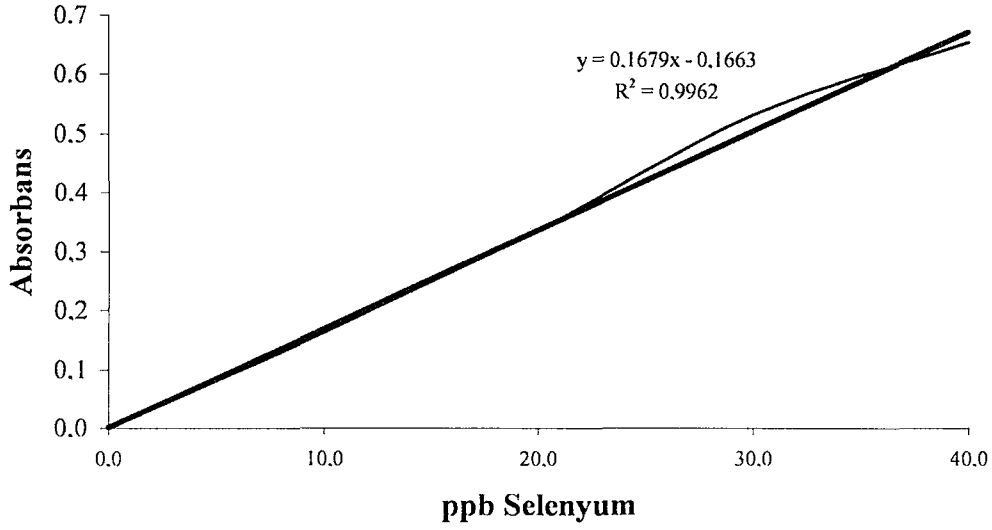
HG-AAS'de kullanılan reaktiflerde yapılan selenyum analizinde bulunan değerler Tablo 2.4'de verilmiştir. Selenyumun hidrürleri oluşturulurken kullanılan  $\text{NaBO}_4$  ve  $\text{NaOH}$ 'de selenyum miktarı önemsenecek kadar yüksek bulundu.

Tablo 2. 4. HG-AAS'de Kullanılan Reaktiflerin Selenyum İçeriği

Reaktif	Selenyum içeriği ( $\mu\text{g/L}$ )
$\text{NaBH}_4$	11.4 ( $\mu\text{g/kg}$ )
$\text{NaOH}$	8.26 ( $\mu\text{g/kg}$ )
$\text{HNO}_3$	< 0.01*
$\text{HClO}_4$	< 0.1*
$\text{HCl}$	< 0.01*

\* Bu değerler HG-AAS de okunamadığı için reaktiflerin üzerindeki değerler verildi.

Standartlar 1000 ppm'lik primer standart selenyum stok çözeltisinden önce 1 ppm'lik standart Se çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 1 ppm'lik çözeliden, 10, 20, 30, 40 ppb Se standart çözeltileri hazırlandı. Stok ve standart çözeltilerin hepsi 1.0 M HCl ile belirli hacimlere tamamlandı. HG-AAS'de her okuma işleminden önce standartlar ve hidrür oluşturma işlemi için kullanılan  $\text{NaBH}_4 + \text{NaOH}$  ve 5 M HCl yeni hazırlandı. Alette okunan değerler, direk ppb olarak numunedeki Se miktarını vermektedir. Bu değerler daha sonra alınan numune miktarına göre hesaplandı. HG-AAS'de standart çözeltilerin konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri, her okumada tam bir doğru meydana getirecek şekilde okundu (Şekil 2. 5).



Şekil 2. 5. HG-AAS ile Selenyum Tayininde Kullanılan Çalışma Eğrisi.

Yukarıda şekilde verilen doğru ;

$$A = kC^2 + mC + n, \quad k = -6.489 \times 10^{-5}, \quad m = 1.957 \times 10^{-2},$$

$$n = -1.354 \times 10^{-2} \quad S = 2.090 \times 10^{-3}$$

k, değerleri oldukça küçük olduğu için bu değer ihmal edilirse yukarıdaki eşitlik,

$$A = 0.01957 \times C - 0.01354 \quad \text{şeklinde olur. Şekil 2. 5'deki grafikteki doğrudan,}$$

numunelerdeki konsantrasyon ise aşağıdaki eşitlikten hesaplanır.

$$C = \frac{A + 0.1663}{0.1679}$$

## 2. 12. Numunelerin Analize Hazırlanması

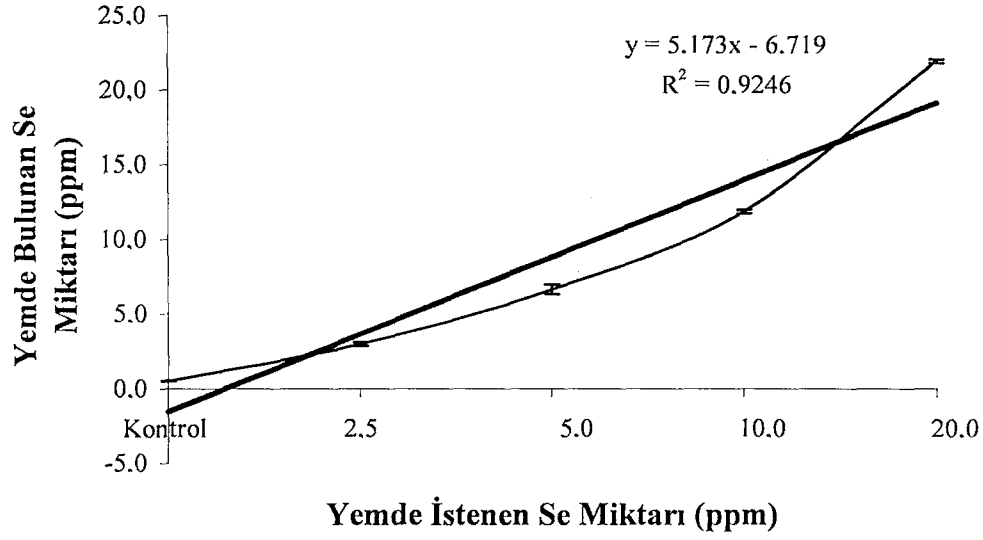
Suda, yemde, balıklardan alınan dışkı, organ ve dokularda HG-AAS'de selenyum miktarları tespit edilmeden önce çözme ve indirgeme işlemleri uygulandı.

### 2. 12. 1. Su numunesi

Su örneklerinde selenyum tayini yapmak için alınan 20 mL'lik su örnekleri Wathman mavi bant filtre kağıdından süzüldü ve  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (3/2) asit karışımından 5 mL ilave edildi. Bu numuneden 10 mL alınarak 5 M HCl olacak şekilde derişik HCl ile asitlendirildi ve  $80^\circ \text{C}$  de su banyosunda 30 dakika bekletildi. Soğutulan su örnekleri belirli hacme tamamlanarak HG-AAS'de selenyum miktarları okundu.

### 2. 12. 2. Yem numuneleri

Yemlere ilave edilen selenyum miktarlarının doğruluk değerlerini ölçmek için hazırlanan yemlerden belirli bir miktar alınarak  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (3/2) asit karışımında teflonda çözüldü. Çözünen numunelerde ortamdaki  $\text{HNO}_3$ , Se(IV)'ü Se(VI)'ya yükselgediği için, numuneler 5 M HCl içerecek şekilde derişik HCl ile asitlendirildi ve teflon bombalar  $80^\circ \text{C}$ 'de 30 dakika benmaride bekletilerek Se(IV)'ya indirgenmesi sağlandı. Hazırlanan numuneler belirli hacimlere tamamlanarak HG-AAS de değerleri okundu (Şekil 2. 6). Yapılan deneylerde her analiz için 3 tekrar yapıldı ve hazırlanan her yem için selenyum miktarı tespit edildi.



Şekil 2. 6. Hazırlanan Yemlerde Bulunan Se Miktarlarının Dağılımı

### 2. 12. 3. Dışkı numuneleri

Balıklardan masaj yöntemi ile alınan dışkıların yaş ağırlıkları alınarak teflon bombalara konuldu.  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (3/2) karışımından belirli miktar (0.5 g için 5 mL) ilave edilerek önce  $105^\circ \text{C}$  de 1 saat, sonra  $160^\circ \text{C}$  de 3 saat bekletilerek parçalanması sağlandı. Parçalama işlemine tabi tutulan örneklerin bulunduğu teflon bombalar oda sıcaklığına soğutuldu ve kapakları açıldı. Örnekler buldukları ortamda 5.0 M HCl içerecek şekilde derişik HCl ile asitlendirildi ve  $80^\circ \text{C}$  de su banyosunda 30 dakika bekletilerek ortamdaki Se(VI)'nın Se(IV)'e indirgenmesi sağlandı. Numuneler belirli hacimlere tamamlanarak HG-AAS'de Se miktarları tayin edildi. Bulunan değerler yaş ağırlık olarak verildi.

#### 2. 12. 4. Organ ve doku numuneleri

Balıklardan alınan doku (kas, deri) ve organ (solungaç, böbrek, karaciğer, bağırsak) örneklerinden alınarak yaş ağırlıkları alındı ve teflon bombalara konuldu. Kas, deri, solungaç ve bağırsak örnekleri için 7 mL, böbrek ve karaciğer için 4 mL asit karışımı ( $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ ; 3/2) ilave edildi.  $105^\circ \text{C}$ 'de bir saat bekletildikten sonra sıcaklık  $160^\circ \text{C}$ 'ye getirilerek kas, deri, solungaç ve bağırsak örnekleri 4 saat, böbrek ve karaciğer ise 2 saat bekletilerek parçalama işlemine tabi tutuldu. Çözünen örnekler aynı ortamda  $\text{Se(VI)}$ 'yı  $\text{Se(IV)}$ 'e indirgemek için 5 M HCl içerecek şekilde asitlendirildi ve  $80^\circ \text{C}$ 'deki su banyosunda 30 dakika bekletildi. Hazırlanan örnekler 50 mL'lik volümetrik şişelere distile su ile tamamlandı. HG-AAS'de 196 nm de optimum şartlarda Se miktarı okundu . Değerler yaş ağırlık üzerinden verildi.

### 3. BULGULAR

#### 3. 1. Akvaryum Suyunun Kimyasal Analiz Sonuçları

Balıkların bulunduğu akvaryumlarda, F. Ü. şebeke suyu kullanıldı. Su sıcaklığı, 0.5 taksimatlı bir termometre yardımı ile ölçüldü. pH, Orion Research H10 marka pH metreyle, toplam asidite ve alkalinite; metil oranj ve fenolftalein indikatörü yardımı ile titrimetrik olarak, toplam sertlik; EDTA ile titre edilerek, serbest oksijen; Winkler metodu ile tayin edildi. Sudaki bu tayinler, standart metotlar uygulanarak yapıldı.

Balıkların buldukları akvaryum sularında, artan Se miktarına bağlı olarak köpüklenmeler görüldü. Bu köpüklenme, 10.0 ve 20.0 ppm selenyumlu yemle beslenen balıkların bulunduğu akvaryumlarda daha fazla oluştu. Sudaki çözülmüş oksijenin miktarının biraz düşmesi halinde 10.0 ve 20.0 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda su yüzüne çıkma ve yavaş hareket gözlemlendi. Su rengindeki değişim 10.0 ve 20.0 ppm Se'lu yemle beslenen balıkların bulunduğu akvaryum sularında, diğerlerine göre daha belirgin olup kontrol ve 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıkların sularında açık sarı olmasına rağmen 10.0, 20.0 ppm Se'lu akvaryumlarda açık kırmızı ve kahve renkli olduğu gözlemlendi. Alınan su numunelerinde yapılan kimyasal analizler Tablo 3. 1'de verilmiştir.

