

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**NADİR TOPRAK ELEMENTİ OLAN SERYUMUN TOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE MODEL CANLI OLARAK *Phanerochaete
chrysosporium*'un KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Abdulhamit Han ÇELİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM**

TUNCELİ – 2021

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

NADİR TOPRAK ELEMENTİ OLAN SERYUMUN TOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE MODEL CANLI OLARAK *Phanerochaete*
chrysosporium'un KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Abdulhamit Han ÇELİK
(190040003)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM

TUNCELİ- 2021

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**NADİR TOPRAK ELEMENTİ OLAN SERYUMUN TOKSİSİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE MODEL CANLI OLARAK *Phanerochaete
chrysosporium* 'un KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Abdulhamit Han ÇELİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 10/12/2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Doç. Dr. Gökhan Önder
ERGÜVEN
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Prof. Dr. Mehmet
KOCABAŞ
(Karadeniz Teknik
Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB020-16

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

.../.../2021

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Abdulhamit Han ÇELİK

Danışman
Prof. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın planlanmasında, hayata geçirilmesinde, tezimin yazım ve deney aşamalarında her adımında bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Prof. Dr. Nuran Cıkcıkoğlu Yıldırım'a teşekkür ederim.

Yine tez çalışmamın her alanında bana elinden gelen her türlü yardımı yapmaktan kaçınmayan Prof. Dr. Numan Yıldırım'a teşekkür ederim.

Abdulhamit Han ÇELİK
TUNCELİ-2021



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
DENKLEMLER LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Nadir Toprak Elementleri	3
1.2. Nadir Toprak Elementi İçeren Mineraller	4
1.2.1. Bastnazit	5
1.3. Nadir Toprak Elementlerinin Kullanım Alanları.....	6
1.4. Nadir Toprak Elementi Olan Seryum	8
1.4.1. Seryumun kullanım alanları	10
1.5. Nadir Toprak Elementlerinin Çevresel Etkileri.....	10
1.6. Antioksidan Sistem.....	13
1.7. Glutasyon S-Transferazlar (GST)	14
1.8. Katalaz (CAT)	15
1.9. Süperoksit Dismutaz (SOD)	15
1.10. Glutasyon (GSH)	16
1.11. TBARS	16
1.12. Çevre Kirliliğinin Antioksidan Sisteme Etkileri	18
1.13. Model Canlı Olarak Kullanılan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i>	18
2. MATERYAL VE METOT	21
2.1. Çalışmada Kullanılan Fungus.....	21
2.2. Fungus Stok Kültürü.....	21
2.3. İnokülasyon için Fungus Peletlerinin Eldesi	21
2.4. Deneysel Uygulama Ortamlarının Hazırlanması.....	22
2.5. Uygulama Ortamlarına Fungus inokülasyonu	23
2.6. İnkübasyon Sonrası Fungusların Ortamdan Alınması	24
2.7. Peletlerin Homojenizasyonu ve Süpernatant Eldesi	24
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
3.1. Enzimatik Antioksidanlar	26
3.1.1. SOD aktivitesi	26
3.1.2. CAT aktivitesi	27
3.1.3. GST aktivitesi	27
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	28
3.2.1. GSH düzeyleri	28
3.3. TBARS Seviyeleri	29
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	35
5. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Türkiye’de NTE yataklanmasına uygun alanlar	4
Şekil 1.2. Bazı NTE ve kimyasalları	6
Şekil 1.3. NTE’in kullanıldığı ürünler.....	7
Şekil 1.4. NTE’in kullanım alanları	8
Şekil 1.5. Tiyobarbitürik asitin MDA ile reaksiyonu.....	17
Şekil 2.1. Elde edilen ıslak peletler.....	22
Şekil 2.2. İnokülasyon için laminar flow içerisinde soğuması beklenen uygulama ortamları	23
Şekil 2.3. Uygulama ortamlarına ıslak peletlerin eklenmiş hali.....	23
Şekil 2.4. Islak peletlerin eklendiği uygulama ortamlarının çalkalayıcı inkübatöre alınması.....	24
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum’a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da SOD (U/mL) enzim aktivitesindeki değişiklikler.....	26
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum’a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da KAT (nmol/dak//mL) enzim aktivitesindeki değişiklikler ..	27
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum’a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da GST (U) enzim aktivitesindeki değişiklikler	28
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum’a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da GSH (µM) düzeyindeki değişiklikler.....	29
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum’a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da TBARS (µM) düzeyindeki değişiklikler.....	30

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Önemli NTE mineralleri.....	5
Tablo 1.2. NTE metallerinin ergime ve kaynama noktaları.....	6
Tablo 1.3. Seryum, seryum klorür ve seryumdioksitin seçilmiş kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	9
Tablo 1.4. Nadir toprak elementlerinin toksikolojik bilgileri.....	12
Tablo 2.1. Deneysel uygulama ortamları.....	22
Tablo 3.1. Nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan <i>Phanerochaete Chrysosporium</i> 'da bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan parametreler ile Lipid Peroksidasyon seviyelerindeki değişimler.....	25



DENKLEMLER LİSTESİ

Denklem 1.1. GST reaksiyonu.....	14
Denklem 1.2. Katalaz reaksiyonu	15
Denklem 1.3. SOD reaksiyonu	16



KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AChE	: Asetilkolinesteraz Enziminin Aktivitesi
ALP	: Alkalen Fosfatez
ATP	: Adenozin Trifosfa
CA	: Kromozomal Sapma
CAT	: Katalaz
Ce	: Seryum
CeO₂	: Seryum dioksit
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik
Fe	: Demir
g	: Gram
G6PDH	: Fosfat Dehidrogenaz
GPX	: Glutation Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferazlar
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
Kg	: Kilogram
L	: Litre
LHD	: Laktat Dehidrogenaz
LİP	: Lignin Peroksidaz
LOOH	: Lipit Hidroperoksit
LPO	: Lipid Peroksit
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
MI	: Mitolik İndeks
Mn	: Mangan
MTA	: Maden Tetkik ve Arama
nCeO₂	: Seryum dioksit nanoparçacığı
NTE	: Nadir Toprak Elementleri
NTO	: Nadir Toprak Oksit
O₂	: Oksijen
°C	: Santigrat Derece
PCB	: Baskılı Devre Kartı
pH	: Potansiyel Hidrojen
POD	: Peroksidaz
PUFA	: Çoklu Yağ Asitleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz Sistemi
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürat Reaktif Maddeler
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör
TNT	: Trinitrotoluen
μM	: Mikrometre
Zn	: Çinko

ÖZET

Nadir toprak elementleri günümüzde birçok teknolojik alanda geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Yaptığımız çalışmada kullandığımız nadir elementlerden olan seryum ise nadir toprak elementleri arasında ilk olarak keşfedilen metaldir. Bu elementlerin kullanımının yaygınlaşmasından ötürü çevre ve canlılar üzerinde oluşabilecek olumsuzlukların da araştırılmasına bir kapı açmıştır.

Bu çalışmada nadir toprak elementi olan seryumun farklı dozlarına maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'un Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon S-Transferaz (GST) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler

(TBARS) seviyeleri belirlenmiştir.

SOD aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 48. Saatlerde tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı dozlarına Seryum 'a maruz kalan tüm gruplarda KAT aktiviteleri 24. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında anlamlı oranda azalmış ($p < 0.05$), ancak 48. Saat sonrasında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$). Farklı Seryum dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GST aktiviteleri 24. Saatte istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış ancak 48 saat uygulama sonrasında ise genel olarak önemli düzeyde azalmıştır. GSH düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 48. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında gruplarında azalmıştır. TBARS düzeyleri 48. Saat sonrasında tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmış saptanmıştır ($p < 0.05$).

Çalışmadan elde edilen sonuçlar seryumun toksik etkisinin çalışılmasında *Phanerochaete chrysosporium*'un model canlı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Nadir Toprak Elementleri, Seryum, *Phanerochaete chrysosporium*, antioksidan sistem.

ABSTRACT

Investigation of the Usability of *Phanerochaete chrysosporium* as a Model Live for Evaluation of Toxicity of Rare Earth Element Cerium

Rare earth elements are widely used in many technological fields today. Ceium, one of the rare elements we used in our study, is the first metal discovered among the rare earth elements. Due to the widespread use of these elements, it has opened a door to investigate the negative effects that may occur on the environment and living things.

In this study, Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione S-Transferase (GST) activities and Glutathione (GSH) and Thiobarbiturate reactive substances (TBARS) levels of *Phanerochaete chrysosporium* exposed to different doses of rare earth element cerium were determined.

SOD activity was statistically significantly decreased in all treatment groups at 24 and 48 hours compared to the control. ($p < 0.05$). Compared with the control group, CAT activities in all groups exposed to different doses of Cerium decreased significantly ($p < 0.05$) after 24 hours, but the difference between the groups after 48 hours was found to be statistically insignificant ($p > 0.05$). Compared with the control group, GST activities increased statistically at 24 hours in all groups exposed to different Cerium doses, but decreased significantly after 48 hours of administration. Compared with the control, GSH levels decreased in all treatment groups after 24 and 48 hours. TBARS levels were found to be increased in all treatment groups compared to the control group after 48 hours ($p < 0.05$).

The results obtained from the study showed that *Phanerochaete chrysosporium* can be used as a model in the study of the toxic effect of cerium.

Keywords: Rare Earth Elements, Cerium, *Phanerochaete chrysosporium*, antioxidant system.

1. GİRİŞ

Japonya’da nadir toprak elementlerine teknolojinin atası, ABD’de ise teknolojik metaller denmektedir. Nadir toprak elementleri günümüzde birçok teknolojik alanda kullanılmasının yanı sıra ilerleyen teknoloji ile birlikte daha fazla teknolojik gelişmelerde de kullanılacak olan elementlerdir. Yeşil enerjiden ilaç endüstrisine kadar savunma sanayi ve telekomünikasyon sektörünü de kapsayacak şekilde, dünyamızı değiştirebilecek ve geliştirebilecek teknolojik atılımlara neden olabilecektir (URL-1, 2021).

Nadir toprak elementleri, periyodik cetvelde 17 adet kimyasal element olarak bulunmaktadır. 15’i lantanit grubudur, lantanit grubuna ek olarak skandiyum ve itriyum bulunur. Skandiyum ve itriyum aynı cevherleşme içerisinde, aynı kimyasal özelliğe sahip lantanitler içerisinde ortaya çıkmış, yer kabuğunda rastlanabilen nadir toprak elementi olmamasına karşın daha sonra nadir toprak elementi olarak kabul görmüştür. Ekonomik mineral depoziti olarak bulunabilecek miktarda mevcuttur (URL-1, 2021).

Seryum, lantanit grubu elementleri içerisinde farklı özelliklerinden dolayı ayrıcalıklı bir elementtir ve yaygın olarak rastlanır (URL-2, 2021).

Seryum, başta petrol üreten endüstriler olmak üzere birçok farklı yerde çevreye salınmaktadır. Ayrıca ev eşyaları atıldığında da çevreye salınabilir. Seryum yavaş yavaş toprakta ve suda birikerek insanlarda, hayvanlarda ve toprak partiküllerinde artan konsantrasyonlara yol açacaktır. Su hayvanlarında seryum hücre zarlarına zarar verir ve bu da üreme üzerinde birkaç olumsuz etkiye sahiptir. Bununla birlikte sinir sisteminin işlevlerine de zarar verecektir. Katalitik konvertörlerde kullanımından ötürü seryum, teknolojik üretimlerin olduğu yerlerde ve dizel motorların çalıştığı her yerde bulunabilmektedir. Dizel motorlar, çapları sadece birkaç mikrometre olan karbon partikülleri yayarlar. Partikül emisyonlarını azaltmanın yolu, onları seramik bir filtreye hapsedmek ve ardından yakmaktır (URL-3, 2021).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunlardan kaynaklanan zararların önüne geçmek için birçok sayıda savunma mekanizması mevcuttur. Bu tip olan mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" ya da "antioksidanlar" şeklinde adlandırılırlar. Serbest radikallerdeki fazla yüklenme canlı üzerinde tehlike meydana getirir. Fakat canlının işlevini yerine getirebilmesi ve hastalıklardan korunması için gereklidirler. Serbest radikaller çok hassas bir dengeyle kontrol edilmektedirler (Mei Chun ve KAO, 2004).

Enzimler yolu ile savunma solunum zinciri ve organizmadaki öbür oksidoredüktaz tepkimeleri esnasında yan ürün olarak meydana gelen süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit, hücrel moleküller ile tepkimeye girerek hasara sebep olmaktadır. Bu zararlı ürünler bazı enzim sistemleriyle yok edilebilirler (Kahraman ve Çakar, 2003).

Süperoksit dismutaz (SOD) hücrede, mitokondri içerisinde doğal olarak var olan bir enzimdir. Süperoksit radikallerini daha az reaktif olan hidrojen peroksite çevirirler. SOD sistemi, süperoksit anyonunu dismutasyona uğratarak organizmayı koruyan bir mekanizmadır (Misra ve Ajay, 2006).

Katalaz (CAT) içerisinde 4 tane grubu bulunan bir hemoproteindir. Hidroksil radikallerinin meydana gelmemesini sağlamak için hidrojen peroksiti suya ayırıştırır. SOD tarafından dismutasyon reaksiyonlarında meydana gelen hidrojenperoksit molekülünün canlı için birtakım riskler ihtiva eden hidroksil radikallerine dönüştürülmesi katalaz veya glutathion peroksidaz (GPX) yardımıyla önlenmektedir (Karabal ve Yücel, 2003).

Glutathion S-transferazlar (GST), EC 2.5.1.18 kodlu ve her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim familyasıdır. Glutathion S-transferazlar (GST), en ilk araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma sistemi meydana getirirler (Sarılmaz, 2000).

Enzim Olmayan Antioksidanlar; E vitamini, C vitamini, Glutathion (GSH), Karotenoidler, Flavonoidler, Ürik asit, Melatonin, Bilirubin.

GSH, ekzojen ve endojen bir antioksidandır. Çeşitli ksenobiyotiklerle GSH transferazın katalizlediği reaksiyonlara girer. GSH doğrudan (GSH-PO) ya da dolaylı enzimatik reaksiyonlarla ROT'ni temizler. Hücrel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesi için tiyol proteinleriyle reaksiyona girer.

