

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEŞİL SENTEZ FERULİK ASİT MAGNEZYUM
NANOPARTİKÜLÜN: GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME HORMONLARI VE
ANTİOKSİDAN ENZİMLERİNİN GEN EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM
AKTİVİLERİNİN VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

ESRA BALKİS

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bülent KAYA

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fatma CAF

BİNGÖL-2025

**YEŞİL SENTEZ FERULİK ASİT MAGNEZYUM NANOPARTİKÜLÜN:
GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME
HORMONLARI VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERİNİN GEN
EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM
AKTİVİLERİNİN VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Doç. Dr. Bülent KAYA danışmanlığında, Esra BALKİS tarafından hazırlanan bu çalışma 07/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. İlhami TÜZÜN	İmza	:
Üye	:Doç. Dr. Bülent KAYA	İmza	:
Üye	:Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN	İmza	:
Üye	:Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kadir ERDOĞAN	İmza	:
Üye	:Dr. Öğr. Üyesi Abdullah TUNÇ	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Bu çalışma YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Programı kapsamında desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması kapsamında beni destekleyen, bilgisiyle yönlendiren, değerli vaktini ayıran danışman hocam Sayın Doç. Dr. Bülent KAYA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan, bilgisiyle beni yönlendiren, değerli vaktini ayıran ikinci danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatma CAF'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında benden desteğini esirgemeyen, tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim süre boyunca tez izleme komitesinde yer alan hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Abdullah TUNÇ'a ve tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim süre boyunca tez izleme komitesinde yer alan hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Kadir ERDOĞAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deneysel aşamalarını gerçekleştirmem için laboratuvar olanaklarını kullanmama imkân tanıyan Sayın Doç. Dr. Şükrü ÖNALAN'a teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca benden manevi desteğini esirgemeyen Fatma DÜZGÜN ÇUHADAR'a, İkranur FELEK'e, Zeynep DEMİRKAN'a ve diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince, YÖK 100/2000 öncelikli alan doktora programı kapsamında tezin hazırlanmasına olanak sağlayan T.C. Yükseköğretim Kuruluna (YÖK) teşekkür ederim.

Hayatım boyunca, manevi-maddi desteklerini benden esirgemeyen babam Yavuz BALKİS'e, annem Halide BALKİS'e, kardeşlerime, varlığıyla bana neşe katan yeğenim Yiğit Hamza BALKİS'e teşekkür ederim.

Bu tezi, varlığıyla bana her zaman güç veren babam Yavuz BALKİS'e ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
1.2. Kuramsal Temeller	3
1.2.1. Nanoteknoloji ve Nanopartikül	3
1.2.2. Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri.....	5
1.2.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri	7
1.2.3.1. UV-Visible Analizi	8
1.2.3.2. XRD Analizi.....	8
1.2.3.3. FT-IR Analizi	9
1.2.3.4. SEM Analizi.....	9
1.2.3.5. TEM Analizi.....	10
1.2.3.6. Zeta Potansiyel Analizi	10
1.3. Ferulik Asit.....	11
1.4. Magnezyum	13
1.5. Su Ürünleri Yetiştiriciliği	13
1.6. Gökkuşluğu Alabalığı.....	16
1.7. Balıklarda Büyüme Hormonu ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I.....	17

1.8. Antioksidan Savunma Sistemi.....	19
1.9. Yağ Asitleri	20
1.9.1. Doymuş Yağ Asitleri (Saturated Fatty Acid, SFA).....	21
1.9.2. Doymamış Yağ Asitleri (Polyunsaturated, PUFA)	22
2. KAYNAK ÖZETLERİ	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. Materyal.....	28
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Sentezlenmesi	29
3.2.2. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	32
3.2.3. Antibakteriyel Aktivite Analizleri.....	32
3.2.4. Yem Rasyonlarının Hazırlanması.....	33
3.2.5. Yavru Alabalıkların Temini ve Aklımasyonu	35
3.2.6. Dokulardan Total RNA İzolasyonu.....	36
3.2.7. cDNA Sentezi.....	38
3.2.8. Genlere Spesifik Primer Dizaynı.....	38
3.2.9. Real Time PCR Uygulamaları.....	40
3.2.10. İstatistik Analizler	41
3.2.11. Antioksidan Enzim Aktivitesi Çalışmaları	42
3.2.11.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	42
3.2.11.2. Antiokasidan Enzimlerin Aktivite Ölçümleri	42
3.2.11.3. Enzim Aktivitesi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi	44
3.2.12. Yağ Asidi Profili Analizleri.....	44
3.2.12.1. Dokulardaki Lipidlerin Ekstraksiyonu	44
3.2.12.2. Yağ Asidi Metil Esterlerin Hazırlanması	44
3.2.12.3. Yağ Asidi Metil Esterlerin Gaz Kromatografik Analizi	46
3.2.12.4. Yağ Asidi Sonuçlarının İstatistiksel Analizleri.....	46

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	47
4.1. Bulgular	47
4.1.1. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	47
4.1.1.1. Uv-visible Analizi Bulguları	47
4.1.1.2. FT-IR Analizi Bulguları	48
4.1.1.3. XRD Analizi Bulguları	48
4.1.1.4. Nanopartikül Boyutunun Hesaplanması	49
4.1.1.5. SEM Analizi Bulguları.....	50
4.1.1.6. EDX Analizi Bulguları.....	51
4.1.1.7. TEM Analizi Bulguları	52
4.1.1.8. Zeta Potansiyel Analizi Bulguları	53
4.1.2. Antibakteriyel Aktivite Analiz Bulguları	54
4.1.3. Real Time PCR Analiz Bulguları	57
4.1.3.1. Kas Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları	57
4.1.3.2. Kas Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları.....	59
4.1.3.3. Karaciğer Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları.....	62
4.1.3.4. Karaciğer Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları ..	63
4.1.3.5. Böbrek Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları.....	66
4.1.3.6. Böbrek Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları	67
4.1.4. Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları	72
4.1.4.1. Kas Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları	72
4.1.4.2. Karaciğer Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları.....	75
4.1.4.3. Böbrek Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları.....	77
4.1.5. Yağ Asidi Profilleri	82
4.1.5.1. Kas Dokusu Yağ Asidi Profili.....	83
4.1.5.2. Karaciğer Dokusu Yağ Asidi Profili	85
4.2. Tartışma.....	87

4.2.1. UV-Visible Spektroskopi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	87
4.2.2. FT-IR Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	88
4.2.3. XRD Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	89
4.2.4. Nanopartikül Boyutunun Hesaplanması.....	90
4.2.5. SEM Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	90
4.2.6. EDX Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	90
4.2.7. TEM Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	90
4.2.8. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	91
4.2.9. Antibakteriyel Aktivite Analizlerinin Değerlendirilmesi	91
4.2.10. Kas Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	94
4.2.11. Kas Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi.....	95
4.2.12. Karaciğer Dokusu GH-I ve IGF-I Ekspresyonunun Değerlendirilmesi ...	97
4.2.13. Karaciğer Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonu Değerlendirilmesi	98
4.2.14. Böbrek Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyonu Değerlendirilmesi ...	100
4.2.15. Böbrek Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi .	100
4.2.16. Enzim Aktivitesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	102
4.2.17. Kas ve Karaciğer Dokuları Yağ Asidi Profillerinin Değerlendirilmesi .	103
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	106
KAYNAKLAR	107

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

2θ	: İki teta
%	: Yüzde
ω	: Omega
pH	: Asitlik veya bazlık derecesi
mL	: Mililitre
mL ⁻¹	: Mililitre başına
μL	: Mikrolitre
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
μg	: Mikrogram
mm	: Milimetre
C	: Santigrat
°	: Derece
mV	: Milivolt
OD	: Optik yoğunluk
dk	: Dakika
sn	: Saniye
ddH ₂ O	: Ultra saf su
dH ₂ O	: Saf su
NaOH	: Sodyum hidroksit
C ₁₀ H ₁₀ O ₄	: Trans ferulik asit
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
NPs	: Nanopartikül sistemi
Mg	: Magnezyum
cm ⁻¹	: Bir santimetredeki titreşim sayısı
FA	: Ferulik asit

CAT	: Katalaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
GST	: Glutatyon S-transferaz
FA@MgNPs	: Ferulik asit magnezyum nanopartikül sistemi
GH-I	: Büyüme Hormonu
IGF-I	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
MgO	: Magnezyum oksit nanopartikül
ZnO	: Çinko oksit nanopartikül
Ag NP	: Gümüş nanopartikül
Uv-vis	: Uv-visible spektroskopi
XRD	: X-Işını kırınım Analiz Metodu
FT-IR	: Fourier Dönüşümü Kızılötesi Analizi
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
ROS	: Reaktif oksijen türleri
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyon
FBW	: Vücut ağırlığı
WG	: Büyüme oranı
WGR	: Ağırlık kazanma oranı
SGR	: Spesifik büyüme oranı
PWG	: Yüzdelik ağırlık kazanımı
FCR	: Yem dönüşüm oranı
MDA	: Malondialdehit
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
FP	: Forward primer
RP	: Reverse primer
SEM	: Standart hata
SFA	: Doymuş yağ asitleri
EPA	: Eikosapentanoik asit
DHA	: Dokosahekzanoik asit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Nano malzemeler	4
Şekil 1.2. Metal nanopartikül çeşitleri	5
Şekil 1.3. Nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler	7
Şekil 1.4. Ferulik asidin izomerleri (a) cis (b) trans (Kumar ve Pruthi, 2014)	12
Şekil 1.5. Balıklarda GH-I/IGF-I ekseninin şematik diyagramı (Reinecke, 2010).....	18
Şekil 3.1. Nanopartikül sentezinin gerçekleştiğini gösteren renk değişimi	30
Şekil 3.2. Nanopartikül sentez aşamaları	31
Şekil 3.3. Fa@MgNPs oluşumunun şematik gösterimi	31
Şekil 3.4. Antibakteriyel analiz aşamaları.....	33
Şekil 3.5. Her bir grup için ayrı olarak hazırlanmış yemler	34
Şekil 3.6. Deneysel balık yetiştiriciliği sistemine ait genel görünüm	35
Şekil 3.7. Çalışmadan kullanılan balığın, doku alınmadan önce çekilmiş fotoğrafı	36
Şekil 3.8. Total RNA izolasyonu görüntüleri.....	37
Şekil 3.9. cDNA çalışmalarına ait görüntüler	38
Şekil 3.10. Real-Time PCR çalışmalarına ait görüntüler	41
Şekil 3.11. Enzim aktivite çalışması görseli	43
Şekil 3.12. Hazırlanan yağ asidi metil esterleri	45
Şekil 4.1. FA@MgNPs'lere ait Uv-vis absorpsiyon spektrumu	47
Şekil 4.2. Mg, FA ve FA@MgNPs'lere ait FT-IR spektrumu	48
Şekil 4.3. FA@MgNPs'lerin XRD difraksiyon deseni	49
Şekil 4.4. FA@MgNPs'lere ait TEM görüntüleri	51
Şekil 4.5. EDX analizi grafiği	52
Şekil 4.6. FA@MgNPs'lere ait TEM Görüntüleri	53
Şekil 4.7. Zeta potansiyel grafiği	54
Şekil 4.8. Antibakteriyel analiz görselleri	55
Şekil 4.9. Real Time PCR'da elde edilen örnek bir pik kromotogramı	57
Şekil 4.10. Kas dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri	59
Şekil 4.11. Kas dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri	62
Şekil 4.12. Karaciğer dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri.....	63

Şekil 4.13. Karaciğer dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri...	66
Şekil 4.14. Böbrek dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri.....	67
Şekil 4.15. Böbrek dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri	70
Şekil 4.16. Kas dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri.....	74
Şekil 4.17. Karaciğer dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri	77
Şekil 4.18. Böbrek dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri	80
Şekil 4.19. ALA kullanılarak elde edilen standart yağ asidi kromatogramı	82
Şekil 4.20. COD LIV kullanılarak elde edilen standart yağ asidi kromatogramı	82

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan malzemeler ve markaları	28
Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları	29
Tablo 3.3. Deney için hazırlanmış katkılı yemlerin içeriği.....	34
Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan primeler ve özellikleri	39
Tablo 3.5. Real-Time PCR protokolü (Önalın, 2019)	40
Tablo 3.6. Real-Time PCR protokolünde tüp başına kullanılan kimyasal miktarları	40
Tablo 4.1. FA@MgNPs'lerin antibakteriyel inhibisyon zonları.....	56
Tablo 4.2. Dokuların gen ekspresyonu (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler.....	71
Tablo 4.3. Dokuların enzim aktivitesi (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler	81
Tablo 4.4. Kas dokusu % yağ asidi profili (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler	84
Tablo 4.5. Karaciğer dokusu % yağ asidi profili (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler.....	86

YEŞİL SENTEZ FERULİK ASİT MAGNEZYUM NANOPARTİKÜLÜN: GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME HORMONLARI VE ANTIÖKSİDAN ENZİMLERİNİN GEN EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTIÖKSİDAN ENZİM AKTİVİLERİNİN VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, yeşil sentez (Green Synthesis) yaklaşımı ile sentezlenen ferulik asit ve magnezyum nanopartikülleri (FA@MgNPs) geliştirilmiştir. Sentezlenen FA@MgNPs'lerin, Gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) üzerindeki biyolojik etkilerinin moleküler düzeyde araştırılması amaçlanmıştır.

Deneysel çalışmalara, sentezlenen FA@MgNPs'lerin karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla Ultraviyole/görünür ışık Spektroskopisi (Uv-vis.), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), X-Işını Kırınımı (XRD), X-Işını Spektroskopisi (EDX), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Zeta potansiyel analizi gibi enstrümental analiz teknikleri ile başlanmıştır. Karakterizasyon işleminin ardından *in-vitro* ortamda; FA@MgNPs'lerin antimikrobiyal etkinlikleri, pozitif ve negatif kontroller kullanılarak disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiştir. *In-vivo* deneyler için yavru gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) temin edilmiştir. Aklimasyon gerçekleştirilmiş ve balıklar, deney için hazırlanmış katkılı yemlerle beslenmeye başlanmıştır. Beslenme süresi tamamlanmış ve moleküler analizlerde kullanmak üzere deneklerden; kas, karaciğer ve böbrek dokuları alınarak uygun koşullarda muhafaza edilmiştir. Alınan dokularla, büyüme hormonu (GH-I), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I) ve antioksidan ilişkili genlerin ((katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-S-transferaz (GST)) mRNA düzeyleri, enzim aktivitesi ve yağ asidi profili analizleri gerçekleştirilmiştir.

Karakterizasyon analizleri sonucunda FA@MgNPs'lerin, partikül boyutu yaklaşık 10,68 nm olarak saptanmıştır. FA@MgNPs'lerin doza bağımlı bir şekilde *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Staphylococcus aureus* bakterilere karşı etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Kas, karaciğer ve böbrek dokularında hedeflenen genlerin mRNA ekspresyon düzeyleri, enzim aktivite seviyeleri ve yağ asidi içerikleri değerlendirilmiş; bu parametrelerde gen ve dokuya özgü farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil sentez, MgO nanopartikülleri, Antimikrobiyal aktivite, Gen ekspresyonu, Büyüme hormonu, İnsülin benzeri büyüme faktörü, Antioksidan enzim aktivitesi, Yağ asidi, Gökkuşağı alabalığı.

GREEN SYNTHESIS FERULIC ACID MAGNESIUM NANOPARTICLE: EVALUATION OF GENE EXPRESSIONS OF GROWTH HORMONES AND ANTIOXIDANT ENZYMES IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) AND INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVES AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES

ABSTRACT

In this study, ferulic acid and magnesium were combined to create a synergistic effect by adopting a green chemistry approach; in this way, it was aimed to synthesize ferulic acid magnesium nanoparticles (FA@MgNPs) and to investigate the biological effects of the synthesized FA@MgNPs on aquatic organisms at the molecular level.

Experimental studies were initiated with instrumental analysis techniques such as Ultraviolet/visible light Spectroscopy (Uv-vis.), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), X-Ray Diffraction (XRD), X-Ray Spectroscopy (EDX), Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM) and Zeta potential analysis in order to characterize the synthesized FA@MgNPs. After the characterization process, in vitro; antimicrobial activities of FA@MgNPs were evaluated by disk diffusion method using positive and negative controls. Juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were provided for in vivo experiments. Acclimation was performed and the fish were started to be fed with supplemented feeds prepared for the experiment. The feeding period was completed and muscle, liver and kidney tissues were taken from the subjects to be used in molecular analyses and stored under appropriate conditions. The mRNA levels, enzyme activities and fatty acid contents of growth hormone (GH-I), insulin-like growth factor (IGF-I) and antioxidant (catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST)) genes were analyzed with the tissues taken.

As a result of characterization analysis, FA@MgNPs were found to have a size of approximately 10.68 nm. It was determined that FA@MgNPs were effective against *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, and *Staphylococcus aureus* bacteria in a dose-dependent manner. The mRNA expression levels, enzyme activity levels, and fatty acid contents of targeted genes in muscle, liver, and kidney tissues were evaluated; it was determined that gene- and tissue-specific differences in these parameters were statistically significant. It was observed that the relative density and hardness values increased in parallel with the increase in sintering temperature and time for the material.

Keywords: Green synthesis, MgO nanoparticles, Antimicrobial activity, Gene expression, Growth hormone, Insulin like growth factor , Antioxidant enzyme activity, Fatty acid, Rainbow trout

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, insan sağlığına yönelik değerli besin öğeleri sağlamasının yanı sıra gıda güvenliği, istihdam ve ekonomik büyümeye de önemli katkılar sağlamaktadır (Şen vd., 2017; Veske ve Yavuzcan, 2025). Son yıllarda üretim açısından önemli bir ivme kazanan sektör, uluslararası ticaretteki artan payıyla küresel ekonomide etkili bir faktör haline gelmiştir. Dünya su ürünleri üretimi incelendiğinde, avcılık ve yetiştiricilik üretim miktarları arasındaki farkın giderek arttığı görülmektedir. 1980'lerden günümüze kadar avcılık büyük ölçüde sabit kalırken Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın 2024 yılında yayımladığı 2022 yılı raporuna göre, 2022 yılında toplam üretim rekor seviyeye ulaşmıştır ve ilk defa yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri miktarı avcılık yoluyla elde edilen miktarı geride bırakmıştır. (Tarım ve Orman Araştırmaları, 2024). Ülkemiz de su ürünleri yetiştiriciliği alanında önemli gelişim göstermiştir. 2023 yılı verilerine göre toplam su ürünleri üretiminin %55'i yetiştiricilikten sağlanmıştır. En çok yetiştiriciliği yapılan tatlı su balıkları arasında alabalık türleri yer almaktadır. Türkiye, bu üretim kapasitesiyle Avrupa'nın önde gelen su ürünleri yetiştiriciliği yapan ülkeleri arasında yer almaktadır (Tarım ve Orman Araştırmaları, 2024). Su ürünleri yetiştiricilik sektörünün sosyo-ekonomik durumu göz önüne alındığında, sektörün sürdürülebilirliği, su kaynaklarının doğru kullanımı ve doğal çevre unsurlarının korunması gibi konularda daha duyarlı davranılması zorunluluğunu doğurmuştur (Emin ve Mutlu, 2024).

Son yıllarda nanoteoknoloji ve biyoteknolojinin bir araya getirilerek "nanobiyoteknoloji" olarak kullanılmaya başlanması, başta tarım ve su ürünleri sektörleri olmak üzere birçok sektörde önemli gelişmelere olanak sağlamıştır. Özellikle biyolojik kaynaklardan elde edilebilen nano içerikli besin maddelerinin kullanımı hayvan sağlığı ve büyüme performansı üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır (Altav vd., 2019). Bu bağlamda yeşil sentez metodu, sürdürülebilir ve çevre dostu bir yaklaşım olarak dikkatleri üzerine çekmektedir. Metodun esası, bitkisel özler veya biyoajanlar kullanarak nanomalzeme tasarlanması ve sentezlenmesine dayanmaktadır (Çiftçi vd., 2021).

Ferulik asit (FA), bitkilerin hücre duvarında bulunan fenolik bir bileşiktir (Kimura ve Takamatsu, 2015). Bu bileşik; düşük toksisiteye sahip olup antioksidan (Zduńska vd., 2018), antimikrobiyal (Ahmadifar vd., 2019), antikanser aktivite (Kumar ve Goel, 2019) gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Serbest radikalleri veya serbest radikal üreten enzimleri doğrudan ortadan kaldırabilir (Li vd., 2021).

Magnezyum (Mg), hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde temel bir element olup birçok biyokimyasal reaksiyonda önemli roller üstlenmektedir. Magnezyum, bağışıklık sisteminin işleyişinde etkin bir şekilde görev almaktadır ve aynı zamanda birçok enzimatik reaksiyonun kofaktörüdür. Magnezyumun organizmalar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, bu elemente yönelik ilgi yeniden artış göstermiştir. Magnezyumun, nano formunda kullanımı, biyoyararlanımını artırarak daha etkin hale gelmesini sağlayabilir (Maier vd., 2021).

Canlılar oksidatif strestin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla antioksidan savunma sistemlerini devreye sokarlar (Alak vd., 2011). SOD, CAT, GPx, GR ve GST gibi antioksidan enzimler, oksidatif stres altındaki organizmalarda kilit işlevler üstlenen temel bileşenlerdir (Oruc vd., 2004; Alak vd., 2011).

Çalışmanın amacı, yeşil sentez metodu kullanılarak FA ve Mg birleştirip bir sinerji elde ederek Ferulik asit magnezyum nanopartikül sistemi (FA@MgNPs) sentezini gerçekleştirmek ve bu nanopartiküllerin (NP) sucul canlılar üzerindeki biyolojik etkinliklerini moleküler düzeyde araştırmaktır.

Bu amaca yönelik hedeflerimiz;

1. Bu çalışmada, Mg'nin olumsuz biyolojik etkilerinin azaltılması ve FA'nın biyoyararlanımının artırılması hedeflenmiştir. Ayrıca model organizma olarak gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılarak FA@MgNPs'nin; büyüme hormonu (GH-I), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), CAT, SOD, GR, GST ve GPX genlerinin mRNA ifade düzeyleri ile antioksidan ilişkili enzimlerin (CAT, SOD, GR, GST, GPX) aktiviteleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

2. FA@MgNPs'nin, balık sağığına olan olumlu etkilerinin yanı sıra çevre dostu bir yaklaşım sunarak sucul ürünlerin üretim verimliliğini artırma potansiyeli değerlendirilmiştir.

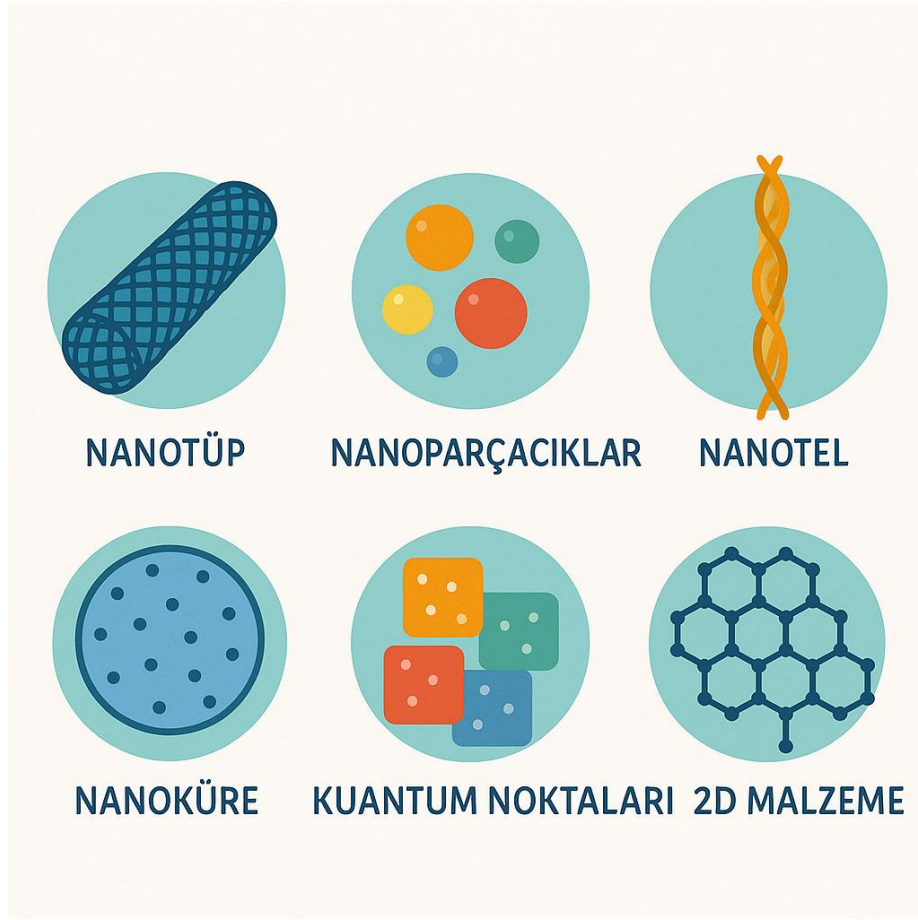
3. Bu çalışmayla, nanoteknolojinin su ürünleri yetiştiriciliğı ve biyolojik etkinlik alanlarındaki potansiyelinin araştırılması ve bu doğrultuda literatüre bilimsel katkı sunulması hedeflenmiştir.

1.2. Kuramsal Temeller

1.2.1. Nanoteknoloji ve Nanopartikül

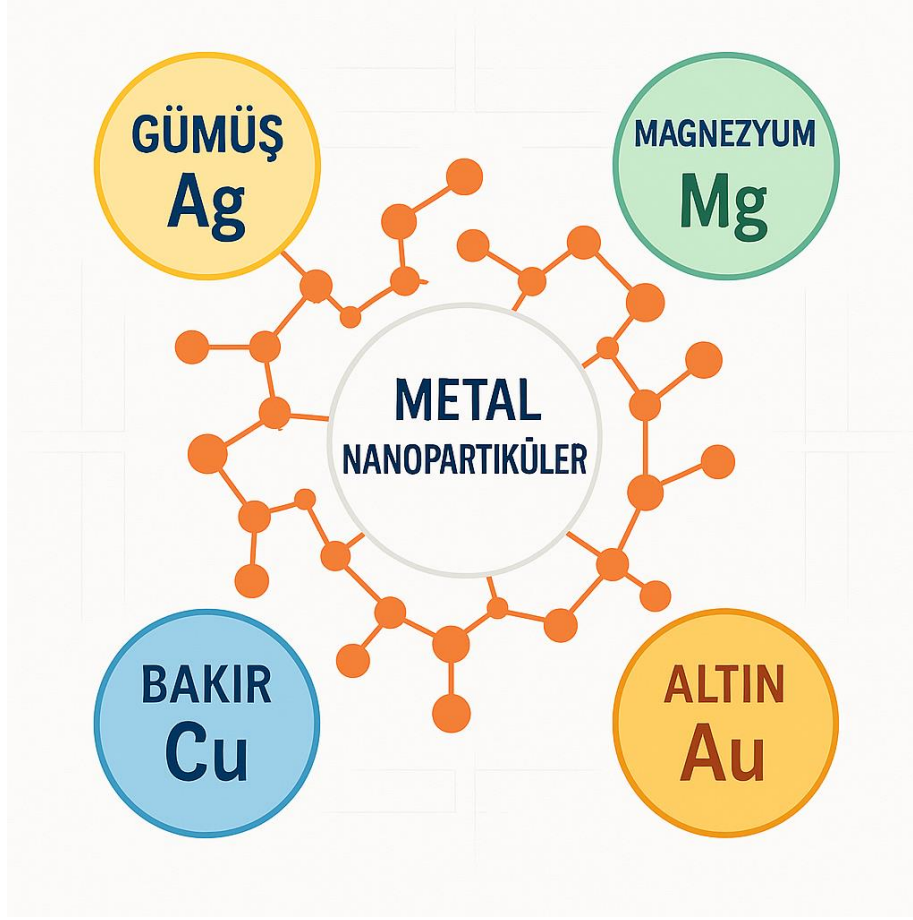
Richard Feynman 1959 yılında “*There is plenty of room at the bottom*” (Derinlerde olanlarla yapılacak çok şey var.) diyerek nanoteknolojiyi işaret etmesiyle bilim dünyasının ilgisi bu alana yönelmiştir. Nanoteknoloji; mühendislik, kimya, biyoloji ve fizik gibi çeşitli alanları kapsayan disiplinler arası bir teknolojiyi tanımlamaktadır. 100 nanometre (nm) 'den küçük biyolojik olan veya olmayan nano ölçekli malzemeler ve bu malzemelerin en uygun alanlar için kullanımını kapsamaktadır. 1 nm metrenin milyarda birine eşit olan birimi ifade etmektedir. Bu tür malzemeler özel elektronik, optik, termofiziksel ve mekanik özellikleriyle ilgi çekmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016; Sadri vd., 2018; Biswas vd., 2023). Nanoteknolojik ürünler; tarım, tıp, tekstil, kimya, kozmetik vs. pek çok alanda yoğun olarak kullanılmaktadır.

Nanoteknolojinin esasını teşkil edinen nanopartiküller; arttırılmış yüzey alanları, güç/ağırlık oranları ve kullanım amacına göre değiştirilebilen atomik özellikleri dolayısıyla araştırmacıların dikkatini çekmektedir (Turan vd., 2019). Nano malzemeler kimyasal bileşimlerine göre metal, metal oksitler, yarı iletkenler, karbon nano tüpler olarak gruplandırılmaktadır. Malzemenin üç boyutu da 100 nm'den küçükse bu tür malzemeler nanopartikül, nonashell, nanoring vs. gibi çeşitli adlarla tanımlanmaktadır. Malzemenin sadece iki boyutu 100 nm'den küçükse nanotüp, nanotel ya da fiber olarak, eğer malzemenin sadece bir boyutu 100 nm'den küçükse ince film, katman ve kaplama olarak isimlendirilir (Filipponi vd., 2012).



Şekil 1.1. Nano malzemeler

Metal/metal oksit nanopartiküller; magnezyum, altın, gümüş, demir, bakır vs. gibi metallerin tuz ya da bileşiklerinden elde edilmektedir (Şekil 1.2). Metal oksitler ise yapısında en az bir oksijen atomu bulunduran, magnezyum oksit (MgO), Çinko oksit (ZnO) gibi metal içerikli yapıları tanımlamaktadır (Marouzi vd., 2021). Magnezyum oksit nanopartikülü (MgO-NP), eşsiz fizikokimyasal davranışı, kararlı yapısı, ekonomik oluşu, çevre dostu olması gibi daha pek çok özelliğinden dolayı önemli bir nanomalzemedir.



Şekil 1.2. Metal nanopartikül çeşitleri

1.2.2. Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

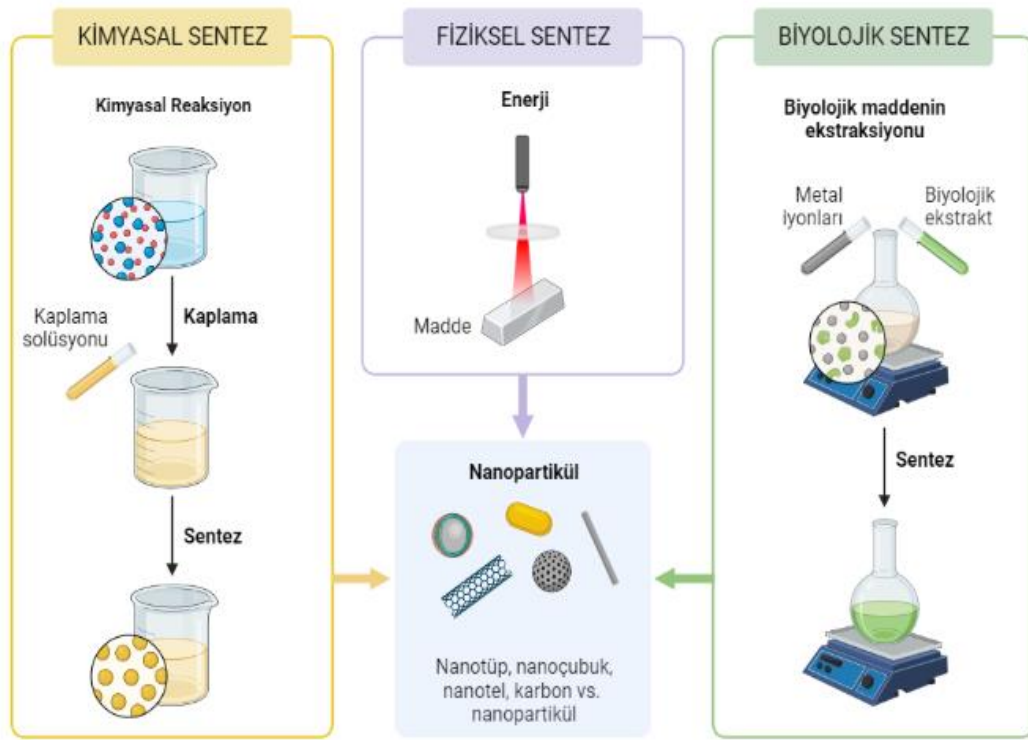
Nanopartiküller, kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki yöntemle üretilmektedir. Üretimde, yukarıdan aşağı (*top down*) ve aşağıdan yukarı (*bottom up*) olarak isimlendirilen iki ana yaklaşım kullanılmaktadır. Fiziksel yöntemler yukarıdan aşağı, kimyasal ve biyolojik yöntemler ise aşağıdan yukarı yaklaşımı olarak bilinmektedir. Yukarıdan aşağıya yönteminde, hacimsel maddeye kimyasal veya mekanik olarak enerji verilmekte ve maddenin makro boyuttan nano boyuta kadar küçülmesi sağlanmaktadır (Bayğu, 2020). Yöntem, ince tabaka kristallerin elde edilmesi için yığın bileşenler arasındaki VanderWaals kuvvetlerinin kırılmasını içermektedir. Yukarıdan aşağıya yönteminde genel olarak büyük enerji girdileri gerekmektedir ve büyük çevresel etkiye neden olabilmektedir. Çevreyi iyileştirmek için kullanılacak nanomalzemenin, çevre üzerinde büyük etkiler yaratmaması gerekir (Song vd., 2019). Lazer ablasyonu, iyon püskürtme,

mekanik öğütme gibi yöntemlerde yukarıdan aşağıya yaklaşımlar arasında bulunmaktadır (Rajput, 2015). Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar; göreceli olarak daha kolay uygulanabilirken, çok küçük boyutlu parçacıkların üretilmesi bu yöntemle mümkün olmamaktadır. Yöntemin bir diğer dezavantajı ise nanopartiküllerin sentezi için fizikokimyasal özelliklerindeki değişim ve yüzey kimyasıdır.

Aşağıdan yukarıya olan yaklaşımda, atomik veya moleküler boyutta olan malzemeye, kimyasal reaksiyonlarla enerji verilerek nanopartikül elde edilmektedir. İlk aşamada, nanomalzemenin temel yapı taşları olan nanoyapılar oluşturulur; ardından bu yapılar birleştirilerek hedeflenen nanopartikül sentezlenir. Aşağıdan yukarıya yaklaşımında; lazer pirolizi, sol-jel yöntemi, kimyasal ve fiziksel buhar tortulama yöntemi, hidrotermal yöntemler bulunmaktadır (Jamkhande vd., 2019). Aşağıdan yukarı yaklaşımı daha etkili ve nispeten daha ucuz bir yöntem olduğu için yukarıdan aşağıya yöntemine göre daha fazla tercih edilmektedir (Saravanan vd., 2021).

Nanopartikül sentez ve tasarımında yeşil sentez yaklaşımı; bitki, alg, mantar vs. gibi biyolojik materyallerin özütleri kullanılarak nanoparçacık sentezine dayanmaktadır. Yeşil sentez; temelde indirgeme, büyüme ve sonlandırma olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (Saravanan vd., 2021). Yöntem esas olarak, biyolojik materyallerde (bitki, maya, mantar vs.) mevcut olan fitokimyasalların kullanılmasıyla metal iyonlarının indirgenmesi ve metal/metal oksit nanopartikül üretilmesine dayanmaktadır. Bu süreç; fenol, tanenler, terpenler, terpenoidler, alkoloidler gibi çeşitli indirgeyici fitokimyasalları içerir. Bu yaklaşım, boyutları 1-100 nm arasında değişen nanopartiküllerin oluşmasına olanak sağlamakla beraber ucuz maliyet ve erişilebilirlik, sürdürülebilirlik gibi avantajlarının yanı sıra toksik kimyasal kullanımı, yüksek enerji, yüksek basınç gerektirmemesinden dolayı nanopartikül üretimi için en etkili yöntem olarak değerlendirilmektedir (Sneha vd., 2010; Singh vd., 2018; Zhang vd., 2020; Bawazeer vd., 2021; Saravanan vd., 2021). Nanopartiküller çeşitli yöntemlerle sentezlenebiliyor olmalarına rağmen çevre üzerine etkileri göz önünde bulundurularak biyolojik materyaller aracılığıyla üretilmelerinin daha avantajlı olduğu vurgulanmaktadır. Biyolojik bileşenleri kullanarak metalik nanopartiküllerin daha etkin olarak oluşturması araştırmalara konu olmaktadır. Bununla beraber bitki ekstraktlarının bileşimi ve bileşiklerinin konsantrasyonu; ekstraksiyon yöntemine, coğrafi parametrelere ve hasat

mevsimine paralel olarak değişiklik göstermektedir. Bitki özütlerinin bileşimi ve içindeki maddelerin konsantrasyonları çok değişken olabilmektedir. Ayrıca tekrarlanabilirlik, iyi tanımlanamayan reaktan konsantrasyonu, nanopartiküllerin kolay saflaştırılması açısından sınırlamalar doğurmaktadır. Bu nedenlerle analitik/kimyasal uygulamalar için indirgeyici özelliklere sahip saf maddeler tercih edilmektedir. Saf madde ile üretilmiş olan nanopartiküller coğrafi parametreler, hasat mevsimi, tekrarlanabilirlik açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Son dönemlerde, izole edilmiş veya saf ürünlerle metalik nanopartiküllerin sentezi dikkat çekmektedir (Švecová vd., 2018; Mavaei vd., 2020; Chahardoli vd., 2022; Mkouboi vd., 2024).



Şekil 1.3. Nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler

1.2.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyon Yöntemleri

Nanopartiküllerin karakterizasyonları için; Uv-visible spektroskopi (Uv-vis), X-Işını kırınım Analiz Metodu (XRD), Fourier Dönüşümü Kızılötesi Analizi (FT-IR), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Zeta Potansiye ölçümü gibi enstrümental analiz teknikleri kullanılmaktadır.

1.2.3.1. UV-Visible Analizi

Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisi, bir ışık demetinin bir örnekten geçerken veya örnek yüzeyinden yansıtılırken şiddetindeki azalmanın ölçülmesine dayanan bir tekniktir. Işık şiddetindeki azalma, örnek tarafından absorpsiyonun arttığını gösterir. Belirli bir dalga boyundaki ışığın absorpsiyonu ölçülerek örneğin derişimi belirlenebilir. UV-Vis spektroskopisi genellikle çözeltide bulunan moleküller ile inorganik iyonlar ve komplekslerin analizinde kullanılır. Pek çok molekül, ultraviyole veya görünür bölgedeki ışığı absorplar ve her molekül karakteristik olarak farklı dalga boylarında absorpsiyon gösterir. Bu nedenle, absorpsiyon spektrumları moleküllerin yapısal özelliklerine dair bilgi içeren çeşitli absorpsiyon bantlarından oluşur (Chen vd., 2013; Dağlıoğlu, 2018; Jassal vd., 2022).

1.2.3.2. XRD Analizi

X-ışını kırınımı (XRD) analizi, materyallerin yapısal karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılan ve kristalin malzemelerde uzun menzilli atomik düzenin yanı sıra amorf veya yarı kristalin yapıdaki malzemelerde kısa menzilli düzenin incelenmesini sağlayan hassas bir yöntemdir. Bu teknik, X-ışınlarının numuneye çarpması ve atomik düzlemlerden eşzamanlı şekilde saçılması prensibine dayanır. Bu saçılma, yapının periyodik doğası nedeniyle belirli açılarda artırıcı girişime yol açar ve Bragg yasası ($n\lambda = 2d_{hkl} \sin\theta$) ile tanımlanan kırınım koşulları gerçekleşir. Bu temel prensipler doğrultusunda, XRD analizi nano boyuttaki parçacıkların ortalama kristalit boyutlarının ve mikrogerilemelerin tayininde de kullanılmaktadır. İki teta (2θ) değeri kullanılarak nanopartiküllerin kristal yapısı belirlenir. Nanopartikül boyutunun belirlenmesinde en yaygın kullanılan metotlardan biri, kırınım tepelerinin genişliğinin Debye-Scherrer denklemi aracılığıyla hesaplanmasıdır. Bu yöntem, kristalit boyutuna bağlı olarak tepelerin genişliğinde ortaya çıkan değişiklikleri analiz ederek ortalama tane boyutunu belirlemeye olanak tanır (Khan vd., 2020; Govindasamy, 2024).

1.2.3.3. FT-IR Analizi

Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FT-IR), biyomoleküllerin fonksiyonel gruplarındaki değişiklikleri tespit ederek toplam bileşimlerdeki değişimleri koyan ve hemen hemen her türlü örneğin farklı fiziksel hallerde incelenebilmesine olanak sağlayan önemli analitik yöntemlerden bir tanesidir. FT-IR yöntemi, moleküllerin belirli dalga boylarındaki infrared ışınım tarafından uyarılan titreşim rotasyon hareketlerini ölçer. Bu teknik, moleküller arasındaki bağ yapısındaki farklılıkları tanımlayarak moleküller arası etkileşimlerin varlığına dair yapısal bilgiler sağlar. Bu teknik, özellikle organik ve bazı inorganik bileşiklerin fonksiyonel gruplarının belirlenmesinde, moleküllerin titreşim hareketlerine dayalı olarak çalışan bir yöntem olup, santimetrede $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında spektral bilgi sağlar. Bu sayede, nanopartiküller üzerinde bulunan fonksiyonel grupların tespiti mümkün olmaktadır. Kızılötesi ışının numune tarafından absorblanmasını ölçerek moleküllerin yapısal özelliklerini belirler. Karakterizasyon için yaygın kullanılan FT-IR tabanlı yöntemler arasında transmittans FT-IR, azalan toplam yansıma (ATR-FT-IR) ve mikro spektroskopi FT-IR yer almaktadır (Chahardoli vd., 2022; Eid, 2022).

1.2.3.4. SEM Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), yüksek enerjili ve odaklanmış bir elektron demetinin, örnek yüzeyini tarayarak görüntü oluşturmaya esasına dayanan mikroskobik analiz tekniğidir. Yöntem, yüksek çözünürlüklü yüzey morfolojisi analizlerinde kullanılmaktadır. Vakumlu ortamda elektronlar oluşturulup, bu elektronlar elektromanyetik lensler aracılığıyla dar bir alana odaklanacak şekilde numuneye yönlendirilir. Numune yüzeyine çarpan elektronlar ile malzeme atomları arasında meydana gelen etkileşimler sonucunda ikincil elektronlar, karakteristik X-ışınları gibi çeşitli sinyaller oluşur. Oluşan sinyaller uygun bir dedektör yardımıyla toplanarak görüntü sistemine aktarılır ve yüzey topografisine dair detaylı görseller elde edilir. Bu şekilde hem nano ölçekte hem de mikro ölçekte tanecik boyutu, yerleşim düzeni ve şekli hakkında bilgi elde edilmesine imkan sağlamaktadır (Ateş, 2018).

1.2.3.5. TEM Analizi

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM), hem görüntüleme hem de kırınım analizlerini bir arada gerçekleştirerek, malzemelerin kristal yapıları ve mikro yapısal özelliklerinin nanometre ölçeğinde ayrıntılı şekilde incelenmesine olanak sağlayan yüksek çözünürlüklü bir karakterizasyon tekniğidir. Bu yöntemde, yüksek enerjili bir elektron demeti çok ince bir numuneden geçirilir ve numune içerisindeki atomlarla etkileşime giren elektronların oluşturduğu sinyaller kullanılarak görüntü elde edilir. Elektronların dalga boyunun kısa olması sayesinde, TEM optik mikroskoplara kıyasla çok daha yüksek çözünürlük sunar. TEM analizinde, özellikle nanomalzemelerin, şekil ve boyut dağılımı gibi morfolojik özellikleri doğrudan gözlemlenebilir. Bu görüntülerde parlak ve karanlık alan teknikleri kullanılarak farklı kristal yönelimleri ve fazlar ayrıştırılabilir. TEM analizine uygun numune hazırlığı, görüntü kalitesini doğrudan etkileyen kritik bir adımdır. Genel olarak nanopartikül çözeltilerinden alınan küçük hacimdeki numune, karbon kaplı bakır ızgaralar üzerine damlatılarak kurutulur. Elektron yoğunluğu yüksek malzemeler bu yöntemle özellikle uygundur. Hazırlanan numune TEM cihazında incelenir ve görüntü elde edilir. Elde edilen görüntülerden parçacık boyutu ve dağılımını ImageJ gibi yazılımlar aracılığıyla istatistiksel olarak analiz etmek mümkündür (Ateş, 2018; Chahardoli vd., 2022).

