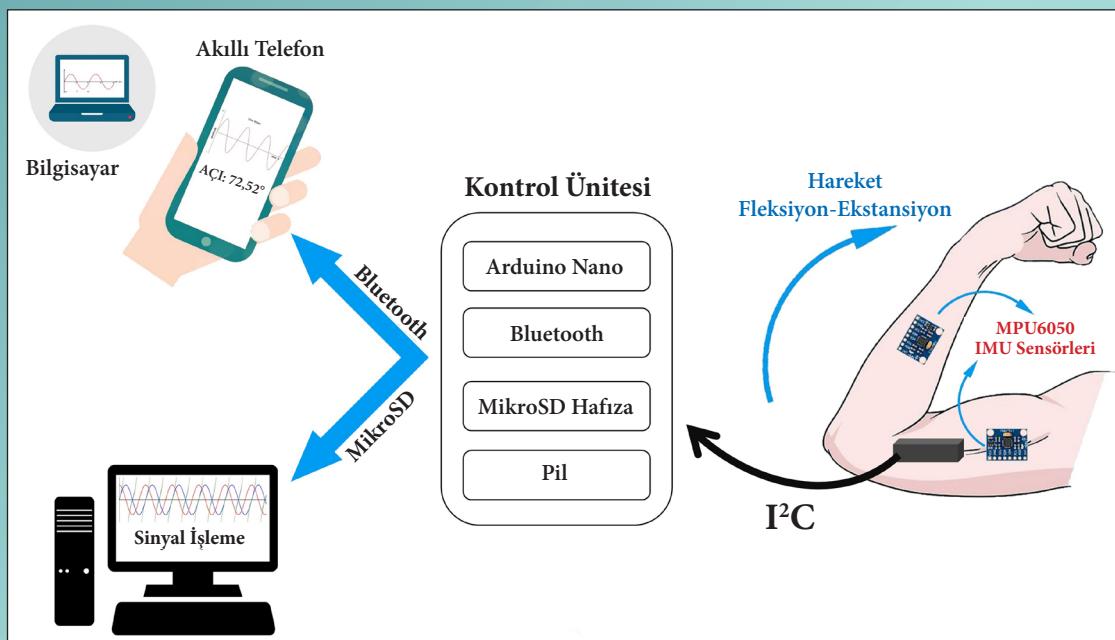




# Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tarafından Yayınlankmaktadır  
Published by the Zonguldak Bülent Ecevit University

## Karaelmas Science and Engineering Journal



- İnsan Eklem Açılarının Gerçek Zamanlı Ölçülmesi İçin Düşük Maliyetli Bir Çözüm
- The Five Dimensional Transformed Weyl-Yang-Kaluza-Klein Theory of Gravity
- Characteristics of Molecular Weight Distribution of Natural Organic Matter and Trihalomethane Formation Properties in Conventional Drinking Water Treatment Processes
- Eğilme Etkisindeki Büyük Dairesel Boşluklu Kırışıkların Davranışının Deneysel İncelenmesi
- Suggestion of a Perimeter Formula for Super Ellipses and their Use in Rectangular Boundary Value Problems in Physics
- A New Paradigm on the Qualitative Behavior of Chua's Circuit
- Investigation of Some Biological Properties of Coelomic Fluid Originating from the Red Worm *Eisenia fetida*
- Bolu İli Hava Kirletici Maddeler ile Meteorolojik Faktörler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi
- Farklı Hücre Hatlarında KLK4 Gen İfadecisinin Belirlenmesi
- İkincil Enaminon Bileşiklerinin Suda Sentezi ve Karakterizasyonu
- Pulse Detection Using Sub-Optimal Detectors Under Additive non-Gaussian Noise Having Unknown Level of Impulsiveness
- Effects of Basalt Fibre Utilization on Durability and Mechanical Properties of SIFCON
- Ratlarda Oluşturulan Kritik Boyutlu Kalvaryal Defektlerde Bakteriyel Selüloz Temelli Hidroksiapatit (BS-HAp) Nanokompozitinin Kemik Oluşumu Üzerine Etkisi
- Antibakteriyel Etkiye Sahip Penisilin G'nin *Drosophila melanogaster*'in Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi
- Similarity Matching of Ontology in Semantic Web

Cilt / Volume: 12  
Sayı / Number: 2  
Aralık/December 2022

ISSN: 2146-4987  
E-ISSN: 2146-7277



<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>  
<https://dergipark.org.tr/en/pub/karaelmasfen>




**Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi**

Dergi web sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>  
 Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Yayın Organı  
*Official Journal of Zonguldak Bülent Ecevit University*

<b>Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Adına Sahibi</b> <i>Owner on behalf of Zonguldak Bülent Ecevit University</i>	İsmail Hakkı ÖZÖLÇER Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Rektörü
<b>Baş Editör/Editor in Chief</b>	Yılmaz YILDIRIM Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi
<b>Sorumlu Müdür/Publishing Manager</b>	Yasin HAZER Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
<b>Yönetim Yeri/Head Office</b>	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Dekanlığı, 67100, İncivez, Zonguldak
<b>Redaksiyon ve Teknik Destek/</b> <i>Redaction and Technical Support</i>	Salih ERDEM Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Haşim DURU Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Havva KARAHAN Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi
<b>Yazışma Adresi/Correspondence Address</b>	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Farabi Kampüsü, İncivez, 67100, Zonguldak Tel : +90 0372 291 11 00
<b>İnternet Adresi/Web Address</b>	<a href="https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen">https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen</a>
<b>Yayinevi/Publishing House</b>	Buluş Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri, Bahriye Üçok Cad. 9/1 06500 Beşevler, Ankara, Tel: +90 312 222 44 06 Faks: +90 312 222 44 07 <a href="http://www.bulustasarim.com.tr">www.bulustasarim.com.tr</a>
<b>Yayın Türü/Publication Type</b>	Yerel Süreli / <i>Periodical</i> Yılda iki sayı yayımlanır: Haziran, Aralık <i>Published two issues per year: June, December</i> ISSN: 2146-4987
<b>E-posta /Email</b>	karaelmasfm@beun.edu.tr

Bu dergideki yazıların dergi standartlarına uygunluğunun kontrolü, dizimi, derginin yayına hazır hale getirilmesi BULUŞ Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri San.Tic. tarafından gerçekleştirilmiştir.

*Review of the articles in the journal to make sure they conform to publishing standards, typesetting, getting the journal ready for publication and finally the publishing process has been the responsibility of Buluş Design and Printing Services Company.*

**Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi**Dergi web sayfası: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

Yilda iki sayı yayımlanır

Published two issues per year



<b>Baş Editör</b> <i>Editor in Chief</i>	Yılmaz YILDIRIM	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Engineering</i>
<b>Yardımcı Editörler</b> <i>Associate Editors</i>	İbrahim ALISKAN  Yasin HAZER  Salih ERDEM	Yıldız Teknik Üniversitesi, Elektrik-Elektronik Fakültesi <i>Yıldız Technical University, Faculty of Electrical and Electronics</i>  Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Pharmacy</i>  Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University</i>
<b>İngilizce Redaksiyon</b> <i>English Redaction</i>	Özgür ZEYDAN  Can Murat DİKMEN  Nizamettin ÖZDOĞAN	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Engineering</i>  Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Science</i>  Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Engineering</i>
<b>Sorumlu Müdür</b> <i>Publishing Manager</i>	Yasin HAZER	Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi <i>Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Pharmacy</i>
<b>Uluslararası Yayın Kurulu</b> <i>International Editorial Board</i>	Ahmet ÖZASLAN Akira HIRAO Baki HAZER Boris NATALIN Claude TOUZET David W. STANLEY Enver DURMUŞOĞLU Ferhan ATICI Figen KAYA Haluk GÜVEN İskender YILGÖR İsmail Hakkı ÖZÖLÇER Kemal BÜYÜKGÜZEL Mahmut ÖZER Martin BOHNER Mehmet KARATAŞ Mehmet YAMAN Melih GENİŞ Mustafa SÖZEN Münevver PINAR Neil CUMBERLIDGE Nursel GÜL Per Nicolai MARTENS Rafat SIDDIQUE Remzi KARAGÜZEL Suna CEBEZOY Şahnaz BOLKENT Ten FEIZI Türkan KOPAÇ Umut TOPRAK Yılmaz YILDIRIM	Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Tokyo Institute of Technology, Japan Kapadokya University, Nevşehir, Türkiye Istanbul Technical University, Istanbul, Türkiye University of Provence, Marseille Cedex, France Agricultural Research Service-USDA, United States Ege University, İzmir, Türkiye Western Kentucky University, United States Yıldız Technical University, İstanbul, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Koç University, İstanbul, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Republic of Türkiye Ministry of National Education, Ankara, Türkiye Missouri University of Science and Technology, United States Necmettin Erbakan University, Konya, Türkiye Bolu İzzet Baysal University, Bolu, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Ankara University, Ankara, Türkiye Northern Michigan University, Michigan, United States Ankara University, Ankara, Türkiye RWTH Aachen University, Aachen, Germany Civil Engineering Thapar University, Paitala (Punjab), India Istanbul Technical University, İstanbul, Türkiye Ankara University, Ankara, Türkiye Istanbul University, İstanbul, Türkiye Imperial College London, United Kingdom Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye Ankara University, Ankara, Türkiye Zonguldak Bülent Ecevit University, Zonguldak, Türkiye



## AMAÇ ve KAPSAM

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>), Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'nin resmi yayın organıdır.

Derginin amacı, Fen Bilimleri, Temel Sağlık Bilimleri ve Mühendislik Bilimleri alanlarında yapılan özgün araştırma makaleleri, derlemeler, kısa makaleler, teknik not, kitap eleştirileri ve bilimsel nitelikli editöre mektupları yayınlayan uluslararası ve saygın bilimsel bir dergi olmaktadır.

Bu dergide yayınlanan makaleler, bağımsız ve önyargısız çift-körleme hakemlik (peer-review) ilkeleri doğrultusunda bir danışma kurulu tarafından değerlendirilir. Makaleler başlıca altı kategoride yayımlanır: (1) "Araştırma Makaleleri", (2) "Derleme Makaleler", (3) "Kısa Makaleler", (4) "Teknik Not ve Vaka Takdimleri", (5) "Editöre Mektuplar", (6) "Kitap ve Yazılım Programı Eleştirileri". Makaleler Türkçe veya İngilizce dillerinde yazılabilir; İngilizce veya Türkçe Özeti ile anahtar sözcükler içermelidir.

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Haziran ve Aralık aylarında olmak üzere yılda iki kez yayınlanmaktadır ve <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen> internet adresi üzerinden takip edilebilir.

### Yayın İzni

Bireysel kullanım dışında, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi'nde yayımlanan makaleler, şekiller ve çizelgeler yazılı izni olmaksızın çoğaltılamaz, bir sistemde arşivlenmez veya reklam ya da tanıtım amaçlı materyallerde kullanılamaz.

Bilimsel makalelerde, uygun şekilde kaynak gösterilerek alıntı yapılabilir.

### Abone İşlemleri

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Üniversite Kütüphanelerine ve bilim insanlarına düzenli olarak ulaştırılmaktadır. Yayımlanan makalelerin tam metnine, çizelgelerine ve özetlerine çevrim-içi olarak <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen> adresinden ücretsiz olarak erişilebilmektedir.

### Yazların Bilimsel ve Hukuki Sorumluluğu

Yayımlanan yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir. Yazların içeriğinden ve kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur. Editör, Yardımcı Editörler, Yayın ve Danışma Kurulu üyeleri ve Yayımcı, dergideki hatalardan veya bilgilerin kullanımından doğacak olan sonuçlardan dolay sorumluluk kabul etmez.

Yazarlarımızın etik ihlalleri ile ilgili tüm iddia ve kesinleşmiş süreçler kendi sorumluluklarında olup, kesinleşen etik ihlalleri durumunda makale otomatik iptal edilir.

## AIMS and SCOPE

Karaelmas Science and Engineering Journal (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>), is the official journal of Zonguldak Bülent Ecevit University.

The journal's aim is to be scientific journal publishing original papers, reviews, short communications, technical notes and scientific editorial letters of science in the following areas: basic sciences, basic medicine science and engineering fields.

Articles submitted to this journal are evaluated in a double blinded peer-reviewed fashion by an advisory committee. Articles are published mainly in six categories: (1) "Research articles", (2) "Review Articles", (3) "Short Communications", (4) "Technical Notes and Case Reports", (5) "Letters to the Editor" and (6) "Book/Software Reviews". All articles may be written in Turkish or English, and should include English and Turkish abstracts and key words.

Karaelmas Science and Engineering Journal is published two issues per year in June and December.

The journal has also been available on-line by a website: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Permission Requests

Manuscripts, figures and tables published in the Karaelmas Science and Engineering Journal cannot be reproduced, archived in a retrieval system, or used for advertising purposes, except personal use.

Quotations may be used in scientific articles with proper referral.

### Subscriptions

Karaelmas Science and Engineering Journal is delivered complimentarily to University Library and scientists Tables of contents, abstracts and full texts of all articles published are accessible free of charge through the web site <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Material Disclaimer

Scientific and legal responsibilities pertaining to the papers belong to the authors. Contents of the manuscripts and accuracy of references are also at the authors' responsibility. Editor, Associate Editors, Editorial and Advisory Board members and the Publisher decline responsibility for errors or any consequences arising from the use of information contained in this journal.

All claims and finalized processes regarding violations of ethics by our authors are under their own responsibility, and in case of ethical violations, the article is automatically canceled.



## YAZARLARA BİLGİLER

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, Fen Bilimleri, Temel Sağlık Bilimleri ve Mühendislik Bilimleri alanlarında yapılan özgün araştırma makaleleri, derlemeler, kısa makaleler, teknik not, kitap eleştirileri ve bilimsel nitelikli editöre mektupları yayınlayan uluslararası bir dergidir. Aralık ve Haziran aylarında olmak üzere yılda iki kez yayınlanır. Dergi, <http://fdbd.beun.edu.tr> internet adresi üzerinden takip edilebilir.

### Dergide yayınlanacak makale türleri aşağıdaki gibidir.

**Araştırma makalesi:** Makale mutlaka orijinal ve daha önce hiç bir dergide basılmamış veya sunulmamış olmalı, tablo ve şekiller dahil 20 sayfayı geçmemelidir.

**Derlemeler:** Herhangi bir araştırma alanındaki son yıllarda yaşanan gelişmeleri ve bu konuda son yıllarda yapılmış çalışmaların bir araya getirildiği makale türüdür. 15 sayfayı geçmemelidir.

**Kısa makaleler:** Küçük çapta yapılan çalışmalar, orijinal araştırma deneylerinin ön sonuçlarından, yeni buluşlar ve klinik deneylerden oluşmalı ve 5 sayfayı geçmemelidir.

**Teknik notlar, Olgu sunumları:** Bilimsel olarak önemli katkı sunan raporlardan oluşmalı ve 3 sayfayı geçmemelidir.

**Editöre mektuplar:** Herhangi bir araştırma konusuna ait fikirler, haberleri, önerileri kapsamlıdır ve 2 sayfayı geçmemelidir.

**Kitap veya yazılım programlarına ait eleştiriler:** Kitap veya yazılım programı hakkındaki kısa ve özét bilgileri içermelidir ve 1 sayfayı geçmemelidir.

### YAYIN KURALLARI

Dergide yayınlanacak makalelerin yazım dili Türkçe veya İngilizcedir. Yazım kurallarına uymayan makaleler, hakemlere gönderilmeden düzeltilmek üzere yazarla geri gönderilir. Bu nedenle derginin yazım kuralları dikkate alınmalıdır. Makaleler şekiller ve çizelgeler dahil 20 sayfayı geçmemelidir. Dergiye yayın için gönderilen makaleler iki uzman hakem tarafından değerlendirilir ve yayına editör tarafından karar verilir. Dergiye gönderilen yazılar başka bir yerde yayınlanmamış veya yayımlamak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Dergide yayınlanmak üzere kabul edilmiş olan yazıların yayın hakları Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisine aittir. Düzeltilmiş yazılar 3 ay içerisinde editöre gönderilecektir.

### DEĞERLENDİRME SÜRECİ

Dergi yönergusonelere uymayan yazılar, bilimsel değerlendirme yapılmadan yazarlara iade edilecektir. Dergi yönergusonelere uygun olarak gönderilen makaleler, onları hakemlere atayacak olan Baş Editör veya Yardımcı Editör tarafından incelenir. İnceleme süreci tek kördür. Hakem önerileri, alan editörlerinin görüşleri ve yayının literatüre katkısı doğrultusunda Editör karar mektubunu yazar. İncelemememiş tüm yazılar 10 gün içinde geri gönderilir ve yazıların karar mektupları 3-6 ay içinde gönderilir.

Makalelerdeki tüm değişiklikler yazarları tarafından yapılır. Son sekli verilen ve yayına hazırlanan makaleler üzerinde yazarlarca bir değişiklik

yapılamaz. Her ne nedenle olursa olsun makalesinin yayınlanmasından vazgeçen bir yazar, makalesini dergiye sunum tarihinden itibaren en fazla iki ay içerisinde çekebilir. Hayvan deneylerinde etik kurul izin belgesi gereklidir.

### MAKALE SUNUMU

Makaleler elektronik ortamda sunulacaktır.

### YAZIM KURALLARI

- Makale A4 boyutlu kağıda, tek yüze, tüm kenarlardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, çift satır aralıklı yazılmalıdır.
- Yazım biçimi, Times New Roman yazı tipi ve 12 punto büyüğünde Microsoft Word Processor kullanılarak hazırlanmalıdır. Tamamı siyah-beyaz renkte olmalıdır (şekil ve çizelgeler dahil).
- Satır başları numaralandırılmalıdır. Sayfa numaraları, sayfaların alt orta bölümlerine konmalıdır.
- Makalenin ana bölümleri, Türkçe Öz, İngilizce Öz (Abstract), Giriş, Gereç ve Yöntem/Yöntemler (Saha tanımlamaları, çalışılan malzeme v.d. Yöntemler kısmının altında alt başlık olarak verilmelidir), Sonuçlar, Tartışma/Sonuçlar ve Öneriler, Teşekkür ve Kaynaklardan oluşur. Öz hariç bütün bölümler numaralandırılmalıdır.
- Latinice isimler italik olarak yazılmalıdır.

**Kapak Sayfası:** Yazının ayrı word dosyası olarak bir başlık sayfası olmalıdır; başlık; tüm yazarın tam adı, kurumlar ve ORCID'leri; sorumlu yazarın iletişim adresi ve e-posta adresi.

### Kapak Yazısı Planı:

- Türkçe ve İngilizce başlık
- Yazar adları ve adresleri
- Sorumlu yazarın adı, adresi ve e-posta adresi
- Kısa başlık
- Tüm yazarların ORCID'leri

**Başlık:** Metne uygun kısa ve anlaşılır olmalıdır. Ortalanmış olarak, sadece ilk harfi büyük sonrakiler küçük, 14 punto ve koyu olmalıdır.

**Yazar adları ve adresleri:** Başlığın altındaki yazar isimleri kısaltmasız, adı ve soyadı (varsı ikinci ismi veya soy ismi) küçük harf ile ortalanmış olarak 12 punto ve koyu yazı karakteri ile yazılmalıdır. Yazar isimlerinden sonra adres belirtmek için üst simge olarak rakam kullanılmalıdır (¹²³ gibi). Sorumlu yazar isminde yıldız sembolü olmalıdır (\*). Yazarların tam adresleri küçük harfle, ortali ve 10 punto olarak yazılmalı, Üniversite, Fakülte, Bölüm ve Şehir belirtilmelidir. Sorumlu yazarın e-posta adresi, adresinin sonunda mutlaka verilmelidir.

**Öz ve Anahtar Kelimeler:** Özetler 10 punto ile yazılmalı ve 250 kelimeyi geçmemelidir.

Türkçe ve İngilizce özeti altında 2-6 kelimedenden oluşan Anahtar kelimeler yazılmalıdır.



