

Kadmiyumla Stres Oluşturulan *Citrobacter freundii*'nin Vitamin İçeriği ve Stres Belirteçlerine Selenyumun Etkisi

Muhammad Salihu IBRAHİM¹, Meltem ÇAKMAK², Dursun ÖZER², Fikret KARATAS^{1*}, Sinan SAYDAM¹

¹ Firat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 23119 Elâzığ

² Firat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 23119 Elâzığ

¹ muhammadibrahim1247@gmail.com, ² mcakmak@firat.edu.tr, ² dozer@firat.edu.tr, ^{*1} fkaratas@firat.edu.tr, ^{*1} ssaydam@firat.edu.tr

(Geliş/Received: 03/06/2021;

Kabul/Accepted: 31/08/2021)

Öz: Bu çalışmada, *Citrobacter freundii* farklı konsantrasyonlarda kadmiyum içeren LB besiyerinde üretildi. Kadmiyum içeren besi yerine değişik konsantrasyonlarda selenyum katılarak, üretilen hücre konsantrasyonu, ve bazı biyokimyasal parametreler spektrofotometre ve HPLC ile belirlendi. Bakteriler 0 (kontrol), 75, 100, 125 ppm kadmiyum (Cd) içeren besi ortamlarında üretildi. Kontrol ile 75, 100 ve 125 ppm Cd içeren gruplar karşılaştırıldığında, bakteri, vitaminler ve indirgenmiş glutatyonun (GSH) konsantrasyonlarında azalma, yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksineoneal (4-HNE) konsantrasyonlarında ise artış gözlemlendi ($p < 0.05$). 75, 100 ve 125 ppm Cd içeren besi ortamına 1.0 ve 3.0 ppm selenyum (Se) katılmasıyla birlikte, bakteri, vitaminler ve GSH konsantrasyonlarında artış, GSSG, MDA ve 4-HNE konsantrasyonlarında ise azalma gözlemlendi. Bu bulgulardan, kadmiyumun olumsuz etkisini, bakteri besi yerine katılan selenyumun azalttığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: *Citrobacter freundii*, kadmiyum, selenyum, vitaminler, stres belirteçleri.

The effect of selenium on the vitamin content and stress biomarkers on the stress induced by cadmium of *Citrobacter freundii*

Abstract: In this study, *Citrobacter freundii* were grown in LB medium containing various concentrations of cadmium. By adding different concentrations of selenium to growth medium, the cell concentration and some biochemical parameters were determined by spectrophotometer and HPLC respectively. Bacteria were grown in nutrients containing 0 (control), 75, 100, 125 ppm cadmium (Cd). When the groups containing 75, 100 and 125 ppm Cd were compared with the control, a decrease in the concentrations of bacteria, vitamins and reduced glutathione (GSH), and an increase in the concentrations of oxidized glutathione (GSSG), malondialdehyde (MDA) and 4-hydroxyneoneal (4-HNE) were observed ($p < 0.05$). With the addition of 1.0 and 3.0 ppm selenium (Se) to the growth medium containing 75, 100 and 125 ppm Cd, cause to increase bacteria, vitamins and GSH concentrations together with the decrease in GSSG, MDA and 4-HNE concentrations. These findings, suggest that the negative effect of cadmium was reduced by the addition of selenium to the growth medium of bacteria.

Key words: *Citrobacter freundii*, cadmium, selenium, vitamins, stress biomarkers.

1. Giriş

Doğada milyonlarca canlı türü bulunmasına rağmen, bu çeşitlilik içinde canlılar arasında ortak yapı ve karakterler mevcuttur. Mikroorganizmalar insanların sahip olduğu birçok gene sahip olmalarının yanı sıra insanlarda olmayan bazı genleri de bünyelerinde bulundurmaktadır. Bakteriler, çoğalmak için yenilenebilir ucuz kaynakları karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaları, belirli bir sürede yüksek oranda çoğalma yetenekleri, nispeten basit yapıları ile değişikliğe uğratılabilir özelliklerinden dolayı ucuz maliyet sağladıkları için sağlık endüstrisinde kullanılan birçok ilacın doğal yollardan sentezlenmesinde kullanılmaktadır. [1]. Bakteriler hücre yapısı, hücre metabolizması veya DNA, yağ asitleri, pigmentler, antijenler ve kinonlar gibi hücre bileşen varyasyonları temelinde gruplandırılabilir. *C. freundii*, anaerobik gram negatif bakterilerden olan Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesidir [2]. *C. freundii* bakteriyel bir patojen olmasına rağmen, azot döngüsünde nitratın, nitrite indirgenmesinden sorumludur [3]. Vitaminler, çeşitli biyokimyasal fonksiyonlara sahip olan ve metabolizmanın düzgün çalışması için küçük miktarlarda ihtiyaç duyulan organik moleküllerdir. Yağda ve suda çözünen olarak sınıflandırılan vitaminlerin eksikliği ya da fazlalığı klinik olarak önemli hastalıklara neden olabilir [4]. Bir tripeptit olan glutatyon, hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan ve reaktif oksijen türlerini temizleyen, tüm canlılar için önemli bir antioksidandır. İndirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) formda bulunan glutatyonun yükseltgenmiş formu, oksidatif stresin bir göstergesidir [5].

* Sorumlu yazar: fkaratas@firat.edu.tr. Yazarların ORCID Numaraları: ¹ 0000-0002-7535-4140, ² 0000-0002-6291-863X, ³ 0000-0002-7225-8903, ⁴ 0000-0002-0884-027X, ⁵ 0000-0003-1531-5454

Ağır metaller, düşük konsantrasyonlarda bile, canlılar için toksik olan metallerdir [6]. Biyolojik sistemlerde, hücre zarları, mitokondri, lizozomlar, endoplazmik retikulum, çekirdekler, bazı metabolik enzimler ve detoksifikasyon gibi hücresel bileşenlerin ağır metaller tarafından bozulduğu rapor edilmiştir [7]. Selenyum; canlı metabolizmasını etkileyen ve oksidatif stresten koruyan geniş bir pleiotropik etki alanına sahip eser elementtir [8].