Sudaki kimyasal analizler sonucu, su değiştirildikten 2 gün sonra serbest oksijen, toplam sertlik, toplam alkalinite ve pH'da düşme görülürken, toplam asiditede artış gözlemlendi. Bu değişiklik, artan selenyum miktarına bağlı olarak ta belirlendi. Sıcaklık değişimi akvaryumların bulunduğu oda sıcaklığına bağlı olarak değişim gösterdi.

Tablo 3. 1. Akvaryum Sularındaki Kimyasal Ölçümlerin, Aylara Göre Değerleri. (Bütün Akvaryumlardan Alınan Değerlerin Ortalaması)

Kimyasal Parametreler	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs
°C	9-12	9-10	8.5-10	8.5-10	13-15
pH	7.6-8.4	7.2-8.1	7.8-8.4	8.3-8.8	7.8-8.0
Toplam Asidite*	0-80	8-12	18-20	0-5	2-10
Toplam Alkalinite*	300-460	288-290	290-322	376-400	317-346
Toplam Sertlik**	34-38	35-37	30-34	30-32	29-32
Serbest Oksijen***	6.0-8.8	8.9-10.0	8.1-10.0	9.0-10.5	7.3-8.5

\* mg/L CaCO<sub>3</sub>

\*\* Fransız Sertlik Derecesi (F°S)

\*\*\* mg/L O<sub>2</sub>

Suda, yemden ileri gelen selenyum, ppb düzeyinde bulundu. Ayrıca kontrol ve yüksek konsantrasyonda selenyumla beslenen balıkların bulunduğu akvaryumlardaki selenyum miktarları, kontrol grubu için 1.5-3.6 ppb olmasına rağmen, 20 ppm Se grubu için 8.05-35.97 ppb olarak bulundu.

### 3. 2. Yem Analiz Sonuçları

Yem analizleri Weende Analiz metotları uygulanarak, kuru madde; 105° C'de kurularak, ham kül; 550° C'de yakılarak, ham protein; Kjeldahl metodu ile (yağ yakma, destilasyon, titrasyon), ham yağ; ether ekstraksiyonu ile tayin edildi (Akkılıç ve Sürmen, 1979). Balıklara verilen yemde kuru madde, ham protein, ham yağ ve ham kül miktarları % olarak tayin edildi (Tablo 3. 2).

Tablo 3. 2. Yem Analiz Sonuçları

	%
Kuru Madde	92.03
Ham Protein	44.88
Ham Yağ	11.05
Ham Kül	13.66

### 3. 3. Yemdeki Selenyumun Sindirilmesi

Yemdeki selenyum miktarının sindirilmesini bulmak için;

$$\text{Sindirim Katsayısı \%} = \frac{(Y_{\text{Se}} - D_{\text{Se}})}{Y_{\text{Se}}} \times 100$$

formülü kullanıldı. Burada;

$Y_{\text{Se}}$  = Yemdeki Se Miktarı

$D_{\text{Se}}$  = Dışkıdaki Se Miktarı

Tablo 3.3'de görüldüğü gibi, selenyumun sindirilmesi uygulanan deney grupları arasında fazla bir fark olmamasına karşılık, kontrol grubu yemdeki selenyum, en az sindirilen miktar olduğu görüldü.

Tablo 3. 3. Farklı Miktarda Selenyumlu Yemle beslenen Balıklarda Selenyumun Sindirim Katsayıları

Deney Grubu	Yemdeki Se (mg/kg)	Dışkıdaki Se Sindirim Katsayısı (mg/kg)	(%)
Kontrol	0.5341 ± 0.0388	0.2307 ± 0.2327	56
2.5 ppm	3.0014 ± 0.1221	0.6860 ± 0.2905	77
5.0 ppm	6.6317 ± 0.3236	1.6980 ± 1.2259	74
10.0 ppm	11.8673 ± 0.1236	2.8501 ± 1.6467	76
20.0 ppm	21.9663 ± 0.1258	4.8161 ± 2.8266	78

### 3. 4. Balıklar

Akvaryumlara yerleştirilen balıkların aylık ağırlık ve uzunlukları alındı. Deney sürecinde balıkların fiziksel görünüşlerinde de değişiklik gözlemlendi. Balıkların dış görünüşlerinde artan selenyum konsantrasyonuna bağlı olarak deride siyahlaşma, özellikle sırt, baş ve kuyruk kısmında (Şekil 3. 1), 10.0 ve 20.0 ppm Se'lu yemle beslenen balıklarda karında şişkinlik, gözlerde dışarı fırlama, karın kısmında su toplaması, kuyruk-karın bölgesinde kanlanma (Şekil 3. 2) ve solungaç filamentlerinde yapışma gözlemlendi (Şekil 3.3). Çalışma 3 tekrar halinde yapıldı ve bir defa 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıkların bulunduğu akvaryumda ölüm gözlemlendi.

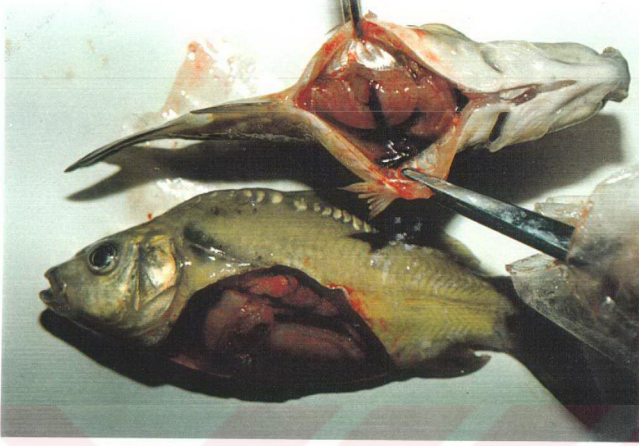


a

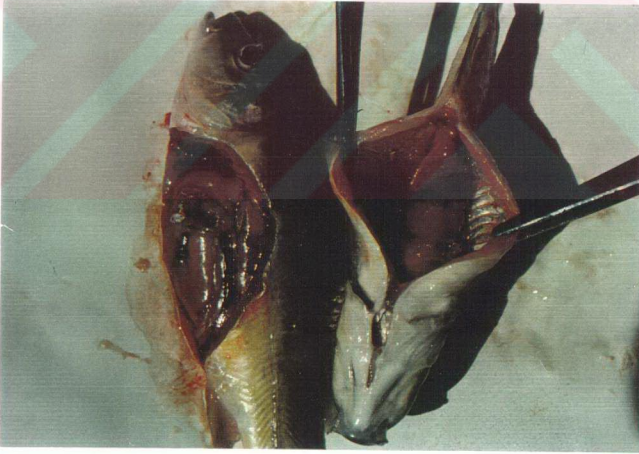


b

Şekil 3. 1. Balıkların Dış Görünüşleri. a; Kontrol Grubu, b; 20 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıklar..



a



b

Şekil 3. 2. Balıkların İç Organlarının Görünüşü. a; Kontrol Grubu, b; 20 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıklar.



Şekil 3. 3. Kontrol grubu ve 20 ppm Se'lu Yemle Beslenen Balıkların Solungaçlarının Görünüşü.

#### 3. 4. 1. Balıkların Ağırlık, Uzunluk ve Ağırlık-Uzunluk İlişkisi

Akvaryumlardaki balıkların ağırlık ve uzunluklarındaki artış, Tablo 3. 4. ve Tablo 3. 5'de verilmiştir. Ağırlık ve uzunluk her grup için sürekli bir artış göstermiştir. Ağırlıkta en iyi artış, kontrol ve 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda görülmüştür. 10 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda 3. aya kadar hızlı bir artış olurken daha sonraki aylarda bu artış yavaşlamıştır (Tablo 3. 4). Uzunluk artışında kontrol grubunda 2. aya kadar artış normal iken, 3. aydan sonra artış fazla olmamıştır. 2.5, 5.0, 10.0, ve 20.0 ppm Se içeren yemle beslenen balıkların uzunluklarında 2. aydan

3. aya geçerken bir yavaşlama gözlenmiştir (Tablo 3. 5).

Bu sonuçlara göre, selenyumun balığın ağırlık ve uzunluğuna bir etkisi olmadığı söylenebilir.

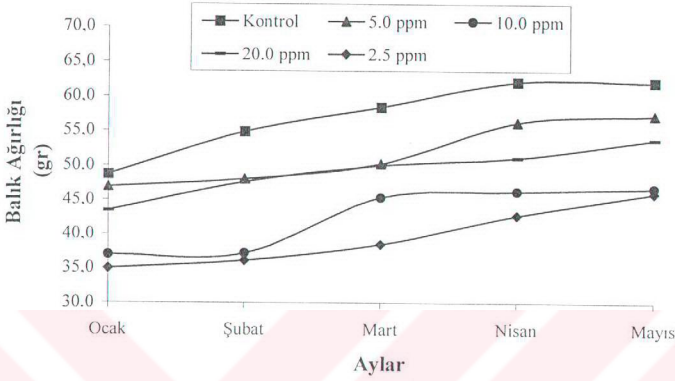
Tablo 3. 4. Akvaryumlardaki Balıkların, Aylara Göre Ağırlıkları.

Yemdeki Se miktarı	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	% Ağırlık Artışı
Kontrol	48.72	54.85	58.33	61.09	62.07	+ 27.40
2.5 ppm	34.95	36.09	38.41	42.48	45.95	+ 31.90
5.0 ppm	46.92	48.02	50.27	56.18	57.26	+ 22.00
10.0 ppm	36.26	37.15	45.27	46.20	46.74	+ 29.00
20.0 ppm	43.41	47.56	49.98	51.10	53.76	+ 23.80

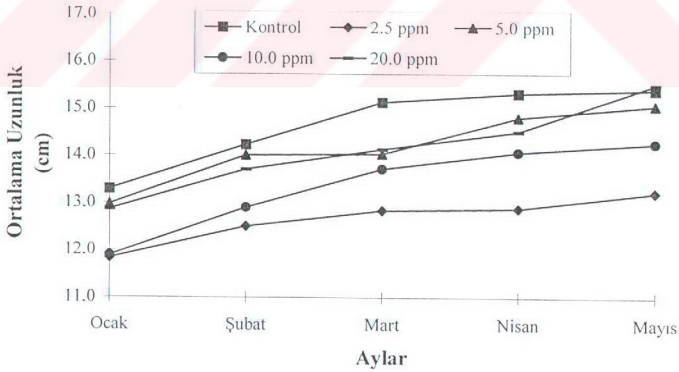
Tablo 3. 5. Akvaryumlardaki Balıkların, Aylara Göre Uzunlukları.