## Özet Sayfasının Planı

### 1. Türkçe makalelerde

- |                     |                                |
|---------------------|--------------------------------|
| a) Türkçe Başlık    | f) Öz                          |
| b) İngilizce Başlık | g) Anahtar Kelimeler           |
| c) Yazar Adları     | h) İngilizce Abstract          |
| d) ORCID            | i) İngilizce Anahtar Kelimeler |
| e) Adres(ler)       | (Keywords)                     |

### 2. İngilizce makalelerde

- |                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| a) İngilizce Başlık     | f) Abstract          |
| b) Türkçe Başlık        | g) Keywords          |
| c) Yazar Adları         | h) Öz                |
| d) ORCID                | i) Anahtar Kelimeler |
| e) İngilizce Adres(ler) |                      |

**Tam Metin:** Makaledeki anabaşlıklar ve varsa alt başlıklar anlaşılır olmalıdır. Ana metin başlıkları sola yanaşık, baş harfi büyük, 12 punto ve koyu renkli olmalıdır. Alt başlıklar 10 punto, küçük ve italik yazılmalıdır.

**Giriş:** Araştırmanın amacı, önemi ve konusunda yapılmış yayınlar arasındaki yerî belirtilmelidir.

**Gereç ve Yöntem/Yöntemler:** Uygulanan yöntemler ve teknikler anlaşılır bir şekilde verilmelidir.

**Sonuçlar:** Bu bölümde elde edilen bulgulara (sonuçlara) yer verilmeli, sonuçlar gerekirse şekil ve çizgilerle de desteklenmelidir.

**Tartışma:** Elde edilen bulgular ilgili literatürle karşılaştırılmalıdır. Sonuçların benzer ve farklılıklarını yorumlanarak, çalışmadan elde edilen bulgular özetlenmelidir.

**Teşekkür:** Araştırmaya destek olan kişi ve kuruluşlara yapılan teşekkürleri içermelidir.

Her türlü çıkar çatışması, finansal destek, yazarların katkı beyanı, bağış ve diğer editöryal (istatistik analiz, İngilizce/Türkçe değerlendirme) ve/veya teknik yardım var ise metnin sonunda sunulmalıdır.

**Kaynaklar:** Yayınlanmamış bilgiler kaynak olarak verilmemelidir. Ancak, tamamlanmış ve jüriden geçmiş tezler kaynak olarak verilebilir. Kaynaklar, makale sonunda alfabetik sırada (yazar soyadlarına göre) verilmeli, yazar adı ve soyadları, makalenin basım tarihi koyu olarak yazılmalıdır.

Kaynakların metin içerisindeki kullanımı aşağıda verilmiştir:

### 1. Türkçe Makalelerde:

Tek yazarlı çalışma (Reşat 2001, Landen 2002).

İki yazarlı çalışma (Aydan ve Geniş 2008, Stanley ve Tunaz 1999, Büyükgüzel ve Yazgan 2002) şeklinde belirtilmelidir. Üç ve daha fazla yazar sözkonusu ise, (Kuçu vd. 2002, Yılmaz vd. 2007) şeklinde, aynı yazarın birden fazla makalesi kullanılacaksa (Smith vd. 1995a,b, 1997) şeklinde olmalıdır. Herhangi bir kaynaktan alıntı yapılmışsa: Aydan ve Geniş (2008)'e göre....şeklinde olmuştur; Yılmaz vd. (2007)'e göre; diye yazılmalıdır.

### 2. İngilizce Makalelerde:

Tek yazarlı çalışma (Landen 2002).

İki yazarlı çalışma (Anderson and Pratt 2002, Büyükgüzel and Yazgan 2002). Herhangi bir kaynaktan alıntı yapılmışsa Ünlü and Gerçek (2003)'e göre...şeklindedir, diye belirtilmelidir.

Üç ve daha fazla yazardan oluşan çalışmalar (Evans et al. 2001, Landen et al. 2004) şeklinde olmalıdır. Alıntı yapılacaksa Landen et al. (2002)'ye göre; diye yazılmalıdır.

Kaynak gösterilecek yayında kaç isim varsa, kaynaklar bölümünde tümü belirtilmeli, kısaltma yapılmamalıdır.

Türkçe ve İngilizce makalelerde, yazılım programları metin içerisinde ismi ve yılı belirtilerek (PROC GLM, SAS Institute 1999) şeklinde verilmelidir.

Kaynakların metin sonunda veriliş şekilleri aşağıdaki gibidir:

#### Makale:

**Büyükgüzel, K., Yazgan, Ş. 1996.** Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Turk. J. Zool.*, 20:1-7.

**Özer, M., Perc, M., Uzuntarla, M. 2009.** Stochastic resonance on Newman-Watts networks of Hodgkin-Huxley neurons with local periodic driving. *Phys. Let. A*, 373 : 964-968.

#### Kitap:

**Reşat, U. 2001.** Uygulamalı Jeoteknik Bilgiler. 4. Basım, TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, Nitelik Matbaacılık, Ankara, 385 s.

**Sanford, RJ. 2003.** Principles of fracture mechanics, Prentice Hall, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA, 404 pp.

#### Kitapta Bölüm:

**Cheeseman, KH. 1993.** Lipid peroxidation in biological systems. In: B. Halliwell, O.I. Auroma [eds.], DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, London, pp. 12-17.

#### Rapor:

**Makarewicz, JC., Lewis, T., Bertram, P. 1995.** Epilimnetic phytoplankton and zooplankton biomass and species composition in Lake Michigan, 1983-1992. U.S. EPA Great Lakes National Program, Chicago, IL. EPA 905-R-95-009.

#### Kongre, Sempozyum:

**Kuçu, Ş., Azar A., Kısa, A. 1997.** Arşiv bilgi ve belgelerinden yararlanılarak grafik kadastronun sayısallaştırılması ve bir uygulamanın sonuçları. 6. Harita Kurultayı, s. 211-222, Ankara.

**Kaplan, A. 2000.** Ankara havasında bulunan biyolojik partiküller. XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, s. 45-50, Ankara.

#### İnternet:

Eğer bir bilgi herhangi bir internet sayfasından alınmış ise (internetten alınan ve dergilerde yayınlanan makaleler hariç), kaynaklar bölümune internet sitesinin ismi ve konu başlığı tam olarak yazılmalıdır.

#### Anonim web sayfası:

**Leafy seadragons and weedy seadragons. 2001.** <http://www.windspeed.net.au/jenny/seadragons/>



#### **Yazarlı web sayfası:**

**Dawson, J., Smith, L. Deubert, K.** 31 Ekim 2002. <http://studytrekk.lis.curtin.edu.au/> şeklinde belirtilmelidir.

#### **Baskıda olan makale:**

**Evans, MA.** 2002. Makale başlığı. *Dergi*. (baskıda).

#### **Tezler:**

**Özcan, A.** 2006. Endüstriyel atıklar ve polipropilen lif içeren saha betonlarının özelliklerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 70 s.

#### **Yazılım:**

**SAS Institute.** 2001. PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute. Cary, NC.

**Çizelgeler ve Şekiller:** Tüm şekil ve çizelgeler makale içerisinde sirayla numaralandırılmalı (Çizelge 1., Şekil 1., Çizelge 2 ve 3, Şekil 2 ve 3; Şekil 4., Çizelge 2.), şekillerin sıra numaraları ve başlıklar alta, çizelgelerinki ise üstlerine yazılmalıdır. Grafik ve şekiller sayı boyutları dikkate alınarak çizilmelidir. Çizelge ve şekillerin başlık ve açıklamaları, Kaynaklardan sonra ayrı sayfalar halinde Çizelgeler dizini ve Şekiller dizini olarak hazırlanmalıdır. Açıklamalardan sonra ayrı sayfalar halinde çizelge ve şekiller verilmelidir. Grafikler, çizimler ve fotoğraflar JPEG ya da TIFF formatında (en az 600 dpi çözünürlükte) siyah-beyaz veya renkli olarak sunulmalıdır. Fotoğraflarda büyütmeye göstermek için mutlaka bar kullanılmalıdır.

Çizelgede verilecek olan verilerde standart sapma veya standart hatalar ( $1.42 \pm 1.36$ ) şeklinde, istatistiksel analiz yapılmışsa (731.2ab) şeklinde, bunların başlık olarak yazılış şekilleri de (ort  $\pm$  SE; ort  $\pm$  SD, vb.) gibi olmalıdır.

**Denklemler:** Matematiksel ifadeler "Equation Editör" (word ortamında) kullanılarak 9 punto ve alt ve üst indisler 8 punto yazılmalıdır. Metin içerisinde geçen eşitlikler normal parantez ( ) içerisinde numaralandırılmalıdır. Denklem sıra numarası ile birlikte (parantez içerisinde) yazılmalıdır.

#### **Matematiksel denklemlerdeki eşitlikler:**

$$R = A_{\text{bar type}} + B \log_{10}(f) \quad (2) \text{ şeklinde olmalıdır.}$$

**Ekler:** Tüm ekler ayrı sayfaya yazılmalı ve Romen rakamları ile numaralandırılmalıdır.

Matematik dalında yayın gönderecek yazarların konu sınıflandırma numarasını (AMS-Mathematical Subject Classification Number) belirtmeleri gereklidir.

**Semboller ve Birimler:** Metrik sistem veya SI birimleri (kPa, kN/m<sup>3</sup>, g/cm<sup>2</sup>, m/sn, g/m<sup>3</sup>, vb.) kullanılmalıdır. Gerek metin içinde ve çizelgelerde, gerekse şekillerde rakamların ondalık bölmelerinin belirtilmesi için nokta kullanılmalıdır (10.25 gibi). Yüzdelik birimler (%50) şeklinde belirtilmelidir.

**Kısaltmalar:** Zamanla ilgili olan kısaltmalar: sa (saat), dk (dakika), sn (saniye), y (yıl), hf (hafta) olarak belirtilmelidir. Tarihler verilirken gün ay ve yıl kısaltma yapmadan tam olarak yazılmalıdır (23 Ocak 2007).

**Sayılar:** Sayılar cümle başlarında yazı ile verilmelidir. Birden dokuza kadar olan sayılar yazı ile, 10 ve daha büyük sayılar rakamla

belirtilmelidir. Birden küçük olan sayılar (0.05, 0.56, 0.50, P < 0.05, v.b.) olarak belirtilmelidir. Binden büyük sayıarda yüzden sonra olan kısımlar virgülle ayrılmalıdır (100, 000).

**Dipnotlar:** Çizelgede kullanılacak olan dipnotlar istatistiksel analiz yapıldığı durumlarda (\*P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001; NS, istatistiksel olarak önesmsizdir, v.b.) şeklinde olmalıdır.

Derginin bir sayısında, ilk isim olarak bir yazarın üçten fazla eseri basılamaz. Dönemler içerisinde üçten fazla eser gönderilmişse, ilk üçü dışında kalanlar daha sonraki sayılara aktarılır.

Matematik ve ilgili konular için makalenin hazırlanması şu şekilde olmalıdır:

Makalenin ilk sayfasında, Matematik Reviews yıllık dizini itibaren en az bir 2010 MSC (Matematik Konu Sınıflandırması) numaralarını içermelidir. MSC Konu Sınıflandırması <http://www.ams.org/math-scinet/msc/msc2010.html> adresinden temin edilebilir.

Kaynaklar bölümünde, yazarların soy isimleri alfabetik sıraya göre dizilmeli ve numaralandırılmalıdır [1],[2],.. gibi. Metin içerisinde kaynak numaraları köşeli parantez içerisinde alınmalıdır, [23] veya [12]-[15] gibi. Formül numaralarını ayırt etmek için, yuvarlak parantez içinde tırnak içerisinde alınmalıdır. Yukarıdaki şartları sağlamayan yayınlar değerlendirmeye alınmaz.

#### **Makale Yazım Kontrol Listesi**

Makale dergiye sunulmadan önce makalenin yazım kurallarına uygun olup olmadığından emin olmak için aşağıda belirtilen kontrolleri yapınız.

- Başlık sayfası eklendi mi?
- İmla ve dilbilgisi kontrolü yapıldı mı?
- Tüm sayfa düzeni çift araklı yazıldı mı?
- Köşelerden 2.5 cm boşluk bırakıldı mı?
- Yazı tipi Times new roman ve büyülüğu 12 punto mu?
- Metin içerisindeki başlıklar sola yanaşık, 12 punto ve koyu renkli yazıldı mı?
- Tüm yazarların adları ve soyadları kısaltma yapılmadan belirtildi mi?
- Adresler belirtildi mi?
- Başlık 14 punto koyu yazı karakteri ile ortalanarak yazıldı mı?
- Türkçe Öz ve Anahtar Kelimeler yazıldı mı?
- İngilizce Abstract ve Keywords verildi mi?
- Kaynaklar yazım kurallarına göre ve alfabetik sıraya yazıldı mı?
- Ondalık dilimler nokta ile belirtildi mi? (10.25 gibi)
- Yüzdelik gösterimler (%63, %10 gibi) şeklinde yapıldı mı?
- Çizelgelerin maksimum boyutu 16x20 cm; minimum 8 cm mi?
- Çizelgeler makale içerisinde sırayla verildi mi?
- Orijinal şekiller eklendi mi?
- Şekiller yazım kurallarına uygun olarak düzenlenendi mi?
- Şekillerin maksimum boyutu 16x20 cm; minimum 8 cm mi?
- Şekiller makale içerisinde sırayla verildi mi?
- Çizelgeler ve Şekiller Dizini ayrı sayfalarda verildi mi?
- Tüm sayfa ve satırlara numara verildi mi?



## ETİK KURALLAR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesinin yayın organı olan Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi ulusal ve uluslararası tüm kurum ve kişilere ücretsiz olarak ulaşmayı hedefleyen hakemli bir dergidir.

Dergimize gönderilen bilimsel yazınlarda, ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) tavsiyeleri ile COPE (Committee on Publication Ethics)'un Editör ve Yazarlar için Uluslararası Standartları dikkate alınmaktadır.

**Yazarlarımızın etik ihlalleri ile ilgili tüm iddia ve kesinleşmiş süreçler kendi sorumluluklarında olup, kesinleşen etik ihlalleri durumunda makale otomatik iptal edilir.**

### Hakemler İçin Etik Kurallar

Hakemler;

- Değerlendirdiği yazıların gizliliğine saygı gösterir ve makaleyi tartışmaz veya yazı hakkında başka herhangi bir kişiyle iletişim kurmaz.
- Olası bir çıkar çatışması olduğunda editörü konu hakkında bilgilendirir.
- Önerileri için nesnel ve yapıcı bir açıklama sağlar.
- Makaleye ilişkin kararlarının konudan veya yazarlık biçiminden etkilenmesine izin vermez.
- Güçlü bir bilimsel gerekçe olmadıkça yazarın kendi makalelerini belirtmesini istemez.
- Yazarlar tarafından yayınlanmadan önce kendi çalışmalarının hiçbirinde incelenen makalenin herhangi bir bölümünü veya bilgiyi çoğaltmaz.
- Hakem değerlendirmelerini sadece uzmanlıklarını dahilinde ve makul bir süre içinde kabul eder.
- Yazının yayına çıkışmasını geciktirecek ertelemeler yapmaz.
- Hakaret, düşmanca veya küçük düşürücü bir dil kullanmaz.
- Gönderilen makaleleri ve ilgili tüm materyalleri inceledikten sonra imha eder.

[https://publicationethics.org/files/Ethical\\_guidelines\\_for\\_peer\\_reviewers\\_0.pdf](https://publicationethics.org/files/Ethical_guidelines_for_peer_reviewers_0.pdf)

### Yazarlar İçin Etik Kurallar

Yazarlar ve yardımcı yazarlar;

- International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) tarafından belirtilen yazar kriterlerine uygunluk sağlanır;
  - a. Eserin tasarımasına veya tasarımasına önemli katkılar sağlayan verilerin elde edilmesi, analizi veya yorumlanması
  - b. Çalışmanın hazırlanması veya literatürün içerik için eleştirel olarak gözden geçirilmesi
  - c. Yayınlanacak versiyonun nihai onayı

d. Çalışmanın herhangi bir bölümünün doğruluğu veya bütünlüğü ile ilgili soruların uygun şekilde soruşturulup çözülmemesini sağlamada, çalışmanın tüm yönlerinden sorumlu olacak anlasma.

- Gönderilen makaleler yazar(lar)ın özgün çalışması olmalıdır ve eşzamanlı olarak farklı yazardılara gönderilmemelidir
- Yazar(lar) araştırma önerisinde, icrasında ya da araştırma sonuçlarını raporlarken araştırma suistimali olarak tanımlanan uydurma, tahrifat ya da intihalden sorumludur.
- Gönderilen makalelerde çıkar çatışması varsa editöre bilgi verilmelidir
- Gönderilen makalelerde ön kontrol, değerlendirme süreci ya da yayınlanmış olan sürümünde yazar veya yardımcı yazarlar tarafından hata fark edilirse bilgi vermek, düzeltmek ya da geri çekmek için editörü bilgilendirmelidir.
- Makale gönderildikten sonra yazar sıralamaları ve yazar eklemecikartmaları önerilmemelidir
- Yazar(lar), etik kurul kararı gerektiren araştırmalar için etik kurul onayı alındığını; etik kurul adı, karar tarihi ve sayısı aday makalenin ilk-son sayfasında ve yöntem bölümünde belirtmeli, etik kurul kararını gösteren belgeyi makalenin başvurusyla birlikte sisteme yüklemelidir.
- Yazarlar olgu sunumlarında olur/onam formunun alındığına ilişkin bilgiye makalede yer vermelidir.
- Kullanılan fikir ve sanat eserleri için telif hakları düzenlemelerine riayet edilmesi gerekmektedir.
- Makale sonunda; Araştırmacıların Katkı Oranı beyanı, varsa Destek ve Teşekkür Beyanı, Çatışma Beyanı verilmelidir.

<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>

[https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316\\_ESE\\_2018.44.e1.tr\\_.pdf](https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316_ESE_2018.44.e1.tr_.pdf)

### Editörler İçin Etik Kurallar

Editörler:

- Okuyucular, araştırmayı veya diğer bilimsel çalışmaları kimin finanse ettiği ve fon verenlerin araştırmada ve yayınlanmasında herhangi bir rolü olup olmadığı ve eğer öyleyse bunun ne olduğu konusunda bilgilendirilmelidir.
- Editörlerin yayın için bir makaleyi kabul etme veya reddetme kararları, makalenin önemi, özgünlüğü ve netliği ile çalışmanın geçerliliği ve derginin görev alanına uygunluğunaya dayanmalıdır.
- Editörler, gönderimle ilgili ciddi sorunlar tespit edilmedikçe, gönderimleri kabul etme kararlarını tersine çevirmemelidir.
- Ciddi sorunlar tespit edilmedikçe yeni editörler, bir önceki editör tarafından yapılan başvuruları yayımlama kararlarını bozmamalıdır.



- Hakem değerlendirmesi süreçlerinin bir açıklaması yapılmalı ve editörler açıklanan süreçlerden önemli sapmaları ortaya çıkarmalıdır.
- Yazarların editorial kararlara itiraz edebilmeleri için beyan edilmiş bir mekanizmaya sahiptir.
- Editörler, kendilerinden beklenen her şey hakkında yazarlara rehberlik etmelidir. Bu rehberlik düzenli olarak güncellenmeli ve bu koda atıfta bulunmamalı veya bu koda bağlantı vermelidir.
- Editörler, International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) önerdiği yazarlık kriterlerini belirtmelidir.
- Editörler, kabul etmeden önce gözden geçirenlerin rekabet edebilecek potansiyel çıkarları ifşa etmelerini istemelidir bir sunumu gözden geçirin.
- Editörler, hakemlerin kimliklerinin korunmasını sağlayacak sistemlere sahip olmalıdır. Yazarlara ve hakemlere bildirilen açık bir inceleme sistemi kullanır.
- Editörler, yeni yayın kurulu üyelerine kendilerinden beklenen her şey hakkında kılavuzlar sunmalı ve mevcut üyeleri yeni politikalar ve gelişmeler hakkında güncel tutmalıdır.
- Editörler, derginin kalitesine ve uygunluğuna göre ve dergi sahibinin / yayınının müdahalesi olmadan hangi makalelerin yayınlanacağına karar vermelidir.
- Editörlerin derginin sahibi ve / veya yayıncı ile ilişkilerini belirleyen yazılı bir sözleşmesi olmalıdır. Bu sözleşmenin şartları Dergi Editörleri için COPE Davranış Kuralları ile uyumlu olmalıdır.
- Editörler dergilerindeki hakem değerlendirmelerinin adil, tarafsız ve zamanında yapılmasını sağlamak için çaba göstermelidir.
- Editörler, dergilerine gönderilen materyallerin incelenirken gizli kalmasını sağlayacak sistemlere sahip olmalıdır.
- Editörler, dergilerdeki bölümlerin farklı amaç ve standartlara sahip olacağını kabul ederek, yayınladıkları materyalin kalitesini sağlamak için tüm makul adımları atmalıdır.