Vitamin, peptit ve stres belirteçlerinin miktarları sağlıklı ve hasta bireylerde farklılık göstermesi hastalıkların tanı ve tedavisinde önemli ölçüde fikir verebilir. Bundan dolayı stres altındaki hücrelerde bu parametrelerin takibi tedavi yöntemleri açısından oldukça önemli sayılabilir. Mikroorganizmaların kolay ve hızlı bir şekilde çoğalabilmesi ve diğer canlılarla birçok ortak özelliğe sahip olmaları nedeniyle, tıbbi araştırmalar açısından önemli avantaj sağlamaktadır. Bahsedilen sebeplerden dolayı bu çalışmada, *C. freundii* (NRRL B-2643) kullanılmıştır. Bakteri içeren besi yerine farklı derişimlerde kadmiyum katılarak metabolik stres oluşturulmuştur. Kadmiyum içeren besi ortamı ve bu ortama farklı konsantrasyonlarda selenyum katılarak da üretilen mikroorganizmalarda, bakteri konsantrasyonu, vitaminler, GSH, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarları belirlenerek kontrolle karşılaştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Bu çalışmada LB (litre başına 10.0 g pepton, 5.0 g maya ekstraktı ve 10.0 g NaCl) besi yerinde üretilen *C. freundii* (NRRL B-2643) mikroorganizması kullanıldı. 1000 ppm'lik kadmiyum (Cd) stok çözeltisi kadmiyum klorürden ($CdCl_2$) hazırlanmıştır. Aynı şekilde 100 ppm'lik selenyum stok çözeltisi ise selenyum (IV) klorür ($SeCl_4$) den hazırlanmıştır.

Çalışmada aşağıdaki gruplar oluşturuldu;

1. Kontrol: *C. freundii*, steril LB ortamında çoğaltıldı.
2. Kadmiyum grubu: Mikroorganizma, kontrole farklı miktarlarda 1000 ppm'lik kadmiyum (Cd) stok çözeltisinden istenen ortam derişimine (75, 100 ve 125 ppm) göre gerekli miktar ilave edilerek çoğaltılmıştır.
3. Selenyum grubu: Mikroorganizma, kadmiyum grubuna 100 ppm'lik selenyum stok çözeltisinden istenen ortam derişimine (1.0 ve 3.0 ppm) göre gerekli miktar ilave edilerek çoğaltılmıştır.

Aşılardan sonra, orbital çalkalayıcıda (Selecta Rotabit) 150 rpm'de 37 °C'de sabit büyüme evresine kadar (18 saat) inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 600 nm' de spektrofotometre (CHEBIOS s.r.l.) ile köre (mikroorganizma içermeyen besi ortamı) karşı absorbans okunarak bakteri konsantrasyonu belirlendi. Büyüme ortamının 8000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmesiyle ortamdaki hücreler çöktürüldü. Daha sonra supernatant uzaklaştırılarak mikroorganizma damıtılmış su ile iki kez yıkanıp santrifüjlenerek sonraki işlemlerde kullanıldı.

2.2. A, E Vitamini, β -karoten, Likopen ve 4-hidroksineoneal Tayini

Santrifüjlenmiş ağırlığı belli olan mikroorganizma üzerine 6.0 mL etanol ilave edilerek vortekslenildi. Vortekslenen çözelti sonikatörde (Wise Clean, WUC-AO3H, 170 W) buz ortamında 10 kez 30'ar saniye sonikasyona tabii tutuldu. Daha sonra 8000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra her tüpe 1.0 mL n-hegzan ilave edilerek tekrar 5 dakika santrifüjlendi. Üstteki n-hegzan fazı cam tüpe alındı ve bu işlem iki kez tekrarlandı. Toplanan n-hegzan vakumlu etüvde oda sıcaklığında uzaklaştırıldı. Tüpteki kalıntı üzerine 1.0 mL metanol ilave edilerek vortekslenip, HPLC viallerine alındı. HPLC'de ODS-2 kolonunda (25 cm, 4.6 mm ID, 5 μ m) mobil faz olarak metanol-asetonitril-su karışımı (33:63:4 v/v) kullanılarak analizler gerçekleştirildi [9-11].

2.3. Suda çözünen vitaminlerin Tayini

Ağırlığı bilinen mikroorganizmaya 4.0 mL saf su ilave edilerek vortekslenildi. Karışım ultrasonik parçalayıcıda, 30 saniye süre ile buz ortamında 10 kez sonikasyona tabii tutuldu. Sonikasyon işleminden sonra tüplere 1.0 mL 0.5 M $HClO_4$ ilave edilerek vortekslenip, 8000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant viallere alınarak HPLC'de Supelcosil LC-18-DB kolonu (150 mm x 4.6 mm ID, 5 μ m) kullanılarak analizler gerçekleştirildi [9, 12].

2.4. Glutasyon ve Malondialdehit Tayini

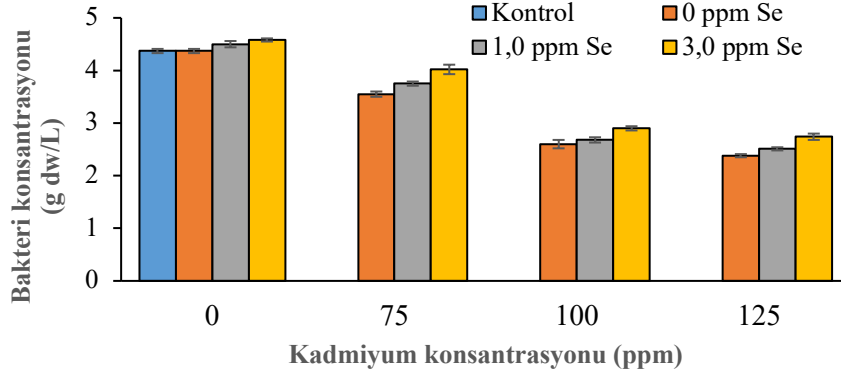
Suda çözünen vitaminler kısmında belirtilen ön işlemler gerçekleştirildikten sonra viallere alınan supernatant HPLC’de Utisil-XB-C-8 (25 cm, 4.6 mm ID, 5 µm) kolonu kullanılarak analizler gerçekleştirildi [13, 14].

2.5. İstatistiksel analiz

Tüm ölçümler üç kez tekrarlandı ve sonuçlar SPSS 10.0 ile varyans analizine tabi tutuldu ve anlamlılık p <0.05 olarak ifade edildi.