MDA veya tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) yöntemi, 1950'lerden beri membran ve biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunu tahmin etmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun ikincil son ürünü olan MDA, 532 nm'de bir absorbansa sahip bir pembemsi-kırmızı kromojen bir ürün veren, asit katalizli nükleofilik ekleme tepkimesi yoluyla iki tiyobarbitürik asit (TBA) molekülü ile reaksiyona girer (Kappus ve Sies, 1981). TBARS testi hızlı, basit ve ekonomik oluşu nedeniyle popülerliğini korumaktadır.

Doğal antioksidanlar, endojen (organizmaların yardımıyla sentezlenen) ya da ekzojen (dışarıdan alınan besinlerle) yapılardır. Ancak organizmanın doğal antioksidan

üretimi yaşlandıkça azalır. Bu alanda uzmanlaşmış kişiler bu açığın kapanabilmesi için bitkisel antioksidanların alternatif oldukları konusunda hemfikirdirler (Taner, 2005). En önemli kaynaklarını meyve, sebze türlerinin oluşturduğu bitkisel antioksidanlar anormal hücre çoğalmalarının önüne geçerek oksidasyondan dolayı hasar alan hücreleri koruma görevini alırlar (Brown, 1999).

Bu antioksidanlar dışarıdan ve çevreden alındıkları için çevresel herhangi bir olumsuz etki veya kirlilik meydana geldiği zaman canlı bünyesine alınan antioksidanlar da bu durumdan etkilenerek bünyenin savunma mekanizmasının olumsuz etkilenmesi kaçınılmazdır. Çevresel herhangi bir olumsuz etki antioksidan sisteme de olumsuz olarak yansımaktadır.

Model canlı olarak kullanılan *Phanerochaete chrysosporium*, beyaz selülozu neredeyse hiç dokunmadan bırakırken bol aromatik polimer lignini parçalama özel yeteneği nedeniyle model beyaz çürüklük mantarıdır (Nakasone, 1990). *Phanerochaete chrysosporium*, ligninin karmaşık üç boyutlu yapısını metabolizması tarafından kullanılabilecek bileşenlere ayırmak için hücre dışı enzimler salgılar. Hücre dışı enzimler, lignin bağlarını parçalamak için kullanılan spesifik olmayan oksitleyici maddelerdir (hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri) (Martinez, 2004).

Bu çalışmanın amacı, toprakta nadir bulunan bir element olan seryum toksiditesinin model canlı olarak kullanılan *Phanerochaete chrysosporium* üzerindeki toksik etkileri incelemek, seryum toksisitesinin belirlenmesinde model canlı olarak *Phanerochaete chrysosporium*'un kullanılabilirliğini belirli parametreleri ölçüp sonuçları görmektir.

1.1. Nadir Toprak Elementleri

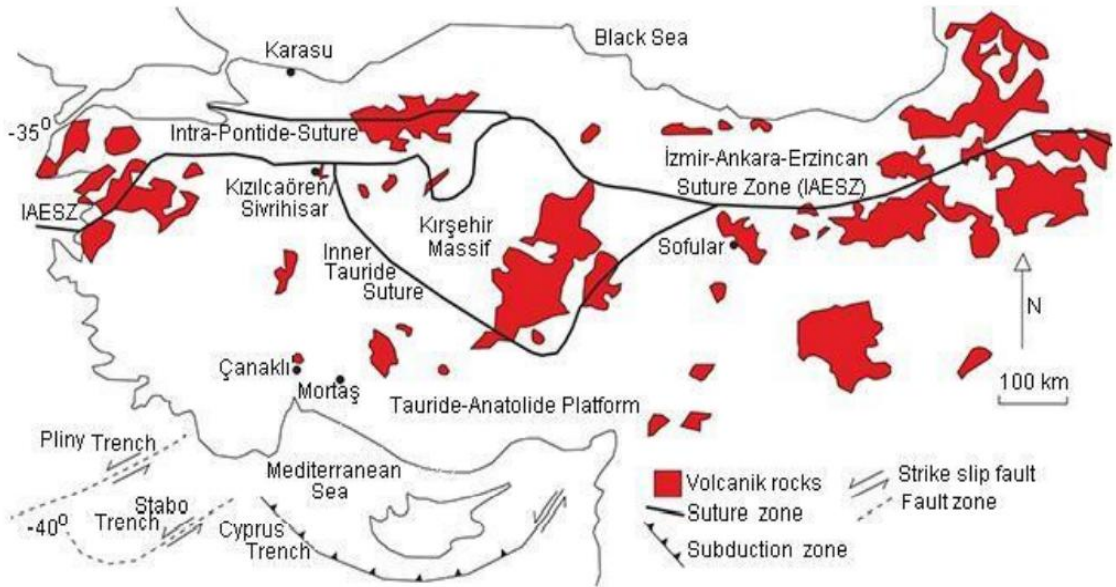
Nadir toprak elementleri kimyasal bakımdan skandiyum, itriyum ve lantanitlerin içinde olduğu bir grubu kapsamaktadır. Lantanitler, atom numaraları 57'den 71'e kadar olan ve kimyasal özellikleri bakımından benzer elementlerin meydana getirdiği bir gruptur. Atom numarası 39 olan İtريum ve atom numarası 21 olan Skandiyum da lantanitlerle benzeyen özelliklerinden ötürü bu gruba dâhil edilmiştir. İtريum ve Skandiyum NTE'ne benzeyen iyon çapları ve küçük atom çapları nedeniyle NTE ile birlikte oluşturmaktadırlar.

NTE üretimi ve kullanımı konusunda önde gelen ülke Çin'dir. Bu mimvalde nte pazarının yaklaşık üçte birini elinde tutmaktadır.

Ülkemizde de bulunmuş fakat hala daha işletilmeyen NTE yatakları vardır. İşletmek için bazı girişimler ve bu yönde atılan adımlar mevcuttur. Ülkemizin jeolojik yapısı da bu tür elementlerin oluşmaları açısından son derece uygundur (Kurnaz, 2019).

Ülkemizdeki en önemli NTE yatağı, Eskişehir-Kızılcaören bölgesindeki bastnazit, florit, barit yatağı, ortalama olarak %3 tenöre, dört milyon ton rezerve sahiptir.

Malatya-Kuluncak bölgesi, göz ardı edilmeyecek bir yatak olarak görülmektedir. Bu bölgede bin ton, %24 tenörlü bir cevherleşme tahmini yapılmıştır. Ülkemizde bulunmuş fakat henüz işletilmeyen NTE yatakları mevcuttur (Gültekin ve Örgün, 2000).



Şekil 1.1. Türkiye’de NTE yataklanmasına uygun alanlar (Yıldız, 2016)

1.2. Nadir Toprak Elementi İçeren Mineraller

NTE doğada 200’den fazla minerali bulunmakla birlikte, dünyada en yaygın olarak işletilen NTE minerali bastnazit ve monazittir. Dünyada üretimi yapılan toprak elementlerinin %95’i üretiminin bastnazit, monazit ve ksenotim minerallerinden oluşmaktadır. Bunların yanında önemli NTE mineralleri Tablo 1.1’de verilmektedir (MTA, 2017).

Tablo 1.1. Önemli NTE mineralleri (MTA, 2017)

Mineral Adı	Bileşimler	Tip	NTO,%
Allanit	$(Ca,NTE,Th)_2(Al,Fe,Mg)_3Si_3O_{12}(OH)$	Silikat	28
Apatit	$Ca_5(PO_4)_3F$	Fosfat	12
Bastnazit	$(Ce,La)FCO_3$	Fluorokarbonat	75
Brannerit	$(U,Ca,Fe,Th,Y)_3Ti_5O_{16}$	Oksit	12
Serit	$CaCe_6Si_3O_{13}$	Silikat	70
Öksenit	$(Y,Ca,Ce,U,T)(Nb,Ta,Ti)_2O_6$	Oksit	12
Fergusonit	$(Y,Sr,Ce,U)(Nb,Ta)_2O_2$	Oksit	46
Gadolinit	$Be_2FeY_2Si_2O_{10}$	Silikat	48
Fluoserit	CeF_3	Fluorür	70
Piroklor	$(Na,Ca,Ce)_2Nb_2O_6F$	Oksit	6
Samarskit	$(Y,Ce,U,Ca)(Nb,Ta,Ti)_2O_6$	Oksit	22
Ksenotim	YPO_4	Fosfat	62
Monazit	$(Ce,La,Th,Y)PO_4$	Fosfat	65
Zirkon	$(Zr,Th,Y,Ce)SiO_4$	Silikat	----

1.2.1. Bastnazit

Bastnazit minerali, seryum grubu nadir toprak metallerinin floro karbonatıdır ve neredeyse hiç toryum içermez. Jeolojik çevre ile ilgili olarak bastnazit, damar yataklarında, kontakt metamorfik zonlarda ve pegmatitlerde bulunur. Bastnazit, örneğin California'da alkalın sokulumlarla ilişkili bir karbonat-silikat kayaç kompleksinde damarlar veya saçılımlar olarak ortaya çıkar. Bastnazit, Burundi'de, mikalı şistleri ve kuvarsitleri kesen kuvars damarlarında görülür. Örneğin New Mexico'da Permiyen kumtaşı içerisindeki florit içeren damarlarda ve breş dolgularında bulunur (Gupta ve Krishnamurthy, 2005).

Bastnazit'nin nadir toprak içeriği, çoğunlukla hafif elementlerden oluşan yaklaşık %70 NTO (Nadir Toprak Oksit)'dur. Bastnazit, Çin'deki Bayan Obo (800 milyon ton; %6NTO)ve ABD Kaliforniya'daki MountainPass(3.3 milyon ton;%7.7 NTO) muazzam yataklarındaki birincil hafif NTO kaynağıdır. Buna ek olarak, bastnazit Avustralya'daki Brockman, Brezilya'daki Pocos de Caldas, Kanada'daki Thor Gölü ve Burundi'deki Karonge yataklarında ana NTO mineralidir. Bastnazit kimyasal olarak hava koşullarına

karşı duyarlıdır ve bu NTO'nun çözünmesine ve mevcut fosfatlarla birleşmesine neden olur (Gupta ve Krishnamurthy, 2005).

1.3. Nadir Toprak Elementlerinin Kullanım Alanları

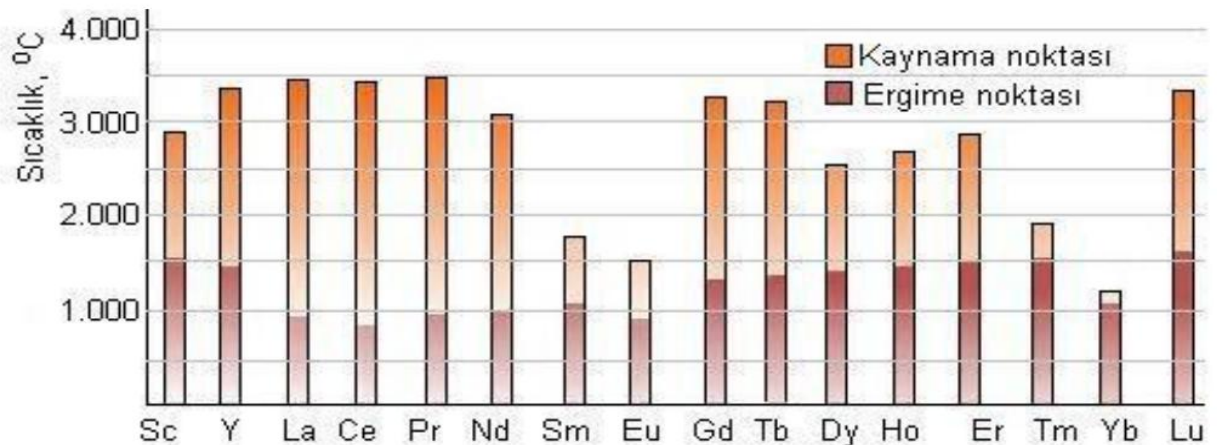
NTE'nin kimyasal özellikler olarak birbirlerine benzedikleri için birbirlerinden ayırmak oldukça zordur. Bu elementlerin metal, alaşım ya da bileşikler halinde kullanımları yaygındır.



Şekil 1.2. Bazı NTE ve kimyasalları (Yıldız, 2016)

NTE, oksit, metal ve farklı kimyasal bileşikler olarak satılıp kullanıldıkları gibi yüksek sıcaklıklara dayanıklılıklarından ötürü kaliteli metal alaşımlar üretmek için kullanılmaktadırlar.