<https://publicationethics.org/files/Code%20of%20Conduct.pdf>



## YAYIN ETİĞİ

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisinin yayın etiği beyanı, www.publicationethics.org adresinde bulunan Yayın Etiği Komitesi'nin (COPE) Davranış Kuralları kılavuzuna dayanmaktadır.

### **Editörlerin Görevleri**

#### **Adil ve editorial bağımsızlık**

Editörler sunulan makaleleri, yazarların ırkı, cinsiyeti, cinsel tercihi, etnik kökeni, vatandaşlığı, dini inancı, siyasi felsefesi veya kurumsal eğilimleri ne olursa olsun, sadece akademik yararları (önemi, özgünlük, çalışmanın geçerliliği, netliği) ve derginin kapsamıyla olan ilgisine göre değerlendirdirler. Düzenleme ve yayılama kararları, hükümetlerin veya derginin dışındaki diğer kurumların politikaları tarafından belirlenmez. Genel Yayın Yönetmeni, derginin tüm editorial içeriği ve bu içeriğin yayınlanması üzerinde tam yetkiye sahiptir.

#### **Gizlilik**

Editörler, gönderilen bir makaleyle ilgili hiçbir bilgiyi ilgili yazar, gözden geçenler, potansiyel gözden geçenler, diğer yayın danışmanları ve yayıncı dışında kimseye açıklamaz.

#### **Açıklama ve çıkar çatışmaları**

Editörler ve yayın kurulu üyeleri, gönderilen bir makalede açıklanan yayınlanmamış bilgileri, yazarların açık yazılı izni olmadan kendi araştırma amaçları doğrultusunda kullanmayacaktır. Yazının işlenmesi sonucunda editörler tarafından elde edilen ayrıcalıklı bilgi veya fikirler gizli tutulacak ve kişisel avantajları için kullanılacak olacaktır. Editörler, makalelere bağlı herhangi bir yazar, şirket veya kurumla rekabet, işbirlikçi veya diğer ilişkilerden/bağlantılardan kaynaklanan çıkar çatışmaları olan yazılarını dikkate almaktan geri çekilecekler; bunun yerine, yayın kurulunun başka bir üyesinden yazıyı işlemesini isteyecekler.

#### **Yayın kararları**

Editörler, yayınlanmak üzere değerlendirilen tüm makalelerin, alanında uzman en az iki gözden geçen tarafından hakem incelemesinden geçmesini sağlar. Sorumlu müdür, söz konusu çalışmanın doğrulanmasına, araştırmacılar ve okuyucular için önemine, eleştirmenlerin yorumlarına ve iftira, telif hakkı ihlali ve intihal ile ilgili şu anda yürütülüğe olan yasal gerekliliklere dayanarak, dergiye gönderilen yazılarından hangisinin yayınlanacağına karar vermekten sorumludur. Sorumlu müdür bu kararı verirken diğer editörler veya yorumcularla görüşebilir.

#### **Soruşturmala katılmak ve işbirliği**

Editörler (yayıncı ve/veya kurulla birlikte) gönderilen bir makale veya yayınlanmış makaleyle ilgili etik kaygılar ortaya çıktığında duyarlı önlemler alacaktır. Etik olmayan yayıncılık davranışlarının rapor edildiği her eylem, yayımlanıktan yıllar sonra kesfedilmiş olsa bile inceleneciktir. Editörler, suistimal şüphesiyle uğraşırken COPE Akış Şemalarını takip eder. Eğer, soruşturma üzerine, etik kaygı iyi kurulmuşsa, bir düzeltme, geri çekme, endişenin ifade edilmesi veya ilgili olabilecek diğer notlar dergide yayınlanacaktır.

#### **Gözden Geçirenlerin Görevleri**

##### **Editorial kararlara katkı**

Akran incelemesi editörlerin editorial kararlar almalarına yardımcı olur ve yazarlarla editorial iletişim yoluyla yazarların makalelerini geliştirmelerine yardımcı olabilir. Akran incelemesi resmi bilimsel iletişimün önemli bir bileşenidir ve bilimsel çabanın merkezinde yer alır.

#### **İstem**

Bir makalede bildirilen araştırmayı gözden geçirmek için niteliksiz hissedilen veya derhal gözden geçirilmesinin imkansız olacağını bilen davet edilen her hakem, editörleri derhal bilgilendirmeli ve alternatif hakemlerle iletişime geçilebilmesi için inceleme davetini reddetmelidir.

#### **Gizlilik**

İncelenmek için alınan tüm yazılar gizli belgelerdir ve bu şekilde ele alınmalıdır; Genel Yayın Yönetmeni tarafından izin verilmeyikleri sürece (istisnai ve özel durumlarda bunu yapacak olanlar) başkalarıyla gösterilmemeli veya tartışılmamalıdır. Bu, inceleme davetini reddeden, davet edilen, gözden geçenler için de geçerlidir.

#### **Nesnellik standartları**

İncelemeler objektif olarak yapılmalı ve gözlemler, yazarların makalenin iyileştirilmesi için kullanılmaları amacıyla destekleyici argümanlarla net bir şekilde formüle edilmelidir. Yazarların kişisel eleştirisi uygunsuzdur.

#### **Kaynakların kabulü**

Hakemler, yazarlar tarafından atıfta bulunulmamış ilgili yayınlanmış çalışmalarını belirlemelidir. Önceliği yayınlarında rapor edilmiş bir gözlem, türetme veya argüman olan herhangi bir ifadeye ilgili alıntı eşlik etmelidir. Bir hakem ayrıca, incelemeye olan makale ile hakkında kişisel bilgi sahibi oldukları (yayınlanmış veya yayınlanmamış) herhangi bir diğer makale arasındaki herhangi bir önemli benzerlik veya örtüşmeyi editörlere bildirmelidir.

#### **Açıklama ve çıkar çatışmaları**

Makaleye bağlı yazarlar, şirketler veya kurumlarla rekabet, işbirlikçi veya diğer ilişkilerden kaynaklanan çıkar çatışmaları olan davet edilen hakemler, editörleri derhal çıkar çatışmalarını beyan etmeleri ve alternatif hakemlerle iletişime geçilebilmeleri için inceleme davetini reddetmeleri konusunda bilgilendirmelidir.

Gönderilen bir yazıda açıklanan yayınlanmamış materyaller, yazarların açık yazılı izni olmadan bir eleştirmenin kendi araştırmasında kullanılmamalıdır. Akran incelemesi yoluyla elde edilen ayrıcalıklı bilgiler veya fikirler gizli tutulmalı ve gözden geçenin kişisel avantajı için kullanılmamalıdır. Bu, inceleme davetini reddeden, davet edilen, gözden geçenler için de geçerlidir.

#### **Yazarların Görevleri**

##### **Raporlama standartları**

Orijinal araştırmnanın yazarları, yapılan eserin ve sonuçlarının doğru



bir açıklamasını sunmalı ve ardından çalışmanın önemini objektif bir tartışmasını sunmalıdır. Yazı, başkalarının eseri çoğaltmasına izin verecek yeterli ayrıntı ve referanslar içermelidir. İnceleme makaleleri doğru, objektif ve kapsamlı olmalı, editorial 'görüş' veya perspektif parçaları açıkça bu şekilde tanımlanmalıdır. Hileli veya bilerek yanlış ifadeler etik olmayan davranışlar teşkil eder ve kabul edilemez.

#### **Veri erişimi ve saklama**

Yazarlardan, çalışmalarının ham verilerini editorial inceleme için yazı ile birlikte sağlamaları istenebilir ve uygulanabilirse verileri kamuya açık hale getirmeye hazır olmalıdır. Her hali karda, yazarlar, katılımcıların gizliliğinin korunması ve özel verilerle ilgili yasal hakların serbest bırakılmasını engellememesi koşuluyla, bu verilerin yayımlanından sonra en az 10 yıl süreyle (tercihen kurumsal veya konu tabanlı veri deposu veya diğer veri merkezi aracılığıyla) diğer yetkili profesyonellere erişilebilirliğini sağlamalıdır.

#### **Özgünlük ve intihal**

Yazarlar sadece tamamen orijinal eserler yazdıklarından ve sunduklarından ve başkalarının çalışmalarını ve/veya sözlerini kullanmışlarsa, bunun uygun şekilde atıfta bulunulduğunu sağlamalıdır. Yazında bildirilen eserin niteliğinin belirlenmesinde etkili olan yayınlar da belirtilmelidir. İntihal, başka bir makalenin "yazarın kendi makalesi" olarak "aktarılmasından", başka bir makalenin önemli bölümlerini kopyalamaya veya paraphrasinge (atif yapmadan), başkaları tarafından yapılan araştırmadan elde edilen sonuçların iddiasına kadar pek çok biçim alır. Tüm biçimlerinde intihal etik olmayan yayincılık davranışını teşkil eder ve kabul edilemez.

#### **Coklu, yinelenen, gereksiz veya eşzamanlı gönderim/yayın**

Temelde aynı araştırmayı açıklayan bildiriler birden fazla dergide veya birincil yanında yayınlanmamalıdır. Bu nedenle, yazarlar daha önce başka bir dergide yayınlanmış bir makaleyi değerlendirmelik üzere göndermemelidir. Bir makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi etik dışı bir yayın davranışıdır ve kabul edilemez.

Bazı makale türlerinin (klinik kılavuzlar, çeviriler gibi) birden fazla dergide yayınlanması, belirli şartların karşılanması koşuluyla bazen haklı görülebilir. İlgili dergilerin yazarları ve editörleri, birincil belgenin aynı verilerini ve yorumunu yansıtması gereken ikincil yayını kabul etmelidir. Birincil referans, ikincil yanında belirtilmelidir.

#### **Makalenin yazarlığı**

Sadece bu yazarlık kriterlerini karşılayan kişiler, içeriğin kamuya açık sorumluluğunu üstlenebilmeleri için makalede yazar olarak listelenmelidir: (i) çalışmanın anlaşılmasına, tasarımlına, yürütülmesine, veri edinilmesine veya analizine/yorumlanmasına önemli katkılarında bulunmuştur; ve (ii) yazının hazırlanması veya önemli entelektüel içerik için eleştirel olarak revize edilmesi; ve (iii) gazetenin son halini görmüş ve onaylamış ve yayımlanmak üzere sunulmasını kabul etmiş ve kabul etmiş. Yazında bildirilen eserin önemli katkıları olan (teknik yardım, yazma ve düzenleme yardımı, genel destek gibi) ancak yazarlık kriterlerini karşılamayan kişilerin yazar olarak listelenmemesi, yazılı izin alınından sonra "Bildirimler" bölümünde kabul edilmesi gerekmektedir. İlgili yazar, tüm uygun ortak yazarların (yukarıdaki tanıma göre) ve uygunsuz ortak yazarların yazar listesine dahil edilmemesini sağlamalı ve tüm ortak yazarların makalenin son halini görüp onayladığı ve yayına sunulmasını kabul ettiğini doğrulamalıdır.

#### **Açıklama ve çıkar tartışmaları**

Yazarlar mümkün olan en erken aşamada (genellikle gönderim sırasında bir açıklama formu göndererek ve makaleye bir ifade de dahil olmak üzere), sonuçları veya makaledeki yorumları etkilemek için yorumlanabilecek çıkar tartışmalarını ifşa etmelidir. Açıklanması gereken potansiyel çıkar tartışmalarına örnek olarak, fahri, eğitim hibeleri veya diğer finansman, konuşmacı bürolarına katılım, üyelik, istihdam, danışmanlık, hisse senedi sahipliği veya diğer hisse senedi çıkarları ile ücretli uzman ifadeleri veya patent lisanslama düzenlemeleri ile kişisel veya mesleki ilişkiler, ilgili kişiler, bilgi veya inançlar gibi finansal olmayan konular veya makalede tartışılan materyaller verilebilir. Çalışma için tüm finansal destek kaynakları açıklanmalıdır (hibe numarası veya varsa diğer referans numarası da dahil olmak üzere).

#### **Kaynakların kabulü**

Yazarlar, başkalarının çalışmalarını doğru bir şekilde kabul ettiklerinden emin olmalı ve bildirilen eserin niteliğini belirlemekte etkili olan yayınlara da atıfta bulunulmalıdır. Özel olarak elde edilen bilgiler (üçüncü şahıslarla konuşma, yazışma veya tartışma) kaynaktan açık, yazılı izin alınmadan kullanılmamalı veya rapor edilmemelidir. Yazarlar, bu hizmetlerde yer alan eserin yazarının açık yazılı iznini almamışsa, yazılarla hakemlik veya hibe başvuruları gibi gizli hizmetlerin sağlanmasıında elde edilen bilgileri kullanmamalıdır.

#### **Tehlikeler ve insan veya hayvan denekleri**

Çalışma, kullanımlarında olağanüstü tehlikeler etüt eden kimyasallar, prosedürler veya ekipmanlar içeriyorsa, yazarlar bunları yazda açıkça tanımlamalıdır. Eğer çalışma hayvanların veya insan katılımcıların kullanımını içeriyorsa, yazarlar tüm prosedürlerin ilgili yasalara ve kurumsal yönelerde uygun olarak gerçekleştirildiğinden ve ilgili kurumsal komitenin bunları onayladığından emin olmalıdır; yazı bu yönde bir ifade içermelidir. Yazarlar ayrıca, insan katılımcılarla deneyler için bilgilendirilmiş onam alındığına dair bir ifadeyi de makaleye eklemelidir. İnsan katılımcılarının gizlilik haklarına her zaman uyulmalıdır.

#### **Akran incelemesi**

Yazarlar, editörlerin ham veri, açıklama ve etik onayı, hasta onayları ve telif hakkı izinleri için isteklerine derhal yanıt vererek akran değerlendirme sürecine katılmak ve tam işbirliği yapmak zorundadırlar. İlk olarak "revizyon gerekliliği" kararı verilmesi durumunda yazarlar, hakemlerin yorumlarına sistematik olarak, her noktasına zamanında yanıt vererek, makalelerini verilen son tarihe kadar gözden geçirip dergiye yeniden göndermelidir.

#### **Yayınlanan çalışmalarındaki temel hatalar**

Yazarlar kendi yayınlanmış çalışmalarında önemli hatalar veya yanlışlıklar bulduklarında, derginin editörlerini veya yayınıcısını derhal bilgilendirmek ve çalışmaya bir hata biçiminde düzeltmek veya geri çekmek için onlarla işbirliği yapmak onların yükümlülüğüdür. Editörler veya yayıcı, yayınlanmış bir çalışmanın önemli bir hata veya yanlışlık içerdigini üçüncü bir taraftan öğrenirse, makalenin doğruluğunu dergi editörlerine derhal düzeltmek veya geri çekmek veya dergi editörlerine kanıt sunmak yazarların yükümlülüğüdür.



## INSTRUCTIONS to AUTHORS

Karaelmas Science and Engineering Journal is the international scientific journal publishing original papers in English or Turkish, reviews, short communications, technical notes and scientific editorial letters of science in the following areas: basic sciences, basic medicine science and engineering fields. This journal publishes two times a year (June and December). Manuscripts should be submitted online by a website: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

### Manuscript Categories:

**Research articles:** Manuscripts should report original information which have not been published or submitted previously. Articles should not exceed 20 printed papers including tables and figures.

**Review articles:** Reviews of recent developments in a research fields and ideas will be accepted. Manuscripts should not exceed 15 papers of printed text. The use of tables and figures to summarize critical points is encouraged.

**Short communications:** These include small-scale investigations, innovative methods, perspectives on existing laboratory techniques and new methodologies, clinical trials and epidemiological studies. It should no exceed 5 printed pages.

**Technical notes or Case Reports:** Scientific reports providing important contributions their area will be considered in this category. It should not be exceed 3 pages.

**Letters to editor:** These include opinions, news and suggestions. Letters should not exceed 2 pages.

**Book/Software Reviews:** Short but concise description of the book/software, not exceeding a page. These types are not peer reviewed.

### CONDITIONS FOR PUBLICATION

Journal articles are published in Turkish or English. Manuscript should be suitable to the formal criteria of Instructions to Authors, otherwise, the manuscript will be sent back to the authors. Manuscripts should not exceed 20 papers of printed text, including tables, figures and references. Manuscripts that are found suitable for peer review will be assigned to two expert reviewers. The final decision to accept or reject a manuscript will be made by the Editor-in-Chief. After review process, the Editor-in-Chief will inform the authors of acceptance, rejection or necessity of revision of the manuscript. The paper has not already been published elsewhere and it is not currently being considered for publication elsewhere. If accepted, Karaelmas Science and Engineering Journal have exclusive license to publish. Review process is three months.

### THE REFEREE PROCESS

Manuscripts that do not comply with the journal's guidelines will be returned to the authors without scientific evaluation. Articles submitted in accordance with the journal's guidelines are reviewed by the Editor-in-Chief or Assistant Editor, who will appoint them to referees. The review process is one-blind. The Editor writes the decision letter in line with the recommendations of the referees, the opinions of the field editors and the contribution of the publication

to the literature. All unexamined manuscripts are returned within 10 days, and the decision letters of the manuscripts are sent within 3-6 months.

### PRESENTATION

Papers should be submitted online.

### PREPARING MANUSCRIPTS

- Manuscripts should be written double space on A4 sized typing paper with 2.5 cm all margins.
- Text should be prepared using Microsoft Word Processor with Times New Roman font and 12 point size.
- All pages must be numbered. All lines must be numbered.
- The full paper should be divided in to following parts in order to Abstract, Introduction, Materials and Method/Methods (Area descriptions, Study materials, e.g. should be cited as subheadings), Results, Discussion/Conclusions or Recommendations, Acknowledgements and References. All sections must be numbered except for the Abstract.
- Latin expression should be typed in italics.

**Cover Letter:** Please indicate title of manuscript and authors. You may briefly explain your work.

**Title Page:** The article should have a title page as a separate word file; hood; full author's full name, institutions and ORCID IDs; contact address and e-mail address of the corresponding author.

**The Title:** The title should be as short as possible, but give adequate information regarding the contents. Title must be written on the center with bold 14 font size. The first letter must be capital and the others must be written as lower case.

**Author's Names and Addresses:** All Authors full names must be written as lower case with bold 12 font size in the middle. After authors name and surnames, authors addresses should be stated with superscript numbers (e.g. <sup>1 2 3</sup>). Corresponding author's full name should be marked with an asterisks (\*). All authors addresses must be typed with lower case 10 font in the center. The corresponding author's contact address and e-mail address should be given. Names of institutions and cities each authors also must be stated.

**Abstract and Keywords:** A brief, informative abstract, not exceeding 250 words, should be typed in 10 font size. Immediately following the Turkish and English abstract, authors should provide 4-6 keywords or phrases that reflect content of the article.

### The Abstract Paper:

1. Turkish Paper
- a) Turkish Title
- b) English Title
- c) Author's names in Turkish
- d) ORCID
- e) Addresses in Turkish
- f) Abstract
- g) Keywords in Turkish
- h) English Abstract (suitable with Turkish Abstract)
- i) English Keywords



2. English Paper
- a) English Title f) Abstract in English
  - b) Turkish Title g) Keywords
  - c) Author's names h) Turkish Abstract (Öz)
  - d) ORCID i) Turkish Keywords (Anahtarlar)
  - e) Addresses in English Kelimeler)

**Main Text:** Main Headings and subheadings should be informative, must be typed in capital, bold 12 font size. Subheadings should be written in lower case, 10 font size. Main headings should not be numbered in the manuscript.

**Introduction:** This section should include the topic and importance of the article and prior works.

**Material and Methods:** Experimental methods and procedures should be described with clear and brief explanations.

**Results:** This section contain only findings, no writing comment. Results can be supports by tables, figures, graphics etc., if necessary.

**Discussion:** Results should be compare with other studies and discuss similarity and distinction.

**Acknowledgements:** It should be grants, funds, peoples reviewing the manuscript and must be placed before the references.