1.2.3.6. Zeta Potansiyel Analizi

Zeta potansiyeli, bir nanoparçacık ile kolloidal ortam arasındaki elektrokinetik potansiyel farkını tanımlar ve kolloidal sistemlerde parçacık kararlılığının önemli bir göstergesidir. Kolloidal sistemlerde potansiyel stabiliteyi belirlemek için kullanılan bu teknik ile parçacık yüzeyinde oluşan yük, sıvı içerisindeki zıt yüklü iyonları çeker ve bu sayede çift tabaka yapısı meydana gelir. Bu yapının, yüzeye yakın kısmında yer alan “kayma yüzeyi”ndeki potansiyel farkı zeta potansiyel olarak adlandırılır. Zeta potansiyeli, parçacıkların elektrostatik itme ve çekme kuvvetlerini belirleyerek süspansiyon kararlılığını etkiler. Yüksek zeta potansiyeli değeri ($\pm$ mV), partiküller arası itmenin artmasına ve buna bağlı olarak daha stabil dispersyonların oluşmasına neden olur. Zeta potansiyeli; parçacık yüzeyinin kimyasal yapısı, iyonik gücü ve özellikle pH gibi faktörlerden etkilenir.

pH'a bağılı olarak değişen bu potansiyel, belirli bir pH'da sıfır değerini alabilir ki bu nokta izoelektrik nokta olarak tanımlanır. Genel olarak düşük pH'da pozitif, yüksek pH'da ise negatif değerlere ulaşır. Nanopartiküllerin zeta potansiyeli değeri ile stabilitesi arasındaki farklar aşığıdaki şekilde belirtilir:

- 0-5 mV, partiküller agregasyon eğilimi sergilerler.
- 5-20 mV, partiküllerin kısmen kararlıdır.
- 20-40 mV, partiküller orta düzeyde kararlılık gösterirler.
- +40 mV, partiküllerin son derece kararlı oldukları değerdir (Ateş, 2018; Dağılıoğu, 2018).

Zeta potansiyeli ölçümü, altın elektrot içeren bir hücreye çözelti eklenerek gerçekleştirilir. Elektrota bir voltaj uygulandığında, parçacıklar zıt yüklü elektrota doğru hareket ederler. Voltajın bir fonksiyonu olarak parçacık hızı ölçülür. Lazer demeti içerisinde geçen parçacıkların saçtığı ışığın yoğunluğundaki frekans dalgalanmaları, parçacık hızına bağılıdır. Farklı voltaj değerlerinde ölçülen hız verileri kullanılarak zeta potansiyeli hesaplanır. Analiz için hazırlanan solüsyonlardan alınan 1 mL çözelti, temiz elektrotlu küvete yerleştirilerek nanosize cihazında ölçüm yapılır (Ateş, 2018).

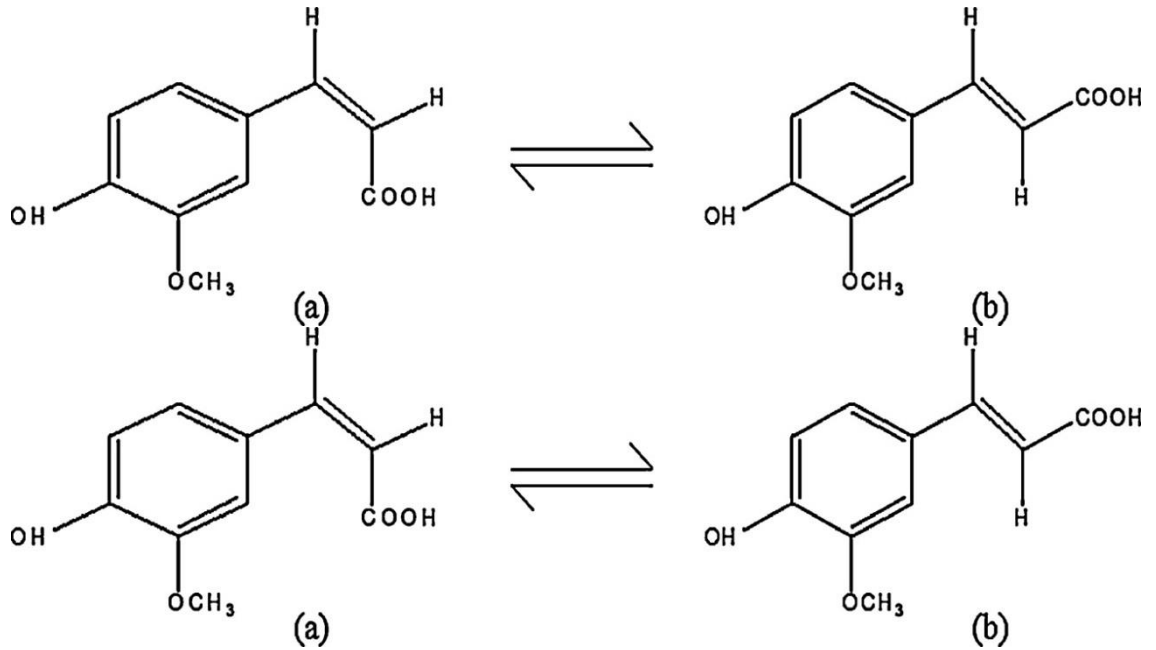
1.3. Ferulik Asit

Ferulik asit (*4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit*), bitkilerde en bol bulunan bir fenolik fitokimyasallardan biridir (Sakai vd., 1999). Bitkilerde nadiren serbest formda bulunan ferulik asit, mono ve oligosakkaritler, poliaminler, lipidler ve polisakkaritlerle ester çarpaz bağları halinde bulunur. Ferulik asit düşük toksisiteye sahiptir; insan vücudunda emilebilir ve kolayca metabolize edilir. Ferulik asitin; antimikrobiyal, antioksidan, antiinflatuar, antikanser gibi pek çok fizyolojik fonksiyonu bulunmaktadır (Ou ve Kwok, 2004).

Ferulik asit, ilk kez *Ferula foetida* bitkisinden izole edilerek yapısının belirlenmesi için kullanılmış ve adı bitkinin botanik adından türetilmiştir. 1925 yılında FA kimyasal olarak sentezlenmiş ve yapısı spektroskopik tekniklerle doğrulanmıştır. Bu yapının, FA'da doymamış bir yan zincir bulunduğunu ve cis-trans izomerik formlarının varlığını

gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 1.4). Yan zincirdeki çift bağ, *cis-trans* izomerizasyonuna tabidir ve rezonansla stabilize olan fenoksi radikali, FA'nın etkili bir antioksidan aktiviteye sahip olmasını sağlamaktadır.

UV ışığı absorbe edildiğinde, stabil fenoksi radikali oluşumunu katalize eder ve bu durum FA'ya serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırma gücü verir (Kumar ve Pruthi, 2014). Bu faydalı özelliklerine rağmen ferulik asidin düşük çözünürlüğü, biyoyararlanımını sınırlayan önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Hsu vd., 2019; El-Gogary vd., 2022; Shukla vd., 2022). Birçok araştırma, ferulik asidin nano formda daha iyi çözündüğünü ve biyoyararlanımının arttığını bildirmektedir (Hsu vd., 2019; El-Gogary vd., 2022; Shukla vd., 2022; Raj ve Singh, 2022; Rani vd., 2024). Ferulik asit yem katkı maddesi olarak kullanıldığında büyüme hormonlarının ekspresyonunu artırarak büyümeyi teşvik ettiği, bazı hastalık etmenlerine karşı direnci artırarak ölüm oranını azalttığı, antioksidan (Dawood vd., 2020) ve biyokimyasal parametreleri güçlendirdiği ve balık etinin lezzetini artırdığı rapor edilmiştir (Liu vd., 2022a).



Şekil 1.4. Ferulik asidin izomerleri (a) *cis* (b) *trans* (Kumar ve Pruthi, 2014)

1.4. Magnezyum

Magnezyum, balıklar için temel bir elementtir (Wang vd., 2011). Balıklarda kemik gelişimi, nükleik asit metabolizması, antioksidan ve bağışıklık sisteminde de rol oynamaktadır (Shivakumar ve Prakash, 1997; Tam vd., 2003; Zafar ve Khan, 2021). Magnezyum balıklarda kas büyümesinin düzenlenmesinde, özellikle kas hücresi poliferasyonunu etkileyen önemli bir elementtir (Maradze vd., 2019). Tüm vücut protein içeriğini artırarak balık etinin besin değerini iyileştirir (Bao vd., 2022). Magnezyumun organizmalar üzerindeki olumlu etkileri gün yüzüne çıktıkça magnezyuma olan ilgi yeniden artış göstermiştir (Maier vd., 2021). Magnezyum tatlı sularda, deniz suyundakine göre daha az miktarda bulunduğundan dolayı tatlı suda yetiştiriciliği yapılan balıklar için diyet yoluyla takviyesi gerekli ve vazgeçilmezdir (Gatlin Delbert vd., 1982; Dabrowska vd., 1991; Lin vd., 2013; Zafar ve Khan, 2021). Ancak magnezyum metal iyonlarının sularda kirliliğe neden olabilme riski nedeniyle alternatif olarak magnezyum oksit nanopartiküllerinin kullanılıp kullanılamayacağı araştırılmaktadır (Verma vd., 2020). Magnezyumun tatlı su balıklarına nano formda verilmesinin, balıkların büyüme performansını ve kas gelişimini artırdığı (Bao vd., 2022), magnezyum toksisitesini düşürdüğü (Zhang vd., 2016) ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği belirlenmiştir (Deilamy Pour vd., 2021). Ancak, magnezyum NP'lerinin biyo-uygulamalar için potansiyeli, özellikle su ürünleri yetiştiriciliği alanında henüz tam olarak araştırılmamıştır (Zhang vd., 2023).

Magnezyum ve magnezyum oksit nanopartikülleri; çevre dostu uygulamaları, zor koşullarda yüksek derecede kararlılık göstermelerinin yanı sıra ucuz ve biyoyumlu olması gibi pek çok sebepten dolayı bilim dünyasının ilgi odağı haline gelmiştir (Fardood vd., 2018).

1.5. Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Su ürünleri sektörü; dengeli ve sağlıklı beslenme için gerekli olan ürünlerin üretimini sağlayan, ülke ekonomisine katma değer kazandıran ve istihdama katkı sunan önemli bir endüstridir (Ukav, 2023). Su ürünleri yetiştiriciliğinin tarihi binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Antik çağlarda Çin, Mısır ve Roma uygarlıkları, sucul organizmaları gıda

olarak kullanmak amacıyla üretim yöntemleri geliştirmiştir. İlk dönem uygulamaları olarak nitelendirilen bu yöntemler, günümüzden çok daha farklı olup, doğal su kaynaklarından organizmaların toplanarak belirli su havuzlarına aktarılması şeklindeydi. Modern anlamda su ürünleri yetiştiriciliği 20. yüzyılın ortalarında bilimsel ve sistematik bir şekilde gelişmeye başlamıştır (Dikel ve Demirkale, 2023). Günümüzde ise su ürünleri yetiştiriciliği; deniz balıkçılığının yeterince yapılamaması, artan nüfus ve su ürünlerine olan talebin artması dolayısıyla küresel olarak en hızlı büyüyen sektörlerin başında gelmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliği 2020 yılında 87,5 milyon ton ile büyük bir ivme kazanarak dünya deniz ürünleri arzının %50'sini oluşturmaktadır (FAO, 2024; Gan vd., 2024). Bu büyümenin tetikleyici gücü olarak biyolojik üretim süreçlerinin iyi yönetilmesi görülmektedir (Samat vd., 2024). 2030 yılına gelindiğinde yetiştiricilik yöntemi ile üretilen su ürünleri miktarının avcılık yoluyla elde edilen su ürünlerini geçmesi beklenmektedir (Arslan, 2021). Yılda ortalama 78 milyon artan dünya nüfusu düşünüldüğünde 2050 yılına gelindiğinde yaklaşık 13 milyara ulaşacağı düşünülmektedir. Bununla beraber hayvansal kaynaklı ürün talebinde 2 kat artış olacağı ve bu ihtiyacın yaklaşık olarak %20'sinin su ürünlerinden karşılanacağı tahmin edilmektedir (Arslan, 2021). Bunun yanı sıra ülkelerin ekonomisine olan katkılarıyla da ön planda kabul görmektedir. Bu bağlamda değerlendirildiğinde ülkelerin gelecekleri açısından su ürünleri endüstrisi son derece önem arz etmektedir (Arslan, 2021).

Su ürünleri sektörüne bakıldığında gelişmiş olan ülkeler tarafından yönlendirilmesine karşın gelişmekte olan ülkelere de ekonomik gelişmelerine paralel olarak su ürünleri sektörünün de gelişme kaydettiği görülmektedir (Ukav, 2023). Su ürünleri yetiştiriciliğinde nanoteknoloji geniş bir uygulama imkânı sunmaktadır. Balık büyümesinin arttırılması, patojenlerin tespiti ve kontrolü, su arıtma, besin maddeleri ve ilaçların etkin olarak taşınması gibi konular bu uygulamalardandır. DNA-nano aşıları, balık bağışıklık sistemini güçlendirmek için kullanılmaktadır (Dönmez, 2023).

Tarım, su ürünleri ve gıda sektörlerine yönelik araştırmalar; nanopartiküller, lipozomlar, katı nano-lipit partiküller gibi nano malzemelerin uygulamasına yönelik malzemeler kullanılarak yapılmaktadır. Nano malzemeleri avantajlı kılan özellikleri; biyouyarlanabilirlik, yüksek emilim, iyi derecede çözünebilirlik ve çevresel bozulmaya karşı iyi stabilite ve kontrolü mümkün olan salım kinetiğidir (Erçen, 2023).

Su ürünleri biyoteknolojisinde, nanopartiküller nükleik asitlere bağlanarak onların yapısal stabilitesini artırmakta ve biyolojik ortamlarda korunmalarına yardımcı olmaktadır. Bu sayede gen taşıma, genetik analizler ve biyosensör uygulamalarında nükleik asitlerin etkinliği yükselmektedir. Su ürünlerinde gen ifadesindeki farklılıkları incelemek, genetik polimorfizm analizi yapmak ve yeni biyobelirteçler geliştirmek için kullanılabilir. Nanopartiküller ayrıca yeni ve farklı gen transfer yöntemleri tasarlanmasına olanak sağlar. Nanoteknoloji, balıkların kalitesini arttırmak için de uygulanabilmektedir. Özellikle balık tüketimindeki en büyük endişe ürünün tazeliği konusunda yaşanmaktadır. Bu soruna yönelik olarak lazerle oluşturulmuş nanosensörler geliştirilmiş ve tazelik takibi konusunda yenilikçi ürünler sunmaktadır (Reza vd., 2013; Erçen, 2023).

Hızla artmakta olan dünya nüfusunun ihtiyacı olan besin kaynakları düşünüldüğünde sucul organizmaların önemi daha da artmıştır. Sucul organizmaların gıda olarak gün geçtikçe daha fazla talep görmesi daha fazla üretimi zorunlu kılmaktadır. Bu durumda da su ürünleri üretiminde verimin artırılması için yem atıkları, herbisit, poliklorürlü binefilleri ve polisiklik aromatik hidrokarbonları gibi çeşitli organik maddelerin kullanımını elzem hale getirmektedir. Bu malzemeler sucul biyotaya geçer ve birikerek besin kaynağı zinciri aracılığıyla son alıcı olan insana aktarılabilir. Bundan dolayı su kalitesini, Dünya Sağlık Örgütü, Gıda ve Tarım Örgütü tarafından öngörülen uygun değerlerde tutmak önem arz etmektedir. Hem sucul ekosistemlerde tehlikeli maddelerin sebep olabileceği riski en aza indirmek hem de verimliliği en üst seviyelere çıkarmak önemlidir (Ogunfowora vd., 2021). Bu amaçla kirli su ortamından antropojenik maddeleri uzaklaştırmak ve fizikokimyasal niteliklerini sucul organizmalar ve insan tüketimi için standartlara uygun hale getirmek amacıyla arıtılması gerekmektedir. Nanoteknolojik malzemeler sulardan; mikroorganizmaların, inorganik kimyasalların ve özellikle iç su ürünleri yetiştiriciliğinde biyolojik kirliliğin önlenmesi gibi pek çok özelliğinden dolayı ilgi çekmektedir (Iwuozor vd., 2021; Ogunfowora vd., 2021). Nanoyapılı malzemeler; kararlı yapıları, küçük boyutları ve çeşitli alanlarda uygulanabilir olmaları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çinko oksit, gümüş, demir oksit, karbon nanotüpler su ürünleri yetiştiriciliğinde su kalitesi yönetiminde kullanım için araştırılan nano malzemelerden bazılarıdır (Omodele vd., 2019; Ighalo ve Adeniyi, 2020; Ogunfowora vd., 2021).

Ayrıca doğal yüzey hidrolojisi ve fotosentez yeteneğinden faydalanarak algler gibi biyopolimerlerle sinerjik olarak birleştirildiklerinde performansları önemli ölçüde artış göstermektedir (Askari Hesni vd., 2020; Nasr-Eldahan vd., 2021; Ogunfowora vd., 2021).

1.6. Gökkuşığı Alabalığı

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Kuzey Amerika kökenli olup yetiştiriciliğe uygunluğu nedeniyle dünya çapında tanınmaktadır. Türkiye'ye 1970'li yıllarda getirilen gökkuşığı alabalığı, yetiştiriciliği yapılan tatlı su balıkları arasında ilk sırada bulunan alabalık türüdür (Çelikkale, 1994; Sarıeyyüpoğlu vd., 2017; Çakmak vd., 2024). Dünya'da yetiştiricilik yoluyla üretimi yapılan türler arasında 15. sırada olup yetiştiriciliği yapılan alabalık türleri arasında ise birinci sırada bulunmaktadır. Ülkemiz 165.683 tonluk üretim ile Dünya gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde üçüncü sırada bulunmaktadır (FAO, 2024; Çakmak vd., 2024). Bunlarla beraber 2018 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı, Karadeniz'de yetiştiriciliği yapılan büyük boy gökkuşığı alabalıklarını Dünya balık pazarına "Türk Somonu" markası ile tanıtımını yapmıştır (Çakmak vd., 2024).

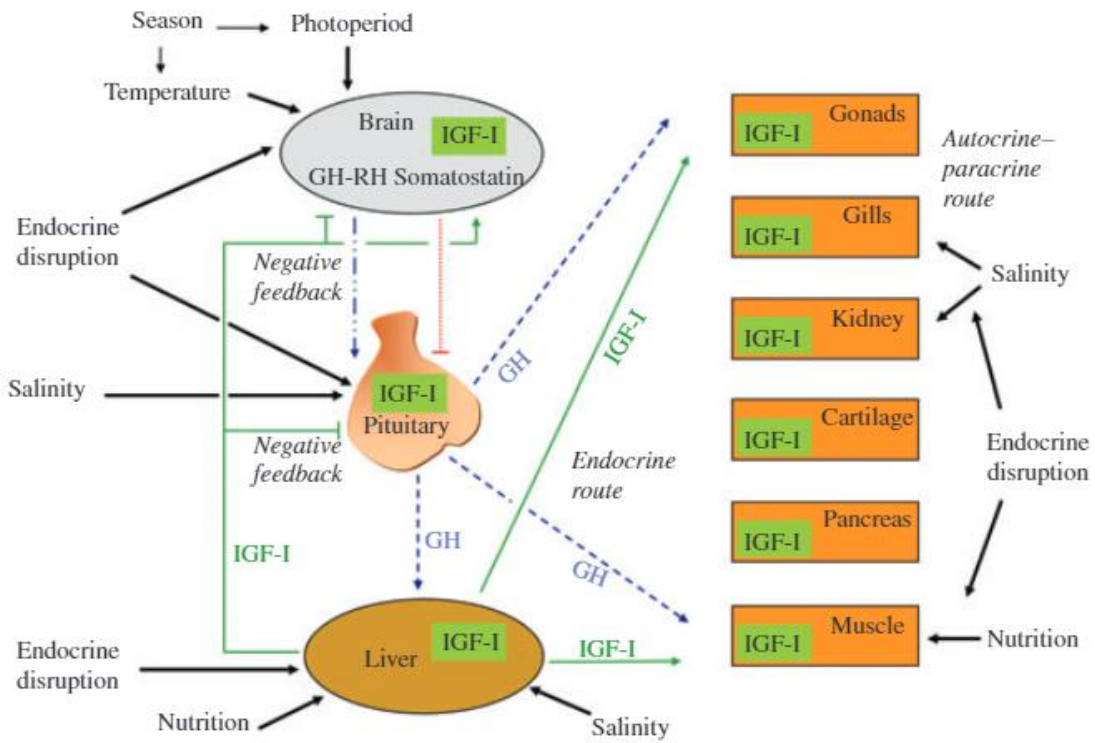
Gökkuşığı alabalığı; çevre şartlarına hızlıca adapte olması, yem alma ve yem değerlendirme kapasitesinin yüksek olması gibi özelliklerinden ötürü yetiştiricilik için tercih edilen türlerin başında gelmektedir (Yıldırım ve Çantaş, 2022). Balık yetiştiriciliği yapılan işletmelerin en önemli problemleri; ithal edilen yemler, hastalıklar, su kirliliği ve çevresel koşullar olarak belirtilmektedir. Yem maliyetlerinin düşürülmesi için yerli hammadde kullanılarak; çevreyle dost, su kaynaklarının sürdürülebilirliğini tehlikeye sokmayan alternatif yem katkı maddeleri kullanılarak içeriği zenginleştirilmiş yemlerin üretilmesi gerekmektedir (Kaya ve Genç, 2022; Yıldırım ve Çantaş, 2022).

Yukarıda belirtilen özellikleri gökkuşığı alabalığının su ürünleri sektörü açısından önemini vurgulamaktadır. Bununla beraber gökkuşığı alabalığı; fizyolojik ve toksikolojik çalışmalarda çok iyi bir model organizma olarak bilinmektedir (Shahmohammadloo vd., 2022; Paineofilú vd., 2022).

Model organizma; bilimsel araştırmalarda kullanmak amacıyla bilim dünyası tarafından kabul görmüş, diğ r organizmaların fonksiyonlarıyla ilgili ön bilgi elde edilmesine olanak sağlayan türlerdir. Model organizma olarak seçilen gökkuşağı alabalığı; genetik, biyoteknoloji, toksikoloji, fizyoloji, ekoloji, su ürünleri vs. gibi pek çok alan için kullanılabilir (Tilton vd., 2005; Kutluy r ve Aksakal 2013; Korkmaz, 2023).

1.7. Balıklarda Büyüme Hormonu ve  ns lin Benzeri Büyüme Faktörü-I

Büyüme hormonu (GH-I) ve  ns lin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), balıkların gelişimleri ve metabolizmaları üzerinde önemli rol oynamaktadır.   ve dış uyarılara bağlı olarak büyümenin düzenli bir şekilde kontrol edilmesi, hormonlar aracılığıyla sağlanır. Bu düzenleyici sistem, GH-I/GF-I eksenini olarak adlandırılmaktadır. Bu ekseninde  n hipofizden GH salınımı, hipotalamustan gelen somatostatin tarafından uyarılan büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GH-RH) tarafından baskılanır.  n hipofizden salgılanan GH, reseptörü GH-R aracılığıyla karaciğ rde IGF-I'in sentezini ve dolaşıma salınımını uyarır. IGF-I, kan dolaşımı yoluyla böbrek, dalak, beyin, kas, gonadlar gibi diğ r organlardaki hedef hücrelere ulaşır ve tip-1 IGF reseptörü (IGF-1R) aracılığıyla etkilerini gösterir. Dolaşımda bulunan IGF-I, GH sentez ve salınımını engellediği için hipofiz GH salgısının önemli bir negatif geri bildirim düzenleyicisidir. Bu sebepten ötürü IGF-I'in fizyolojik rolü endokrin olarak anlaşılmaktadır. GH-I/GF-I eksenini olarak bahsedilen bu sistem şekil 1.5'te şematize edilmiş olarak verilmiştir (Reinecke, 2010).



Şekil 1.5. Balıklarda GH/IGF-I ekseninin şematik diyagramı (Reinecke, 2010)

Büyüme düzenleyici olarak nitelendirilen GH, bu işlevinin yanı sıra lipid, karbonhidrat ve protein metabolizmasını (Davidson, 1987; Möller ve Norrelund, 2003), bağışıklık sistemini (Jeay vd., 2002), stres tepkisini ve davranışı (Yoshizato vd., 1998) gibi farklı fizyolojik süreçlerde de önemli rol üstlenmektedir (De Azevedo Figueiredo vd., 2007). GH'nın bu süreçlere etkisi genellikle GH uyarımına yanıt olarak karaciğerde ve diğer dokularda üretilen IGF-I'in aracılık etmesiyle gerçekleşir. GH'nın biyolojik etkileri temelde ön hipofiz bezinde bulunan somatotroflarda (sentez ve salgılama) ve hedef dokularda spesifik bir hücre reseptörü olan GH-R ile etkileşimi yoluyla düzenlenir. Bu şekilde GH-R sentezi çevresel ve biyolojik faktörlere bağlı olan GH duyarlılığını düzenler (Flores Morales vd., 2006).

IGF-I; balıklarda büyümeyi, farklılaşmayı, gelişimi ve üremeyi düzenleyen sistemin esas bileşenlerden bir tanesidir. IGF-I, esas olarak endokrin IGF-I'in ana kaynağı olan karaciğerde sentezlenmekle beraber otokrin-parakrin bir şekilde etki ettiği farklı

organlarda da ifade edilir. IGF-I'in sentez ve salınımı için birincil uyarıcı görevi gören, ön hipofizden gelen büyüme hormonudur.

1.8. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrede lipit, protein ve DNA gibi oksidasyona duyarlı moleküllerin serbest radikaller tarafından zarar görmesini engelleyen veya bu süreci yavaşlatan bileşiklere antioksidan, bu işleyiş ise antioksidan savunma sistemi denir. Antioksidanlar, serbest radikallere elektron vererek hücresel hasarı önlemeye yardımcı olurlar.

Antioksidanlar dört temel mekanizmayla etki gösterir:

1. **Temizleme (süpürme):** Serbest radikalleri doğrudan etkisizleştirerek ya da daha zayıf formlara dönüştürerek zararı önler (örneğin, SOD, CAT, GSH).
2. **Baskılama:** Oksidanlara hidrojen vererek etkilerini azaltır; reaksiyon hızlarını düşürür (örneğin, C vitamini, flavonoidler).
3. **Onarma:** Serbest radikallerin neden olduğu DNA, protein ve lipit hasarını tamir eder.
4. **Zincir koparma:** Serbest radikalleri bağlayarak zincirleme reaksiyonları durdurur, yayılmasını önler (Aslankoç vd., 2019).

Moleküler oksijen, tüm aerobik organizmalar için temel bir bileşiktir ve biyolojik işlevlerde çok önemli rolleri bulunmaktadır. Ancak oksijen aynı zamanda güçlü bir antioksidandır ve ağır metaller gibi çevresel stresörlerin varlığında oksidatif strese yol açan güçlü bir oksidandır. Oksidatif stres, organizmada çok fazla dengesiz molekül üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizliği ifade etmektedir. Bu dengesiz moleküller ise serbest radikal olarak adlandırılmaktadır (Kumar vd., 2023).

Oksidatif stresin uyarılması, antioksidanların tepki vermesini, antioksidan sistemle ilişkili genlerin ifadesinin uyarılmasını ve reaktif oksijen türleri (ROS) temizleyicilerinin artmasını sağlar (Mahboob, 2013; Kumar vd., 2023). ROS oluşumunu engelleyerek, ROS'un sebep olabileceği hasarları önlemede ve detoksifikasyonunu sağlamada rol alan sistemler "antioksidanlar veya antioksidan savunma sistemi" olarak adlandırılmaktadır (Şener ve Yeğen Berrak, 2009; Karabulut ve Gülay, 2016). Antioksidan savunmaları

türden türe farklılık gösterse de, antioksidan savunmanın varlığı ortak bir özelliktir (Nimse ve Pal, 2015).

Balıklar, ROS'un etkisini en aza indirmek için koruyucu bir yapıya sahiptir ve antioksidan sistemleri, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşur. Enzimatik antioksidanlar, serbest radikalleri parçalayarak ve yok ederek görevlerini yerine getirirken enzimatik olmayan antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonlarını engelleyici olarak işlev görürler (Kumar vd., 2023). Enzimatik antioksidanlar olan; SOD, CAT, GPx, GST ve GR, redoks dengesizliğinin başlıca biyobelirteçleridir. SOD, CAT ve GPx'in hücresel işlevleri, SOD katalizli reaksiyonun bir ürünü olan H_2O_2 'nin CAT ve GPx tarafından katalizlenen reaksiyonlar için substrat görevi görmesi nedeniyle birbirleriyle ilişkilidir. SOD ve CAT, yabancı maddeler tarafından indüklenen serbest radikallere karşı birincil savunma hattını oluşturur (Irato ve Santovito, 2021; Kumar vd., 2023).

1.9. Yağ Asitleri

Yağlar (lipidler), temel besin öğelerinden biri olarak beslenmede hayati bir rol oynamaktadır. Yalnızca yüksek enerji sağlamalarıyla değil aynı zamanda yağda çözünebilen vitaminleri taşımaları, proteinlerle etkileşerek lipoprotein yapılarının oluşumuna katkı sağlamaları ve sağlık üzerindeki çeşitli etkileri dolayısıyla da büyük önem taşırlar. Kimyasal açıdan yağlar, heterojen bileşiklerden oluşan geniş bir grubu temsil eder ve bu bileşiklerin çoğu, yapı taşı olarak yağ asitlerini içerir. Bu özellikleri sayesinde yağlar, hücresel düzeyden makroskobik organizma düzeyine kadar pek çok biyolojik süreci incelemek için uygun bir araç haline gelir.

Yağ asitleri pek çok biyolojik rolü üstlenmektedir. Hücre zarının temel bileşenlerinden fosfolipitlerin yapısına katılarak yapısal bütünlüğü sağlarlar. Bunun yanı sıra fiziksel ve kimyasal özellikleri ile beslenmek işlevleri; moleküldeki karbon atomu sayısına, karbon atomları arasındaki çift bağların sayısına, doymuşluk derecesine ve hidrojen atomlarının bağlanma konumuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (Karabulut ve Yandı, 2006; Karaca ve Aytaç, 2007; Çakmakçı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012). Balıklarda yağlar ve içerdikleri yağ asitleri, proteinlerle birlikte temel organik bileşenleri oluşturur. Bu bileşenler, büyüme

ve üreme gibi yüksek enerji gerektiren fizyolojik süreçler için önemli bir metabolik enerji kaynağıdır.

Yağ asitleri doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırma molekül yapılarındaki karbon-karbon bağlarının türüne göre yapılır ve her iki grubun hem balıklardaki fizyolojik işlevleri hem de insan beslenmesindeki sağlık etkileri farklılık göstermektedir. Aşağıda bu iki yağ asidi grubunun özellikleri, ayrı başlıklar altında verilmiştir.

1.9.1. Doymuş Yağ Asitleri (Saturated Fatty Acid, SFA)

Doymuş yağ asitleri (SFA), zincirlerinde çift bağ içermeyen ve karbon atomlarının tamamen hidrojenle doyurulduğu stabil moleküllerdir. Kimyasal olarak oldukça kararlı yapıya sahip olan bu yağ asitleri, karboksil grubu dışında ek bir fonksiyonel grup içermediğinden dolayı yağ asitleri arasında en düşük reaktiviteye sahip olan gruptur. Karbon atomu sayısı 10'dan az olan doymuş yağ asitleri, oda sıcaklığında genellikle sıvı ve uçucu özellik gösterirken daha uzun zincirli doymuş yağ asitleri ise genellikle katı halde bulunur. Bu kapsamda, gıda bileşiminde yaygın olarak bulunan bazı doymuş yağ asitlerine; bütirik asit (C4:0), kapronik asit (C6:0), Kaprilik asit (C8:0), laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), araşidik asit (C20:0), örnek olarak verilebilir (Semma, 2002; Çakmakçı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012).

Doymuş yağ asitleri, canlı organizmalarda yalnızca enerji kaynağı olarak kullanılmazlar aynı zamanda yapısal ve metabolik işlevlerde de önemli rolleri bulunmaktadır. Hücre zarının bütünlüğünü sağlayan fosfolipitlerin ve nötral yağların yapısında yer alan bu bileşikler, organizmaların enerji depolama mekanizmasında da kritik bir konumda bulunur (Balçık Mısıır, 2014). Balıklar gibi sucul omurgalılarda, özellikle palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) gibi yaygın doymuş yağ asitleri, enerji ihtiyacını karşılamak için SFA'ları mitokondriyal β -oksidasyon yoluyla kullanırlar. Böylece, büyüme için gerekli enerji ve yedek proteini üretmek üzere kolayca oksitlenebilen lipid kaynağı olarak bulunurlar (Kamarudin vd., 2012; Bami vd., 2017).

1.9.2. Doymamış Yağ Asitleri (Polyunsaturated, PUFA)

Doymamış yağ asitleri, bir veya daha fazla sayıda çift bağ içeren yağ asitleridir. Tek veya çift bağ içermeye durumlarına göre tekli doymamış (monounsaturated fatty acid, MUFA) veya çoklu doymamış yağ asitleri (polyunsaturated, PUFA) olarak sınıflandırılırlar. Tek bir çift bağ içerenler, tekli doymamış; birden fazla çift bağ içerenler ise çoklu doymamış yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Gıda bileşiminde en fazla bulunan tekli doymamış yağ asidi, oleik asit; çoklu doymamış yağ asidi, linoleik asittir (Semma, 2002; Çakmakçı ve Tahmas Kahyaoğlu, 2012).

Balıklar, esansiyel yağ asitlerini kendileri sentezleyemediğinden, bu yağ asitlerinin diyetle alınması zorunludur. Özellikle doymamış yağ asitleri arasında yer alan omega-3 ve omega-6 serisi PUFA'lar, balıkların büyüme, üreme ve hücre fonksiyonları için kritik öneme sahiptir (Kamarudin vd., 2012). Balıkların büyük çoğunluğu, oleik asit (18:1 n-9) gibi MUFA'lardan C18 uzunluğundaki PUFA'ları sentezleyemezler çünkü bu dönüşüm için gerekli $\Delta 12$ ve $\Delta 15$ desaturaz enzimlerine sahip değildirler. Bu nedenle eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) gibi uzun zincirli PUFA'lar diyet yoluyla sağlanmalıdır. PUFA'ların yeterli miktarda sağlanması büyüme, üreme ve genel sağlık açısından hayati öneme sahiptir (kamarudin vd., 2012; Bami vd., 2017).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Radwan vd. (2024) tarafından, alg özleri (*Hypnea musciformis*, *Grateloupia acuminata* ve *Sargassum muticum*) kullanılarak sentezlenen magnezyum oksit nanopartiküllerinin (MgO NP), nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) kültür suyu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. 60 gün süren deneyde, kontrol grubu (HGS0), HGS5, HGS10 ve HGS15 mL⁻¹ sıvı ekstrakt içeren gruplara, tüm gruplar için 7.5 µg/mL⁻¹ MgO NP ilave edilmiştir. Araştırma bulguları, HGS10 ve HGS15 mL⁻¹ seviyelerinin, büyüme ve sindirim enzim aktivitelerini önemli ölçüde artırdığını ayrıca *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilen balıkların hayatta kalma oranını kontrol grubuna kıyasla iyileştirdiğini göstermiştir. HGS10 ve HGS15 mL⁻¹ seviyelerinde balık kaslarındaki toplam bakteri, koliform, dışkı koliform sayısı ve ağır metal konsantrasyonlarının kısmen azaldığı belirtilmiştir. Aynı seviyelerde, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde iyileşmeler kaydedilmiş; bağışıklık ve antioksidan indekslerde kontrol grubuna kıyasla belirgin gelişmeler tespit edilmiştir. Bununla beraber HGS15 mL⁻¹ seviyesinde inflamasyonla ilişkili genlerin (HSP70, IL-1β ve IL-8) ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. *In-vitro* olarak, karışımın HGS10 ve HGS15 mL⁻¹ seviyelerinde, antibakteriyel ve kısmen antiparazitik etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma bulgularına göre, kültür suyuna 10-15 mL⁻¹ HGS ve MgO NP karışımı eklenmesinin, su kalitesini, balık büyümesini ve sağlık durumunu iyileştirdiği; nil tilapyasının bakteri ve parazit enfeksiyonlarına karşı direncini artırdığı bildirilmiştir (Radwan vd., 2024).

Vijayakumar vd. (2023), *Moringa olifera* kaplı magnezyum oksit nanopartikülleri (Mgm-MgO NPs) sentezleyerek biyolojik aktivitelerini değerlendirdikleri araştırmalarında, Mgm-MgO NPs'nin yüksek antioksidan aktivite sergilediği, 500 µg/mL konsantrasyonda anlamlı hemoliz (%72,54) oluşturduğunu daha düşük konsantrasyonlarda ise bu etkinin gözlenmediği tespit edilmiştir. MTT testi ile yapılan sitotoksikite analizi, Mgm-MgO NPs'nin (0,1-500 µg/mL) hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Zebra balığı embriyotoksikite testi ise 0,1-500 µg/mL konsantrasyonlarında; morfoloji, ölüm oranı veya sağkalım oranında herhangi bir olumsuz etki göstermediği belirtilerek yeşil

sentez ile üretilen Mgm-MgO NPs'nin biyoyumlu ve toksik olmayan bir yapıya sahip olduğu bildirilmiştir (Vijayakumar vd., 2023).

Verma vd. (2020), magnezyum oksit (MgO) ve deve *Calotropis gigantea* aracılı yeşil sentez magnezyum oksit nanopartiküllerinin (G-MgO NP), karşılaştırmalı olarak zebra balığı embriyoları üzerinde moleküler düzeydeki toksisite mekanizmasını araştırmıştır. Çalışmalarında; hücrel toksisite karşılaştırmaları, G-MgO NP'nin, MgO NP'ye kıyasla zebra balığı embriyolarında morfolojik değişiklikler, notokord gelişimi ve kalp atış hızı açısından daha yüksek biyoyumluluk sergilediği belirtilmiştir. G-MgO NP'nin, LC₅₀ değeri 520 µg/mL iken, MgO NP'nin LC₅₀ değeri 410 µg/mL olarak bulunmuştur. Moleküler toksisite analizi, MgO NP'nin toksik etkilerinin; nanopartiküllerin hücre içi birikimi ve proteinler (Sod1 ve p53) ile etkileşiminden kaynaklanan oksidatif stresin düzensizleşmesi sonucu apoptoza yol açtığını ortaya koymuştur. Çalışmada, MgO NP'nin nanotoksitesine alternatif olarak yeşil sentez yöntemi ile MgO sentezi önerilmiştir (Verma vd., 2020).

Faisal vd. (2021) çalışmasında, *Mentha arvensis* özütü kullanarak magnezyum oksit nanoparçacıkları (MgO-NP) yeşil sentez yöntemi ile elde etmiştir. Elde edilen MgO-NP'lerin *in-vitro* ortamda antioksidan, anti-Alzheimer, antikanser ve anti-*Helicobacter pylori* aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak, MgO-NP'lerin, antimikrobiyal, antikanser etkinlik göstermekle beraber serbest radikal temizleme özelliği rapor edilmiştir. MgO-NP'lerin antimikrobiyal ve antikanser özelliklerinin yanı sıra serbest radikal temizleme özellikleri nedeniyle terapötik uygulamalarda potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır (Faisal vd., 2021).

Nasim vd. (2024), *Ocimum tenuiflorum* bitkisini kullanarak çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO NPs) antibakteriyel, antibiyofilm ve zebra balığı embriyoları üzerine biyoyumluluklarını inceledikleri çalışmalarında, ZnO NPs'lerin hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğunu, özellikle *E. coli* (20,0±0,8 mm), *Enterococcus faecalis* (20,0±0,5 mm), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (18,01±1,2 mm) ve *Streptococcus mutans* (17,5±1,0 mm) bakterilerinin üremesini durdurduğu bildirilmiştir. ZnO NPs'lerin biyofilm oluşumunu 0,198-1,431 OD arasında azalttığını ve bu etkinliğin konsrasyona bağımlı olduğu gösterilmiştir. NPs'lerin

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri, 15-25 µg/mL arasında bakterilere karşı etkili olmuştur. Zaman bağımlı ölüm kinetiği çalışmalarında, ZnO NPs'lerin bakterileri 8-12 saat içinde öldürdüğünü göstermiştir. Zebra balığı embriyolarında ise 750 µg/mL ZnO NPs çözeltisinin embriyo çıkış ve hayatta kalma oranlarını etkilemediğini, 1 mg/mL'ye kadar olan dozlarda ise oldukça düşük düzeyde zarar verdiği sonucuna ulaşılmıştır. Sonuç olarak, yeşil sentez metodu ile üretilen ZnO nanopartiküllerinin; sürdürülebilir, biyolojik olarak uyumlu ve çeşitli biyolojik uygulamalara uygun bir yaklaşım olduğunu rapor etmiştir (Nasim vd., 2024).

Abd El-Kader vd. (2020), selenyum (Se) nanopartiküllerinin Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) büyüme performansı üzerine farklı besleme stratejilerini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubu sadece bazal yem, diğer gruplara ise Se nanopartikülleri; her gün (R1), iki günde bir (R2) ve üç günde bir (R3) olacak şekilde yemleme yapılmıştır. R1 grubunda bulunan balıkların, diğer gruplarla kıyaslandığında daha yüksek vücut ağırlığı (FBW), büyüme oranı (WG) ve spesifik büyüme oranı (SGR) gösterdiği tespit edilmiştir. Yem dönüşüm oranının (FCR) tüm Se gruplarında azaldığı, en düşük değer R1 grubunda olduğu belirtilmiştir. Se nanopartikülleri ile beslenen gruplarda (R1, R2, R3), hemoglobin, alyuvar ve akyuvar seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş; toplam protein, globulin, fagositik indeks, fagositik aktivite ve lizozim aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. R2 grubunda: SOD, CAT, GPx yükselirken; malonaldehit düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir. Karaciğerde GH ve IGF-I, IL-8 ve IL-1β genleri yukarı regüle olurken, HSP70 ekspresyonunun azaldığı kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda, Se nanopartiküllerinin günlük, gün aşırı veya iki günde bir verilmesiyle balıkların, büyüme hızı, yem verimliliği ve hemato-biyokimyasal değerlerinin arttığı; bağışıklık ve antioksidatif tepkiler ve antiinflamatuvar etkilerin de Se nanopartikülleri tarafından aynı şekilde artırıldığı rapor edilmiştir (Abd El-Kader vd., 2020).

Dawood vd. (2020), yem katkı maddelerinin özellikle stres altındaki balıklar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla FA katkılı yemleri kullanarak nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) ile 60 gün süreyle yaptıkları araştırmalarında, diyetlere; 0, 20, 40, 80 ve 160 mg FA/kg oranlarında ferulik asit eklenmiştir. 60 gün sonra balıklar ısı stresine (HS) maruz bırakılmıştır. Ardından kan ve karaciğer örnekleri toplanmıştır. HS'den önce büyüme

performansı FA'nın dahil edilmesiyle doğrusal ve ikincil olarak etkilendiği ve en yüksek etki oranının 80 mg/kg diyet grubunda olduğu belirtilmiştir. Hemoglobın ve kırmızı kan hücrelerinin de diyet FA'sından doğrusal ve karesel olarak etkilendiği ve en yüksek seviyelerin 40 ve 80 mg FA/kg olarak bildirilmiştir. HS'den sonra kan glikoz, kortizol, SOD, CAT, GPx ve malondialdehit (MDA) değerleri HS öncesine göre artarken, diyetle alınan FA bu değerleri doza bağlı bir rejimde (doğrusal ve ikincil $p < 0,05$) azalttığı belirtilmiştir. HS'den önce SOD 80 mg/kg düzeyinde; CAT 40, 80 ve 160 mg FA/kg düzeyinde artış olduğu; öte yandan MDA özellikle 80 mg/kg düzeyinde FA ile düşük seviyeler gösterdiği belirtilmiştir. SOD, CAT ve GPx seviyeleri HS'den sonra artmış ve en yüksek seviyeler MDA'da benzer eğilimle FA takviyesiyle gözlemlenmiştir. FA, fagositoz (PA) ve lizozim (LZM) aktivitelerini HS sonrası azalmış olmasına rağmen, doza bağlı olarak artırmıştır. Diyetle alınan FA, INF- γ , TNF- α ve IL-1 β genlerinin ekspresyonunu yukarı ve HSP70 genini doz bağımlı olarak HS'den önce ve sonra aşağı düzenlediği ($p < 0,05$) belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, FA'nın; HS'nin, antioksidan ve bağışıklık sistemi üzerindeki olumsuz etkilerini gidermede önemli bir katkı maddesi olabileceğini rapor etmiştir (Dawood vd., 2020).

Liu vd. (2022a), nehir karidesi (*Macrobrachium nipponense*)'nin büyümesi, spesifik olmayan bağışıklığı, fizyolojik tepkisi ve hastalık direnci üzerindeki etkisini araştırmak için altı deneysel diyetle sırasıyla 0 (FA0), 20 mg/kg (FA20), 40 mg/kg (FA40), 80 mg/kg (FA80), 160 mg/kg (FA160), 320 mg/kg (FA320) ferulik asit eklenmiştir. Sonuçlar, FA80 ve FA160'ın ağırlık kazanma oranı (WGR) ve SGR değerinin, kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu; FA80, FA160 ve 320 320 gruplarının FCR değerinin, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha düşük olduğu belirtilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, FA160 ve FA320 gruplarının albumin/globulin oranı (A/G) ve tüm tedavi gruplarının kompleman 3'ü (C3) önemli ölçüde artışı belirtilmiştir. FA40'ın glikozu (GLU) diğer gruplardan önemli ölçüde daha daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, FA80 ve FA160 grubunda aspartat aminotransferaz (AST), indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS), nitrik oksit (NO) ve MDA önemli ölçüde azalma, FA160 grubunda SOD, FA80 ve FA160 gruplarında GPx önemli ölçüde artmıştır. FA160 grubu, *Toll* ve *Dorsal* immün yetmezlik (IMD) ekspresyonunu önemli ölçüde aşağı düzenlendiği belirtilmiştir. FA40, FA80 ve FA160 gruplarında ısı şoku proteini (HSP70) ekspresyonu, kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde aşağı yönde

regüle olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, 163,99-183,33 mg/kg ile optimum FA miktarının, *M. nipponense*'nin büyümesini, spesifik olmayan bağışıklılığını ve hastalık direncini önemli ölçüde iyileştirebileceği rapor edilmiştir (Liu vd., 2022).