Tablo 1.2. NTE metallerinin ergime ve kaynama noktaları (Yıldız, 2016)

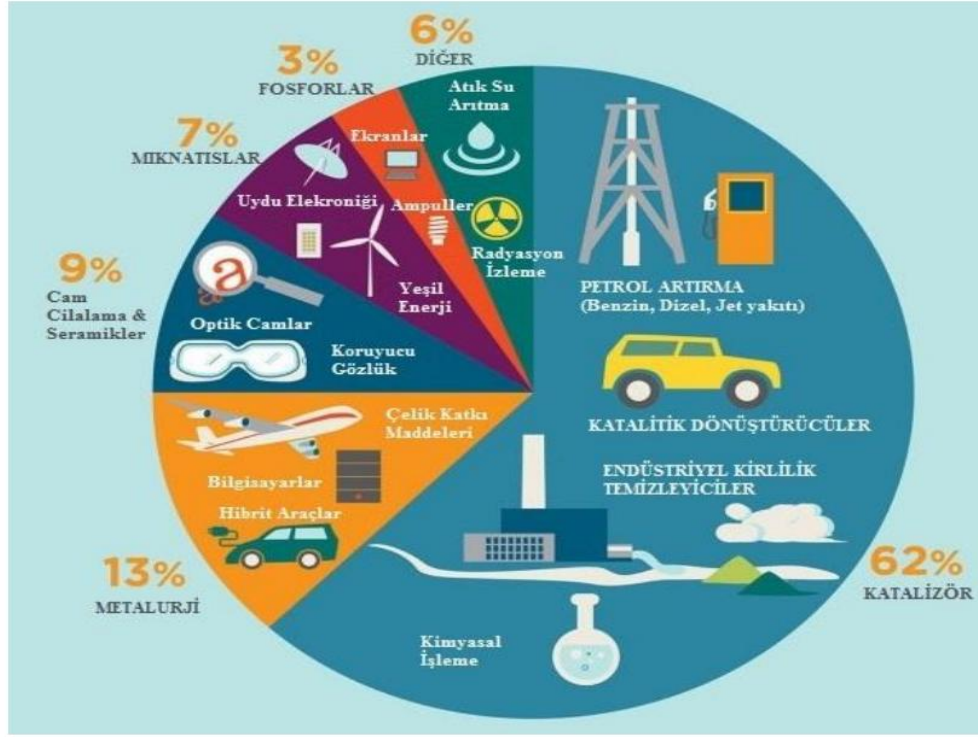


Katkı maddesi olarak NTE ihtiva eden malzemeler kararlı, hafif, yüksek sıcaklık ve korozyona karşı dirençli malzemelerdir. Bu özellikleriyle Nadir toprak elementleri; bilgisayar, hibrid araçlar, yüklenebilir piller, cep telefonları, televizyon ekranları, laptoplar, rüzgar türbinleri, tıbbi görüntüleme cihazları, radar sistemleri, katalitik çeviriciler, korozyona dayanıklı metal alaşımlar, floresan ampul ve yüksek güçlü mıknatıs üretimleri, lazer mesafe ölçme, rehberlik sistemleri, kızılötesi ışınları filtreleyen camların yapımı, mücevher sektörü, uçak motorları, tıp, seramik, cam üretiminde, petrol rafinerileri gibi gelişen teknolojiye paralel olarak kullanılan değerli elementlerdir (Yıldız, 2016).

NTE kullanılarak üretilen ürünlerin ürünler Şekil 1.3'te gösterilmiştir.



Şekil 1.3. NTE'in kullanıldığı ürünler (Yıldız,2016)



Şekil 1.4. NTE'in kullanım alanları (Yıldız, 2016)

Şen ve ark., (2012) tarafından yapılan çalışmalara göre dünyada en fazla Nadir Toprak Elementleri üreticisi olan ülkelerinin başında Çin vardır. NTE üretiminde Çin'i Brezilya izlemektedir. En fazla tüketen ülkelerin başında yine Çin gelir. Tüketim konusunda Çin'i Japonya, ABD, Almanya ve Fransa izler. Nadir Toprak Elementlerinin birçok teknolojik alanda kullanılıyor olmaları ve ticari olarak bir gelir sağladıkları için bu sektörde birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülke bulunurken, gelecekte de bu sektörde bulunmaya devam edeceklerdir. NTE pazarı yaklaşık 8-9 milyar dolar civarındadır ve ilerleyen günlerde daha da fazla olacağı kaçınılmazdır.

1.4. Nadir Toprak Elementi Olan Seryum

Seryum, lantanit grubunda olup yeryüzünde ortalama 50ppm konsantrasyonunda ve nadir toprak elementleri arasında en fazla bulunandır (Castor, 2006). 1803 senesinde Klaproth, Berzelius ve Hisinger'in keşfettikleri bu elemente 1801 senesinde bulunan "Ceres" gezegeninin isminden yola çıkarak seryum ismi verilmiştir.

1875 senesinde Hillebrand ve Norton tarafından elementel halde izole edilmiştir. Serit, monazit, allanit, basnazit ve samarskit mineralinde öbür lantanitler ile beraber bulunur. Seryumun en iyi cevher kaynaklarının monazit ve basnazit olduğu bilinmektedir.

Metalik olarak bulunan seryum, ortalama 900° C’de kalsiyumun artanı ile seryumflorürün indirgenme tepkimesiyle hazırlanabilir (Kilbourn, 2000). Aynı zamanda metalik olarak bulunan seryum, seryum klorür (CsCl) ve florürlerin elektrolizi gibi metalotermik indirgeme yöntemleriyle de üretilebilirler (Reinhardt ve Winkler, 2000).

Seryum reaktif bir metal olduğundan ötürü çevrede elementel şekilde görülmezken seryum bileşiklerinin uçucu şekle gelmeleride beklenmez. Eğer havada serbest halde varsa tanecikli şekilde bulunabilir (Lewis, 2001).

Elementel halde bulunan seryum kurşundan biraz daha sert demirin grisi gibi, yumuşak bir metaldir. Kırılabilir, şekil verilebilir, dövülebilir, asitlerde çözünebilir, soğuk suda yavaş, sıcak suda hızla oksitlenebilir (O’Neil 2001). Seryum, Öropyum dahil olmamak üzere öbür nadir toprak elementlerinin yanında en reaktif olanıdır ve oksijen ile bulunduğu vakit stabilize edilen güçlü ve oksitleyici bir ajandır (Kilbourn, 2000). Saf seryum metali sert keskin bir metal tarafından çizilirse yoğun kıvılcımlar oluşur. (Kilbourn, 2000; Reinhardt ve Winkler, 2000).

Tablo 1.3. Seryum, seryum klorür ve seryumdioksitin seçilmiş kimyasal ve fiziksel özellikleri (Reinhardt ve Winkler, 2000)

İsim	Seryum	Seryum (III) klorür Seryum triklorür Seroz klorür	Seryumdioksit Seria Serik oksit Seryum (IV) oksit
Moleküler ağırlık	140.116g/mol		
Molekül formülü	Ce	CeCl ₃	CeO ₂
Kaynama noktası	798°C	817°C	2400°C
Biçim-Şekil	Gri, şekil verilebilir, dövülebilir	Beyaz kristal, ince toz	Açık sarı, saf olduğu zaman beyaz; ticari ürün olarak kahverengi

Limbach ve ark., (2005) yaptıkları çalışmalara göre son senelerde seryumdioksit nanomalzemelerin ileriye taşınması dikkat çekicidir. Seryumdioksit nanopartikülleri sol-jel, termal bozunma, solvotermal oksidasyon, mikroemülsiyon metot, alev sprey piroliz ve mikrodalga destekli solvotermal gibi bazı değişik hazırlama yöntemlerinin uygulanması ile elde edilebilir.

1.4.1. Seryumun Kullanım Alanları

Seryum çakmaktaşı eldesinde (yanma özelliğinden ötürü), kendisini temizleme özelliği bulunan film üretiminde hidrokarbon katalizörü olarak kullanılmasıyla birlikte metalurjik, petrol rafinasyonunda ve nükleer çalışmalarda da katalizör olarak önemli bir yere sahiptir. Seryum da öbür nadir toprak elementleri gibi karbon-ark ışıklandırmasında, cam teknolojisinde kullanım alanı bulmaktadır.

Seryum metal karışımları olarak isimlendirilen mischmetal oluşumunda sıklıkla kullanılır ve seryum metal alaşımlarının en mühim bileşenidir ve miktarı olarak da ağırlıkça %50-75 oranındadır (Reinhardt ve Winkler 2000; Zhang ve ark., 2006). Mischmetal çeliğin eldesinde şekil olarak kontrol edebilmek, sertliği minimize etmek ve ısı/oksidasyon direncini yükseltmek için kullanılır (Kilbourn 2000; Reinhardt ve Winkler 2000).

Seryumdioksit ayna, dökme cam, televizyon tüpleri, gözlük yerine kullanılan lensler ve hassas optikler için parlatma ajanı olarak kullanılır (La ve ark., 2004; Qi ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2006). Seryumdioksit güneş altında kalmasıyla bozulma ve renk solmasının önüne geçmek için cam bileşeni olarak da işlem görür. Seryumdioksit emisyon kontrol sistemlerinde, otomobil motorlarında partikül emisyonlarını minimize etmek için dizel yakıt kaynaklı katalizör gibi kullanılır (Wu 2004; Ga, 2006).

Seryumdioksit gibi bazı nadir toprak oksitler çevresel etkilerin çeşitliliğine bağlı olarak kristal örgülerinde oksijen depolama kabiliyetleri vardır (Wu, 2004).

1.5. Nadir Toprak Elementlerinin Çevresel Etkileri

Kesme, delme, patlatma, taşıma, stoklama ve işleme gibi madencilik faaliyetleri, insanlara ek olarak yerel toprağı, doğal hayatı ve bitkileri, havayı ve çevrede bulunan su kaynaklarına tesir edebilecek NTE, farklı toksik metaller ve kimyasallar içeren tozu

salabilmektedir. Ayrıca, daha çok NTE çıkartma işlemleri, daha çok çevresel hasar ve insan sağlığı tehditleri manasına gelir, çünkü atık tasfiye yerleri hava şartlarıyla karşılaşabilmektedir ve yeterince gözlemlene ve önleme tedbirleri alınmadığı zaman havaya, toprağa ve suya karışma potansiyeline sahiptir. NTE minerallerinden bazıları, havayı, suyu, toprağı ve yeraltı suyunu pisletecek uranyum ve toryum gibi azımsanamayacak oranda radyoaktif elementler bulundurmaktadır. NTE'lerin insan sağlığına tesirlerini anlamak için daha detaylı gözlemler ve çalışmalar yapılmalıdır. Mesleki maruziyetli çalışanların iş mazilerine özgü patolojiler ile alakalı olarak vaka kontrol veya kohort çalışmalarından alınan epidemiyolojik veriler şu anda NTE ile alakalı mesleklerin büyük bölümü için yeterli değildir. İş sağlığı için, işçilere gelebilecek tehlikeleri değerlendirmek ve sağlık problemlerinin izlendiği NT düzeylerini ölçmek için daha derin çalışmalar idrak edilmelidir. NT'nin çevreci ve mesleki toksikoloji deneyleri, uygulamalardan çıkarılan değerlerin karşılaştırılması ve değerlendirilmesi için kararlaştırılan deney protokolleri ve kılavuzlarının ileri düzeylere çıkarılması sağlanmalıdır (Rim ve ark., 2013; Pagano ve ark., 2015; Balaram, 2019).

Tablo 1.4'te nadir toprak elementlerinin toksikolojik bilgileri verilmiştir.

Tablo 1.4. Nadir toprak elementlerinin toksikolojik bilgileri (Rim ve ark., 2013)

Element	Toksikolojik bilgi
Skandiyum	Elemental skandiyum toksik değildir ve skandiyum bileşiklerinin hayvan testi çok az yapılmıştır.
İtriyum	Suda çözünen itriyum bileşikleri hafif toksik olarak kabul edilirken, çözünmeyen bileşikleri toksik değildir.
Lantan	Hayvanlarda, lantan çözeltilerinin enjeksiyonu, hiperglisemi, düşük kan basıncı, dalağın dejenerasyonu ve hepatik değişikliklere neden olmaktadır.
Seryum	Seryum güçlü bir indirgeyici maddedir ve 65 ° C ila 80 ° C arasında havada kendiliğinden tutuşur. Seryum yangınlarından çıkan dumanlar zehirlidir.
Praseodimyum	Praseodimyum düşük orta seviyede toksiktir.
Neodimyum	Neodimyum düşük orta seviyede toksiktir, ancak toksisitesi tam olarak araştırılmamıştır.
Prometyum	Radyoaktivite dışında herhangi bir tehlikeye dair bulguya rastlanmamıştır.
Samaryum	Samaryumun çözünmeyen tuzları toksik değildir ve çözünür olanlar sadece hafif toksiktir.
Evropyum	Evropyumun diğer ağır metallere kıyasla özellikle toksik olduğuna dair net bir gösterge yoktur.
Gadolinyum	Serbest bir iyon olarak gadolinyum oldukça toksiktir.
Terbiyum	Diğer lantanitlerde olduğu gibi, terbiyum bileşikleri düşük orta derecede toksisiteye sahiptir, ancak toksisiteleri detaylı olarak araştırılmamıştır.
Disprosiyum	Disprosiyum klorür ve disprosiyum nitrat gibi çözünebilir disprosiyum tuzları, yutulduğunda hafif toksiktir. Bununla birlikte, çözünmeyen tuzlar toksik değildir.
Holmiyum	Diğer NT'lerde olduğu gibi, elementin düşük derecede akut toksisiteye sahip olduğu görülmektedir.
Erbiyum	Erbiyum bileşikleri düşük orta derecede toksisiteye sahiptir, ancak toksisiteleri detaylı olarak araştırılmamıştır.
Tulyum	Çözünebilir tulyum tuzları, büyük miktarlarda alındığında hafif toksik olarak kabul edilir, ancak çözünmeyen tuzlar toksik değildir.
İterbiyum	Tüm iterbiyum bileşikleri yüksek derecede toksiktir, cilde ve göze tahrişe neden olduğu bilinmektedir ve bazıları teratojenik olabilir.
Lutesyum	Lutesyum oksit tozu, solunması veya yutulması halinde toksiktir. Çözünebilir lutesyum tuzları hafif toksiktir, ancak çözünmeyen tuzlar toksik değildir.

NTE çıkarım işlemlerinden zenginleştirme evrelerine dek birçok tehlike barındıran maddeler etrafa saçılmaktadır ve bu da insanlar ve canlılar üzerinde olumsuz etkiler teşkil etmektedir. NTE elde etme çalışmalarından dolayı oluşan sorunlar canlılar ve yerel alanlar için yükselirken, önlemler ve tedbirler yetersiz kalmaktadır. Nadir toprak elementlerinin elde etme süreçleri, taşıma, zenginleştirme ve atık tasfiye adımları azımsanamayacak ölçüde çevresel ve mesleki tehlikelere sebebiyet vermektedir. Esas tehlike, ufak parçacıkların, atık suyun ve flotasyon kimyasallarının bir karışımı olan ve cevher konsantrasyonunda oluşan atıklardır. Birçok zaman, birçok NTE alanı, radyoaktif toz ve su emisyonları tehlikesini oluşturan radyoaktif maddeler bulundurmaktadır. Tozlu çalışma

ortamlarının yeterince tozlardan arındırılmaması, işçilerin olması gereken temizliğe ve kişisel koruma malzemelerini (solunum cihazları gibi) kullanmamaları veya işyerinde bu malzemelerin bulunmaması, maruz kalma ihtimalini yükseltmekte ve pnömokonyoz gibi akciğer bazlı hastalıklardan doğacak tehlikeyi arttırmaktadır. Literatürde yapılan araştırmalar ve mesleki olarak bu tehlikelere yakalanmalarda ulaşılan sınırlı bilgiler, NTE'nin akciğerlere, karaciğere ve beyine zarar verdiğini göstermektedir.