3. Sonuç ve Tartışma

Besi ortamına kadmiyum stok çözeltisinden ortamdaki Cd derişimi (0, 75, 100 ve 125 ppm) olacak şekilde eklenerek mikroorganizma üretimi gerçekleştirildi. 10, 20 ve 40 ppm kadmiyum içeren ortamda üretilen mikroorganizma konsantrasyonları kontrol ile karşılaştırıldığında bakteri konsantrasyonunda anlamlı bir azalma gözlenmemiştir. Kontrole eklenen 40 ppm’den fazla kadmiyumun mikroorganizma konsantrasyonunu azalttığı gözlemlendi (p<0.05). 75 ve 100 ppm kadmiyum eklenmiş gruplarda bakteri konsantrasyonundaki azalma, kontrole göre sırasıyla% 19 ve % 41 olarak bulundu. 150 ppm’in üzerindeki kadmiyum konsantrasyonlarında ise önemli bir mikroorganizma çoğalması gözlenmemiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* konsantrasyonu

Yiğit ve arkadaşları [15] tarafından yapılan çalışmada 35 ppm’den yüksek kadmiyum konsantrasyonlarında *Lactobacillus Brevis*’in büyüme hızının azaldığını rapor edilmiştir.

100 ppm kadmiyum konsantrasyonunun *B. mucilaginosus* ve *A. niger* mikroorganizmalarının büyümesini olumsuz etkilediği gösterilmiştir [16]. Mikroorganizma konsantrasyonundaki azalma, protein sentezi dâhil birçok metabolik aktiviteyi etkileyen hücredeki kadmiyumun toksik etkisinden kaynaklanıyor olabilir [17]. Kadmiyum gibi ağır metaller, hücrede metabolik, biyolojik ve fizyolojik modifikasyonlara neden olur [18]

Hücrede 5 ppm’den yüksek Se konsantrasyonunun toksik etki yaptığı için [19] 1.0 ve 3.0 ppm Se konsantrasyonlarında çalışılmıştır.

Kadmiyum ve selenyumun, mikroorganizmaya etkilerini belirlemek için 0, 75, 100 ve 125 ppm kadmiyum içeren besi yerine iki farklı konsantrasyonda (1.0 ve 3.0 ppm) selenyum eklenmiştir.

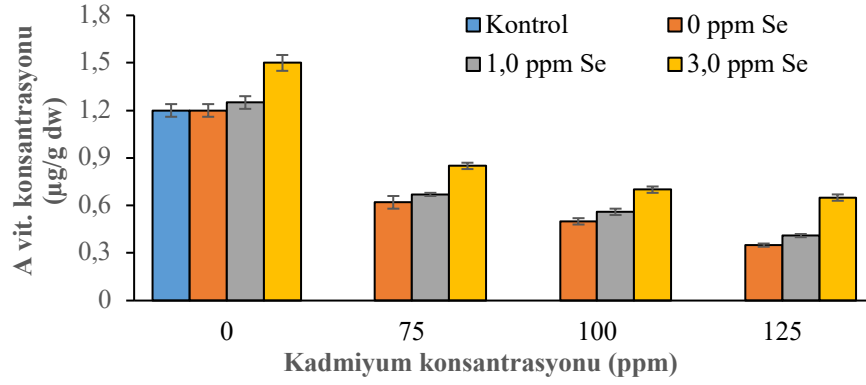
Selenyum tiroid hormon metabolizması, antioksidan savunma sistemleri, bağışıklık fonksiyonu ve hücreleri, oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumak da dâhil olmak üzere birçok ana metabolik yolun önemli bileşenidir. Selenyum selenoenzim ve selenoproteinlerin biosentezinde görev alır, ayrıca metabolizmada çeşitli metabolitlere de dönüştürülebilir [20-22]. 75 ppm kadmiyum içeren besi ortamına 1.0 ve 3.0 ppm selenyum eklendiğinde mikroorganizma konsantrasyonunda sırasıyla %6.0 ve %13 artış gözlenirken, 125 ppm kadmiyum içeren ortamda ise %6.0 ve %15 artış olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Selenyumun bakterilerde kadmiyum toksisitesine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [23]. Selenyum konsantrasyonu arttıkça, kadmiyumun olumsuz etkisinin azaldığı söylenebilir, fakat yüksek selenyum konsantrasyonun ise hücrede toksik etki yaptığı bilinmektedir [24].

Farklı biyokimyasal fonksiyonlara sahip olan vitaminler, metabolizmanın düzgün çalışması için küçük miktarlarda ihtiyaç duyulan organik bileşiklerdir. Retinoidler, görme, üreme, büyüme ve epitel dokunun güçlenmesi için gerekli bileşiklerdir. Karotenoidler ise lipid peroksidasyonu sırasında oluşan radikalleri önledikleri için güçlü antioksidanlardır [25]. E vitamini ise, hücre zarındaki doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin oksidasyonuna karşı korunmasında önemli olup, peroksitleri ve hidroperoksitleri hidrojen iyonları ile doyurarak oto-oksidasyon oluşumunu engeller [26].

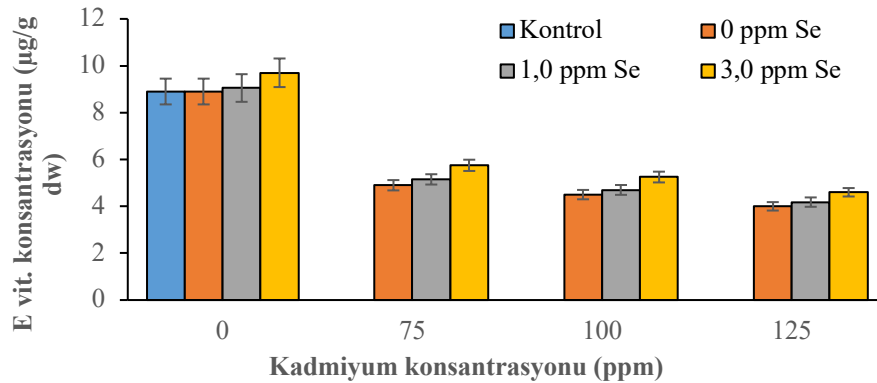
Besin ortamına eklenen kadmiyum konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizmadaki vitamin A, E ve β -karoten miktarında azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). 100 ppm kadmiyum konsantrasyonunda vitamin A, E ve β -karoten miktarlarındaki kayıplar sırasıyla %58, 45 ve 41 olarak bulunurken, 125 ppm kadmiyum konsantrasyonundakiler ise %71, 55 ve 49 olarak bulunmuştur (Şekil 2-4).