Shao vd. (2024), ot sazanı (*Ctenopharyngodon idellus*) balıklarının büyüme performansı, sindirim yeteneği, bağırsağında aminoasit ve oligopeptitlerin taşınma fonksiyonu üzerine FA takviyesinin etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekeştirdikleri çalışmada; büyüme deneyi için sağlıklı ot sazanı ($678 \pm 1,00$ g) beş deneme grubuna ayrılmış ve 9 hafta boyunca uygulama yapılmıştır. FA içermeyen kontrol grubu (FA0), 50 (FA50), 100 (FA100), 150 (FA150) ve 200 (FA200) mg/kg olarak gruplara uygulama yapılmıştır. Sonuç olarak, ot sazanının büyüme performansı ve yem verimliliğinin (FE) artığı belirtilmiştir. Yüzdelik ağırlık kazanımı (PWG), FE, SGR, aktivite analizlerine dayanarak ot sazanlarında 92,18-120,60 mg/kg diyetle optimum ferulik asit takviyesi diyetler için önerilmiştir (Shao vd., 2024).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışması kapsamında kullanılan malzeler Tablo 3.1’de, kullanılan cihazlar Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Tez çalışmasında kullanılan malzemeler ve markaları

Malzeme	Marka
Ferulik asit	BLDpharm (CAT No: BD21297, %99,97)
Magnezyum klorür ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)	KimyaLab (CAS No:7791-18-6)
Sodyum Hikroksit	Sigma Aldrich (CAS No: 1310-73-2)
TRIzol Reaktif	Thermo Fisher Scientific
Kloroform	EMSURE® ACS,ISO,Reag.
İzopropanol	ISO Lab.
cDNA sentez Kiti	SOLVER
SYBRGreen qPCR Master Mix	SOLVER
Fish Elisa KİT	YL Biont (Cat No:YLA0039FI)
Fosfat Tamponlu Salin (PBS)	Biowest (P0750)
Müller Hinton Agar	Merck (CAS No:
Nutrient Broth	Merck (CAS No:
Etil alkol	Sigma Aldrich (CAS No: 67-17-5)
Potasyum Karbonat	Merck (CAS 584-08-7)
Metanol	Carlo Erba (Cat No: 308662)
Sülfirik Asit	Kimyalab (CAS No : 7664-93-9)
n-Hekzan	Honeywell (Cat No: 34859)
İzopropil alkol	ISOLAB (CAS No: 67-63-0)
Boş Disk	Bioanalyse
CAT Eliza KİT	YL Biont (Cat No: YLA0014FI)
SOD Eliza KİT	YL Biont (Cat No: YLA0015FI)
GST Eliza KİT	YL Biont (Cat No: YLA0037FI)
GPX Eliza KİT	YL Biont (Cat No: YLA0039FI)
GR Eliza KİT	YL Biont (Cat No: YLA0078FI)
Sodyum Klorür	Sigma Aldrich (CAS Number: 7647-14-5)
Antibiyotik Disk	Bioanalyse

Tablo 3.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz	Marka
Manyetik karıştırıcı	IKA (RT 10)
pH metre	Hanna (2211)
Santrifüj	Madell (TG16-W)
Uv-visible (Uv-vis):	Shmadzu (Uv-3600)
X-Işını Kırınım Analizi (XRD)	Rikagu Ultima IV
Fourier Dönüşümü Kızılötesi Analizi (FT-IR)	Perkin Elmer Spektrum 100
Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	Hitachi HighTech HT7700
Zetasizer (Zeta Potansiyeli Ölçüm Cihazı)	Malvern Zetasizer Nano ZSP
Real Time PCR	Qiagen (RotorGene Q 9000)
PCR	Veriti (96 well Thermo Cycler)
TissueLyser	Qiagen
Vorteks	Wizard
Gaz Kromatografisi	GC 2010 Plus
Cold plate	Qiagen
Hassas Terazî	Dikomsan
Pipet Uçları	Eppendorf
Kuru Hava Fırını	Nüve
Kıyma Makinesi	Fakir
Mikropipet Takımı	Eppendorf
Çoklu Plaka Okuyucu (Elisa)	SPECTRAMAX PLUS 384

3.2. Yöntem

3.2.1. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

Ferulik asit magnezyum nanopartiküllerinin sentezi için:

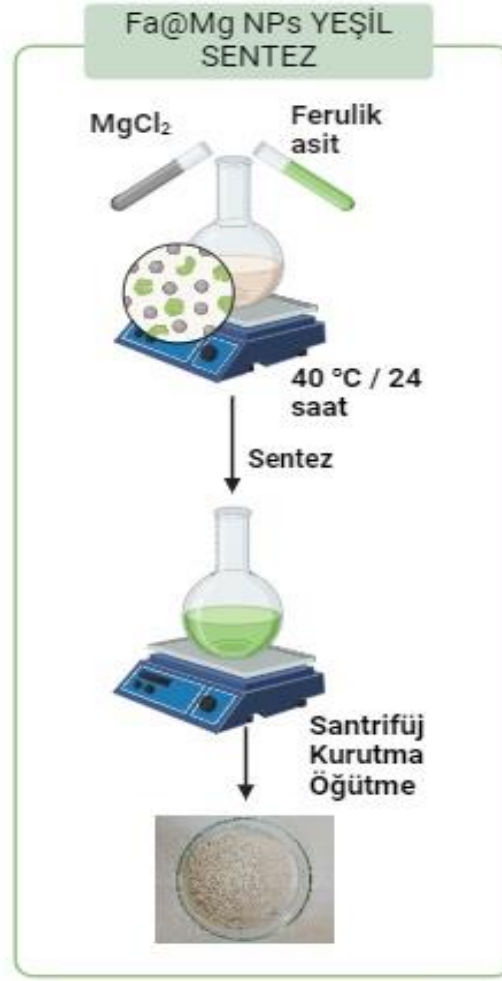
1. Manyetik ısıtıcı 40 °C'ye ayarlanmıştır.
2. 50 mL'de 4,92 g magnezyum klorür ($MgCl_2$) distile suda çözülene kadar manyetik ısıtıcıda karıştırılmıştır.
3. Farklı bir beherde 0,3 g trans ferulik asit ($C_{10}H_{10}O_4$) 10 mL etanol içerisinde çözdürülmüştür.
4. Ferulik asit çözeltisi pastör pipeti yardımıyla damla damla magnezyum çözeltisine eklenerek iki çözelti bir beherde birleştirilmiştir.

5. 2M sodyum hidroksit (NaOH) ile çözeltinin pH'sı 10 olarak ayarlanmıştır. Çözelti renginin süt beyazdan sarıya dönmesi nanopartikül oluşumunun gerçekleştiğini gösteriyordu (Şekil 3.1).
6. Çözelti 24 saat boyunca 40 °C'de manyetik çalkalayıcıda karıştırılmıştır.
7. Ardından 4500 rpm'de çöktürme işlemi yapılarak çökelti, 3 kez dH₂O ile yıkama ve 2 kez %70'lik etanol ile durulama, işlemi gerçekleştirilmiştir.
8. Sentezlenen nanopartiküller, 37°C'de kurumaya bırakılmıştır.
9. Kuruyan pelet öğütülmüştür (Şekil 3.2) (Gao vd., 2022; Macit vd., 2023). Ferulik asitin magnezyum klorürü magnezyum oksite indirgemesi şematik olarak Şekil 3.3'te verilmiştir (Pugazhendhi vd., 2019; Faisal vd., 2021; Amoah, 2022; Sharma vd., 2023).



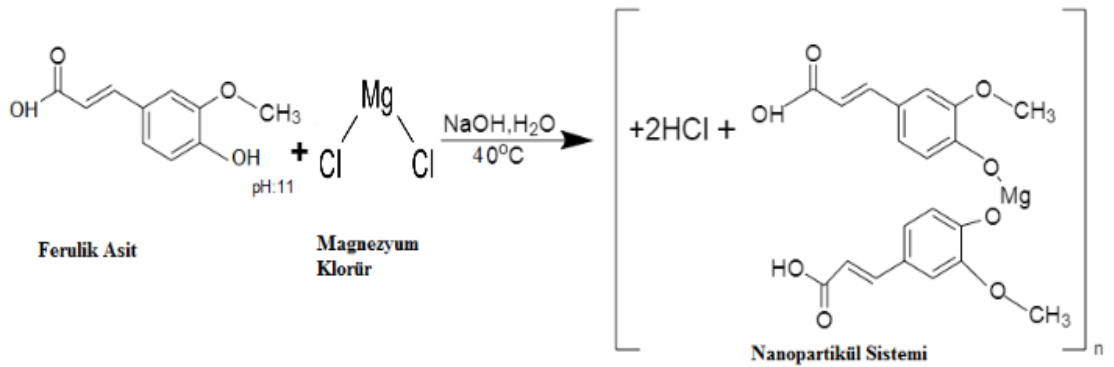
*1: Başlangıç çözeltisi, 2: Reaksiyon başlangıcı, 3: Nanopartikül oluşum süreci, 4: Sentezin tamamlanması

Şekil 3.1. Nanopartikül sentezinin gerçekleştiğini gösteren renk değişimi



Şekil 3.2. Nanopartikül sentez aşamaları

Ferulik asitin, güçlü indirgeme (Chahardoli vd., 2022) özelliği magnezyum iyonu ile etkileşime girer ve onu Mg^{+2} 'den Mg^0 'a indirger (Faisal vd., 2021).



Şekil 3.3. Fa@MgNPs oluşumunun şematik gösterimi

3.2.2. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

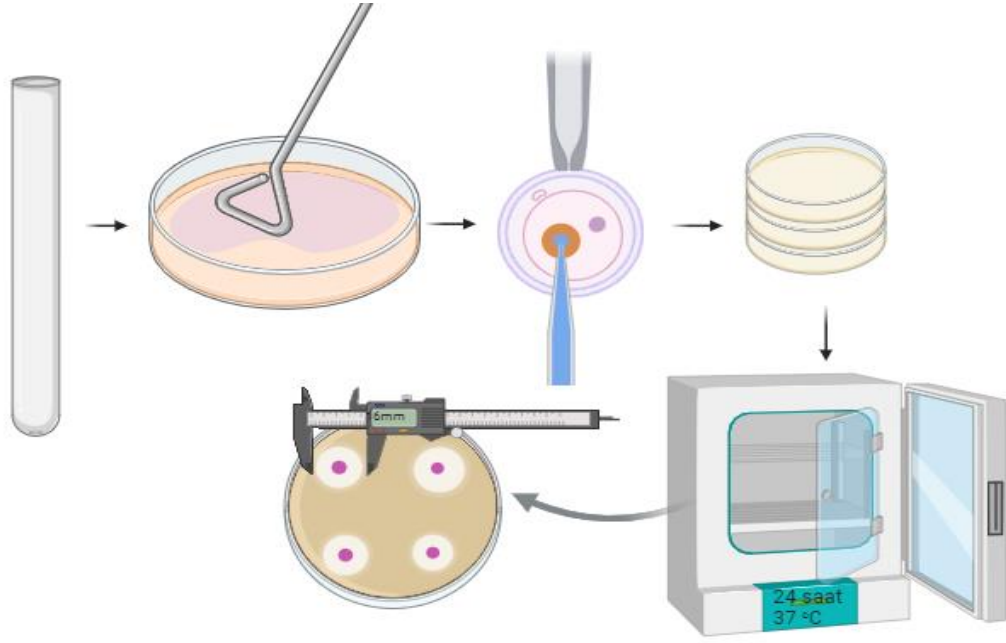
FA@MgNPs karakterizasyonu çeşitli enstrümantal analiz teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektroskopisi, nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamak ve yüzey plazmon rezonansını tespit etmek için kullanılmıştır. FT-IR spektroskopisi, nanopartikül yüzeyindeki fonksiyonel grupları tanımlamak ve bitki özütü ile olası etkileşimleri araştırmak için kullanılmıştır. Nanomalzemenin kristalin yapısını ve kristalinite derecesini belirlemek için XRD analizi yapılmıştır. Nanopartiküllerin yüzey morfolojisi ve şekil özelliklerini gözlemlemek için SEM kullanılırken, EDX, element bileşimleri hakkında bilgi sağlamıştır. TEM, parçacık boyutunun ve iç yapısının yüksek çözünürlüklü incelenmesini sağlamak için kullanılmıştır. Son olarak, nanopartiküllerin yüzey yükünü belirlemek ve kolloidal kararlılıklarını değerlendirmek için zeta potansiyeli analizi yapılmıştır. Bu analizler, FA@MgNPs'lerin yapısal, morfolojik ve kimyasal özellikleri hakkında kapsamlı bir anlayış sağladı (Gao vd., 2022; Macit vd., 2023).

3.2.3. Antibakteriyel Aktivite Analizleri

Antibakteriyel aktivite analizleri için gram-negatif bakterilerden; *E. coli*- (ATCC-25922), *A. hydrophila*, *Y. ruckeri* ve gram-pozitif bakterilerden; *S. aureus* (ATCC-6538P) kullanılmıştır. Çalışma konsantrasyonları; 1, 2, 4, 6 mg/disk olarak belirlenen farklı dozlarla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, pozitif kontrol olarak amikasin; negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. Deney aşağıda belirtilen protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir:

1. Nutrient broth ve Müller hinton besiyerleri üretici firma prosedürü kullanılarak hazırlanmıştır.
2. Nutrient broth besiyerinden cam tüplere 9 mL koyularak, kullanılacak diğer malzemelerle beraber sterilizasyonu sağlanmıştır.
3. Biyogüvenlik kabini içerisinde stok bakterilerden ekimler yapılmıştır, etüvde 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir.
4. Mc Farland 0,5 standardına göre bakteri konsantrasyonu ayarlanmıştır.
5. Konsantrasyonu ayarlanmış olan bakterilerden, petrilere 20 µL bakteri ekimi yapılmıştır.

6. Bakteri ekimi yapılmış olan petrilere, antibiyotik ve boş diskler yerleştirilmiştir. Boş disklere uygun konsantrasyonlarda örnekler eklenmiştir.
7. Petriler +4 °C’de 30 dakika süresince tutulmuştur.
8. Ardından 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edilerek disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür (Benli ve Yiğit, 2005; Yiğit vd., 2009). Analizin aşamaları Şekil 3.4’te verilmiştir.



Şekil 3.4. Antibakteriyel analiz aşamaları

3.2.4. Yem Rasyonlarının Hazırlanması

Toz formda temin edilen yavru alabalık yemleri, deney süresince her bir grup için toplam 48 g olacak şekilde hazırlanmıştır. Deneme süresince balıklara, günde iki kez (sabah ve akşam) canlı ağırlıklarının %3’ü oranında yem verilmiştir. Katkılı yemlerin hazırlanması:

1. Mg, FA ve FA@MgNPs (0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg ve 3 mg) dozları her bir grup için ayrı ayrı tartılarak eklenmiştir.
2. Karışımın, iyice harmanlanması için 10 dk boyunca karıştırılmıştır.
3. Karışım, ultra saf su (ddH₂O) kontrollü bir şekilde eklenerek sert kıvamlı bir hamur elde edilmiştir.
4. Elde edilen hamur 10 dk boyunca karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilmiştir.

5. Hazırlanmış hamur, kıyma makinesinden geçirilerek 2-2,5 mm boyutlarında peletler haline getirilmiştir.

6. Peletler, 25 °C’de kuru hava fırınında kurutulmuştur.

7. Kullanım öncesi +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Deilamy Pour vd., 2021).

Deney için hazırlanmış katkılı yemlerin içeriği Tablo 3.3’te; yemlere ait görsel Şekil 3.5’te verilmiştir.

Tablo 3.3. Deney için hazırlanmış katkılı yemlerin içeriği

Grup	Yem İçeriği (Total)	Yem Miktarı (10 gün/g)
Kontrol	Ticari Yem	48
İyonik FA	300 mg FA + 47,7g Ticari Yem	48
İyonik Mg	700 mg Mg + 47,3 g Ticari Yem	48
0,5 mg FA@MgNP	0,5 mg NPs + 47,5 g Ticari Yem	48
1 mg FA@MgNP	1 mg NPs + 47 g Ticari Yem	48
1,5 mg FA@MgNP	1,5 mg NPs + 46,5 g Ticari Yem	48
3 mg FA@MgNP	3 mg NPs + 45 g Ticari Yem	48



Şekil 3.5. Her bir grup için ayrı olarak hazırlanmış yemler

3.2.5. Yavru Alabalıkların Temini ve Aklımasyonu

Balıklar, Bingöl ilindeki alabalık tesislerinden temin edilip, 7 gün süresince aklımasyona tabi tutulduktan sonra deney için hazırlanmış katkılı yemlerle beslenmeye başlanmıştır. Akvaryumlara; 8 adet 8 ± 4 g ağırlığında yavru balık kontrol ve deney grupları olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır. Deney, 10 gün süreyle ve üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyin gerçekleştirildiği balık yetiştiriciliği ünitesinin yapısal şeması Şekil 3.6’da verilmiştir (Rajkumar vd., 2022).



Şekil 3.6. Deneysel balık yetiştiriciliği sistemine ait genel görünüm

Deney süresince su parametreleri (sıcaklık: 15-20 °C, pH: 8,5-9,5) düzenli olarak kontrol edilmiştir. Deneklere doğal fotoperyot uygulanmıştır (Federici vd., 2007; Younas vd., 2022; Razmara ve Pyle 2022; Ghanbary vd., 2022). Deneme sonunda balıklar, karanfil yağı içeren suya konularak bayıltılmış ve ardından kas, karaciğer ile böbrek dokuları

alınmıştır (Şekil 3.7). Bu çalışma Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından E-85680299-020-59585 numaralı karar ile onaylanmıştır.



Şekil 3.7. Çalışmadan kullanılan balığın, doku alınmadan önce çekilmiş fotoğrafı

3.2.6. Dokulardan Total RNA İzolasyonu

Dokulardan RNA izolasyonu manuel olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılacak tüm malzemeler önceden sterilize edilerek kullanılmıştır.

1. Balık dokuları 50 mg olacak şekilde tartım yapılmıştır
2. Dokular, RNaz içermeyen tüplere yerleştirilmiş ve üzerine 700 μ L TRIzol Reaktif eklenmiştir. Dokular, doku homojenizatörü (tissueLyser) kullanılarak 5 dk boyunca homojenize edilmiştir.
3. Homojenize edilmiş doku karışımı, oda sıcaklığında 5 dk bekletilerek RNA'nın hücresel komponentlerden ayrışması sağlanmıştır. 10 dk 12,000 x g hızında santrifüj edilmiştir. Santrifüj yapılan örneklerin üst fazı yeni tüplere aktarılmıştır.
4. Üzerlerine 250 μ L kloform eklenmiştir ve tüpler çalkalanarak iyice karıştırılmıştır.
5. 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 15 dk boyunca 4°C'de, 12,000 x g hızında santrifüj edilmiştir.
6. 2 mL'lik yeni tüpler hazırlanmıştır ve santrifüj sonrası üst faz dikkatlice alınarak tüplere aktarılmıştır.
7. Üst faza 500 μ L izopropanol eklenmiştir ve vorteks yapılmıştır. Karışım, RNA'nın çökmesi için 10 dk boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir.

8. Tüp tekrar 15 dk boyunca 4°C'de, 12,000 x g hızında santrifüj edilmiştir ve RNA peleti tüpün dibinde toplanmıştır.
9. RNA peletinin, üzerindeki sıvı dikkatlice uzaklaştırılarak 1 mL %75 etanol eklenmiştir ve vorteks yapılarak yıkanmıştır.
10. Etanol yıkaması sonrası tüp 5 dk boyunca 4°C'de, 7,500 x g hızında santrifüj edilmiştir.
11. Yıkama sıvısı uzaklaştırılmıştır ve RNA peleti oda sıcaklığında kurutulmuştur.
12. Kuru pelet üzerine 50 µL RNase-free water eklenmiştir ve kullanılıncaya dek mahafaza cDNA sentezinin tüm aşamaları edilmiştir (Önalın, 2019). Çalışmaya ait görseller Şekil 3.7'de verilmiştir.

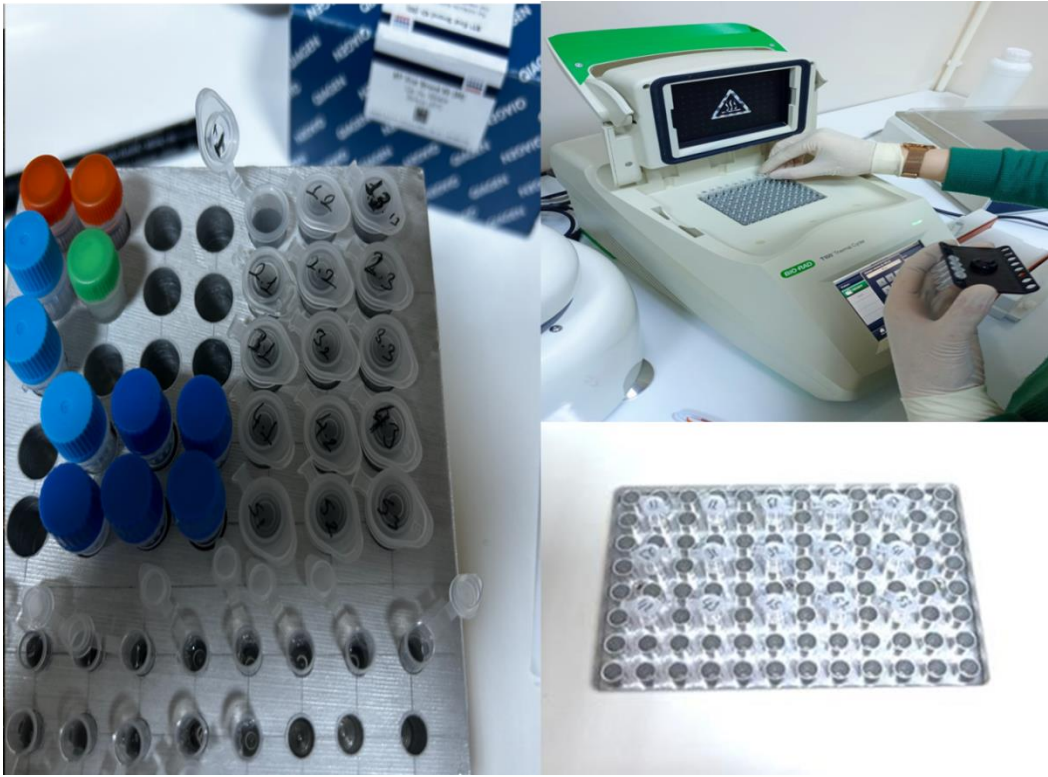


Şekil 3.8. Total RNA izolasyonu görüntüleri

3.2.7. cDNA Sentezi

13. +4 °C’de soğuk plaka üzerinde gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi için All in one cDNA synthesis kit kullanılmıştır. Bu kapsamda:

1. İzole edilen 1 µl RNA, 10 ng/µl konsantrasyona seyreltilerek toplam hacim 20 µl’ye, RNase-free su kullanılarak tamamlanmıştır.
2. 20 µl cDNA sentez kiti eklenerek, 42 °C’de 60 dk ve sonrasında 80 °C’de 10 dk PCR protokolü uygulanmıştır (Önalın, 2019). Çalışmaya ait görseller Şekil 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3 9. cDNA çalışmalarına ait görüntüler

3.2.8. Genlere Spesifik Primer Dizaynı

Çalışmada Hedef gen olarak kullanılan GH-I, IGF-I, SOD, CAT, GR, GPX, GST ve referans gen olarak kullanılan β -aktin (AF254414) primerlerin gen dizilimlerinin dizayn edilebilmesi için daha önce yapılmış çalışmalardan gen bank erişim numaraları alınmıştır. Yapılan çalışmada kullanılan genlere ait baz dizilimleri Tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan primeler ve özellikleri

Gen	Primer	Sekans (5'→3')	Gen Bank Erişim no	Referans
<i>β-aktin</i>	Forward Reverse	TGGCCGTACCACCGGTAT GCAGAGCGTAGTCCTCGTAGATG	AF254414.1	Johansen ve Overturf, (2005)
GH-I	Forward Reverse	TCTGCTGATGCCAGTCTTACTG CTGAGCCAATAGGTGGAGATG	NM_001124689.1	Kutluyer vd. (2017)
IGF-I	Forward Revers	ATGTGCTGTGTCTCCTGTACCC TAAAAGCCTCTCTCTCCACACA	M95183.1	Aksakal vd. (2010)
SOD	Forward Revers	TGCTTATGGAGACAACACCAA TGGATGTTGATCTTAGCCACA	AF469663.1	Mercan vd. (2013)
GST	Forward Revers	TGGCTGACGTTATTGTCTTCC CTGGGTCTGTCCTTCACCATA	NM_001160559.1	Mercan vd. (2013)
CAT	Forward Revers	TCCTTTATCCACTCTCAGAAGCG CCACGGTCACTGAACAGGAA	NM_001140302.1	Kutluyer vd. (2017)
GR	Forward Revers	ATCACGCCATCACCACCAG CTTGCAACATCTCATCACAGCC	HF969248.1	Kutluyer vd. (2017)
GPX	Forward Revers	GTGCCCTGCAACCAGTTT TTCCCATTCACATCCATCTTC	AF281338.1	Mercan vd. (2013)

3.2.9. Real Time PCR Uygulamaları

Genlerin, mRNA ifadesinin belirlenmesi amacıyla yalnızca primer kullanılan genler için SYBRGreen (qPCR Master Mix) (Solver), protokolü uygulanmıştır (Tablo 3.5.). Bu kapsamda:

1. Kas, karaciğer ve böbrek dokularından izole edilen total RNA'lerden revers transkriptaz enzimi aracılığıyla cDNA elde edilmiştir.
2. cDNA ürünleri RotorGene Q9000 (Qiagen) cihazı ile ve Real-Time PCR analizinde kullanılmıştır.
3. Genlerin mRNA ifade düzeylerinin analizi için β -aktin referans gen olarak analiz edildi. SYBR Green protokolünde her bir tüp için kullanılan kimyasal miktarları Tablo 3.6'da sunulmuştur, çalışmaya ait görseller 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.5. Real-Time PCR protokolü (Önalın, 2019)

PCR döngü koşulları
15 dk, 95 °C'de denatürasyon
95 °C'de 30 sn, 60 °C'de 30 sn primer bağlanması
55 döngü

Tablo 3.6. Real-Time PCR protokolünde tüp başına kullanılan kimyasal miktarları

Bileşenler	Miktar (μ L)
cDNA	4 μ L
SYBRGreen Master mix	12 μ L
Forward Primer (FP)	2 μ L
Reverse Primer (RP)	2 μ L
ddH ₂ O	5 μ L
Total	25 μ L



Şekil 3.10. Real-Time PCR çalışmalarına ait görüntüler

3.2.10. İstatistik Analizler

Araştırma sonuçlarının istatistiksel analizleri, Minitab 17 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde veriler, normallik ve varyans homojenliği açısından değerlendirilmiş ve normalize edilmiştir. Elde edilen veriler, ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların belirlenebilmesi amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) uygulanmıştır. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farkların değerlendirilmesinde Dunnett çoklu karşılaştırma testi, gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında ise Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3.2.11. Antioksidan Enzim Aktivitesi Çalışmaları

3.2.11.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Doku homojenatları, YL biont Fish Elisa KİT protokolü kullanılarak gerçekleştirildi. Protokole göre:

1. Kas, karaciğer ve böbrek dokuları küçük parçalara ayrılarak her bir örnek için 100 mg doku tartılmıştır.
2. Tartımı yapılmış örneklerin üzerine, +4°C'de önceden soğutulmuş, pH 7.4'e ayarlanmış 1 mL PBS eklenmiştir.
3. Ardından sıvı azota daldırılarak hızlı dondurma işlemi uygulanmıştır.
4. Analiz öncesinde örnekler kontrollü bir şekilde +4'de çözündürülmüştür.
5. Tamamen çözünen dokular, homojen bir süspansiyon elde edilinceye kadar iyice homojenize edilmiştir.
6. Homojenizasyon sonrasında her bir örneğe ilave olarak 500 µL PBS ilave edilmiştir.
7. Elde edilen homojenatlar, 3000 rpm'de 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
8. Santrifüj işlemi sonrasında oluşan süpernatantlar dikkatlice toplanarak tek kullanımlık olacak şekilde eppendorf tüplere bölünerek analizler için saklanmıştır.

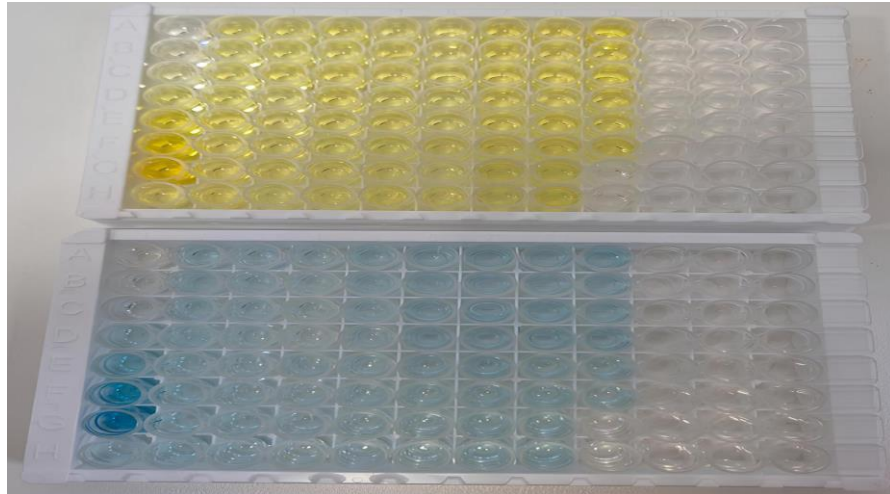
3.2.11.2. Antiokasidan Enzimlerin Aktivite Ölçümleri

Antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri, YL Biont Fish Elisa Kit protokolü doğrultusunda gerçekleştirildi. Tüm enzimler için kitin plaka yükleme protokolü aynı olduğundan dolayı sadece CAT enzimine (Cat No: YLA0014FI) ait protokol verilmiştir.

Bu kapsamda:

1. Kit içerisinde yer alan yüksek konsantrasyona sahip standart çözeltisi, üretici talimatları doğrultusunda, küçük tüplerde uygun oranlarda seyreltilerek hazırlanmıştır.
2. Analizlerde kullanılacak örnekler, her biri 3 tekerrürlü (triplikat) olacak şekilde düzenlenmiştir.
3. Hazırlanan örnekler ve standart çözeltiler, protokolde belirtilen plana uygun biçimde mikrotitre plakaya aşağıda belirtildiği şekilde yerleştirilmiştir:
 - . Boş (Blank) kuyucuk: Sadece kromojen A, kromojen B ve durdurma solüsyonu eklenmiştir.

- . Standart kuyucukları: 50 μ L standart ve 50 μ L streptavidin-HRP eklenmiştir.
 - . Örnek kuyucukları: Her bir kuyucuğa sırasıyla, 40 μ L örnek, 10 μ L ilgili enzim antikoru ve 50 μ L streptavidin-HRP eklenmiştir. Plakanın üzeri örtülmüştür. Hafifçe çalkalamanın ardından 37 °C’de 60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır.
4. 30X konsantre yıkama çözeltisi, ultra saf distile su ile 1:30 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır. Her bir kuyucuğa 330 μ L yıkama tamponu ilave edilmiştir. 30 saniye beklemenin ardından plaka ters çevrilerek sıvı uzaklaştırılmıştır. Bu işlem beş kez tekrarlanarak yıkama adımı tamamlanmıştır. Son olarak, plaka blotlama yöntemiyle kurutulmuştur.
5. Her kuyuya sırasıyla 50 μ L Kromojen A ve 50 μ L Kromojen B çözeltileri eklenmiştir. Plaka hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübe edilmiştir.
6. Inkübasyonun ardından her kuyuya 50 μ L durdurma solüsyonu ilave edilmiştir. Bu işlemle birlikte mavi renk sarıya dönüşmüştür ve enzimatik reaksiyon sonlandırılmıştır (Şekil 3.10).
7. Ölçüm aşamasında boş (blank) kuyucuk referans alınarak, her bir kuyucuğun absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.
8. Ölçümler, durdurma solüsyonu ilavesinden sonraki 10 dakika içerisinde tamamlanmıştır.



Şekil 3.11. Enzim aktivite çalışması görseli

3.2.11.3. Enzim Aktivitesi Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Standart çözeltilere ait konsantrasyonlar ve karşılık gelen optik yoğunluk (OD) değerleri kullanılarak doğrusal regresyon analizi ile standart eğri oluşturulmuştur. Elde edilen regresyon denklemine örneklerle ait OD değerleri yerleştirilerek her bir örneğin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Analiz öncesinde veriler, normallik ve varyans homojenliği açısından değerlendirilmiş ve gerekli durumlarda normalize edilmiştir. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (SEM) şeklinde ifade edilmiştir. Hesaplamalarda ve istatistiksel analizlerde, Minitab 17 yazılımı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkların belirlenebilmesi amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) uygulanmıştır. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farkların değerlendirilmesinde Dunnett çoklu karşılaştırma testi, gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında ise Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3.2.12. Yağ Asidi Profili Analizleri

3.2.12.1. Dokulardaki Lipidlerin Ekstraksiyonu

Gaz kromatografisi kullanılarak dokulardaki yağ asidi profilini belirlemek amacıyla Hara ve Radin (1978) tarafından belirlenmiş olan metod kullanılmıştır (Hara ve Radin, 1978). Metoda göre:

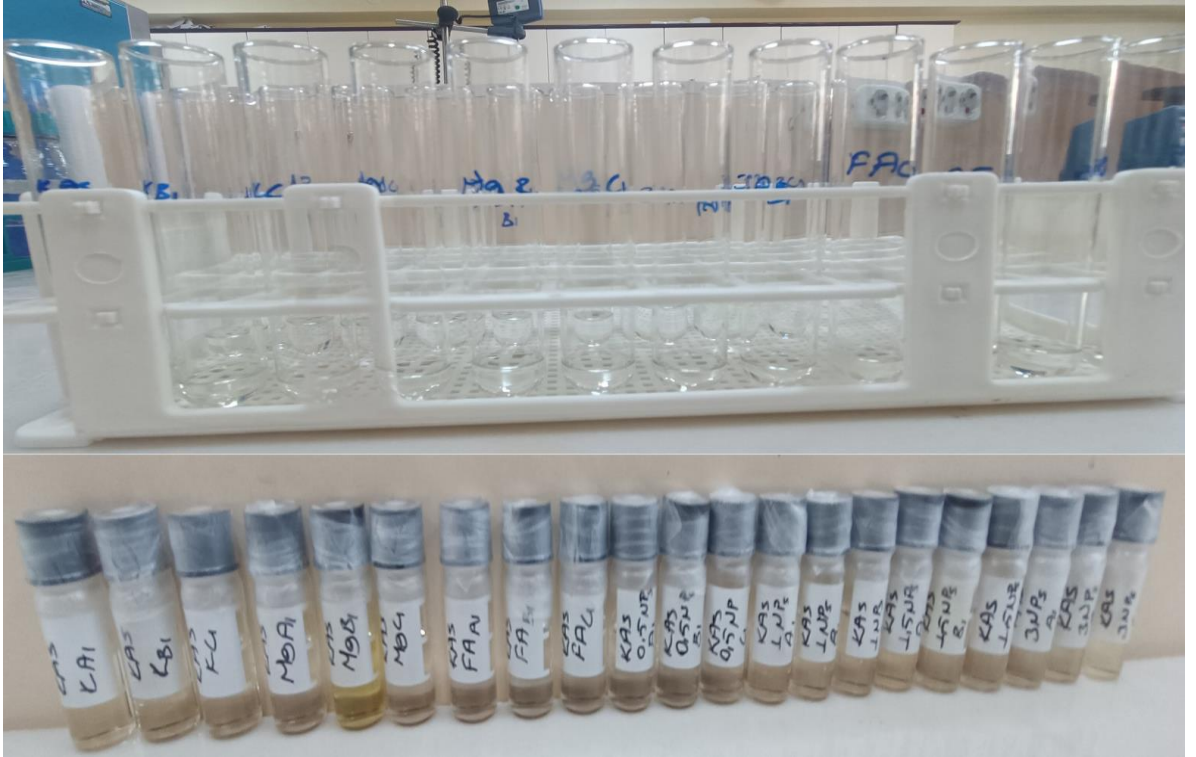
1. Dokulardan 1 gr alınarak 30 sn süreyle 3:2 (v/v) hekzan-izopropil alkol ortamında homojenize edilmiştir.
2. Homojenat 4500 rpm'de 10 dk boyunca santrifüjlenmiş ve üst faz alınarak yağ asidi metil esterleri oluşturmak için kullanılmıştır.

3.2.12.2. Yağ Asidi Metil Esterlerin Hazırlanması

Yağ asidi profilini belirlemek için önceden hazırlanmış olan homojenatlar kullanılmıştır.

1. %2'lik metanolik sülfirik asit ilave edilmiş ve iyice karışması için vorteklenmiştir. Ardından 55-57 °C'de 24 saat boyunca metilleşmeye bırakılmıştır.
2. Numuneler oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir.

3. 5 mL %5'lik sodyum klorür (NaCl) ve 5 mL hekzan ilave edilmiştir.
4. Karışım vorteksledikten sonra oda sıcaklığında 24 saat boyunca bekletilmiştir.
5. Beklemenin ardından, üst faz dikkatlice alınarak üzerine 5 mL %2'lik potasyum karbonat (KHCO_3) çözeltisi eklenmiştir.
6. Karışım iyice çalkalanarak faz ayrımı için 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir.
7. Süre sonunda üst faz alınarak küçük cam tüplere konmuştur. Etüv 37°C 'ye ayarlanarak sıvı faz uçurulmuştur.
8. Cam tüplerin içinde kalan kısım 1 mL kloroform eklenmiş ve vorteksledikten sonra 1 mL'lik cam viallere alınarak gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir (Şekil 3.11) (Christie, 1992; Ciftci vd., 2010).



Şekil 3.12. Hazırlanan yağ asidi metil esterleri

3.2.12.3. Yağ Asidi Metil Esterlerin Gaz Kromatografik Analizi

Doku örneklerinde bulunan yağ asidi metil esterlerinin belirlenmesi amacıyla analizler, GC 2010 Plus marka gaz kromatografi cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz koşulları şu şekilde optimize edilmiştir:

Kolona uygulanan sıcaklık programı başlangıçta 110 °C olarak ayarlanmış ve sıcaklık 200 °C'ye kadar dakikada 6 °C'lik bir artışla yükseltilmiştir. Bu noktadan itibaren sıcaklık artışı dakikada 3 °C olacak şekilde devam ettirilmiş ve 215 °C'ye ulaşıldığında sıcaklık 5 dakika sabit tutulmuştur. Toplam analiz süresi 27 dakika olarak belirlenmiştir. Enjeksiyon ünitesi 245 °C, dedektör ise 285 °C sıcaklıkta çalıştırılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum tercih edilmiştir ve sabit akış hızında kullanılmıştır. Analiz öncesinde, tanımlama ve zamanlamaların doğruluğunu sağlamak amacıyla ticari olarak temin edilen α -linolenik asit (ALA) ve morina karaciğer yağı (Cod Liver Oil) referansları ile yapılmıştır. Bu standartlar sayesinde yağ asitlerinin alıkonma süreleri belirlenmiş ve örneklerdeki bileşiklerin kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir. Bu referans veriler doğrultusunda, doku örneklerinden elde edilen yağ asidi metil esterlerin tanımlanması ve kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir (Tvrzicka vd., 2002).

3.2.12.4. Yağ Asidi Sonuçlarının İstatistiksel Analizleri

Yağ asitleri ile ilgili verilerin istatistiksel analizleri, Minitab 17 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde veriler, normallik ve varyans homojenliği açısından değerlendirilmiş ve gerekli durumlarda normalize edilmiştir. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (SEM) şeklinde ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların belirlenebilmesi amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) uygulanmıştır. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farkların değerlendirilmesinde Dunnett çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

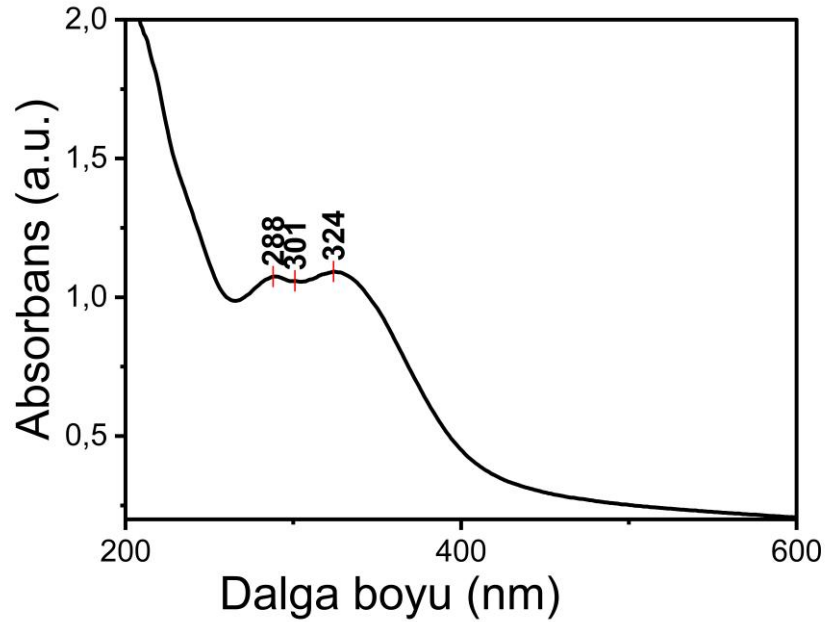
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Ferulik Asit Magnezyum Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.1.1.1. Uv-visible Analizi Bulguları

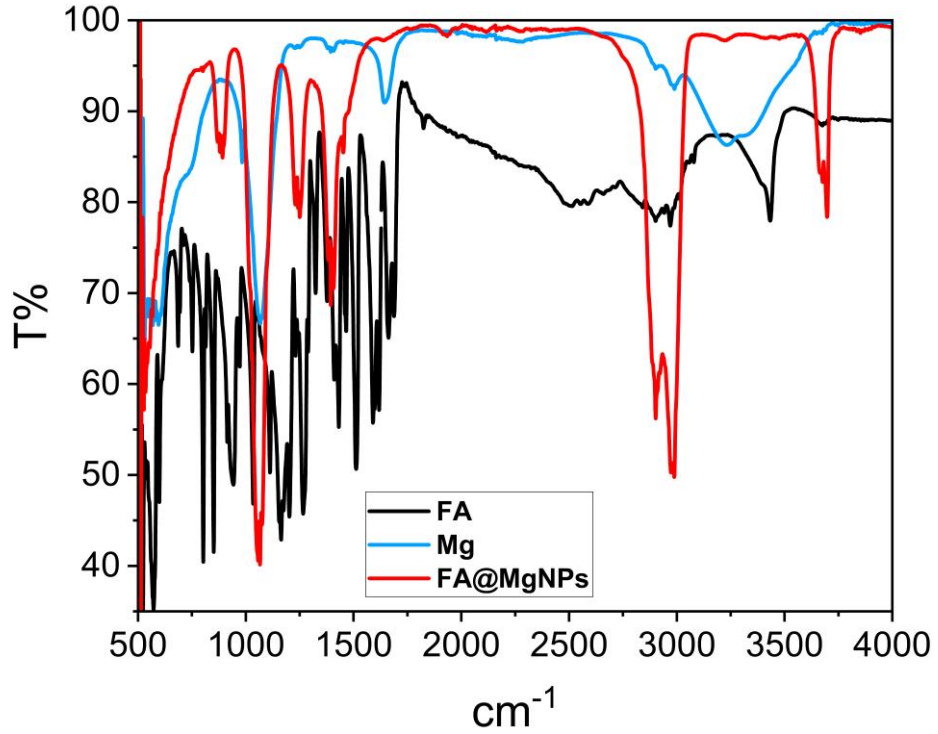
Mevcut çalışmada sentezlenmiş olan FA@MgNPs'ler, 200-800 nm aralığında tarama yapılmış ve Fa@MgNPs'lere ait SPR piki 288-324 nm aralığında geniş bir tepe noktasını gösteren Uv-visible spekturumu Şekil 4.1'de verilmiştir. Bu bulgu, FA@MgNPs'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini desteklemektedir.



Şekil 4.1. FA@MgNPs'lere ait Uv-vis absorbsiyon spekturumu

4.1.1.2. FT-IR Analizi Bulguları

FT-IR spektroskopisi, FA@MgNPs’lerde bulunan fonksiyonel grupları belirlemek için kullanılmıştır (Şekil 4.2). FA@MgNPs’lerin, 3232, 2989, 1643, 1066 982 ve 539 cm^{-1} ; Magnezyum, 3675, 2988, 1406, 1229, 1066, 892 cm^{-1} ; Ferulik asit ise 3433, 2969, 2513, 1687, 1406, 1229, 1066, 892 cm^{-1} ’de pik yaptıkları tespit edilmiştir. FA@MgNPs’lerin spektrumunda hem saf Mg tuzuna hem de saf ferulik aside ait karakteristik bantlara ek olarak, bazı piklerin kayması ve/veya şiddetinin değişmesi, ferulik asidin MgONP yüzeyine başarılı şekilde bağlandığını göstermektedir.