1.6. Antioksidan Sistem

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) meydana gelişini ve bunların oluşturdukları zararı engellemek için çeşitli savunma sistemleri mevcuttur. Bu sistemlere "antioksidan savunma sistemleri" ya da kısaca "antioksidanlar" denir. Serbest radikallere olan aşırı yüklenme canlı için risk teşkil eder. Fakat canlının işlevlerini yerine getirebilmesi ve hastalıklardan kendini koruyabilmesi için de bulunmaları gerekmektedir (Mei Chun ve KAO, 2004).

Antioksidanlar, organizmaların hücrelerine zarar verebilecek serbest radikaller ve zincir reaksiyonları üretebilen kimyasal bir reaksiyon olan oksidasyonu engelleyen bileşiklerdir. Tiyoller veya askorbik asit (C vitamini) gibi antioksidanlar bu reaksiyonları inhibe edebilir. Oksidatif stresi dengelemek için bitkiler ve hayvanlar, glutatyon gibi üst üste binen antioksidanların karmaşık sistemlerini sürdürür (Mei Chun ve KAO, 2004).

Antioksidan terimi aynı zamanda üretim sırasında sentetik kauçuk, plastik ve yakıtlarda oksidasyonu önlemek için veya gıda ve kozmetikte koruyucu olarak eklenen endüstriyel kimyasallar için de kullanılır.

Antioksidantların serbest radikallerden kaynaklı oksidasyonlara mani olduğu in vitro ve in vivo çalışmalarla gösterilmiştir. Yağda çözünebilen en mühim antioksidant E vitaminidir. C vitamini, elektron donörü gibi çalışarak, E vitamini radikalini tekrar redükleyerek E vitamini şekline getirir. Vitamin A ve beta-karoten bazı hallerde antioksidant gibi hareket eder. Bununla beraber biyoflavonoidler de antioksidant özelliğe sahiptir. Koenzim Q bir fenoldür ve o da birçok dokuda E vitamini gibi hareket eder. Lipoik asit ve glutatyon kükürt içerikli bileşiklerdir, hidrojen atomu donörü gibi hareket ederek fenollere benzer işlevleri yerine getirirler. Alfa tokoferol ve askorbik asit'in (vitamin C) sinerjistik olarak iş görüp lipozomal membranların oksidasyonunu önlediği tespit edilmiştir. Askorbik asit sulu radikalleri tutup sinerjistik olarak tokoferolle,

tepkimeye girdiğinde meydana gelen tokoferoksil radikalini tokoferole rejenere eder (Kahraman ve Çakar, 2003; Mei Chun ve KAO, 2004).

Antioksidanlar 4 farklı türde etkinlik gösterirler;

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları yakalama veya daha zayıf yeni moleküle dönüştürme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu şekilde etki gösterirler.

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif tipe çevirme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir işlev sağlarlar.

Serbest oksijen radikallerini tutarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

Serbest radikallerin oluşturdukları tahribin onarılması onarıcı etkidir (Misra ve Ajay, 2006).

1.7. Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Glutasyon, aerobik yaşamın çoğu formunda bulunan sistein içeren bir peptittir (Master ve Anderson, 1983). Glutasyon, sistemin kısmındaki tiyol grubu bir indirgeyici ajan olduğundan ve tersine çevrilebilir şekilde oksitlenip indirgenebildiğinden antioksidan özelliklere sahiptir (Meister, 1994).

Glutasyon S-transferazlar (GST), EC 2.5.1.18 kodlu ve her biri iki alt üniteden oluşmuş bir enzim familyasıdır (Denklem 1.1). Glutasyon S-transferazlar (GST), ilk başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma sistemini meydana getirirler(Sarılmaz, 2000).



Denklem 1.1. GST reaksiyonu (Gülbayzar, 2006)

Glutasyon S-transferazlar (GST) katalitik ve katalitik olmayan birçok kabiliyetleri vardır. Bunlar detoksifikasyon yaparlar ve de hücre içi tutucu ve nakil görevleri vardır.

GST' lar, karaciğerde sitokrom P450 enzim mekanizması yardımıyla reaktif ara ürünlere çevrilirken yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara transformasyonlarını katalizlerler (Sarılmaz, 2000).

1.8. Katalaz (CAT)

Góth ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmalarda katalaz enzimi, hidrojen peroksit metabolizmasının ana düzenleyicisi gibi görünmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit toksik bir ajandır, düşük konsantrasyonlarda ise hücre proliferasyonu, apoptoz, karbonhidrat metabolizması ve trombosit aktivasyonunda sinyalleşme gibi bazı fizyolojik süreçleri modüle ettiği görülmektedir.

Katalaz içerisinde 4 adet hem grubu olan bir hemoproteindir. Katalaz aslen peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene indirger (Denklem 1.2) (Karabal ve Yücel, 2003).

Hidroksil radikallerinin meydana gelmemeleri için hidrojen peroksiti suya ayırıştırır. SOD yardımıyla dismutasyon reaksiyonlarında meydana gelen hidrojenperoksit molekülünün çok zararlı olan hidroksil radikallerine çevrilmesi katalaz veya glutation peroksidaz (GPX) yardımıyla engellenmektedir. Hidrojen peroksit oluşumunun yüksek olduğu peroksizomlarda ve mitokondride, bu üretimi sınırlamakla yükümlü olan GPX ve katalaz vardır (Sarılmaz, 2000).



Denklem 1.2. Katalaz reaksiyonu (Gülbayzar, 2006)

1.9. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz süperoksit serbest radikalının (O₂ ·⁻) hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene (O₂) çevrimini katalizleyen antioksidan enzimdir (Denklem 1.3). Hücrede mitokondride kendiliğinden var olan bir enzimdir. Süperoksit radikallerini daha az reaktif olan hidrojen peroksit şekline dönüştürürler. Süperoksit dismutaz (SOD) mekanizması, süperoksit anyonunu dismutasyona uğratarak organizmayı savunmaktadır. Süperoksit anyonu serbest radikallerin bulunduğu zincir reaksiyonların güçlü bir

tetikleyicisi olduğundan SOD, oksidatif strese karşı primer savunma sistemini var etmektedir (Kahraman ve Çakar, 2003; Misra ve Ajay, 2006).

SOD aktivitesinin hücre içi dağılımı ilk olarak karaciğerin fraksiyonlanmasıyla araştırıldığında, sitozolün bir Cu, Zn-SOD ve mitokondriyal matrisin bir Mn-SOD içerdiği görüldü. Mitokondrinin zarlar arası boşluğunda ve çekirdeklerde Cu, Zn-SOD görüldü. Cu, Zn-SOD'un sitozolik lokalizasyonu ve Mn-SOD'un mitokondriyal lokasyonu daha sonra kolloidal altın immünohistokimyası ve elektron mikroskobu vasıtasıyla doğrulandı. Bununla birlikte, mitokondrinin zarlar arası boşluğunda Cu, Zn-SOD varlığı sorgulandı ve lizozomlarla kontaminasyonuna bağlandı (Misra ve Ajay, 2006).



Denklem 1.3. SOD reaksiyonu (Kehler ve Smith, 1994)

1.10. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine, GSH) ara metabolizma, kataliz ve taşıyım dahil biyolojik süreçlerde rol üstlenen suda çözünür bir tripeptiddir (Bannai ve Tateishi, 1986). Aynı zamanda endojen bir antioksidan olarak görev yapan GSH serbest oksijen radikallerini nötralize ederek reaktif oksijen çeşitlerine karşı vücudu korur (Milne ve ark., 1993; Brezeninska-Slebozinska ve ark., 1995). Ayrıca bağışıklık sisteminin normal çalışması için esansiyel olup lenfositleri aktive ederek bağışıklık sistemini kuvvetlendirir (Li ve ark., 2007). Karaciğer, böbrek ve bağırsak gibi ksenobiyotiklere maruz kalan organlarda yüksek konsantrasyonlarda vardır (Jewell ve O'Brien, 1999).

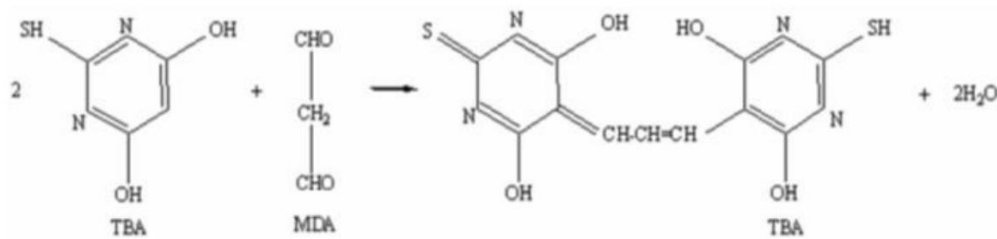
1.11. TBARS

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan Malondialdehit (MDA), kimyasal olarak aktif bir moleküldür, çevre hücre ve dokulara kolayca difüze olarak moleküler düzeyde, özellikle proteinler üzerinde zararlı olabilir (Parantainen ve ark., 1986; Nielsen ve ark., 1997). MDA, kanser, psikiyatri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, astım veya kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok sağlık sorununda oksidatif stresin en sık kullanılan

biyobelirtecidir (Khoubnasab ve ark., 2015). Malondialdehit, bir Schiff bazı oluşturmak için iki amin grubu ile tepkimeye girebilen bifonksiyonel bir aldehittir.

MDA üç ya da daha fazla çift bağ bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelir. MDA düzeyi lipid peroksidasyonunun yaygınlığı ile korelasyon gösterir (Cochrane, 1991). MDA tiyobarbitürik asit (TBA) ile tepkimeye girdiğinden, lipid peroksidasyon düzeyi TBARS şeklinde belirtilir (Knight ve ark., 1988). MDA'nın proteinlerle çapraz bağ meydana getirmesi ile birlikte ilgili proteinin işlevleri (örneğin, iyon taşıma özellikleri ve enzim aktivitesi) hasara uğrar.

MDA, çabucak difüze olabildiğinden DNA'nın azotlu bazlarıyla da tepkimeye girerek yapılarını bozar (Draper ve Hadley, 1990). Malondialdehit, in vivo enzimatik LPO ürünü olarak meydana geldiği gibi prostaglandin metabolizmasında siklooksijenaz tepkimesinin ürünü olarak da oluşmaktadır. E vitamini eksikliği, demir veya karbonditetraklorüre maruziyet gibi LPO'nu indükleyen zamanlarda ve dokuların PUFA açısından çeşitli olduğu yerlerde total MDA atılımı fazlalaşır (Halliwell ve Gutteridge, 1988; Grievink ve ark.,1998). MDA veya tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) tekniği, 1950'lerden bu yana membran ve biyolojik mekanizmalarda lipid peroksidasyonunu tahmin etmek için sıklıkla olarak kullanılmıştır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun ikincil son ürünü olan MDA, 532 nm'de bir absorbansa sahip bir pembemsi-kırmızı kromojen bir ürün veren, asit katalizli nükleofilik ekleme tepkimesi yoluyla iki tiyobarbitürik asit (TBA) molekülü ile tepkimeye girer (Şekil 1.11) (Kappus ve Sies, 1981). TBARS testi basit, maliyeti düşük ve hızlı sonuç vermesi sebebiyle ön plandadır.



Şekil 1.5. Tiyobarbitürik asitin MDA ile reaksiyonu (Kappus ve Sies, 1981)

Önceleri MDA testinde ölçülen MDA miktarının tümünün LPO sırasında olduğu düşünülmekteydi. Ancak deney sırasında (özellikle ısıtma ve ortamı asidik yapma) gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda bir miktar daha MDA açığa çıkabilir. Bu yüzden yöntem için TBARS adlandırması daha uygundur (Slater, 1984).

1.12. Çevre Kirliliğinin Antioksidan Sisteme Etkileri

Antioksidanların bir kısmı doğal olarak vücuda alınan antioksidanlardır. Gelişen teknoloji, sanayi, birçok hizmet sektörünün var olması ile birlikte çevre kirliliğinin yoğun olarak yaşandığı dünyamızda bünyemize dışarıdan ve doğal olarak aldığımız antioksidanlar da payına düşeni alırlar. Bu antioksidanlar çeşitli meyve ve besinlerden alındığı için yanlış ilaçlamalar, toprağın kirlenmesi ve havanın kirlenmesi bu tür besinlerin de yapısının bozulmalarını ve antioksidan özelliklerinin değişmesine sebep olurlar. Dolayısıyla çevrenin kirlenmesi insanların da antioksidan savunma sistemlerine olumsuz etkiler yaratacaktır.

1.13. Model Canlı Olarak Kullanılan *Phanerochaete chrysosporium*

Phanerochaete chrysosporium, beyaz selülozu neredeyse hiç dokunmadan bırakırken bol aromatik polimer lignini parçalama özel yeteneği nedeniyle model beyaz çürüklük mantarıdır. *Phanerochaete chrysosporium*, ligninin karmaşık üç boyutlu yapısını metabolizması tarafından kullanılabilecek bileşenlere ayırmak için hücre dışı enzimler salgılar. Hücre dışı enzimler, lignin bağlarını parçalamak için kullanılan spesifik olmayan oksitleyici maddelerdir (hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri) (Burdsall, 1974).

Phanerochaete chrysosporium'un özel bozunma yetenekleri nedeniyle, kapsamlı araştırmalar, çeşitli kirleticilerin biyolojik olarak iyileştirilmesini geliştirmek için mekanizmayı anlamının yollarını arıyor. Bu nedenle, *Phanerochaete chrysosporium*, Basidiomycetes'in eksiksiz genom dizilimine sahip ilk üyesidir (Martinez, 2004).

Genom Yapısı; *Phanerochaete chrysosporium*'un genomu, on lineer kromozomda düzenlenmiş yaklaşık 29.6 milyon baz çiftinden oluşur (Martinez, 2004).