Yemdeki Se miktarı	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	% Uzunluk Artışı
Kontrol	13.29	14.23	15.13	15.32	15.40	+ 15.00
2.5 ppm	11.83	12.50	12.83	12.88	13.22	+ 11.75
5.0 ppm	12.97	14.00	14.03	14.80	15.07	+ 16.00
10.0 ppm	11.89	12.90	13.71	14.06	14.26	+ 19.00
20.0 ppm	12.86	13.70	14.13	14.51	15.51	+ 20.00

Selenyumlu yemlerle beslenen balıkların aylara göre ağırlık ve uzunluk artışları Şekil 3. 4 ve 3. 5'de verilmiştir.



Şekil 3. 4. Selenyumlu Yemlerle Beslenen Balıkların Aylara Göre Ağırlıkları



Şekil 3. 5. Selenyumlu Yemlerle Beslenen Balıkların Aylara Göre Uzunlukları

Tablo 3. 6. Farklı gruplardaki Balıkların 5 Aylık Ortalama Ağırlıkları

Gruplar	Ay	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol	5	286.0	57.21	31.54
2.5 ppm	5	198.1	39.62	21.29
5.0 ppm	5	258.7	51.73	22.35
10.0 ppm	5	212.3	42.46	24.77
20.0 ppm	5	245.8	49.16	15.30

Tablo 3. 7. Deney grupları Arasında Ağırlığın İstatistiksel verileri

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	1005	4	251.30	10.9	$7 \times 10^{-5}$	2.866
Gruplar İçinde	461	20	23.05			

Balık ağırlıklarının varyans değerlerine göre, 20 ppm Se içeren yemle beslenen balıkların 5 aylık sürede beslenmeleri sonucundaki ağırlık artışı birbirine yakın olduğu, kontrol grubunda ise bu değer büyük olduğu Tablo 3. 6'da görülmektedir. İstatistiksel olarak gruplar arasında ağırlık artışında, Tablo 3. 7'de görüleceği gibi önemli bir fark olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.001$ , Anova Tek Faktör).

Tablo 3. 8. Farklı gruplardaki Balıkların 5 Aylık Ortalama Uzunlukları

Gruplar	Ay	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol	5	73.37	14.67	0.816
2.5 ppm	5	63.26	12.65	0.276
5.0 ppm	5	70.87	14.17	0.674
10.0 ppm	5	66.82	13.36	0.949
20.0 ppm	5	70.71	14.14	0.961

Tablo 3. 9. Deney Grupları Arasında Uzunluğun İstatistiksel verileri

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	12.64	4	3.161	4.299	0.011	2.866
Gruplar İçinde	14.71	20	0.735			

Balıkların gruplar içindeki uzunluklarının Varyans değerlerine göre (Tablo 3. 8) en düşük 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıkların uzunluk ölçümlerinde görüldü. En büyük varyans değeri ise 20.0 ppm Se içeren yemle beslenenlerde görüldü. Deney grupları arasındaki uzunlukların farkı, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ , Anova Tek Faktör) (Tablo 3. 9)

### 3. 4. 2. Balıkların Büyüme Oranının Belirlenmesi

Gerçek Büyüme Oranı: İki yıl arasındaki gerçek büyümedir. Gerçek büyüme, esasında balığın yıllık büyümesidir.

Relatif Büyüme: Büyüme yüzdesi olarak tanımlanır. Bu yöntemde iki farklı zaman arasındaki büyüme birinci zamanın başlangıç yüzdesi olarak bilinir. Bağlı büyüme genellikle ağırlık esas alınarak hesaplanır:

Bağlı Büyüme Oranı (%) = h ise,

$$\%h = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100$$

$W_0$  = Başlangıçtaki ortalama ağırlık

$W_1$  = t zamandaki ortalama ağırlık

Çalışmada kullanılan balıkların, 5 aylık bağlı büyüme oranları Tablo 3. 10'da verilmiştir. Buna göre, 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda büyümenin en iyi olduğu görüldü. Fakat ilk denemede 2.5 ppm grubu balıklarının hepsi öldü. Yapılan diğer iki tekrarda ise ölüm görülmedi.

Tablo 3. 10. Balıklarda Bağlı Büyüme Oranı

Yem	$W_0$	$W_{5\text{ ay}}$	%h
Kontrol	48.72	62.07	27.4
2.5 ppm Se	34.95	45.95	31.4
5.0 ppm Se	46.92	57.26	22.0
10.0 ppm Se	36.92	46.26	25.0
20.0 ppm Se	43.41	53.76	23.0

### 3. 4. 3. Kondisyon Faktörü

Ağırlık ve uzunlukları alınan balıkların kondisyon faktörleri;

$$K = \frac{W}{L^3} \cdot 10$$

formülü yardımı ile her bir deney grubu için aylık olarak hesaplandı. Daha sonra aylık kondisyon faktörlerinin ortalaması alınarak, her bir deney grubu için ortalama kondisyon faktörü bulundu.

Tablo 3. 11. Farklı Miktarlarda Selenyum İçeren Yemle Beslenen Balıklarda Ortalama Kondisyon Faktörü (Her bir grup için, n = 60).

Yemdeki Selenyum Miktarı (mg/kg)					
Kondisyon Fak.	Kontrol grubu	2.5ppm	5.0 ppm	10.0ppm	20.0ppm
K	1.8123	1.8731	1.8253	1.7837	1.7609

Tablo 3. 11'de görüldüğü gibi kondisyon faktörü artan selenyum miktarına bağlı olarak azalma göstermiştir.

### 3. 5. Balıkların Dışkısında Selenyum Miktarları

Şekil 3. 6'da görüldüğü gibi yemdeki selenyum miktarına bağlı olarak, dışkı ile atılan selenyum miktarı artmıştır. Dışkıda tespit edilen selenyum miktarının aynı gruptaki bireyler arasındaki varyans değerlerine bakıldığında; 20.0 ppm Se ile beslenen balıkların dışkısındaki Se miktarları, diğer gruplara göre farklılık göstermekle birlikte

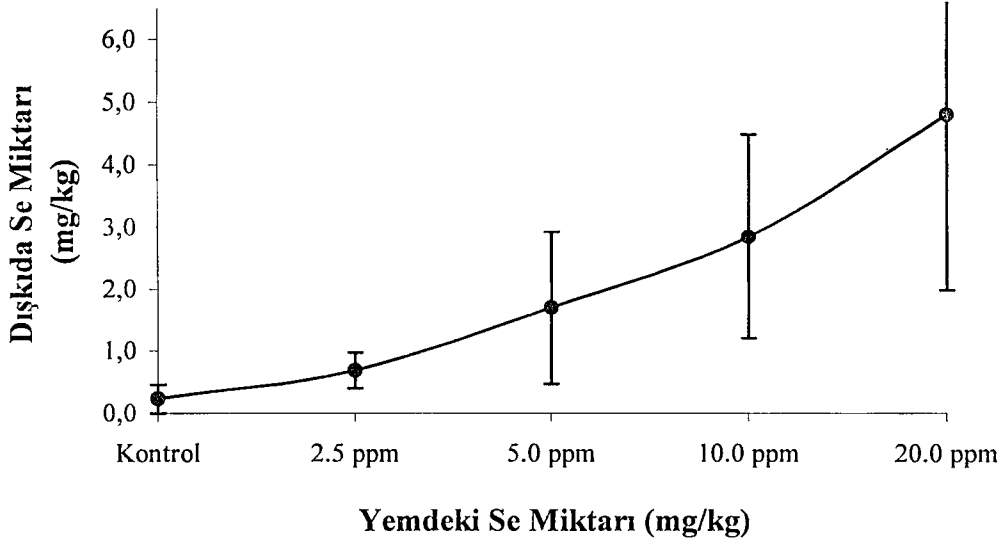
(Tablo 3. 12), gruplar arasında dışkıda tespit edilen selenyum miktarının da oldukça önemli olduğu ( $P < 0.001$ ) belirlenmiştir (Tablo 3. 13) (Anova Tek Faktör).

Tablo 3. 12. Dışkı Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg) .

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	22	5.075	0.2307	0.0541
2.5 ppm Se	22	12.852	0.5842	0.0844
5.0 ppm Se	22	37.356	1.6980	1.5027
10.0 ppm Se	22	62.703	2.8501	2.7117
20.0 ppm Se	22	105.955	4.8161	7.9898

Tablo 3. 13. Dışkı Örneklerindeki Selenyum Miktarlarının İstatistiksel Verileri

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	305.209	4	76.306	30.905	$5.31 \times 10^{-17}$	2.4582
Gruplar İçinde	259.196	105	2.468			



Şekil 3. 6. Farklı miktarlarda Selenyumlu yemlerle Beslenen Balıkların Dışkısında

Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.

### 3. 6. Balık Dokularında Selenyum Miktarı

Analiz sonucu kas dokuda belirlenen selenyum miktarları Tablo 3. 14'de, deride tespit edilen selenyum miktarı ise Tablo 3. 15'de verilmiştir. Veriler istatistiksel olarak analiz edildiğinde, her bir grubun kendi bireylerinde tespit edilen selenyum miktarlarının varyans değerlerine göre 20.0 ppm selenyum grubu dışında diğer gruplarda farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir. gruplar arasında yapılan İstatistiksel Analiz sonuçlarına göre, dışkıda bulunan selenyum miktarlarının önemli olduğu ( $P < 0.001$ ) tespit edilmiştir (Tablo 3.16, 3. 17) (Anova Tek Faktör).

Tablo 3. 14. Et Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	4.00	0.1999	0.0036
2.5 ppm Se	20	5.22	0.2608	0.0036
5.0 ppm Se	20	9.15	0.4576	0.0561
10.0 ppm Se	20	13.86	0.6931	0.0768
20.0 ppm Se	20	19.03	0.9516	0.1164

Tablo 3. 15. Deri Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	3.469	0.1734	0.0038
2.5 ppm Se	20	4.648	0.2324	0.0019
5.0 ppm Se	20	11.022	0.5511	0.1446
10.0 ppm Se	20	14.423	0.7211	0.0700
20.0 ppm Se	20	23.463	1.1732	0.2505

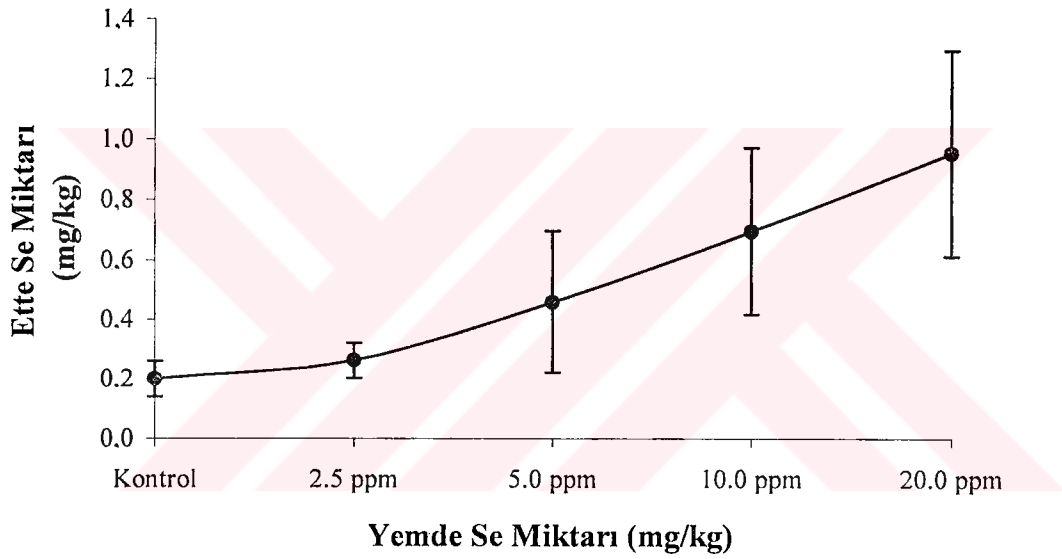
Tablo 3. 16. Et Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	7.791	4	1.947	37.961	$6.05 \times 10^{-19}$	2.4674
Gruplar İçinde	4.874	95	0.051			