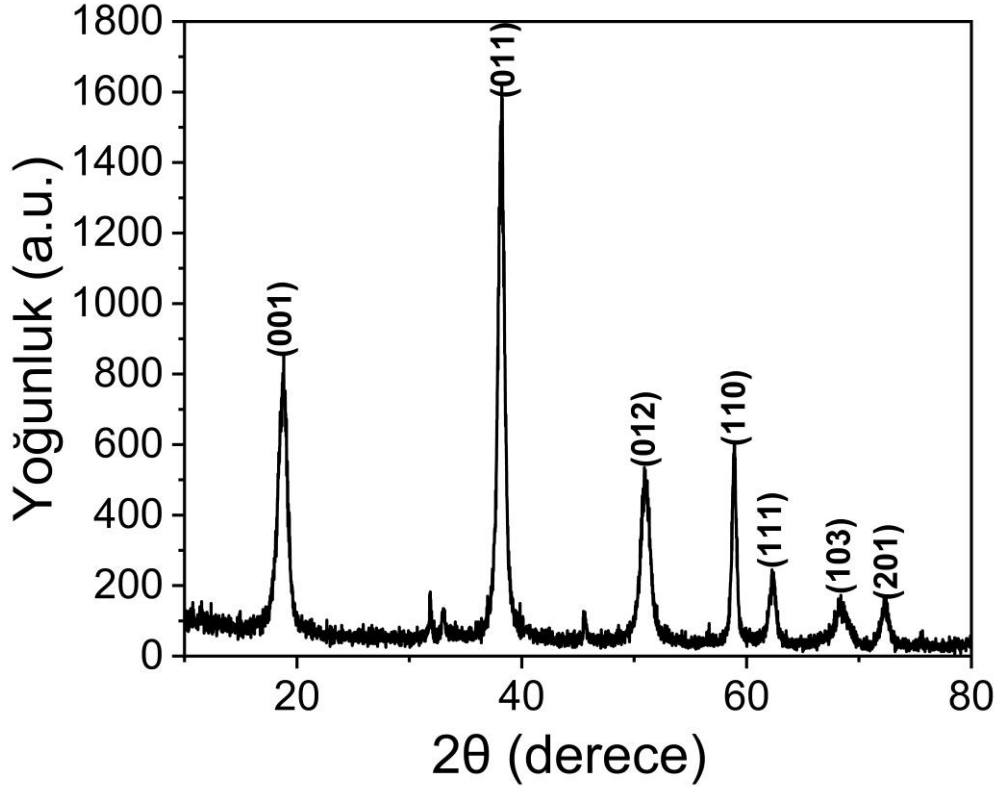


Şekil 4.2. Mg, FA ve FA@MgNPs’lere ait FT-IR spektrumu

4.1.1.3. XRD Analizi Bulguları

Sentezlenen FA@MgNPs’lerin kristal yapısını ve kristalit boyutunu belirlemek amacıyla XRD analizi yapılmıştır. Şekil 4.3, 2θ açısı 20° - 80° arasında değişen FA@MgNPs’lerin XRD difraksiyon desenini göstermektedir. $2\theta = 18,82^\circ, 38,22^\circ, 50,98^\circ, 58,94^\circ, 62,26^\circ, 68,16^\circ, 72,42^\circ$ derecede gözlenen FA@MgNPs’lerin kırınım tepe noktaları sırasıyla; (001), (011), (012), (110), (111), (103) ve (201) düzlemleriyle eşleşmekte olup MgO’nun

kristal yapısıyla uyumludur (ICSD code 064929) (Salman vd., 2021). Bu kırınım desenleri, FA@MgNPs'lerin yüzey merkezli kübik yapıda kristalize olduğunu ve yüksek kristallik sergilediğini göstermektedir. Ayrıca ferulik asit kaplamasına rağmen MgO'ya özgü karakteristik piklerin korunması, kaplamanın kristal yapıyı bozmadığını ancak yüzey modifikasyonu sağladığını göstermektedir.



Şekil 4.3. FA@MgNPs'lerin XRD difraksiyon deseni

4.1.1.4. Nanopartikül Boyutunun Hesaplanması

XRD kristalografisi, NP'lerin tane boyutu hakkında da bilgi vermektedir. NP'lerin yüksek kristal yapısı, keskin tepe ile gösterilir. Grafik, 2θ değerlerine karşı yoğunluk kullanılarak çizilir. Yaklaşık olarak 1'e eşit olan (0,9) ortalama kristal orantı sabiti, β , radyan cinsinden tepe noktasının FWHM'si olarak bilinir. λ , X-ışınlarının dalga boyu (1,540 Å) olarak adlandırılır, θ = Bragg açısı olarak adlandırılır (Kannan vd., 2020). Mevcut çalışmada, XRD Nanopartikül boyutunu hesaplamak için Debye-Scherrer formülü kullanılmıştır. Bu formül, XRD analizinden elde edilen FWHM (Full Width at

Half Maximum) değerine dayanmaktadır. Debye-Scherrer formülü, kristalin boyutunun difraksiyon zirvesinin genişliği ile ters orantılı olduğunu gösterir (Selvam vd., 2011; Kannan vd., 2020; Salman vd., 2021) ve aşağıdaki şekilde ifade edilir:

$$D = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (4.1)$$

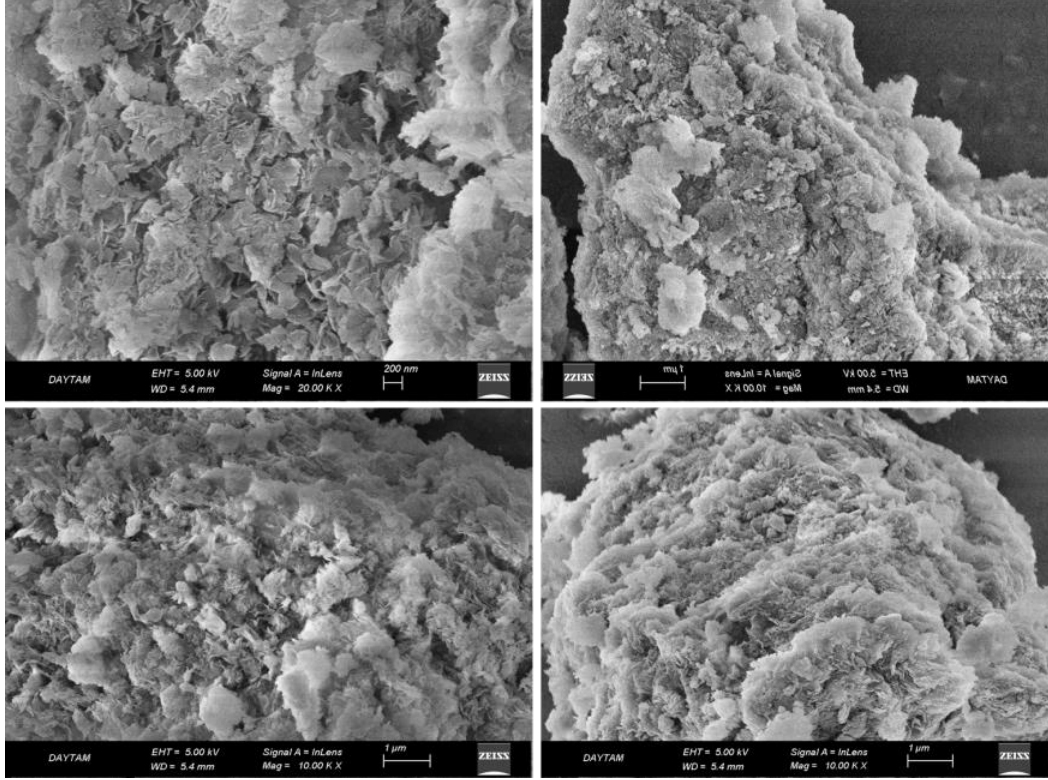
Burada:

- D, nanopartikülün ortalama boyutunu (nm) verir.
- K, Scherrer sabiti olup genellikle 0,9 olarak kabul edilir.
- λ , X-ışını dalga boyu (Cu-K α için 1,540 Å).
- β , zirve genişliğini (FWHM) radyan cinsinden ifade eder.
- θ , radyan cinsinden difraksiyon açısının yarısını belirtir.

XRD analizi ile belirlenen 2θ açıları kullanılarak Origin programı kullanılarak FWHM değeri elde edilmiştir. Değerler formüle yerleştirilerek nanopartikül boyutu hesaplanmıştır. Teorik hesaplama sonucunda, ortalama nanopartikül boyutu yaklaşık 10,68 nm olarak belirlenmiştir.

4.1.1.5. SEM Analizi Bulguları

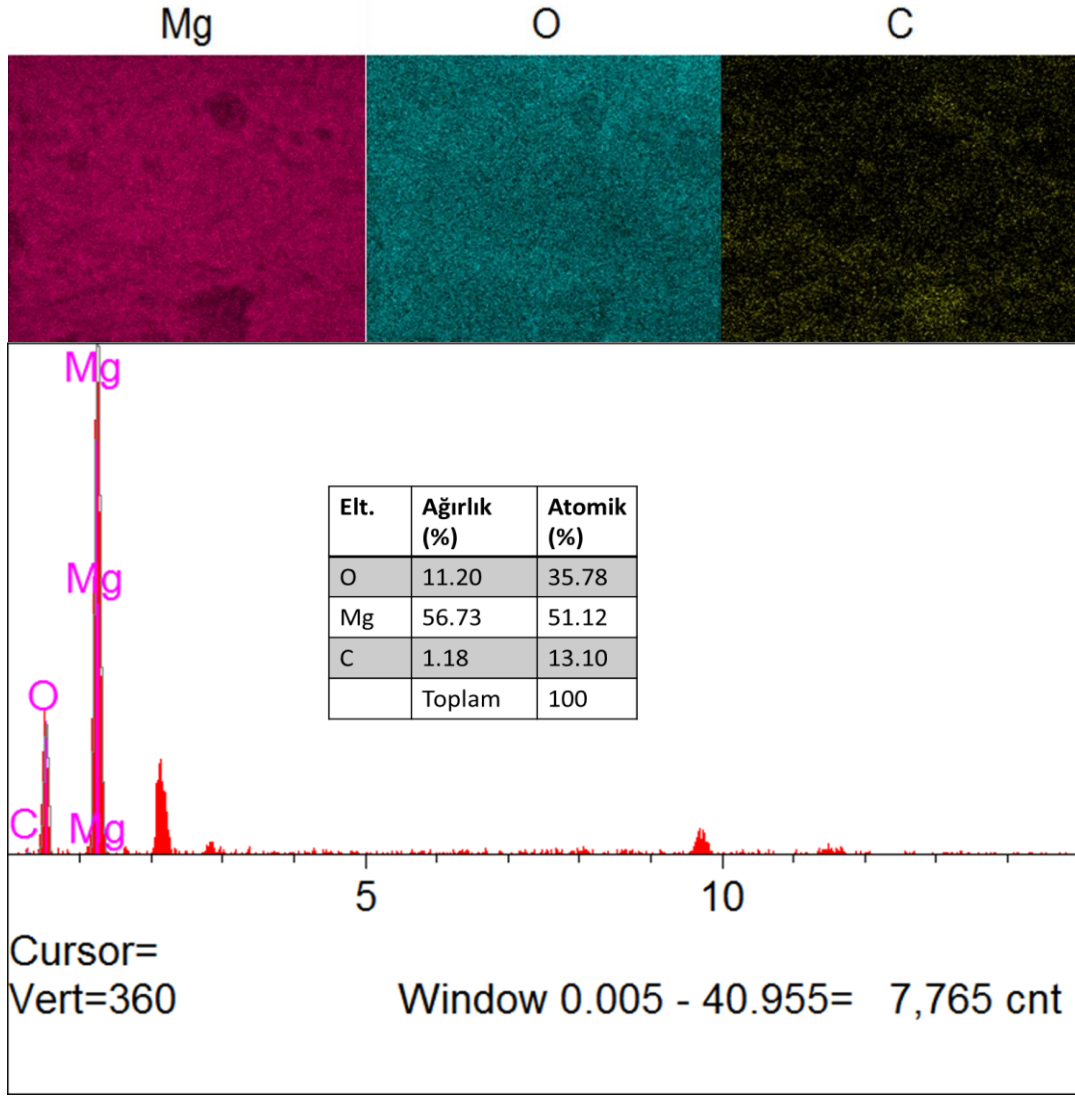
Şekil 4.4'te yer alan SEM görüntüleri, sentezlenen FA@MgNPs'lerin yüzey morfolojisine ilişkin bilgiler sunmaktadır. Üst sol panelde (20.000X büyütme, 200 nm ölçek) nanoparçacıkların düzensiz, yaprak benzeri ve gevrek yapılara sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu morfoloji, malzemenin yüksek yüzey alanına sahip olabileceğini düşündürmektedir. Üst sağ ve alt görsellerde ise (10.000X büyütme, 1 μ m ölçek) nanoparçacıkların agregalar hâlinde kümелendiği izlenmiştir. Bu kümeleşmenin, ferulik asit ile yapılan kaplama sonucunda gerçekleşen yüzey modifikasyonuna bağlı olarak olduğu değerlendirilmektedir. Genel olarak, nanoyapıların amorf bir matris içerisinde çeşitli boyut ve şekillerde agregalar oluşturduğu, bu durumun ise sentez işleminin kontrollü bir şekilde gerçekleştiğini ve yüzeyde ferulik asit kaplamasının başarılı bir şekilde gerçekleştiğini gösterdiği düşünülmektedir.



Şekil 4.4. FA@MgNPs'lere ait TEM görüntüleri

4.1.1.6. EDX Analizi Bulguları

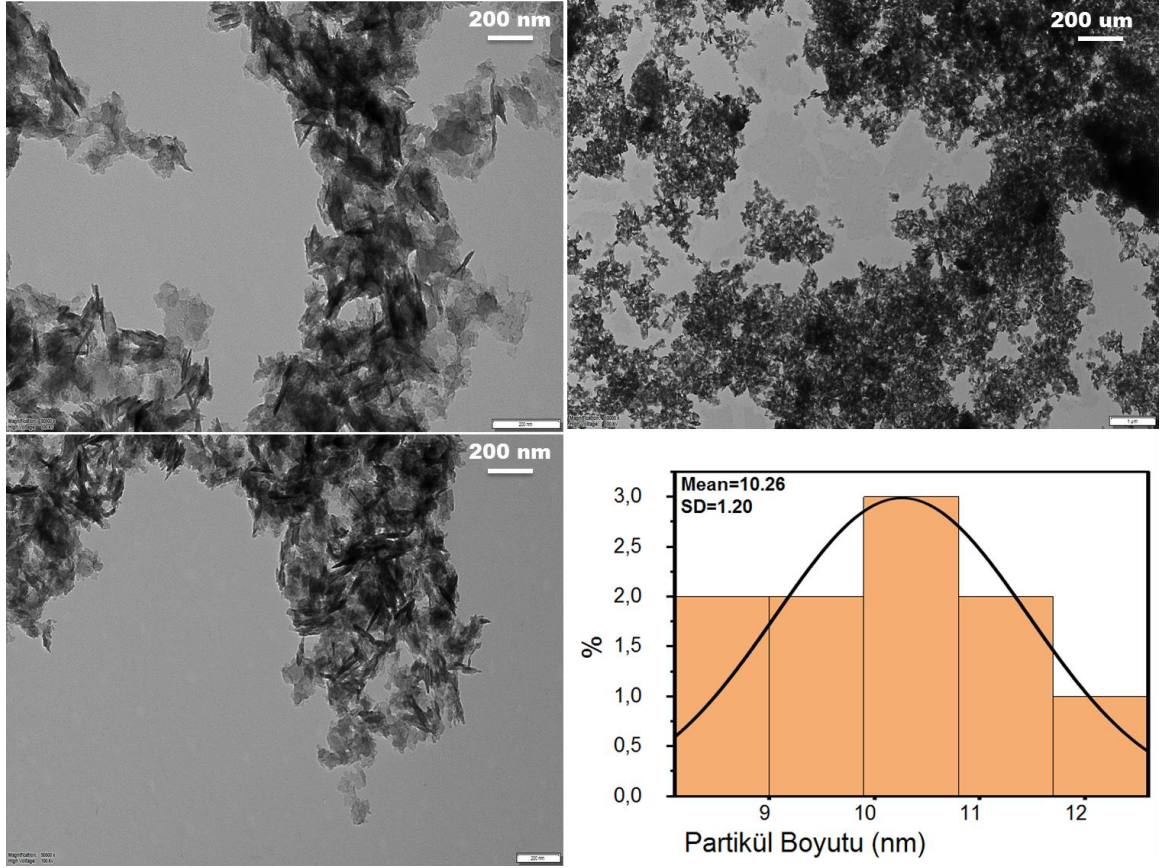
Sentezlenen FA@MgNPs'lerinin, element bileşimi ve stokiometrisini tespit etmek için Şekil 4.5'te gösterilen EDX analizi gerçekleştirildi. EDX analizi, en yüksek katkı yüzdesine Mg'nin sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca yapıda, oksijen (O) ve karbon (C) varlığını belirten sinyaller görülmektedir. Bu bulgu saf MgO nanopartiküllerin oluştuğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.5. EDX analizi grafiği

4.1.1.7. TEM Analizi Bulguları

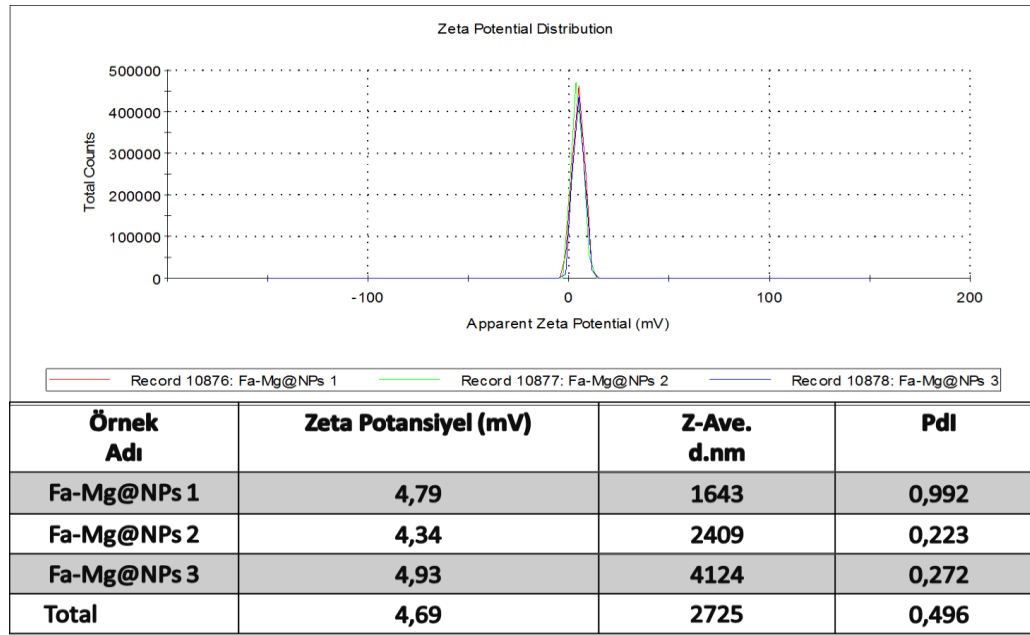
Sentezlenen FA@MgNPs'lerin, morfolojisini anlamak için TEM analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.6'da gösterildiği gibi FA@MgNPs'lerin nanokristalitlerden oluştuğu görülmektedir. ImageJ programı kullanılarak 100 kV, 50,000x magnifikasyon büyütmede ölçek çubuğu 200 nm'ye sabitlendi. Hesaplama sonunda, FA@MgNPs'lerin yaklaşık 10,26 nm boyutunda olduğu (Şekil 4.6) belirlenmiştir. Mevcut literatürde incelendiğinde TEM görüntülerinin benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır (Hu vd., 2007; Selvam vd., 2011; Patil vd., 2024).



Şekil 4.6. FA@MgNPs'lere ait TEM Görüntüleri

4.1.1.8. Zeta Potansiyel Analizi Bulguları

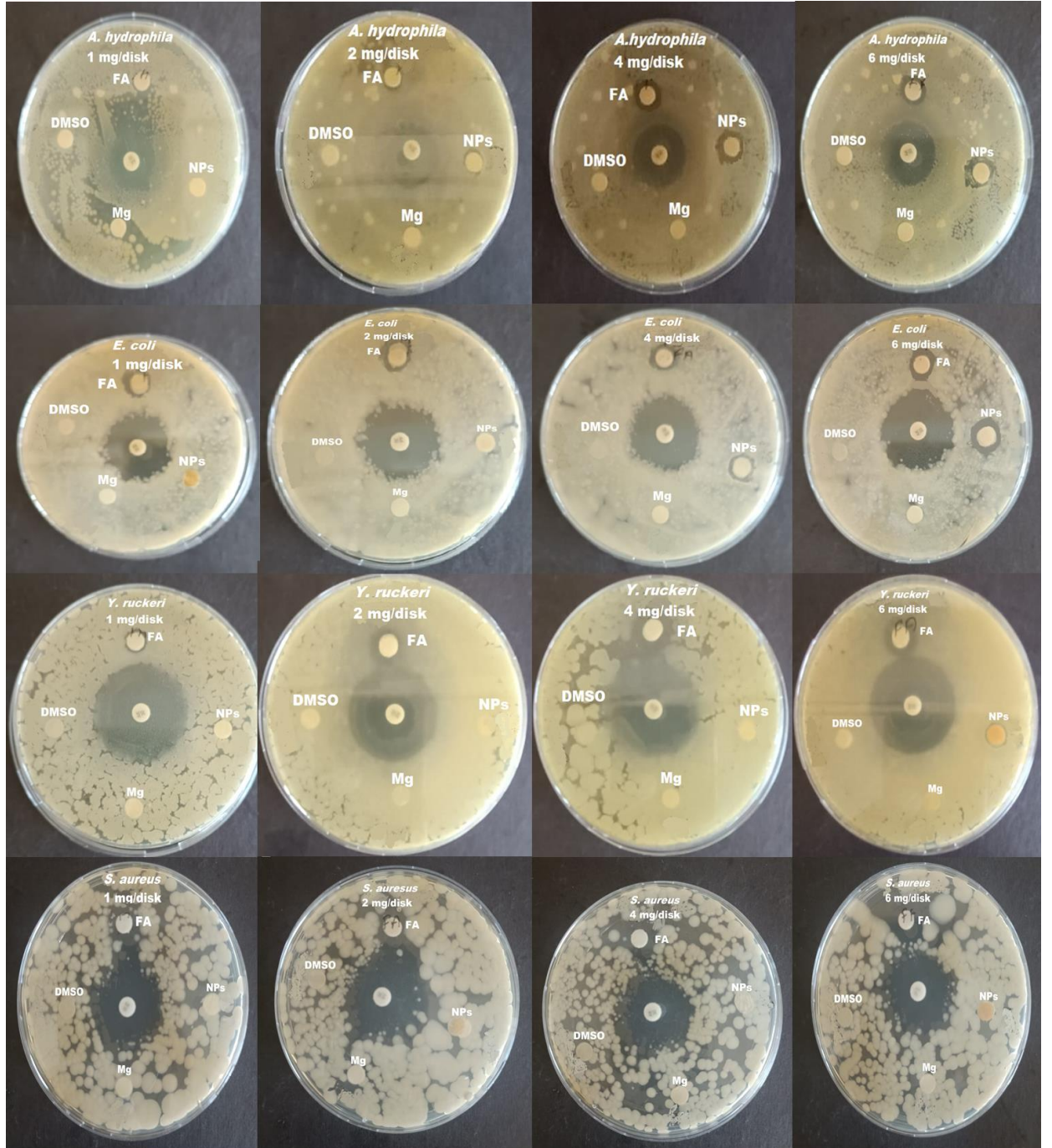
FA@MgNPs'ler için zeta potansiyelinin tespiti, NP karakterizasyonu ve çeşitli uygulamalar için önem arz etmektedir. FA@MgNPs'lerin zeta potansiyeli 4,69 mV olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Zeta potansiyel grafiği

4.1.2. Antibakteriyel Aktivite Analiz Bulguları

Sentezlenen FA@MgNPs'lerin antibakteriyel etkinliklerinin tespit edilmesi amacıyla gram-negatif; *E. coli* (ATCC-25922), *A. hydrophila*, *Y. ruckeri* ve gram-pozitif; *S. aureus* (ATCC-6538P) bakterileri kullanıldı. FA@MgNPs'lerin antibakteriyel aktivitesi Şekil 4.8'de gösterildiği gibi disk etrafında oluşan ve bakteri büyümesi olmayan inhibisyon zonları, mm cinsinden ölçüldü. Bu zonlar, bu alanlarda bakteri üremesi gözlenmediğinden FA@MgNPs'lerin antibakteriyel etkinliğini göstermektedir. İnhibisyon zonları tablo 4.1'de verilmiştir.



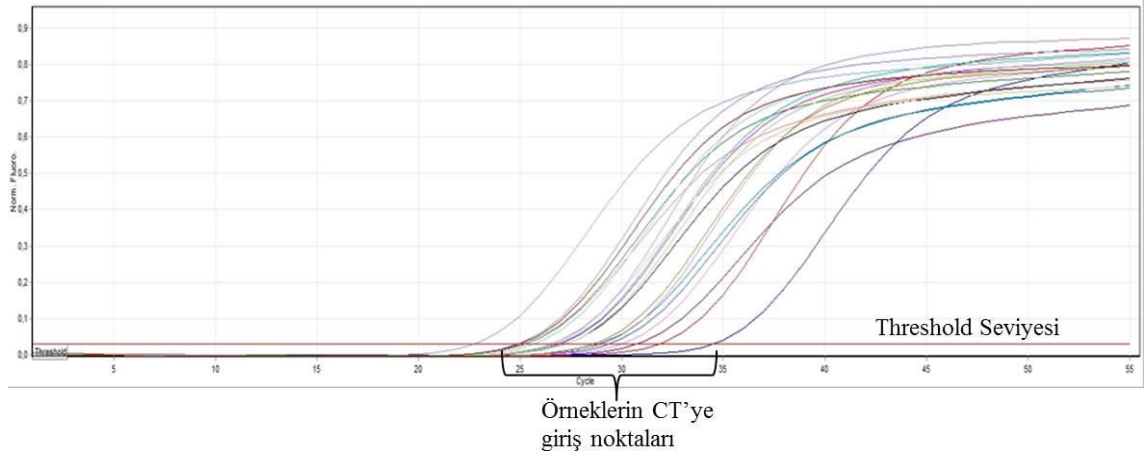
Şekil 4.8. Antibakteriyel analiz görselleri

Tablo 4.1. FA@MgNPs'lerin antibakteriyel inhibisyon zonları

Mikroorganizma adı	1 mg/disk	2 mg/disk	4mg/disk	6 mg/disk	Amikasin
<i>Escherichia coli</i> (gram-)(ATCC 25922)					
FA@MgNPs	-	-	9,66±0,57	12,33±0,57	
Ferulik Asit	16,33±0,57	18,33±0,57	15,33±0,57	18±1,01	33,75±0,15
<i>Aeromonas hydrophila</i> (gram-)					
FA@MgNPs	-	14,66±0,15	15,66±0,57	16,33±0,57	
Ferulik Asit	13,33±0,57	13,66±0,57	18,06±0,15	17,34±0,57	27,50±0,29
<i>Yersinia ruckeri</i> (gram-)					
FA@MgNPs	-	-	-	15,00±0,50	
Ferulik Asit	14,00±0,00	16,33±0,05	20,00±0,01	19,00±0,57	38,00±0,50
<i>Staphylococcus aureus</i> (gram+)(ATCC 6538P)					
FA@MgNPs	-	-	-	-	
Ferulik Asit	18,30±0,53	18,33±0,08	19,00±0,01	21,00±0,02	34,00±0,50

4.1.3. Real Time PCR Analiz Bulguları

Çalışmada hedef genlere spesifik sentezlenen primerlerin optimizasyonları gerçekleştirilmiş ve Real Time PCR sonucunda, threshold değeri 0,03 olarak belirlenmiştir. Tüm örneklerin threshold değerinin üzerinde sonuç verdiği ve sigmoidal eğri oluşturdıkları görülmüştür. Real Time PCR'da elde edilen örnek bir pik kromotogramı Şekil 4.9'da verilmiştir. Kas, karaciğer ve böbrek dokularına ait mRNA ifade düzeylerini gösteren grafikler, ilgili alt bölümlerde şekil olarak sunulmuştur. Ayrıca, tüm dokulara ait sayısal veriler ile istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.2'de topluca verilmiş olup, bu tablo bölüm sonunda yer almaktadır.



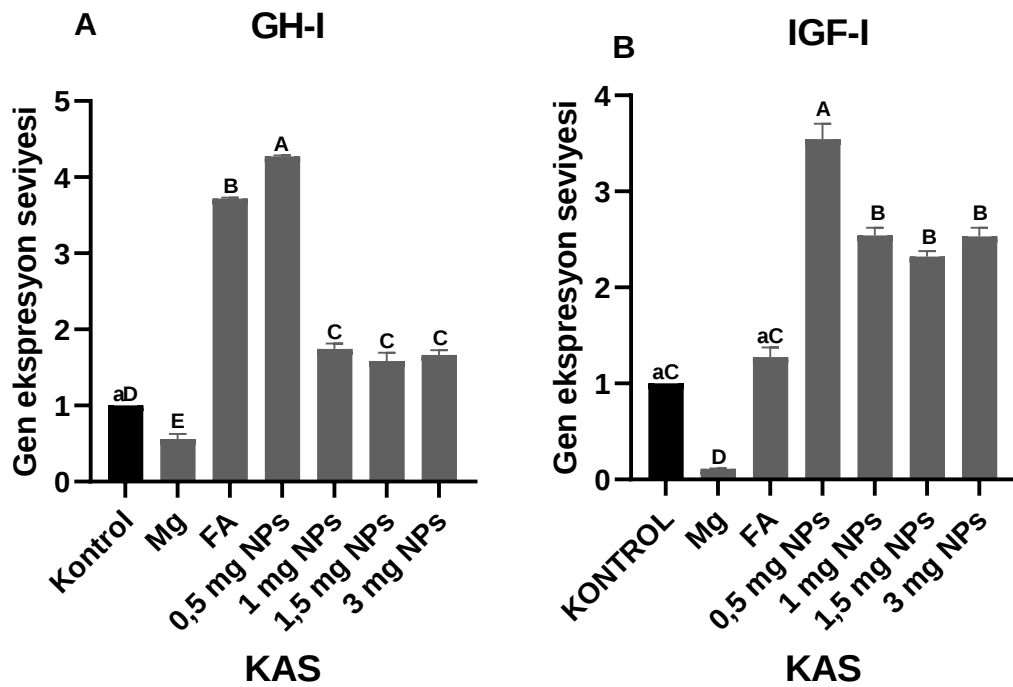
Şekil 4.9. Real Time PCR'da elde edilen örnek bir pik kromotogramı

4.1.3.1. Kas Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları

Kas dokusunda GH-I mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.10(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,55 \pm 0,06$), FA ($3,71 \pm 0,01$), 0,5 mg NPs ($4,27 \pm 0,01$), 1 mg NPs ($1,74 \pm 0,07$), 1,5 mg NPs ($1,58 \pm 0,10$) ve 3 mg NPs ($1,66 \pm 0,06$) olarak tespit edilmiştir. mRNA ifade düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Mg ($0,55 \pm 0,09$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu durum, Mg grubunda GH-I geninin baskılandığını göstermektedir. FA ($3,71 \pm 0,01$) ve 0,5 mg NPs ($4,27 \pm 0,01$) gruplarında, GH-I düzeyi kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artmış ve en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu bulgular, 0,5 mg NPs dozunun GH-I gen

ekspresyonunu indüklediğini göstermektedir. 1 mg NPs ($1,74 \pm 0,07$), 1,5 mg NPs ($1,58 \pm 0,10$) ve 3 mg NPs ($1,66 \pm 0,06$) mg NPs gruplarında, GH-I düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiş olmalarına rağmen, 0,5 mg NPs dozuna göre daha düşük kalmıştır. Bu durum, GH-I ekspresyonunun doza bağlı olarak değiştiğini, 0,5 mg dozunun optimal bir etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla FA@MgNPs'lerin, doza bağlı olarak GH-I gen ekspresyonunu pozitif yönde etkileyebileceği sonucuna varılmıştır.

Kas dokusunda IGF-I mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.10(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,11 \pm 0,00$), FA ($1,27 \pm 0,10$), 0,5 mg NPs ($3,54 \pm 0,15$), 1 mg NPs ($2,54 \pm 0,07$), 1,5 mg NPs ($2,32 \pm 0,05$) ve 3 mg NPS ($2,53 \pm 0,08$) olarak tespit edilmiştir. Kas dokusu mRNA ifade düzeyleri incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). FA ($1,27 \pm 0,10$), 0,5 mg NPs ($3,54 \pm 0,15$), 1 mg NPs ($2,54 \pm 0,07$), 1,5 mg NPs ($2,32 \pm 0,05$) ve 3 mg NPS ($2,53 \pm 0,08$) gruplarında, istatistiksel olarak anlamlı yukarı gen regülasyonu; Mg ($0,11 \pm 0,00$) grubu ise istatistiksel olarak anlamlı aşağı gen regülasyonu olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Bulgular, Mg grubunda IGF-I gen ekspresyonunun anlamlı düzeyde aşağı regüle edildiğini göstermektedir. Nanopartikül uygulama gruplarında, IGF-I gen ifadesinin doza bağlı olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Özellikle 0,5 mg NPs grubunda en yüksek düzeye ulaşmış ve diğer gruplardan anlamlı bir şekilde farklılaştığı görülmüştür. Bu sonuç, 0,5 mg dozunda IGF-I geninin en yüksek seviyede aktive edildiğini göstermektedir. 1, 1,5 ve 3 mg NPs gruplarının ifade düzeyleri birbiriyle anlamlı farklılık oluşturmamış fakat kontrol grubu ile anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$).



*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.10. Kas dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri

4.1.3.2. Kas Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları

Kas dokusunda CAT geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.11(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,65 \pm 0,02$), FA ($3,32 \pm 0,15$), 0,5 mg NPs ($2,35 \pm 0,15$), 1 mg NPs ($1,08 \pm 0,02$), 1,5 mg NPs ($1,38 \pm 0,10$) ve 3 mg NPs ($0,60 \pm 0,09$) olarak tespit edilmiştir.

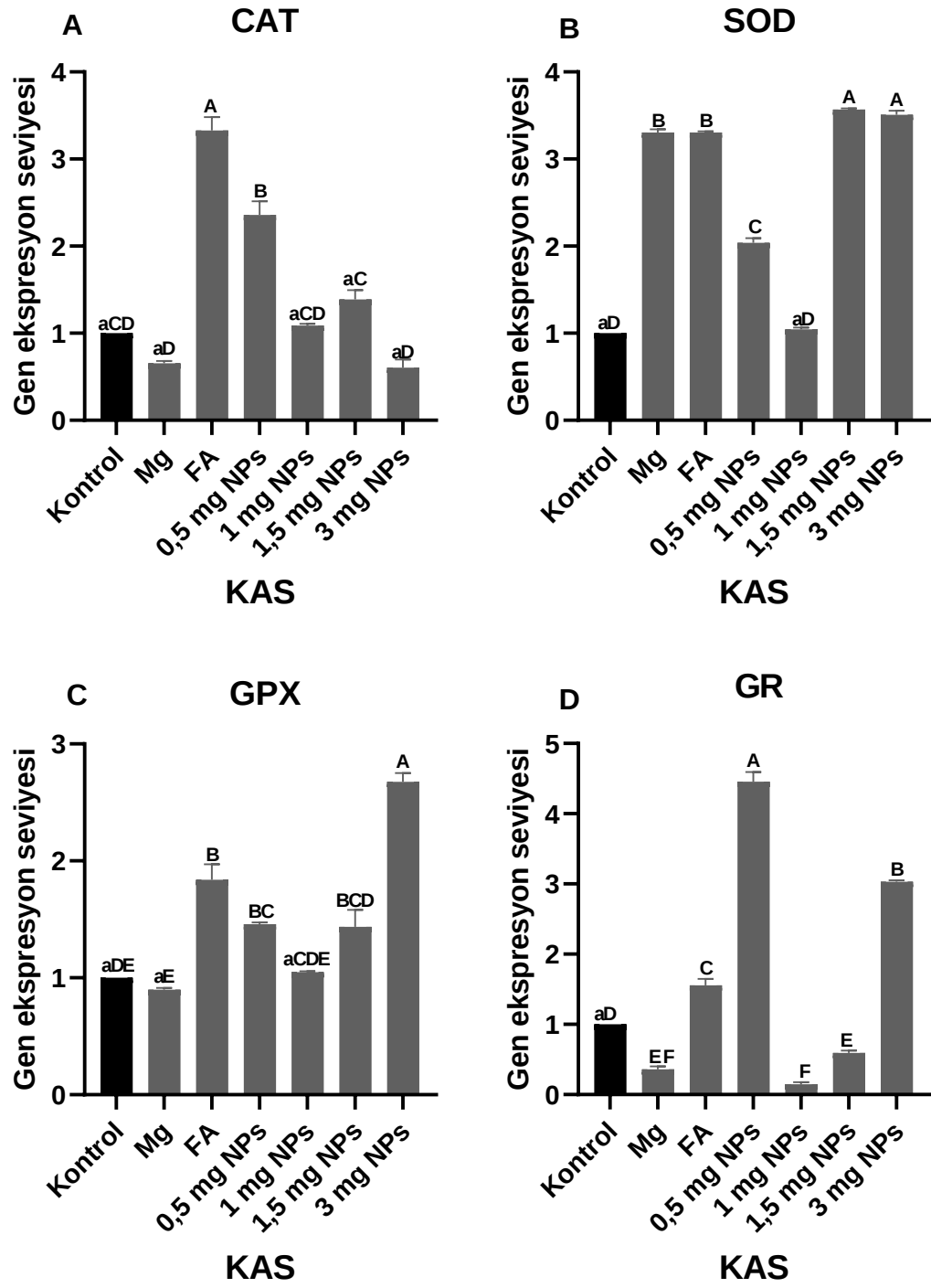
Gruplardaki mRNA ifade düzeyleri değerlendirildiğinde, Mg ($0,65 \pm 0,02$) grubunun CAT geni ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu; FA ($3,32 \pm 0,15$) grubunun CAT geni ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı regülasyon olduğu belirlenmiştir. Nanopartikül gruplarında ise 0,5 mg NPs ($2,35 \pm 0,15$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı yukarı regülasyon; 3 mg NPs ($0,60 \pm 0,09$) grubunda, istatistiksel olarak anlamlı aşağı regülasyon olduğu gözlenmiştir. 1 mg NPs ($1,08 \pm 0,02$) ve 1,5 mg NPs ($1,38 \pm 0,10$) gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan yukarı regülasyon belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bu bulgular, CAT geninin ifade düzeylerinin uygulanan doza ve gruplara bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir.

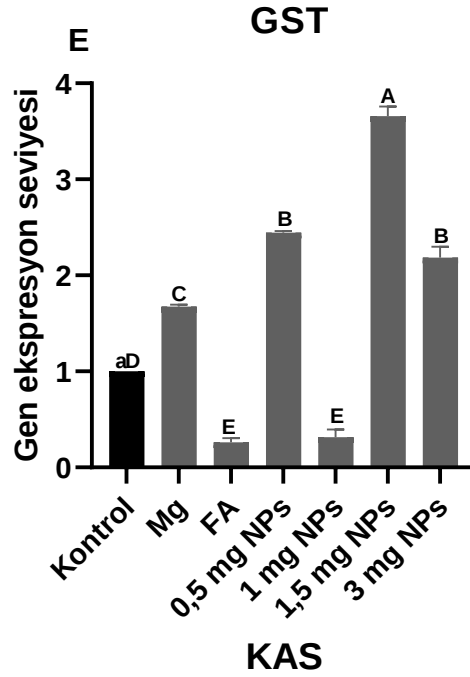
Kas dokusunda SOD mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.11(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($3,30 \pm 0,03$), FA ($3,30 \pm 0,01$), 0,5 mg NPs ($2,03 \pm 0,05$), 1 mg NPs ($1,04 \pm 0,01$) 1,5 mg NPs ($3,56 \pm 0,01$) ve 3 mg NPS ($3,50 \pm 0,04$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, Mg ($3,30 \pm 0,03$), FA ($3,30 \pm 0,01$), 0,5 mg NPs ($3,49 \pm 0,05$), 1,5 mg NPs ($3,56 \pm 0,01$) ve 3 mg NPS ($3,50 \pm 0,04$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yukarı gen regülasyonu olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GPX geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.11(C)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,89 \pm 0,01$), FA ($1,83 \pm 0,13$), 0,5 mg NPs ($1,45 \pm 0,01$), 1 mg NPs ($1,04 \pm 0,00$) 1,5 mg NPs ($1,43 \pm 0,14$) ve 3 mg NPS ($2,67 \pm 0,07$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, FA ($1,83 \pm 0,13$) ve 3 mg NPS ($2,67 \pm 0,07$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı gen ekspresyonu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GR geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.11(D)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,36 \pm 0,03$), FA ($1,55 \pm 0,09$), 0,5 mg NPs ($4,45 \pm 0,13$), 1 mg NPs ($0,15 \pm 0,02$), 1,5 mg NPs ($0,59 \pm 0,03$) ve 3 mg NPS ($3,03 \pm 0,02$) olarak tespit edilmiştir. Grupların gen ekspresyonu seviyelerine göre, istatistiksel olarak anlamlı olan en yüksek yukarı gen regülasyonunun, 0,5 mg NPs ($4,45 \pm 0,13$) ve 3 mg NPS ($3,03 \pm 0,02$); istatistiksel olarak anlamlı olan aşağı gen regülasyonunun Mg ($0,36 \pm 0,03$) ve 1,5 mg NPs ($0,59 \pm 0,03$) gruplarında olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GST geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.11(E)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($1,67 \pm 0,01$), FA ($0,26 \pm 0,04$), 0,5 mg NPs ($2,44 \pm 0,01$), 1 mg NPs ($0,31 \pm 0,07$), 1,5 mg NPs ($3,65 \pm 0,10$) ve 3 mg NPS ($2,18 \pm 0,11$) olarak tespit edilmiştir. Mg ($1,67 \pm 0,01$), 0,5 mg NPs ($2,44 \pm 0,01$), 1,5 mg NPs ($3,65 \pm 0,10$) ve 3 mg NPS ($2,18 \pm 0,11$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yukarı regülasyon; FA ($0,26 \pm 0,04$) ve 1 mg NPs ($0,31 \pm 0,07$) gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı aşağı regülasyon olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).





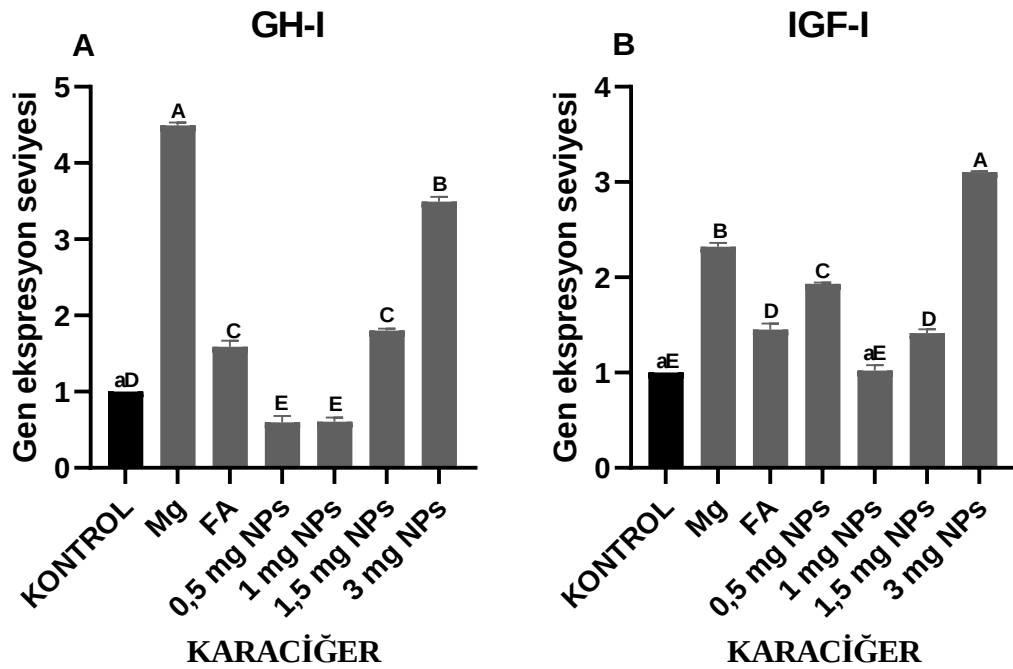
*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.11. Kas dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri

4.1.3.3. Karaciğer Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları

Karaciğer dokusunda GH-I geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.12(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($4,49 \pm 0,03$), FA ($1,58 \pm 0,08$), 0,5 mg NPs ($0,59 \pm 0,08$), 1 mg NPs ($0,60 \pm 0,05$), 1,5 mg NPs ($1,80 \pm 0,02$) ve 3 mg NPS ($3,49 \pm 0,06$) olarak tespit edilmiştir. Grupların gen ekspresyon ifadelerine göre, istatistiksel olarak anlamlı ve en yüksek yukarı gen regülasyonunun, Mg ($4,49 \pm 0,03$) ve 3 mg NPS ($3,49 \pm 0,06$) gruplarında olduğu belirlenmiştir. 0,5 mg NPs ($0,59 \pm 0,08$) ve 1 mg NPs ($0,60 \pm 0,05$) gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı olan aşağı regülasyon belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Karaciğer dokusunda IGF-I geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.12(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($2,32 \pm 0,04$), FA ($1,45 \pm 0,06$), 0,5 mg NPs ($1,93 \pm 0,01$), 1 mg NPs ($1,02 \pm 0,05$), 1,5 mg NPs ($1,41 \pm 0,03$) ve 3 mg NPs ($3,10 \pm 0,01$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, Mg ($2,32 \pm 0,04$), ve 3 mg NPs ($3,10 \pm 0,01$) gruplarında meydana gelen yukarı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).