Doddapaneni ve ark., (2005) yaptıkları çalışmalara göre genomik analiz, organizmalar hakkında yapısal, karşılaştırmalı ve işlevsel bilgiler sağlar. *Phanerochaete chrysosporium*'un biyoteknoloji alanındaki önemi, poliaromatik parçalayıcı hücre dışı enzimin üretiminde yer alan karmaşık protein etkileşimleri ve farklı bileşenler hakkında

bilgi sağlamak için P450 monooksijenaz genlerinin analizine yol açar. P450 genlerinde, bu organizmanın çeşitli metabolik aktivite evrimini açıklayabilen, transkripsiyon sırasında alternatif ekleme mekanizmalarını öneren mikroeksonlar tespit edildi.

Hücre yapısı ve metabolizma; *Phanerochaete chrysosporium*, mantar yapısı yerine yassı kaynaşmış üreme meyve gövdeleri oluşturan bir kabuk mantarıdır. Bu mantarlar, sıkıntılı zamanlarda daha güçlü bir savunma hattı sağlayan ilginç bir bölmeli hifa modeli sergiler. Hif ağı, çapları 3-9 µm arasında değişen bazı dallara sahiptir. Hiflerin uçlarında, 50-60 µm arasında değişen kalın duvarlı sporlar olan klamidosporeler bulunur. Conidiophore, çapı 6-9 µm olan yuvarlak aseksüel blastokonidiya yol açar (Burdall, 1985; Nakasone, 1990).

Lignin ve kirleticilerin parçalanması hücre dışı enzimlerin üretimi ile mümkün olur. Lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz gibi bileşenler, çeşitli pestisitlerin, poliaromatik hidrokarbonların, PCB'lerin, TNT'nin, karbon tetrakloridin ve çeşitli zehirlerin iyileştirilmesinde rol alır (Scow, 2008).

Phanerochaete chrysosporium'un orta ila yüksek sıcaklıklarda, özellikle 40 santigrat derecedeki sürdürülebilirliği nedeniyle, bu beyaz çürüklük mantarı Kuzey Amerika'dan Avrupa bölgelerine ve İran'a kadar uzanan ormanlarda bulunabilir (Burdall, 1985). Üstlendiği ana rol, çeşitli ağaç ve bitkilerden kompleks ligninin parçalanmasıdır. Bu süreç, lignini daha az karmaşık moleküllere indirger ve bitkilerin ayrıştırıcı döngüsünü korur.

Seigle-Murandi ve ark., (1996) tarafından yapılan çalışmalara göre son araştırmalar, bu mantar türü ile bağlantılı olarak bulunan belirli bir bakterinin ilişkisini ortaya çıkarmıştır. *Agrobacterium radiobacter*, mantarlarla birlikte var olduğu ve ayrılması çok zor olduğu için izole edildi.

Bakterilerin ve mantarların fizyolojik olarak birbirlerini nasıl etkilediğinin keşfi henüz kesin değildir ancak daha fazla araştırma, karşılıklılık ve bunun biyo-düzenleme üzerindeki etkisi hakkında daha fazla kanıt sağlayabilir.

Phanerochaete chrysosporium, ölü bitkilerin odunu kısımlarını organik olarak parçalayabilen saprofitik bir mantardır. Bu nedenle, ölme sürecinde olan veya ölü olan bitkiler, *P. chrysosporium* için optimal bir substrat görevi görür. Semptomlar, bitki yapısından ligninin kaybolması nedeniyle beyaz selüloz lekeleri içerebilir. Bu mantar bilinen bir insan veya hayvan patojeni değildir.

Blanchette ve ark., (1987) tarafından yapılan çalışmalara göre *Phanerochaete chrysosporium*, hücre dışı enzimler aracılığıyla zararlı kimyasalları biyolojik olarak bozundurması nedeniyle yararlı olmakla kalmayıp, saf beyaz selüloz bırakma özelliği de kağıt endüstrisinde önemli olmuştur. Biyopulplama, bu mantarın doğal olarak yaptığı kahverengi lignini çıkarmak için makinelerin kullanımını ortadan kaldırırken, arkada kalan selülozu ağartırken, kağıt seri üretimine girer. Bu doğal alternatifin dahil edilmesi, daha önce bu iş için tasarlanmış makinelerin ürettiği kirlilik miktarını sınırlayacak ve ayrıca kağıdın ağartılması için kullanılan kimyasalların miktarını azaltacaktır.

Kirk ve ark., (1992) tarafından yapılan çalışmalara göre biyo hamur endüstrisinde *P. chrysosporium* kullanımına ilişkin bazı sınırlamalar arasında, kağıt hamurunun nispeten düşük değerli bir ürün olduğu ve mantarların havalandırılmasının pahalı olabileceği, birçok mantarın düşük büyüme oranlarına sahip olduğu,ve büyük talaşlar difüzyona dirençlidir.

Biz de yapacağımız bu çalışmada seryum toksisitesinin belirlenmesinde model canlı olarak *Phanerochaete chrysosporium* 'un kullanılabilirliğine bakacağız.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Çalışmada Kullanılan Fungus

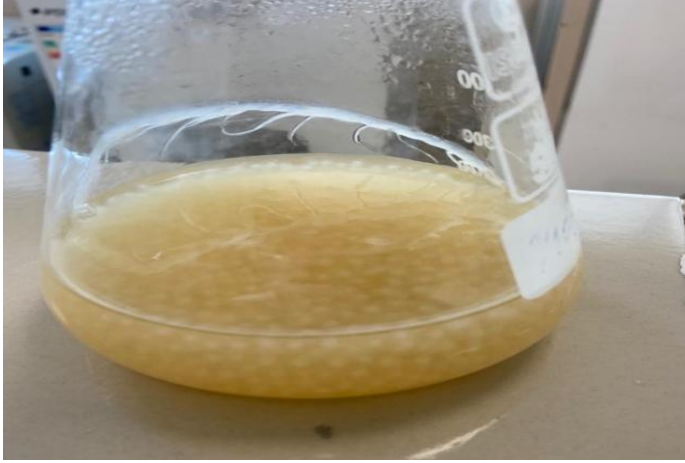
Çalışmamızda Üniversitemiz Mühendislik Fakültesi, Çevre Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda mevcutta bulunan beyaz çürükçül mantar *Phanerochaete chrysosporium* (ME446) kullanılmıştır.

2.2. Fungus Stok Kültürü

Petri kaplarında %2'lik Sabouraud Dekstroz Agar katı besiyeri ortamında bulunan bu ana stok *P. chrysosporium* kültürü, aylık peryotlarla yenileme amaçlı pasajlanarak deneysel çalışmada kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.3. İnokülasyon için Fungus Peletlerinin Eldesi

Bu *P.chrysosporium* stok kültürden steril şartlarda laminar flow içerisinde cam tüp yardımı ile 1 cm çapında 2'şer plak alınarak 250 ml lik erlen içerisinde 200 ml SDB içeren besiyeri ortamına eklenmiştir. Bu ortam 27 °C de 150 rpm ye ayarlanmış orbital çalkalayıcılı inkübatöre konulmuştur. 7 günlük inkübasyon sonunda uygulama ortamlarına transfer edilecek inokülasyon için kullanılacak olan ıslak peletler elde edilmiştir.



Şekil 2.1. Elde edilen ıslak peletler

2.4. Deneysel Uygulama Ortamlarının Hazırlanması

Çalışmada 4 farklı uygulama grubu oluşturulmuştur (Tablo 2.1). Her bir uygulama grubunda deneysel çalışmalar 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Tablo 2.1. Deneysel uygulama ortamları

Grup Adı	Ortam
X (kontrol)	Seryum içermeyen saf su + 5 g <i>P. chrysosporium</i> ıslak peleti
Y	0,5 mg/L seryum içeren safsu + 5 g <i>P. chrysosporium</i> ıslak peleti
Z	1 mg/L seryum içeren saf su + 5 g <i>P. chrysosporium</i> ıslak peleti
T	2 mg/L seryum içeren saf su + 5 g <i>P. chrysosporium</i> ıslak peleti

X (kontrol) grubunda, 200 ml seryum içermeyen distile su 250 ml'lik erlenlere konuldu.

Y grubu, 0,5 mg/L seryum içeren 200 ml distile su 250 ml'lik erlenlere konuldu.

Z grubu, 1 mg/L seryum içeren 200 ml distile su 250 ml'lik erlenlere konuldu.

T grubu, 2 mg/L seryum içeren 200 ml distile su 250 ml'lik erlenlere konuldu.

Daha sonra tüm bu uygulama gurupları 121°C'de 15 dakika boyunca JSR marka JSAT-80 model otoklav kullanılarak steril hale getirildi. Oda sıcaklığına gelinceye kadar Heal force marka HF-safe 1200 model laminar flow içerisinde Fungus inokülasyonu öncesinde soğuması beklendi.



Şekil 2.2. İnokülasyon için laminar flow içerisinde soğuması beklenen uygulama ortamları

2.5. Uygulama Ortamlarına Fungus inokülasyonu

Laminar flow içerisinde soğutulan bu ortamların her biri 3 tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan *P.chrysosporium* ıslak peletlerin elde edildiği kültür ortamından steril şartlarda 5 g alınarak X, Y, Z ve T uygulama ortamlarına steril şartlarda inoküle edilmiştir. İnokülasyon sonrası inkübasyon için tüm ortamlar 27°C’de 150 rpm de çalışan orbital çalkalamalı soğutmalı inkübatöre konulmuştur.



Şekil 2.3. Uygulama ortamlarına ıslak peletlerin eklenmiş hali



Şekil 2.4. Islak peletlerin eklendiği uygulama ortamlarının çalkalayıcı inkübatöre alınması

2.6. İnkübasyon Sonrası Fungusların Ortamdan Alınması

İnkübasyonun 24 ve 48. saatlerin sonunda steril kabin içerisinde uygulama gruplarına ait tüm erlen içeriği süzülerek Fungus peletleri alınmış ve falkon tüplere konulmuştur. Falkon tüp içerisindeki numuneler analiz işlemine geçilinceye kadar -20 °C de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.7. Peletlerin Homojenizasyonu ve Süpernatant Eldesi

Antioksidan enzim aktivitelerini belirlemek için elde edilen 0.5 mg ıslak pelet 5-10 ml soğuk tampon içerisinde (0.1 M fosfat tamponu (pH 7.0) 0.5 mM EDTA) homojenize edilmiştir. Daha sonra 10000 g'de 15 dk 4°C'de santrifüj edilerek edilen süpernatantlar enzim aktiviteleri ölçülünceye kadar - 80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada nadir toprak elementi olan seryumun farklı dozlarına maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'un Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon S-Transferaz (GST) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) seviyeleri belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Nadir toprak elementi Seryum’a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan parametreler ile Lipid Peroksidasyon seviyelerindeki değişimler

GSH(μM)	24.saatt	48.saatt
KONTROL(X)	14,20±1,13 ^a	15,33±0,05 ^a
0,5(Y)	9,16±0,88 ^b	9,17±0,65 ^b
1(Z)	3,04±0,59 ^c	7,91±0,41 ^{b*}
2(T)	7,64±0,59 ^b	2,64±0,74 ^{c*}
SOD(U/mL)	24.saatt	48.saatt
KONTROL(X)	0,029±0,002 ^a	0,0146±0,002 ^{b*}
0,5(Y)	0,0135±0,00029 ^c	0,0266±0,004 ^{a*}
1(Z)	0,0190±0,002 ^b	0,022±0,0005 ^{ab}
2(T)	0,0307±0,0006 ^a	0,002±0,0002 ^{c*}
CAT(nmol/min/mL)	24.saatt	48.saatt
KONTROL(X)	34,44±0,31 ^a	17,73±2,64 ^{b*}
0,5(Y)	14,27±0,74 ^b	15,51±2,09 ^b
1(Z)	13,80±1,14 ^b	16,34±1,89 ^b
2(T)	17,98±3,25 ^b	15,48±0,64 ^b
TBARS((μM))	24.saatt	48.saatt
KONTROL(X)	4,65±0,18 ^c	5,64±0,13 ^b
0,5(Y)	4,64±0,12 ^c	6,99±0,94 ^b
1(Z)	6,66±0,38 ^b	7,40±0,72 ^b
2(T)	10,71±0,13 ^a	19,92±2,06 ^{a*}
GST (Unit)	24.saatt	48.saatt

KONTROL(X)	13,60±1,80 ^{bc}	9,55±0,21 ^b
0,5(Y)	30,46±4,03 ^a	24,21±4,79 ^a
1(Z)	20,53±0,42 ^b	3,93±0,30 ^{c*}
2(T)	10,04±0,38 ^c	4,84±0,34 ^{c*}

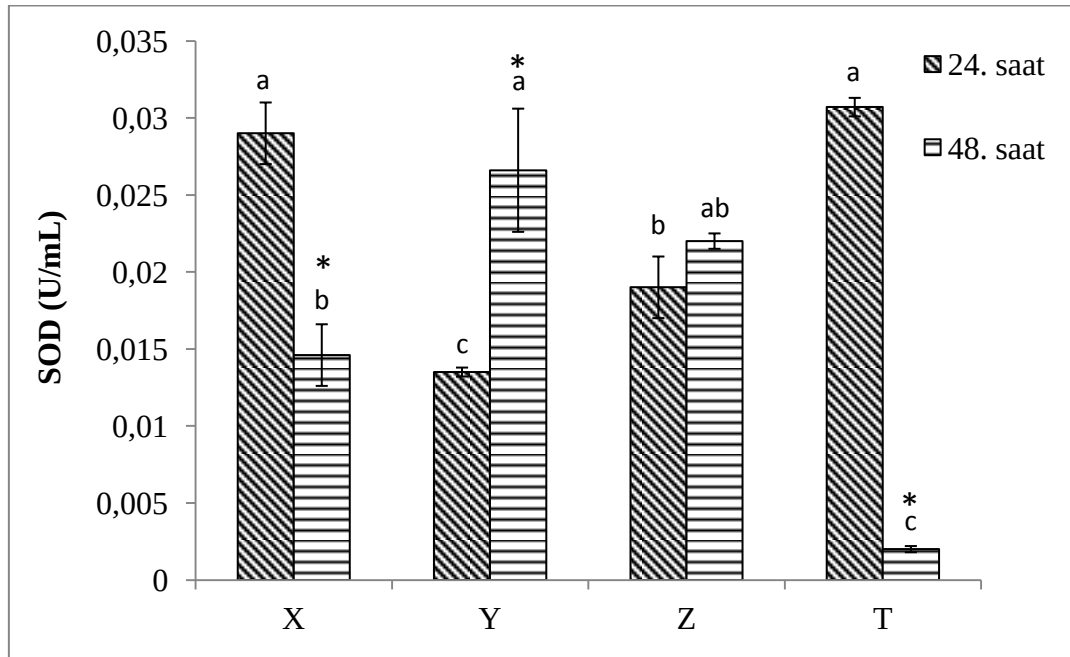
*Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve alt simgedeki * ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 48. saatler) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.