100 ppm kadmiyum içeren besi ortamına 1.0 ppm selenyum ilave edilerek üretilen mikroorganizmalardaki vitamin A, E ve β -karoten miktarlarındaki artış sırasıyla %12, 4.4 ve 6.4 iken, 3.0 ppm selenyum ilavesinde ise %40, 16.7 ve 19.1 olarak bulunmuştur.

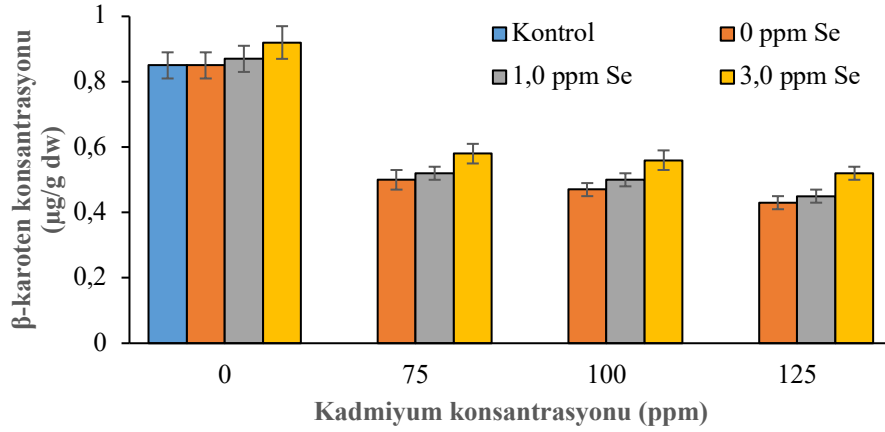
B vitaminleri, metabolik fonksiyonların yerine getirilmesini sağlayan, çeşitli besinlerden alınan organik bileşikler olup, enerji ve hücre üretimine katkı sağlamak gibi metabolizmada ciddi görevlere sahiptirler. Ayrıca, yeni hücre oluşumu, amino asit yıkımı ve oksijen taşınması gibi önemli görevleri üstlenirler [27]. Elektron vericisi olan C vitamini ise süperoksit ve hidroksil radikallerini nötralize ederek hücreyi oksidatif hasardan korur [28].



Şekil 2. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki A vitamini konsantrasyonu

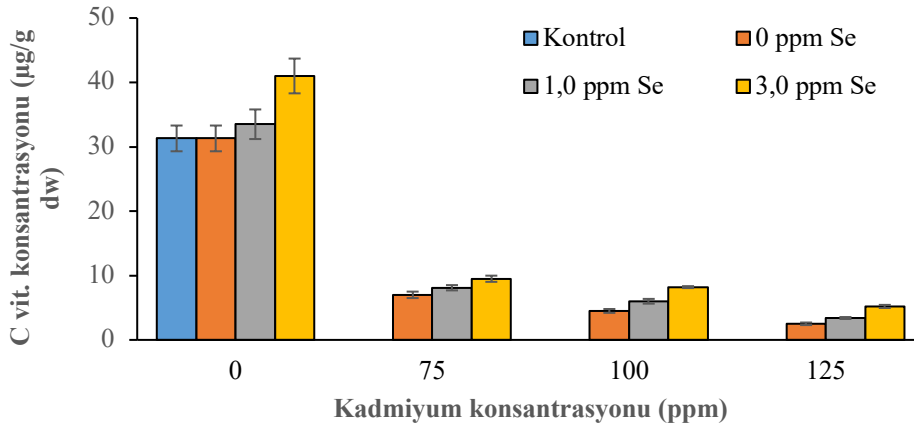


Şekil 3. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki E vitamini konsantrasyonu

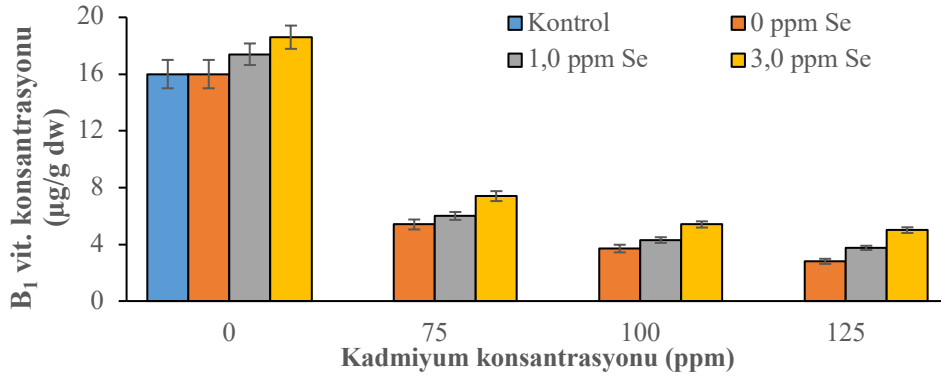


Şekil 4. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki β -karoten konsantrasyonu

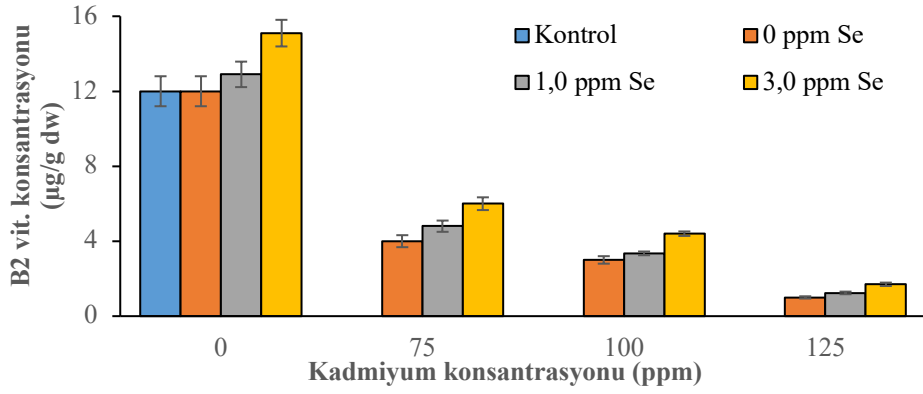
Besin ortamına eklenen kadmiyum konsantrasyonuna bağı olarak mikroorganizmadaki suda çözünen vitamin miktarlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Vitamin miktarlarındaki azalma kadmiyum konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Şekil 5-12). 100 ppm kadmiyum içeren besi yerinde üretilen mikroorganizmalardaki C, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉ ve B₁₂ vitaminlerindeki yüzde azalma sırasıyla 86, 77, 75, 58, 41, 39, 53 ve 55 olarak bulunmuştur. Kadmiyumun, mikroorganizmadaki suda çözünen vitamin miktarlarına olumsuz etkisini azaltmak için 125 ppm kadmiyum içeren besi ortamına 1.0 ve 3.0 ppm derişimlerinde selenyum eklenmiştir.