*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.12. Karaciğer dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri

4.1.3.4. Karaciğer Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları

Karaciğer dokusunda CAT geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.13(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,41 \pm 0,01$), FA ($1,16 \pm 0,00$), 0,5 mg NPs ($1,97 \pm 0,03$), 1 mg NPs ($4,95 \pm 0,03$), 1,5 mg NPs ($0,75 \pm 0,03$) ve 3 mg NPS ($0,61 \pm 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, FA ($1,16 \pm 0,00$), 0,5 mg NPs ($1,97 \pm 0,03$), 1 mg NPs ($4,95 \pm 0,03$) gruplarında belirlenen yukarı; Mg ($0,41 \pm 0,01$), 1,5 mg NPs ($0,75 \pm 0,03$) ve 3 mg NPS ($0,61 \pm 0,05$) gruplarında ise belirlenen aşağı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

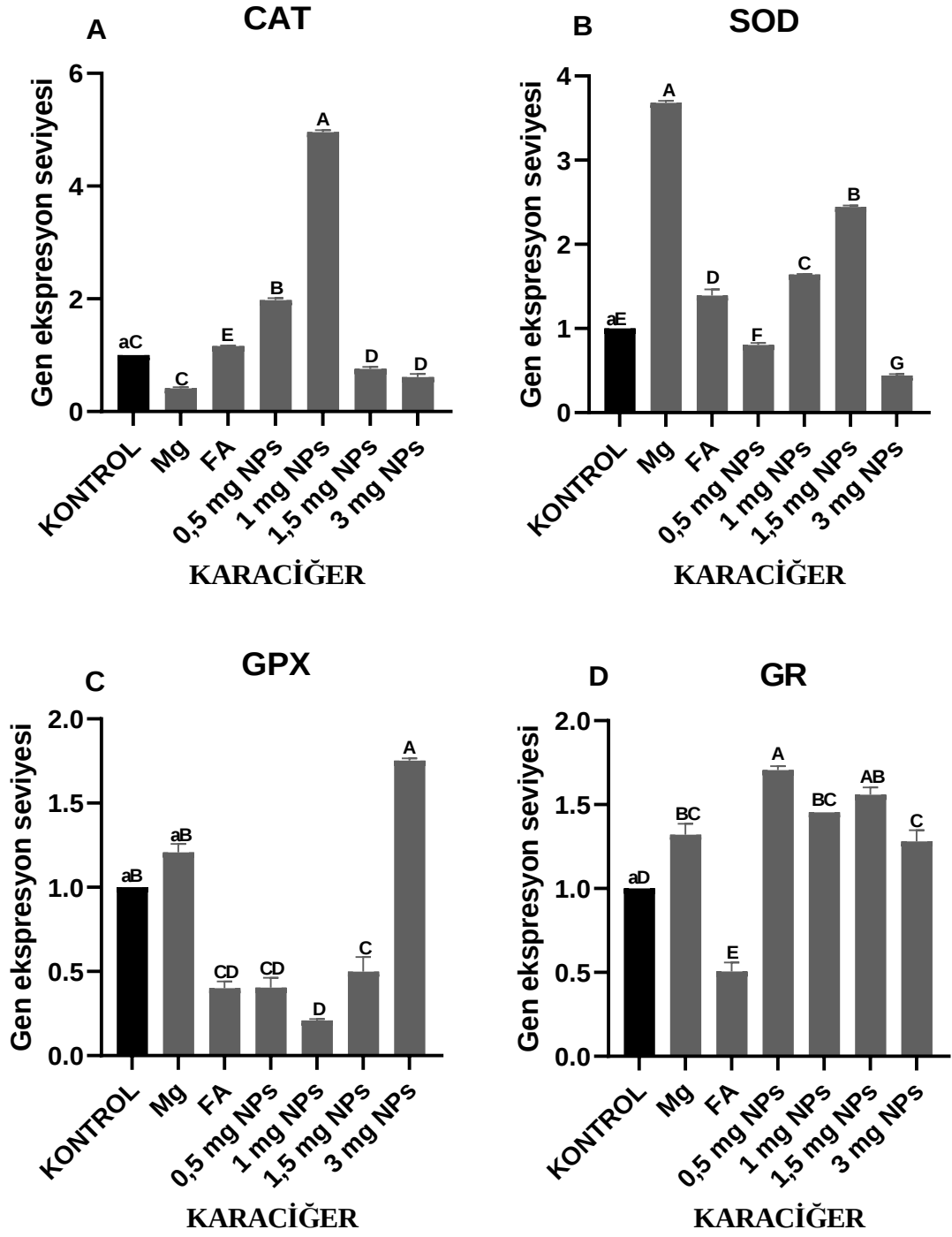
Karaciğer dokusunda SOD geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.13(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($3,68 \pm 0,02$), FA ($1,39 \pm 0,07$), 0,5 mg NPs ($0,80 \pm 0,02$), 1 mg NPs ($1,64 \pm 0,00$), 1,5 mg NPs ($2,44 \pm 0,01$) ve 3 mg NPS ($0,44 \pm 0,01$) olarak tespit edilmiştir. Mg ($3,68 \pm 0,02$), FA ($1,39 \pm 0,07$), 1 mg NPs ($1,64 \pm 0,00$), 1,5 mg NPs ($2,44 \pm 0,01$)

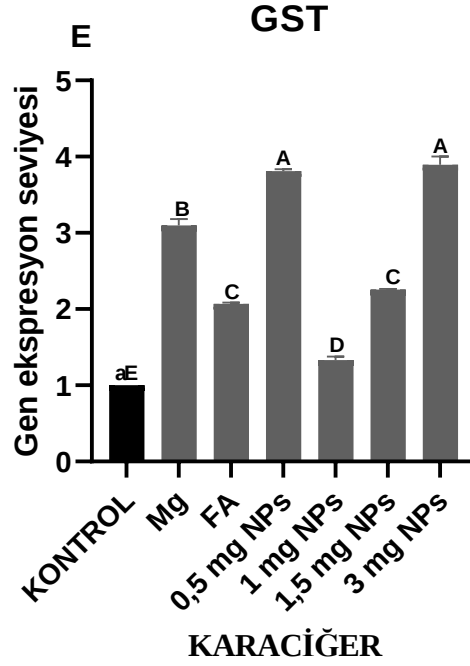
gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yukarı regülasyon gözlenmiştir. 0,5 mg NPs ($0,80 \pm 0,02$) ve 3 mg NPS ($0,44 \pm 0,01$) gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı aşağı regülasyon olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Karaciğer dokusunda GPX geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.13(C)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($1,20 \pm 0,05$), FA ($0,40 \pm 0,04$), 0,5 mg NPs ($0,40 \pm 0,05$), 1 mg NPs ($0,20 \pm 0,00$), 1,5 mg NPs ($0,49 \pm 0,08$) ve 3 mg NPS ($1,75 \pm 0,01$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, Mg ($1,20 \pm 0,05$) ve 3 mg NPS ($1,75 \pm 0,01$) gruplarındaki yukarı; FA ($0,40 \pm 0,04$), 0,5 mg NPs ($0,40 \pm 0,05$), 1 mg NPs ($0,20 \pm 0,00$) ve 1,5 mg NPs ($0,49 \pm 0,08$) gruplarında belirlenen aşağı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Karaciğer dokusunda GR geni mRNA ifade düzeyleri (Şekil 4.13(D)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($1,32 \pm 0,06$), FA ($0,50 \pm 0,05$), 0,5 mg NPs ($1,70 \pm 0,02$), 1 mg NPs ($1,45 \pm 0,00$), 1,5 mg NPs ($1,55 \pm 0,04$) ve 3 mg NPS ($1,28 \pm 0,06$) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre, FA ($0,50 \pm 0,05$) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir aşağı regülasyon; diğer gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı olan yukarı regülasyon gözlenmiştir.

Karaciğer dokusunda GST geni mRNA ifade düzeyleri (Şekil 4.13(E)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($3,09 \pm 0,08$), FA ($2,07 \pm 0,01$), 0,5 mg NPs ($3,81 \pm 0,02$), 1 mg NPs ($1,32 \pm 0,04$), 1,5 mg NPs ($2,25 \pm 0,00$) ve 3 mg NPS ($3,89 \pm 0,10$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, tüm gruplarda belirlenen yukarı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).





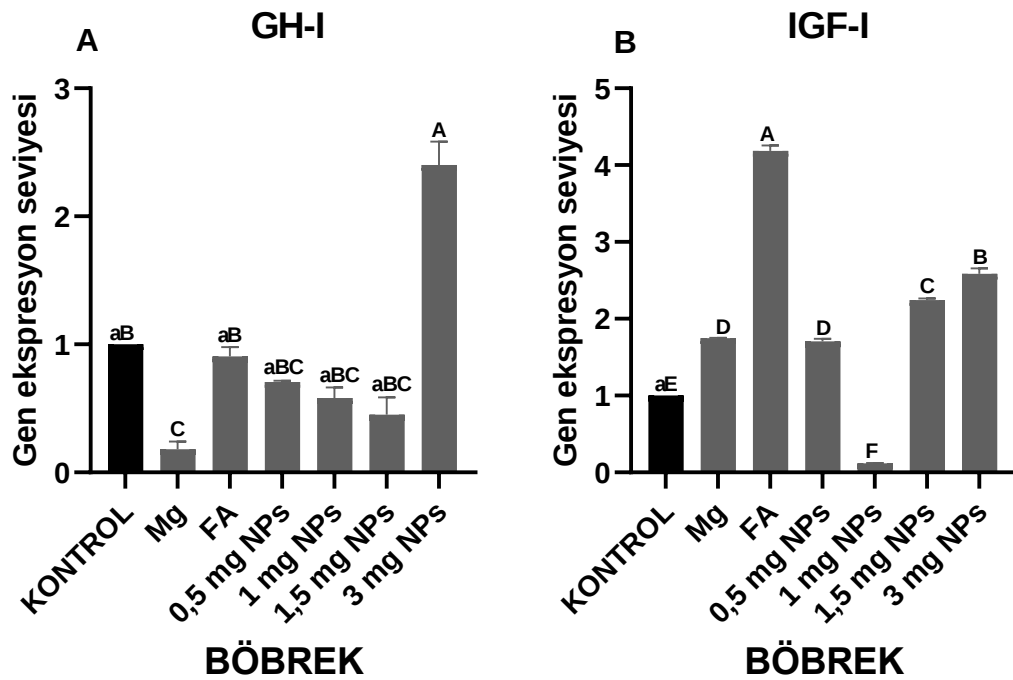
*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.13. Karaciğer dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri

4.1.3.5. Böbrek Dokusunda GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyon Bulguları

Böbrek dokusunda GH-I geni mRNA ifade düzeyleri (Şekil 4.14(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,18 \pm 0,05$), FA ($0,90 \pm 0,07$), 0,5 mg NPs ($0,70 \pm 0,00$), 1 mg NPs ($0,58 \pm 0,08$), 1,5 mg NPs ($0,45 \pm 0,13$) ve 3 mg NPs ($2,40 \pm 0,18$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, 3 mg NPs ($2,40 \pm 0,18$) grubunda yukarı; diğer gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı aşağı regülasyon olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda IGF-I geni mRNA ifade düzeyleri (Şekil 4.14(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($1,74 \pm 0,00$), FA ($4,18 \pm 0,07$), 0,5 mg NPs ($1,70 \pm 0,03$), 1 mg NPs ($0,11 \pm 0,00$), 1,5 mg NPs ($2,24 \pm 0,02$) ve 3 mg NPs ($2,58 \pm 0,07$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, 1 mg NPs ($0,11 \pm 0,00$) grubunda belirlenen aşağı; diğer gruplarda ise yukarı regülasyonun istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).



*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0.05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0.05$).

Şekil 4.14. Böbrek dokusuna ilişkin GH-I ve IGF-I mRNA ifade düzeyleri

4.1.3.6. Böbrek Dokusu Antioksidan Genlerin Ekspresyon Bulguları

Böbrek dokusunda CAT geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.15(A)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($0,91 \pm 0,06$), FA ($0,50 \pm 0,05$), 0,5 mg NPs ($0,42 \pm 0,11$), 1 mg NPs ($1,91 \pm 0,02$), 1,5 mg NPs ($1,92 \pm 0,00$) ve 3 mg NPs ($1,63 \pm 0,10$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, 1 mg NPs ($1,91 \pm 0,02$), 1,5 mg NPs ($1,92 \pm 0,00$) ve 3 mg NPs ($1,63 \pm 0,10$) gruplarında belirlenen yüksek yukarı regülasyonun; Mg ($0,91 \pm 0,06$), FA ($0,50 \pm 0,05$), 0,5 mg NPs ($0,42 \pm 0,11$) gruplarında belirlenen aşağı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

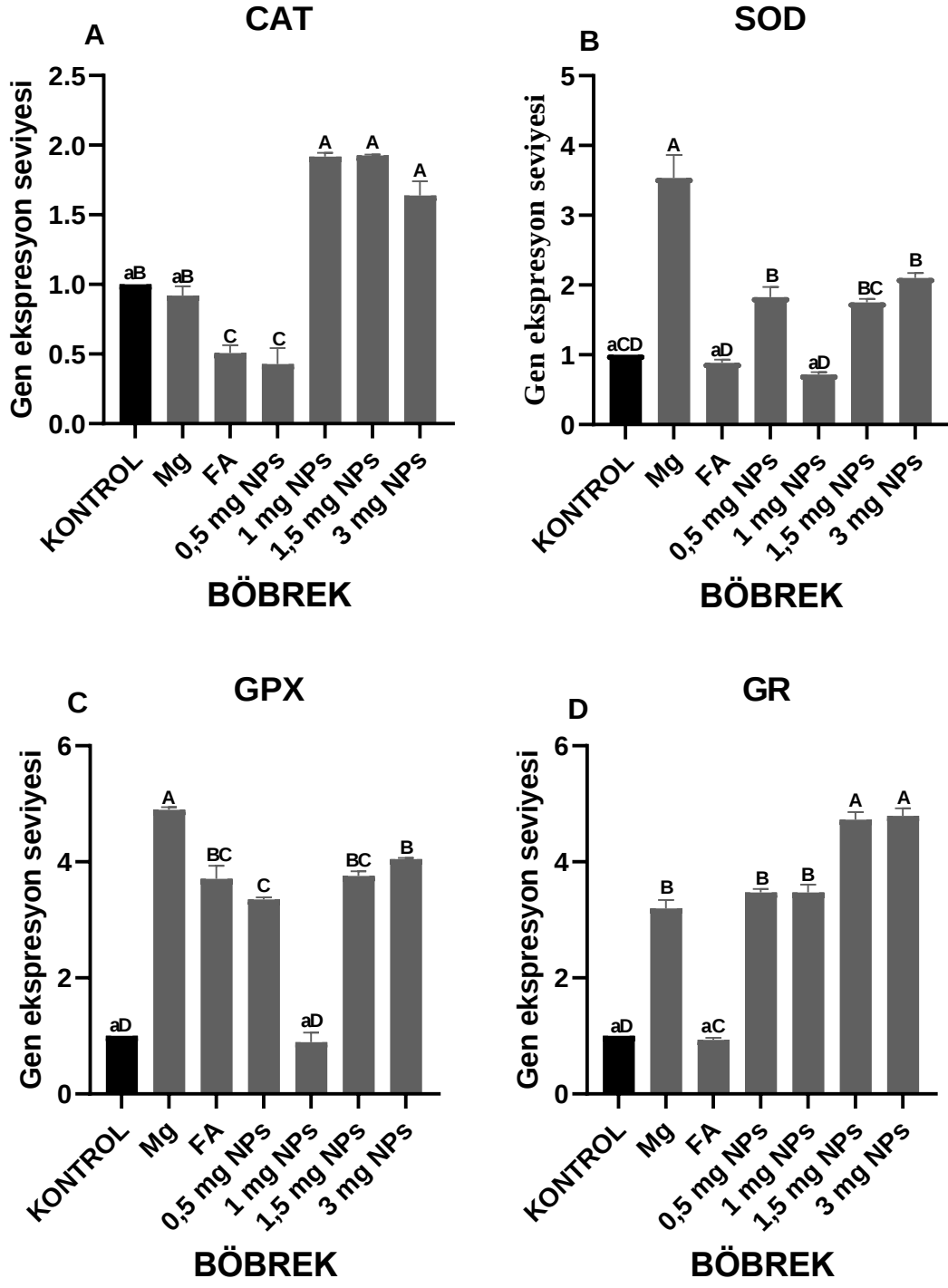
Böbrek dokusunda SOD geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.15(B)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($3,53 \pm 0,32$), FA ($0,88 \pm 0,04$), 0,5 mg NPs ($1,82 \pm 0,14$), 1 mg NPs ($0,72 \pm 0,03$), 1,5 mg NPs ($1,75 \pm 0,04$) ve 3 mg NPS ($2,10 \pm 0,07$) olarak tespit edilmiştir. Mg ($3,53 \pm 0,32$), 0,5 mg NPs ($1,82 \pm 0,14$), 1,5 mg NPs ($1,75 \pm 0,04$) ve 3 mg NPS ($2,10 \pm 0,07$) gruplarında belirlenen yukarı regülasyonun; FA ($0,88 \pm 0,04$) ve 1 mg NPs

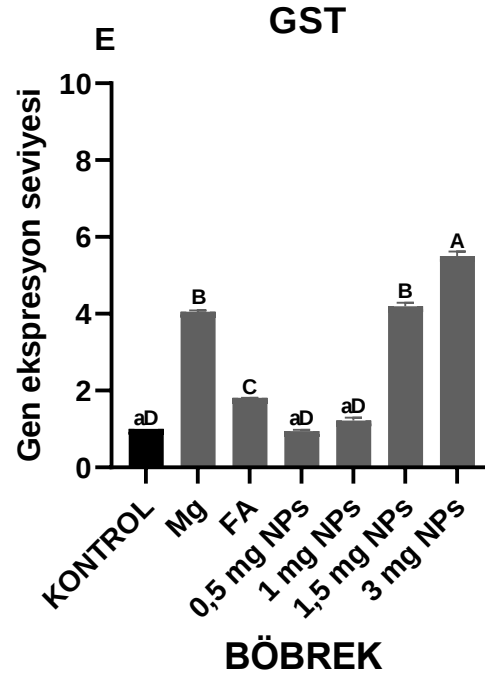
($0,72 \pm 0,03$) gruplarında belirlenen aşağı regülasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GPX geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.15(C)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($4,89 \pm 0,04$), FA ($3,70 \pm 0,22$), 0,5 mg NPs ($3,35 \pm 0,03$), 1 mg NPs ($0,89 \pm 0,16$), 1,5 mg NPs ($3,75 \pm 0,07$) ve 3 mg NPs ($4,04 \pm 0,02$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, 1 mg NPs ($0,89 \pm 0,16$) grubunda belirlenen aşağı regülasyonun ve diğer gruplarda belirlenen yukarı regülasyonların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GR geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.15(D)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($3,19 \pm 0,14$), FA ($0,93 \pm 0,03$), 0,5 mg NPs ($3,47 \pm 0,06$), 1 mg NPs ($3,47 \pm 0,13$), 1,5 mg NPs ($4,72 \pm 0,13$) ve 3 mg NPs ($4,79 \pm 0,13$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, FA ($0,93 \pm 0,04$) grubunda belirlenen aşağı regülasyonun ve diğer gruplarda belirlenen yukarı regülasyonların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GST geni mRNA ifade düzeylerine göre (Şekil 4.15(E)), kontrol ($1,00 \pm 0,00$), Mg ($4,05 \pm 0,02$), FA ($1,80 \pm 0,00$), 0,5 mg NPs ($0,94 \pm 0,03$), 1 mg NPs ($1,22 \pm 0,06$), 1,5 mg NPs ($4,19 \pm 0,08$) ve 3 mg NPs ($5,50 \pm 0,11$) olarak tespit edilmiştir. Buna göre, Mg, FA, 1,5 ve 3 mg uygulama gruplarında anlamlı yukarı gen regülasyonu belirlenmiştir. 0,5 ve 1 mg uygulama gruplarında ise kontrol grubuyla aynı düzeyde gen regülasyonu olduğu belirlenmiştir.





*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.15. Böbrek dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri

Tablo 4.2. Dokuların gen ekspresyonu (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler

Dokular		Uygulama Grupları (mg/g)								
		Kontrol	Mg	FA	0,5 mg NPs	1 mg NPs	1,5 mg NPs	3 mg NPs	P Değeri	F Değeri
KAS	GH-I	1,00±0,00 ^{aD}	0,55±0,06 ^E	3,71±0,01 ^B	4,27±0,01 ^A	1,74±0,07 ^C	1,58±0,10 ^C	1,66±0,06 ^C	0,000	506,67
	IGF-I	1,00±0,00 ^{aC}	0,11±0,00 ^D	1,27±0,10 ^{aC}	3,54±0,15 ^A	2,54±0,07 ^B	2,32±0,05 ^B	2,53±0,08 ^B	0,000	178,64
	CAT	1,00±0,00 ^{aCD}	0,65±0,02 ^{aD}	3,32±0,15 ^A	2,35±0,15 ^B	1,08±0,02 ^{aCD}	1,38±0,10 ^{aC}	0,60±0,09 ^{aD}	0,000	101,11
	SOD	1,00±0,00 ^{aD}	3,30±0,03 ^B	3,30±0,01 ^B	2,03±0,05 ^C	1,04±0,01 ^{aD}	3,56±0,01 ^A	3,50±0,04 ^A	0,000	1342,93
	GPX	1,00±0,00 ^{aDE}	0,89±0,01 ^{aE}	1,83±0,13 ^B	1,45±0,01 ^{BC}	1,04±0,00 ^{aCDE}	1,43±0,14 ^{BCD}	2,67±0,07 ^A	0,000	60,66
	GR	1,00±0,00 ^{aD}	0,36±0,03 ^{EF}	1,55±0,09 ^C	4,45±0,13 ^A	0,15±0,02 ^F	0,59±0,03 ^E	3,03±0,02 ^B	0,000	559,12
	GST	1,00±0,00 ^{aD}	1,67±0,01 ^C	0,26±0,04 ^E	2,44±0,01 ^B	0,31±0,07 ^E	3,65±0,10 ^A	2,18±0,11 ^B	0,000	334,23
KARACİĞE R	GH-I	1,00±0,00 ^{aD}	4,49±0,03 ^A	1,58±0,08 ^C	0,59±0,08 ^E	0,60±0,05 ^E	1,80±0,02 ^{aDE}	4,49±0,06 ^B	0,000	692,80
	IGF-I	1,00±0,00 ^{aE}	2,32±0,04 ^B	1,45±0,06 ^D	1,93±0,01 ^C	1,02±0,05 ^{aE}	1,41±0,03 ^D	3,10±0,01 ^A	0,000	372,94
	CAT	1,00±0,00 ^{aC}	0,41±0,01 ^E	1,16±0,00 ^C	1,97±0,03 ^B	4,95±0,03 ^A	0,75±0,03 ^D	0,61±0,05 ^D	0,000	2501,05
	SOD	1,00±0,00 ^{aE}	3,68±0,02 ^A	1,39±0,07 ^D	0,80±0,02 ^F	1,64±0,00 ^C	2,44±0,01 ^B	0,44±0,01 ^G	0,000	1233,02
	GPX	1,00±0,00 ^{aB}	1,20±0,05 ^{aB}	0,40±0,04 ^{CD}	0,40±0,05 ^{CD}	0,20±0,00 ^D	0,49±0,08 ^C	1,75±0,01 ^A	0,000	141,49
	GR	1,00±0,00 ^{aD}	1,32±0,06 ^{BC}	0,50±0,05 ^E	1,70±0,02 ^A	1,45±0,00 ^{BC}	1,55±0,04 ^{AB}	1,28±0,06 ^C	0,000	82,19
	GST	1,00±0,00 ^{aE}	3,09±0,08 ^B	2,07±0,01 ^C	3,81±0,02 ^A	1,32±0,04 ^D	2,25±0,00 ^C	3,89±0,07 ^A	0,000	415,84
BÖBREK	GH-I	1,00±0,00 ^{aB}	0,18±0,05 ^C	0,90±0,07 ^{aB}	0,70±0,00 ^{aBC}	0,58±0,08 ^{aBC}	0,45±0,13 ^{BC}	2,40±0,18 ^A	0,000	53,76
	IGF-I	1,00±0,00 ^{aE}	1,74±0,00 ^D	4,18±0,07 ^A	1,70±0,03 ^D	0,11±0,00 ^F	2,24±0,02 ^C	2,58±0,07 ^B	0,000	937,40
	CAT	1,00±0,00 ^{aB}	0,91±0,06 ^{aB}	0,50±0,05 ^C	0,42±0,11 ^C	1,91±0,02 ^A	1,92±0,00 ^A	1,63±0,10 ^A	0,000	88,85
	SOD	1,00±0,00 ^{aCD}	3,53±0,32 ^A	0,88±0,04 ^{aD}	1,82±0,14 ^B	0,72±0,03 ^{aD}	1,75±0,04 ^{BC}	2,10±0,07 ^B	0,000	46,83
	GPX	1,00±0,00 ^{aD}	4,89±0,04 ^A	3,70±0,22 ^{BC}	3,35±0,03 ^C	0,89±0,16 ^{aD}	3,75±0,07 ^{BC}	4,04±0,02 ^B	0,000	191,97
	GR	1,00±0,00 ^{aC}	3,19±0,14 ^B	0,93±0,03 ^{aC}	3,47±0,06 ^B	3,47±0,13 ^B	4,72±0,13 ^A	4,79±0,13 ^A	0,000	223,65
	GST	1,00±0,00 ^{aD}	4,05±0,02 ^B	1,80±0,00 ^C	0,94±0,03 ^{aD}	1,22±0,06 ^{aD}	4,19±0,08 ^B	5,50±0,11 ^A	0,000	894,75

*Aynı satırda, kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

4.1.4. Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları

Kas, karaciğer ve böbrek dokularına ait sonuçlar ve grafikler, ilgili alt bölümlerde yer almaktadır. Tüm dokulara ait sayısal veriler ile istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.3'te topluca verilmiş olup, bu tablo bölüm sonunda sunulmuştur.

4.1.4.1. Kas Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları

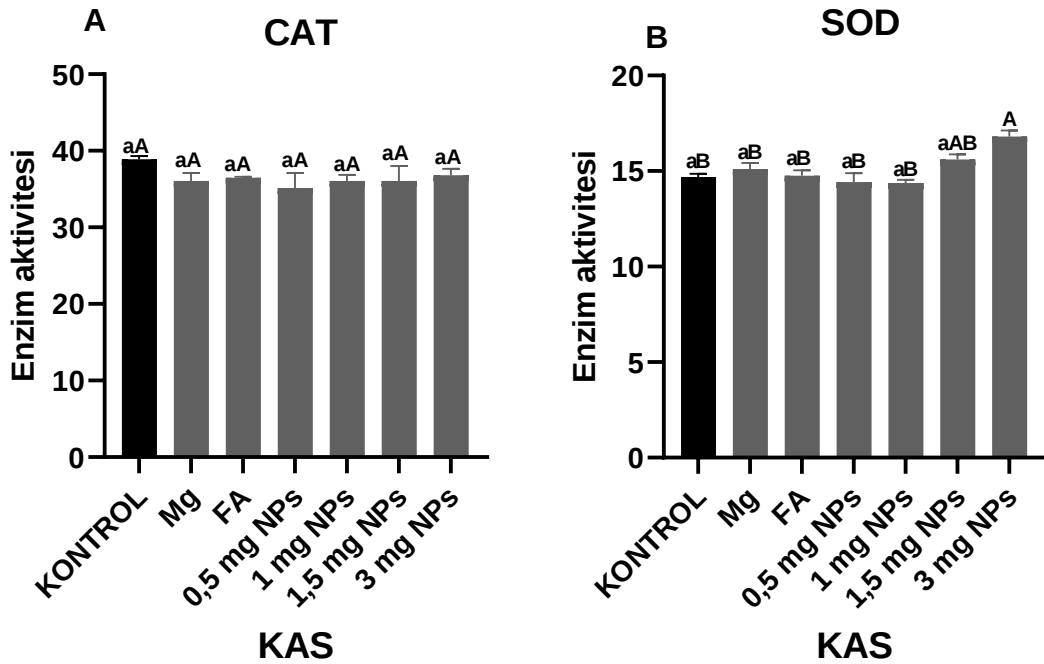
Kas dokusunda CAT enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.16(A)), kontrol grubu ($38,88 \pm 0,62$), Mg ($36,05 \pm 1,50$), FA ($36,46 \pm 0,23$), 0,5 mg NPs ($36,00 \pm 2,76$), 1 mg NPs ($36,07 \pm 1,08$), 1,5 mg NPs ($36,04 \pm 2,77$), 3 mg NPs ($36,81 \pm 1,19$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubuyla hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p < 0,05$).

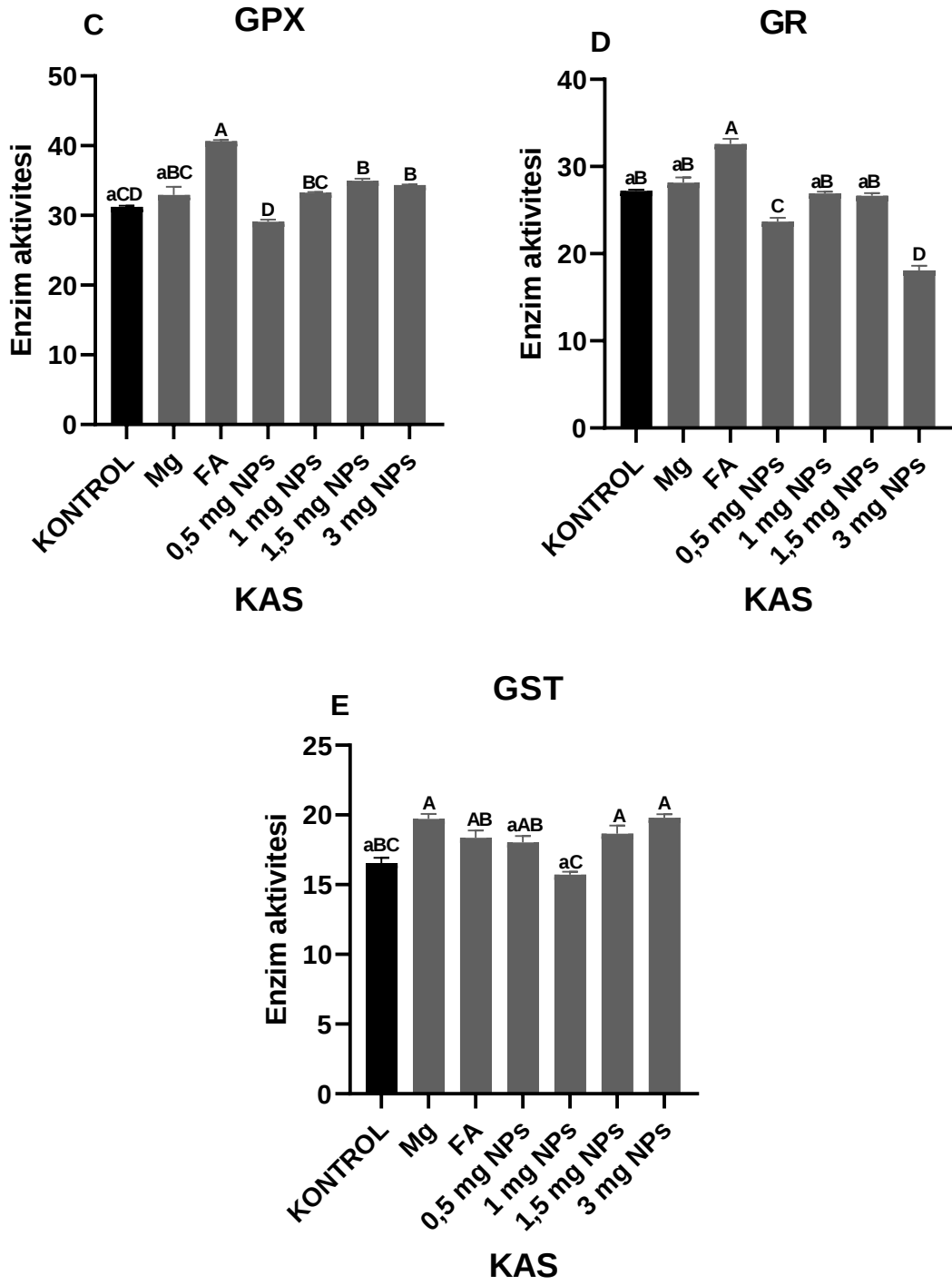
Kas dokusunda SOD enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.16(B)), kontrol grubu ($14,69 \pm 0,21$), Mg ($15,11 \pm 0,43$), FA ($14,76 \pm 0,40$), 0,5 mg NPs ($14,42 \pm 0,65$), 1 mg NPs ($14,37 \pm 0,24$), 1,5 mg/g NPs ($15,60 \pm 0,38$), 3 mg NPs ($16,80 \pm 0,46$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, kontrol grubu ($14,69 \pm 0,21$) ile 3 mg NPs ($16,80 \pm 0,46$) uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir aktivite artışı saptanmıştır ($p < 0,05$). Diğer uygulama grupları ile kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Uygulama grupları birbiriyle karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GPX enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.16(C)), kontrol grubu ($31,23 \pm 0,21$), Mg ($32,95 \pm 1,64$), FA ($40,62 \pm 0,27$), 0,5 mg NPs ($29,10 \pm 0,39$), 1 mg NPs ($33,26 \pm 0,12$), 1,5 mg NPs ($34,96 \pm 0,45$) ve 3 mg NPs ($34,34 \pm 0,14$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, FA ($40,62 \pm 0,27$), 0,5 mg NPs ($29,10 \pm 0,39$), 1 mg NPs ($33,26 \pm 0,12$), 1,5 mg NPs ($34,96 \pm 0,45$) ve 3 mg NPs ($34,34 \pm 0,14$) gruplarının hem kontrol grubu ile hem de kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GR enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.16(D)), kontrol grubu ($27,21 \pm 0,17$), Mg ($28,14 \pm 0,87$), FA ($32,59 \pm 0,84$), 0,5 mg NPs ($23,67 \pm 0,65$), 1 mg NPs ($26,93 \pm 0,24$), 1,5 mg NPs ($26,64 \pm 0,41$) 3 mg NPs ($18,06 \pm 0,77$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, Mg ($28,14 \pm 0,87$), 1 mg NPs ($26,93 \pm 0,24$) ve 1,5 mg NPs ($26,64 \pm 0,41$) gruplarının enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı; FA ($32,59 \pm 0,84$), 0,5 mg NPs ($23,67 \pm 0,65$) ve 3 mg NPs ($18,06 \pm 0,77$) gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Uygulama grupları birbiriyle karşılaştırıldığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0,05$).

Kas dokusunda GST enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.16(E)), kontrol grubu ($16,55 \pm 0,51$), Mg ($19,72 \pm 0,48$), FA ($18,36 \pm 0,23$), 0,5 mg NPs ($18,02 \pm 0,67$), 1 mg NPs ($15,70 \pm 0,30$), 1,5 mg NPs ($18,66 \pm 0,81$), 3 mg NPs ($19,80 \pm 0,35$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, 0,5 mg NPs ($18,02 \pm 0,67$), 1 mg NPs ($15,70 \pm 0,30$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı; diğer gruplar ile kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 4.3.).





*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.16. Kas dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri

4.1.4.2. Karaciğer Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları

Karaciğer dokusunda CAT enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.17(A)), kontrol grubu ($34,03 \pm 1,20$), Mg ($35,70 \pm 0,75$), FA ($35,99 \pm 1,21$), 0,5 mg NPs ($35,67 \pm 1,07$), 1 mg NPs ($31,04 \pm 0,34$), 1,5 mg NPs ($39,46 \pm 1,69$), 3 mg NPs ($35,83 \pm 2,00$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farkların olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

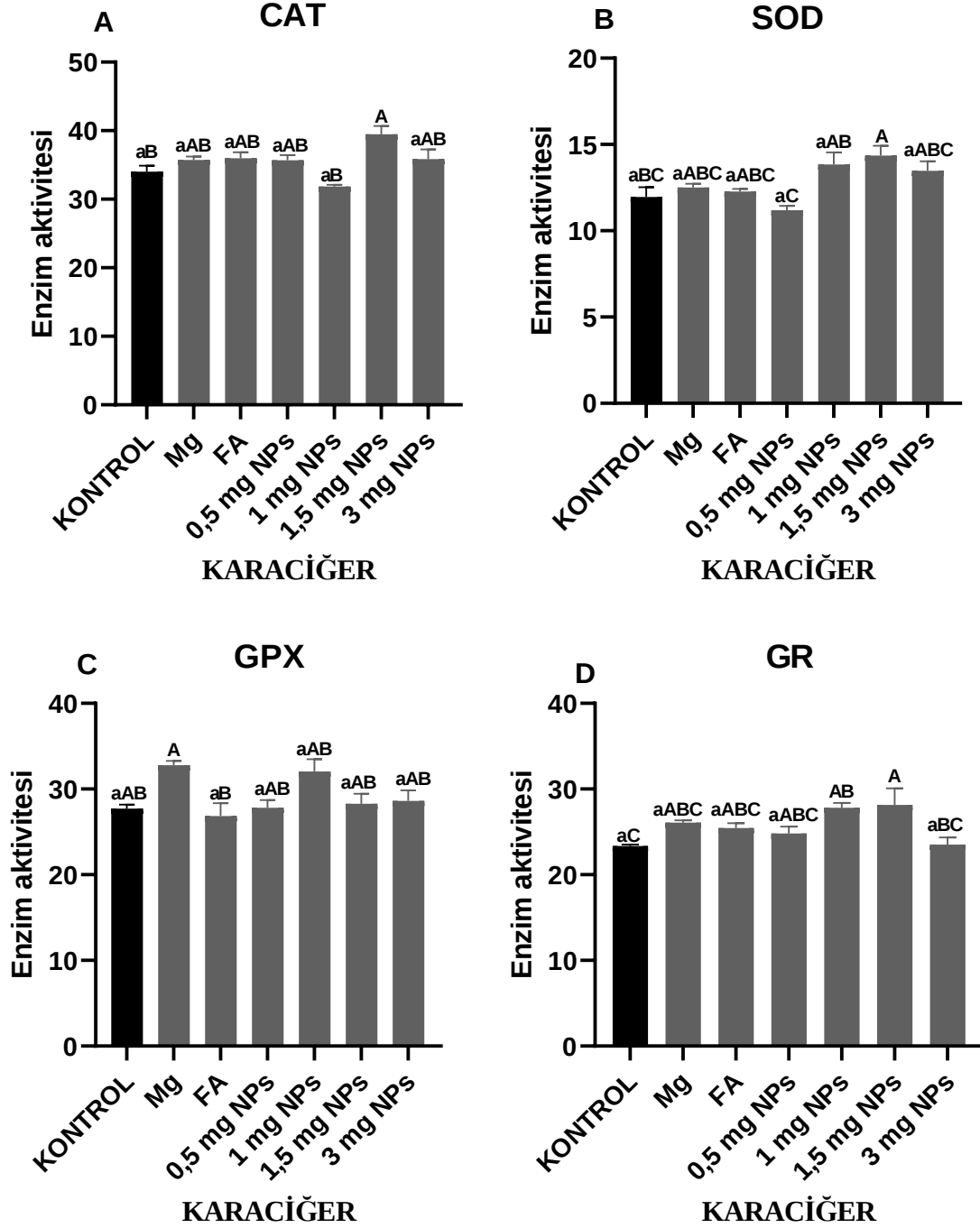
Karaciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.17(B)), kontrol grubu ($11,95 \pm 0,81$), Mg ($12,51 \pm 0,28$), FA ($12,27 \pm 0,21$), 0,5 mg NPs ($11,18 \pm 0,35$), 1 mg NPs ($13,83 \pm 0,99$), 1,5 mg NPs ($14,36 \pm 0,79$), 3 mg NPs ($13,47 \pm 0,78$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, 1,5 mg NPs ($14,36 \pm 0,79$) grubu ile istatistiksel olarak anlamlı olan enzim aktivitesi artışı saptanmıştır ($p < 0,05$). Gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

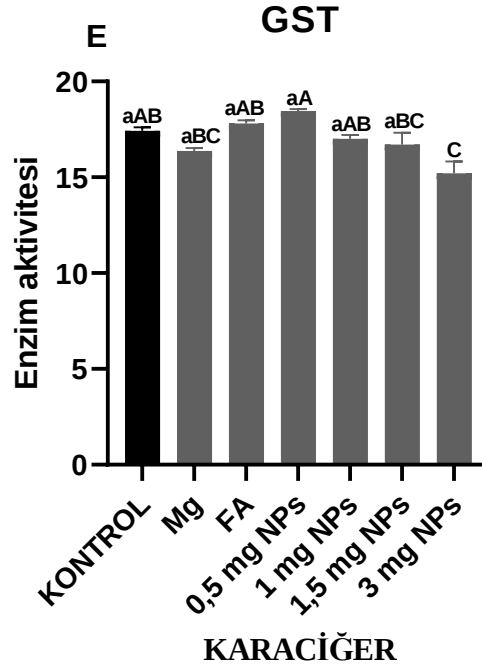
Karaciğer dokusunda GPX enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.17(C)), kontrol grubu ($27,72 \pm 0,66$), Mg ($32,77 \pm 0,71$), FA ($26,83 \pm 2,13$), 0,5 mg NPs ($27,81 \pm 1,27$), 1 mg NPs ($32,06 \pm 2,02$), 1,5 mg NPs ($28,29 \pm 1,64$), 3 mg NPs ($28,62 \pm 1,73$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu karşılaştırıldığında hem de birbiriyle karşılaştırıldığında, Mg ($32,77 \pm 0,71$) ve FA ($26,83 \pm 2,13$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu; diğer gruplar ile farkların anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

Karaciğer dokusunda GR enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.17(D)), kontrol grubu ($23,34 \pm 0,24$), Mg ($26,06 \pm 0,40$), FA ($25,45 \pm 0,77$), 0,5 mg NPs ($24,82 \pm 1,10$), 1 mg NPs ($27,80 \pm 0,79$), 1,5 mg NPs ($28,16 \pm 2,71$), 3 mg NPs ($23,51 \pm 1,16$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu karşılaştırıldığında hem de birbiriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Karaciğer dokusunda GST enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.17(E)), kontrol grubu ($17,43 \pm 0,25$), Mg ($16,03 \pm 0,23$), FA ($17,80 \pm 0,23$), 0,5 mg NPs ($18,45 \pm 0,14$), 1 mg NPs ($17,00 \pm 0,28$), 1,5 mg NPs ($16,71 \pm 0,86$), 3 mg NPs ($15,20 \pm 0,89$) olarak

belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4.3.).