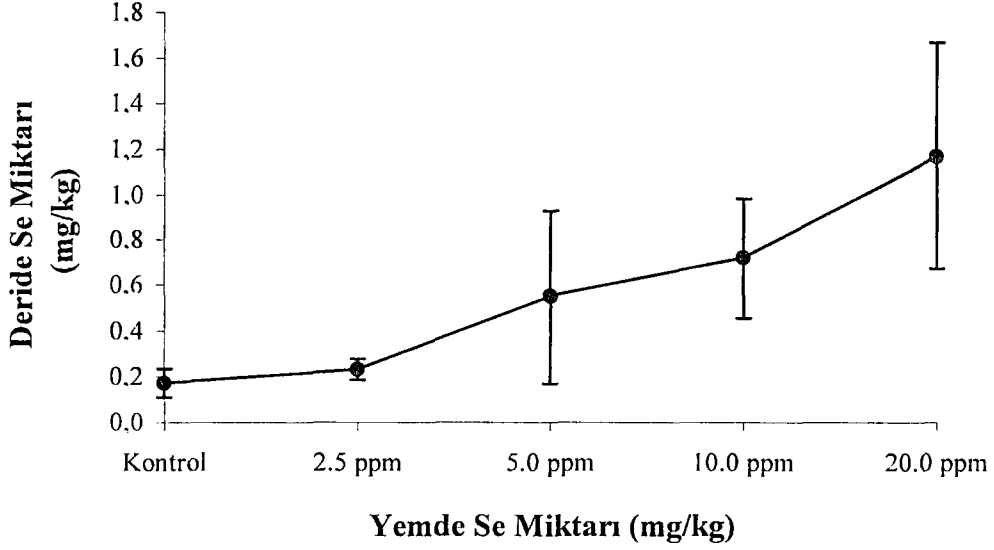
Tablo 3. 17. Deri Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	13.164	4	3.291	34.945	$6.34 \times 10^{-18}$	2.4674
Gruplar İçinde	8.947	95	0.094			

Şekil 3. 7 ve 3. 8'de görüldüğü gibi artan selenyum miktarına bağlı olarak et ve deride selenyum miktarları artmaktadır.



Şekil 3. 7. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Etinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.



Şekil 3. 8. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Derisinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.

### 3. 7. Balık Organlarında Selenyum Miktarları

Bağırsak, solungaç, böbrek ve karaciğer örneklerinde bulunan selenyum miktarları ve her bir grup içindeki bireyler arasındaki varyans değerleri sırasıyla, Tablo 3. 18, 3. 19, 3. 20, 3. 21'de verilmiştir. Bulunan varyans değerlerine göre her bir grup içindeki balıkların organlarındaki selenyum miktarı, 20.0 ppm Se grubu dışında diğerlerinde fazla bir fark bulunmamıştır. Yani gruplar içindeki organlarda bulunan selenyum miktarları birbirine yakın değerler tespit edilmiştir.

Tablo 3. 18. Bağırsak Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	2.970	0.1485	0.0038
2.5 ppm Se	20	9.296	0.4648	0.0108
5.0 ppm Se	20	12.995	0.6498	0.0384
10.0 ppm Se	20	18.211	0.9106	0.0446
20.0 ppm Se	20	42.092	2.1046	0.8811

Tablo 3. 19. Solungaç Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	3.919	0.1960	0.0056
2.5 ppm Se	20	6.267	0.3134	0.0084
5.0 ppm Se	20	7.734	0.3867	0.0158
10.0 ppm Se	20	10.741	0.5370	0.0468
20.0 ppm Se	20	20.251	1.0126	0.0319

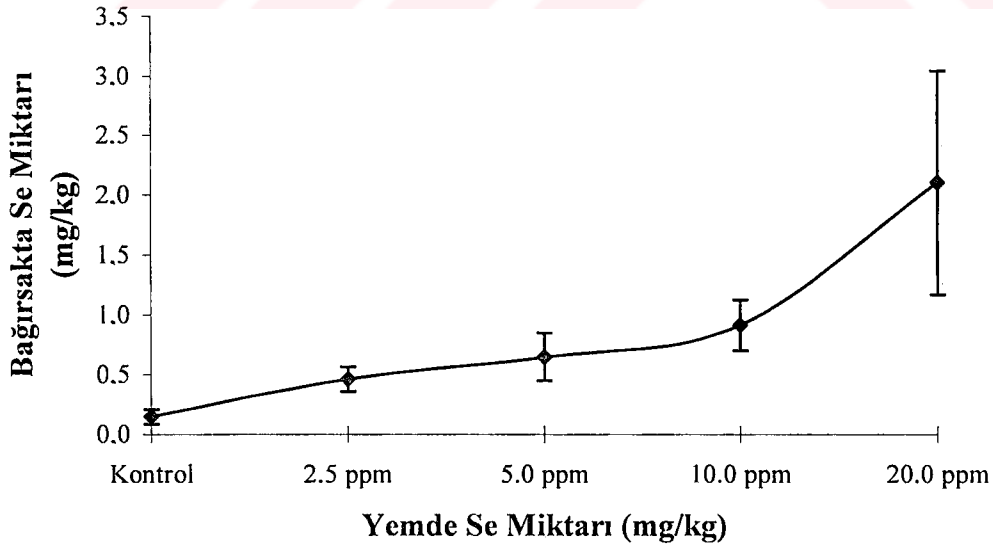
Tablo 3. 20. Böbrek Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg).

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	13.173	0.6586	0.0308
2.5 ppm Se	20	20.016	1.0008	0.0372
5.0 ppm Se	20	25.862	1.2931	0.2127
10.0 ppm Se	20	33.203	1.6601	0.1939
20.0 ppm Se	20	40.397	2.0199	0.7097

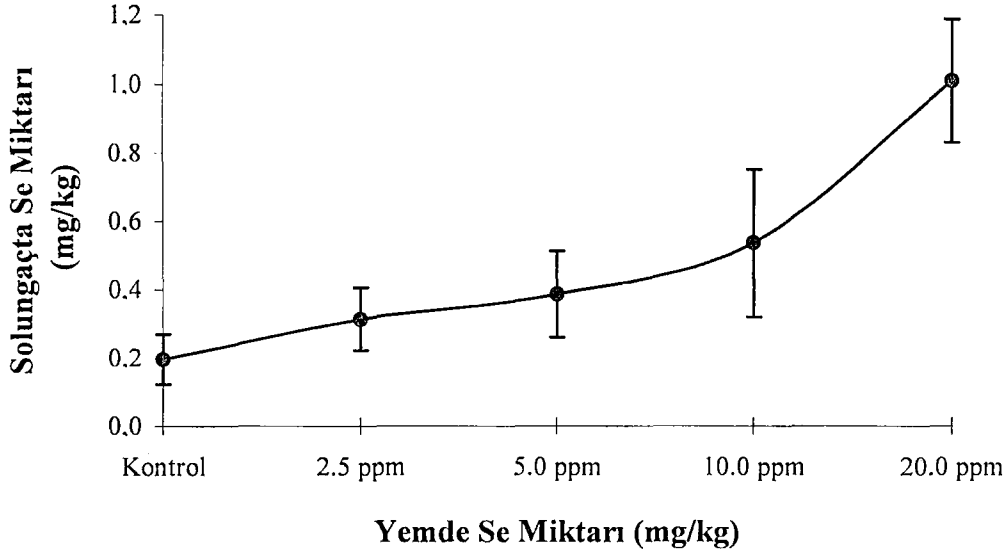
Tablo 3. 21. Karaciğer Örneklerinde Ortalama Selenyum Miktarları (mg/kg)

Gruplar	n	Toplam	Ortalama	Varyans
Kontrol grubu	20	20.661	1.0331	0.1179
2.5 ppm Se	20	48.016	2.4008	0.9062
5.0 ppm Se	20	58.657	2.9328	0.8606
10.0 ppm Se	20	75.756	3.7878	1.0906
20.0 ppm Se	20	102.023	5.1012	2.2176

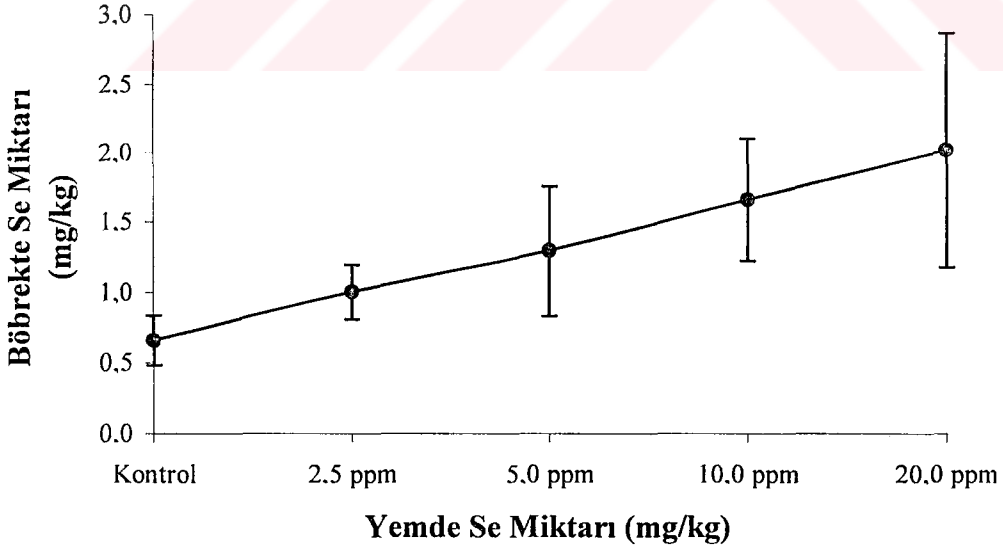
Grupların beslendiği yemdeki selenyum miktarı ile bu organlarda tespit edilen Se miktarı arasında doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir. Yani yemdeki selenyum miktarının artmasına bağlı olarak organlardaki birikim de artmıştır (Şekil 3. 9, 3. 10, 3. 11, 3. 12).