Şekil 5. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki C vitamini konsantrasyonu

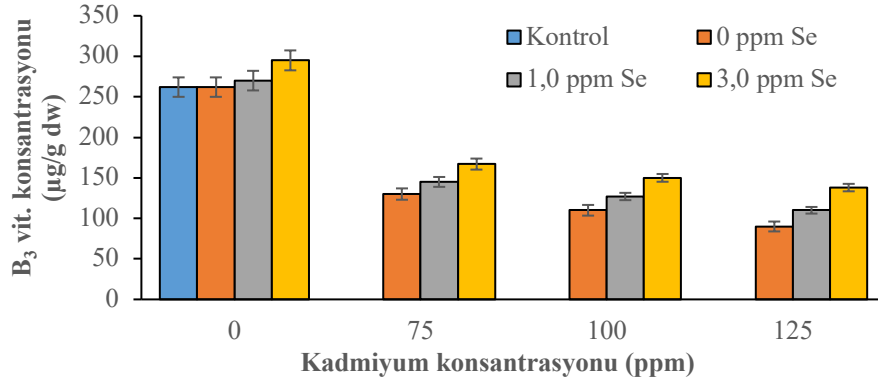


Şekil 6. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₁ vitamini konsantrasyonu

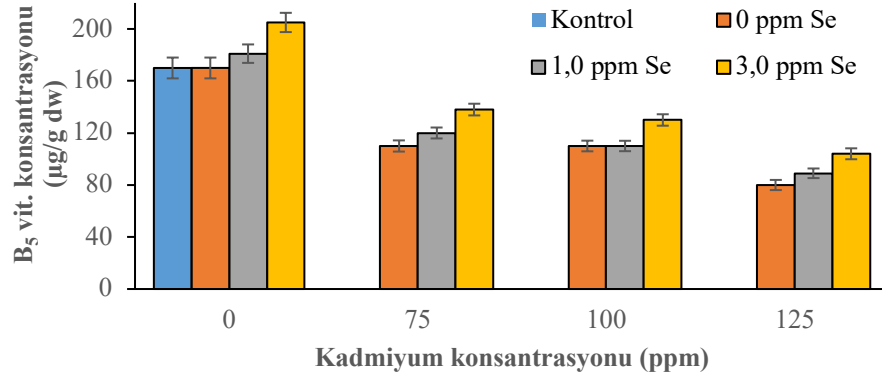


Şekil 7. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₂ vitamini konsantrasyonu

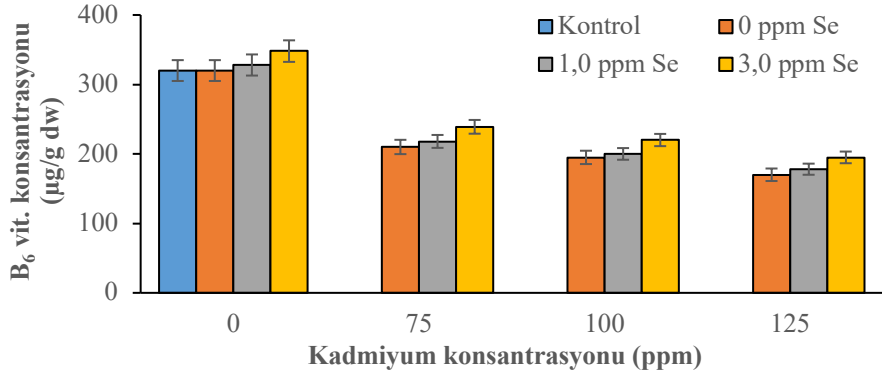
125 ppm kadmiyum içeren ortama 1.0 ppm selenyum eklendiğinde mikroorganizmadaki C, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉ ve B₁₂ vitaminlerin miktarı sırasıyla yüzde 36, 34, 24, 22, 11, 5, 9 ve 7 olarak artar iken, 3.0 pp selenyum eklendiğinde ise 53, 79, 70, 53, 30, 15, 23 ve 33 olarak artmıştır. Elde edilen sonuçlara göre besi yerine eklenen selenyum miktarındaki artışa bağlı olarak suda çözünen vitamin miktarlarındaki kayıp azalmıştır (Şekil 5-12).



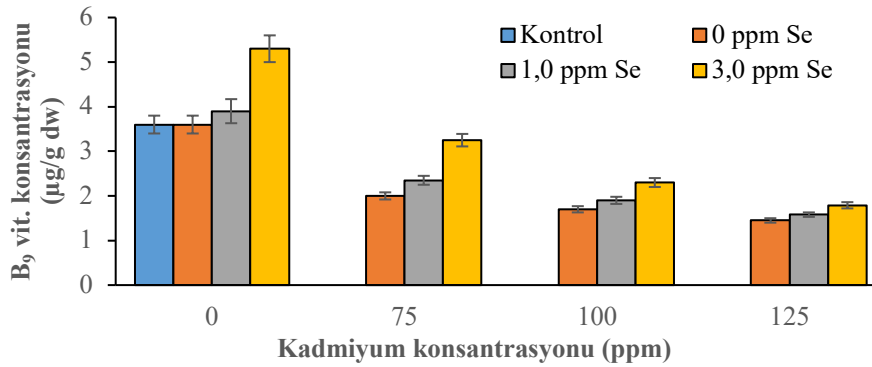
Şekil 8. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₃ vitamini konsantrasyonu