*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.17. Karaciğer dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri

4.1.4.3. Böbrek Dokusu Antioksidan Enzim Aktivitesi Bulguları

Böbrek dokusunda CAT enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.18(A)), kontrol grubu ($42,48 \pm 0,30$), Mg ($39,00 \pm 0,70$), FA ($33,16 \pm 0,23$), 0,5 mg NPs ($37,32 \pm 0,04$), 1 mg NPs ($44,54 \pm 0,32$), 1,5 mg NPs ($53,45 \pm 0,27$), 3 mg NPs ($35,68 \pm 0,22$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

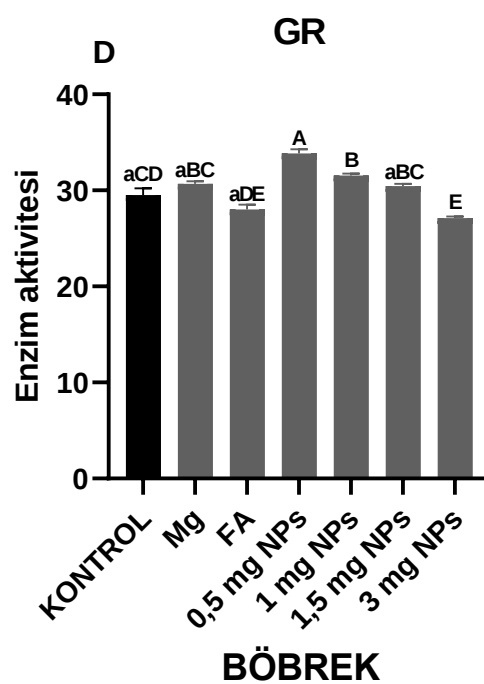
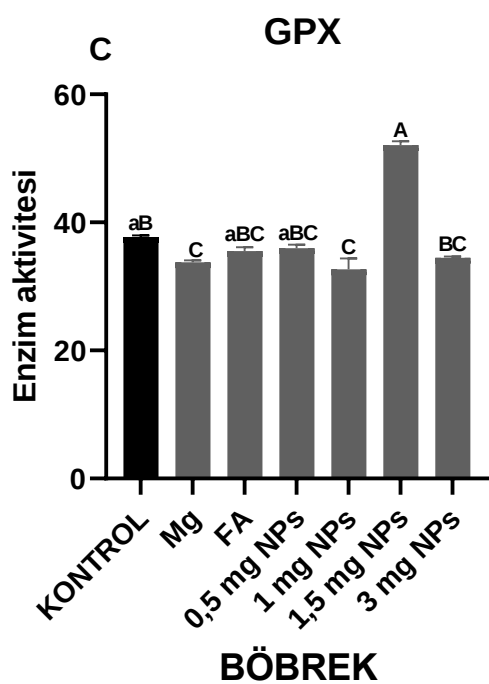
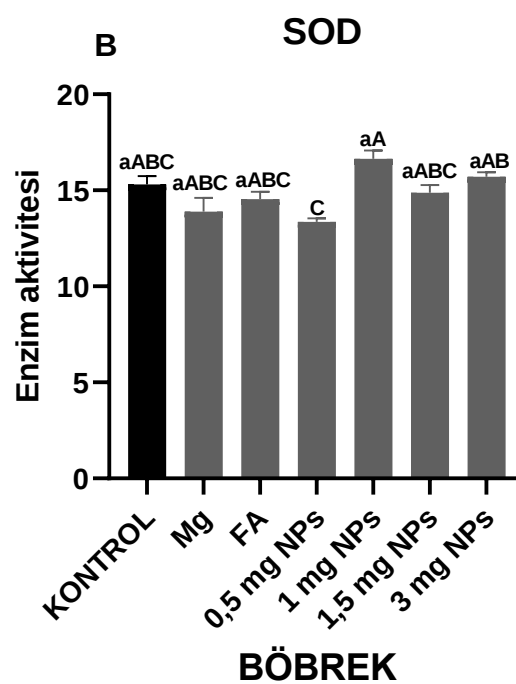
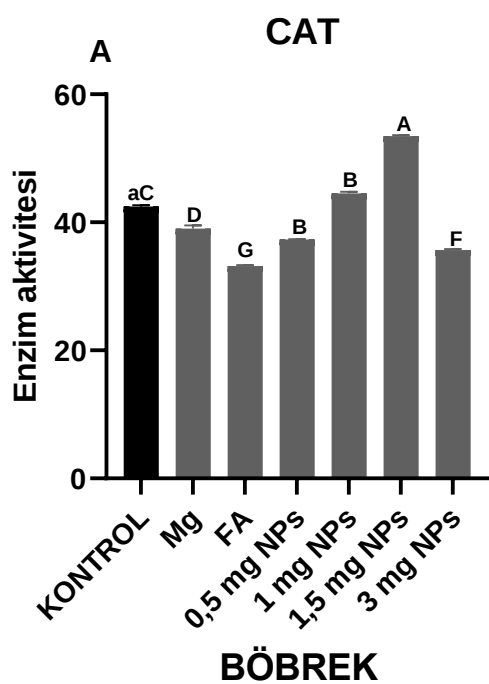
Böbrek dokusunda SOD enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.18(B)), kontrol grubu ($15,31 \pm 0,59$), Mg ($13,89 \pm 0,99$), FA ($14,53 \pm 0,53$), 0,5 mg NPs ($13,36 \pm 0,24$), 1 mg NPs ($16,64 \pm 0,60$), 1,5 mg NPs ($14,86 \pm 0,56$), 3 mg NPs ($15,70 \pm 0,31$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 0,5 mg NPs ($13,36 \pm 0,24$) grubunda belirlenen düşük enzim aktivitesi düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu; diğer gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı farkların oluşmadığı belirlenmiştir. Gruplar

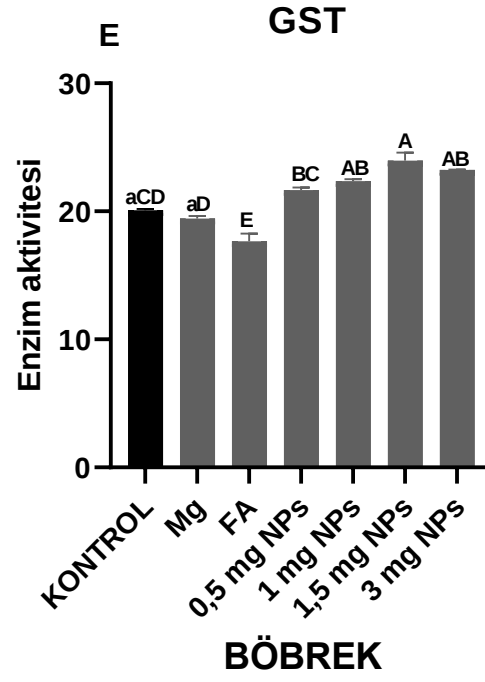
birbiriyle karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farkların olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GPX enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.18(C)), kontrol grubu ($37,73 \pm 0,33$), Mg ($33,77 \pm 0,39$), FA ($35,50 \pm 0,84$), 0,5 mg NPs ($35,97 \pm 0,81$), 1 mg NPs ($32,66 \pm 2,41$), 1,5 mg NPs ($52,08 \pm 0,82$), 3 mg NPs ($34,46 \pm 0,27$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GR enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.18(D)), kontrol grubu ($29,50 \pm 1,02$), Mg ($30,68 \pm 0,35$), FA ($28,02 \pm 0,68$), 0,5 mg NPs ($33,83 \pm 0,62$), 1 mg NPs ($31,54 \pm 0,27$), 1,5 mg NPs ($30,46 \pm 0,29$), 3 mg NPs ($27,12 \pm 0,22$). olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Böbrek dokusunda GST enzim aktivitesi sonuçlarına göre (Şekil 4.18(E)), kontrol grubu ($20,08 \pm 0,15$), Mg ($19,43 \pm 0,28$), FA ($17,65 \pm 0,83$), 0,5 mg NPs ($21,66 \pm 0,29$), 1 mg NPs ($22,36 \pm 0,19$), 1,5 mg NPs ($23,96 \pm 0,88$), 3 mg NPs ($23,23 \pm 0,03$) olarak belirlenmiştir. Uygulama grupları hem kontrol grubu ile hem de birbirleriyle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 4.3.).





*Kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$). Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

Şekil 4.18. Böbrek dokusuna ilişkin antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri

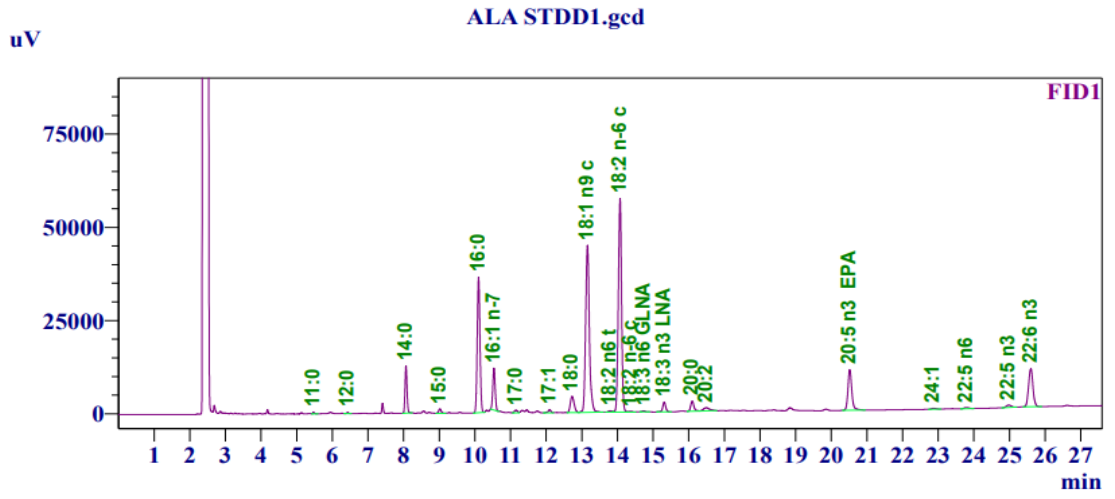
Tablo 4.3. Dokuların enzim aktivitesi (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler

Dokular		Uygulama Grupları (mg/g)								
		Kontrol	Mg	FA	0,5 mg NPs	1 mg NPs	1,5 mg NPs	3 mg NPs	P Değeri	F Değeri
KAS	CAT	38,88 $\pm$ 0,62 ^{aA}	36,05 $\pm$ 1,50 ^{aA}	36,46 $\pm$ 0,23 ^{aA}	36 $\pm$ 2,76 ^{aA}	36,07 $\pm$ 1,08 ^{aA}	36,04 $\pm$ 2,77 ^{aA}	36 $\pm$ 1,19 ^{aA}	0,509	0,92
	SOD	14,69 $\pm$ 0,21 ^{aB}	15,11 $\pm$ 0,43 ^{aB}	14,76 $\pm$ 0,40 ^{aB}	14,42 $\pm$ 0,65 ^{aB}	14,37 $\pm$ 0,24 ^{aB}	15,60 $\pm$ 0,38 ^{aAB}	16,80 $\pm$ 0,46 ^{bA}	0,001	8,17
	GPX	31,23 $\pm$ 0,21 ^{aCD}	32,95 $\pm$ 1,64 ^{aBC}	40,62 $\pm$ 0,27 ^{bA}	29,10 $\pm$ 0,39 ^{bD}	33,26 $\pm$ 0,12 ^{bBC}	34,96 $\pm$ 0,45 ^{bB}	34,34 $\pm$ 0,14 ^{bB}	0,000	56,13
	GR	27,21 $\pm$ 0,17 ^{aB}	28,14 $\pm$ 0,87 ^{aB}	32,59 $\pm$ 0,84 ^{bA}	23,67 $\pm$ 0,65 ^{bC}	26,93 $\pm$ 0,24 ^{aB}	26,64 $\pm$ 0,41 ^{aB}	18,06 $\pm$ 0,77 ^{bD}	0,000	99,95
	GST	16,55 $\pm$ 0,51 ^{aBC}	19,72 $\pm$ 0,48 ^{bA}	18,36 $\pm$ 0,23 ^{bAB}	18,02 $\pm$ 0,67 ^{aAB}	15,70 $\pm$ 0,30 ^{aC}	18,66 $\pm$ 0,81 ^{bA}	19,80 $\pm$ 0,35 ^{bA}	0,000	13,79
KARACİĞER	CAT	34 $\pm$ 1,20 ^{aB}	35,70 $\pm$ 0,75 ^{aAB}	35,99 $\pm$ 1,21 ^{aAB}	35,67 $\pm$ 1,07 ^{aAB}	31,04 $\pm$ 0,34 ^{aB}	39,46 $\pm$ 1,69 ^{bA}	35,83 $\pm$ 2,00 ^{aAB}	0,002	6,31
	SOD	11,95 $\pm$ 0,81 ^{aBC}	12,51 $\pm$ 0,28 ^{aABC}	12,27 $\pm$ 0,21 ^{aABC}	11,18 $\pm$ 0,35 ^{aC}	13,83 $\pm$ 0,99 ^{aAB}	14,36 $\pm$ 0,79 ^{bA}	13,47 $\pm$ 0,78 ^{aABC}	0,004	5,65
	GPX	27,72 $\pm$ 0,66 ^{aAB}	32,77 $\pm$ 0,71 ^{bA}	26,83 $\pm$ 2,13 ^{aB}	27,81 $\pm$ 1,27 ^{aAB}	32,06 $\pm$ 2,02 ^{aAB}	28,29 $\pm$ 1,64 ^{aAB}	28,62 $\pm$ 1,73 ^{aAB}	0,011	4,36
	GR	23,34 $\pm$ 0,24 ^{aC}	26,06 $\pm$ 0,40 ^{aABC}	25,45 $\pm$ 0,77 ^{aABC}	24,82 $\pm$ 1,10 ^{aAB}	27,80 $\pm$ 0,79 ^{bAB}	28,16 $\pm$ 2,71 ^{bA}	23,51 $\pm$ 1,16 ^{aBC}	0,010	4,42
	GST	17,43 $\pm$ 0,25 ^{aAB}	16,03 $\pm$ 0,23 ^{aBC}	17,80 $\pm$ 0,23 ^{aAB}	18,45 $\pm$ 0,14 ^{aA}	17,00 $\pm$ 0,28 ^{aAB}	16,71 $\pm$ 0,86 ^{aBC}	15,20 $\pm$ 0,89 ^{bC}	0,000	8,57
BÖBREK	CAT	42,48 $\pm$ 0,30 ^{aC}	39,00 $\pm$ 0,70 ^{bD}	33,16 $\pm$ 0,23 ^{bG}	37,32 $\pm$ 0,04 ^{bE}	44,54 $\pm$ 0,32 ^{bB}	53,45 $\pm$ 0,27 ^{bA}	35,68 $\pm$ 0,22 ^{bF}	0,000	732,24
	SOD	15,31 $\pm$ 0,59 ^{aABC}	13,89 $\pm$ 0,99 ^{aBC}	14,53 $\pm$ 0,53 ^{aBC}	13,36 $\pm$ 0,24 ^{bC}	16,64 $\pm$ 0,60 ^{aA}	14,86 $\pm$ 0,56 ^{aABC}	15,70 $\pm$ 0,31 ^{aAB}	0,001	6,90
	GPX	37,73 $\pm$ 0,33 ^{aB}	33,77 $\pm$ 0,39 ^{bC}	35,50 $\pm$ 0,84 ^{aBC}	35,97 $\pm$ 0,81 ^{aBC}	32,66 $\pm$ 2,41 ^{bC}	52,08 $\pm$ 0,82 ^{bA}	34,46 $\pm$ 0,27 ^{bBC}	0,0001	75,03
	GR	29,50 $\pm$ 1,02 ^{aCD}	30,68 $\pm$ 0,35 ^{aBC}	28,02 $\pm$ 0,68 ^{aDE}	33,83 $\pm$ 0,62 ^{bA}	31,54 $\pm$ 0,27 ^{bB}	30,46 $\pm$ 0,29 ^{aBC}	27,12 $\pm$ 0,22 ^{bE}	0,000	31,13
	GST	20,08 $\pm$ 0,15 ^{aCD}	19,43 $\pm$ 0,28 ^{aD}	17,65 $\pm$ 0,83 ^{bE}	21,66 $\pm$ 0,29 ^{bBC}	22,36 $\pm$ 0,19 ^{bAB}	23,96 $\pm$ 0,88 ^{bA}	23,23 $\pm$ 0,03 ^{bAB}	0,0001	40,85

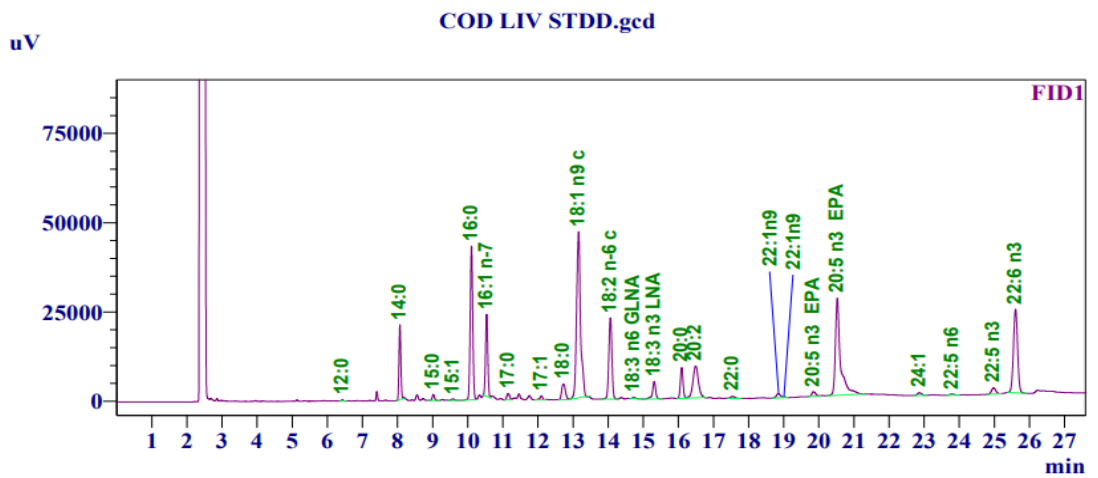
*Aynı satırda, kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$), Gruplar arasındaki farklılıklar büyük harflerle gösterilmiştir, farklı büyük harf verilen gruplar birbirleriyle istatistiksel olarak farklıdır (Tukey, $p < 0,05$).

4.1.5. Yağ Asidi Profilleri

Yağ asidi metil esterlerinin tanımlanması için referans bileşik olarak Alfa-Linolenik Asit (ALA) ve Cod liver (COD LIV) standart karışımları kullanılmıştır. Bu standartlar aracılığıyla yağ asidi metil esterlerinin tanımlanması için alıkonma süreleri belirlenmiştir ve numunelerdeki bileşiklerin tayini bu verilere dayanarak gerçekleştirilmiştir. Aşağıda standart karışımlara ait kromatografik profiller (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20) ve alıkonma süreleri sunulmuştur.



Şekil 4.19. ALA kullanılarak elde edilen standart yağ asidi kromatogramı



Şekil 4.20. COD LIV kullanılarak elde edilen standart yağ asidi kromatogramı

4.1.5.1. Kas Dokusu Yağ Asidi Profili

Balıkların kas dokusu yağ asidi analizi sonucunda, 19 yağ asidi tespit edildi. Doymuş yağ asitlerinden, kaprik asit, miristik asit, pentadekanoik asit, palmitik asit, heptadekanoik asit, stearik asit, araşidik asit, behenik asit belirlenmiştir. Doymamış yağ asitleri olarak; linoleik asit, gamma-linolenik asit, alfa-linolenik asit, araşidonik asit, eikosapentanoik asit (EPA), dokosapentanoik asit (DPA), dokosaheksanoik asit (DHA) çoklu doymamış yağ asitleri olarak; miristoleik asit, palmitoleik asit, heptadekanoik asit ve oleik asit ise tekli doymamış yağ asitleri olarak belirlenmiştir. Kas dokusuna ilişkin grupların yağ asidi profili Tablo 4.4'te verildi. SFA'da, kontrol grubuna kıyasla Mg uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı; diğer gruplarda ise düşük SFA değerleri olduğu belirlendi. MUFA, Mg, FA ve 1,5 mg FA@MgNPs uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı; diğer gruplarda ise düşük MUFA değerleri olduğu belirlendi. PUFA, Mg grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir farklılık diğer gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı olan yüksek PUFA değerleri belirlendi.

Tablo 4.4. Kas dokusu % yağ asidi profili (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler

Yağ Asidi	Kontrol	Mg	FA	0,5 mg NPs	1 mg NPs	1,5 mg NPs	3 mg NPs	P Değeri	F Değeri
10:00	1,57 $\pm$ 0,53 ^a	0,69 $\pm$ 0,15 ^a	0,22 $\pm$ 0,10	0,13 $\pm$ 0,00	0,62 $\pm$ 0,51	-	0,42 $\pm$ 0,26	0,003	5,94
14:00	2,71 $\pm$ 0,10 ^a	3,39 $\pm$ 0,29 ^a	3,29 $\pm$ 0,21 ^a	2,64 $\pm$ 0,09 ^a	2,67 $\pm$ 0,11 ^a	3,12 $\pm$ 0,14 ^a	2,32 $\pm$ 0,48 ^a	0,020	3,74
14:01	0,19 $\pm$ 0,03 ^a	0,23 $\pm$ 0,02 ^a	0,26 $\pm$ 0,03 ^a	0,23 $\pm$ 0,00 ^a	-	-	0,17 $\pm$ 0,09 ^a	0,000	20,88
15:00	0,30 $\pm$ 0,02 ^a	0,38 $\pm$ 0,04 ^a	0,36 $\pm$ 0,03 ^a	0,35 $\pm$ 0,02 ^a	0,31 $\pm$ 0,01 ^a	1,18 $\pm$ 0,01 ^a	0,31 $\pm$ 0,01 ^a	0,453	1,02
16:00	17,59 $\pm$ 0,76 ^a	18,88 $\pm$ 3,23 ^a	16,34 $\pm$ 0,68 ^a	17,25 $\pm$ 0,77 ^a	16,94 $\pm$ 0,47 ^a	16,33 $\pm$ 0,32 ^a	17,77 $\pm$ 1,43 ^a	0,254	1,48
16:1	5,33 $\pm$ 0,21 ^a	5,53 $\pm$ 0,86 ^a	5,66 $\pm$ 0,41 ^a	5,00 $\pm$ 0,07 ^a	5,17 $\pm$ 0,35 ^a	5,65 $\pm$ 0,25 ^a	4,30 $\pm$ 1,36 ^a	0,266	1,45
17:00	0,08 $\pm$ 0,05 ^a	0,28 $\pm$ 0,14	0,29 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,03 ^a	0,24 $\pm$ 0,01 ^a	0,33 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,06	0,024	3,53
17:01	0,11 $\pm$ 0,00 ^a	-	0,17 $\pm$ 0,01 ^a	0,13 $\pm$ 0,02 ^a	0,16 $\pm$ 0,02 ^a	0,23 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,06 ^a	0,000	17,70
18:00	6,40 $\pm$ 0,66 ^a	5,61 $\pm$ 0,82 ^a	4,23 $\pm$ 0,30	4,67 $\pm$ 0,28	5,14 $\pm$ 0,63 ^a	4,42 $\pm$ 0,01	5,32 $\pm$ 0,79 ^a	0,006	5,10
18:1	32,06 $\pm$ 1,27 ^a	32,09 $\pm$ 3,29 ^a	31,84 $\pm$ 1,23 ^a	28,22 $\pm$ 2,44 ^a	28,95 $\pm$ 0,63 ^a	33,92 $\pm$ 2,15 ^a	27,97 $\pm$ 1,98 ^a	0,012	4,30
18:2	14,99 $\pm$ 0,12 ^a	15,33 $\pm$ 0,96 ^a	16,46 $\pm$ 0,40 ^a	14,85 $\pm$ 0,72 ^a	14,32 $\pm$ 1,02 ^a	15,74 $\pm$ 0,41 ^a	12,52 $\pm$ 3,48 ^a	0,106	2,19
18:3 n6	0,10 $\pm$ 0,03 ^a	0,15 $\pm$ 0,04 ^a	0,22 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,01 ^a	0,25 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,06	0,006	4,99
18:3 n3	2,32 $\pm$ 0,11 ^a	2,14 $\pm$ 0,50 ^a	2,73 $\pm$ 0,21 ^a	2,49 $\pm$ 0,15 ^a	2,55 $\pm$ 0,22 ^a	2,50 $\pm$ 0,08 ^a	2,20 $\pm$ 0,36 ^a	0,194	1,70
20:00	0,57 $\pm$ 0,05 ^a	0,54 $\pm$ 0,21 ^a	0,74 $\pm$ 0,05 ^a	0,68 $\pm$ 0,05 ^a	0,70 $\pm$ 0,06 ^a	0,65 $\pm$ 0,27 ^a	0,64 $\pm$ 0,20 ^a	0,733	0,59
20:02	1,33 $\pm$ 0,14 ^a	1,69 $\pm$ 0,23 ^a	1,79 $\pm$ 0,23 ^a	1,61 $\pm$ 0,38 ^a	1,84 $\pm$ 0,03 ^a	1,61 $\pm$ 0,38 ^a	1,20 $\pm$ 0,57 ^a	0,208	1,64
22:00	0,72 $\pm$ 0,01 ^a	0,75 $\pm$ 0,14 ^a	0,91 $\pm$ 0,07 ^a	0,81 $\pm$ 0,10 ^a	0,93 $\pm$ 0,01 ^a	0,74 $\pm$ 0,31 ^a	0,79 $\pm$ 0,05 ^a	0,445	1,03
20:5 n3	3,17 $\pm$ 0,89 ^a	2,84 $\pm$ 1,16 ^a	3,09 $\pm$ 0,09 ^a	4,42 $\pm$ 0,80 ^a	3,50 $\pm$ 0,32 ^a	2,40 $\pm$ 1,62 ^a	3,92 $\pm$ 1,30 ^a	0,316	1,31
22:5 n6	0,23 $\pm$ 0,01 ^a	0,32 $\pm$ 0,01 ^a	0,28 $\pm$ 0,07 ^a	0,38 $\pm$ 0,04 ^a	0,37 $\pm$ 0,05 ^a	0,63 $\pm$ 0,46 ^a	0,48 $\pm$ 0,13 ^a	0,243	1,50
22:6 n3	10,23 $\pm$ 1,55 ^a	12,41 $\pm$ 0,92 ^a	10,38 $\pm$ 2,53 ^a	15,69 $\pm$ 1,86	14,51 $\pm$ 0,05 ^a	10,30 $\pm$ 1,66 ^a	16,40 $\pm$ 2,82	0,064	2,62
SFA	29,94 $\pm$ 0,27	30,52 $\pm$ 0,62	26,38 $\pm$ 0,18	26,79 $\pm$ 0,13	27,55 $\pm$ 0,16	26,77 $\pm$ 0,13	27,86 $\pm$ 0,41		
MUFA	37,69 $\pm$ 0,37	37,85 $\pm$ 1,04	37,93 $\pm$ 0,42	33,58 $\pm$ 0,51	35,11 $\pm$ 1,76	39,80 $\pm$ 0,80	32,54 $\pm$ 1,13		
PUFA	32,37 $\pm$ 0,40	31,63 $\pm$ 1,18	35,78 $\pm$ 0,51	39,63 $\pm$ 0,16	37,34 $\pm$ 0,24	33,43 $\pm$ 0,66	39,65 $\pm$ 2,23		

*Aynı satırda, kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnett, $p < 0,05$).

4.1.5.2. Karaciğer Dokusu Yağ Asidi Profili

Balıkların karaciğer dokusu yağ asidi analizi sonucunda, 16 yağ asidi tespit edildi. Doymuş yağ asitlerinden, miristik asit, pentadekanoik asit, palmitik asit, heptadekanoik asit, stearik asit, araşidik asit, behenik asit; Çoklu doymamış yağ asitlerinden, linoleik asit, gamma-linolenik asit, alfa-linolenik asit, araşidonik asit, eikosapentanoik asit (EPA), dokosapentanoik asit (DPA), dokosaheksanoik asit (DHA) ve tekli doymamış yağ asitlerinden; palmitoleik asit, oleik asit belirlenmiştir. Karaciğer dokusuna ilişkin grupların yüzde yağ asidi profili Tablo 4.5'te verildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olan düşük SFA değerleri belirlendi. MUFA, 1 ve 1,5 mg FA@MgNPs uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan farklılık; diğer gruplarda ise istatistiksel olarak anlamlı olan düşük MUFA değerleri gözlemlendi. Yüksek PUFA değerleri, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Tablo 4.5. Karaciğer dokusu % yağ asidi profili (ort. $\pm$ SEM) ve istatistiksel veriler

	Kontrol	Mg	FA	0,5 mg NPs	1 mg NPs	1,5 mg NPs	3 mg NPs	P Değeri	F Değeri
14:00	1,46 $\pm$ 0,22 ^a	1,19 $\pm$ 0,18 ^a	1,09 $\pm$ 0,13 ^a	1,17 $\pm$ 0,20 ^a	1,39 $\pm$ 0,49 ^a	1,14 $\pm$ 0,22 ^a	1,20 $\pm$ 0,10 ^a	0,554	0,85
15:00	0,26 $\pm$ 0,12 ^a	0,29 $\pm$ 0,08 ^a	0,32 $\pm$ 0,03 ^a	0,33 $\pm$ 0,00 ^a	0,34 $\pm$ 0,02 ^a	0,31 $\pm$ 0,06 ^a	0,32 $\pm$ 0,04 ^a	0,826	0,46
16:00	24,13 $\pm$ 0,76 ^a	19,27 $\pm$ 0,97	19,19 $\pm$ 1,67	19,17 $\pm$ 0,16	19,15 $\pm$ 1,15	20,18 $\pm$ 0,22	19,98 $\pm$ 0,42	0,000	11,56
16:1	2,87 $\pm$ 0,47 ^a	1,10 $\pm$ 0,23	1,05 $\pm$ 0,19	0,89 $\pm$ 0,28	0,77 $\pm$ 0,03	0,81 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,62	0,000	14,63
17:00	0,17 $\pm$ 0,07 ^a	0,16 $\pm$ 0,05 ^a	0,12 $\pm$ 0,07 ^a	0,15 $\pm$ 0,04 ^a	0,21 $\pm$ 0,10	0,31 $\pm$ 0,02 ^a	0,19 $\pm$ 0,05 ^a	0,085	2,38
18:00	7,47 $\pm$ 1,51 ^a	7,20 $\pm$ 0,49 ^a	6,82 $\pm$ 0,46 ^a	6,44 $\pm$ 1,03 ^a	6,72 $\pm$ 0,40 ^a	6,23 $\pm$ 0,85 ^a	6,67 $\pm$ 0,38 ^a	0,507	0,92
18:1	16,82 $\pm$ 0,88 ^a	16,99 $\pm$ 2,66 ^a	16,15 $\pm$ 0,57 ^a	15,81 $\pm$ 0,67 ^a	15,87 $\pm$ 0,99 ^a	18,33 $\pm$ 0,85 ^a	16,23 $\pm$ 0,86 ^a	0,258	1,47
18:2	6,09 $\pm$ 0,73 ^a	6,20 $\pm$ 0,7 ^a	6,66 $\pm$ 0,47 ^a	6,39 $\pm$ 1,15 ^a	7,75 $\pm$ 1,67 ^a	7,48 $\pm$ 0,20 ^a	6,45 $\pm$ 0,45 ^a	0,244	1,52
18:3 n6	0,36 $\pm$ 0,37 ^a	0,09 $\pm$ 0,01 ^a	0,10 $\pm$ 0,02 ^a	0,05 $\pm$ 0,00 ^a	0,08 $\pm$ 0,01 ^a	0,06 $\pm$ 0,02 ^a	0,06 $\pm$ 0,03 ^a	0,182	1,75
18:3 n3	0,62 $\pm$ 0,07 ^a	-	0,51 $\pm$ 0,09 ^a	0,51 $\pm$ 0,31 ^a	0,86 $\pm$ 0,43 ^a	1,23 $\pm$ 0,52 ^a	0,91 $\pm$ 0,25 ^a	0,006	5,01
20:00	0,53 $\pm$ 0,63 ^a	0,30 $\pm$ 0,38 ^a	0,67 $\pm$ 0,51 ^a	0,94 $\pm$ 0,13 ^a	0,25 $\pm$ 0,35 ^a	0,61 $\pm$ 0,80 ^a	0,69 $\pm$ 0,52 ^a	0,700	0,64
22:00	1,40 $\pm$ 0,46 ^a	1,25 $\pm$ 0,07 ^a	1,28 $\pm$ 0,09 ^a	1,15 $\pm$ 0,18 ^a	1,06 $\pm$ 0,8 ^a	1,02 $\pm$ 0,52 ^a	0,94 $\pm$ 0,56 ^a	0,703	0,63
20:4 n6	1,00 $\pm$ 0,10 ^a	1,00 $\pm$ 0,24 ^a	1,00 $\pm$ 0,17 ^a	0,83 $\pm$ 0,31 ^a	0,76 $\pm$ 0,15 ^a	0,78 $\pm$ 0,00 ^a	0,81 $\pm$ 0,54 ^a	0,791	0,51
20:5 n3	2,05 $\pm$ 0,54 ^a	2,32 $\pm$ 0,28 ^a	3,36 $\pm$ 0,38	2,48 $\pm$ 0,32 ^a	3,06 $\pm$ 0,72 ^a	3,11 $\pm$ 0,39 ^a	2,81 $\pm$ 0,79 ^a	0,065	2,62
22:5 n6	0,85 $\pm$ 0,16 ^a	0,81 $\pm$ 0,12 ^a	0,85 $\pm$ 0,12 ^a	0,70 $\pm$ 0,17 ^a	0,60 $\pm$ 0,09 ^a	0,53 $\pm$ 0,25 ^a	0,84 $\pm$ 0,04 ^a	0,097	2,27
22:6 n3	34,02 $\pm$ 0,65 ^a	41,85 $\pm$ 1,03	40,84 $\pm$ 1,18	43,08 $\pm$ 0,71	41,07 $\pm$ 0,49	37,87 $\pm$ 0,52	41,08 $\pm$ 1,50	0,000	32,16
SFA	35,42 $\pm$ 0,53	29,66 $\pm$ 0,31	29,49 $\pm$ 0,42	29,24 $\pm$ 0,24	29,18 $\pm$ 0,61	29,80 $\pm$ 0,38	29,99 $\pm$ 0,29		
MUFA	19,69 $\pm$ 0,67	18,09 $\pm$ 1,44	17,2 $\pm$ 0,38	16,70 $\pm$ 0,47	16,64 $\pm$ 0,51	19,14 $\pm$ 0,46	17,2 $\pm$ 0,74		
PUFA	44,89 $\pm$ 0,37	50,93 $\pm$ 0,34	53,31 $\pm$ 0,34	54,04 $\pm$ 0,42	54,18 $\pm$ 0,50	51,06 $\pm$ 0,27	52,96 $\pm$ 0,51		

*Aynı satırda kontrol grubuyla arasında fark bulunmayan gruplar “a” harfi ile gösterilmiştir (Dunnnett, $p < 0,05$).

4.2. Tartışma

4.2.1. UV-Visible Spektroskopi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

UV-Vis spektroskopisi, geniş bir organik bileşik grubunun yanı sıra bazı inorganik türler için de uygun, basit, ekonomik, esnek ve tahribatsız bir analitik yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu spektrometreler, ortamdan geçen ışığın dalga boyunun bir fonksiyonu olarak ışığın emilim veya geçirgenlik ölçümlerini gerçekleştirmektedir. Uv-vis spektroskopisi, katı ve toz halindeki materyallerin özelliklerini ölçmek için geliştirilmiş bir yöntem olup yüksek saçılma özelliğine sahiptir. Çok çeşitli disiplinlerde kullanılmakla beraber özellikle nanoteknoloji ve çevre mühendisliği gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Rocha vd., 2018).

Magnezyum oksit nanopartiküllerinin (MgO NP), elektronik yapısı ve optik özellikleri 200-700 nm aralığında Uv-vis spektroskopisi kullanılarak karakterize edilebilir (Jeevanandam vd., 2017; Kumar vd., 2021; Chandrasekar vd., 2022). Ferulik asidin metal çözeltisi ile karıştırılmasından kaynaklanan renk değişimi, nanopartiküllerin başarılı sentezini göstermektedir. Yeni renk oluşumunun meydana gelmesi klorürün indirgendiğini ve serbest kalan elektronu Mg^{+2} 'yi $Mg(OH)s$ 'ye indirmek için kullandığını göstermektedir (Amin vd., 2024). FA@MgNPs'lere ait SPR piki 288-324 nm aralığında geniş bir tepe noktasını göstermiştir. Bu sonuç, FA@MgNPs'lerin serbest yüzey elektronlarının gelen ışıkla tutarlı bir şekilde girmesinden kaynaklanmaktadır (Sharmila vd., 2025). Bu aralık literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur (Jeevanandam vd., 2017; Kumar vd., 2021; Chandrasekar vd., 2022; Amin vd., 2024; Ramaprabha vd., 2025; Sharmila vd., 2025;). SPR değerleri genellikle sentezlenen nanopartiküllerin şekli, büyüklüğü ve dağılımını etkiler. Bu bulgulara ilişkin Jeevanandam vd. (2017) tarafından elde edilen MgO-NP'lerin boyutlarının, maksimum $SPR \leq 300$ nm olduğunda küçük ve homojen, $SPR \geq 300$ olduğunda ise büyük ve heterojen olduğunu belirtmişlerdir. Bundan dolayı, mevcut çalışmada sentezlenmiş olan FA@MgNPs'lerin heterojen bir yapıya sahip olduğunu ve farklı boyutlarda partiküller içerdiğini göstermektedir. 288 nm'lik pik, küçük ve homojen partikülleri işaret ederken, 301 ve 324 nm'lik piklerin varlığı daha büyük ve heterojen partiküllerin de bulunduğunu düşündürmektedir.

4.2.2. FT-IR Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

FT-IR spektroskopisi, sentezlenen MgO nanopartiküllerinin indirgenmesi ve kaplanması için kullanılan saf trans ferulik asit ve nanopartiküllerin fonksiyonel gruplarını analiz etmek için kullanılmıştır (Chahardoli vd., 2022). Bu fonksiyonel gruplar, stabilizatör ajan ve elektron vericisi olarak nanopartiküllerin oluşumunda rol oynamaktadır. Mevcut çalışmada, FA'da bulunan ve sentez sürecine dahil olan organik moleküllerin birkaç piki sentezlenen FA@MgNPs'lerin fonksiyonel gruplara sahip olduğunu güçlü titreşim bantları ile göstermektedir. FA'nın diğer piklerinin yokluğu, düşük kararlılık davranışları nedeniyle organik moleküllerin sentez işlemi esnasında ayrışma yoluyla FA@MgNPs'den uzaklaştırıldığını ve metal oksidin kararlı inorganik ürünlerinin ise korunduğunu göstermektedir (Chahardoli vd., 2022). Bununla birlikte, 3232 cm^{-1} 'de görülen pik, hidroksil (O-H) gruplarına aittir. Bu pik, fenolik ve alifatik yapılardaki O-H gerilme titreşim bağları olarak bilinmektedir. Bu bulgu, önceki araştırmacıların bulgularıyla benzer olup 3200-3600 cm^{-1} arasındaki geniş bir spektrumun O-H gruplarını temsil ettiği belirtilmiştir (Kandiban vd., 2015; Umaralikhan ve Jamal Mohamed Jaffar, 2018; Kumar vd., 2021; Macit vd., 2023). 2989 cm^{-1} 'de görülen pik, C-H bağlarına atfedilmektedir. Bu sonuç, Zurita-Mápula vd. (2024), yaptığı çalışmayla benzer olup 2800-2600 cm^{-1} aralığındaki piklerin, hidrofobik zincirin C-H bağlarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Zurita-Mápula vd., 2024; Chahardoli vd., 2022). 1643 cm^{-1} 'de görülen pik, -C=C- gerilme titreşimlerini göstermektedir. Chahardoli vd. (2022) yaptıkları çalışmada, 1665 ve 1613 cm^{-1} 'de görülen bantların, -C=C- gerilmesini gösterdiğini belirtmişlerdir (Chahardoli vd., 2022). Baskar vd. (2013) yaptıkları çalışmada, 1538 ve 1675 cm^{-1} 'deki piklerin aromatik nitro bileşikler, amidlere ve açık zincirli amino gruplarına atfedildiğini ileri sürmüşlerdir (Baskar vd., 2013; Jeevanandam vd., 2017). 1066 ve 982 cm^{-1} 'de görülen pik, C-H, C-O veya C-C gruplarına ya da karbonhidratların gerilme titreşimlerine atfedilir.

Pugazhendhi vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, 1000 ve 1100 cm^{-1} 'deki bantları; C-H, C-O veya C-C gruplarına ya da karbonhidratların gerilme titreşimlerine atfedilmiştir (Pugazhendhi vd., 2019). Krishna vd. (2024) yaptıkları çalışmada, 1080 ve 823 cm^{-1} 'deki tepe noktalarını sırasıyla C-H, C-O ve C-C gruplarına ve karbonhidratların gerilme titreşimlerine ve aromatik gerilmeye atfetmişlerdir (Krishna vd., 2024). 595 cm^{-1} 'de

görülen pik, Mg ve O arasındaki bağın varlığını doğrulamaktadır. Sajid vd. (2024) yaptıkları çalışmada, Mg-O nanopartiküllerinin varlığını, 590 cm^{-1} 'de gözledikleri pik ile doğrulamıştır. Mevcut literatüre göre Mg ve O arasındaki bağın $470\text{-}670\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında bir uzama sergilediğini doğrulamaktadır (Jeevanandam vd., 2017; Sajid vd., 2024; Krishna vd., 2024; Ramaprabha vd., 2025).

Fonksiyonel grupların analizi, fitokimyasalların metal iyonlarını indirgeyerek nanopartikül oluşumunda ve stabilitesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bununla beraber, farklı indirgeyiciler, farklı sıcaklıklar, farklı konsantrasyonlar nanopartiküllerin oluşumunu etkilemektedir. Nanopartiküllerin morfolojisi ve boyutu, bu değişkenlerin öncüllerle etkileşimi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Mg-O nanopartiküllerin oluşumu için indirgeyici, stabilize edici ve kaplama maddesi olarak görev yapma potansiyeli olan biyoaktif fitokimyasalları belirlemek önemlidir (Makarov vd., 2014; Jeevanandam vd., 2017; Khodashenas ve Ghorbani, 2019).

4.2.3. XRD Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

FA@MgNPs'lerin XRD difraksiyon desenini gösteren Şekil 5.3'te görüldüğü gibi $2\theta = 18,82^\circ, 38,22^\circ, 50,98^\circ, 58,94^\circ, 62,26^\circ, 68,16^\circ, 72,42^\circ$ derecede gözlenen FA@MgNPs'lerin kırınım tepe noktaları sırasıyla; (001), (011), (012), (110), (111), (103) ve (201) düzlemleriyle ilişkilidir (ICSD code 064929) (Salman vd., 2021). XRD sonuçlarından, homojen kristalliği gösteren keskin tepe noktaları ve kübik yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlar mevcut literatürle uyumludur (Selvam vd., 2011; Salman vd., 2021) yaptıkları çalışmada, MgO NP sentezlemişler ve XRD analizini gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak, $2\theta = 18,58^\circ, 37,984^\circ, 50,815^\circ, 58,607^\circ, 62,045^\circ, 68,209^\circ, 71,996^\circ$ derecelerine karşılık gelen düzlemleri (001), (011), (012), (110), (111), (103) ve (201) olarak belirlemiştir. Bu düzlemler sırasıyla Å'de yaklaşık 4,771, 2,3669, 1,7953, 1,573, 1,494, 1,373, 1,310 d-aralığında ve iyi kristallik yapıda olduğunu belirtmişlerdir (Salman vd., 2021).

Selvam vd. (2011) yaptıkları çalışmada MgO NP sentezlemişler ve XRD analizi sonucunda, $2\theta = 36,70^\circ, 42,90^\circ, 62,30^\circ, 74,60^\circ, 78,61^\circ$ 'de gözlenen kırınım tepeleri ve

bunlara karşılık gelen düzlemleri (200), (220), (222), (311), (111) olarak verilmiş ve MgO NP'nin, kübik yapıda olduğunu belirtmişlerdir (Selvam vd., 2011).

4.2.4. Nanopartikül Boyutunun Hesaplanması

XRD Nanopartikül boyutunu hesaplamak için Debye-Scherrer formülü kullanılmıştır. XRD analizi kullanılarak yapılan teorik hesaplama sonucunda, ortalama nanopartikül boyutu yaklaşık 10,68 nm olarak bulunmuştur. Bulunan sonuç mevcut literatürle uyumludur (Selvam vd., 2011; Kannan vd., 2020; Salman vd., 2021).

4.2.5. SEM Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada sentezlenen FA@MgNPs nanopartiküllerinin kristalin yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durum, nanopartiküllerin düzenli bir yapıda olduğunu göstermektedir. Literatürde de benzer sonuçlar bildirilmiştir (Zeenath vd., 2024; Gurule vd., 2025; Ramaprabha vd., 2025). Mevcut çalışmanın bulguları, önceki çalışmalarla uyumlu olup, kullanılan sentez yönteminin başarılı olduğunu desteklemektedir.

4.2.6. EDX Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

EDX analizi sonucu, XRD sonuçlarıyla uyumlu olarak saf MgO NP'lerin oluşumunu doğruladı (Gurule vd., 2025). EDX analizi, en yüksek yüzdesine Mg'nin sahip olduğunu göstermektedir. C'nin varlığı hem indirgeyici hem de dengeleyici olarak kullanılan ferulik asitte bulunan moleküllerden kaynaklanmaktadır (Vergheese ve Vishal, 2018). EDX sonucunun literatürle uyumlu olduğu görülmektedir (Lokhande vd., 2002; Vergheese ve Vishal, 2018; Salih, 2024; Gurule vd., 2025; Ramaprabha vd., 2025).

4.2.7. TEM Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Sentezlenen FA@MgNPs'lerin, nanokristalitlerden oluştuğu görülmektedir. Ayrıca ImageJ programı kullanılarak yapılan ölçümlerde sonucunda FA@MgNPs'lerin yaklaşık 10,26 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Mevcut literatür incelendiğinde TEM

görüntülerinin benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır (Hu vd., 2007; Selvam vd., 2011; Patil vd., 2024).

4.2.8. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

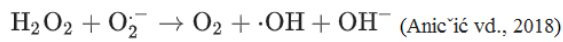
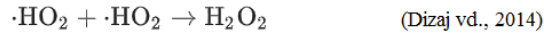
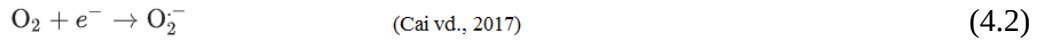
Elektrik yüzey yükünün bir ölçüsü olarak bilinen zeta potansiyeli, kolloidal sistemdeki nanopartiküllerin davranışı ve kararlılığı hakkında bilgi vermektedir (Yuan vd., 2022; Amin vd., 2024). Zeta potansiyel ölçümü, bir elektrik alanı uygulandığında nanopartiküllerin nasıl hareket ettiğine bağlıdır. Parçacığın yerel çevresi ve yüzey yükü bu hareketi etkilemektedir (Ramaprabha vd., 2025). Genel olarak ± 0 ve ± 10 mV aralığında zeta potansiyel değerlerine sahip sistemler oldukça kararsız kabul edilirken ± 10 ve ± 20 mV aralığındaki sistemler kararlı olarak kabul görmektedir. ± 20 ve ± 30 mV zeta potansiyel değerlerine sahip sistemler orta derece kararlı olarak sınıflandırılırken ± 30 mV'den büyük değerlere sahip sistemler son derece kararlı dispersiyonlar olarak kabul edilirler (Liu vd., 2022b; Amin vd., 2024). FA@MgNPs'lerin zeta potansiyeli 4,69 mV olarak belirlenmiştir (Şekil 5.7). Bu değer, FA@MgNPs'lerin biyolojik ortamlarla uyumlu olabileceğini ve aşırı elektrostatik etkileşimlerden kaynaklanabilecek hücresel toksisite önüne geçilebileceğini düşündürmektedir (Shao vd., 2015). Ayrıca, bu düzeydeki yüzey yükü, hücre zarlarının negatif yüküyle belirli düzeyde etkileşime girerek biyolojik hedeflere ulaşımını kolaylaştırabilir. Bu nedenle, elde edilen zeta potansiyel değeri biyolojik sistemlerle kontrollü etkileşim ve potansiyel biyoyumluluk açısından avantaj sağlayabilir (Shao vd., 2015; Zajac vd., 2023).