Any conflict of interest, financial support, authors' contribution statement, donation and other editorial (statistical analysis, English / Turkish evaluation) and / or technical assistance should be submitted at the end of the text.

**Referencing:** Please do not use unublishing data. But MSc and PhD thesis can be use as references. References in the text:

If they have one author (Reşat 2001, Landen 2002)

Two authors (e.g.: Büyükgüzel and Yazgan 2004, Ünlü and Gerçek 2003);

In the case of multiple authors they should be cited as (Landen et al. 2002, Yılmaz et al. 2007). Multiple citations (Smith 1996, Yılmaz et al. 2007, Jones 2008), multiple publications by same author(s) should be written as (Smith et al. 1996a, 1996b, 1997). Software should be cited as (PROC GLM, SAS Institute 1999).

References should be given at the end of the text according to alphabetical order of the first authors surname.

References should appeared at the end of the text as in the examples provided below:

#### **Journal Articles:**

**Büyükgüzel, K., Tunaz, H., Putnam, SM., Stanley, DW. 2002.** Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the Tabacco Hornworm, *Manduca secta*. *Insec Biochem. Mol. Biol.*, 32: 435-443.

**Büyükgüzel, K., Yazgan, S. 1996.** Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Turk. J. Zool.*, 20: 1-7.

**Özer, M., Uzuntarla, M. 2008.** Effects of the network structure and coupling strength on the noise-induced response delay of a neuronal network. *Phys. Let. A*, 372: 4603-4609.

#### **A Book:**

**Reşat, U. 2001.** Uygulamalı Jeoteknik Bilgiler. 4. Basım, TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, Nitelik Matbaacılık, Ankara, 385 s.

**Sanford, RJ. 2003.** Principles of fracture mechanics, Prentice Hall, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA, 404 pp.

#### **A Chapter in a Book:**

**Cheeseman, KH. 1993.** Lipid peroxidation in biological systems, In: Halliwell B., Aurora OI. [eds.], DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, London, pp. 12-17.

#### **A Report:**

**Makarewicz, JC., Lewis, T., Bertram, P. 1995.** Epilimnetic phytoplankton and zooplankton biomass and species composition in Lake Michigan, 1983-1992. U.S. EPA Great Lakes National Program, Chicago, IL. EPA 905-R-95-009.

#### **Conference Proceedings:**

**Stock, A. 2004.** Signal transduction in bacteria. In the Proceedings of the 2004 Markey Scholars Conference, pp: 80-89.

**Kaplan, A. 2000.** Ankara havasında bulunan biyolojik partiküller. XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, s. 45-50, Ankara.

#### **A Thesis:**

**Strunk, JL. 1991.** The extraction of mercury from sediment and the geochemical partitioning of mercury in sediments from Lake Superior, M. Sc. thesis, Michigan State Univ., East Lansing, MI, 119 pp.

**Özcan, A. 2006.** Endüstriyel atıklar ve polipropilen lif içeren saha betonlarının özelliklerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 70 s.

#### **In Press:**

**Evans, MA. 2002.** Title. *Journal*. (in press).

#### **Software:**

**SAS Institute. 2001.** PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute. Cary, NC.

#### **Internet and URL:**

If author(s) obtained from some information from internet, should be write full web address in the reference section.

Web documents with no authors:

**Leafy seadragons and weedy seadragons 2001.** <http://www.windspeed.net.au/jenny/seadragons/>

Web document with author:

**Dawson, J., Smith, L., Deubert, K. 31 October 2002.** Referencing, not plagiarism. <http://studytrekk.lis.curtin.edu.au/>

**Symbols and Units:** Metric systems or SI units should be used (kPa, kN/m<sup>3</sup>, g/cm<sup>2</sup>, m/sn, g/m<sup>3</sup>, e.g.). Current abbreviations can be used without explanation, others must be explained. Use “ % ” only with numerals and in tables and figures. Close up space to numerals (e.g. 60%). Use the dot for decimal units (e.g. 10.26).



**Abbreviations:** All acronyms/abbreviations must be explained in parenthesis after their first occurrence. If many unfamiliar acronyms/abbreviations are used, please compile them in an "Abbreviations" section at the end of the paper.

Use the following abbreviations for time: h (hour), min (minute), s (second), yr (year), mo (month), wk (week), add "s" to create plurals (e.g. wks). Do not abbreviate "liter" by itself or when accompanied by a numeral.

**Dates:** Present dates in this format: day month year (e.g. 13 February 1998).

**Gene Sequencing:** Genbank may be conducted at their website at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit.html>.

#### Tables and Figures:

- Tables and figures captions must be written in separate pages in Table Legends and Figure Legends sections after the reference section.
- Tables and figures should be embedded in separate papers and must be numbered consecutively throughout the paper (Table 1, Fig. 1, Figs. 2-3, Fig. 4).
- Use a semicolon to separate different types of citations (Fig. 3; Table 3)
- Electronically submitted figures and graphs are preferred \*.jpg or \*.tiff (min. 600 dpi) formats. Do not give magnification on scales in the figure titles; instead draw bar scales directly on the figures.
- All the tables and figures must be referred in the text.
- The numbers and headings of figures must be written below the figure.
- The numbers and headings of tables should be written the top of the table.
- Standard errors or deviations should be cited as (e.g.,  $1.45 \pm 1.06$ ), statistically data should data must be given as (e.g., 734.3ab) in the table.
- Figures must be uploaded as tiff or jpeg files on our web sites on supplementary files.
- The column title of standard errors or deviations must be cited as (means  $\pm$  SD, or means  $\pm$  SE).
- Use the following abbreviations for months: Jan., Feb., Mar., April, May, Jun., July, Aug., Sep., Oct., Nov., and Dec.

**Appendices:** All appendices must be typed on separate sheet and should be numbered consecutively with capital Roman numerals.

**Equations:** Mathematical expressions should be written by an equation editor (Word format) in 9 point size. Indices font should be 8 point size. Each equation in text should be numbered in parenthesis.

#### Mathematical equations should be cited as below:

$$R = A_{\text{bar type}} + B \log_{10}(f) \quad (2)$$

When authors send mathematical papers, they should state AMS-Mathematical Subject Classification Number.

**Numbers:** Spell out numbers at the beginning of sentence. Spell out the numbers one through nine. 10 and up are always cited as arabic numerals. All numbers <1 must be preceded by a zero (e.g. P<0.05). When a number is >1000, use a comma to separate hundreds from thousands.

**Footnotes to Tables:** In case of statistical data in tables, use footnotes to define or clarify column headings or specific datum with in data field (\*P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001; NS, not significant).

For submitting first namely author's manuscripts should not exceed three folds in the same issue. Authors when submit the four folds manuscripts, they will be publish in another issues.

The preparation of the manuscript should be as follows for Mathematics and related subject:

The first page of the manuscript must include at least one 2010 MSC (Mathematics Subject Classification) numbers following the annual index of the Mathematical Reviews. MSC Subject Classification can be obtained from "<http://www.ams.org/mathscinet/msc/msc2010.html>".

The items in the reference section should be ordered according to the alphabetical order of the surnames of the authors and numbered numerically such as [1], [2],....

In the text, reference numbers should be enclosed in square brackets, such as [23] or [12]-[15], to distinguish them from formula numbers which should be quoted in round brackets.

#### Final Checklist of the Manuscript

Before submitting of your paper (and other writings as applicable), please make sure that the following requirements have all been made:

- Cover letter is enclosed
- Spell check and grammar check have been performed
- Entire paper is double-spaced including abstract, tables, captions, references
- Margins are 2.5 cm each margin
- Font size is 12 punto
- Font type is Times new roman
- Decimals are shown by a full stop (e.g., 10.25)
- Percent signs appear without a space after the number (e.g., 63%)
- Names of authors are written in full (not abbreviated)
- Address is given
- English title is given
- Title is in title case
- English abstract is given
- English keywords are given
- Turkish abstract (Öz) is given
- Turkish keywords (Anahtar Kelimeler) are given
- Original figures are enclosed
- Figures are prepared according to the instructions
- Figures are maximum 16x20 cm; minimum 8 cm wide
- Figures are referred to the consecutively in the paper
- Tables are maximum 16x20 cm; minimum 8 cm wide
- Tables are referred to the consecutively in the paper
- Captions are written in left case
- Figure legends are given
- Table legends are given
- References are typed according to the instructions
- References are listed alphabetically
- All pages and all lines are numbered



## ETHICAL PRINCIPLES

Official journal of Zonguldak Bülent Ecevit University, Karaelmas Science and Engineering Journal is a peer-reviewed journal which aims to reach all national and international institutions and individuals free of charge.

In the scientific articles sent to our journal, the recommendations of ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) and the International Standards of COPE (Committee on Publication Ethics) for Editors and Authors are taken into consideration.

**All claims and finalized processes regarding ethical violations of our authors are under their own responsibility, and in case of ethical violations, the article is automatically canceled.**

### Ethical Guidelines for Peer Reviewers

Peer Reviewers,

- respect the confidentiality of the manuscript, do not discuss it and do not reveal any details of it.
- inform the editor about any conflict of interest.
- provide objective and constructive explanations for their suggestions.
- do not allow the decisions related to the article to be influenced by the subject of the manuscript or the way of writing.
- do not contact the authors directly and request their previous articles unless there is a strong scientific reason.
- do not duplicate any part of the article or information reviewed in any of their own work before it is published by the authors.
- agree to accept the reviews only within their expertise and finish the review process within a reasonable time.
- do not intentionally prolong the review process which leads to a delay for the publication of the article.
- use a language refrained from being hostile and avoids making derogatory personal comments.
- destroy the manuscript and associated material after reviewing.

[https://publicationethics.org/files/Ethical\\_guidelines\\_for\\_peer\\_reviewers\\_0.pdf](https://publicationethics.org/files/Ethical_guidelines_for_peer_reviewers_0.pdf)

### Ethical Guidelines for Authors

Authors and co-authors,

- meet the following criteria for authorship defined by International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE);
  - a. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
  - b. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;

- c. Final approval of the version to be published;
- d. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.
- ensure that submitted articles are original and are not sent to different publishers.
- are responsible for any falsification, alteration or plagiarism which are defined as abusing research before or during the research or while reporting the findings of it.
- inform the editor if there is any conflict of interest in the submitted articles.
- inform the editor for correction or withdrawal if any mistake is noticed after publication or during the process of pre-control or evaluation.
- do not suggest reordering, adding or dropping author names after article submission.
- state, if the research requires the decision of the ethics committee, that they have the ethics committee approval with the name of the ethics committee and the date and number of the decision in the first and last page of the article and the methods section, also upload the ethics committee approval document to the system along with the application of the article.
- state in the article that they have the consent form for the case reports.
- comply with the copyright regulations for the ideas and works of art used in the article.
- provide statements for Author Contribution, Conflict of Interest, Disclosure and if necessary, Acknowledgements.

<http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>

[https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316.ESE\\_2018.44.e1.tr\\_.pdf](https://www.ease.org.uk/wp-content/uploads/2018/11/doi.10.20316.ESE_2018.44.e1.tr_.pdf)

### Ethical Guidelines for Editors

**Editors:**

- The readers should be informed about who provides financial support to the study or other scientific studies and whether there is any role of sponsors in the study or publication, and if there is any, what the contribution is.
- Editors should base their decisions of acceptance or rejection on the importance, originality and clarity of the article, validity of study and its relevance to the remit of the journal.
- Editors should not reverse decisions to accept submissions unless serious problems are identified with the submission.



- New editors should not overturn decisions to publish submissions made by the previous editor unless serious problems are identified.
- A description of peer review processes should be published, and editors should be ready to justify any important deviation from the described processes.
- Journals should have a declared mechanism for authors to appeal against editorial decisions.
- Editors should publish guidance to authors on everything that is expected of them. This guidance should be regularly updated and should refer or link to this code.
- Editors should state the authorship criteria suggested by International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).
- Editors should provide guidance to reviewers on everything that is expected of them including the need to handle submitted material in confidence. This guidance should be regularly updated and should refer or link to this code
- Editors should require reviewers to disclose any potential competing interests before agreeing to review a submission.
- Editors should have systems to ensure that peer reviewers' identities are protected unless they use an open review system that is declared to authors and reviewers.
- Editors should provide new editorial board members with guidelines on everything that is expected of them and should keep existing members updated on new policies and developments.
- Editors should make decisions on which articles to publish based on quality and suitability for the journal and without interference from the journal owner/publisher.
- Editors should have a written contract(s) setting out their relationship with the journal's owner and/or publisher. The terms of this contract should be in line with the COPE Code of Conduct for Journal Editors.
- Editors should strive to ensure that peer review at their journal is fair, unbiased and timely.
- Editors should have systems to ensure that material submitted to their journal remains confidential while under review.
- Editors should take all reasonable steps to ensure the quality of the material they publish, recognizing that journals and sections within journals will have different aims and standards.

<https://publicationethics.org/files/Code%20of%20Conduct.pdf>



## PUBLICATION ETHICS

The ethics statement of the Karaelmas Science and Engineering Journal is based on the Code of Conduct guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE), available at [www.publicationethics.org](http://www.publicationethics.org).

This journal follows the COPE Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and the Code of Conduct for Journal Publishers.

### Duties of Editors

#### Fair play and editorial independence

Editors evaluate submitted manuscripts exclusively on the basis of their academic merit (importance, originality, study's validity, clarity) and its relevance to the journal's scope, without regard to the authors' race, gender, sexual orientation, ethnic origin, citizenship, religious belief, political philosophy or institutional affiliation. Decisions to edit and publish are not determined by the policies of governments or any other agencies outside of the journal itself. The Editor-in-Chief has full authority over the entire editorial content of the journal and the timing of publication of that content.

#### Confidentiality

Editors and editorial staff will not disclose any information about a submitted manuscript to anyone other than the corresponding author, reviewers, potential reviewers, other editorial advisers, and the publisher, as appropriate.

#### Disclosure and conflicts of interest

Editors and editorial board members will not use unpublished information disclosed in a submitted manuscript for their own research purposes without the authors' explicit written consent. Privileged information or ideas obtained by editors as a result of handling the manuscript will be kept confidential and not used for their personal advantage. Editors will recuse themselves from considering manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships/connections with any of the authors, companies or institutions connected to the papers; instead, they will ask another member of the editorial board to handle the manuscript.

#### Publication decisions

The editors ensure that all submitted manuscripts being considered for publication undergo peer-review by at least two reviewers who are expert in the field. The Editor-in-Chief is responsible for deciding which of the manuscripts submitted to the journal will be published, based on the validation of the work in question, its importance to researchers and readers, the reviewers' comments, and such legal requirements as are currently in force regarding libel, copyright infringement and plagiarism. The Editor-in-Chief may confer with other editors or reviewers in making this decision.

#### Involvement and cooperation in investigations

Editors (in conjunction with the publisher and/or society) will take responsive measures when ethical concerns are raised with regard to a submitted manuscript or published paper. Every reported act of unethical publishing behaviour will be looked into, even if it is discovered years after publication. Editors follow the COPE Flowcharts when dealing with cases of suspected misconduct. If, on investigation, the ethical concern is well-founded, a correction, retraction, expression of concern or other note as may be relevant, will be published in the journal.

#### Duties of Reviewers

##### Contribution to editorial decisions

Peer review assists editors in making editorial decisions and, through editorial communications with authors, may assist authors in improving their manuscripts. Peer review is an essential component of formal scholarly communication and lies at the heart of scientific endeavour.

##### Promptness

Any invited referee who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should immediately notify the editors and decline the invitation to review so that alternative reviewers can be contacted.

##### Confidentiality

Any manuscripts received for review are confidential documents and must be treated as such; they must not be shown to or discussed with others except if authorized by the Editor-in-Chief (who would only do so under exceptional and specific circumstances). This applies also to invited reviewers who decline the review invitation.

##### Standards of objectivity

Reviews should be conducted objectively and observations formulated clearly with supporting arguments so that authors can use them for improving the manuscript. Personal criticism of the authors is inappropriate.

##### Acknowledgement of sources

Reviewers should identify relevant published work that has not been cited by the authors. Any statement that is an observation, derivation or argument that has been reported in previous publications should be accompanied by the relevant citation. A reviewer should also notify the editors of any substantial similarity or overlap between the manuscript under consideration and any other manuscript (published or unpublished) of which they have personal knowledge.

##### Disclosure and conflicts of interest

Any invited referee who has conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies or institutions connected to the



manuscript and the work described therein should immediately notify the editors to declare their conflicts of interest and decline the invitation to review so that alternative reviewers can be contacted.

Unpublished material disclosed in a submitted manuscript must not be used in a reviewer's own research without the express written consent of the authors. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for the reviewer's personal advantage. This applies also to invited reviewers who decline the review invitation.

## Duties of Authors

### Reporting standards

Authors of original research should present an accurate account of the work performed and the results, followed by an objective discussion of the significance of the work. The manuscript should contain sufficient detail and references to permit others to replicate the work. Review articles should be accurate, objective and comprehensive, while editorial 'opinion' or perspective pieces should be clearly identified as such. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behaviour and are unacceptable.

### Data access and retention

Authors may be asked to provide the raw data of their study together with the manuscript for editorial review and should be prepared to make the data publicly available if practicable. In any event, authors should ensure accessibility of such data to other competent professionals for at least 10 years after publication (preferably via an institutional or subject-based data repository or other data centre), provided that the confidentiality of the participants can be protected and legal rights concerning proprietary data do not preclude their release.

### Originality and plagiarism

Authors should ensure that they have written and submit only entirely original works, and if they have used the work and/or words of others, that this has been appropriately cited. Publications that have been influential in determining the nature of the work reported in the manuscript should also be cited. Plagiarism takes many forms, from "passing off" another's paper as the author's own, to copying or paraphrasing substantial parts of another's paper (without attribution), to claiming results from research conducted by others. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behaviour and is unacceptable.

### Multiple, duplicate, redundant or concurrent submission/publication

Papers describing essentially the same research should not be published in more than one journal or primary publication. Hence, authors should not submit for consideration a manuscript that has already been published in another journal. Submission of a manuscript concurrently to more than one journal is unethical publishing behaviour and unacceptable.

The publication of some kinds of articles (such as clinical guidelines, translations) in more than one journal is sometimes justifiable,

provided that certain conditions are met. The authors and editors of the journals concerned must agree to the secondary publication, which must reflect the same data and interpretation of the primary document. The primary reference must be cited in the secondary publication.

### Authorship of the manuscript

Only persons who meet these authorship criteria should be listed as authors in the manuscript as they must be able to take public responsibility for the content: (i) made significant contributions to the conception, design, execution, data acquisition, or analysis/interpretation of the study; and (ii) drafted the manuscript or revised it critically for important intellectual content; and (iii) have seen and approved the final version of the paper and agreed to its submission for publication. All persons who made substantial contributions to the work reported in the manuscript (such as technical help, writing and editing assistance, general support) but who do not meet the criteria for authorship must not be listed as an author, but should be acknowledged in the "Acknowledgements" section after their written permission to be named as been obtained. The corresponding author should ensure that all appropriate coauthors (according to the above definition) and no inappropriate coauthors are included in the author list and verify that all coauthors have seen and approved the final version of the manuscript and agreed to its submission for publication.

### Disclosure and conflicts of interest

Authors should—at the earliest stage possible (generally by submitting a disclosure form at the time of submission and including a statement in the manuscript)—disclose any conflicts of interest that might be construed to influence the results or their interpretation in the manuscript. Examples of potential conflicts of interest that should be disclosed include financial ones such as honoraria, educational grants or other funding, participation in speakers' bureaus, membership, employment, consultancies, stock ownership, or other equity interest, and paid expert testimony or patent-licensing arrangements, as well as non-financial ones such as personal or professional relationships, affiliations, knowledge or beliefs in the subject matter or materials discussed in the manuscript. All sources of financial support for the work should be disclosed (including the grant number or other reference number if any).

### Acknowledgement of sources

Authors should ensure that they have properly acknowledged the work of others, and should also cite publications that have been influential in determining the nature of the reported work. Information obtained privately (from conversation, correspondence or discussion with third parties) must not be used or reported without explicit, written permission from the source. Authors should not use information obtained in the course of providing confidential services, such as refereeing manuscripts or grant applications, unless they have obtained the explicit written permission of the author(s) of the work involved in these services.