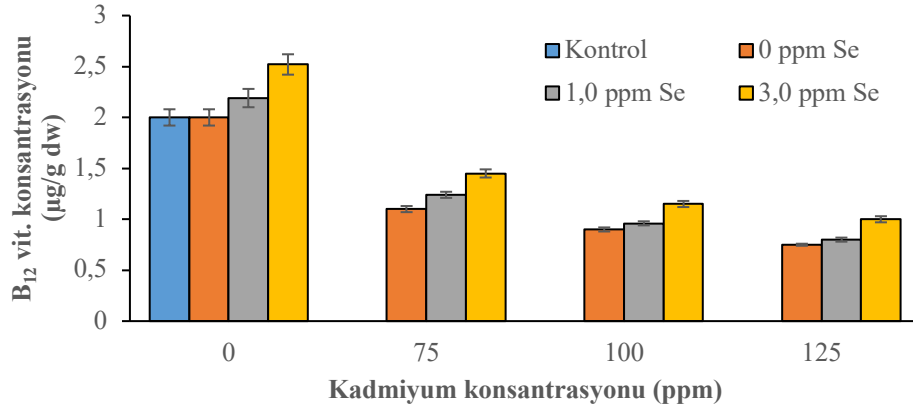
Şekil 9. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₅ vitamini konsantrasyonu



Şekil 10. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₆ vitamini konsantrasyonu

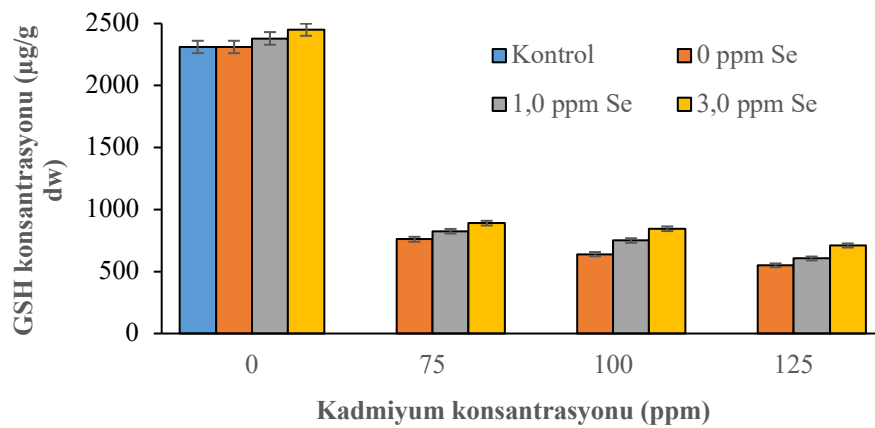


Şekil 11. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₉ vitamini konsantrasyonu

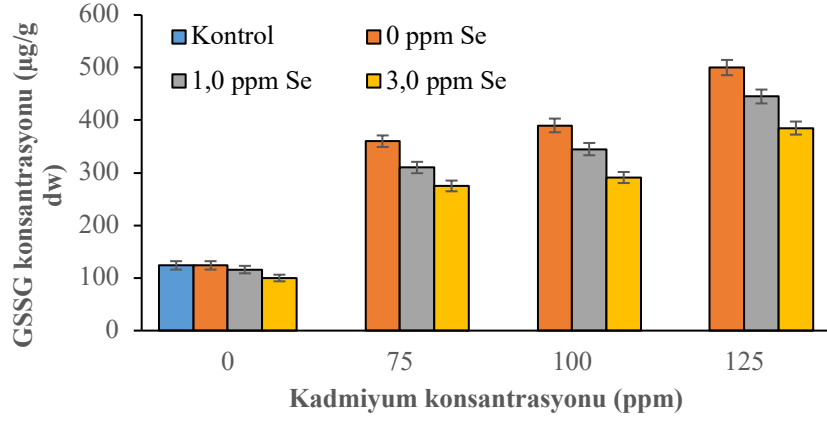


Şekil 12. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki B₁₂ vitamini konsantrasyonu

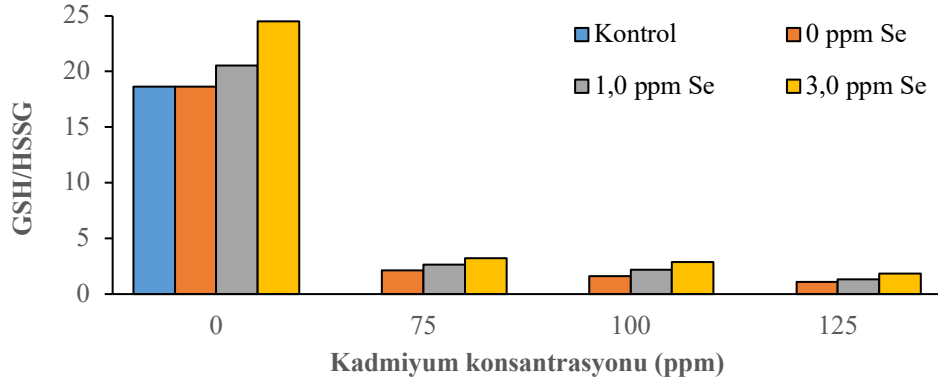
Kadmiyum, metabolizmada reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak, oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres ise antioksidan enzimlerin aktivitelerinde değişiklik ve lipit peroksidasyonunda artışa sebep olur [29]. Besi ortamına değişik konsantrasyonlarda kadmiyum katılarak, mikroorganizmada oluşacak oksidatif stresin negatif etkisini azaltmak için düşük derişimlerde antioksidan özelliği ile bilinen selenyum katılarak hem kadmiyum hem de kadmiyum + selenyumun, GSH, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarlarına etkileri incelenmiştir. Glutasyonun redükte ve okside formları hücrede denge durumunda olup, bu dengenin GSH aleyhinde bozulması hücrede olumsuz etkilere neden olur, ayrıca GSH/GSSG oranı stres belirteci olarak bilinmektedir [5]. Serbest radikaller, hücre zarlarındaki doymamış yağ asitlerini etkileyerek lipit peroksidasyonuna neden olur. Lipit peroksitler ise hızla parçalanarak reaktif karbon bileşiklerini oluşturur. Oluşan bu bileşikler arasında MDA ve 4-HNE, lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olup, yaygın olarak kullanılan önemli reaktif karbon bileşikleridir [30]. Bu bileşikler DNA, RNA ve protein sentezinin inhibisyonu gibi çok sayıda yan etkiye yol açabilirler [31]. Şekil 13-17'den görüldüğü gibi besi ortamına eklenen kadmiyum miktarına bağlı olarak GSH miktarı ve GSH/GSSG oranı azalırken, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarları artmaktadır. Bu sonuçlardan kadmiyumun mikroorganizmada ROS üretimini artırarak, oksidatif stres oluşturduğu ve buna bağlı olarak ta lipit peroksidasyonunun artması sonucu bahsedilen stres belirteçlerinin miktarlarını artırdığı söylenebilir.