3.1. Enzimatik Antioksidanlar

3.1.1. SOD aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da SOD aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. SOD aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 48. saatlerde tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. ($p < 0.05$).

Maruz kalma süreleri karşılaştırıldığında ise; istatistiksel olarak Z ve T grupları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo-3.1) (Şekil-3.1).

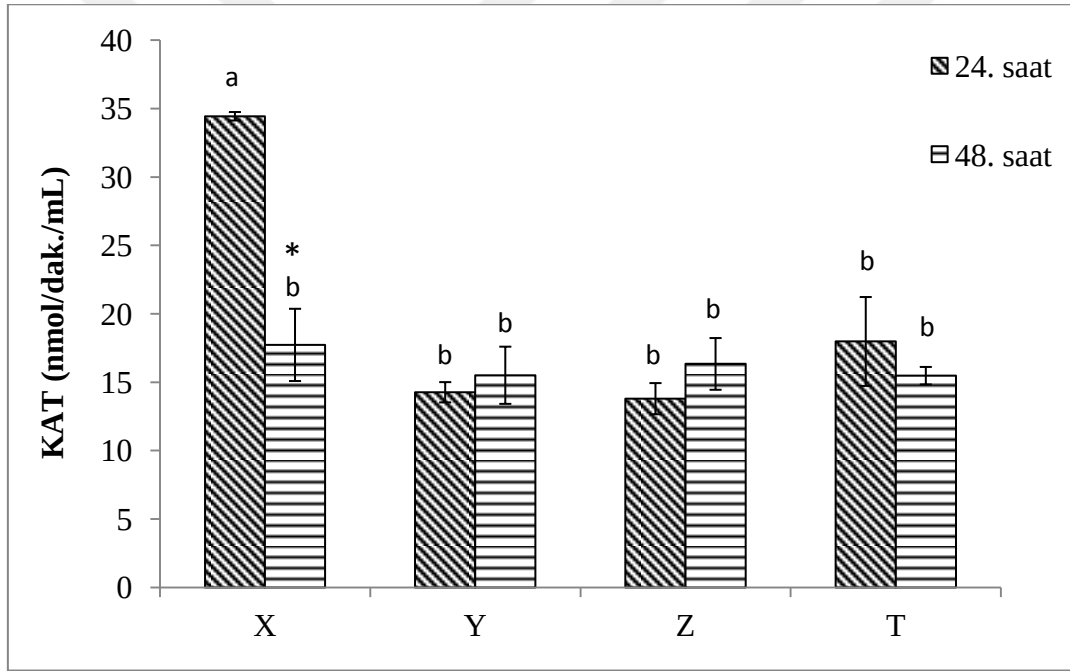


Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da SOD (U/mL) enzim aktivitesindeki değişiklikler

3.1.2. CAT Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da CAT aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı dozlarına Seryuma maruz kalan tüm gruplarda KAT aktiviteleri 24. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında anlamlı oranda azalmış ($p < 0.05$), ancak 48. saat sonrasında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$).

Farklı uygulama sürelerinin CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$) (Tablo-3.1) (Şekil-3.2).



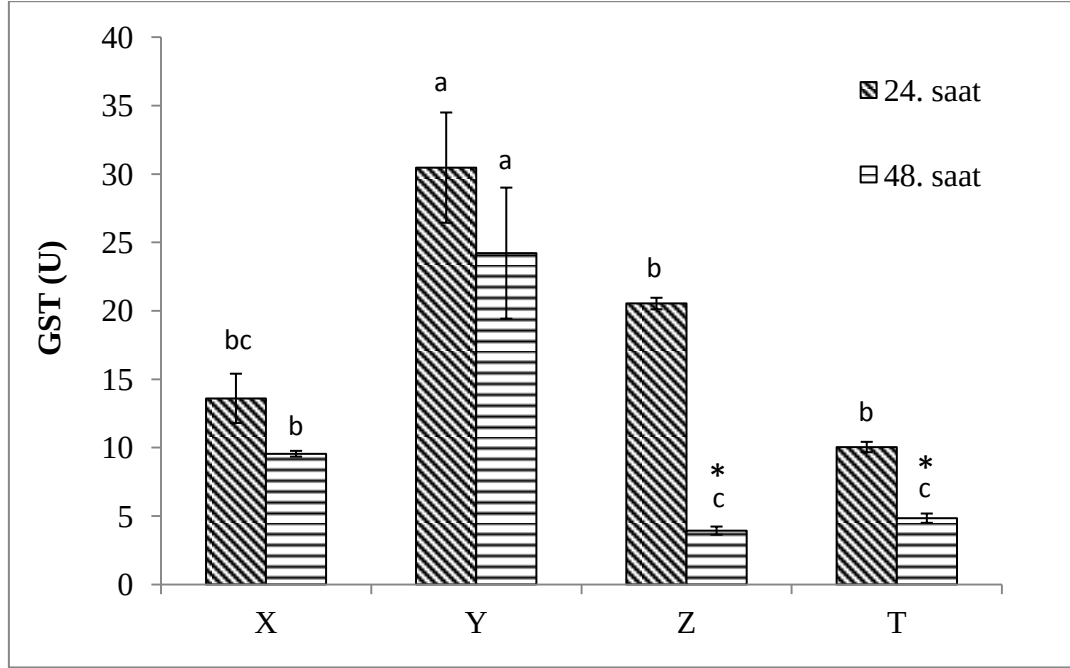
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete Chrysosporium*'da KAT (nmol/dak./mL) enzim aktivitesindeki değişiklikler

3.1.3. GST Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da GST aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Farklı Seryum dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GST aktiviteleri 24. saatte Y ve Z gruplarında istatistiksel olarak

analamlı düzeyde artmış ancak 48 saat uygulama sonrasında Z ve T gruplarında önemli düzeyde azalmıştır. ($p<0.05$) (Tablo-3.1) (Şekil-3.3).

Maruz kalma süreleri karşılaştırıldığında ise; istatistiksel olarak Z ve T grupları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ($p< 0.05$) (Tablo-3.1) (Şekil-3.3).



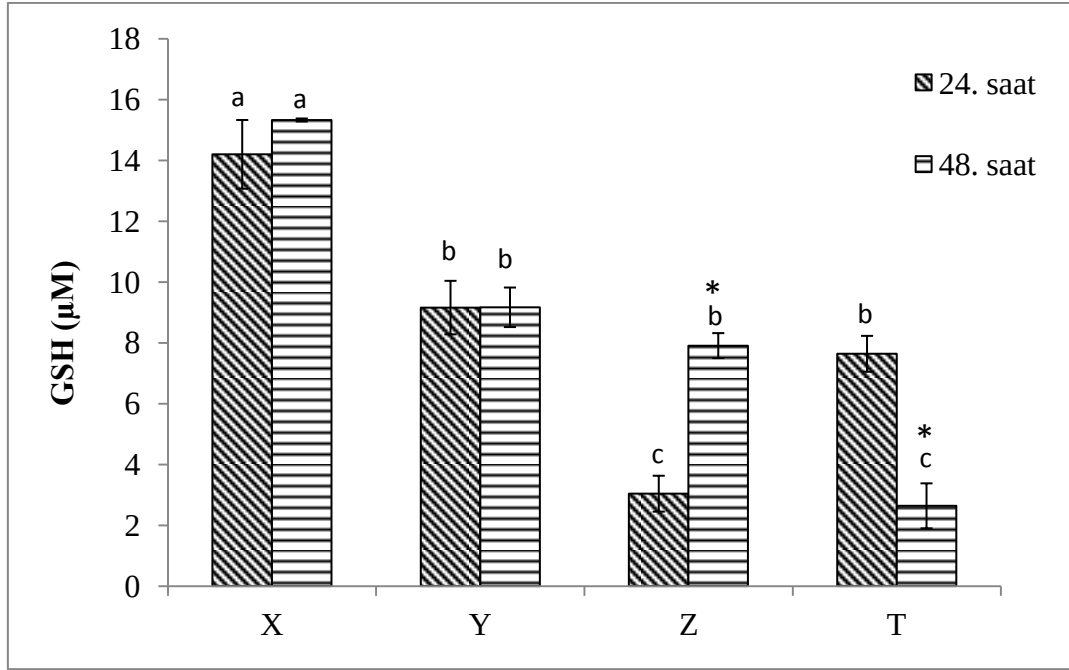
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da GST (U) enzim aktivitesindeki değişiklikler

3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.2.1. GSH düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da GSH aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. GSH düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 48. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında gruplarında azalmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Maruz kalma süreleri karşılaştırıldığında ise; istatistiksel olarak Z ve T grupları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ($p< 0.05$) (Tablo-3.1) (Şekil-3.4).



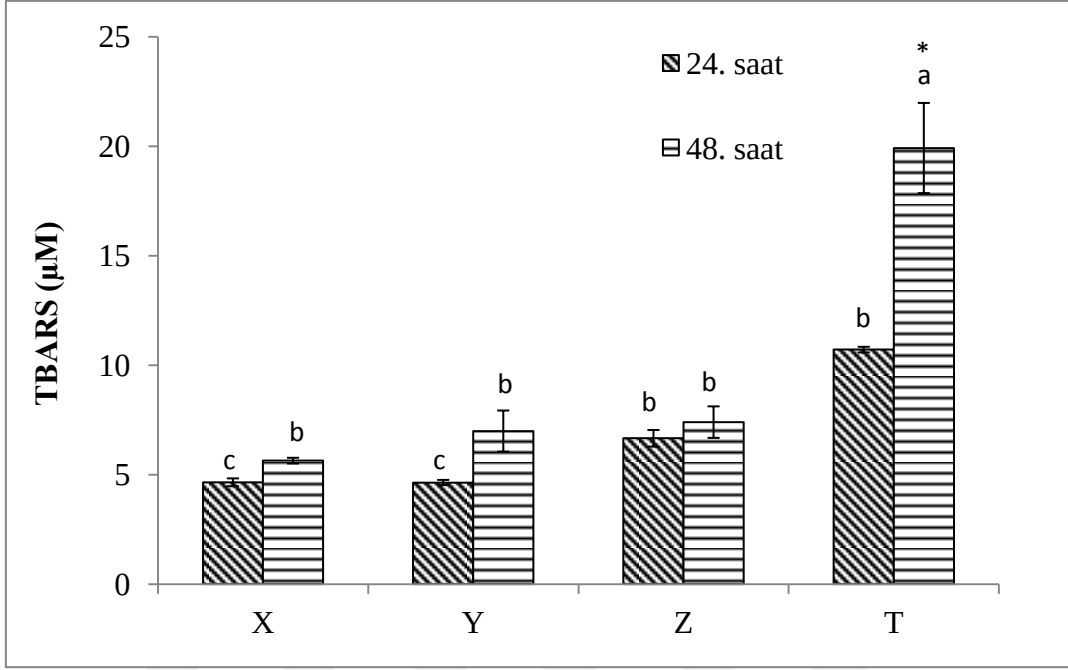
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da GSH (μM) düzeyindeki değişiklikler

3.3. TBARS Seviyeleri

Farklı konsantrasyonlarda nadir toprak elementi Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'da GSH aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

TBARS düzeyleri 24. saat sonrasında Z ve T gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmış saptanmıştır ($p < 0.05$). TBARS düzeylerinde ise; 48. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmış saptanmıştır ($p < 0.05$).

Farklı maruz kalma zamanlarında ise TBARS düzeylerinde anlamlı farklılıklar bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki Seryum'a maruz kalan *Phanerochaete Chrysosporium*'da TBARS (μM) düzeyindeki değişiklikler

Yaptığımız çalışmadaki bulgularımızı diğer çalışmalar ile kıyaslayacak olursak;

Garaud ve ark., (2015) tarafından yapılan çalışmada Seryum dioksit nanoparçacığının (nCeO₂) iki tatlı su omurgasız, *Dreissena polymorpha* ve *Gammarus roeseli* üzerindeki ölümcül etkilerinin çoklu biyobelirteç kullanarak araştırmışlardır. *Dreissena polymorpha* ve *Gammarus roeseli*'de GPx, CAT ve GST enzim aktivitesindeki değişiklikler araştırılmıştır. *D. polymorpha*'daki katalaz aktiviteleri, kontrole kıyasla her iki konsantrasyonda da nCeO₂ maruziyeti ile önemli ölçüde azalmıştır. Gamaridlerde, GST ve GPx aktiviteleri, nCeO₂ maruziyetinden önemli ölçüde etkilenmemiştir.

Badri ve ark., (2017) tarafından yapılan çalışmalara göre Lantanyum ve Seryum tarafından indüklenen toksikolojik etkiler ve ultrastrüktürel değişiklikler Wistar sıçanlarının yumurtalık ve uterusunda çalışılmıştır. Deneysel araştırmalarımız, uterusun ultra ince bölümlerinde ve hamile kontrol dişilerin yumurtalıklarında intralizozomal inklüzyon olmadığını ortaya çıkarmıştır.

Sarkar ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada bisfenol tmaruziyeti sonrası oluşan Oksidatif strese karşı seryum oksit nanoparçacıklarının rolünü *Drosophila melanogaster*'da araştırmışlardır. Seryum Oksit nanoparçacıkları (CeO₂ NP), antioksidan özelliğinin olduğu ve oksidatif stresi düzeltme etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Wan ve ark., (2015) yaptıkları çalışmada *Phanerochaete chrysosporium*'un Kurşuna bağlı Oksidatif Stres toksisitesini araştırmışlardır. Sonuçlar *P. Chrysosporium*'un kurşun kaynaklı stresli durumlara oksidan-antioksidan prosesi düzenleyerek uyum sağlayabildiğini oksidanlar ile antioksidanlar arasında dengeyi koruyabildiğini göstermiştir.