### Hazards and human or animal subjects

If the work involves chemicals, procedures or equipment that have any unusual hazards inherent in their use, the authors must clearly identify



these in the manuscript. If the work involves the use of animals or human participants, the authors should ensure that all procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and that the appropriate institutional committee(s) has approved them; the manuscript should contain a statement to this effect. Authors should also include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human participants. The privacy rights of human participants must always be observed.

#### **Peer review**

Authors are obliged to participate in the peer review process and cooperate fully by responding promptly to editors' requests for raw data, clarifications, and proof of ethics approval, patient consents and copyright permissions. In the case of a first decision of "revisions necessary", authors should respond to the reviewers' comments systematically, point by point, and in a timely manner, revising and re-submitting their manuscript to the journal by the deadline given.

#### **Fundamental errors in published works**

When authors discover significant errors or inaccuracies in their own published work, it is their obligation to promptly notify the journal's editors or publisher and cooperate with them to either correct the paper in the form of an erratum or to retract the paper. If the editors or publisher learns from a third party that a published work contains a significant error or inaccuracy, then it is the authors' obligation to promptly correct or retract the paper or provide evidence to the journal editors of the correctness of the paper.



## İÇİNDEKİLER

### Araştırma Makaleleri

<b>İnsan Eklem Açılarının Gerçek Zamanlı Ölçülmesi İçin Düşük Maliyetli Bir Çözüm.....</b>	<b>119</b>
Samet Çıklaçındır, Yalçın İşler	
<b>Beş Boyutlu Dönüştürülmüş Weyl–Yang–Kaluza–Klein Kütleçekim Teorisi.....</b>	<b>134</b>
Halil Kuyrukcu	
<b>Konvansiyonel İçme Suyu Arıtma Tesislerinde Doğal Organik Maddenin Moleküller Ağırlık Dağılımı ve .....</b>	<b>146</b>
Trihalometan Oluşumunun Özellikleri	
Kadir Özdemir	
<b>Eğilme Etkisindeki Büyük Dairesel Boşluklu Kırışlerin Davranışının Deneysel İncelenmesi.....</b>	<b>155</b>
Abdulwahed Qaderi, Mouad Ben Saoud, Volkan Eren, Abdullah Gündoğay, Sila Yaman, Hamide Tekeli Kabaş	
<b>Süper Elipsler için bir Çevre Formülü Önerisi ve Fizikte Dikdörtgensel Sınır Değer Problemlerinde Kullanımı.....</b>	<b>166</b>
Kadir Can Erbaş	
<b>Chua Devresinin Kalitatif Davranışı Üzerine Yeni Bir Paradigma .....</b>	<b>177</b>
Muzaffer Ateş, Muhammet Ateş	
<b>Kırmızı Solucan <i>Eisenia fetida</i> Kaynaklı Sölo mik Sivinin Bazı Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması .....</b>	<b>183</b>
Elif Demirkan, Tuba Sevgi, Aynur Aybey Çetinkaya, Halime Kocakurt	
<b>Bolu İli Hava Kirletici Maddeler ile Meteorolojik Faktörler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi .....</b>	<b>194</b>
Ceren Ünal, Gamze Özel	
<b>Farklı Hücre Hatlarında KLK4 Gen İfadelerinin Belirlenmesi .....</b>	<b>207</b>
Fatma Poyrazlı, Sümeyye Aydoğan Türkoğlu, Derya Okuyan, Feray Köçkar	
<b>İkincil Enaminon Bileşiklerinin Suda Sentezi ve Karakterizasyonu .....</b>	<b>216</b>
Füsün Şeyma Güngör	
<b>Bilinmeyen Dürtüsüllik Seviyesine Sahip Toplamsal Gauss Olmayan Gürültü Altında Alt-Optimal Seziciler .....</b>	<b>223</b>
Kullanarak Darbe Sezimi	
Mehmet Emre Cek, Eda Dinc	
<b>Bazalt Lif Kullanımının SIFCON'un Dayanıklılık ve Mekanik Özelliklerine Etkisi .....</b>	<b>231</b>
Zeynep Algin, Erdal Özbebek, Sümeyra Gerginci, Kasım Mermerdaş	
<b>Ratlarda Oluşturulan Kritik Boyutlu Kalvaryal Defektlerde Bakteriyel Selüloz Temelli Hidroksiyapatit (BS-HAp).....</b>	<b>242</b>
Nanokompozitinin Kemik Oluşumu Üzerine Etkisi	
Aysan Lektemür Alpan, Nazime Mercan Doğan, Tuğba Hilal Denizli, Özlem Özmen	
<b>Antibakteriyel Etkiye Sahip Penisilin G'nin <i>Drosophila melanogaster</i>'in Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi.....</b>	<b>251</b>
Utku Can Atilgan, Ender Büyükgüzel	
<b>Semantik Web'de Ontoloji Benzerliklerinin Eşleşmesi .....</b>	<b>263</b>
Ayse Salman	



## CONTENTS

### Research Articles

<b>A Cost-Effective Solution For Real-Time Measurement of Human Joint Angles .....</b>	<b>119</b>
Samet Çıklaçanlı, Yalçın İşler	
<b>The Five Dimensional Transformed Weyl–Yang–Kaluza–Klein Theory of Gravity.....</b>	<b>134</b>
Halil Kuyrukcu	
<b>Characteristics of Molecular Weight Distribution of Natural Organic Matter and Trihalomethane Formation ..... Properties in Conventional Drinking Water Treatment Processes</b>	<b>146</b>
Kadir Özdemir	
<b>Experimental Investigation of Behavior of Beams with Large Circular Opening Under Bending .....</b>	<b>155</b>
Abdulwahed Qaderi, Mouad Ben Saoud, Volkan Eren, Abdullah Gündoğay, Sila Yaman, Hamide Tekeli Kabaş	
<b>Suggestion of a Perimeter Formula for Super Ellipses and their Use in Rectangular Boundary Value Problems..... in Physics</b>	<b>166</b>
Kadir Can Erbaş	
<b>A New Paradigm on the Qualitative Behavior of Chua's Circuit .....</b>	<b>177</b>
Muzaffer Ateş, Muhammet Ateş	
<b>Investigation of Some Biological Properties of Coelomic Fluid Originating from the Red Worm <i>Eisenia fetida</i>.....</b>	<b>183</b>
Elif Demirkhan, Tuba Sevgi, Aynur Aybey Çetinkaya, Halime Kocakurt	
<b>Investigation of Relationships between Air Pollutants and Meteorological Factors in Bolu Province.....</b>	<b>194</b>
Ceren Ünal, Gamze Özel	
<b>Expression of KLK4 Gene Expression Different Cell Lines .....</b>	<b>207</b>
Fatma Poyrazlı, Sümeyye Aydoğan Türkoğlu, Derya Okuyan, Feray Köçkar	
<b>Synthesis and Characterization of Secondary Enaminone Compounds in Water .....</b>	<b>216</b>
Füsun Şeyma Güngör	
<b>Pulse Detection Using Sub-Optimal Detectors Under Additive non-Gaussian Noise Having Unknown Level of .....</b>	<b>223</b>
Mehmet Emre Cek, Eda Dinc	
<b>Effects of Basalt Fibre Utilization on Durability and Mechanical Properties of SIFCON .....</b>	<b>231</b>
Zeynep Algın, Erdal Özbebek, Sümeyra Gerginci, Kasım Mermerdaş	
<b>The Effect of Bacterial Cellulose Based Hydroxyapatite (BC-HAp) Nanocomposite on Bone Formation in .....</b>	<b>242</b>
Critical Sized Calvarial Defects in Rats	
Aysan Lektemür Alpan, Nazime Mercan Doğan, Tuğba Hilal Denizli, Özlem Özmen	
<b>Effect of Antibacterial Penicillin G on Antioxidant Defense System of <i>Drosophila melanogaster</i> .....</b>	<b>251</b>
Utku Can Atilgan, Ender Büyükgüzel	
<b>Similarity Matching of Ontology in Semantic Web .....</b>	<b>263</b>
Ayşe Salman	



## ÖNSÖZ

Değerli okuyucular,

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi tarafından, "Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi" Aralık 2022 sayısını yayınlamış ve okuyucularımızla buluşturmuş olmaktan kıvanç duyuyoruz.

Fen ve Mühendisliğin hızla geliştiği ve uygulandığı bir zamanda, bilgiyi üretmek ve bu bilgiyle teknolojik gelişmelere katkıda bulunarak toplumsal faydaya dönüştürmek önceliklerimizdir.

Üniversitemiz tarafından 2011 yılından beri yayınlanan dergimiz, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin tarafından taranan dergiler listesindedir. Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisinin hem ulusal hem de uluslararası bilim topluluğu nezdinde tanınırlığı istikrarlı bir şekilde artış göstermektedir. Dergimizin yayına olmasını sürdürülebilir bir yapıda daha da ileriye taşıyarak uluslararası tanınırlık için uluslararası geçerliliği bulunan dizinler tarafından da taramak ve kaliteyi artırmak gelecek hedeflerimiz arasındadır. Uluslararası dizinlerde yer almak için yazarlar, araştırmacılar ve bilim insanları tarafından dergimizdeki yayılara atıflarını artırmalarını beklemektedir. Yeni bir ekip olarak başarı için yoldayız, varış noktasında değiliz.

Dergimizin mevcut sayısında aşağıda başlıklarını verilen toplam 15 makale bulunmaktadır.

- İnsan Eklem Açılarının Gerçek Zamanlı Ölçülmesi İçin Düşük Maliyetli Bir Çözüm
- Beş Boyutlu Dönüşürtülmüş Weyl-Yang-Kaluza-Klein Kütleçekim Teorisi
- İçme Suyu Arıtma Tesislerinde Doğal Organik Maddenin Moleküller Ağrlılık Dağılımı ve Trihalometan Oluşumu
- Eğilme Etkisindeki Büyük Dairesel Boşluklu Kırışelerin Davranışının Deneysel İncelenmesi
- Süper Elipsler için bir Çevre Formülü Önerisi ve Fizikte Dikdörtgensel Sınır Değer Problemlerinde Kullanımı
- Chua Devresinin Kalitatif Davranışı Üzerine Yeni Bir Paradigma
- Kırmızı Solucan Eisenia fetida Kaynaklı Söloomik Sivinin Bazı Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması
- Bolu İli Hava Kirletici Maddeler ile Meteorolojik Faktörler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi
- Farklı Hücre Hatlarında KLK4 Gen İfadecinin Belirlenmesi
- İlkincil Enaminon Bileşiklerinin Suda Sentezi ve Karakterizasyonu
- Bilinmeyen Dürüselliğ Seviyesine Sahip Toplamsal Gauss Olmayan Gürültü Altında Alt-Optimal Seziciler Kullanarak Darbe Sezimi
- Bazalt Lif Kullanımının SIFCON'un Dayanıklılık ve Mekanik Özelliklerine Etkisi
- Ratlarda Oluşturulan Kritik Boyutlu Kalvaryal Defektlerde Bakteriyel Selüloz Temelli Hidroksiyapatit (BS-HAp) Nanokompozitinin Kemik Oluşumu Üzerine Etkisi
- Antibakteriyel Etkiye Sahip Penisilin G'nin *Drosophila melanogaster*'nın Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi
- Anlamsal Web'de Ontolojinin Benzerlik Eşleştirme

Dergimizin yayına sırasında desteklerini her zaman bizlerden eksik etmeyen Prof. Dr. İsmail Hakkı ÖZÖLÇER'e, makale yazarlarına, yazıları değerlendiren hakemlerimize, alan editörlerimize, yayın kurulumuza ve yaynevimize teşekkür ederiz.

**Prof. Dr. Yılmaz YILDIRIM**

Baş Editör

Aralık 2022



## FOREWORD

Dear readers,

The "Karaelmas Journal of Science and Engineering" on behalf Zonguldak Bülent Ecevit University, we are pleased to have published the December 2022 issue and bring it to our readers.

At a time when Science and Engineering is rapidly developing and applied, our priorities are to produce knowledge and to contribute to technological developments with this knowledge and to transform it into social benefit.

Our journal, which has been published by our university since 2011, is on the list of journals scanned by TÜBİTAK ULAKBİM TR Index. The recognition of Karaelmas Journal of Science and Engineering has been steadily increasing both nationally and internationally. It is among our future goals to take the publication of our journal further in a sustainable structure and to be scanned by internationally recognized indexes for international recognition and to increase its quality. We expect authors, researchers and scientists to increase their citations to publications in our journal in order to be included in international indexes. As a new team, we are on the road to success, not at the destination.

In the current issue of our journal, there are a total of 15 articles with the following titles.

- A Cost-Effective Solution for Real-Time Measurement of Human Joint Angles
- The Five Dimensional Transformed Weyl-Yang-Kaluza-Klein Theory of Gravity
- Characteristics of Molecular Weight Distribution of Natural Organic Matter and Trihalomethane Formation Properties in Conventional Drinking Water Treatment Processes
- Experimental Investigation of Behavior of Beams with Large Circular Opening Under Bending
- Suggestion of a Perimeter Formula for Super Ellipses and their Use in Rectangular Boundary Value Problems in Physics
- A New Paradigm on the Qualitative Behavior of Chua's Circuit
- Investigation of Some Biological Properties of Coelomic Fluid Originating from the Red Worm Eisenia fetida
- Investigation of Relationships between Air Pollutants and Meteorological Factors in Bolu Province
- Expression of KLK4 Gene Expression Different Cell Lines
- Synthesis and Characterization of Secondary Enaminone Compounds in Water
- Pulse Detection Using Sub-Optimal Detectors Under Additive non-Gaussian Noise Having Unknown Level of Impulsiveness
- Effects of Basalt Fibre Utilization on Durability and Mechanical Properties of SIFCON
- The Effect of Bacterial Cellulose Based Hydroxyapatite (BC-HAp) Nanocomposite on Bone Formation in Critical Sized Calvarial Defects in Rats
- Effect of Antibacterial Penicillin G on Antioxidant Defense System of *Drosophila melanogaster*
- Similarity Matching of Ontology in Semantic Web

We would like to thank Prof. Dr. İsmail Hakkı ÖZÖLÇER, who always supported us in the publication of our journal, the authors of the articles, our referees who evaluated the articles, our field editors, our editorial board and our publishing house.

**Prof. Dr. Yılmaz YILDIRIM**

Editor in Chief  
December 2022



# İnsan Eklem Açılarının Gerçek Zamanlı Ölçülmesi İçin Düşük Maliyetli Bir Çözüm

## *A Cost-Effective Solution For Real-Time Measurement of Human Joint Angles*

Samet Çıklaçandır\* Yalçın İşler

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Çiğli, İzmir

### Öz

Günlük ve bazı sportif hareketlerin takibinin yanı sıra, Kas-iskelet sistemi hastalıkları, düşme ve çarpmaya bağlı yaralanmalar, kas-sinir hastalıkları ve protez uygulamaları gibi pek çok alanda teşhis, tedavi, ameliyat öncesi planlama ve tedavi sonrası iyileşmenin takibi aşamalarında hareket analizleri kullanılmaktadır. Bu noktada eklem açısı ölçen basit cihazlar yerine gerçek zamanlı olarak hareketleri kayıt edebilen cihazlar giderek önem kazanmaktadır. Öte yandan, gerçek zamanlı hareket yakalama teknolojileri nispeten yüksek maliyetlidir. Bu nedenle, bu çalışmada eklem açısını gerçek zamanlı olarak takip edibilecek, kablosuz çalışabilen, taşınabilir ve düşük maliyetli alternatif bir elektronik goniometre cihazı geliştirilmiş, gerçekleştirilmiş ve test edilmiştir. Geliştirilen cihazın doğruluğu iki şekilde test edilmiştir. İlk olarak, bu cihazın eklem açısı ölçümlerindeki başarısı aynı anda kayıt alınan mekanik bir gönye ile karşılaştırılmıştır. Bu şekilde, 14 kişinin her iki dirseklerine ve dizlerine 30, 45, 60 ve 90 derecelik eklem açıları için kayıt edilmiş ve tek örneklem t-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca, hastaların gerçek zamanlı olarak hareketleri hem geliştirilen cihaz ile hem de optoelektronik tabanlı ticari bir cihaz ile kayıt edilmiştir. Bu kayıtların ne kadar benzer oldukları Pearson Korelasyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Bu istatistiksel analizler için IBM SPSS v24 kullanılmıştır. Sonuç olarak geliştirilen sistem ile mekanik goniometre arasındaki tüm ölçümlerde istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ) ve Optitrack cihazı ile arasında çok yüksek bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Dahası, Kalman filtresi sayesinde gerçek zamanlı takip ölçümlerinde korelasyon değerinin arttığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Eklem açıları, Elektrogoniometre, Gerçek zamanlı ölçüm, Hareket analizi, Hareket takip sistemleri, Kalman filtresi

### Abstract

In addition to the follow-up of daily and some sportive activities, motion analysis is used in many areas such as musculoskeletal system diseases, fall and impact injuries, musculoskeletal diseases, and prosthesis applications, in the stages of diagnosis, treatment, pre-operative planning, and post-treatment recovery. At this point, instead of simple devices to measure joint angles, real-time movement recording devices are becoming increasingly important. On the other hand, real-time capturing technologies are relatively costly. Therefore, in this study, a portable and low-cost alternative electronic goniometer device that can monitor joint angles in real-time can operate wirelessly has been developed, implemented, and tested. The accuracy of the device was tested in two ways. First, this device and a mechanical ruler recorded joint angle measurements at the same time. In this way, the joint angles of 30, 45, 60, and 90 degrees to both elbows and knees of 14 subjects were recorded and compared using the single-sample t-test. Then, this device and an optoelectronic-based commercial device recorded real-time movements of the patients. The Pearson Correlation method was utilized to test the similarities of these real-time records. The software of IBM SPSS v24 was used in these statistical analyses. As a result, no statistically significant difference in all measurements between the developed system and the mechanical goniometer was detected ( $p>0.05$ ), and a very high correlation between the devices and the Optitrack device was determined. Moreover, it is concluded that the correlation is increased, in real-time tracking measurements, by means of the Kalman filter.

**Keywords:** Joint angles, Electrogoniometer, Real-time instrumentation, Motion analysis, Motion capture systems, Kalman filter

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: samet.cikla@gmail.com

Samet Çıklaçandır orcid.org/0000-0003-2076-2400

Yalçın İşler orcid.org/0000-0002-2150-4756



Bu eser "Creative Commons Alıntı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

## 1. Giriş

İnsanoğlunun en önemli aktivitelerinden birisi istemli hareket edebilmesidir (Medved 2000). Yürüme, oturma, merdiven çıkma, koşma, ziplama ve sportif faaliyetler gündelik hayatın ayrılmaz bir parçasıdır. Bu temel aktivitelerin eksikliği ya da yetersizliği hayat kalitesinde önemli bir düşüse sebep olur ve eski hareket kabiliyetinin en kısa sürede geri kazanılması arzu edilir. Böyle bir durum söz konusu olduğunda, hareket kaybının iyileştirilmesi için öncelikle bu etmenleri oluşturan sebeplerin tespit edilmesi gereklidir. Bu amaçla geliştirilen yürüme analizleri kişinin yürüme ile ilgili problemlerin teşhisinde kullanılan fiziki muayene ile tanışal diğer testlere yardımcı bir yöntemdir (Aydil vd. 2014). Bu analizin uygulanma şekline göre nitel ve nicel olmak üzere çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Moissenet ve Armand 2015). Bunlardan en yaygın kullanılan el/gözle muayene, skorlama formları ve video bazlı muayenedir (Akalan ve Temelli 2014). Bu muayene, hasta gözlemlenerek yapılmaktadır ve bazı uygulamalarda daha sonra incelemek adına kamera ile yürüme kayıtları alınmaktadır. Fakat bu yöntemden faydalananlarak konulan teşhisler, inceleyen hekimin tecrübeine göre değişebilmekte ve kimi zaman yanlış tanı ile sonuçlanmaktadır (Murode-la-Herran vd. 2014). Gelişen teknoloji sayesinde, nitel yöntemler yerine nicel yöntemler geliştirilmeye başlanmış ve bu soruna bir çözüm bulunmuştur. Yeni teknoloji ölçüm sistemleri sayesinde, hareket kabiliyetleri kişinin doğal hareketlerini bozmadan sayısal verilere bağlı olarak elde edilebilmektedir (Shull vd. 2014). Bu yöntemle beraber hekimlerin teşhis koyma ve değerlendirme yaklaşımıları vakadan vakaya değişmeyen, tekrar ölçülebilir ve sayısal veriye dayalı hale dönüşmüştür.