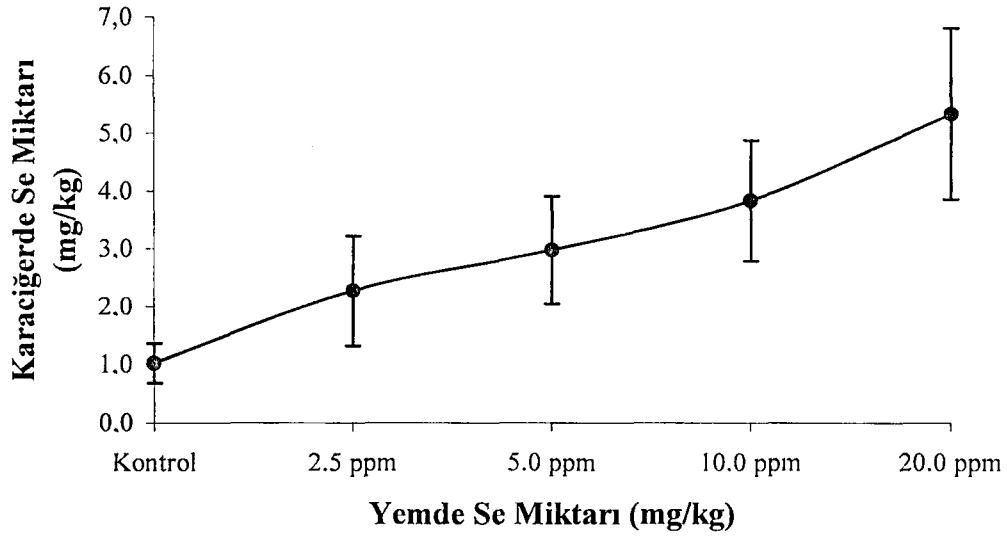
Şekil 3. 9. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Bağırsağında Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.



Şekil 3. 10. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Solungaçında Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.



Şekil 3. 11. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Böbreğinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı.



Şekil 3.12. Farklı Miktarlarda Selenyumlu Yemle Beslenen Balıkların Karaciğerinde Ortalama Selenyum Miktarlarının Dağılımı .

Organlarda, gruplar arasında yapılan istatistiksel analizler Tablo 3. 22, 3. 23, 3. 24, 3. 25'de verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler göstermiştir ki, gruplar arasında önemli fark bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (Anova Tek Faktör).

Tablo 3. 22. Bağırsak Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	45.162	4	11.290	57.673	$1.3 \times 10^{-24}$	2.4675
Gruplar İçinde	18.598	95	0.196			

Tablo 3. 23. Solungaç Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	8.072	4	2.018	93.014	$5.4 \times 10^{-32}$	2.4675
Gruplar İçinde	2.061	95	0.022			

Tablo 3. 24. Böbrek Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	22.906	4	5.726	24.180	$8.18 \times 10^{-14}$	2.4675
Gruplar İçinde	22.499	95	0.237			

Tablo 3. 25. Karaciğer Örneklerinde Selenyumun İstatistiksel Verileri.

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F kısıtlaması
Gruplar Arasında	185.096	4	46.274	44.555	$5.2 \times 10^{-21}$	2.4675
Gruplar İçinde	98.665	95	1.039			

#### 4. TARTIŞMA

Biyolojik kökenli materyallerde selenyum tayini oldukça güç ve problemlidir. Ortamdaki serbest selenyumun iyon haline dönüşebilmesi için, parçalama işleminde kullanılan asidin uygunluğu ve sıcaklığın yüksek olması oldukça önemlidir. Biyolojik materyaller genellikle organik bir yapıya sahip olduklarından, doğru bir analiz için organik maddenin tamamen parçalanması gerekmektedir. Çünkü selenyumun bir kısmı proteinlerin yapısına girdiğinden, ortamdaki proteinler ve yağların tamamen parçalanması gerekir.

Bu çalışmada, uygun çözücü ortamının bulunması için değişik asit karışımları ile açık ve kapalı ortamda (teflon bomba) çözme işlemi uygulandı (Tablo 2. 2). Her iki ortamda uygulanan çözme işleminde,  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  (3/2) asit karışımı tercih edildi. Açık ortamda yapılan çözme denemelerinde, çözünmenin tam gerçekleşmediği, beyaz tortuların oluştuğu görüldü. Ayrıca selenyum analizinde, organik örneğin yüksek sıcaklıkta parçalanması gerektiğinden açık ortamın uygun olmadığı belirlendi. Selenyumun uçuculuğu fazla olduğundan, istenen yüksek sıcaklığa getirildiğinde, buharlaşması sonucu, değerler beklenenden daha düşük bulundu. Bu nedenle çözme işlemi, kapalı ortamda, yüksek basınçta ve yüksek sıcaklıkta gerçekleştirildi. Ayrıca bu yöntemin bir başka avantajı da kirliliğe neden olmamasıdır. Hansson vd. (1989), selenyumun parçalama basamağını,  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  asit karışımını kullanarak kapalı ortamda  $\text{O}_2$  atmosferi kullanarak yapmışlar ve bu işlemin daha güvenilir olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca teflon bombalarda çözme işlemi, düşük sıcaklıkta çalışabilme, zamandan tasarruf edilmesi ve selenyum kaybının olmaması nedeniyle

birçok araştırmacı tarafından tercih edilmiştir (Dörner, 1990; Negretti, 1990; Knapp, 1985). Fakat bu literatürlerde genellikle  $\text{HNO}_3$  ve  $\text{HClO}_4$  ile beraber  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de kullanılmıştır. Yapılan çözücü denemelerinde ise bu asidin ilave edilmesinin fazla etkili olmadığı ve organik maddeyi yakarak siyahlaşma meydana getirdiği belirlendiğinden kullanılmadı.

Çözme işleminde sonra ortamda oluşan  $\text{Se(VI)}$ 'nın,  $\text{Se(IV)}$ 'e indirgenmesi gerekmektedir. Bu işlem için literatürlerde en çok uygulanan yöntem;  $\text{HCl}$  ile ortamın 5M  $\text{HCl}$ 'li olacak şekilde asitlendirilmesi ve  $80^\circ \text{C}$ 'de su banyosunda 30 dakika bekletilmesi şeklindedir. Selenyum tuzlarının uçuculuğu ( $95^\circ \text{C}$ 'nin üzerine çıkıldığında),  $\text{HCl}$  konsantrasyonunun fazlalığı ve ısıtma süresinin uzunluğu, selenyum düzeyinin düşük çıkmasına neden olmaktadır (Lloyd vd., 1983; Negretti vd., 1990; Piwonka vd., 1985; Fairris ve Delves, 1988). Çalışmada uygulanan indirgeme işlemi, ortam 5 M  $\text{HCl}$ 'li olacak şekilde derişik  $\text{HCl}$  ilave edildi ve  $80^\circ \text{C}$ 'de 30 dakika bekletilerek yapıldı.

Selenyum tayini için başlangıçta spektrofotometrik yöntemle,  $\text{Se(IV)}$ -DAN kompleksi oluşturularak yapılması düşünöldü. Uygulamada, yöntemin uzun zaman gerektirmesi, kimyasal maddenin fazla harcanması, analiz numunesinin fazla olması ve yöntemin güvenilirlik düzeyinin düşük olması nedeniyle çalışmada, daha pratik ve güvenilirlik düzeyi oldukça yüksek olan HG-AAS yönteminin kullanılmasına karar verildi. Denemelerde,  $\text{Se(IV)}$ -DAN kompleksi oluşturularak bir seri standart hazırlandı. Spektrofotometrede absorbansları ölçölen bu değerler grafiğe geçirildiğinde (Şekil 2. 2), tam bir doğrusallık görölmedi (regrasyon değer 0.8922) ve tekrarlama işleminde bulunan selenyum miktarlarının standart sapmaları oldukça yüksek bulundu. Spektrofotometre kullanılarak yapılan analizde, kontrol yemindeki selenyum miktarı

0.349 ppm olmasına rağmen, HG-AAS'de bu değer 0.534 ppm Se olarak tespit edildi.

Çalışmada kullanılan yemler, sazan balığının beslenmesi için gerekli besin maddelerini fazlasıyla karşılamaktadır. Kullanılan yemdeki protein miktarı % 44.88 olarak bulunmuştur. Bu değer, literatürlerde belirtilen (sazan balığı için gerekli protein miktarı %25-40) protein miktarının üzerindedir. Yemde analiz edilen diğer maddeler de, sazan balığı için literatürlerde bildirilen miktarlara uygunluk göstermektedir (Sarı ve Çakmak, 1994 ; Çelikkale, 1988).

Suda yapılan kimyasal analizlerde pH, toplam alkalinite ve asidite, toplam sertlik değerlerinin su sıcaklığına ve kirliliğe bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Ayrıca suda yapılan kimyasal analiz sonuçlarındaki farklılığın suyun iki günde bir temizlenmesinden ileri geldiği söylenebilir. Sıcaklığın fazla olmaması selenyumun toksik etki göstermemesine neden olmuştur. Su sıcaklığı ile selenyum toksisitesi arasında doğrusal bir ilişkinin olduğu bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Ellis vd., 1937; Watenpaug ve Beitinger, 1985).

Yemin içerdiği selenyum miktarı arttıkça, suda çözünen selenyum miktarında da artış görüldü. Kontrol grubunun bulunduğu akvaryum suyunda, selenyum miktarı 1.5-3.6 ppb arasında iken, en yüksek 20 ppm Se'lu yemle beslenen balıkların bulunduğu akvaryum suyunda bu değer 8.05-35.97 ppb Se olarak tespit edildi. Bu sonuçlardan da görüldüğü gibi balık tarafından alınmayan yemde bulunan selenyumun, az da olsa suda çözünebildiği düşünülebilir. Yemdeki selenyum miktarına göre oldukça düşük olan bu değer, suyun iki günde bir temizlenmesi sonucu, balıklar bu ortama uzun süre maruz kalmayacaklarından, balık üzerinde önemli bir etkisinin olmayacağı söylenebilir. Daha sağlıklı ve doğru sonuç elde etmek için sudaki selenyum miktarı en düşük düzeyde tutulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla suya balığın ihtiyacı kadar yem katılmasına ve suyun

sık sık değiştirilmesine büyük önem verilmiştir. Hansson vd. (1989) yapmış oldukları çalışmada, belirli konsantrasyonlarda selenyum içeren sulardaki mavi solungaç balıklarının, bu ortamda uzun süre kalmaları halinde, karaciğer ve kaslarındaki selenyum düzeyleri, sudaki miktarın 2-3 katına çıktığını, sonuçta balıkların hepsinin öldüğünü belirlemişlerdir. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi uzun süre selenyuma maruz kalan balıklarda selenyum birikimi olmaktadır.

Yemle verilen selenyumun büyük bir kısmı vücutta tutulmasına rağmen bir kısmı da dışkı ile atılmaktadır. Tablo 3.3'de görüldüğü gibi, yemle verilen ve dışkı ile atılan selenyum miktarlarına bağlı olarak selenyumun sindirilmesi, en yüksek 20 ppm Se'lu yemle beslenen balıklarda görülmüştür. Dışkı ile, dışkı içerisinde bulunan sindirim enzimleri, ölmüş bağırsak hücreleri, parazit, protozoon gibi yemlerden kaynaklanmayan, diğer bir değişle metabolik (endojen) kökenli maddeler de atılır. Selenyumun sindirilme katsayısı bulunurken bu metabolik kökenli maddeler ihmal edilmiştir. Selenyumun sindirim katsayısıyla ilgili herhangi bir bilgi literatürlerde mevcut değildir ve bu konuda çalışma bulunamamıştır. Bu nedenle bu sonuç, çalışmanın diğer bir yeniliğidir.