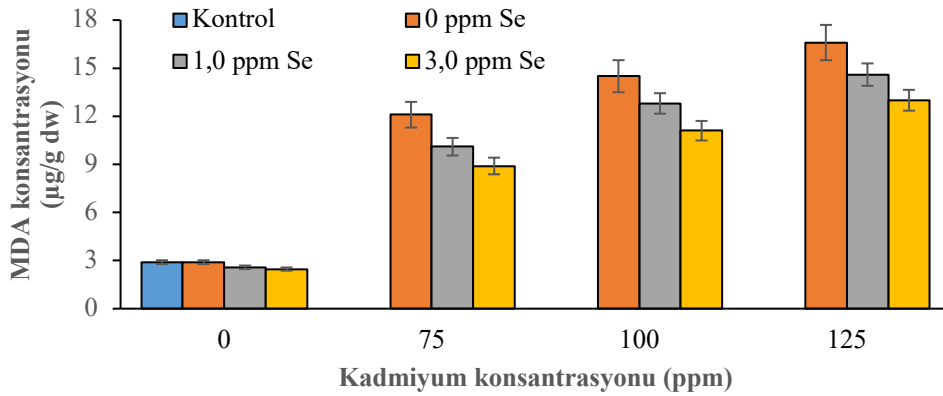
Şekil 13. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki GSH konsantrasyonu



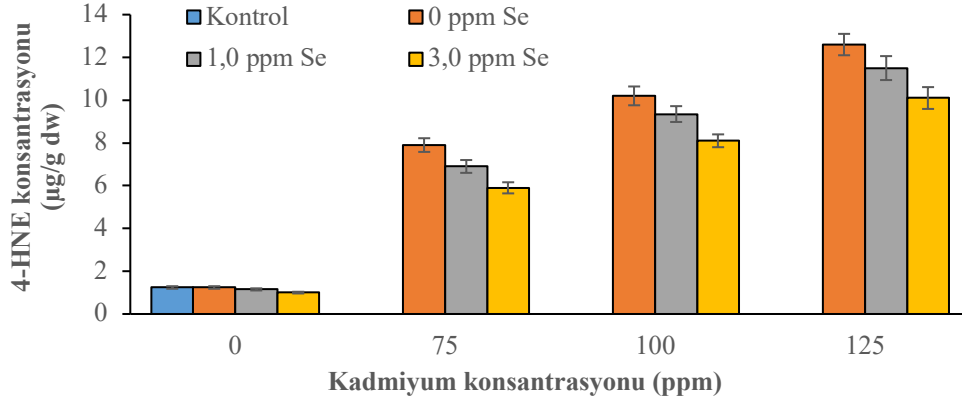
Şekil 14. Farklı derişimlerdeki kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki GSSG konsantrasyonu



Şekil 15. Farklı derişimlerde kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki GSH/GSSG oranları



Şekil 16. Farklı derişimlerde kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki MDA konsantrasyonları



Şekil 17. Farklı derişimlerde kadmiyum ve selenyum içeren besi yerinde üretilen *C. freundii* deki 4-HNE konsantrasyonu

Kontrolde GSH, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarları sırasıyla 2311.00 ± 50.00 , 124.00 ± 8.00 , 2.90 ± 0.12 ve 1.24 ± 0.06 $\mu\text{g/g dw}$, olarak, besi ortamına 75 ppm kadmiyum ilave edildiğinde bu parametrelerin değerleri sırasıyla 760.00 ± 20.00 , 360.00 ± 11.00 , 12.10 ± 0.80 ve 7.90 ± 0.32 $\mu\text{g/g dw}$ olarak bulunmuştur. Ayrıca 75 ppm kadmiyum içeren besi ortamına 3.0 ppm selenyum ilave edildiğinde ise bu parametreler sırasıyla 890.00 ± 19.00 , 275.00 ± 10.20 , 8.90 ± 0.52 ve 5.90 ± 0.26 $\mu\text{g/g dw}$, olarak belirlenmiştir. GSH/GSSG oranı kontrolde 18.64 olup, 75 ppm kadmiyum içeren ortamda 2.11 iken, bu ortama 3.0 ppm selenyum ilavesinde ise 3.23 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan kadmiyumun stres parametrelerinin miktarını artırırken, selenyumun ise bu parametrelerin değerlerini azalttığı görülmektedir. Siyanobakterilerden *Spirulina platensi*'nin, ağır metale maruz kalması sonucu MDA miktarında önemli bir artış olduğu rapor edilmiştir [32]. Kadmiyum içeren ortamda üretilen *Rhizobium leguminosarum*'un GSH miktarında azalma, GSSG miktarında ise artış, bunların bir sonucu olarak GSH/GSSG oranında ise bir azalma gözleendiği rapor edilmiştir [33]. Kadmiyumun neden olduğu oksidatif hasarın toksik etkisini azaltma kabiliyetine sahip olan selenyumun, lipid peroksidasyonunu önleyerek stres biyobelirteçlerinin seviyesini düşürdüğü belirtilmektedir [34].

4. Sonuç

Besi ortamına katılan kadmiyum konsantrasyonuna bağlı olarak, bakteri, vitaminler, GSH ve GSH/GSSG miktarlarında azalma, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarlarında ise artış gözlenmiştir. GSH/GSSG oranının azalması, MDA ve 4-HNE'nin miktarlarındaki artışlar kadmiyumun stres oluşturduğunu göstermektedir. Oluşan bu stresi azaltmak için besi ortamına katılan selenyumun ise bakteri, vitaminler ve GSH konsantrasyonlarında artış, GSSG, MDA ve 4-HNE miktarlarında ise azalma oluşturduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlardan, kadmiyumun oluşturduğu oksidatif stresi selenyumun azalttığı söylenebilir.

Teşekkür

Fırat Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (FÜBAP) tarafından FF 18.15 numaralı proje ile maddi olarak desteklenmiştir.