## 1.1. İnsan Vücutu Eklemleri Hareket Aralığı

İnsan vücut yapısı, kasları ve bağ dokuları sebebiyle sınırlı düzeyde hareket açıklığına sahiptir. Her eklem belirli açılarda hareket yapabilmektedir (Chiras 2013). Eklem hareket açıklığını herhangi bir eklem için hareket kabiliyetinin ölçümüdür. Eklemler yarı oynar, oynamaz ve oynar eklemler olarak sınıflandırılırlar (Aydın 2000). Oynar eklemler arasında omuz, kalça, kol ve bacak eklemleri, yarı oynar eklemler arasında altçene, parmak eklemleri ve omurgadaki omurlar, oynamaz eklemler ise kafatası ve kuyruksokumu kemikleri yer almaktadır (Resnick ve Kransdorf 2004). Bu kemiklerin hareket aralıkları insan yaşına bağlı olmakla beraber genel itibariyle Çizelge 1'de gösterilmiştir (Demirhan ve Göksan 1993, Reese ve Bandy 2016, Bennett vd. 1963).

Eklem hareket açıklıklarını normal insanlar için yapabilecekleri hareket kapasitesini göstermektedir. Çizelge 1 ile kıyaslanarak hareket kayipları değerlendirilir. Diz bölgesi için yaklaşık hareket açıklığı fleksiyon ve ekstansiyon hareketlerinde  $0^\circ$  ile  $150^\circ$  arasındadır. Bu aralık dâhilinde kişinin hareketi bu açılarda sergilemesi beklenir. Fakat herhangi bir kas-iskelet hastalıklarında hareket açıları azalabilir. Örneğin; dizde meydana gelen menisküs yırtıklarında hareket kabiliyeti kayipları oluşur. Tedaviden sonra hareket açıklıkları hafta hafta kaydedilerek tedavinin seyri değerlendirilir. Belli bir süre hareket sınırlaması olan dizde dört hafta sonunda  $70^\circ$ 'lere kadar hareket kazanmalar mümkündür (Brindle vd. 2001).

Toplum içerisinde yaşa bağlı olarak görülmeye sıklığı artan bir diğer hastalık olan osteoporoz hareket açıklıklarını etkilemektedir (Pearlmuter vd. 1995). Yaşlanmaya beraber gözlenen kemik erimesinin hızlanması sonucunda, kemiğin

**Çizelge 1:** Eklemlerin Hareket Açıklıkları

Eklem Tipleri	Eklemler	Eklem Açıklık Sınırları					
		Fleksiyon	Ekstansiyon	Abduksiyon	Adduksiyon	Dış Rotasyon	İç Rotasyon
Oynar eklem (Diarthrosis)	Omuz	$165^\circ$ - $180^\circ$	$44^\circ$ - $89^\circ$	$165^\circ$ - $187^\circ$	-	$81^\circ$ - $123^\circ$	$63^\circ$ - $90^\circ$
	Dirsek	$141^\circ$ - $158^\circ$	$0^\circ$ - $1^\circ$	-	-	-	-
	El bileği	$64^\circ$ - $96^\circ$	$63^\circ$ - $89^\circ$	$19^\circ$ - $22^\circ$	$26^\circ$ - $37^\circ$		
	Kalça	$\sim 130^\circ$	$\sim 20^\circ$	$\sim 50^\circ$	$\sim 30^\circ$	$\sim 40^\circ$	$\sim 50^\circ$
	Diz	$\sim 150^\circ$	$\sim 0^\circ$	-	-	$\sim 40^\circ$	$\sim 10^\circ$
	Boyun	$36^\circ$ - $70^\circ$	$70^\circ$ - $120^\circ$	<i>Sol Fleksiyon</i> $\sim 45^\circ$	<i>Sağ Fleksiyon</i> $\sim 45^\circ$	<i>Sol Rotasyon</i> $\sim 85^\circ$	<i>Sağ Rotasyon</i> $\sim 85^\circ$
	Ayak bileği	<i>Dorsifleksiyon</i> $\sim 30^\circ$		<i>Plantar fleksiyonu</i> $\sim 50^\circ$		<i>Eversiyon</i> $\sim 15^\circ$	<i>Inversiyon</i> $\sim 30^\circ$

kalitesinde bozulma meydana gelir ve kemik kayıpları ortaya çıkar (Takata ve Yasui 2001). Bunun sonucunda hasta hareket esnasında zorlanma, ağrı hissedebilir ya da hareketi gerçekleştiremeyebilir. Tüm kemiklerde görülebilirken en çok omurlarda, kalça kemiklerinde ve bileklerde sık gözlenir (Iqbal 2000). Tüm bu sonuçlar eşliğinde hareket açıklıklarının takibi hastlığın seyri, teşhisini ve tedavisi açısından oldukça sık kullanılmaktadır.

## 1.2. Hareket Yakalama Teknolojileri

Bilgisayarlı veya hesaplamalı yöntemler günümüze kadar birçok açıdan güvenli sonuçlar üreterek çalışmalarla başarı düzeyini artırmaya yardımcı olmuşlardır (Chao 1986). Bu yöntemler arasında gonyometrelerden başlayarak daha hassas ve karmaşık sistemlere sahip birçok teknoloji sıralanabilir. Hareketlerin analizinde kullanılan sistemlere, hareket yakalama (Motion Capture, ks. MoCap) teknolojileri olarak tanımlanmaktadır (Rosenhahn vd. 2008). Bu teknolojiler 10 µm'ye kadar hassaslıkta ölçüm yapmaktadır. MOCAP teknolojisi 5 ayrı sınıfa ayrılmaktadır (van der Kruk ve Reijne 2018). Bunlar optoelektronik, elektromanyetik, elektromekanik, akustik ve görüntü işlemeye dayalı yöntemlerdir. Bu yöntemlerden optoelektronik sınıftakiler hassas kameralarla vücutun belli noktalarına yerleştirilen işaretleyicileri algılayarak hareketi yakalar (Surer ve Kose 2011). İşaretleyicilerin zaman-mekânsal özellikleri kullanılarak arasındaki açılar hesaplanır ve hareket açılığı ortaya çıkarılır. Sistem oldukça hassas çalıştığı için literatürde sıkça rastlanmaktadır ve Altın Standart olarak kabul edilmektedir (McGinnis vd. 2017). Bu sistemin en bariz örneği Optitrack'tır. Elektromanyetik sistemlerde kişiye yerleştirilen gönderici ve sistemin diğer parçası alıcı arasındaki konum bilgisi transferiyle hareketler yakalanır (Kitagawa ve Windsor 2012). Bu sisteme kamera olmadığı için görüş hattına ihtiyaç yoktur. Fakat sistem ferromanyetik malzemelere oldukça duyarlı olduğu için gürültü meydana gelebilir (Cloete 2009). Bunun yanında sistem çok yaygın olarak kullanılmamaktadır. Elektromekanik sistemler ise diğer sistemlere göre daha makul fiyatlı oldukları için oldukça sık rastlanan hareket yakalama sistemleridir. Atalet ölçü birimi (IMU) hareket sensörleri giyilebilir bir elbise üzerinde eklemlerin bulunduğu yerlere sabitlenir (Riecky vd. 2018). Bu sensörlerden gelen hareket verileri bilgisayar üzerinde oluşturulan model tabanlı yaklaşımalarla hareketler izlenir (Roetenberg vd. 2009). Fakat diğer sistemlere göre fiyatı makul olsa da yaklaşık 4000 \$ ile yine de pahalı sayılabilen düzeydedir. Ayrıca elbise giydirmek zahmetlidir ve her bir kişi için ayrı ölçülerde elbise bulundurmak masraflıdır. Akustik sistemler elektromanyetik sistemlere benzerler.

Fakat akustik sistemlerde elektromanyetik dalgalar yerine akustik dalgalar kullanılır. Bu sistemde genel itibariyle gürültüleri fazlaca barındırmakta olup sistemlerin haberleşmesi için gerekli olan menzil uzunluk değeri oldukça düşüktür (Magdin 2017). Bir diğer sistem olan görüntü işlemeye dayalı sistemlerde işaretleyici bulunmayıp çeşitli algoritmlar kullanılarak hareketlerin yakalanmasını oluşturur. Bu tip sistemlerde kıızılıtesi derinlik sensörü ve RGB kameralar kullanılır. Kamera renk ile derinlik bilgilerinden elde ettiği görüntüleri, kullandığı hesaplamalarla yaklaşık modeli oluşturur (Fernandez-Baena vd. 2012). Görüntü işlemeye dayalı sistemlerde bozucu etken olarak güneş ışınları girişim yaparak hareketin yakalanmasını zorlaştırabilir ve gürültü oluşturabilir. Bu sistemin en bilinen cihazı Kinect'tir. Çizelge 2'de hareket yakalama cihazlarının en popüler olanlarının özellikleri gösterilmiştir.

## 1.3. Gonyometreler

Bir önceki bölümde bahsedilen hareket yakalama teknolojileri oldukça pahalı olmasının yanında yüksek hassasiyete sahiptirler. Bu cihazların bir diğer dezavantajları, laboratuvar ortamında kurulumları sırasında ve kurulum yaptıktan sonra ise doğru ve sürekli kullanımları için uzun zaman gerektiren kalibrasyon işleminde karşılaşılan zorluklardır (Noiumkar ve Tirakoat 2013). Genellikle bu dezavantajlara karşı açı ölçmek için oldukça pratik ve uygun maliyetli olan gonyometreler kullanılır. Gonyometre yunanca da gonyo açı ve metre ölçme anlamında kullanılan bir cihaz olarak geçmektedir. Gonyometreler ortak bir noktadan sabitlenmiş çift eksenli çubuklardan oluşan basit aletlerden daha karmaşık yapılara sahip elektronik gonyometrelere kadar birçok çeşitte piyasada bulunmaktadır. Oldukça kolay bir şekilde ölçüm yapabilmesinin yanında fiyatları da uygundur. Evrensnel gonyometreler analog ve dijital olmak üzere çeşitli tiplerde bulunmaktadır. Analog gonyometreler ölçüm basit bir çubuk üzerinde açı skaları bulunan alet üzerinden veriler okunarak ölçüm yapılır. Dijital gonyometreler de ise açı ölçümü analog'a göre daha hasas bir şekilde sıvı kristal ekran (LCD) vasıtıyla ölçülür. Fakat her iki gonyometre de kişi hareket halindeyken ölçüm yapamaz ve sonuçları kaydetme özellikleri yoktur. Şekil 1A-B'de en sık kullanılan gonyometreler gösterilmiştir.

Evrensnel gonyometrenin dışında açı ölçmek için kullanılan sıvılı ve sıvısız eğimölçerler (bubble-inclinometer), pendulum eğimölçer, yerçekimsel gonyometre, elektrogonyometre, sırt hareket açılığı ölçer (BROM) ve boyun hareket açılığı ölçer (CROM) gibi aletlerde bulunmaktadır (Klinich ve Reed 2013). Elektrogonyometreler birbirine bağ-

**Çizelge 2:** MOCAP Teknolojileri

Hareket Yakalama Teknolojileri	Cihaz	Örnekleme frekansı / Kare hızı	Mesafe	Hassasiyet (m)	Gecikme
<b>Optoelektronik</b> 	OptiTrack Prime41 (Akalin 2018) (NaturalPoint, Corvallis, Oregon, ABD)	180 FPS	13.5 m <sup>2</sup>	20 µm ve altı	5.5 ms
<b>Elektromanyetik</b> 	Ubisense 700 IP (Ruiz ve Granja 2017) (Cambridge, İngiltere)	33.75 Hz	160m	0.15	-
<b>Elektromekanik</b> 	Xsens MTw Awinda (Paulich vd. 2018) (Enschede, Hollanda)	1000 Hz	50 m	0.5° RMS	30 ms
<b>Akustik</b> 	WSN (Bischoff vd. 2012)	-	9	0.0535	-
<b>Görüntü İşlemeye Dayalı</b> 	Kinect v2 (Gonzalez-Jorge vd. 2015) (Microsoft, New Mexico, ABD)	30 FPS	4.5 m	0.003	60 ms

lanmış esnek çubuklar halinde üzerinde sensör takımlarının bulunduğu bir tür gonyometredir (Shiratsu ve Coury 2003). Elektronik gonyometreler sahip oldukları farklı türde ölçüm yöntemleriyle açı ölçümünü gerçekleştirir. Bunlar arasında genel itibariyle çalışma prensibi potansiyometreler, fiber optik, gerinim ölçer transdüslerler veya IMU sensörleri kullanılarak ölçümler yapılmaktadır. Elektronik gonyometreler açı ölçümlerini daha net gösterme, kayıt edebilme, gerçek zamanlı inceleyebilme gibi özellikler sebebiyle evrensel gonyometrelere göre daha üstündür. Bunun yanında kayıtlar vasıtasiyla gerçek zamanlı ölçümlerden zamansal-mekânsal özellikler de çıkarılabilmektedir (Ouckama 2007). Piyasada bulunan ve en çok karşılaşılan örneği Şekil 1F'de gösterilen çift eksenli elektrogonyometredir (Biometrics Ltd., Newport, İngiltere). Ölçüm yapılacak uzuva sabitlenerek sensörlerden gelen veri okunur ve açı değeri hesaplanır. Bir diğer alet Şekil 1G'de gösterilen BROM eğimölçer ile bel ve göğüs fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon, laterofleksiyon ve hareket açıklıkları ölçümleri gerçekleştirilmektedir (Norkin ve White 2016). Şekil 1H'de gösterilen CROM eğimölçer ile servikal rotasyon-fleksiyon-ekstansiyon ve laterofleksiyon ölçümleri gerçekleştirilmektedir (Law ve Chiu 2013). Bu

aletler ile belirli vücut kısımlarının hareket açıklık ölçümleri gerçekleştirilmekte olup alet tasarımlarından ötürü sadece yukarıda belirtilen uzuvlarda ölçümler alınmaktadır. Diğer yandan ölçümler el ile yapıldığından aletin ölçüm esnasında kayması ya da farklı gonyometreler ile ölçüm yapıldığında farklı sonuçların alınması, gonyometrelere olan güveni azaltmaktadır (Boone vd. 1978). Ölçümü zorlaştıran bir diğer etken, aletlerin eklem üzerine yerleştirmede karşılaşılan zorluktur ve yerleştirme sırasında hareket etmeye bağlı olarak ölçümler hatalı çıkabilmektedir. Tüm bu sorunların üstesinden gelmek için hassas ve gerçek zamanlı ölçüm yapabilen elektrogonyometreler kullanılabilir. Fakat piyasada bulunan bu tür gonyometrelerin fiyatları oldukça yüksektir.

#### 1.4. Sağlık Alanında Gonyometre Uygulamaları

Biyomekanik uygulamalar, yürüme analizleri, karpal tünel sendromu teşhis için bilek açısı ölçümü, kalça fonksiyonunun değerlendirilmesi gibi pek çok uygulamada gonyometreler sıkılıkla kullanılmaktadır. Bu uygulamalara ek olarak iş kazalarına bağlı yaralanmalarda hareket esnasında eklemelere düşen yükleri bulmak için eklemler arasındaki açıları ölçmek önemlidir. İş esnasında doğru açılar ile vücudun hareket et-



**Şekil 1:** Evrensel gonyometre çeşitleri, (A) Analog gonyometre, (B) Dijital gonyometre, Ölçümler için kullanılan gonyometre çeşitleri (C) Sıvı eğimölçer, (D) Pendulum eğimölçer, (E) Yerçekimsel gonyometre, (F) Elektrogonyometre, (G) BROM, (H) CROM.

mesi hem kişinin fazla gayret sarf etmesinin önüne geçerken hem de zamanla meydana gelebilecek olası yaralanmaların önüne geçmektedir. İş kazalarını önlemek amacıyla çift eksenli esnek elektrogonyometre kullanılarak balık endüstriyinde çalışan kişilerin bilek açı ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Hansson vd. 1996).

Akıllı telefonların ve saatlerin gelişmesiyle de pek çok analiz bu cihazlar sayesinde de yapılmaktadır. Başka bir çalışmada, bir kameradan alınan görüntü ile eklemler üzerinde eksenler oluşturularak akıllı telefon tabanlı gonyometre yapılmıştır ve daha sonra iki-boyutlu görüntü üzerinde oluşturulan iki eksen kullanılarak açı hesaplanmıştır (Ferriero vd. 2013). Fakat bu tekniğe dayalı ölçümlerde kameralın doğru pozisyonlanamaması ölçüm sonuçlarını etkilemeye ve yanlış ölçümlere sebep olmaktadır (Keleş vd. 2016). Elektrogonyometreler hareket sırasında daha iyi ölçümler yapmak

ve doğal olmayan harekete neden olmamak için daha esnek bir tipte yapılabilir.

Başka bir çalışmada, gerinim ölçer içeren elektrogonyometrelerin transdüsör sayısını artırarak bilek açısını daha az hatayla ölçme yetenekleri kanıtlandı (Jonsson ve Johnson 2001). Fakat bu şekilde bir alet maliyet açısından oldukça yüksek miktar tutmaktadır. Kalça ve diz üzerinde elektrogonyometrelerden alınan veriler ışığında asimetri teşhisleri ve buna bağlı anormalliklerin muayenesi yapıldı (Rowe vd. 1989).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde ve mevcut olan cihazların dezavantajları dikkate alındığında alındığında yeni bir gonyometreye gereksinim olduğu gözlandı. Ölçümlerin doğruluk, okunabilirlik, izlenebilirlik ve tekrarlanabilirlik özelliklerini daha da geliştirmek için yeni bir elektrogonyo-

metre cihazı tasarımını gerçekleştirildi. Bu çalışma ile portatif, kablosuz ve gerçek zamanlı izlenebilen farklı bir elektrogon-yometre cihaz tasarımını amaçlandı. Gerçekleştirilen tasarım sayesinde hastanın doğal hareket akışını bozmayacak şekilde açı ölçümlerini kaydedebilen ve kablosuz aktarım gerçekleştirebilen ayrıca diğer sistemlere göre de uygun maliyetli bir gonyometre tasarlandı.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Sistem Tasarımı

Sistem iki adet ivmeölçerin verilerini kullanarak açı hesap edilmesi ve gerçek zamanlı açı değerinin kayıt edilmesi ile verilerin telefon veya bilgisayar ortamına Bluetooth ile transferini içermektedir. Sistemin blok diyagramı Şekil 2'a'de gösterilmiştir. MikroSD kart sayesinde geçmişe dönük incelemeler kolaylıkla yapılabilir ve doktor geçmiş kayıtlara bağlı olarak hastanın hareket kabiliyetindeki gelişimi izleyebilir, verileri karşılaştırabilir. Aynı zamanda akıllı telefonlara yüklenecek uygulama sayesinde basit arayüzünde açı değeri gerçek zamanlı göstermektedir. Bunun yanında Bluetooth alıcısına sahip herhangi bir dizüstü ya da masaüstü bilgisayar ile de veriler eş zamanlı takip edilebilir. Bilgisayar üzerinde Arduino IDE (Ivrea, İtalya) yazılımı serial port ekranı ile takip mümkündür, bunun yanında ücretsiz olarak hizmet veren Processing (v3.5.1, Açık kaynak, Massachusetts, ABD) yazılımı ile de açı değerleri takip edilebilmektedir. Sensörler cırt cırtlı kumaş braket içerisinde yerleştirilmiştir. Bu braket ile diz, dirsek, ayak bileği, el bileği gibi ölçümler kolaylıkla yapılabilmektedir. Diğer ölçümler için sensörlerin braket içerisinde çıkarılıp el ile tutturulması gerekmektedir. Sensörlerin hareket esnasında bağlantılarının kopmasını engellemek ve aradaki kabloya herhangi bir hasar gelmemesi için sıkıca lehimlenen kablolar ayrıca silikonlanarak muhafaza edilmiştir. Sistemin mimarisinde bulunan mobil uygulama geliştirilmektedir.