Her biri 5 ay süren ve 3 defa tekrarlanan bu çalışmada birinci periyodunda 2.5 ppm'lik yemle beslenen balıklarda 4 ay sonra ölüm gözlemlendi. Yapılan incelemede, bu ölümlerin nedeninin selenyumdan değil, suda çözünmüş oksijen miktarının düşmesinden (3.8 ppm) olduğu sanılmaktadır. Ölen balıkların doku ve organlarındaki selenyum düzeylerinde bir anormallik görülmemiştir. Aynı şartlarda yapılan 2. ve 3. tekrarlarda ise 2.5 ppm Se'lu yemle beslenen balıklarda ölüm gözlenmemiştir.

Çalışmada, kondisyon faktörleri ve bağıl büyüme oranlarına göre, en iyi büyümenin 2.5 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda olduğu belirlenmiştir. Birçok

araştırıcı tarafından, balıkların türüne bağlı olarak belirtilen, beslenmedeki selenyum düzeyinde fark olduğu görülmüştür (Amund vd. 1989; Gatlin ve Wilson 1984; Lo ve Sandy 1980; Cleveland vd. 1993).

Bu çalışmada, 10.0 ve 20.0 ppm Se içeren yemle beslenen balıklarda, yüzme bozuklukları, karında şişkinlik, gözde fırlama, dışkı alırken anüsten kanlı peltemsi bir sıvının gelmesi (Şekil 3. 3), 3. aydan sonra balıklarda belirgin bir renk değişimi (Şekil 3. 5) (siyahlaşma) ve 2 balıkta ise lordosis (kasta eğilme) gözlendi. 10 ve 20 ppm Se'lu grup balıklarının solungaçlarında deformasyonlar belirlendi (Şekil 3. 1) Görülen bu fiziksel bozukluklara benzer bulgular, 30 ppm Se ile 20 gün boyunca beslenen mavi solungaç balığı (Stephen vd. 1987) ve kanal yayın balığında da (John, 1972) gözlenmiştir.

Çalışmada, yeme katılacak Se miktarı belirlenirken literatürlerde belirtilen, balıklarda selenyum ihtiyacı ve toksik dozu göz önüne alındı. Yapılan denemelerde belirtilen bu değerlerle LC<sub>50</sub> değeri belirlenememesine rağmen, selenyumdan ileri gelen bazı toksik septomlar görüldü. Literatürlerde, farklı balık türleri için, belirlenen selenyumun ihtiyaç ve toksik düzeylerinde farklılık olduğu görüldü (Civil ve Mc Donald 1978; Quercig vd., 1984; Anonymous, 1983; Lovell, 1989; Gatlin ve Wilson 1984; Coyle vd. 1993; Hilton ve Hodson, 1983; Hilton vd., 1980; Hodson ve Hilton, 1983; Halter 1980; Amund vd. 1989; Paston vd. 1976; Cadwell vd. 1976; Adams 1976; Klaverkamp vd. 1983; Bell vd., 1984)

Yapmış olduğumuz çalışmada, selenyum (sodyum selenat) yeme katılarak oral yolla sazan balıklarına verildi ve bu şekilde vücutta birikimi ve etkisi incelendi. Sonuçta, bulunan verilere göre yemdeki selenyum miktarı arttıkça organ, doku ve dışkı ile atılan selenyum miktarında da artış gözlendi. Kontrol grubu balıklarının organ ve

dokularındaki selenyum miktarı,

bağırsak < deri < solungaç < kas < böbrek < karaciğer,

0.146 < 0.173 < 0.196 < 0.199 < 0.658 < 1.033,

şeklinde bulundu. 20 ppm selenyumlu yemle beslenen balıkların organ ve dokularındaki selenyum miktarları ise;

kas < solungaç < deri < böbrek < bağırsak < karaciğer;

0.950 < 1.012 < 1.173 < 2.019 < 2.104 < 5.101

olarak bulundu. Sonuçlara göre her iki durumda da en fazla birikimin karaciğerde olduğu görülmektedir. Buradaki değerlerde, kontrol ve en yüksek konsantrasyon olan 20 ppm selenyumlu yemle beslenen balıkların doku ve organların içerdikleri Se miktarına göre sıralamalarında farklılık gözlenmiştir. Bu farklılık, alınan bağırsak örneklerinin içindeki dışkının tamamen temizlenememesinin sonucu olduğu söylenebilir. Bazı araştırmacılar tarafından da en fazla birikimin karaciğerde, en az birikimin ise kasta olduğunu belirlenmiştir (Sato vd. 1980; Baysal 1988; Lemly 1985).

Bu çalışmada, balıkların doku ve organlarında biriken ve dışkı ile atılan selenyum miktarlarının, yemdeki selenyum miktarının artışına bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Dışkı analizlerinde, dışkı ile atılan selenyum miktarı, kontrol grubu için 0.23 ppm olmasına rağmen, 20 ppm Se'lu yemle beslenen balığın dışkısında bu değer 4.82 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre yemle verilen selenyumun bir kısmı vücutta tutulurken önemli bir kısmı da dışkı ile atılmaktadır.

Bu konuda yapılan çalışmalar göstermiştir ki selenyumun birikme miktarı ve biriktiği bölge, balığın türüne, ortamın şartlarına ve beslenmeye bağlı olarak değişim göstermektedir. Sonuçta en fazla karaciğerde, en az ise, kas ve deride biriktiği, suda yemin tüketilmemesi sonucu açığa çıkan selenyumun etkisinden çok, oral yolla verilen

selenyumun daha fazla önemli olduğu tespit edilmiştir. 10.0 ve 20.0 ppm selenyum ihtiva eden yemle beslenen sazanlarda bazı toksisite septomları tespit edilmiştir. Çalışmada gözlenen ve tespit edilen bulguların literatürlerdeki, farklı balıklar için bulunan değerlerle ve bulgularla ilişkili olduğu görülmüştür. Temel farklılık ise, sazan balığının yüksek konsantrasyona karşı daha dirençli olduğu ve daha yüksek konsantrasyonları tolere edebildiğidir.

Bu çalışma, kullanılan balıklarda biriken selenyum miktarının, balığın ağırlığı veya uzunluğu ile doğrusal bir ilişkisinin olmadığını göstermiştir.



## 5. KAYNAKLAR

- AKKILIÇ, M. ve SÜRME, S., 1979. **Yem Maddeleri ve Hayvan Besleme Laboratuvar Kitabı**. A. Ü. Vet. Fak. Yayınları, 357. Ankara.
- ALPAZ, A. ve HOŞSUCU, H., 1989. **Tarla Balıkçılığı ve Pratik Sazan Üretimi**. E. Ü. Su Ürünleri Y. O. Yayınları, 58, İzmir, 13.
- AMUND, M., HARALD, S. ve KAARE, J., 1989. A Comparison of Growth Rate and Trace Element Accumulation in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fry Fed Four Different Commercial Diets. **Aquaculture**, 79, 267-273.
- ANONY., 1989. **Irrigation-Induced Water Quality Problems**. National Research Council. National Academy Press. Washington, D. C., 41-50.
- ANONY., 1985. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association. Washington, 1268.
- ANONYMOUS, 1981. **Nutrient Requirements of Cold Water Fishes**. National Res. Council, National Academy Pres., Washington D. C.
- AUSTRENG, E., 1978. Digestibility Determination in Fish Using Chromic Oxide Marking and analysis of Contents from Different Segments of Gastro Intestinal Tract. **Aquaculture**, 13, 265-272.
- BAYSAL, A., 1988. Distribution Accumulation of Selenium-75 by time in Different Organs and Tissues of "Scardinius Erythrophthalmus" (LINNE). **Doğa J. Zoology**, 12, 2, 180-183.
- BECCETT, G. J., BEECH, S., NICOL, F., WALKER, S. W. ve ARTHUR, J. R., 1993. Species Difference in Thyroidal Iodothyronine Deiodinase Expression and the Effect of Selenium Deficiency on its Activity. **J.Trace Elem. Electrolytes**

- Health Dis.** 7, 123-124.
- BEHNE, D., 1990. Metabolism and Biological Functions of Selenium. **Trace Elements in Health and Nutrition Glinicker**, Berlin. 39, 11-19.
- BELL, J. G., PIRIE, B. J. S., ADRON, J. W., COWEY, C. B., 1986. Some Effects of Selenium Deficiency on Glutathione Peroxidase (EC.1.11.1.9.) Activity and Tissue Pathology in Rainbow trout (*Salmo Gairdneri*). **Br. J. Nut.** 55, 2, 305-311.
- BESSER, J. M., CANFIELD, T. J., LAPOINT, T. W., 1993. Bioaccumulation of Organic and Inorganic Selenium in a Laboratory Food-Chain. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 12, 1, 57-72.
- BIJOLI, K. P., KUMAR, A. C. ve AHMED, J., 1988. 2-(a Pyridyl ) Thioguinaldin amide; A Novel Fluorimetric Reagent in Inorganic Trace Analysis Part 2 A simple Selective Determination of Selenium (IV) at Ultra Trace Levels. **Analytica Chimica Acta**, 206, 345-349.
- BREYER, P. H. ve GILBERT, B. P., 1987. Determination of Selenium (IV) differential Pulse Voltametry of the 3,3'-Diaminobenzidine Piazselenol **Analytica Chimica Acta**, 201, 23-32.
- CHOW, K. W., 1978. **The Minerals in Fish Feed Technology FAO/UNDP Training Course**, ADCP, Rep., 80 / 11 , Rome, 105-108.
- CIVIL, I. D. S. ve McDONALD, M. J. A., 1978. Acute Selenium Poisoning, Case Report, **N. Z. Med. J.**, 87, 354-356.
- CLEVELAND, L., LITTLE, E. E., BUCKLER, D. R., WIEDMEYER, R. H., 1993. Toxicity and Bioaccumulation of Waterborne and Dietary Selenium in Juvenile Bluegills (*Lepomis macrochirus*). **Aquat. Toxicol.** 27, 3-4.

- COMBS, F. G. ve B. S., 1984. The Nutritional Biochemistry of Selenium. **Ann. Rev. Nutr.**, 4, 257-280.
- CORNS, W. T., STOCKWELL, P. B., EBDON, L., HILL, S. J., 1993. Development an Atomic Fluorescence Spectrometer for the Hydride Forming Elements. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. 8, 1, 71-77.
- COYLE, J. J., BUCKLER, D. R., INGERSALL, C. G., FAIREHILD, J. F., MAY, T. W., 1993. Effect of Dietary Selenium on the Reproductive Success of Bluegills (*Lepomis macrochirus*). **Environmental Toxicology and Chemistry**. 12, 3, 551-556.
- CRANE, M., FLOWER, F., HOLMES, D., WATSON, S., 1992. The Toxicity of Selenium in Experimental Fresh Water Ponds. Arch. **Environ. Contam. Toxic.**, 23, 4, 440-452.
- CUMBIE, P. M., ve VANHORN, S. L., 1978. Selenium Accumulation Associated with Fish Mortality and Reproductive Failure. Proc. Annu. Conf. Southeast Assoc. **Fish Wildl. Agencies**. 32, 612-624.
- CUVIN, M. L. A., ve FURNESS, R. W., 1988. Uptake an Elimination of Inorganic Mercury and Selenium by minnows *Phoxinus phoxinus* **Aquatic Toxicolgy**. 13, 205-216.
- ÇELİKKALE, M. S., 1988. **İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği**. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksek Okulu, K. T. Ü. Basımevi. Trabzon. 199-243.
- ÇETİNKAYA, O., 1995. **Balık Besleme**. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fak., Van, 58-105.