Mohammadi ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada Seryum oksit nanoparçacıkları (CeO_2 -NP'ler), tuzluluk stresi altında *Dracocephalum moldavica* L.'nin büyüme parametrelerini ve antioksidan savunma sistemini iyileştirdiğini bulmuşlardır.

Park ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada kültürlenmiş BEAS-2B hücrelerinde seryum oksit nanoparçacıklarının neden olduğu oksidatif stres araştırılmıştır. Kültürlenmiş hücrelerin nanopartiküllere (5, 10, 20, 40 g/ml) maruz kalması, hücre ölümü, ROS artışı, GSH azalması ve heme oksijenaz-1, katalaz, glutatyon gibi oksidatif stresle ilişkili genlerin indüksiyonuna neden olmaktadır.

Ma ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada seryum toksisitesini *Daphnia magna* üzerinde araştırmışlardır. Ce *Daphnia* üzerinde akut toksisiteye sahiptir. Ce için 24/48h EC50 16.4/10.7 μM . olarak bulunmuştur.

Kotelnikova ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada çözeltilerdeki ve toprak örneklerindeki La ve Ce'nin kök büyümesi, mitotik indeks (MI) ve anormal hücrelerin sıklığı (FAC), sitotoksikite testi için en uygun nesnelerden biri kullanılarak test edildi. Önemli en yüksek konsantrasyonda La ve Ce (200 mg/kg) içeren toprak numunelerinde sitotoksikite gözlenmiştir.

Liman ve ark., (2019) yapılan mevcut çalışmada, *Allium* ana-telofaz CeO_2 mikropartiküllerinin sitotoksik ve genotoksik etkilerini değerlendirmek için kuyruklu yıldız analizleri kullanılmıştır ve CeO_2 nanopartikülleri tarafından *Allium cepa*'nın kök meristem hücreleri üzerinde mitotik fazlar, mitotik indeks (MI), kromozomal sapmalar (CA'lar) ve DNA hasarı kullanarak araştırılmıştır.

Kumari ve ark., (2014) tarafından yapılan çalışmada akut oral maruziyetten sonra dişi Wistar sıçanlarında seryum oksit nanopartiküllerinin genotoksikite üzerine etkileri araştırılmıştır. Biyokimyasal analizlerden elde edilen bulgular, yalnızca yüksek doz CeO_2 nanopartiküllerinde karaciğer, böbrekler ve beyindeki serum ve GSH içeriğindeki ALP ve LDH aktivitesinde önemli değişiklikleri olduğunu göstermiştir.

Phanerochaete Chrysosporium'un menadion'a karşı antioksidan tepki mekanizmasını belirlenmiştir. Durağan fazdaki hücreler, farklı inkübasyon süreleri için

çoklu konsantrasyonda menadion ile muamele edilmiştir. Daha sonra menadion ile muamele edilmiş hücreler, hücre içi süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit seviyeleri, SOD, CAT, G6PDH, NADH, NADPH oksidaz enzim aktiviteleri, enerji metabolizması varyasyonları ve hücre membran peroksidasyonu ve protein oksidasyon seviyeleri açısından araştırılmıştır ve sonuçlar kontrol ile karşılaştırılmıştır. Araştırılan antioksidan enzimler, SOD, CAT ve G6PDH, menadion kaynaklı oksidatif strese önemli ölçüde yanıt vermiştir. SOD, CAT ve G6PDH enzimleri için kontrolden beş kat daha fazla bulunmuştur (Tongul, 2013).

Ağır metal kaynaklı oksidatif stresin beyazdaki enzimler üzerindeki etkisi *Phanerochaete chrysosporium*'da araştırılmıştır. Bu çalışmada kurşun ve kadmiyum kaynaklı katalaz (CAT), peroksidaz (POD), lignin peroksidaz (LiP) aktiviteleri ile mangan peroksidaz (MnP) aktiviteleri araştırılmıştır. Tüm enzim 50 µM kadmiyum ve 25 µM kurşuna maruz kaldıktan sonra aktivitelerinde zamana bağlı bir değişiklik gözlenmiştir. Hem kadmiyum hem de kurşun, CAT enzim aktivitesini inhibe etmiştir (Zhang, 2014).

Zeng ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada *Phanerochaete chrysosporium*'un Toksik Kirleticilere Tepkileri araştırılmıştır. Kadmiyum uygulaması sonrası Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve antioksidan seviyeleri arttığı gözlenmiştir. Düşük kadmiyum konsantrasyonlarında Süperoksit dismutaz aktivitesi ile malondialdehit seviyeleri ile iyi korelasyon göstermiştir. Ancak, test edilen en yüksek kadmiyum konsantrasyonunda bu korelasyonun azaldığı ve malondialdehit seviyelerinin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur.

Chen ve ark., (2014) tarafından yapılan çalışmada da Kadmiyum stresi altında *Phanerochaete chrysosporium*'da plazma zarı davranışı, oksidatif hasar ve savunma mekanizması araştırılmıştır. Sonuçlar, kadmiyumun lipidlerin katılaşmasına, H⁺-ATPaz aktivitesinde bir azalmaya ve lipid peroksidasyonu dahil olmak üzere plazma zarı hasarına neden olduğunu göstermiştir. Hücrel ölüm, mitokondri membran yıkımı ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile oksidatif stresin aracılık edebileceği ileri sürülmüştür. Hücrelerin bir kısmı ise antioksidan savunma sistemlerini (antioksidan ajanlar ve enzimler) aktive ederek hayatta kalabilmiştir.

Garcia ve ark., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada standartlaştırılmış testler kullanarak seryum oksit, titanyum oksit ve demir oksit nanoparçacıklarının akut toksisitesi araştırılmıştır. Sonuçlarımız, seryum nanopartiküllerinin tüm test setinde aşırı derecede toksik olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca biyoluminesans testi için çok düşük

konsantrasyonlarda %80'den yüksek inhibisyon gözlenirken, D. Magna'da LC50=0.012 mg/ml olarak tespit edilmiştir.

Paoli ve ark., (2014) yaptıkları çalışmada *Xanthoria parietina* likeninde seryumun alımı ve akut toksisitesini araştırmışlardır. Sonuçlar, seryumun akut toksisiteye neden olduğunu ve fotosenttetik performans da düşüşe ve yapısal değişikliklere neden olduğunu göstermiştir.

Zicari ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada *Lemna minör* L. bitkisini laboratuvar koşullarında büyütmüş ve artan konsantrasyonlarda seryum (Ce) iyonları bitkilere uygulanmıştır. Ce'nin bitki büyümesi ve antioksidan sistemlere etkileri araştırılmıştır. Düşük Ce 'ye maruz kalan bitkilerde büyümenin arttığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise; düşük klorofil ve karotenoid seviyelerine rastlanmış ve klorotik görünüm semptomlarına da rastlanmıştır. Artan hidrojen peroksit seviyeleri, antioksidan metabolitler ve antioksidan aktivite, daha yüksek Ce konsantrasyonlarının *L. minör* için toksik olduğunu doğrulamıştır.

Wu ve ark., (2019) yaptıkları çalışmada wistar sıçanlarında seryum nitrata 90 günlük oral maruz kalmanın toksik etkilerini araştırmışlardır. Mortalite, anormallikler, vücut ağırlığı, gıda tüketimi, hematoloji, serum biyokimyası, idrar tahlili, brüt otopsi ve histopatoloji gibi pekçok parametre değerlendirilmiştir. Dişi bireylerde artan lymph, ret % ve azalmış neut ve rbc erkek bireylerde ise, artmış alt, ast ve azalan alb, t-bil, cho, ck, ldh parametrelerine rastlanmıştır.

Forest ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada seryum oksit nanoparçacıklarının in vitro olarak hücresel toksisite üzerine etkilerini araştırılmışlardır. Seryum toksisitesi, laktat dehidrojenaz (LDH) salınımı, Tümör Nekroz Faktörü alfa (TNF- α), ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi gibi parametrelere bakılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre ROS üretimi olmadığı ancak doza bağlı olarak LDH salınımının ve TNF-a üretiminin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur.

Correia ve ark., (2019) yaptıkları çalışmada, kronik toksisiteyi karakterize etmek amacıyla 28 gün boyunca CeO₂-NP'lerin ekolojik olarak ilgili üç farklı konsantrasyonunun (0,1, 0,01 ve 0,001 μ g/L)'nunu kullanarak Oksidatif stresin biyobelirteçleri ve nörotoksisite üzerine etkisini gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'de araştırmışlardır. Glutatyon S-transferazlar (GST'ler) ve katalaz (CAT) ve asetilkolinesteraz enziminin aktivitesi (AChE)'indeki değişikliklerle ile karaciğer ve solungaçlardaki histolojik değişiklikler araştırılmış ve sonuçlara göre GST enzim aktivitesi en yüksek CeO₂-NPs

düzeyine maruz kalan balıkların solungaçlarında artmıştır. Ayrıca, balık karaciğerlerinde CAT aktivitesinde önemli bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, AChE balık gözlerinde önemli ölçüde değişmemiştir. CeO₂-NP'lere maruz kalan bireylerin de solungaçlarında epitelyal kaldırma, hücreler arası ödem, lamellerde hipertrofi ve hiperplazi, sekonder lamel füzyonu ve anevrizmalar ve karaciğerde. hepatosit vakuolizasyonu, piknotik çekirdek, sinüzoidlerin genişlemesi ve hiperemi görülmüştür.

Correia ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada üç farklı konsantrasyonda 0.25, 2.5 ve 25 mg/L CeO₂-NP'e akut maruziyetten (96 saat) sonra *Oncorhynchus mykiss*'in farklı organlarda/dokulardaki(solungaçlar, karaciğer ve böbrek) etkileri araştırılmıştır. Oksidatif stres yanıtı (katalaz - CAT; glutatyon S-transferazlar - GST'ler), lipid peroksidasyonu (tiobarbitürik asit reaktif maddeler - TBARS), Na⁺/K⁺- ATPaz aktivitesi, genotoksisite (genetik hasar indeksi - GDI) ve histopatoloji (organın patolojik indeksleri) parametreleri değerlendirilmiştir. En yüksek seviyeye maruz kalan balıkların solungaçlarında CAT aktivitesi artmış ve karaciğerinde azalmıştır. Ayrıca, GST'ler ve Na⁺/K⁺-ATPase aktiviteleri ve TBARS seviyeleri analiz edilen organlarda önemli ölçüde değişmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarında *Phanerochaete chrysosporium*'un model canlı olarak kullanılıp seryumun toksik etkisinin çalışıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışma alandaki ilk çalışmadır.

Yaptığımız bu çalışmada ise; TBARS düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla seryum uygulamasına bağlı olarak artmıştır. GSH düzeyleri ise; kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 48. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında azalmıştır. Farklı Seryum dozlarına maruz bırakılan tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GST aktiviteleri 24. Saatte artmış ancak 48 saat azalmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı dozlarına Seryum 'a maruz kalan tüm gruplarda KAT aktiviteleri 24. saat sonrasında tüm uygulama gruplarında anlamlı oranda azalmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar seryumun toksik etkisinin çalışılmasında *Phanerochaete chrysosporium*'un model canlı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada nadir toprak elementi olan seryumun farklı dozlarına maruz kalan *Phanerochaete chrysosporium*'un Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon S-Transferaz (GST) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) seviyeleri belirlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar a göre seryumun *Phanerochaete chrysosporium* üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve seryumun toksik etkisinin değerlendirilmesinde *Phanerochaete chrysosporium*'un model canlı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada kullanılan Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon S-Transferaz (GST) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) ve Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) seviyeleri gibi parametrelerin seryumun toksik etkilerinin değerlendirilmesinde uygun birer biyobelirteç olduğu gösterilmiştir.

Yine elde edilen sonuçlara göre; Uygulama sürelerininve uygulama dozlarının model canlı *Phanerochaete chrysosporium* üzerine toksik etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Çalışmamız sonucunda şu öneriler sunulabilir:

1. Seryum dışında başka nadir toprak elementlerinin toksik etkileri de çalışılmalıdır,
2. Farklı model canlılar üzerine kullanılarak bu tür çalışmalar zenginleştirilebilir,
3. Farklı biyobelirteçler kullanılarak seryumun *Phanerochaete chrysosporium*'a olan toksik etkisi daha kapsamlı araştırılabilir,
4. Seryumun bir kirletici olarak kontrolsüz deşarj edilmesinin önüne geçilmeli ve elde edilen bu biyokimyasal veriler göz önünde bulundurulmalıdır,
5. Daha sonra yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalarla seryum gibi nadir toprak elementlerinin arıtımı için hangi teknolojilerin uygun olduğu araştırılmalıdır,
6. Ayrıca *Phanerochaete chrysosporium*'un biyolojik iyileştirme çalışmalarında kullanıldığı gerçeğinden yola çıkarak nadir toprak elementlerinin *Phanerochaete chrysosporium* kullanılarak biyoremediasyonu araştırılabilir.