### 2.2. Elektronik Devre

Mikrokontrolcü devrede az yer kaplaması ve bağlanacak donanımların sayıca çok olması sebebiyle giriş çıkış pinleri fazla olan Arduino Nano (Ivrea, İtalya) tercih edilmiştir. Mikrodenetleyici toplamda 22 adet giriş-çıkış pini bulunmakta olup Atmel ATMega328 işlemcisine sahiptir. Çalışma gerilimi olarak 7V-12V arası çalışmaktadır ve 16MHz çalışma frekansına sahiptir. Mikrodenetleyicinin boyutları yaklaşık olarak 19x43mm'dir (Delebe 2014).

Açı ölçme mekanizması için MPU6050 ivmeölçerler tercih edilmiştir. Ivmeölçer, üç eksen cayıro ve üç eksen

açışal ivmeölçer olmak üzere altı serbestlik derecesine sahip IMU sensördür. Çalışma volajı 3V ile 5V arasında değişmektedir. Açısal ivmeölçer ölçüm aralığı  $\pm 2g$ ,  $\pm 4g$ ,  $\pm 8g$ ,  $\pm 16g$  değerinde olup, iletişim standart olarak I2C protokolüne sahiptir (Fedorov vd. 2015). Devrede iki adet ivmeölçer eksenlerden bağımsız olarak açı ölçmek için gereklidir. Ivmeölçer mikrodenetleyici ile SDA ve SCL pinleri üzerinden haberleşmektedir. Her iki ivmeölçerde mikrodenetleyici üzerinde aynı yere bağlanmış olup ivmeölçerlerin adres değişikliği sebebiyle sinyaller ayrı edilebilmektedir. Bunun için bir ivmeölçerin AD0 pini aktif edilerek adresi değiştirilmiştir.

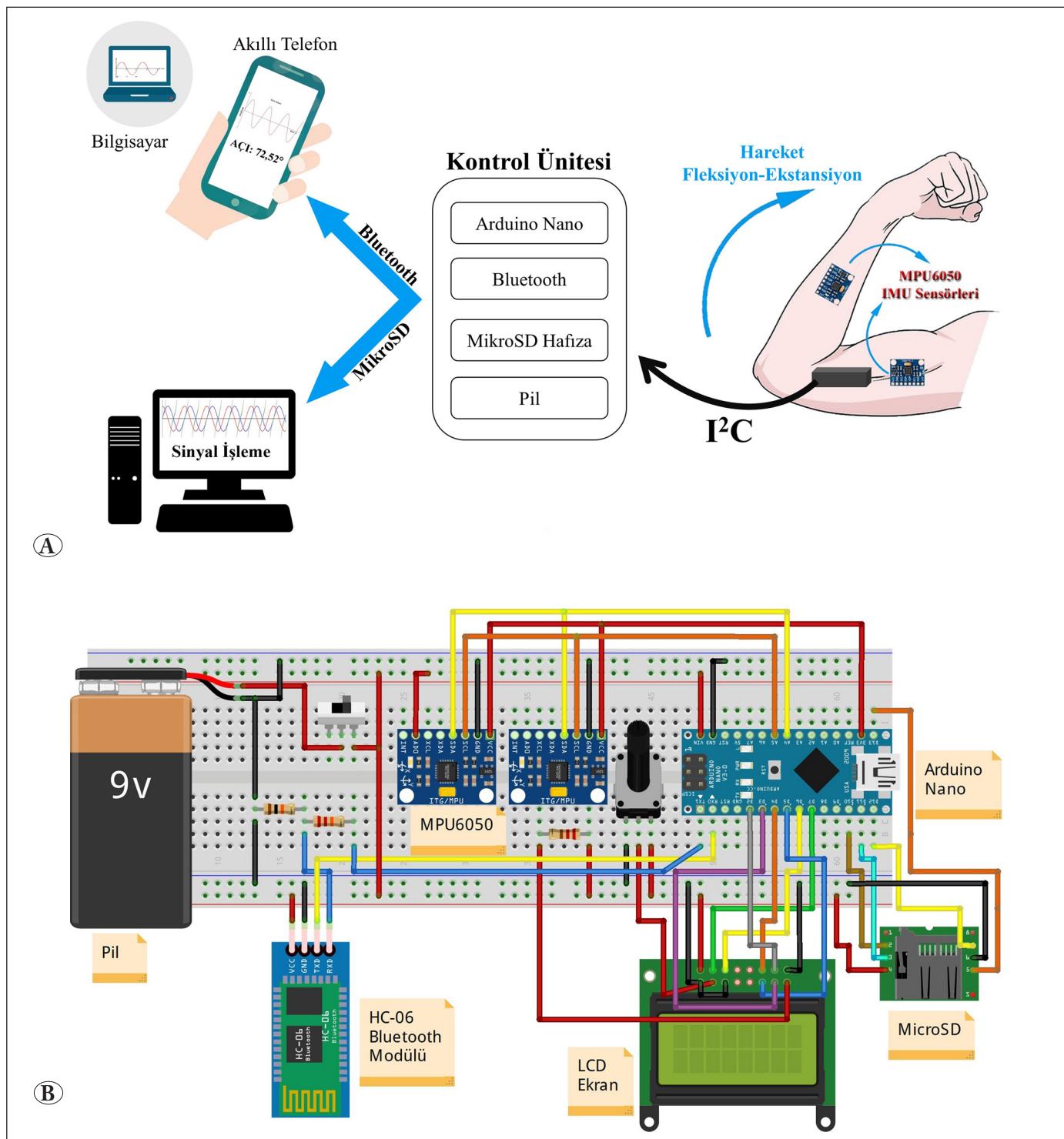
Kullanıcının ölçüm sonuçlarını canlı takip edebilmesi için hem cihaz üzerine LCD ekran yerleştirilirken hem de Bluetooth modülü ile bilgisayar ortamında takip edilebilmesi ve daha sonra analiz edilmek üzere kayıt yapabileceği bir düzenek hazırlanmıştır. Bunun için 16x2 karaktere sahip arka aydınlatması olan LCD ekran mikrodenetleyiciye bağlanmıştır (Soni ve Suchdeo 2012). LCD ekran arka aydınlatmasının şiddetini ayarlamak üzere potansiyometre kullanılmıştır. Bunun yanında 10 m haberleşme mesafesine sahip HC-06 Bluetooth modülü açı bilgisini bilgisayara aktarmak üzere tercih edilmiştir. Bu modül 3V-5V arası çalışma gerilime ve 2.4 GHz bandında haberleşme frekansına sahiptir. Boyutları oldukça küçük olan bu modül devreden yaklaşık 50mA'lık akım çektirmektedir (Anwary vd. 2019). Kayıt özgürlüğü için mikro SD kart ve Arduino uyumlu adaptörü kullanılmıştır. Depo edilecek verilerin boyutlarının az olması ve fiyatının makul olması sebebiyle 1GB mikro SD kart tercih edilmiştir. Diğer yandan adaptör aynı gerilim aralıklarında çalışmakla beraber SPI haberleşme protokolüne sahiptir. Bunun için mikrodenetleyicinin MISO, MOSI ve SCK pinleri kullanılmıştır. Güncel elektronik elemanları bünyesinde barındıran ve esnek çizme ortamı sağlayan Fritzing (v.0.8.7b, FH Potsdam, Brandenburg, Almanya) yazılımı ile devre şeması Şekil 2b'de gösterilmiştir. Cihazın sürekli çalışıp pil tüketimini artırmasını engellemek için açma-kapama anahtarı pil ile elemanlar arasına yerleştirilmiştir. Pil olarak PP3 tip 9V lityum kaynaklı batarya kullanılmıştır. Tüm donanımların delikli plaket üzerinde yerleşiminden sonra sabitlenerek elastik brakte içine yerleştirilmiştir.

### 2.3. Programlama

Mikrokontrolcü programlanması Arduino IDE v1.8.9 yazılımı ile gerçekleştirildi. İki ivmeölçer aynı pin üzerinden haberleşeceği için tek hatlı (One-Wire) iletişim kütüphanesi, MPU6050 ivmeölçer kütüphanesi, Bluetooth kütüphanesi, LCD ve mikroSD kütüphaneleri yüklandı. Alet

ilk açıldığında gerekli haberleşme birimlerinin kontrolünü yapmakta ve mikroSD kart takılı olup olmadığını sorgulamaktadır. Eğer her ikisi de mevcut değilse LCD ekrana yazıp kullanıcıyı bilgilendirmektedir. Daha sonra sensörlerin kalibrasyonları yapılmakta olup veriler okunur. Her iki

sensörün adresleri farklı olduğu için sırayla veriler okunur ve açı değeri hesaplanarak LCD ekrana gönderilir. Bu adımdan sonra eğer Bluetooth veya mikroSD bağlı ise veriler kayıt edilmek üzere işlenir. Veriler tekrar okunmak üzere döngü başa döner.



Şekil 2: (A) Düzenliğin blok diyagramı, (B) Elektronik devre şematiği.

## 2.4. Kalman Filtresi

İvmeölçer sensörler, titreşimden ve çevredeki gürültülerden hassas bir şekilde etkilenir. Bunun sonucunda ölçümler gerçek değerden farklılık çıkabilir. İstenilen sinyali gerçek sinyale olabildiğince yakın elde edebilmek için Kalman filtre ve Fusion filtre gibi çeşitli filtreler kullanılmaktadır.

Kalman滤resi ile önceki duruma göre yeni durum hesaplanarak tahmini durum elde edilir. Bu sebeple giriş ve çıktı değerleri önemlidir. Ölçülemeyecek sinyalleri bile gerçeğe yakın tahmin etmede oldukça başarılıdır. Kalman filtresi bir filtre olarak görülsede de aslında tahmin edici bir işlemidir. Kalman filtresi ile tahmini değer ve düzeltme gerçekleştirilebilir. Kalman filtresi ile ivmeölçer probleminin matematiksel modellemesi için başlangıçta denklem (1) ve denklem (2)'den yararlanılır.

$$x_t = Ax_{t-1} + Bu_t + w_{t-1} \quad (1)$$

$$Z_t = Hx_t + v_t \quad (2)$$

Alt indis olarak kullanılan t harfi durumları (ayrık zaman aralıkları  $t=0$  ms,  $t=1$  ms gibi) göstermektedir.  $x_t$  ile sinyalin değeri, önceki sinyal değeri ( $x_{t-1}$ ), kontrol sinyali ( $u_t$ ) ve önceki değerin gürültü değerleri ( $w_{t-1}$ ) toplanarak elde edilir. Denklem 2 de ise  $Z_t$ , ölçüm değeri, sinyalin değeri ( $x_t$ ) ile ölçüm gürültüsünün ( $v_t$ ) toplamıdır. A, B ve H harfleri matrisleri temsil eder. Bu problem için matrisler

$$A = \begin{bmatrix} 1.127 & -0.494 & 0.112 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}, B = \begin{bmatrix} -0.383 \\ 0.592 \\ 0.521 \end{bmatrix} \text{ ve}$$

$H=1$  olarak optimize edilmiştir. Problemi oluşturduktan sonra kalman filtreli sinyali bulmak için denklem (3)'den yararlanılır.

$$\hat{X}_t = \hat{X}_{t-1} + K_t(Z_t - H\hat{X}_{t-1}) \quad (3)$$

$$K_t = \frac{P_t^- H^T}{H P_t^- H^T + R} \quad (4)$$

$$P_t^- = (1 - K_t H) P_t^- \quad (5)$$

$$P_t^- = AP_{t-1}A^T + Q \quad (6)$$

$$\hat{X}_t = A\hat{X}_{t-1} + Bu_t \quad (7)$$

$\hat{X}_t$  Kalman filtresi sonrasında elde edilen değer (tahmini değer),  $K_t$  kalman kazancı,  $\hat{X}_t$  düzeltme güncellemesi yapılmadan bulunan bir önceki tahmin değeridir. Başlangıçta bu değer sıfır olarak alınmıştır.  $P_t^-$  önceki hata kovaryansı,  $P_t$  güncelleme sonucu bulunan hata kovaryansıdır. Denklem (6) ve (7) ile değerlerin tahmin aşaması, denklem (3), (4) ve (5) ise verileri güncelleme ya da düzeltme aşamasını içermektedir. Bu kısımda R sensör hata kovaryansı,

$Q$  gürültü kovaryansı olarak iki parametre önemlidir. Başlangıçta bu değerlerin belirlenmesi gereklidir ve sıfırdan farklı sayılar seçilmelidir. Bu çalışma için R değeri 2.2 ve Q değeri 0.45 olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin belirlenmesi gerçek sinyale olabildiğince yakınsamak için manuel olarak denenmiştir. Herhangi bir metot kullanılmamıştır. Kalman kazancı her bir adımda hesaplanarak yeni değer bulunur. Bu sayede ölçüm anlık büyük değişimlere karşı hassaslığı yok edilir. Ölçüm ile elde edilen değerler daha pürüzsüz ve yumuşak geçişlere sahiptir.

## 2.5. Deneysel Çalışma

Cihazın validasyonunu yapmak ve denek üzerinde gerçekleştirmek adına 7 erkek ve 7 kadın (yaş  $24 \pm 5,1$ ) üzerinden ölçümler alınmıştır. Deneklerin geçmişlerinde hareketleri kısıtlayacak bilinen herhangi bir hastalık veya ameliyat saptanmamıştır. Ölçümler, deneklerin enstrümanı kollar ve bacaklarına giymeleriyle,  $30^\circ$ ,  $60^\circ$  ve  $90^\circ$  için gerçekleştirılmıştır. Aynı zamanda ölçüm ile beraber iç açıları  $30^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $90^\circ$  olan plastik sabit gönye ve ayarlanabilir hareketli gönye vasıtasiyla sonuçlar karşılaştırılmıştır (Şekil 3A-C).

Gerçek zamanlı kayıtların validasyonu için kameralı sistem olan OptiTrack (NaturalPoint, Corvallis, Oregon, ABD) sistemi kullanılmıştır. Optoelektronik sisteme 6 kamera kullanılarak kayıt işlemi gerçekleştirılmıştır. Kameraların modeli Flex 3, görüntü hızı 60 FPS, gecikme 0,1 ms ve sistemin örneklem frekansı 100 Hz olarak sistem çalışmaktadır. Kayıtlar güneş görmeyen kapalı bir ortamda herhangi bir gürültü içermeyen laboratuvara bir kişi üzerinden alınmış olup sensörlerin üzerine OptiTrack işaretleyicileri yerleştirilmiştir. OptiTrack kalibre edildikten sonra her iki sistemden de eş zamanlı kayıtlar alınmıştır. Şekil 3D'de sensörlerin yerleşimi ve kayıt ortamı gösterilmiştir.

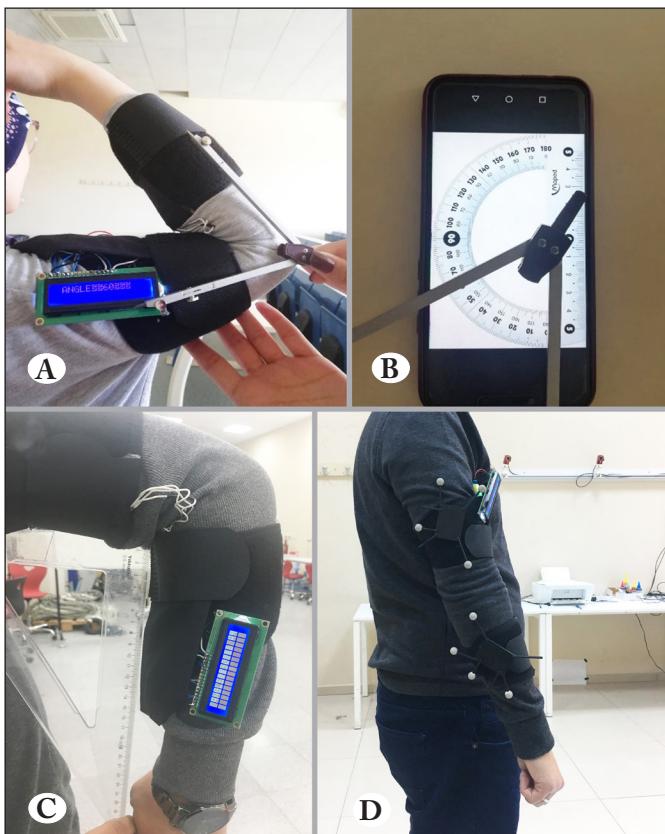
## 2.6. İstatistiksel Analiz

Ölçüm sonuçları alınan 14 kişinin her bir açı değeri için alınan 5 ölçüm değerinin ortalama ve standart sapma gibi tanımlayıcı istatistikleri SPSS (v.25, IBM, New York, ABD) yazılım paketi kullanılarak hesaplanmıştır.

$$M = \frac{1}{n} \sum a_i \quad (8)$$

$$SD = \sqrt{\frac{(a_i - M)^2}{n-1}} \quad (9)$$

Burada  $M$  ortalama,  $SD$  standart sapma,  $n$  değeri ölçümlerin sayısı,  $a_i$  ise i. ölçüm sonucudur.



**Şekil 3:** Ölçümün alınması ve validasyonu, A-B) Sağ dirsek 60° fleksiyon hareketi pergel ile doğrulanması, C) Sol dirsek 90° ektansiyon hareketi gönye ile doğrulanması, D) OptiTrack işaretleyicilerin yerleşimi ve hareket yakalama laboratuvarı.

Ayrıca, tasarılan sistemden alınan ölçümülerin pergel ile ölçülen değerden farklı olup olmadığı için incelenmesi istatistiksel analiz ile anlamlılık değeri ( $p$ ) hesaplanmaktadır. Bu değerin belirli değerden (mesela 0,05) küçük olması halinde anlamlı bir fark olduğu sonucuna ulaşılır. Tasarılan sistemden tekrar edilerek alınan ölçümler tek bir değer ile karşılaştırılacağı için tek örneklem t-testi seçilmiştir. Bu testin uygulanması için de SPSS (v.25, IBM, New York, ABD) yazılım paketi kullanılmıştır.

Bunun yanı sıra, tasarılan sistemin kameralı takip ölçüm sistemi olan OptiTrack ile karşılaştırılması için de istatistiksel analize başvurulmuştur. İki farklı yöntemle alınan sayısal ölçümler arasındaki doğrusal bir ilişkinin varlığını, varsa bu ilişkinin yönünü ve büyüğünü veren yöntemlerden birisi Pearson Korelasyon Testidir. Bu testin sonucu olan Pearson korelasyon katsayısı ( $r$ ) ve ortalama karesel hataların karekökü (RMSE) değerleri yine SPSS (v.25, IBM, New York, ABD) yazılım paketi kullanılarak hesaplanmıştır. Burada  $r$  değeri +1'e yaklaşıkça iki ölçüm

arasında aynı yönde uyumun arttığı ve -1'e yaklaşıkça ise ters yönde uyumun arttığı sonucuna ulaşılırken, RMSE değeri 0'a yaklaşıkça iki ölçüm arasındaki farkın azaldığı sonucuna ulaşır

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\hat{a}_i - a_i)^2}{n}} \quad (10)$$

Burada  $RMSE$  ortalama karesel hatanın karekökü,  $n$  değeri ölçümlerin sayısı,  $a_i$  ve  $\hat{a}_i$  i. ölçüm sonuçlarıdır.

### 3. Sonuçlar

#### 3.1. Elektrogonyometre ile Geleneksel Gönyenin Karşılaştırılması

Elektrogonyometre ile sağ dirsek, sağ diz, sol dirsek ve sol diz üzerinden 30, 45, 60 ve 90 derecelik açılardan alınan ölçümler gönye açık değeri ile karşılaştırılmıştır. Her bir ölçüm yeri ve ölçüm açısı 14 kişi üzerinden beşer kez elektrogonyometre ölçüsü kayıt edilmiştir. Daha sonra SPSS yazılım paketi kullanılarak tanımlayıcı istatistik değerleri (Ortalama ve SD) ile tek örneklem t-testi karşılaştırmaları ( $p$ ) yapılmıştır. Tasarılan elektrogonyometre ile elde edilen ölçümler ve mekanik gönye ile ölçülen değer arasındaki fark tek örneklem t-testi incelenmiştir. Çizelge 3'de özetlenen sonuçlara göre, tasarılan sistem ile alınan ölçümler ve mekanik gönye değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ).