- DE LA NOUE, J., ve CHOUBERT, G., 1986. Digestibility in Rainbow trout: Comparison of the Direct and Indirect Methods of Measurement. **Prog. Fish-Cult.**, 48, 190-195.
- DEMİR, N., 1992. **İhtiyoloji**. İstanbul Üniversitesi Yayınları. İ.Ü. Fen Fak. Basımevi. İstanbul. 19-20, 155, 138, 249.
- DOĞAN, M., DOĞAN, P., ve KLOCKENKAMPER, P., 1993. Determination of Trace Elements in Blood-Serum of Patients with Behcet Disease by Total Reflection X-Ray Fluorescence Analysis. **Clinical Chemistry**, 39, 1037-1041.
- DÖKMECİ, İ., 1994. **Toksikoloji; Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi**. II. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi. 122, 354-355.
- DÖRNER, K., SCHNEIDER, K., SIEVERS, E., SCHULZLELL, G., OLDIGS, H. D., ve SCHAUB, J., 1990. Selenium Balances in Young Infants Fed on Breast Milk and Adapted Cow's Milk Formula. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 4, 37-40.
- EISLER, R., 1985. Selenium Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review, Biol. Rep. U. S., **Fish Wildl. Serv.**, 68.
- ELLIS, M. M., MOTLEY, H. L., ELLIS, M. D., ve JONES, R. O., 1937. Selenium Poisoning in Fishes. Proc. Exper. **Biol. Med.**, 36, 519.
- ERBER, D., QUICK, L., ROTH, J., COMMANN, K., 1993. Investigation of Sample Decomposition of Arsenic, Antimony and Selenium in inorganic and Inorganic Materials Using the Wickbold Combustion Method. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**. 346, 4, 420-425.

- FAIRRISS, G. M., LLOYD, ve DELVES, H. T., 1988. Skin Selenium Content Measured by Hydride Generation and Atomic Absorption Spectroscopy. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 2, 181-184.
- FURUKAWA, A., ve TSUKAHARA, H., 1966. One the Acid Digestion Methods for the Determination of Chromic Oxide as an Index Substance in the study of Digestibility of Fish Feed. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish**, 32, 502-506.
- GATLIN, P. M., ve WILSON, R. P., 1984. Dietary Selenium Requirement of Fingerling Channal Catfish . **J. Nutr.**, 114, 627-633.
- GERALD, F. C. ve STEPHANIE, B. C., 1986. **The Role of Selenium in Nutrition.** Academic Press Inc. Newyork. 2-10.
- GILLESPIE, R. B., ve BAUMANN, P. C., 1986. Effects of High Tissue Concentrations of Selenium on Reproduction by Bluegills. **Trans. Am. Fish. Soc.**, 115, 208-213.
- HAIK-KHAN, R., SHAMSA, F., JOHNSTON, P. V., PICCIANO, M. F., ve SEGRE, M., 1993. Effect of Time on Neonatal Immune Response to Dietary Selenium and Fat. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 7, 87-93.
- HALTER, M. T., ADAMS, W. J., JOHNSON, H. E., 1980. Selenium Toxicity to *Daphnia magna*, *Hyallolela azteca* and the Fathead minnow in Hard Water. **Bull. Contam. Toxicol.**, 24, 102-107.
- HANSSON, L., PETERSON, J., ve OLIN, A., 1989. Determination of Selenium in Fish Flesh by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. **Analyst**, 114, 527-528.
- HEPHER, B., 1988. **Nutrition of Pond Fishes.** Cambridge University, Press, Cambridge, 288.

- HEPTER, B.,1988. **Nutrition of Pond Fishes**, Cambridge University Press, Cambridge.
- HERMANUTZ, R. O., ALLEN, K. N., ROUSH, T. H., HEDTKE, S. F., 1992. Effect of Elevated Selenium Concentration on Bluegills (*Lepomis macrochirus*) in Outdoor Experimental Streams. **Environ. Toxicol. Chem.**, 11, 2, 217-224.
- HIGHAM, A. M., ve TOMKINS, R. P. T., 1993. Determination of Selenium and Arsenic in Canned Tuna Fish by Using Electroanalytical Techniques. **Food Chemistry**. 48, 1, 85-93.
- HILTON, J. W., HODSON, P. V., ve SLINGER, S. J., 1980. The Requirement and Toxicity of Selenium in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Nutr.**, 110, 2527.
- HILTON, J.W., ve HODSON, P.V., 1983. Effect of Increased Dietary Carbonhydrate on Selenium Metabolism and Toxicity in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J.Nutr.**, 113, 1241.
- HILTON, J. W., HODSON P. V., ve SLINGER,S. J.,1980. The Requirement and Toxicity of Selenium in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Nutr.**, 110, 2527-2537.
- HODSON, P. V., SPRY, D. J., ve BLUNT, B. R., 1980. Effects on Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) of a Chronic Exposure to Waterborne Selenium. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 37, 233-240.
- HOFFMAN, D. J., SANDERSON, C. J., LECOPTAIN, L. J., CROMARTIE, E., PENDLETON, G. W., 1992. Interactive Effect of Arsenate, Selenium and Dietary Protein on Survival, growth and Physiology in Mallard Duckling. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. 22, 1, 55-62.

- IHNAT, M., 1984. "Atomic Absorption and plazma Atomic Emission Spectrometry". **Modern Methods of Food Analysis. Ift Basic Symposium Series** AVI Publishing Compony, INC Westport Connecticut. 129-261.
- JAISWAL, S. K., ve WAGHRAY, S., 1987. Imparred Behaviour of Cyprinus carpio on Short Term Sublethal Exposure to Selenium. **The First Indian Fischeires Forum**, Proceedings, 289-293.
- JEAN, N., HANOOG, M., ve MOLLE, L., 1983. Study of Some Factors Affecting the Efficiency of the Wet Digestion Procedures for the Total and/or Differential Determination of Selenium in Biological Materials. **Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology**. 2, 859-876.
- JOHANSSON, E., 1993. Selected Papers of 3<sup>rd</sup> ISTERH 92 and 4<sup>th</sup> NTES on Trace Elements in Health and Disease. **J.Trace Elem. Electroly. Health Dis.**, 7, 105-126.
- JOHANSSON, E., ve WESTERMARCK, T., 1993. Studies of Selenium Supplementation with Inorganic and Combined Inorganic-Organic Se in Humans. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 7, 113-114.
- JOHN, E. H., 1972. **Fish Nutrition**. Academic Press. Inc. New York , London, 208, 488-498.
- KENT, K. STEWATR ve JOHN, R. WHITAKER. 1984. **Modern Methods of Food Analysis. Ift Basic Symposium Series** AVI Publishing Company, Inc., Westport Connecticut. 101-161.

- KILINÇ, Y., KUMI, M., TANER, M., ETİZ, L., 1983. Plazma and Erythrocyte Selenium Levels and Urinary Selenium Excretion in Sickle Cell Anemia and Homozygots Beta-Thalassemia. **Turkish Scientific and Research Council Bulletin**, 76-82.
- KLAVERKAMP, J. F., HODGINS, D. A., LUTZ, A., 1983. Selenite Toxicity and Mercury-Selenium Interactions in Juvenile Fish. **Arch. Envir. Contam. Toxic.**, 12, 4, 405-413.
- KNAPP, G., 1985. Sample Preparation Techniques an Important Part in Trace Element Analysis an Environmental Research and Monitoring. **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, 22, 71-83.
- KORPELA, H., 1993. Selenium in Cardiovascular Diseases. **J.Trace Elem. Electrolytes Healt Dis.**, 7, 115.
- LAN, W. G., WONG, M. K., SIN, Y. M., 1994. Comparison of Four Microwave Digestion Methods for the Determination of Selenium in Fish Tissue by Using Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. **Talanta**. 41, 2, 195-200.
- LAU, C. M., URE, A. M., ve WEST, T. A., 1982. The Determination of Selenium by Atomtrapping Atomic Absorbtion Spectrometry. **Anal. Chem., Acta**. 141, 213.
- LEMLY, D. A., 1985. **Toxicology of Selenium in a Freshwater Reservoir:** Implications for Environmental Hazard Evaluation and Safety. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 10, 314-338.
- LLOYD, B., HOLT, P., DELVES, H. T., 1983. The Determination of Selenium in Plazma and Whole Blood. **Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology**, 2, 1129-1141.

- LO, M. T., ve SANDI, E., 1980. Selenium: Occurrence in Foods and its Toxicological Significance- A Review. **J. Environ. Pathol. Toxicol.**,4, 193- 218.
- LOUIS, J. C. ve DOULL, J. M. D., 1975. **Toxicology the Basic Science of Poisons.** McMillan Publishing Co., Inc. New York, 490-492.
- LOVELL, T., 1989. **Nutrition and Feeding of Fish.** Van Nostrand Reinhold New York, 288.
- MAAGE, A., ANDERSEN, K. J., ve JULSHAMN, K., 1989. Determination of Selenium in Marine Samples with graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy. **J. Anal. At. Spectrom.**
- MARTIN, T. D, KOOP, J. F., ve EDGER, R. D., 1985. Determining Selenium in Water, Wastewater, Sediment and Sludge by Flameless Atomic Absorption Spectroscopy. **Atom. Absor. Newsl.**, 14, 109-116.
- MAYNARD, L. A., LOOSLI, J. K., HINTZ, H. F., ve WARNER, R. G., 1985. **Animal Nutrition.** Seventh Edition, Tata, Mc gaw-Hill Comp. Limited, New Delhi, 602.
- MCDONALD, P., EDWARDS, R. A., ve GREENHALGH, J. F. D., 1983. **Animal Nutrition,** Forth Edition, John Wiley and Sons. Inc., NewYork.
- MCLOUGHLIN, M. F., KENNEDY, S., KENNEDY, D. G., 1992. Vitamin-E, Responsive Myopathy in Rainbow Trout Fry (*Oncorhynchus Mykiss*). **Veterinary Record**, 130, 11, 224-226.
- MEDINSKY, M. A., CUDDIHY, R. G., McCHELLAN R.O., 1981. Systemic Absorption of Selenious acid and Elemental Selenium Aerosols in Rats. **J. Toxicol. Environ. Health.**, 8, 917-928.

- MIKAC, M., FERENEC, D., ve TIEFENBACH, A., 1990. Serum Selenium Levels in Untreated Children with Acute Lymphoblastic Leukemia I. **J.Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 4, 7-10.
- MINEAR, R.A., ve KERTH, L.A., 1984. **Water Analysis, Inorganic Species**. Volume II, Academic Press Inc. Harcourt Brace Javonovich Publisher Printed in the USA.
- NAVARRO, M., LOPEZ, H., LOPEZ, M. C., PEREZ, V., 1996. Determination of Selenium in Urine by Hydride Generation of Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of AOAC International**. 79, 3, 773-776.
- NEGRETTI, V. E., BRATTER, B., ve TOMIAK, A., 1990. An Automated Microtechnique for Selenium Determination in Human Body Fluids by Flow Injection Hydride Atomic Absorption Spectrometry (FI-HAAS) **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 4, 41-48.
- NEW, N. B., 1987. **Feed and Feeding Fish and Shrimp: A Manual on the Preparation and Presentation of Compound Feeds for Shrimp and Fish in Aquaculture**, FAO, ADCP, Rep. 87 / 26 , Rome, 275.
- NORMAN, B., NADER, G., OLIVER, M., DELMAS, R., DRAKE, D., GEORGE, H., 1992. Effect of Selenium Supplementation in Cattle on Aquatic Ecosystems in Northern California. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 201, 6, 869-872.
- NRC (National Research Council), 1976. Medical and Biological Effects of Environmental Pollutant Selenium. Washington, D. C., **National Academy of Sciences**, 28-55.