4.2.9. Antibakteriyel Aktivite Analizlerinin Değerlendirilmesi

Metal oksit nanopartiküllerin bakterileri etkileme mekanizmaları karmaşıktır. Nanopartiküllere atfedilen başlıca antibakteriyel mekanizmalar şu şekilde sınıflandırılır: (1) Nanoparçacıkların keskin kenarlarının hücre duvarı zarıyla elektrostatik etkileşimi sonucu bakteri hücre duvarında oluşan fiziksel hasar (Akhavan ve Ghaderi, 2010; Ramezani Farani vd., 2023), (2) karanlıkta bile ROS üretimi (Dutta vd., 2015; Lakshmi Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015; Ramezani Farani vd., 2023), (3) bakterilerin bir araya gelmiş nanomalzemelerde hapsolması (Lakshmi Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015), (4) oksidatif stres (Lakshmi Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015), (5) bakteriyel glikolizin

bozulması (Ramezani Farani vd., 2023), (6) DNA hasarı (Lakshmi Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015), (7) proteinlerin ve hücre yapısının bozulması, metal katyonların ve alkali etkilerin salınmasına ve etkileşimine yol açar (Wang vd., 2017; Abdel-Aziz vd., 2020; Ramezani Farani vd., 2023).

MgO malzemelerin antibakteriyel aktivitesi genel olarak, nanopartiküllerin boyutu, kimyasal bileşiklerin özgül yüzeyi alanı, kristallik derecesi, morfolojisi, yüzey oksijen boşlukları ve difüzyon kabiliyetleri gibi faktörlere bağlıdır ve faktörler MgO NP'lerin biyolojik sistemler için toksisitesine neden olur. Nanopartiküllerin bu özellikleri, ROS ile ilişkilendirilmektedir (Karthik vd., 2019; Demirci vd., 2021). MgO nanomalzemeler, yüksek yüzeyleri aracılığıyla bakterinin hücre zarıyla etkileşime girmektedir. Bakteri ile malzeme arasındaki bu etkileşimin artması, MgO'nun daha reaktif yüzey oksijen boşluklarına sahip olması nedeniyle bakteri büyümesini önlemektedir. MgO parçacıklarının yüzeyinde bulunan oksijen boşlukları, bakteri kaynaklı olan oksijeni (O_2) adsorbe eder ve ROS üretir (Şekil) (Demirci vd., 2021).



Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikalleri ($\cdot OH$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), bakteri hücrelerinde oksidatif strese neden olur. Güçlü oksidatif stres, onları yok etmek ve öldürmek için biyolojik sistemlerine zarar verir. Süperoksit anyon radikali ($\cdot O_2^-$), sırasıyla H^+ iyonları ile reaksiyona girerek hidroperoksit anyonunu (HO_2^-) oluşturur. Bu anyon, elektronlarla bir sonraki çarpışmada yeniden reaksiyona girerek hidrojen peroksit anyonlarına (HO_2^-) dönüşür. Hidrojen iyonları ile reaksiyona girerek biyolojik açıdan önemli olan hidrojen peroksit (H_2O_2) moleküllerini oluştururlar. Oluşan H_2O_2 , mikroorganizmaları yok etmek için deoksiribonükleik aside (DNA), hücre zarlarına ve hücre proteinlere nüfuz eder. Daha büyük ROS, daha küçük kristalit boyutları, yüksek

özgül yüzey alanı ve yüzey kusurlarındaki artış ile ilişkilidir (Raghunath ve Perumal, 2017; Thamilselvan vd., 2021; Demirci vd., 2021).

Karthik vd. (2019), mikrodalga destekli (M1) ve hidrotermal yöntemler kullanarak MgO nanoyapılarını sentezlemiş ve bakterisidal aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışmalarında, *E. coli*, *A. hydrophila*, *Shigella flexneri* (*S. flexneri*), *Salmonella typhi* (*S. typhi*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) ve *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*); gram-pozitif bakterilerden ise *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) ve *Rhodococcus rhodochrous* (*R. rhodochrous*) kullanılmıştır. Sonuç olarak, MgO'nun gram-negatif bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Özellikle, *A. hydrophila*'da, M1'de 24 mm ve M2'de 25 mm'lik inhibisyon zonu ve *E. coli*'de, M1'de 20 mm ve M2'de 24 mm'lik zon inhibisyonları olduğu belirtilmiştir (Karthik vd., 2019).

Radwan vd. (2024) yaptıkları çalışmada, yeşil sentez MgO NP'lerin ve deniz yosunu özütünün nil tilapyası (*Nile tilapia*) hastalık direncine etkisini karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Çalışmada sonunda, MgO NP'lerin, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı olağanüstü bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (Radwan vd., 2024).

Ramaprabha vd. (2025), biyosentezlenmiş MgO NP'lerin antibakteriyel etkisini araştırdıkları çalışmada gram-pozitif *S. aureus* ve gram-negatif bakteriler olan *Escherichia coli* ile *Pseudomonas aeruginosa* kullanılmıştır. Deneysel sonuçlar, MgO NP'lerin *E. coli*'ye karşı daha etkili olduğunu *S. aureus*'a karşı orta düzeyde bir antibakteriyel etki olduğunu göstermiştir (Ramaprabha vd., 2025).

Sonuç olarak; bakterisidal ajanlar, patojenik enfeksiyonların hızlı ve etkili bir şekilde iyileşmesini sağlamaları ve ilaçlara karşı direnç gelişimini en aza indirmeleri nedeniyle klinik alanlarda çok fazla tercih edilmektedir. Hem mevcut çalışmada elde edilen deneysel sonuçlar hem de literatürde bulunan araştırmalar MgO nanomalzemelerinin, geniş özgül yüzey alanı, kristalit boyutu ve morfolojisi gibi özelliklerinden dolayı test edilen patojenlere karşı güçlü ve karşılaştırılabilir antibakteriyel aktivite etki gösterdiğini doğrulamaktadır (Karthik vd., 2017; Revathi ve Karthik, 2018; Karthik vd., 2019; Radwan vd., 2024; Ramaprabha vd., 2025).

4.2.10. Kas Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Balıklarda iskelet kası, vücut kütlesinin önemli bir bölümünü (%40-60) oluşturur ve büyüme hızı su ürünleri yetiştiriciliği açısından kritik bir faktördür (Johnston vd., 2011). Mekanik ve metabolik işlevleri nedeniyle kas büyümesi ve gelişimi karmaşık düzenleyici mekanizmalara bağlıdır. Bu süreçte GH ve IGF eksen, kas büyümesinin başlıca endokrin düzenleyicileri olarak önemli bir rol oynar (Sáez-Arteaga vd., 2024). Kas dokusuna ait GH-I ve IGF-I gen ekspresyonu sonuçlarına göre, tüm nanopartikül gruplarında bu genlerin ifadesinde artış belirlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olan en yüksek gen regülasyonu 0,5 mg FA@MgNPs grubunda saptanmıştır ($p < 0,05$). Nanopartikül dozu arttıkça gen ifadesindeki artışta, 0,5 mg FA@MgNPs grubuna göre azalma olduğu belirlenmiştir. Buna rağmen, bu dozlardaki ekspresyon değerleri kontrol grubuna göre hâlâ anlamlı derecede yüksektir. Bu durum, düşük dozda GH-1 geninin uyarıldığı, ancak daha yüksek dozlarda geri bildirim mekanizmaları veya toksik etkiler nedeniyle ekspresyonun kısmen baskılandığı şeklinde yorumlanabilir (Zhang vd., 2023). Ayrıca literatürde bildirilen uygun dozlarda Mg'nin bağırsak sindirim enzimlerini ve besin emilimini destekleyerek yem değerlendirme kapasitelerini artırdığı, dolayısıyla büyümeyi teşvik edebileceği yönündeki bulgularla uyumludur (Wang vd., 2011; Zhang vd., 2016; Srinivasan vd., 2017; Zhang vd., 2023). Bununla birlikte yüksek doz FA@MgNPs verilen gruplarda gen ekspresyon ifadesinin 0,5 mg FA@MgNPs uygulama grubuna göre düşmüş olması fazla Mg'nin gastrointestinal fonksiyonları bozabileceğini ve besin emilimini olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir (Zhang vd., 2023). Benzer şekilde, sarı yayın balığı ve sazan üzerine yapılan araştırmalarda da uygun Mg seviyeleri sunulduğunda büyüme hızının arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca farklı türlerin Mg ihtiyaçlarının da farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Dabrowska vd., 1991; Kandeepan, 2013; Wei vd., 2017; Zhang vd., 2023). Türle göre farklılığın sebebi; beslenme alışkanlıkları, yem türlerine bağlı olması (Antony Jesu Prabhu vd., 2016) ve diğer Mg kaynaklarıyla karşılaştırıldığında MgO NP'lerinin daha küçük boyutu ve bağırsak duvarına daha kolay emilimi nedeniyle yüksek bir biyoyararlanıma sahip olmasıdır (Zhang vd., 2016; Deilamy Pour vd., 2021).

Zhang vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, MgO NP'lerin farklı dozlarının (0, 60, 120, 240, 480, 960 ve 1920 mg/kg) çipura (*Megalobrama amblycephala*)'nın büyüme performansı, gen ekspresyonu ve metabolik parametreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Balıklar, bu dozları içeren yemlerle 12 hafta boyunca beslenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular, MgO NP takviyesinin belirli dozlarda (120-140 mg/kg) büyümeyi teşvik edebileceğini ancak aşırı miktarların olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermektedir. Çalışmada özellikle 120-140 mg/kg MgO NP ile beslenen gruplarda büyüme performansının en yüksek olduğu belirlenmiştir (Zhang vd., 2023). Thabet vd. (2021), karabalığın (*Clarias gariepinus*) diyetine 0,02 ve 0,04 mg/kg dozlarında MgO nanoparçacıkları ekleyerek, 15, 30, 45 ve 60. günlerde biyokimyasal ve fizyolojik etkilerini incelemiştir. MgO uygulamasının büyüme performansı açısından, her iki grupta da kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında belirgin bir artış olduğu tespit edilmiştir (Thabet vd., 2021). Srinivasan vd. (2017) tarafından, tatlı su karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) larvalarına 90 gün boyunca diyetle verilen MgO NP'lerin, 500 mg/kg'lık optimum konsantrasyonda verilmesinin ardından genel sağlık, büyüme performansı ve bağışıklık üzerinde yararlı etkileri bildirilmiştir (Srinivasan vd., 2017).

4.2.11. Kas Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Kas dokusu, yoğun metabolik aktiviteleri nedeniyle reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine maruz kalır ve bu durum oksidatif strese yol açabilir. Bu nedenle kas hücreleri oksidatif hasarı önlemek için antioksidan enzimlere ihtiyaç duyar (Sáez-Arteaga vd., 2024). SOD, CAT ve GPX enzimleri ROS'u nötralize etmek için aynı hedef doğrultusunda çalışırlar. SOD, süperoksit (O_2^-) radikallerini (hidrojen peroksit (H_2O_2)) çevirerek sürecin ilk aşamasını yönetir. CAT, SOD tarafından üretilen H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalar ve oksidatif stresin etkilerini azaltır. GPX ise H_2O_2 ve diğer peroksitleri suya ve alkollere indirger (Irato ve Santovito, 2021; Kumar vd., 2023).

Mevcut çalışmadaki veriler; SOD, CAT ve GPX'in ROS'u nötralize etmek için aynı doğrultuda çalıştıklarını desteklemektedir. Ancak antioksidan enzimlerin artışı ya da azalması her zaman ROS birikiminin olduğu anlamına gelmez. Hücreler, düşük seviyeli bir stres uyarısına maruz kaldığında antioksidan enzimlerin gen ifadesini artırarak bir adaptasyon geliştirir. Bu hücrenin daha ciddi oksidatif hasara karşı korunmasını sağlayabilir. Mevcut çalışmada, 0,5 mg uygulama grubunda belirlenen yukarı gen

regülasyonunu açıklamaktadır. 1,5 ve 3 mg FA@MgNPs uygulama gruplarında, SOD, GPX ve GST genlerinin yukarı regülasyonu, hücrelerin nanopartiküller tarafından indüklenen oksidatif strese karşı bir yanıtı olarak değerlendirilebilir. Bu enzimlerin ekspresyonunun artması, hücrelerin artan ROS seviyelerini dengelemek amacıyla antioksidan savunma mekanizmalarını harekete geçirdiğini gösterir. Ancak antioksidan gen ekspresyonundaki artış her zaman istenmeyen bir durum olarak değerlendirilmemelidir. Düşük veya orta düzeydeki ROS artışı, hücrelerde adaptif yanıtı tetikleyerek savunma mekanizmalarını güçlendirebilir (Saygılı vd., 2021).

GSH, detoksifikasyon ve antioksidan savunma mekanizmalarının kritik süreçlerinde rol oynayan, tek sistein kalıntısına sahip, enzimatik olmayan bir tripeptit ve antioksidandır. Serbest radikal temizleme ve GSH ile ilişkili enzimler (GPX, GST, GR) için kofaktör görevi gördüğünden ROS'a karşı savunmada hücrel savunmada en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Verma vd., 2007; Fırat ve Kargın, 2021). GR gen seviyesinin, 1 ve 1,5 mg FA@MgNPs gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olan aşağı regülasyon, hücrelerin oksidatif stresle başa çıkma kapasitesinin düştüğünü ve GSH/GSSG dengesinin bozulmuş olabileceğini düşündürmektedir (Srikanth vd., 2013). 0,5 ve 3 mg FA@MgNPs gruplarında ise istatistiksel olarak önemli yukarı regülasyon gözlenmiştir. GR ifadesindeki bu artış, hücrelerin daha fazla GSH sentezlemeye ve redoks dengesini korumaya çalıştığını düşündürmektedir. Bu durum, hücrelerin oksidatif strese maruz kaldığını ve ROS artışını göstermektedir (Kovárová ve Svobodová, 2009; Srikanth vd., 2013). GST, ksenobiyotiklerin GSH ile konjugasyonunu katalizyolerek oksidatif strese karşı balık dokularını koruyan önemli bir detoksifikasyon enzimi grubunu oluşturur (Luo vd., 2006). Mevcut çalışmada GST gen ifadesinde, FA ve 1 mg FA@MgNPs uygulama gruplarında aşağı; diğer gruplarda ise yukarı regülasyon olduğu gözlenmiştir. GST balıkların toksik maddelere karşı savunma mekanizmalarında merkezi bir enzim olduğundan dolayı, GST gen ifadesindeki bu artış, hücrelerin oksidatif strese veya toksik bileşiklere karşı savunma mekanizmasını aktive ettiğini gösterir. GST ifadesinin artması, hücrenin adaptif bir tepki olarak oksidatif hasarı önlemeye yönelik bir strateji olduğunu da ifade etmektedir (Luo vd., 2006).

4.2.12. Karaciğer Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Karaciğer, birçok fizyolojik sürecin merkezinde yer alan kritik bir organdır. Bu süreçler arasında, büyüme sinyal yollarının kontrolü ve makro besin metabolizması da yer almaktadır (Trefts vd., 2017). Balıklarda büyüme sürecinde doğrudan rol oynayan GH ve IGF; kas, yağ ve kemik dokusu üzerinde etkili olmaktadır. GH, IGF ile bağlantılı olarak çalışmaktadır. GH, hipofiz bezinden salgılanır ve karaciğerde bulunan spresifik reseptörlere bağlanarak etkilerini bu reseptörler üzerinden gerçekleştirir. Aynı şekilde Karaciğer IGF-I ekspresyonu güçlü bir şekilde GH'ye bağımlıdır. Dolayısıyla, karaciğerde IGF-I üretimi büyük ölçüde GH varlığına bağlıdır. GH olmazsa IGF-I ekspresyonu belirgin bir şekilde azalır (Yowe ve Epping, 1995; Balkis vd., 2024). Mevcut tez çalışmasında karaciğer dokusunda GH geni; 1,5 ve 3 mg NPs uygulaması yapılan gruplarda, GH ifadesinin arttığı; 0,5 ve 1 mg NPs uygulaması yapılan gruplarda ise GH ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. Kaydedilen değerler aşağıdaki durumlarla ilikilendirilebilir:

- (a) Nanomalzemelerin elektriksel özellikleri, bağırsak emiliminin yüzey alanını artırarak besin verimliliğini iyileştirebilir (Swain vd., 2016; Swain vd., 2019).
- (b) FA@MgNPs'lerin antibakteriyel etkisi, bağışıklık sistemini güçlendirerek büyüme performansını artırabilir (Mishra vd., 2014). Ayrıca Mg; büyüme, protein sentezi, sinir sistemi ve gastrointestinal sistem fonksiyonlarında katılan birçok enzim ve protein için kofaktör olarak görev almaktadır (El-Badawy vd., 2022; Akimbekov vd., 2024).

Karaciğer dokusunda IGF-I gen ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi sonucunda, FA@MgNPs uygulanan tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla gen ifadesinde artış eğilimi gözlemlenmiştir. Özellikle 3 mg FA@MgNPs uygulama grubunda elde edilen anlamlı artış ($p < 0,05$), bu dozun IGF-I gen ekspresyonunu en fazla uyarıcı etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Magnezyum grubunda da gen ifadesi belirgin şekilde yükselmiş, bu bulgu magnezyumun büyüme ve metabolik süreçlerdeki düzenleyici rolünü destekler niteliktedir. IGF-I, somatik büyümenin temel düzenleyici hormonlarından biridir ve karaciğer, bu hormonun primer sentez bölgesidir. Dolayısıyla, karaciğer dokusunda gözlenen bu artışlar, FA@MgNPs'nin endokrin sistem üzerindeki biyolojik etkilerini yansıtmaktadır. FA'nın antioksidan özelliklerinin hücrel stres düzeyini

azaltarak gen ekspresyonunu dolaylı olarak desteklemiş olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, uygun dozda uygulanan magnezyumun büyümeyi desteklediği ve IGF-I ifadesini artırabileceği bildirilmiştir (Zhang vd., 2016; Srinivasan vd., 2017). Bu çalışma, özellikle yüksek doz FA@MgNPs uygulamasının karaciğerde IGF-I ekspresyonunu maksimum düzeyde artırabildiğini ortaya koyarak, nanoparçacık dozunun biyolojik yanıtı olan etkisinin altını çizmektedir.

4.2.13. Karaciğer Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonlarını önleyen veya azaltan, hücresel hasarı geciktiren ya da engelleyen ve ROS kaynaklı organ hasarını önlemede hayati bir rol oynayan temel moleküller olarak kabul edilir (Devi vd., 2015). CAT ve SOD, antioksidan sistemlerde ilk savunma hattı olarak bilinirler (Irato ve Satovito, 2021; Kumar vd., 2023). Mevcut çalışmada CAT geni karaciğer dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 0,5 ve 1 mg FA@MgNPs gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı regülasyon olduğu; 1,5 ve 3 mg FA@MgNPs gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir aşağı regülasyon gözlenmiştir ($p < 0,05$). Benzer şekilde yapılan bazı araştırmalarda, CAT'in metal konsantrasyonlarına tepkisi bildirilmiştir. Bazı organizmalarda gen ifadesi artarken, bazılarında ise düşük gen ifadesi göstermiştir (Regoli vd., 1998; Lee vd., 2012; Diniz vd., 2013; Tajü vd., 2014). Lee vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, 25 ve 50 µg/L gümüş nanopartikül (Ag NP) maruziyetinin, sazan balıklarının karaciğer CAT seviyesinde azalma gözlemlenirken Ag NP konsantrasyonunun (100 ve 200 µg/L) artmasıyla CAT ekspresyonunda artış olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2012). Başka bir çalışmada ise karaciğer dokusundaki CAT ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı olan bir azalma olduğu bildirilmiştir (Diniz vd., 2013). Ruas vd. (2008)'in bildirdiği rapora göre CAT aktivitesindeki azalma toksik maddelerin bağlanması, enzimlerin -SH grupları, yükselen H₂O₂ ve süperoksit radikalinden kaynaklanabilir (Ruas vd., 2008). Tajü vd. (2014)'nin raporuna göre, farklı dozlarda nanopartiküllere maruz kalan sazanların, daha düşük konsantrasyonlarda CAT aktivitesinde önemli bir fark gözlenmezken daha yüksek konsantrasyonlarda CAT aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla yüksek derecede azaldığı gözlenmiştir (Tajü vd., 2014). SOD geninin karaciğer dokusundaki ekspresyon düzeyi incelendiğinde; Mg, FA, 1 ve 1,5 mg FA@MgNPs gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı regülasyon tespit edilmiştir. 0,5 ve 3 mg FA@MgNPs ise istatistiksel olarak

anlamalı bir aşağı regülasyon olduğu gözlenmiştir. 0,5 mg FA@MgNPs grubunda meydana gelen istatistiksel olarak üçüncü dereceden zayıf aşağı regülasyon, ROS üretiminden kaynaklanıyor olabilir. Bu durum SOD'un inaktif hale gelmesine ve dolayısıyla ROS birikimine yol açmış olabilir (Devi vd., 2015), Karaciğer dokusu GST geninde, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olan yukarı regülasyon gözlenmiştir. FA@MgNPs gruplarında doza bağımlı olarak artış olduğu belirlenmiştir. GST ifade seviyelerindeki artış, FA@MgNPs'lerden kaynaklanan toksik etkileri ve oksidatif stresi ortadan kaldırma girişimini gösterebilir (Johari vd., 2016). Çalışmamıza benzer şekilde, Pham vd. (2012) araştırmalarında, nanopartikül maruziyetinin GST indüksiyonuna neden olduğunu belirtmiştir (Pham vd., 2012; Johari vd., 2016). Chae vd. (2009), AgNP'lere maruz kalmanın Japon medekası karaciğerinde GST ifadesinin arttığını gözlemlemiştir (Chae vd., 2009; Johari vd., 2016).

GPX, hidrojen peroksitleri indirgeyerek ROS'a karşı etkili bir savunma sağlamaktadır (Fırat ve Kargın, 2021). Mevcut çalışmada, gökkuşağı alabalığı karaciğer dokusunda 3 mg FA@MgNPs grubunda GPX gen ekspresyonunda gözlenen yukarı regülasyonun, artan doza bağlı olarak toksik etkilere karşı bir yanıt oluşturduğu ve oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, Radwan vd. (2024), yeşil sentez yöntemi kullanarak ürettikleri MgO NP'lerin nil tilapyası üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, GPX, SOD ve CAT seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli bir artış gösterdiğini belirtmiştir (Radwan vd., 2024).

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında, tripeptit GSH (γ -glutamat-sistein-glisin (γ -Glu-Cys-Gly)), ROS ve/veya ROS hasarının neden olduğu ürünlere karşı önemli bir hücresel savunma olarak kabul edilir. GSH'nin metallerin çoğuna karşı güçlü bir afinite gösterdiği ve en yaygın bilinen -SH'lerin (GSH'nin aktif bölgesinde bulunan, sülfhidril (tiyol) grubu), birincil işlevi aşırı miktarda metali hapsedmek ve hücreleri toksisiteden korumak olan indirgenmiş GSH/oksidlenmiş glutatyon disülfürdür (GSSG) (Kovárová ve Svobodová, 2009; Srikanth vd., 2013). GR ve GSSG, enzimatik olmayan savunmada önemli bir rol oynar. GSH'nin GSSG'ye dönüşümü serbest radikallerle nonenzimatik olarak gerçekleşir. GSH indirgenmiş ve GSSG'nin oksidlenmiş formunda bulunur. Bundan dolayı yüksek GSH/GSSG oranı, oksidatif strese işaret eden hücre içi redoks

durumunun bir göstergesi olarak kabul edilir (Kovárová ve Svobodová, 2009; Srikanth vd., 2013). GR, GSSG'yi önemli bir hücrel antioksidan olan GSH'ye indirger (Mannervik, 1987; Srikanth vd., 2013) ve hücrelerdeki ROS'u temizleyen iki indirgenmiş GSH molekülü elde edilir. Mevcut çalışmada, FA@MgNPs gruplarında doza bağlı olarak artmış olan GR ifade seviyeleri; metal maruziyeti gibi stres faktörlerine karşı bir detoksifikasyon mekanizmasının devreye girdiğini de gösterebilir (Srikanth vd., 2013).

4.2.14. Böbrek Dokusu GH-I ve IGF-I Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

GH, fizyolojik etkilerini doğrudan doğrudan ya da dolaylı olarak IGF'ler üzerinden uygular (Reinecke, 2010). IGF-I büyüme ve gelişmede rol oynayan bir hormondur. Karaciğer, dolaşımdaki IGF-I'nin ana üretim merkezi olup bu süreç genellikle GH tarafından düzenlenir. Bununla birlikte, IGF-I yalnızca karaciğerde değil aynı zamanda otokrin/parakrin mekanizmalarla etki edebileceği böbrek, beyin, solungaçlar gibi çeşitli dokularda da eksprese edilir (Reinecke, 2010). Karaciğer IGF-I ekspresyonu büyük ölçüde GH'ya bağlıyken; böbrekte IGF-I ekspresyonu GH tarafından kısmen düzenlense de tamamen ona bağlı değildir (Lupu vd., 2001). Mevcut çalışmada GH geninin ekspresyonu, FA@MgNPs gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 3 mg grubunda yukarı regülasyon; diğer gruplarda ise aşağı regüle olduğu belirlenmiştir. IGF-I ifadesinin, kontrol grubuna göre yalnızca 1 mg FA@MgNPs grubunda aşağı regüle olduğu, diğer gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı regülasyon gözlenmiştir. Böbrek dokusunda azalan GH seviyelerine rağmen IGF-I seviyelerinde aynı oranda düşüş kaydedilmemiş olması, IGF-I ekspresyonunun GH'den bağımsız yollarla da düzenlenebileceği (Lupu vd., 2001) bilgisiyle uyumludur. Bu durum, GH seviyelerinin azalmasına rağmen, bazı dokularda IGF-I üretiminin diğer faktörler veya lokal düzenleyici mekanizmalar tarafından artırılabilirliğini gösterir. Bu da GH ve IGF-I arasındaki ilişkiyi daha karmaşık hale getirebilir ve bu hormonların dokuya özgü etkilerini yeniden şekillendirebilir (Lupu vd., 2001; Reinecke, 2010).

4.2.15. Böbrek Dokusu Antioksidan Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Antioksidanlar; hücrede, DNA, lipid, protein gibi oksidasyona uğrayabilecek bileşikler serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyabilen veya etkilerini azaltabilen maddeler

olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallere, elektron transferi yaparak hücresel düzeyde oluşabilecek hasarı önler. Antioksidan mekanizmalar genel olarak dört şekilde etki göstermektedir. Bunlar: (a) Temizleme etkisi, ROS'u etkisiz hale getirerek tutulmalarını sağlar ya da onları daha zayıf moleküllere çevirerek zararsız hale getirir. Bunun için CAT, SOD, GPX, GR ve GST gibi antioksidan sistem enzimlerini kullanır. (b) Baskılama etkisi, oksidanlara hidrojen aktararak onları nötralize eder ya da reaksiyon hızlarını azaltır. (c) Onarma etkisi, ROS'un yol açtığı hasarın onarılmasını sağlar. (d) Zincir koparma etkisi, ROS'ları bağlayarak reaksiyonlarını ve işlevlerini engeller (Valko vd., 2007; Aslankoç vd., 2019). SOD, CAT ve GPx'in hücresel işlevleri, SOD katalizli reaksiyonun bir ürünü olan H_2O_2 'nin CAT ve GPx tarafından katalizlenen reaksiyonlar için substrat görevi görmesi nedeniyle birbirleriyle ilişkilidir.

SOD ve CAT, yabancı maddeler tarafından indüklenen serbest radikallere karşı birincil savunma hattını oluşturur. GST ve GR ise redoks dengesizliğinin başlıca biyobelirteçleridir (Irato ve Satovito, 2021; Kumar vd., 2023). Hücresel antioksidan mekanizmalarda hayati rol oynayan bir enzim olan CAT, peroksizomlarda bulunur ve oksidatif stresi önlemek ve hücre homeostazını korumak için H_2O_2 'yi O_2 'ye indirger (Irato ve Satovito, 2021; Kumar vd., 2023). Mevcut çalışmada böbrek dokusunda CAT geni, Mg ve FA uygulaması yapılan gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olan bir aşağı regülasyon belirlenmiştir. FA@MgNP uygulama gruplarında ise doza bağımlı istatistiksel olarak anlamlı olan yukarı regülasyon olduğu gözlenmiştir. CAT seviyesindeki artış, hücrenin yüksek düzeyde H_2O_2 'ye maruz kaldığını ve bu toksik bileşiğin detoksifikasyonunu hızlandırarak oksidatif stresi dengelemeye çalıştığını düşündürmektedir. SOD gen ifadesi değerlendirildiğinde, Mg, 0,5, 1,5 ve 3 mg FA@MgNPs uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yukarı regülasyon olduğu; FA ve 1 mg gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan aşağı regülasyon olduğu tespit edilmiştir. GPX gen ekspresyon seviyelerinde, 1 mg FA@MgNPs uygulama grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olmayan, diğer uygulama gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı yukarı regülasyon olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, CAT ve GPX seviyelerindeki artış, H_2O_2 'nin detoksifikasyonunun hızlandığını düşündürmektedir. GR ve GST genleri diğer genlerle benzer şekilde doza bağımlı olarak yukarı regülasyon olduğu belirlenmiştir. Antioksidan savunmadaki bu artış, hücreleri serbest radikal hasarından korumak için antioksidan aktiviteleri

destekleyen artan ROS oluşumundan kaynaklanıyor olabilir (Torres vd., 2002; Shobana vd., 2018).

4.2.16. Enzim Aktivitesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Magnezyum, temel bir mineral olarak çok sayıda enzimatik ve metabolik reaksiyonda yardımcı faktör olarak rol oynar (Zhang vd., 2016). Tüm hayvanlar, vücut içinde oluşan oksidasyonla mücadele etmek ve oksidatif hasarı önleyerek sağlığı korumak için fizyolojik antioksidan koruma mekanizmalarını içeren sistemlere sahiptir. Bu koruma hem eksojen hem de endojen kökenli, su ve yağda çözünebilir çeşitli kimyasal sistemleri kapsar (Zhang vd., 2016). Normal metabolizma, ROS üretimine karşı koruyucu faktörlerin aktivitesi arasındaki dengeye bağlıdır (Mourente vd., 2002; Zhang vd., 2016).

Normal koşullar altında balıklar hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları geliştirerek bir yanıt oluşturmaktadır. Bu mekanizmalar arasında, CAT, SOD, GPX, GR ve GST gibi enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler aracılığıyla ROS'un kontrolsüz şekilde oluşumu engellenir (Trenzado vd., 2009; Zhang vd., 2016; Fırat ve Kargın, 2021). Mevcut çalışmada, antioksidan enzimlerin aktivite değerleri kontrol grubuna göre, kas, karaciğer ve böbrek dokularında, SOD, CAT, GPX, GR ve GST aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu belirlenmiştir. Bazı gruplarda artışlar bazı gruplarda ise azalmalar kaydedilmiştir. Fakat bu artış ve azalışlar dozların artması veya azalmasıyla doğru orantılı bir şekilde meydana gelmemiştir. Genel olarak, kontrol grubu ile benzer veya yüksek aktivite düzeyleri tespit edilmiştir. Bu durum, FA@MgNPs'lerin kullanılan doz ve maruz kalma süresi altında belirgin bir oksidatif stres yanıtı oluşturmadığını düşündürmektedir. Sonuçlarımıza benzer şekilde, Srinivasan vd. (2017), MgO NP'lerin büyümeyi destekleyici potansiyelini inceledikleri çalışmalarında, CAT ve SOD aktivitelerinde önemli bir değişiklik kaydedilmediğini bildirmişlerdir (Srinivasan vd., 2017). Literatür incelendiğinde bazı çalışmalarda MgO NPs'lerin oksidatif stres ve buna bağlı olarak antioksidan yanıtı artırdığı rapor edilmiştir (Zhang vd., 2016). Bunların yanı sıra bazı çalışmalarda ise, antioksidan enzim aktivitelerinin düştüğü veya önemli olmayan yükselmelerin olduğu rapor edilmiştir (Zhang vd., 2023; Hussain vd., 2025). Bu durum, enzim aktivite artışının/azalışının,

uygulama dozu, süresi, tür, yaş veya NP'lerin boyut, şekil gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olduğunu göstermektedir.

Enzim aktivitesi ve gen ekspresyonu analizlerine ilişkin elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde, bu iki parametre arasında hem benzerlikler hem de farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. Bazı genlerin mRNA düzeylerindeki artmalar veya azalmaların, enzim aktiviteleriyle paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, transkripsel regülasyonun enzim düzeyine doğrudan yansıdığını düşündürmektedir (Işık vd., 2023). Ancak bazı genlerde bu ilişki belirgin olmamıştır. Bu durum, enzim aktivitesinin düzenlenmesinde, gen ekspresyonunun tek başına belirleyici faktör olmadığına, post-translasyonel düzenlemelerin ve protein stabilitesinin veya farklı mekanizmaların da önemli rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabilir (Nadif vd., 2005). Literatürde benzer şekilde, bazı çalışmalarda gen ekspresyonu ile enzim aktivitesi arasında doğrudan bir ilişki gözlenmediği ve bu durumun bazı karmaşık hücresel düzenleyici mekanizmaların sonucu olduğu vurgulanmaktadır (Nadif vd., 2005; Yang vd., 2021; Işık vd., 2023). Bu kapsamda elde edilen bulgular, genetik düzeydeki değişikliklerin biyolojik fonksiyonlara etkisini değerlendirirken çok katmanlı yaklaşımların gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

4.2.17. Kas ve Karaciğer Dokuları Yağ Asidi Profillerinin Değerlendirilmesi

Balıklar, yağları genellikle kas ve karaciğer dokularında depolar. Depolanan yağların bir bölümü, balığın fizyolojik durumuna bağlı olarak ihtiyaç duyulan bölgelere taşınır. Özellikle karaciğer, yağların depolanması ve dönüşümünde temel bir rol üstlenir (Kaçar ve Başhan, 2022). Yağlar ve ana bileşenleri olan yağ asitleri, proteinlerle beraber balıkların esas organik bileşenlerinden bir tanesidir. Bu bileşenler, fizyoloji ve yaşam döngüsü için gereken metabolik enerjinin kaynağıdır. Bununla beraber, uzun zincirli yüksek doymamış olan omega-3 (ω -3) yağ asitleri, üstlendikleri hayati fizyolojik işlevleri nedeniyle hayvan ve insan beslenmesinde büyük öneme sahiptir (Balçık Mısır, 2014).

Balıkların yağ asidi profilleri üzerinde cinsiyet, beslenme ortamı ve suyun yapısı gibi pek çok biyotik ve abiyotik faktör etkili olmaktadır (Christiansen vd., 1989; Yılmaz, 1995; Aras vd., 2002). Ayrıca araştırmalar besinlerle alınan yağların aynı balığın farklı dokularında bile yağ asidi içeriğinde önemli farklılıklar olabileceğini ortaya koymuştur

(Haliloğlu, 2001; Okumuş, 2000; Aras vd., 2002). Yağların depolanması balık türlerine göre değişmektedir bunun yanı sıra kas ve karaciğer dokusu dahil olmak üzere farklı dokularda depolanabilir (Weil vd., 2013; Laurent vd., 2025). Araştırmamızda hem kas hem de karaciğer dokusundaki yağ asitleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, genel olarak düşük SFA ve MUFA'ya karşı yüksek PUFA değerleri belirlendi. PUFA değerlerinin yüksek olması kas lipid ve besin bileşenlerinin kalitesini ayrıca FA@MgNPs'lerin bu yağ asidi seviyelerinin korunmasına yardımcı olduğunu göstermektedir (Srinivasan vd., 2017; Keva vd., 2019; Laurent vd., 2025). Ayrıca FA@MgNPs uygulama gruplarının genelinde tespit edilen değerli yağ asitlerinin (ω -3 ve ω -6) yüksek düzeyde bulunması, FA@MgNPs'nin hayvan beslenmesinde fonksiyonel bir yem katkı maddesi olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

ω -3 ve ω -6 gibi esansiyel yağ asitlerinin varlığı, hayvan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturabilir; büyüme performansının artırılması, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, yemden yararlanmanın iyileştirilmesi gibi katkılar sağlayabilir. Bu bağlamda değerlendirildiğinde, elde edilen bulgular tasarlanan nanomalzemenin yalnızca enerji kaynağı olmanın yanı sıra kaliteli bir besin takviyesi olarak da hayvansal üretim sistemlerinde kullanılabileceğine işaret etmektedir. Çalışmamızla benzer şekilde Srinivasan vd. (2017), diyet MgO NP'lerin nehir karidesi (*Macrobrachium rosenbergii*) post-larvalarının büyüme, sağ kalım ve yağ asidi profillerini inceledikleri çalışmalarında, beşi SFA, ikisi MUFA ve dördü PUFA olmak üzere on bir farklı yağ asidi tespit etmişler. Test grubundaki karideslerde SFA, MUFA ve PUFA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek ($p < 0,05$) olduğu bildirilmiştir.

Bu sonuçların, MgO NP'leri ile yapılan takviyelerin karideslerin yağ asidi kompozisyonunu zenginleştirdiğini ve özellikle temel enerji kaynaklarını artırarak büyüme ve metabolik aktiviteler üzerinde olumlu etkiler sağlayabileceğini bildirmişlerdir (Srinivasan vd., 2017).

Biyolojik mikroçevrede bulunan serbest yağ asitleri, canlı organizmaların fizyolojik yapıları gereği çeşitli biyomoleküllerle etkileşim halindedir. Bu bağlamda, çevresel veya diyet kaynaklı olarak sisteme giren nanoparçacıklar, bu serbest yağ asitleriyle karşılaşarak onların etkisiyle biyolojik davranışlarını değiştirebilir (Jiang vd., 2019). Bu

etkileşim, nanoparçacıkların yüzey özelliklerinde değişikliklere yol açarak; hücre zarına bağlanma, hücre içine alınma ve doku hedeflemesi gibi süreçleri etkileyebilir. Ayrıca, serbest yağ asitleri nanoparçacıkların hücre içi taşınımını ve hücresel stres yanıtlarını da dolaylı olarak değiştirebilir. Bazı yağ asitlerinin nanoparçacıklarla kurduğu bu etkileşim, hücrelerdeki antioksidan savunma, inflamasyon ve metabolik yanıtlar gibi biyolojik süreçleri modüle edebilir. Bu da nanoparçacıkların biyolojik etkilerinin yalnızca kendi kimyasal özelliklerine değil, bulundukları biyolojik ortamın bileşimine de bağlı olduğunu göstermektedir (Jiang vd., 2019; Yang vd., 2021). Bu çerçevede yetiştiricilik ürünü alabalıkların, nanopartiküller gibi çevresel faktörlerden etkilenmesi, balıkların yağ asidi kompozisyonu ve genel metabolik faaliyetleri üzerinde değişikliklere sebep olabilir. Alabalıklar, metabolik hızları yavaş olan ve uzun dönemde besin tüketimine bağlı yağ asidi kompozisyonu değişimlerini yavaşça gösteren canlılardır (Srinivasan vd., 2017; Keva vd., 2019).

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, yeşil sentez metodu kullanılarak sentezlenen FA@MgNPs'lerin gökkuşağı alabalığında çeşitli biyolojik parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizi, bu NP'lerin, balık sağlığını tehdit eden bazı patojen mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu göstermiştir. Gen ekspresyonu analizleri GH-I ve IGF-I genlerinin ifade düzeylerindeki artış, bu NP'lerin, büyüme performansı üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Antioksidan sistemde görev alan, antioksidan enzim aktivitelerinde kontrol grubu ile benzer ya da hafif artışlar gözlenmiştir. Bu da FA@MgNPs'nin, çalışmada kullanılan doz ve sürelerde belirgin bir oksidatif stres oluşturmadığını, dolayısıyla biyolojik olarak tolere edilebilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yağ asidi profilindeki değişim, balık etinin besin değeri potansiyelinin iyileşmesinde de katkısı olabileceğine işaret etmektedir.

Bu doğrultudaki önerilerimiz:

- FA@MgNPs'nin uzun dönemli etkilerini değerlendirmek amacıyla kronik maruziyet çalışmaları yapılmalıdır. Özellikle farklı yaşam evrelerinde (larva, juvenil, ergin) etkileri karşılaştırılmalıdır.
- Gen ekspresyon düzeyleri ile enzim aktivitesi arasındaki farklar göz önünde bulundurularak, post-translasyonel modifikasyonlar, protein stabilitesi ve metabolik yanıtlar detaylı olarak araştırılmalıdır.
- FA@MgNPs'nin büyüme, bağışıklık yanıtı, üreme performansı ve dokularda birikim düzeyi gibi daha geniş fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri çalışılmalıdır.
- FA@MgNPs gibi nanomalzemelerin su ürünleri yetiştiriciliğinde fonksiyonel yem katkısı olarak kullanımı teşvik edilebilir; ancak bu kullanım öncesinde ekotoksikolojik ve gıda güvenliği açısından risk değerlendirmeleri tamamlanmalıdır.

KAYNAKLAR

Abdel-Aziz, M. M., Emam, T. M. and Elsherbiny, E. A. (2020). Bioactivity of magnesium oxide nanoparticles synthesized from cell filtrate of endobacterium *Burkholderia rinojensis* against *Fusarium oxysporum*. *Materials Science and Engineering: C*, 109, 110617.

Abd El-Kader, M. F., El-Bab, A. F. F., Shoukry, M., Abdel-Warith, A. W. A., Younis, E. M., Moustafa, E. M., ... and Dawood, M. A. (2020). Evaluating the possible feeding strategies of selenium nanoparticles on the growth rate and wellbeing of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 18, 100539.

Aras, N. M., Haliloğlu, H. İ. ve Atamanalp, M. (2002). Balıklarda yağ asitlerinin önemi. *Research in Agricultural Sciences*, 33(3).

Arslan, G. ve Yıldız, P. O. (2021). Türkiye su ürünleri sektörüne genel bakış. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 7(1), 46-57.

Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... and Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.

Askari Hesni, M., Hedayati, S. A., Qadermarzi, A., Pouladi, M., Zangi Abadi, Z. and Naghshbandi, N. (2020). Application of iron oxide nanoparticles in the reactor for treatment of effluent from fish farms. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(3), 1319-1328.

Altav, Y., Baş, A. L., Erci, F. ve Kocabaş, E. (2019). Veteriner hekimlikte nanoteknoloji. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 149-156.

Alak, G., Sönmez ve Y. Hisar, O. (2011). Bazı pestisitlerin balıkların antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 42 (1), 91-93.

Ahmadifar, E., Moghadam, M.S., Dawood, M.A.O. and Hoseinifar, S.H. (2019). *Lactobacillus fermentum* and/or ferulic acid improved the immune responses, antioxidative defence and resistance against *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Fish Shellfish Immunol*, 94, 916-923. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.019>.

Amin, M. A. A., Abu-Elsaoud, A. M., Nowwar, A. I., Abdelwahab, A. T., Awad, M. A., Hassan, S. E. D., ... and Elkelish, A. (2024). Green synthesis of magnesium oxide nanoparticles using endophytic fungal strain to improve the growth, metabolic activities, yield traits, and phenolic compounds content of *Nigella sativa* L. *Green Processing and Synthesis*, 13(1), 20230215.