5. KAYNAKLAR

- Badri, N., Florea, A., Mhamdi, M., Matei, H., Tekaya, W. H., Bâati, R., Tekaya, L.,** 2017. Toxicological effects and ultrastructural changes induced by lanthanum and cerium in ovary and uterus of Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 44, 349-355.
- Balaram, V.,** 2019. Rare earth elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact. *Geoscience Frontiers*, 10(4), 1285-1303.
- Bannai, S., Tateishi, N.,** 1986. Role of membrane transport in metabolism and function of glutathione in mammals. *The Journal of membrane biology*, 89(1), 1-8.
- Blanchette, R. A., Otjen, L., Carlson, M. C.,** 1987. Lignin distribution in cell walls of birch wood decayed by white rot basidiomycetes. *Phytopathology*, 77(5), 684-690.
- Burdsall, H. H., Eslyn, W. E.,** 1974. A new *Phanerochaete* with a *chrysosporium* imperfect state. *Mycotaxon*, 1(2), 123-133.
- Burdsall Jr, H. H.,** 1985. A contribution to the taxonomy of the genus *Phanerochaete* (Corticaceae, Aphyllophorales). J. Cramer.
- Castor, S. B.,** 2006. Rare earth elements. *Industrial Minerals & Rocks*, 769-792.
- Chen, A., Zeng, G., Chen, G., Liu, L., Shang, C., Hu, X., Zhang, Q.,** 2014. Plasma membrane behavior, oxidative damage, and defense mechanism in *Phanerochaete chrysosporium* under cadmium stress. *Process Biochemistry*, 49(4), 589-598.
- Cochrane, C. G.,** 1991. Cellular injury by oxidants. *The American journal of medicine*, 91(3), S23-S30.
- Correia, A. T., Rodrigues, S., Ferreira-Martins, D., Nunes, A. C., Ribeiro, M. I., Antunes, S. C.,** 2020. Multi-biomarker approach to assess the acute effects of cerium dioxide nanoparticles in gills, liver and kidney of *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 238, 108842.
- Correia, A. T., Rebelo, D., Marques, J., Nunes, B.,** 2019. Effects of the chronic exposure to cerium dioxide nanoparticles in *Oncorhynchus mykiss*: Assessment of oxidative stress, neurotoxicity and histological alterations. *Environmental toxicology and pharmacology*, 68, 27-36.
- Doddapaneni, H., Chakraborty, R., Yadav, J. S.,** 2005. Genome-wide structural and evolutionary analysis of the P450 monooxygenase genes (P450ome) in the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: evidence for gene duplications and extensive gene clustering. *BMC genomics*, 6(1), 1-24.

- Draper, H. H., Hadley, M.,** 1990. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica*, 20(9), 901-907.
- Forest, V., Leclerc, L., Hochepied, J. F., Trouvé, A., Sarry, G., Pourchez, J.,** 2017. Impact of cerium oxide nanoparticles shape on their in vitro cellular toxicity. *Toxicology in Vitro*, 38, 136-141.
- Gao, F., Lu, Q., Komarneni, S.,** 2006. Fast synthesis of cerium oxide nanoparticles and nanorods. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 6(12), 3812-3819.
- Garaud, M., Trapp, J., Devin, S., Cossu-Leguille, C., Pain-Devin, S., Felten, V., Giamberini, L.,** 2015. Multibiomarker assessment of cerium dioxide nanoparticle (nCeO₂) sublethal effects on two freshwater invertebrates, *Dreissena polymorpha* and *Gammarus roeseli*. *Aquatic Toxicology*, 158, 63-74.
- García, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., González, E., Puentes, V., Sánchez, A.,** 2011. Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. *Desalination*, 269(1-3), 136-141.
- Grievink, L., Smit, H. A., Ocké, M. C., van't Veer, P., Kromhout, D.,** 1998. Dietary intake of antioxidant (pro)-vitamins, respiratory symptoms and pulmonary function: the Morgen study. *Thorax*, 53(3), 166-171.
- Góth, L., Rass, P., Páy, A.,** 2004. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis*, 8(3), 141-149.
- Gültekin, A. H., Örgün, Y.,** 2000. Kızılcaören (Sivrihisar-Eskişehir) yöresi tersiyer alkali volkanitlerle ilişkili nadir toprak elementli fluorit-barit yatakları. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi: A-Uygulamalı Bilimler ve Mühendislik*, 1(1), 85-94.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C.,** 1988. Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. *Human toxicology*, 7(1), 7-13.
- Jewell, C., O'Brien, N. M.,** 1999. Effect of dietary supplementation with carotenoids on xenobiotic metabolizing enzymes in the liver, lung, kidney and small intestine of the rat. *British Journal of Nutrition*, 81(3), 235-242.
- Kahraman, A., Çakar, H., Vurmaz, A., Gürsoy, F., Koçak, S., Serteser, M.,** 2003. Ağır egzersizin oksidatif stres üzerindeki etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 4(2).
- Kappus, H., Sies, H.,** 1981. Toxic drug effects associated with oxygen metabolism: redox cycling and lipid peroxidation. *Experientia*, 37(12), 1233-1241.
- Karabal, E., Yücel, M., Öktem, H. A.,** 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science*, 164(6), 925-933.

- Kehler, J. P., Smith, C. V.,** 1994. Free radical in biology: Sources, reactivities and roles in the etiology of human disease. Natural antioxidants in human health and disease. San Diego: *Academic Press*: 25-62.
- Khoubnasabjafari, M., Ansarin, K., Jouyban, A.,** 2015. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts: BI*, 5(3), 123-127.
- Kilbourn, B. T.,** 2000. Cerium and cerium compounds. *Kirk- Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 1-23.
- Kirk, T. K., Burgess, R. R., Koning, J. W.,** 1992. Use of fungi in pulping wood: an overview of biopulping research. *Frontiers in industrial mycology*, 99-111.
- Kotelnikova, A., Fastovets, I., Rogova, O., Volkov, D. S., Stolbova, V.,** 2019. Toxicity assay of lanthanum and cerium in solutions and soil. *Ecotoxicology and environmental safety*, 167, 20-28.
- Krishnamurthy, N., Gupta, C. K.,** 2015. *Extractive metallurgy of rare earths*. CRC press.
- Kumari, M., Kumari, S. I., Kamal, S. S. K., Grover, P.,** 2014. Genotoxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in female Wistar rats after acute oral exposure. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 775, 7-19.
- KURNAZ, E.,** 2019. Bastnazit cevherinden nadir toprak elementleri kazanımında kavurma şartlarının belirlenmesi, *Bitirme Projesi, D.E.Ü. Mühendislik Fakültesi, Maden Mühendisliği Bölümü*, İzmir.
- La, R. J., Hu, Z. A., Li, H. L., Shang, X. L., Yang, Y. Y.,** 2004. Template synthesis of CeO₂ ordered nanowire arrays. *Materials Science and Engineering: A*, 368(1-2), 145-148.
- LEWIS, R.J.,** 2001. Hawley's condensed chemical dictionary. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc.; pp. 229–231.
- Limbach, L. K., Li, Y., Grass, R. N., Brunner, T. J., Hintermann, M. A., Muller, M., Stark, W. J.,** 2005. Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations. *Environmental science & technology*, 39(23), 9370-9376.
- Li, P., Yin, Y. L., Li, D., Kim, S. W., Wu, G.,** 2007. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98(2), 237-252.
- Liman, R., Acikbas, Y., Ciğerci, İ. H.,** 2019. Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by Allium and Comet tests. *Ecotoxicology and environmental safety*, 168, 408-414.

- Ma, Y., Wang, J., Peng, C., Ding, Y., He, X., Zhang, P., Zhang, Z.,** 2016. Toxicity of cerium and thorium on *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 134, 226-232.
- Martinez, D., Larrondo, L. F., Putnam, N., Gelpke, M. D. S., Huang, K., Chapman, J., Rokhsar, D.,** 2004. Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78. *Nature biotechnology*, 22(6), 695-700.
- Meister A, Anderson ME.,** 1983. "Glutathione". *Annual Review of Biochemistry*. 52: 711-60.
- Meister A.,** 1994. "Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals". *The Journal of Biological Chemistry*. 269 (13): 9397–400.
- Mei Chun, K. U. O., KAO, C. H.,** 2004. Antioxidant enzyme activities are upregulated in response to cadmium in sensitive, but not in tolerant, rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45.
- Milne, L., Nicotera, P., Orrenius, S., Burkitt, M. J.,** 1993. Effects of glutathione and chelating agents on copper-mediated DNA oxidation: pro-oxidant and antioxidant properties of glutathione. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 304(1), 102-109.
- Misra, N., Gupta, A. K.,** 2006. Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings. *Journal of plant physiology*, 163(1), 11-18.
- MTA.,** 2017. Dünyada ve Türkiye’de Nadir Toprak Elementleri, *Maden Serisi: 5, Eylül*, Ankara, 2017.
- Nakasone, K. K.,** 1990. Cultural studies and identification of wood-inhabiting Corticiaceae and selected Hymenomycetes from North America. *Cultural studies and identification of wood-inhabiting Corticiaceae and selected Hymenomycetes from North America.*, 15.
- Nielsen, F., Mikkelsen, B. B., Nielsen, J. B., Andersen, H. R., Grandjean, P.,** 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical chemistry*, 43(7), 1209-1214.
- Ober, J. A.,** 2016. *Mineral commodity summaries 2016*. US Geological Survey.
- O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., Budavari, S.,** 2001. The merck index-An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. whitehouse station, NJ: Merck and Co. Inc, 767, 4342.

- Pagano, G., Aliberti, F., Guida, M., Oral, R., Siciliano, A., Trifuoggi, M., Tommasi, F.,** 2015. Rare earth elements in human and animal health: state of art and research priorities. *Environmental research*, 142, 215-220.
- Pagano, G., Guida, M., Tommasi, F., Oral, R.,** 2015. Health effects and toxicity mechanisms of rare earth elements—Knowledge gaps and research prospects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 115, 40-48.
- Paoli, L., Fiorini, E., Munzi, S., Sorbo, S., Basile, A., Loppi, S.,** 2014. Uptake and acute toxicity of cerium in the lichen *Xanthoria parietina*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 104, 379-385.
- Parantainen, J., Vapaatalo, H., Hokkanen, E.,** 1986. 12: Clinical aspects of prostaglandins and leukotrienes in migraine. *Cephalalgia*, 6(4_suppl), 94-101.
- Park, E. J., Choi, J., Park, Y. K., Park, K.,** 2008. Oxidative stress induced by cerium oxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology*, 245(1-2), 90-100.
- Qi, R. J., Zhu, Y. J., Cheng, G. F., Huang, Y. H.,** 2005. Sonochemical synthesis of single-crystalline CeOHCO₃ rods and their thermal conversion to CeO₂ rods. *Nanotechnology*, 16(11), 2502.
- Reinhardt, K., Winkler, H.,** 2000. Cerium mischmetal, cerium alloys, and cerium compounds. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*.
- Rim, K. T., Koo, K. H., Park, J. S.,** 2013. Toxicological evaluations of rare earths and their health impacts to workers: a literature review. *Safety and health at work*, 4(1), 12-26.
- Sarsılmaz, M., Özen, O. A., Özyurt, H.,** 2000. Subakut ve subkronik formaldehit inhalasyonundan sonra sıçanlarda karaciğer enzimatik antioksidan sistemin değerlendirilmesi. *Van Tıp Dergisi*, 7(3), 84-89.
- Sarkar, A., Mahendran, T. S., Meenakshisundaram, A., Christopher, R. V., Dan, P., Sundararajan, V., Mohideen, S. S.,** 2021. Role of cerium oxide nanoparticles in improving oxidative stress and developmental delays in *Drosophila melanogaster* as an in-vivo model for bisphenol A toxicity. *Chemosphere*, 284, 131363.
- Scow, Kate.,** 2008. "Lecture 6: Carbon Cycle." Winter.
- Seigle-Murandi, F., Guiraud, P., Croize, J., Falsen, E., Eriksson, K. L.,** 1996. Bacteria are omnipresent on *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall. *Applied and environmental microbiology*, 62(7), 2477-2481.
- SEZGİN, C., ELİF, A.,** 2014. Meyve, Sebze ve Sağlığımız. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 2(2), 46-51.
- Slater, T. F.,** 1984. [33] Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 105, 283-293.

- Şen, P., Kuşcu, E. ve AK, S.,** 2016. Nadir toprak elementleri, özellikleri, cevherleşmeleri ve Türkiye nadir toprak element potansiyeli. Maden Tetkik ve Arama (MTA).
- Taner, G.,** 2005. Serbest radikallere karşı antioksidan savunma. *Bilim Teknik, Ağustos*, 113, 453.
- Tongul, B.,** 2013. *The antioxidant response mechanisms of phanerochaete chrysosporium depending menadione stress factor* (Doctoral dissertation, DEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H.,** 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168(1), 223-231.
- URL-1,** 2021. <http://www.rareelementresources.com/rare-earth-elements>. Rare earth elements. 20 Kasım 2021.
- URL-2,** 2021. <https://www.makaleler.com/seryum-nedir>. Seryum nedir? 20 Kasım 2021.
- URL-3,** 2021. <https://www.lenntech.com/periodic/elements/ce.htm>. Cerium. 20 Kasım 2021.
- Wan, J., Zeng, G., Huang, D., Huang, C., Lai, C., Li, N., He, Y.,** 2015. The oxidative stress of Phanerochaete chrysosporium against lead toxicity. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(4), 1981-1991.
- Wu, G. S., Xie, T., Yuan, X. Y., Cheng, B. C., Zhang, L. D.,** 2004. An improved sol-gel template synthetic route to large-scale CeO₂ nanowires. *Materials Research Bulletin*, 39(7-8), 1023-1028.
- Wu, Y., Tang, X., Yang, W., Fan, J., Tang, L., Wang, C., Fan, B.,** 2019. Subchronic toxicity of cerium nitrate by 90-day oral exposure in wistar rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 108, 104474.
- Yıldız, N.,** 2016. Nadir toprak elementleri. *Ankara, Dijital Yayın*.
- Zeng, G. M., Chen, A. W., Chen, G. Q., Hu, X. J., Guan, S., Shang, C., Zou, Z. J.,** 2012. Responses of Phanerochaete chrysosporium to toxic pollutants: physiological flux, oxidative stress, and detoxification. *Environmental science & technology*, 46(14), 7818-7825.
- Zhang, Q., Zeng, G., Chen, G., Yan, M., Chen, A., Du, J., He, Y.,** 2015. The effect of heavy metal-induced oxidative stress on the enzymes in white rot fungus Phanerochaete chrysosporium. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(3), 1281-1293.

- Zhang, D. E., Ni, X. M., Zheng, H. G., Zhang, X. J., Song, J. M.,** 2006. Fabrication of rod-like CeO₂: characterization, optical and electrochemical properties. *Solid State Sciences*, 8(11), 1290-1293.
- Zicari, M. A., d'Aquino, L., Paradiso, A., Mastrolitti, S., Tommasi, F.,** 2018. Effect of cerium on growth and antioxidant metabolism of *Lemna minor* L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 163, 536-543.