- OGINO, C. H., ve KAMIZONO, M., 1975. Mineral Requirements in Fish I. Effects of Dietary Salt-Mixture Levels on growth, Mortality and Body Composition in Rainbow Trout and Carp. **Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.** 41, 4, 429-434.
- OWSLEY, J. A., 1984. **Acute and Chronic Effects of Selenite Selenium on Ceriodaphnia affinis.** M.S. Thesis, Vanderbilt Univ., Nashville.
- OWSLEY, J. A., ve McCAULEY, D. E., 1986. Effect of Extended Sublethal Exposure to Sodium Selenite on Ceriodaphnia Affinis. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 36, 876-880.
- ÖZGEN, H., 1970. **Hayvan Beslemede Organik ve Anorganik Besin Maddeleri ve Vitaminler** . Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 260, 63-65.
- PATTERSON, H. B., ZECH, L. A., SWANSON, C. A., ve LEVONDER, D. A., 1993. Kinetic Modeling of Selenium in Humans Using Stable Isotope Tracers. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 7, 117-120.
- PIWONKA, J., KAISER, G., ve TOLG, G., 1985. Determination of Selenium at ng/g and pg/g-Levels by Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry in Biotic Material. **Anal. Chem.** 321, 225-234.
- POMERAZ, Y. ve MELOAN, C.E., 1987. **Food Analysis Theory and Practice.** Second Edition An AVI Book Published by Van Nostrand Reinhold. New York. 27-48, 97-105, 236-250, 612-633.
- POSTON, H. A., COMBS, G. F., ve LERBOUITZ, L., 1976. Vitamin-E and Selenium Interrelations in the Diet of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) goss, Histological and Biochemical Deficiency Signs. **J. Nutr.**, 106, 892-904.

- QUERCIA, R. A., KORN, S. ve O'NEILL, D., 1984. Selenium Deficiency and Fatal Cardiomyopathy in a Patient Receiving Long-Term Home Parenteral Nutrition. **Clin. Pharm.**, 3, 531-535.
- ROGER, A. M., ve LAWRENCE, H. K., 1982. **Water Analysis**. Volume II Inorganic Species Part I. Academic Press, Inc. NewYork , London. 33-35.
- ROGER, O. H., KATHLEEN, N. A., THOMAS, H. R., ve STEVEN, F. H., 1992. Effect of Elevated Selenium Concentration on Bluegills (*Lepomis macrochirus*) in Outdoor Experimental Streams. **Environ. Toxicology and Chemistry**, 11, 217-224.
- ROTRUCK, J. T., POPE, A. L., GANTHER, H. E., SWANSON, A. B., HAFOMAN, D. C., 1973. Selenium; Biochemical Role as a Component of Glutathione. **Science**. 179, 588-590.
- SAGER, D. R., ve COFIELD, C. R., 1984. Differential Accumulation of Selenium Among Axial Muscle Reproductive and Liver Tissues of Four Warm-Water Fish Species. **Water Resour. Bull.**, 20, 259 -263.
- SALKI, A., TURNER, M., PATALAS, K., RUDD, J., ve FINDLAY, D., 1985. The Influence of Fish -Zooplankton -Phytoplankton Interactions on the Results of Selenium Toxicity Experiments within Large Enclosures. **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 42, 1132-1143.
- SARI, M., 1994. **Balık Besleme ve Yem Teknolojisi**. F. Ü. Su Ürünleri Fak. Ders Notları. Elazığ.
- SATO, T., OSE, Y. ve SAKAIS, T., 1980. Toxicological Effect of Selenium on Fish. **Environ. Pollut. Ser. A**. 21 (3 ), 217-224.

- SCHWARZ, K., ve FOLTZ, C. M., 1957. Selenium as an Integral Part of Factor-3 Against Dietary Necrotic Liver Degeneration. **J. Amer. Chem. Soc.** 79, 3292.
- SIORRIS, L. J., GUTHRIE, K., PENDEL, P. R., 1980. Acute Selenium Poisoning. **Vet. Hum. Toxicol.**, 22, 364.
- SORENSEN, E. M. B., BAUER, T. L., BELL, J. S., ve HARLAN, C. W., 1982. Selenium Accumulation and Cytotoxicity in Teleosts Following Chronic, Environmental Exposure. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 29, 688.
- STACCHINI, A., CONI, E., BALDINI, M., BECCALONI, E., ve CAROLI, S., 1989. Selenium intake with Diet in Italy: A plot Study. **J. Trace Elem. Electrolytes Healt Dis.**, 3, 193-198.
- STAHR, H.M., 1991. **Analytical Methods in Toxicology.** Inorganic and Other Analysis. 85-89.
- STEPHEN, E. W., GARETT, W. R., PARTIN, E. W., BRYSON, T. W., 1987. Decreased Survival and Teratogenesis During Laboratory Selenium Exposures to Bluegills, *Lepomis macrochirus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 39, 998-1005.
- STEWART, C. P., ve STOLMAN, A., 1961. **Toxicology: Mechanism and Analytical Methods.** Volume II, Academic Press. New York and London. 612-614.
- ŞANLI, Y., ve KAYA, S., 1992. **Veteriner Klinik Toksikoloji.** I. Baskı Ankara, 128-234.
- TALLANDINI, L., CECCHI, R., DEBONI, S., GALASSINI, S., GERMANDI, G., GIALANELLA, G., LIU, N. O., TURCHETTO, M., ZHANG, Y. X., 1996. Toxic Levels of Selenium in Enzymes and Selenium uptake in Tissues of a Marine Fish. **Biological Trace Element Research.** 51, 1, 97-106.

- UHRBER, R., 1982. Acid Digestion Bomb for Biological Samples. **Anal. Chem.**, 54, 1906.
- UNDERWOOD, J. E., 1977. **Trace Elements in Human and Animal Nutrition.** Fourth Edition Academic Press. New York, London. 302-346.
- VANDERKOP, A. P., ve MACNEIL, D. J., 1989. Protection Provided by Sodium Selenite Against an Oral Toxic Dose of Monensin in Broiler Chicks. **Can. J. Anim. Sci.**, 69, 477-482.
- VURAL, N., 1984. **Toksikoloji.** A. Ü. Eczacılık Fak. Yayınları No: 56, Ankara.
- WATENPAUGH, D. E., ve BEITINGER, T. L., 1985. Se Exposure and Temperature Tolerance of Fathead Minnows, *Pimephales promelas*. **J. Therm. Biol.**, 10, 2, 83-86.
- WILBER, C., 1980. Toxicology of Selenium. **A Review Clin. Toxicol.**, 17, 171-230.
- WINDELL, J. T., 1978. **Food Analysis and Rate of Digestion, in Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters.** IBM Handbook, 3, 2 nd. Ed. Blackwell Oxford, 215-226.
- YANG, G., WANG, S., ZHOU, R., 1983. Endemic Selenium in Toxication of Humans in China. **Am. J. Clin. Nutr.**, 37, 872-881.
- YOSHIDA, M., 1993. Changes in Serum Thyroid Hormone Levels and Urinary Ketone Body Excretion Caused by a Low Selenium Diet or Silver Loading in Rats. **J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.**, 7, 25-28.
- ZYGMUNT, M., 1976. **Spectrophotometric Determination of Elements.** Ellis Horwood Limited, England, 474.

Ek 1. Balıkların Aylara göre Ortalama Ağırlıkları ve Standart Sapmaları (Yapılan üç tekrar sonucu bulunan değerlerin ortalaması).

Ay/İçerik	Kontrol	SD (±)	2,5 ppm	SD (±)	5,0 ppm	SD (±)	10,0 ppm	SD (±)	20,0 ppm	SD (±)
Ocak	48.72	18.11	34.95	10.620	46.92	13.83	36.92	15.36	43.41	11.18
Şubat	54.85	20.23	36.09	11,090	48.02	14.70	37.15	16.88	47.56	14.07
Mart	58.33	21.16	38.41	10.900	50.27	11.01	45.27	16.42	49.98	15.96
Nisan	62.07	23.43	42.68	9.757	56.18	16.97	46.20	17.53	51.10	16.36
Mayıs	62.07	23.53	45.95	8.086	57.26	15.25	46.74	17.59	53.76	17.59

Ek 3. Farklı Selenyum içeren Yemle Beslenen Balıkların Organ, Doku ve dışkıında Selenyum Miktarlarının Ortalama Değerleri  
(Yaş ağırlık Olarak, µg/g )

	2.5 ppm		5.0 ppm		10.0 ppm		20.0 ppm			
	ppm	SD (±)	ppm	SD (±)	ppm	SD(±)	ppm	SD(±)		
Deri	0.173	0.062	0.232	0.044	0.551	0.38	0.721	0.265	1.173	0.05
Et	0.2	0.06	0.261	0.06	0.458	0.237	0.693	0.277	0.952	0.341
Bağırsak	0.14848	0.06177	0.46481	0.10405	0.64977	0.19603	0.91058	0.21122	2.10458	0.93869
Solungaç	0.19597	0.07482	0.31335	0.09145	0.38672	0.12557	0.53704	0.21636	1.01256	0.17871
Böbrek	0.65864	0.17536	1.00081	0.19287	1.2931	0.46115	1.66013	0.44031	2.01986	0.84241
Karaciğer	1.02198	0.3434	2.27649	0.95194	2.97846	0.92769	3.84065	1.04432	5.34977	1.48915
Dışkı	0.23069	0.23268	0.686	0.29045	1.69798	1.22585	2.85014	1.64672	481613	2.82662

Ek 2. Balıkların Aylara Göre Ortalama Uzunlukları ve Standart Sapmaları (Yapılan üç tekrar sonucu bulunan değerlerin ortalaması).

Kontrol	SD (±)	2.5 ppm	SD (±)	5.0 ppm	SD (±)	10.0 ppm	SD (±)	20.0 ppm	SD (±)
Ocak	13.29	11.83	1.284	12.97	1.484	11.89	1.593	12.86	1.134
Şubat	14.23	12.50	1.219	14.00	1.345	12.90	1.706	13.70	1.311
Mart	15.13	12.83	1.046	14.03	1.100	13.71	1.542	14.13	1.438
Nisan	15.32	12.88	1.166	14.80	1.534	14.06	1.788	14.51	1.385
Mayıs	15.40	13.22	0.898	15.07	1.367	14.26	1.686	15.51	1.604

## ÖZGEÇMİŞİM

1965 Elazığ doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1987 yılında F. Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldum. 1987 yılında F.Ü. Su Ürünlerinin açmış olduğu Araştırma görevliliği imtihanını kazandım ve 1988'de bu bölümde göreve başladım. 1990 yılında F. Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde yüksek lisansımı bitirdim. 1991 yılında aynı bölümde doktora başladım ve 1997 yılında doktoramı bitirdim. Halen F. Ü. Su Ürünleri Fakültesinde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım. Evli ve iki çocuk annesiyim.

Habibe ÖZMEN