- Amoah, K., Yan, X., Liu, H., Pan, S., Li, T., Suo, X., ... and Dong, X. (2022). Substituting fish meal with castor meal in diets of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂): Effects on growth performance, immune response, antioxidant and digestive enzyme activities, gut morphology, and inflammatory-related gene expression. *Fish & Shellfish Immunology*, 131, 181-195.
- Antony Jesu Prabhu, P., Schrama, J. W. and Kaushik, S. J. (2016). Mineral requirements of fish: a systematic review. *Reviews in Aquaculture*, 8(2), 172-219.
- Akimbekov, N. S., Coban, S. O., Atfi, A. and Razzaque, M. S. (2024). The role of magnesium in pancreatic beta-cell function and homeostasis. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1458700.
- Akhavan, O. and Ghaderi, E. (2010). Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria. *ACS nano*, 4(10), 5731-5736.
- Aksakal, E., Ceyhun, S. B., Erdoğan, O., and Ekinçi, D. (2010). Acute and long-term genotoxicity of deltamethrin to insulin-like growth factors and growth hormone in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 152(4), 451-455.
- Ateş, M. (2018). Nanoparçacıkların ölçme ve inceleme teknikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11(1), 63-69.
- Bao, S. T., Liu, X. C., Huang, X. P., Guan, J. F., Xie, D. Z., Li, S. A. and Xu, C. (2022). Magnesium supplementation in high carbohydrate diets: Implications on growth, muscle fiber development and flesh quality of *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture Reports*, 23, 101039.
- Baskar, G., Chandhuru, J., Fahad, K. S. and Praveen, A. S. (2013). Mycological synthesis, characterization and antifungal activity of zinc oxide nanoparticles. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 3(4), 142-146.
- Balkis, E. Caf, F. ve Kaya, B. (2024). Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Büyüme Hormonu Ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörünün Etkinlikleri, Ziraat Orman ve Su Ürünleri Alanında Uluslararası Araştırmalar X. ed. İsmail Ukav. *Eğitim Yayınevi 1*, 123-136
- Balçık Mısıır, G. (2014). Balıklarda lipidler, yağ asitleri ve bunların bazı önemli metabolik fonksiyonları. *Aquaculture Studies*, (1), 51-61.
- Bami, M. L., Kamarudin, M. S., Saad, C. R., Arshad, A. and Ebrahimi, M. (2017). Effects of canarium fruit (*Canarium odontophyllum*) oil as a dietary lipid source for juvenile mahseer (*Tor tambroides*) performance. *Aquaculture Reports*, 6, 8-20.
- Bayğu, G. (2020). Cimin üzümü yaprağı kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartikülünün genotoksik etkisinin kanat benek testi ile belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi *Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi*

- Bawazeer, S., Rauf, A., Shah, S. U. A., Shawky, A. M., Al-Awthan, Y. S., Bahattab, O. S., ... and El-Esawi, M. A. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Tropaeolum majus*: Phytochemical screening and antibacterial studies. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 85-94.
- Benli, M. ve Yiğit, N. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 3, 1-8.
- Beykaya, M. ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Biswas, P., Polash, S. A., Dey, D., Kaium, M. A., Mahmud, A. R., Yasmin, F., ... and Hasan, M. N. (2023). Advanced implications of nanotechnology in disease control and environmental perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 158, 114172.
- Chahardoli, A., Hosseinzadeh, L., Shokoohinia, Y., and Fattahi, A. (2022). Production of rutile titanium dioxide nanoparticles by trans-ferulic acid and their biomedical applications. *Materials Today Communications*, 33, 104305.
- Chandrasekar, M., Subash, M., Perumal, V., Panimalar, S., Aravindan, S., Uthrakumar, R., ... and Kaviyarasu, K. (2022). Specific charge separation of Sn doped MgO nanoparticles for photocatalytic activity under UV light irradiation. *Separation and Purification Technology*, 294, 121189.
- Chae, Y. J., Pham, C. H., Lee, J., Bae, E., Yi, J. and Gu, M. B. (2009). Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic toxicology*, 94(4), 320-327.
- Chen, Z., Dinh, H. N., Miller, E., Chen, Z., Deutsch, T. G., Dinh, H. N., ... and Turner, J. (2013). UV-vis Spectroscopy *Photoelectrochemical water splitting: standards, experimental methods, and protocols*, 49-62.
- Christiansen, J. S., Ringø, E. and Jobling, M. (1989). Effects of sustained exercise on growth and body composition of first-feeding fry of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture*, 79(1-4), 329-335.
- Christie, W. W. (1992). Gas chromatography and lipids. *The Oil Press Glasgow*, 302.
- Ciftci, M., Simsek, U. G., Yuce, A., Yilmaz, O. and Dalkilic, B. (2010). Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, 79(1), 33-40.
- Çakmak, E., Özel, O. T., Batır, E. ve Evin, D. (2024). Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) endüstrisinde yeni bir yaklaşım:" Türk Somonu" üretim ve pazarlama eğilimleri. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41(1), 69-81.

Çakmakçı, S. ve Tahmas-Kahyaoğlu, D. (2012). Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkilerine genel bir bakış. *Akademik Gıda*, 10(1), 103-113.

Çelikkale, S. (1994). İç su balıkları yetiştiriciliği (2. Basım). *K.T.Ü.Basımevi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi*, 1(2), Trabzon, s. 419.

Çiftçi, H., Çalışkan, Ç. E. ve Öztürk, K. (2021). Yeşil yöntemle sentezlenen biyoaktif nanopartiküller. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 4(1), 29-42.

Dabrowska, H., Meyer-Burgdorff, K. H. and Gunther, K. D. (1991). Magnesium status in freshwater fish, common carp (*Cyprinus carpio*, L.) and the dietary protein-magnesium interaction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 9, 165-172.

Dağlıoğlu, Y. (2018). Nanopartikül karakterizasyon yöntemleri ve ekotoksikite deneylerindeki önemi. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 30(1), 1-17.

Davidson, M. B. (1987). Effect of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. *Endocrine reviews*, 8(2), 115-131.

Dawood, M. A., Metwally, A. E. S., El-Sharawy, M. E., Ghazlan, A. M., Abdel-Latif, H. M., Van Doan, H. and Ali, M. A. 2020. The influences of ferulic acid on the growth performance, haemato-immunological responses, and immune-related genes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to heat stress, *Aquaculture*, 525, 735320.

De Azevedo Figueiredo, M., Lanes, C. F. C., Almeida, D. V., Proietti, M. C. and Marins, L. F. (2007). The effect of GH overexpression on GHR and IGF-I gene regulation in different genotypes of GH-transgenic zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2(3), 228-233.

Deilamy Pour, H., Mousavi, S. M., Zakeri, M., Keyvanshokoo, S. and Kochanian, P. (2021). Synergistic effects of selenium and magnesium nanoparticles on growth, digestive enzymes, some serum biochemical parameters and immunity of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Biological Trace Element Research*, 199(8), 3102-3111.

Demirci, S., Yildirim, B. K., Tünçay, M. M., Kaya, N. and Güllüoğlu, A. N. (2021). Synthesis, characterization, thermal, and antibacterial activity studies on MgO powders. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 99(3), 576-588.

Devi, G. P., Ahmed, K. B. A., Varsha, M. S., Shrijha, B. S., Lal, K. S., Anbazhagan, V. and Thiagarajan, R. (2015). Sulfidation of silver nanoparticle reduces its toxicity in zebrafish. *Aquatic toxicology*, 158, 149-156.

Dikel, S. ve Demirkale, İ. (2023). Su ürünleri yetiştiriciliğinde teknoloji kullanımı ve çevresel etkileri. *İktisad Yayınevi*, 5-22. DOI: <https://dx.doi.org/10.528/zenodo.10122987>.
Dönmez, A. E. (2023). Su ürünleri aşılarında nanoparçacıklar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 34(1), 121-128.

Diniz, M. S., De Matos, A. P. A., Lourenço, J., Castro, L., Peres, I., Mendonça, E. and Picado, A. (2013). Liver alterations in two freshwater fish species (*Carassius auratus* and

Danio rerio) following exposure to different TiO₂ nanoparticle concentrations. *Microscopy and Microanalysis*, 19(5), 1131-1140.

Dutta, T., Sarkar, R., Pakhira, B., Ghosh, S., Sarkar, R., Barui, A. and Sarkar, S. (2015). ROS generation by reduced graphene oxide (rGO) induced by visible light showing antibacterial activity: comparison with graphene oxide (GO). *RSC advances*, 5(98), 80192-80195.

Erçen, Z. (2023). Su ürünleri yetiştiriciliğinde teknoloji kullanımı ve çevresel etkileri/Sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliğinde nanoteknolojik gelişmeler. Bölüm 3. *İktisad Yayınevi*, 49-67. DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10123022>.

El-Badawy, A. S., Hassaan, M. S., Abdel-Hameid, N. A. H., El-Ezaby, M. M. and El-Serafy, S. (2022). Synergistic effects between dietary zinc form supplementation and dietary protein levels on performance, intestinal functional topography, hemato-biochemical indices, immune, oxidative response, and associated gene expression of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Biological trace element research*, 1-17.

El-Gogary, R. I., Nasr, M., Rahsed, L. A. and Hamzawy, M. A. (2022). Ferulic acid nanocapsules as a promising treatment modality for colorectal cancer: Preparation and in vitro/in vivo appraisal. *Life sciences*, 298, 120500.

Emin, N. ve Mutlu, E. (2024). Akgöl Gölet Havzasının (Sinop-Ayancık) Su Kalitesinin Yerinde Analizlerle Tespiti ve Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(3), 243-252.

Eid, M. M. (2022). Characterization of Nanoparticles by FTIR and FTIR-Microscopy. In *Handbook of Consumer Nanoproducts*. 1-30.

FAO, (2024). The state of world fisheries and aquaculture. towards blue transformation. Son Erişim Tarihi: 23.11.2024.

Fardood, S. T., Ramazani, A. and Joo, S. W. (2018). Eco-friendly synthesis of magnesium oxide nanoparticles using arabic Gum. *J. Appl. Chem. Res*, 12(1), 8-15.

Faisal, S., Abdullah, Jan, H., Shah, S. A., Shah, S., Rizwan, M., ... and Masood, R. (2021). Bio-catalytic activity of novel *Mentha arvensis* intervened biocompatible magnesium oxide nanomaterials. *Catalysts*, 11(7), 780.

Federici, G., Shaw, B. J. and Handy, R. D. (2007). Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic toxicology*, 84(4), 415-430.

Flores-Morales, A., Greenhalgh, C. J., Norstedt, G., and Rico-Bautista, E. (2006). Negative regulation of growth hormone receptor signaling. *Molecular endocrinology*, 20(2), 241-253.

Fırat, Ö. ve Kargın, F. (2021). Glutasyon ile İlişkili Enzim Sistemleri Kullanılarak *Oreochromis niloticus*' ta Cıva Toksisitesi Üzerine Antioksidan Olarak Selenyum ve

Mineral Olarak Zeolitin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. *Acta Aquatica Turcica*, 17(3), 306-316.

Filipponi, L. and Sutherland, D. (2012). Nanotechnologies: Principles, Applications, Implications and Hand-on Activities. Edited: by the European Commision NMP Programme, 2012, European Union, Luxemburg.

Gan, W., Zhang, R., Cao, Z., Liu, H., Fan, W., Sun, A., ... and Shi, X. (2024). Unveiling the hidden risks: Pesticide residues in aquaculture systems. *Science of The Total Environment*, 929, 172388.

Gatlin Delbert, M. III, Robinson, E. H., Poe, W. E. and Wilson, R. P. (1982). Magnesium requirement of fingerling channel catfish and signs of magnesium deficiency. *The Journal of nutrition*, 112(6), 1182-1187.

Gao, X., Wang, J., Wang, Y., Liu, S., Dong, K., Wu, J., ... and Guo, C. (2022). Fucoidan-ferulic acid nanoparticles alleviate cisplatin-induced acute kidney injury by inhibiting the cGAS-STING pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 223, 1083-1093.

Ghanbary, K., Firouzbakhsh, F., Arkan, E. and Mojarab, M. (2022). The effect of *Thymra spicata* hydroalcoholic extract loaded on chitosan polymeric nanoparticles on some growth performances, hematology, immunity, and response to acute stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 548, 737568.

Govindasamy, B. (2024). Multifaceted toxicity assessment of Au, Ag, and TiO₂ nanoparticles synthesized by quorum quenching bacterium *Salmonella bongori*: Impact on bacterial pathogens, cancer cells, mosquitoes, zebrafish, and brine shrimp. *Process Safety and Environmental Protection*, 189, 960-976.

Gurule, A. C., Gaikwad, S. S., Kajale, D. D., Shinde, V. S., Jadhav, G. R. and Gaikwad, V. B. (2025). Synthesis of magnesium oxide nanoparticles via hydrothermal and sol-gel methods: Charaterization and their application for H₂S and NO₂ gas sensing. *Journal of the Indian Chemical Society*, 102(1), 101496.

Hara, A. and Radin, N. S. (1978). Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, 90(1), 420-426.

Haliloğlu, H. İ. (2001). Farklı işletmelerde yetiştirilen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 'nın kas ve adipoz dokuları ile karaciğer ve gonadlarındaki yağ asidi profillerinin belirlenmesi. (Doktora Tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Erzurum.

Hsu, C. M., Yu, S. C., Tsai, F. J. and Tsai, Y. (2019). Characterization of *in vitro* and *in vivo* bioactivity of a ferulic acid-2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 180, 68-74.

Hussain, R., Naz, S., Alam, S., Ali, H. M., Ali, A., Khan, M. S., ... and Li, K. (2025). Temporal and dosage impact of magnesium oxide nanoparticles on *grass carp*: unveiling

oxidative stress, DNA damage, and antioxidant suppression. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 35(1), 19-31.

Hu, J., Zhu, K., Chen, L., Kübel, C. and Richards, R. (2007). MgO (111) nanosheets with unusual surface activity. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(32), 12038-12044.

Ukav, İ. (2023). Türkiye su ürünleri dış ticareti. *Econharran*, 7(11), 16-22.

Umaralikhan, L. and Jamal Mohamed Jaffar, M. (2018). Green synthesis of MgO nanoparticles and it antibacterial activity. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 42, 477-485.

Ighalo, J. O. ve Adeniyi, A. G. (2020). A comprehensive review of water quality monitoring and assessment in *Nigeria*. *Chemosphere*, 260, 127569.

Irato, P. ve Santovito, G. (2021). Enzymatic and non-enzymatic molecules with antioxidant function. *Antioxidants*, 10(4), 579.

Işık, M., Tunç, A., Duran, H. E., Naldan, M. E., Yılmaz, A., Koçak, M. N. ve Beydemir, Ş. (2023). Evaluation of the relationship among gene expressions and enzyme activities with antioxidant role and presenilin 1 expression in Alzheimer's disease. *Journal of cellular and molecular medicine*, 27(21), 3388-3394.

Iwuozor, K. O., Ighalo, J. O., Ogunfowora, L. A., Adeniyi, A. G. and Igwegbe, C. A. (2021). An empirical literature analysis of adsorbent performance for methylene blue uptake from aqueous media. *Journal of environmental chemical engineering*, 9(4), 105658.

Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H. and Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 53, 101174.

Jassal, P. S., Kaur, D., Prasad, R. and Singh, J. (2022). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles: Development and applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, 100361.

Jeay, S., Sonenshein, G. E., Postel-Vinay, M. C., Kelly, P. A. and Baixeras, E. (2002). Growth hormone can act as a cytokine controlling survival and proliferation of immune cells: new insights into signaling pathways. *Molecular and cellular endocrinology*, 188(1-2), 1-7.

Jeevanandam, J., San Chan, Y. and Danquah, M. K. (2017). Biosynthesis and characterization of MgO nanoparticles from plant extracts via induced molecular nucleation. *New Journal of Chemistry*, 41(7), 2800-2814.

Johnston, I. A., Bower, N. I. and Macqueen, D. J. (2011). Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 214(10), 1617-1628.

- Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Lee, S. B., Dong, M. S. and Yu, I. J. (2016). Silver nanoparticles affects the expression of biomarker genes mRNA in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Clinical Pathology*, 25, 85-90.
- Johansen, K. A. and Overturf, K. (2005). Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Biotechnology*, 7(6), 576-587.
- Jiang, M., Wu, B., Sun, Y., Ding, Y., Xie, Y., Liu, L. and Cao, Y. (2019). Toxicity of ZnO nanoparticles (NPs) to THP-1 macrophages: interactions with saturated or unsaturated free fatty acids. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(4), 291-299.
- Kaçar, S. ve Başhan, M. (2022). *Cyprinus carpio* Karaciğer Dokusu Yağ Asidi İçeriğinin Mevsimsel Değişimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 12(1), 66-81.
- Karabulut, H. A. ve Yandı, İ. (2006). Su Ürünlerindeki Omega-3 Yağ Asitlerinin Önemi ve Sağlık Üzerine Etkisi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(3), 339-342.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karaca, E. ve Aytaç, S. (2007). Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), 123-131.
- Karthik, K., Dhanuskodi, S., Gobinath, C., Prabukumar, S. and Sivaramakrishnan, S. (2017). Photocatalytic and antibacterial activities of hydrothermally prepared CdO nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 28, 11420-11429.
- Karthik, K., Dhanuskodi, S., Gobinath, C., Prabukumar, S. and Sivaramakrishnan, S. (2019). Fabrication of MgO nanostructures and its efficient photocatalytic, antibacterial and anticancer performance. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190, 8-20.
- Kamarudin, M. S., Ramezani-Fard, E., Saad, C. R. and Harmin, S. A. (2012). Effects of dietary fish oil replacement by various vegetable oils on growth performance, body composition and fatty acid profile of juvenile Malaysian mahseer, *Tor tambroides*. *Aquaculture Nutrition*, 18(5), 532-543.
- Kandiban, M., Vigneshwaran, P. and Potheher, I. V. (2015, January). Synthesis and characterization of MgO nanoparticles for photocatalytic applications. In *department of physics, Bharathidasan institute of technology (BIT) Campus, Anna University, Tiruchirappalli, Tamilnadu, India, conference paper 3*, 941-947.
- Kannan, S., Subiramaniam, N. P. and Sathishkumar, M. (2020). A novel green synthesis approach for improved photocatalytic activity and antibacterial properties of zinc sulfide nanoparticles using plant extract of *Acalypha indica* and *Tridax procumbens*. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(12), 9846-9859.

Kandeeban, C. (2013). Dietary Magnesium Requirement of *Cyprinus carpio* VAR. Communis. *Indian Journal Of Natural Sciences International Bimonthly ISSN*, 976, 0997.

Kaya D. ve Genç, E. (2022). Türkiye’de alabalığın son yirmi yıldaki üretimi ve sorunları. 6. Ulusal Alabalık Sempozyumu, Murat Manav. (9), Isparta, s.17.

Keva, O., Tang, P., Käkälä, R., Hayden, B., Taipale, S. J., Harrod, C. and Kahilainen, K. K. (2019). Seasonal changes in European whitefish muscle and invertebrate prey fatty acid composition in a subarctic lake. *Freshwater Biology*, 64(11), 1908-1920.

Korkmaz, M. (2023). Balık türlerinin model organizma olarak kullanımı. *Türkiye Klinikleri Medical Biology-Special Topics*, 1(1), 97-103.

Kovárová, J. and Svobodová, Z. (2009). Can thiol compounds be used as biomarkers of aquatic ecosystem contamination by cadmium?. *Interdisciplinary toxicology*, 2(3), 177.

Kutluyer, F. ve Aksakal, E. (2013). Sucul model organizmalar ve biyoteknolojide kullanımı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(2), 101-107.

Kutluyer, F., Sirkecioglu, A., Aksakal, E., Aksakal, F., Tunç, A. and Gunaydin, E. (2017). Effect of dietary fish oil replacement with plant oils on growth performance and gene expression in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science*, 17(4).

Kumar, N. and Pruthi, V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*, 4, 86-93.

Kumar, N. and Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology reports*, 24, e00370.

Kumar, S. A., Jarvin, M., Sharma, S., Umar, A., Inbanathan, S. S. R. and Lalla, N. P. (2021). Facile and green synthesis of MgO nanoparticles for the degradation of victoria blue dye under UV irradiation and their antibacterial activity. *ES Food & Agroforestry*, 5, 14-19.

Kumar, S. A., Jarvin, M., Sharma, S., Umar, A., Inbanathan, S. S. R. and Lalla, N. P. (2021). Facile and green synthesis of MgO nanoparticles for the degradation of victoria blue dye under UV irradiation and their antibacterial activity. *ES Food & Agroforestry*, 5, 14-19.

Kumar, M., Singh, S., Jain, A., Yadav, S., Dubey, A. and Trivedi, S. P. (2023). A review on heavy metal-induced toxicity in fishes: Bioaccumulation, antioxidant defense system, histopathological manifestations, and transcriptional profiling of genes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 127377.

Kimura, T. and Takamatsu, J. (2015). Ferulic Acid and *Angelica archangelica* extract in Dementia: Effects on cognitive functions and behavioral and psychological symptoms of

Dementia. In *Diet and Nutrition in Dementia and Cognitive Decline*, 993-1001, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407824-6.00092-6>.

Khan, H., Yerramilli, A. S., D'Oliveira, A., Alford, T. L., Boffito, D. C. and Patience, G. S. (2020). Experimental methods in chemical engineering: X-ray diffraction spectroscopy—XRD. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 98(6), 1255-1266.

Khodashenas, B. and Ghorbani, H. R. (2019). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1823-1838.

Krishna, B. V., Rao, P. T., Lakshmi, B. D., Vasudha, K., Basha, S. E., Kumar, B. P., ... and Ramachandra, R. K. (2024). Green fabrication of tinospora cordifolia-derived MgO nanoparticles: Potential for diabatic control and oxidant protection. *Next Materials*, 3, 100171.

Lakshmi Prasanna, V. and Vijayaraghavan, R. (2015). Insight into the mechanism of antibacterial activity of ZnO: surface defects mediated reactive oxygen species even in the dark. *Langmuir*, 31(33), 9155-9162.

Lee, B., Duong, C. N., Cho, J., Lee, J., Kim, K., Seo, Y., ... and Yoon, J. (2012). Toxicity of citrate-capped silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *BioMed Research International*, (1):262670.

Lokhande, C. D., Sankapal, B. R., Mane, R. S., Pathan, H. M., Muller, M., Giersig, M. and Ganesan, V. (2002). XRD, SEM, AFM, HRTEM, EDAX and RBS studies of chemically deposited Sb₂S₃ and Sb₂Se₃ thin films. *Applied Surface Science*, 193(1-4), 1-10.

Laurent, J., Le Grand, F., Bideau, A., Le Berre, I., Le Floch, S., Pichereau, V., and Laroche, J. (2025). Fatty acid analysis in an estuarine fish species to assess the health status of hydrosystems impacted by eutrophication and multistressors. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 319, 109279.

Li, D., Rui, Y. X., Guo, S. D., Luan, F., Liu, R. and Zeng, N. (2021). Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. *Life sciences*, 284, 119921.

Lin, Y. H., Ku, C. Y. and Shiau, S. Y. (2013). Estimation of dietary magnesium requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, reared in freshwater and seawater. *Aquaculture*, 380, 47-51.

Liu, Y., Beyer, A. and Aebersold, R. (2016). On the dependency of cellular protein levels on mRNA abundance. *Cell*, 165(3), 535-550.

Liu, X., Jiang, S., Liu, B., Zhou, Q., Sun, C., Zheng, X. and Han, Y. (2022a). Dietary effect of ferulic acid on growth performance, physiological response, non-specific immunity and disease resistance of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*), *Aquaculture Reports*, 24, 101162.

Liu, Z., Fu, R. and Yuying, Y. (2022b). Preparation and evaluation of stable nanofluids for heat transfer application. *Advances in Nanofluid Heat Transfer*, 25-57.

Luo, Y., Su, Y., Lin, R. Z., Shi, H. H. and Wang, X. R. (2006). 2-Chlorophenol induced ROS generation in fish *Carassius auratus* based on the EPR method. *Chemosphere*, 65(6), 1064-1073.

Lupu, F., Terwilliger, J. D., Lee, K., Segre, G. V. and Efstratiadis, A. (2001). Roles of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mouse postnatal growth. *Developmental Biology*, 229(1), 141-162.

Mahboob, S. (2013). Environmental pollution of heavy metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Life Science. Journal*, 10, 336-347.

Macit, C. K., Özel, C. ve Gürgeç, T. (2023). Sol-Jel Yöntemiyle sentezlenen magnezyum oksit ve kadmiyum oksit nanoparçacıkların yapısal ve morfolojik özelliklerinin incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 35(2), 911-922.

Maier, J. A., Castiglioni, S., Locatelli, L., Zocchi, M. and Mazur, A. (2021). Magnesium and inflammation: Advances and perspectives. *In Seminars in Cell & Developmental Biology*, (115), 37-44.

Maradze, D., Capel, A., Martin, N., Lewis, M. P., Zheng, Y. and Liu, Y. (2019). In vitro investigation of cellular effects of magnesium and magnesium-calcium alloy corrosion products on skeletal muscle regeneration. *Journal of Materials Science & Technology*, 35(11), 2503-2512.

Marouzi, S., Sabouri, Z. and Darroudi, M. (2021). Greener synthesis and medical applications of metal oxide nanoparticles. *Ceramics International*, 47(14), 19632-19650.

Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliany, M. E. and Kalinina, N. O. (2014). "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)), 35-44.

Mannervik, B. (1987). The enzymes of glutathione metabolism: an overview. *Biochemical Society Transactions*, 15(4), 717-718.

Mavaei, M., Chahardoli, A., Shokoohinia, Y., Khoshroo, A. and Fattahi, A. (2020). One-step synthesized silver nanoparticles using isoimperatorin: evaluation of photocatalytic, and electrochemical activities. *Scientific Reports*, 10(1), 1762.

Mercan, L., Sirkecioğlu, N., Aksakal, E., Bayır, M., Bayır, A., Aras, M. and Ekin, D. (2013). Goose fat, a promising nutrient for fish feeding, activates antioxidant enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 964-971.

Mourete, G., Diaz-Salvago, E., Bell, J. G. and Tocher, D. R. (2002). Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)

fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture*, 214(1-4), 343-361.

Møller, N. and Nørrelund, H. (2003). The role of growth hormone in the regulation of protein metabolism with particular reference to conditions of fasting. *Hormone Research*, 59(1), 62-68.

Mishra, A., Swain, R. K., Mishra, S. K., Panda, N. and Sethy, K. (2014). Growth performance and serum biochemical parameters as affected by nano zinc supplementation in layer chicks. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 31(4), 384-388.

Mkouboi, M. C., Sarikahya, N. B., Nalbantsoy, A. and Elibol, M. (2024). Cytotoxic activities of metallic nanoparticles biosynthesized using plant extracts and pure compounds from *Cephalaria* species. *Phytochemistry Letters*, 61, 226-235.

Nasim, I., Ragavendran, C., Kamaraj, C., Almutairi, H. H., Alam, M. W., Manimaran, K. ve Nakouti, I. (2024). Green synthesis of ZnO nanoparticles and biological applications as broad-spectrum bactericidal, antibiofilm effects and biocompatibility studies on Zebrafish embryo. *Inorganic Chemistry Communications*, 169, 113049.

Nasr-Eldahan, S., Nabil-Adam, A., Shreadah, M. A., Maher, A. M. and El-Sayed Ali, T. (2021). A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. *Aquaculture International*, 29, 1459-1480.

Nadif, R., Mintz, M., Jedlicka, A., Bertrand, J. P., Kleeberger, S. R. and Kauffmann, F. (2005). Association of CAT polymorphisms with catalase activity and exposure to environmental oxidative stimuli. *Free Radical Research*, 39(12), 1345-1350.

Nimse, S. B. ve Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry Advances*, 5(35), 27986-28006.

Ogunfowora, L. A., Iwuozor, K. O., Ighalo, J. O. and Igwegbe, C. A. (2021). Trends in the treatment of aquaculture effluents using nanotechnology. *Cleaner Materials*, 2, 100024.

Omodele, E. A., Adewale, A. G., Mikaila, M. M., and Joshua, I. O. (2019). A mini-review on the application of alumina nanoparticles for water treatment. Proceedings of the 2019 International Science Conference. *Innovation and Advancement in Nanoscience and Nanotechnology*, Federal University Oye-Ekiti, 8-4.

Oruc, E. O., Sevgiler, Y. and Uner, N. (2004). Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137(1), 43-51.

Okumuş, I. (2000). Kültür balıklarında kalite ve ‘doğal balık kültür balığı’ tartışması. In *Fishery and Fish Product Symposium*, 28-30.

- Painefilú, J. C., González, C., Cárcamo, J. G., Bianchi, V. A. and Luquet, C. M. (2022). Microcystin-LR modulates multixenobiotic resistance proteins in the middle intestine of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, 253, 106327.
- Patil, P. V., Nerlekar, N. A., Kuldeep, A. R., Patil, P. P., Dandge, P. B., Dongale, T. D., ... and Rashinkar, G. S. (2024). *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. extract-mediated green synthesis of magnesium oxide nanoparticles for multifunctional applications. *Plant Nano Biology*, 8, 100069.
- Pham, C. H., Yi, J. and Gu, M. B. (2012). Biomarker gene response in male Medaka (*Oryzias latipes*) chronically exposed to silver nanoparticle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 239-245.
- Pugazhendhi, A., Prabhu, R., Muruganantham, K., Shanmuganathan, R. and Natarajan, S. (2019). Anticancer, antimicrobial and photocatalytic activities of green synthesized magnesium oxide nanoparticles (MgONPs) using aqueous extract of *Sargassum wightii*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190, 86-97.
- Radwan, M., Moussa, M. A., Manaa, E. A., El-Sharkawy, M. A., Darweesh, K. F., Elraey, S. M., ... and Mekky, A. E. (2024). Synergistic effect of green synthesis magnesium oxide nanoparticles and seaweed extract on improving water quality, health benefits, and disease resistance in *Nile tilapia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 280, 116522.
- Raghunath, A. and Perumal, E. (2017). Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(2), 137-152.
- Raj, N. D. and Singh, D. (2022). A critical appraisal on ferulic acid: Biological profile, biopharmaceutical challenges and nano formulations. *Health Sciences Review*, 5, 100063.
- Rajput, N. (2015). Methods of preparation of nanoparticles-a review. *International Journal of Advances in Engineering & Technology*, 7(6), 1806.
- Rajkumar, K. S., Sivagaami, P., Ramkumar, A., Murugadas, A., Srinivasan, V., Arun, S., Senthil Kumar, P. and Thirumurugan, R. 2022. "Bio-functionalized zinc oxide nanoparticles: Potential toxicity impact on freshwater fish *Cyprinus carpio*". *Chemosphere*, 290. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133220>.
- Ramaprabha, K., Saravanan, P., Rajeshkannan, R. and Kumar, S. V. (2025). Bio-inspired synthesis of Magnesium oxide nanoparticles from *Acalypha indica*: anti-bacterial, anti-oxidant and toxicity study. *Sustainable Chemistry One World*, 100048.
- Ramezani Farani, M., Farsadrooh, M., Zare, I., Gholami, A. and Akhavan, O. (2023). Green synthesis of magnesium oxide nanoparticles and nanocomposites for photocatalytic antimicrobial, antibiofilm and antifungal applications. *Catalysts*, 13(4), 642.

Rani, U., Rani, A. and Thakur, R. (2024). Brief review of trans-ferulic acid-loaded polymeric nanoformulations: pharmacological applications and future perspectives. *Polymer Bulletin*, 1-26.

Razmara, P. and Pyle, G. G. (2022). Recovery of rainbow trout olfactory function following exposure to copper nanoparticles and copper ions. *Aquatic Toxicology*, 245, 106109.

Regoli, F., Hummel, H., Amiard-Triquet, C., Larroux, C. and Sukhotin, A. (1998). Trace metals and variations of antioxidant enzymes in Arctic bivalve populations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35, 594-601.

Reinecke, M. (2010). Influences of the environment on the endocrine and paracrine fish growth hormone–insulin-like growth factor-I system. *Journal of Fish Biology*, 76(6), 1233-1254.

Reza, K. K., Singh, M. K., Yadav, S. K., Singh, J., Agrawal, V. V. and Malhotra, B. D. (2013). Quantum dots based platform for application to fish freshness biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 177, 627-633.

Revathi, V. and Karthik, K. (2018). Microwave assisted CdO-ZnO-MgO nanocomposite and its photocatalytic and antibacterial studies. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29, 18519-18530.

Rocha, F. S., Gomes, A. J., Lunardi, C. N., Kaliaguine, S. and Patience, G. S. (2018). Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy-UV-Vis. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 96(12), 2512-2517.

Ruas, C. B. G., dos Santos Carvalho, C., de Araújo, H. S. S., Espíndola, E. L. G. and Fernandes, M. N. (2008). Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1), 86-93.

Samat, N., Goh, K. H. ve See, K. F. (2024). Review of the application of cost-benefit analysis to the development of production systems in aquaculture. *Aquaculture*, 740816.

Sadri, R., Hosseini, M., Kazi, S. N., Bagheri, S., Abdelrazek, A. H., Ahmadi, G., ... and Abidin, N. I. Z. (2018). A facile, bio-based, novel approach for synthesis of covalently functionalized graphene nanoplatelet nano-coolants toward improved thermo-physical and heat transfer properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 509, 140-152.

Sakai, S., Kawamata, H., Kogure, T., Mantani, N., Terasawa, K., Umatake, M. and Ochiai, H. (1999). Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on the production of macrophage inflammatory protein-2 in response to respiratory syncytial virus infection in RAW264. 7 cells. *Mediators of Inflammation*, 8(3), 173-175.

Saravanan, A., Kumar, P.S., Karishma, S., Vo, D.V.N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P. R. and George, C.S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264, 128580.

Sarıyyüpoğlu, M., Özcan, M. ve Barata, S. (2017). Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda deri ensizyonu ile operasyon uygulanması ve balığın canlılığının kontrolü üzerine bir araştırma. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 29(1), 9-13.

Sajid, S., Kodape, S. M. and Kurhade, P. (2024). A study on bacterial inactivation using green synthesized photocatalytically active TiO₂, MgO, TiO₂/MgO nanoparticles. *Journal of the Indian Chemical Society*, 101(11), 101425.

Salman, K. D., Abbas, H. H. and Aljawad, H. A. (2021). Synthesis and characterization of MgO nanoparticle via microwave and sol-gel methods. In *Journal of Physics: Conference Series* 1973(1), 012104.

Salih, S. J. (2024). Green synthesis and characterization of polyphenol-coated magnesium-substituted manganese ferrite nanoparticles: Antibacterial and antioxidant properties. *Heliyon*, 10(10).

Sharma, R., Giri, S. K., Saini, A., Nagar, S. and Singh, G. (2023). Clove leaf-based magnesium nanoparticles synthesis for antimicrobial applications. *Materials Today: Proceedings*.

Sáez-Arteaga, A., Viegas, I., Palma, M., Dantagnan, P., Valdebenito, I., Villalobos, E. F., ... and Heyser, C. (2024). Impact of increasing temperatures on neuroendocrine and molecular responses of skeletal muscle and liver in fish: A comprehensive review. *Aquaculture Reports*, 39, 102448.

Saygılı, Y., Yüzbaşıoğlu, D. and Ünal, F. (2021). Metal oksit nanopartiküllerin genotoksik etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 33(3), 429-443.

Semma, M. (2002). Trans fatty acids: properties, benefits and risks. *Journal of Health Science*, 48(1), 7-13.

Selvam, N. C. S., Kumar, R. T., Kennedy, L. J. and Vijaya, J. J. (2011). Comparative study of microwave and conventional methods for the preparation and optical properties of novel MgO-micro and nano-structures. *Journal of Alloys and Compounds*, 509(41), 9809-9815.

Shahmohamadloo, R. S., Bhavsar, S. P., Almirall, X. O., Marklevitz, S. A., Rudman, S. M. and Sibley, P. K. (2023). Lake Erie fish safe to eat yet afflicted by algal hepatotoxins. *Science of the Total Environment*, 861, 160474.

Shao, X. R., Wei, X. Q., Song, X., Hao, L. Y., Cai, X. X., Zhang, Z. R., ... and Lin, Y. F. (2015). Independent effect of polymeric nanoparticle zeta potential/surface charge, on their cytotoxicity and affinity to cells. *Cell Proliferation*, 48(4), 465-474.

Shao, X. Y., Wu, P., Jiang, W. D., Liu, Y., Shi, H. Q., Zhang, R. N., ... and Zhou, X. Q. (2024). An emerging role of ferulic acid on sub-adult grass carp (*Ctenopharyngodon*

idellus): Increasing protein digestion and regulating amino acid and oligopeptide transporters expression. *Aquaculture Reports*, 39, 102438.

Sharmila, A., Darshan, A. R., Hadkar, V. M., Sishu, N. K. and Selvaraj, C. I. (2025). Green fabrication of *Hildegardia populifolia* (Roxb.) derived MgO nanoparticles exhibiting potential antioxidant, antibacterial, and photocatalytic properties. *Inorganic Chemistry Communications*, 172, 113730.

Shukla, D., Nandi, N. K., Singh, B., Singh, A., Kumar, B., Narang, R. K. and Singh, C. (2022). Ferulic acid-loaded drug delivery systems for biomedical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 75, 103621.

Shivakumar, K. and Kumar, B. P. (1997). Magnesium deficiency enhances oxidative stress and collagen synthesis in vivo in the aorta of rats. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29(11), 1273-1278.

Shobana, C., Rangasamy, B., Poopal, R. K., Renuka, S. and Ramesh, M. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Piper nigrum*: tissue-specific bioaccumulation, histopathology, and oxidative stress responses in Indian major carp *Labeo rohita*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 11812-11832.

Song, Y., Kirkwood, N., Maksimović, Č., Zheng, X., O'Connor, D., Jin, Y. ve Hou, D. (2019). Nature based solutions for contaminated land remediation and brownfield redevelopment in cities: A review. *Science of the Total Environment*, 663, 568-579.

Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P. and Kumar, P. (2018). 'Green'synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 84.

Srinivasan, V., Bhavan, P. S., Rajkumar, G., Satgurunathan, T., and Muralisankar, T. (2017). Dietary supplementation of magnesium oxide (MgO) nanoparticles for better survival and growth of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. *Biological Trace Element Research*, 177, 196-208.

Srikanth, K., Pereira, E., Duarte, A. C. and Ahmad, I. (2013). Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish-a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2133-2149.

Sneha, K., Sathishkumar, M., Mao, J., Kwak, I. S. and Yun, Y. S. (2010). *Corynebacterium glutamicum*-mediated crystallization of silver ions through sorption and reduction processes. *Chemical Engineering Journal*, 162(3), 989-996.

Švecová, M., Ulbrich, P., Dendisová, M. and Matějka, P. (2018). SERS study of riboflavin on green-synthesized silver nanoparticles prepared by reduction using different flavonoids: What is the role of flavonoid used?. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 195, 236-245.

Swain, P. S., Rao, S. B., Rajendran, D., Dominic, G. and Selvaraju, S. (2016). Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review. *Animal Nutrition*, 2(3), 134-141.

Swain, P., Das, R., Das, A., Padhi, S. K., Das, K. C. and Mishra, S. S. (2019). Effects of dietary zinc oxide and selenium nanoparticles on growth performance, immune responses and enzyme activity in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture nutrition*, 25(2), 486-494.

Şener, G. ve Yeğen Berrak Ç. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22, 5-13.

Şen, İ., Rad, F. ve Aytemiz, T. (2017). Su ürünleri yetiştiricilik sektörü paydaşlarının iklim değişikliği bağlamında algıları. *Aquaculture Studies*, 17(4), 361-367.

Önalın, Ş. (2019). Expression differences of stress and immunity genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) with different bacterial fish diseases. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 71.

Ou, S. and Kwok, K. C. (2004). Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(11), 1261-1269.

Taju, G., Majeed, S. A., Nambi, K. S. N. and Hameed, A. S. (2014). In vitro assay for the toxicity of silver nanoparticles using heart and gill cell lines of *Catla catla* and gill cell line of *Labeo rohita*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 161, 41-52.

Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. (2024). Su ürünleri ürün raporu 2024: 2022 yılı ithalat verileri ve fiyat analizleri. [PDF Dosyası]. Araştırma yayınları, Tepge Yayın No: 403. Erişim Tarihi: 23.05.2023 Erişim linki: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/2024%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporlar%C4%B1/Su%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20%C3%9Cr%C3%BCn%20Raporu%202024-403%20TEPGE.pdf> .

Tam, M., Gomez, S., Gonzalez-Gross, M. and Marcos, A. (2003). Possible roles of magnesium on the immune system. *European journal of clinical nutrition*, 57(10), 1193-1197.

Thamilvanan, D., Jeevanandam, J., Hii, Y. S. and Chan, Y. S. (2021). Sol-gel coupled ultrasound synthesis of photo-activated magnesium oxide nanoparticles: Optimization and antibacterial studies. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 99(2), 502-518.

Thabet, S. R., Abdel-Galil, M. A. A., Osman, A. S., Ahmed, N. S. and Mousa, M. A. (2021). Biochemical effects of magnesium oxide nanoparticles in *Clarias gariepinus*. *Sohag Journal of Junior Scientific Researchers*, 1, 55-64.

Tilton, S. C., Gerwick, L. G., Hendricks, J. D., Rosato, C. S., Corley-Smith, G., Givan, S. A., ... and Williams, D. E. (2005). Use of a rainbow trout oligonucleotide microarray to

determine transcriptional patterns in aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma compared to adjacent liver. *Toxicological Sciences*, 88(2), 319-330.

Torres, M. A., Testa, C. P., Gáspari, C., Masutti, M. B., Panitz, C. M. N., Curi-Pedrosa, R., ... and Wilhelm Filho, D. (2002). Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 923-932.

Trefts, E. Gannon, M. Wasserman D. H. (2017). The liver. *Current Biology*, 6,27(21). doi: 10.1016/j.cub.2017.09.019.

Trenzado, C. E., Morales, A. E., Palma, J. M. and de la Higuera, M. (2009). Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149(3), 440-447.

Turan, N. B., Erkan, H. S., Engin, G. O. ve Bilgili, M. S. (2019). Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation and toxicity-A review. In *Process Safety and Environmental Protection* 130, 238–249. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.08.014>.

Tvrzická, E., Vecka, M., Staňková, B. and Žák, A. (2002). Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection: Quantitative aspects. *Analytica Chimica Acta*, 465(1-2), 337-350.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.

Verma, R. S., Mehta, A. and Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2), 191-196.

Verma, S. K., Nisha, K., Panda, P. K., Patel, P., Kumari, P., Mallick, M. A., ... and Das, B. (2020). Green synthesized MgO nanoparticles infer biocompatibility by reducing in vivo molecular nanotoxicity in embryonic zebrafish through arginine interaction elicited apoptosis. *Science of The Total Environment*, 713, 136521.

Vergheese, M. and Vishal, S. K. (2018). Green synthesis of magnesium oxide nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* leaf extract and its antibacterial activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 1193-1200.

Veske, E. ve Yavuzcan, H. (2025). Su Ürünleri Üretimine Yönelik Sanal Gerçeklik Ortamının Etkileşimli Öğretim Materyali Olarak Geliştirilmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 10(1), 63-68.

Vijayakumar, S., Chen, J., Sánchez, Z. I. G., Tungare, K., Bhorl, M., Durán-Lara, E. F. and Anbu, P. (2023). *Moringa oleifera* gum capped MgO nanoparticles: Synthesis,

characterization, cyto-and ecotoxicity assessment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123514.

Yang, G., Wang, Y., Wang, T., Wang, D., Weng, H., Wang, Q. and Chen, C. (2021). Variations of enzymatic activity and gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos co-exposed to zearalenone and fumonisin B1. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 222, 112533.

Yıldırım, Ö. ve Çantaş, İ. B. (2022). Türkiye’de gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinin üretim ve ekonomik göstergelerinin incelenmesi. *Acta Aquatica Turcica*, 18(4), 461-474.

Yılmaz, O. (1995). Elazığ Hazar gölünde yaşayan *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843)’nin total yağ asidi miktarı ve yağ asitleri cinslerinin mevsimlere göre değişimi (Doktora Tezi Fırat Üniversitesi, Elazığ).

Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E., and Özgen, U. (2009). Ceviz (*Juglans regia* L.)’in antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 39, 7-11.

Yoshizato, H., Fujikawa, T., Soya, H., Tanaka, M. and Nakashima, K. (1998). The growth hormone (GH) gene is expressed in the lateral hypothalamus: enhancement by GH-releasing hormone and repression by restraint stress. *Endocrinology*, 139(5), 2545-2551.

Younas, W., Khan, F. U., Zaman, M., Lin, D., Zuberi, A. and Wang, Y. (2022). Toxicity of synthesized silver nanoparticles in a widespread fish: A comparison between green and chemical. *Science of the Total Environment*, 845, 157366.

Yowe, D. L. and Epping, R. J. (1995). Cloning of the barramundi growth hormone-encoding gene: a comparative analysis of higher and lower vertebrate GH genes. *Gene*, 162(2), 255-259.

Yuan, T., Gao, L., Zhan, W. and Dini, D. (2022). Effect of particle size and surface charge on nanoparticles diffusion in the brain white matter. *Pharmaceutical Research*, 39(4), 767-781.

Zajac, M., M., Kotyńska, J., Zambrowski, G., Breczko, J., Deptuła, P., Cieśluk, M., ... and Naumowicz, M. (2023). Exposure to polystyrene nanoparticles leads to changes in the zeta potential of bacterial cells. *Scientific Reports*, 13(1), 9552.

Zafar, N. and Khan, M. A. (2021). Effects of dietary magnesium supplementation on growth, feed utilization, nucleic acid ratio and antioxidant status of fingerling *Heteropneustes fossilis*. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114819.

Zhang, C. X., Huang, F., Li, J., Wang, L., Song, K. and Mai, K. S. (2016). Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, body composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed oxidized oil. *Aquaculture Nutrition*, 3(22), 708-722.

Zhang, L., Liu, Z., Deng, Y., He, C., Liu, W. and Li, X. (2023). The benefits of nanosized magnesium oxide in fish *Megalobrama amblycephala*: evidence in growth performance, redox defense, glucose metabolism, and magnesium homeostasis. *Antioxidants*, 12(7), 1350.

Zeenath, M. A., Gayathri, R., Ishwathika, M. and Manikandan, V. (2024). Optimization, imaging and LHE analysis of magnesium oxide nanoparticles synthesized with carambola extract as natural dye sensitizer. *Journal of the Indian Chemical Society*, 101(11), 101434.

Zurita-Mápula, J. A., Alcalá-Alcalá, S. and Bernal-Chávez, S. A. (2024). Lipid functionalization of magnesium oxide nanoparticles: Synthesis and characterization. *Materials Letters*, 368, 136660.

Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A. and Rotsztein, H. 2018. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. *Skin pharmacology and physiology*, 31(6), 332-336.

Wang, F. B., Luo, L., Lin, S. M., Li, Y., Chen, S., Wang, Y. G., ... and HU, C. J. (2011). Dietary magnesium requirements of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture Nutrition*, 17(3), e691-e700.

Wang, L., Hu, C. and Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 1227-1249.

Wei, C. C., Wu, K., Gao, Y., Zhang, L. H., Li, D. D. and Luo, Z. (2017). Magnesium reduces hepatic lipid accumulation in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and modulates lipogenesis and lipolysis via PPARA, JAK-STAT, and AMPK pathways in hepatocytes. *The Journal of nutrition*, 147(6), 1070-1078.

Weil, C., Lefèvre, F. and Bugeon, J. (2013). Characteristics and metabolism of different adipose tissues in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 23(2), 157-173.