M.S.I. ve M.Ç., deneyleri gerçekleştirdiler D.Ö ve F.K. fikir sahibi, sonuçları yorumlama, makaleyi yazma S.S. makaleyi düzenleme

Kaynaklar

- [1] Demain AL, Vaishnav P. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. *Biotechnol Adv* 2009; 27: 297-306.
- [2] O'Hara CM, Westbrook GL, Miller JM. Evaluation of Vitek GNI+ and Becton Dickinson Microbiology Systems Crystal E/NF identification systems for identification of members of the family Enterobacteriaceae and other gram-negative, glucose-fermenting and non-glucose-fermenting bacilli. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3269-3273.

- [3] Puchenkova S. Enterobacteria in areas of water along the Crimean Coast. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal (Kiev, Ukraine: 1993)* 1996; 58: 3-7.
- [4] Awuchi CG, Igwe VS, Amagwula IO, Echeta CK. Health Benefits of Micronutrients (Vitamins and Minerals) and their Associated Deficiency Diseases: A Systematic Review. *Int J Food Sci* 2020; 3(1): 1-32
- [5] Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001;10: 141-152.
- [6] Banfalvi G. Cellular Effects of Heavy Metals. Netherlands, London, New York: Springer; 2011.
- [7] Beyersmann D, Hartwig A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxikol* 2008; 82, 493-512.
- [8] Burcu Uslu, Şule Aktaş. Selenyum ve Depresyon Üzerine Etkileri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2020; 20: 147-151
- [9] Ibrahim M, Ibrahim Y, Mukhtar Z, Karatas F. Amount of vitamin A, vitamin E, vitamin C, malondialdehyde, glutathione, ghrelin, beta-carotene, lycopene in fruits of Hawthorn, Midland (*Crataegus laevigata*). *J Hum Nutr Food Sci* 2017; 5: 1112-1117.
- [10] Ligor M, Ligor T, Gadzała-Kopciuch R, Buszewski B. The chromatographic assay of 4-hydroxynonenal as a biomarker of diseases by means of MEPS and HPLC technique. *Biomed Chromatogr* 2015; 29: 584-589.
- [11] Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol, α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1984; 138: 340-345.
- [12] Amidžić R, Brborić J, Čudina O, Vladimirov S. Rp-HPLC determination of vitamins, folic acid and B12 in multivitamin tablets. *J Serbian Chem Society* 2005; 70: 1229-1235.
- [13] Dawes P, Dawes E. SGE Chromatography Products Catalog. (2000). pg: 182.
- [14] Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002; 311: 76-79.
- [15] Yiğit A, Aktaş N, Şahan T. Lactobacillus Brevis Mikroorganizmasının Çoğalma Kinetiğinin Cevap Yüzeyi Yöntemi ile İncelenmesi, *YY Üniv Fen Bil Enst Derg/ J Inst Nat Appl Sci* 2013; 18(1-2): 25-32
- [16] Monballiu A, Cardon N, Tri Nguyen M, Cornelly C, Meesschaert B, Chiang YW. Tolerance of Chemoorganotrophic Bioleaching Microorganisms to Heavy Metal and Alkaline Stresses. *Bioinorg Chem Appl* 2015; 2015(), 1–9. doi:10.1155/2015/861874.
- [17] Çınar M. Kadmiyumun biyolojik sistemdeki etkileri. *Veterinarium* 2003; 14(1): 79-84
- [18] Güner U. Heavy metal effects on P, Ca, Mg, and total protein contents in embryonic pleopodal eggs and stage-1 juveniles of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Turk J Biol* 2010; 34: 405-412.
- [19] Underwood, E.J., Trace Elements in Human and Animal Nutrition New York, 1977, Academic Press. 302-346.
- [20] Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 2001; 4(2B): 593–599
- [21] El-Demerdash FM, Nasr HM. Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *J Trace Elem Med Biol* 2014; 28(1): 89–93
- [22] Hoffmann PR, Berry MJ. The influence of selenium on immune responses. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52:1273–1280
- [23] Araúz ILC, Afton S, Wrobel K, Caruso JA, Corona JFG, Wrobel K. Study on the protective role of selenium against cadmium toxicity in lactic acid bacteria: An advanced application of ICP-MS. *J Hazard Mater* 2008; 153: 1157-1164
- [24] Vinceti M, Filippini T, Cilloni S, Bargellini A, Vergoni AV, Tsatsakis A, Ferrante M. Health risk assessment of environmental selenium: Emerging evidence and challenges. *Mol Med Rep* 2017; 15(5): 3323-3335.
- [25] Gutteridge JMC, Halliwell B. The Deoxsiriboz Assay Both for Free Radical and for Site Specific Hydroxyl Radical Production. *Biochem* 1988; 253-932.
- [26] Ognjanovic BJ, Pavlovic SZ, Maletic D, Zikic RV, Stajn AS, Radojicic RM, Saicic ZS, Petrovic VM. Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. *Physiol Res* 2003; 52: 563- 570.
- [27] Bolander FF. Vitamins: not just for enzymes, Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000) 2006; 7(10): 912-915
- [28] Muhamma I, Ashiru S, Kanoma A, Sani I, Garba S. Effect of ripening stage on vitamin C content in selected fruits. *Int J Agric Forestry Fisheries* 2014; 2: 60-65
- [29] Kumar A, Pandey R, Siddiqi N. Oxidative stress biomarkers of cadmium toxicity in mammalian systems and their distinct ameliorative strategy. *J Appl Biotechnol Bioeng* 2019; 6: 126-135.
- [30] Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde as lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004; 57(9-10): 453-455.
- [31] Schaur RJ, Siems W, Bresgen N, Eckl PM. 4-Hydroxy-nonenal—a bioactive lipid peroxidation product. *Biomolecules* 2015; 5: 2247-2337.
- [32] Choudhary M, Jetley UK, Khan MA, Zutshi S, Fatma T. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Ecolotoxicol Environ Saf* 2007; 66: 204-209.
- [33] Corticeiro SC, Lima AIG, Figueira EMdAP. The importance of glutathione in oxidative status of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* under Cd exposure. *Enzyme Microb Technol* 2006; 40: 132-137.
- [34] Zwolak I. The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: an updated review of scientific literature. *Biol Trace Elem Res* 2020; 193: 44-63.