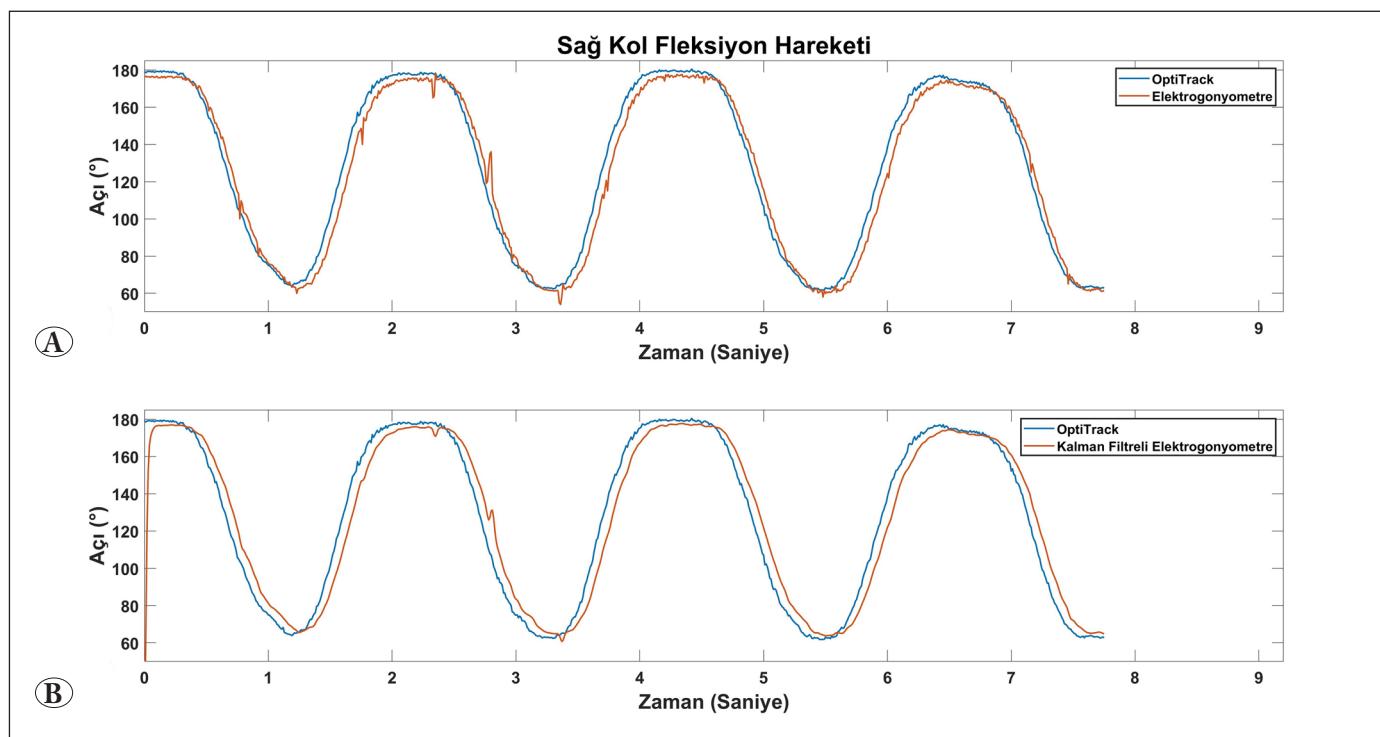
#### 3.2. Optitrack ile Elektrogonyometrenin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

OptiTrack ve elektrogonyometre ile eş zamanlı olarak ölçümler alınmıştır. Şekil 4'de örnek olarak bir deneğin sağ kol dirseğinden alınan sinyaller gösterilmiştir. Elektrogonyometre ile alınan verilerin Optitrack ile alınan hareket verileri küçük bir zaman gecikmesiyle takip ettiği görülmektedir. Bu şekilde tüm denekler için üzerinde devrenin hareket etmesinden kaynaklı belirli zamanlarda gürültü olursa da sinyalin akışını bozmayacak düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Bu şekilde tüm denekler için her iki sistemle de hareketler kayıt edilmiştir. Daha sonra bu veriler SPSS yazılımı aracılığıyla Pearson Korelasyon yöntemi ile incelenerek aralarındaki ilişkiyi ortaya koyan RMSE ve  $r$  değerleri hesaplanmıştır. Yukarıdaki örnek için ham veri ile  $r$  değeri 0,921 ve RMSE değeri 2,32 Kalman filtreli olarak elde edilen verilerden  $r$  değeri 0,963 RMSE değeri 1,89 olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde hesaplanan tüm Pearson korelasyon katsayısı ve ortalama karesel hatanın

Çizelge 3: Gönye ile Elektrogonyometrenin Karşılaştırılması

Ölçüm Yeri	Gönye (°)	Elektrogonyometre Ortalama $\pm$ SD (°)	p
Sağ	Dirsek Fleksiyon	30	30,19 $\pm$ 0,73
		45	45,52 $\pm$ 0,84
		60	60,37 $\pm$ 1,22
		90	90,49 $\pm$ 1,15
	Diz Fleksiyon	30	30,49 $\pm$ 0,98
		45	45,31 $\pm$ 0,86
		60	60,13 $\pm$ 1,45
		90	90,71 $\pm$ 1,39
Sol	Dirsek Fleksiyon	30	30,38 $\pm$ 0,93
		45	45,29 $\pm$ 0,90
		60	60,30 $\pm$ 1,42
		90	90,77 $\pm$ 1,58
	Diz Fleksiyon	30	30,48 $\pm$ 0,96
		45	45,29 $\pm$ 0,59
		60	60,46 $\pm$ 1,59
		90	90,89 $\pm$ 1,66



Şekil 4: (A) OptiTrack (mavi) ile elektrogonyometrinin (kırmızı) eş zamanlı ölçümlerinin grafiği, (B) OptiTrack (mavi) ile Kalman filtreli elektrogonyometrenin (kırmızı) eş zamanlı ölçümlerinin grafiği.

karekökü değerleri Çizelge 4'de özetlenmiştir. Buna göre açı değerlerinin RMSE için ortalama ve standart sapma değerleri  $2,19 \pm 0,27$  ve r için ortalama ve standart sapma değerleri  $0,94 \pm 0,02$  olarak bulunmuştur. Pearson korelasyon değerinin 1'e yakın olması Optitrack cihazı ile geliştirilen sistem arasında mükemmel yakını bir benzerlik olduğunu göstermektedir. Üstelik RMSE değerinin ortalama açı değerine gerçek zamanlı olarak bölünerek hesaplanması halinde %1,51'lik bir ortalama karesel hata oluştuğu görülmektedir.

### 3.3. Elektrogonyometrenin Maliyet Analizi

Önerilen tasarımın bir diğer önemli özelliği ise diğer sistemlere göre 20,97\$ ile daha uygun maliyetli olmasıdır. Buna göre Çizelge 5'de kullanılan tüm malzemelerin ücretleri gösterilmiştir. Sistemde kullanılan Arduino tabanlı sensörler ve çevre birimleri maliyet konusunda oldukça uygundur. En yüksek maliyetli parça elektronik devrenin yerleştiği kumaş braket olmuştur.

### 4. Tartışma

Ortopedik ameliyatlar, pediatri ortopedi, fizik tedavi, spor yaraları, ortez-protez tasarımları, osteoporoz tedavisi, kısmi felç, hareket kabiliyeti eksikliği ve rehabilitasyon gibi alanlarda sıkılıkla kullanılan gonyometrelerle doğru ölçüm sonucu elde edilmesi ve ölçümülerin tekrarlanabilirliği çalışmalarda tartışma konusu olmuştur (Roach vd. 2013). Yapılan çalışmalarda farklı cihazlarla yapılmış olan ölçümlerin sonuçları uyum içinde olsalar da, kişinin ölçümüne göre benzer sonuçları çıkarmaktan geri kalmıştır. Bunun en önemli sebeplerinden birisi el ve göz ile ölçümün belirli skalalar arasından sayısal değerin, tahmini okunmasına dayanmaktadır. Bunun yanında ölçüm aletleri ekleme el ile sabitlenerek ölçüm alınır ve bunun sonucunda ölçüm, kişiye göre değişiklik gösterebilir. Ayrıca hareket esnasında evrensel gonyometreler ile anlık ölçümün alınması mümkün değildir. Zamana göre açısal değişimi gözleme, evrensel gonyometreler kullanılarak yapılamaz. Hareket açıklığını

**Çizelge 4:** Optitrack ile Elektrogonyometrenin Karşılaştırılması

Ölçüm Yeri	Ham Veri		Kalman Filtreli Veri	
	Ortalama Karesel Hatanın Kareköyü (RMSE)	Pearson Korelasyon Katsayısı (r)	Ortalama Karesel Hatanın Kareköyü (RMSE)	Pearson Korelasyon Katsayısı (r)
Sağ Dirsek Fleksiyon	2,32	0,921	1,89	0,963
Sağ Diz Fleksiyon	3,04	0,932	2,35	0,952
Sol Dirsek Fleksiyon	2,51	0,919	2,06	0,949
Sol Diz Fleksiyon	2,98	0,903	2,48	0,921
<b>Ortalama</b>	<b><math>2,71 \pm 0,35</math></b>	<b><math>0,92 \pm 0,01</math></b>	<b><math>2,19 \pm 0,27</math></b>	<b><math>0,94 \pm 0,02</math></b>

**Çizelge 5:** Önerilen Sistemin Yaklaşık Maliyeti (Satış İçin Gerekli Olan Maliyetler Dahil Değildir)

Malzeme	Adet	Birim Fiyat (\$)	Fiyat (\$)
MPU6050 İvmeölçer	2	1,16	2,32
LCD Ekran	1	1,49	1,49
Arduino Nano	1	2,98	2,98
HC-06 Bluetooth Modülü	1	3,31	3,31
MikroSD Kart	1	2,65	2,65
MikroSD Adaptör	1	0,50	0,50
Elastik Uzuv Braket	1	6,63	6,63
Pil	1	0,50	0,50
Direnç	3	0,056	0,17
Anahtar	1	0,08	0,08
Potansiyometre	1	0,17	0,17
Delikli Plaket	1	0,17	0,17
<b>Toplam Maliyet</b>			<b>20,97</b>

ölçmek için evrensel gonyometrelerin iki ekseni ölçüm yapılacak uzuvlar ile paralel yapılır ve aradaki açı ölçülür. Bu yöntemde göz ile uzuvlara paralel yapılan çubuklar kişiye göre ölçüm sonuçlarını etkiler (Chapleau vd. 2011). Bu dezavantajları gidermek için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiş ve elektrogonyometreler önerilmiştir. Elektrogonyometreler, eş zamanlı olarak hareket açıklığını ölçmenin yanında hareketi kısıtlamayıp kişinin doğal hareketlerini yapmasına izin vermesi, hafıza ile ölçüm sonuçlarının kayıt edilmesi, uzaktan izlenebilmesi, vücut üzerinde kolaylıkla sabitlenebilmesi gibi avantajları yanında getirmiştir (Piriyaprasarth vd. 2008). Fakat tüm bu avantajlar sebebiyle fiyat-maliyet artmış bundan dolayı klinik birimlerde bu teknolojiye ulaşılabilirlik kısır kalmıştır. Çizelge 6'da görüldüğü üzere genel itibarıyle piyasada bulunan gonyometre-eğimölçerlerin yaklaşık fiyatları gösterilmiştir. Bu fiyatlar içerisinde önerilen sistemin ürün maliyeti yer almaktadır. Firmaların ticari kaygıları ve medikal sektörünün kar kazançları düşünüldüğünde bu fiyatların katlanarak arttığı bilinmektedir. Basit bir gonyometre bile oldukça yüksek fiyatlarda yer almaktadır. Bu yüzden ilgili klinik birimlerde basit ve ucuz gonyometreler kullanılmaktadır. Ayrıca her gonyometre insan vücudunun her eklem ölçümü için kullanılabilir. Örneğin BROM sadece bel ve göğüs ölçümlerinde, CROM servikal ölçümelerde, pendulum eğimölçer pelvis eğim açısını ve parmakların açı ölçümlerinde, yerçekimsel gonyometre servikal hareket açıklığı ölçümlerinde ve çocuklarda ayak torsion ölçümlerinde sıkılıkla kullanılmaktadır (Yankai ve Manosan 2009). Diğer bölgelerin hareket açıklığı ölçümlerinde bu cihazlar genellikle tercih edilmezler. Bu sebeple

kliniklerde ek gonyometre talepleri olmaktadır. Tüm bu sorunların çözümü olarak uygun maliyetli, uzaktan izlenebilen, eş zamanlı takip edilebilen, hafıza ile kayıt etme özelliği bulunan, oldukça pratik giyilebilen ve kolaylıkla taşınabilecek elektrogonyometre tasarımu önerilmiş ve denekler üzerinde ölçümler teste tabi tutulmuştur.

Bu çalışmada geliştirilen cihazın çıkışına Kalman filtresi uygulanmıştır. Kalman filtresinin uygulanması ile çıkışlardaki anlık yükselme ve düşüşlerin önüne geçilerek daha yumuşak geçişli ölçümler elde edilmiştir. Ayrıca, Kalman filtresi sayesinde çıkışlardaki ölçümlerin daha kararlı bir hale gelmesi sağlanarak ölçümlerin tekrarlanabilirliğinin (yani peşpeşe alınan ölçümlerde aynı sonuçların elde edilmesinin) sağlandığı görülmüştür.

Bu çalışmada iki adet ivmeölçer ile hareket açıklığı tespit edilmiştir. Bunun yanında bazı çalışmalarda flex sensör kullanılarak elektrogonyometre tasarımları mevcuttur (Wang vd. 2011). Fakat flex sensörler ivmeölçerlere göre daha pahalı olmasının yanında zamanla eğilip büküldüğünden dolayı hatalı sonuçlar üretmekteydir. Ruiz-Olaya ile arkadaşlarının yapmış oldukları giyilebilir elektrogonyometre uygun sonuçlar üretse de kullanılan malzemeler gereği oldukça pahalı maliyetlere ulaşmaktadır (Ruiz-Olaya vd. 2017). Diğer yandan gonyometrelerin doğrulanma yöntemi çalışmalara göre değişiklik içermektedir. Allahyari ile arkadaşlarının 2016'da yapmış oldukları çalışmada elektrogonyometre ile Kinect validasyonu yapılmıştır (Allahyari vd. 2017). Fakat Kinect bu validasyon için altın standart olmayışının yanında her eklem açısını ölçümede kullanılamaz. Bu sebeple validas-

**Çizelge 6:** Piyasada Bulunan Ticari Gonyometrelerin Yaklaşık Fiyatları ile Önerilen HUGGo Sistemin Fiyatının Karşılaştırılması  
(Önerilen Sistemin Satış Maliyetini Yansıtmadmaktadır)

Ölçüm Teknolojileri		Fiyat (\$)
Elektronik Sistemler	Önerilen sistem ( <b>HUGGo</b> )	<b>20,97</b>
	Elektrogonyometre (Biometrics Ltd.)	295
	Dijital gonyometre	300
	Kinect v2	400
	Xsens MTw Awinda	4350
	OptiTrack Prime41	5999 (Sadece Kamera)
	Ubisense 700 IP	29200
Elektronik Olmayan Sistemler	Evrensel gonyometre	10
	Pendulum eğimölçer	15
	Sıvı eğimölçer	46
	Yerçekimsel gonyometre	173
	BROM	395
	CROM	395

yonlar bu çalışmada olduğu gibi altın standart olarak geçen cihazlar ile yapılmalıdır. Rezende ile arkadaşlarının yapmış oldukları polimer optik fiber gonyometre düşük fiyatlı olmasına rağmen validasyon aşamasında düşük sonuçlar üretmiştir (Rezende vd. 2018). Tüm bu araştırmalara bakıldığında bu dezavantajları ortadan kaldıracak tasarım validasyonları gerçekleştirilerek hareket açılığının ölçümlerinde kullanılmak üzere sistem önerilmiştir.

## 5. Teşekkür

Yazarlar, İpek Avcı, Deniz Hande Kısa, Merve Oğuz ve Yılmaz Kemal Yüce'ye, bu çalışmanın başlatılması aşamasındaki desteklerinden dolayı teşekkür ederler.

## 6. Kaynaklar

- Akalan, N. E., Temelli, Y. 2014.** Serebral Parezide Gözlemsel Yürüme Analizinin Yeri ve Kullanılabilirliği. Sağlık Bilim. ve Meslekleri Derg., 1: 28. <https://doi.org/10.17681/hsp.09448>.
- Akalin, Ç. 2018.** Manyetoreolojik (Mr) Silindirli Yarı Etkin Diz Eklemi Ortezi Tasarımı, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Allahyari, T., Sahraneshin Samani, A., Khalkhali, H. R. 2017.** Validity of the Microsoft Kinect for measurement of neck angle: comparison with electrogoniometry. Int. J. Occup. Saf. Ergon, 23: 524-532. <https://doi.org/10.1080/10803548.2016.1219148>.
- Anwary, A. R., Bouchachia, H., Vassallo, M. 2019.** Real time visualization of asymmetrical sitting posture. Procedia Comput. Sci., 155: 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2019.08.024>.
- Aydil, S., Özkan, P., Beng, K. 2014.** Görsel yürüme analizi. TOTBİD Derg., 13: 331-336. <https://doi.org/10.14292/totbid.dergisi.2014.37>.
- Aydın, S. 2000.** İnsan anatomisi ve fizyolojisi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Bennett, J. G., Bergmanis, L. E., Carpenter, J. K., Skowlund, H. V. 1963.** Range of motion of the neck. Phys. Ther., 43: 45-47. <https://doi.org/10.1093/ptj/43.1.45>.
- Bischoff, O., Heidmann, N., Rust, J., Paul, S. 2012.** Design and implementation of an ultrasonic localization system for wireless sensor networks using angle-of-arrival and distance measurement. Procedia Eng., 47: 953-956. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.09.304>.
- Boone, D. C., Azen, S. P., Lin, C. M., Spence, C., Baron, C., Lee, L. 1978.** Reliability of goniometric measurements. Phys. Ther., 58: 1355-1360. <https://doi.org/10.1093/ptj/58.11.1355>.
- Brindle, T., Nyland, J., Johnson, D. L. 2001.** The meniscus: review of basic principles with application to surgery and rehabilitation. J. Athl. Train., 36: 160.
- Chao, E. Y. S. 1986.** Biomechanics of the human gait. In: G. W. Schmid-SchönbeinS, L-Y. WooB, W. Zweifach [eds.], Frontiers in Biomechanics, Springer-Verlag, New York, pp. 225-244.
- Chapleau, J., Canet, F., Petit, Y., Laflamme, G.-Y., Rouleau, D. M. 2011.** Validity of goniometric elbow measurements: comparative study with a radiographic method. Clin. Orthop. Relat. Res., 469:3134. <https://doi.org/10.1007/s11999-011-1986-8>.
- Chiras, D. D. 2013.** Human biology, Jones & Bartlett Publishers, USA.
- Cloete, T. 2009.** Benchmarking full-body inertial motion capture for clinical gait analysis. Yüksek Lisans Tezi, University of Stellenbosch.
- Delebe, E. 2014.** Projeler ile Arduino. Kodlab, İstanbul.
- Demirhan, M., Göksan, M. A. 1993.** Omuz eklemi biomekaniği ve kas kontrolü. Acta Orthop Traumatol Turc, 27: 212-217.
- Fedorov, D. S., Ivoilov, A. Y., Zhmud, V. A., Trubin, V. G. 2015.** Using of measuring system MPU6050 for the determination of the angular velocities and linear accelerations. Autom. Softw. Enginry, 11: 75-80.
- Fernández-Baena, A., Susín, A., Lligadas, X. 2012.** Biomechanical validation of upper-body and lower-body joint movements of kinect motion capture data for rehabilitation treatments. Fourth international conference on intelligent networking and collaborative systems, IEEE, p. 656-661, Romania. <https://doi.org/10.1109/iNCoS.2012.66>.
- Ferriero, G., Vercelli, S., Sartorio, F., Lasa, S. M., Ilieva, E., Brigatti, E., Carolinac, R., Calogerod, F. 2013.** Reliability of a smartphone-based goniometer for knee joint goniometry. Int. J. Rehabil. Res., 36: 146-151. <https://doi.org/10.1097/MRR.0b013e32835b8269>.
- Gonzalez-Jorge, H., Rodríguez-Gonzálvez, P., Martínez-Sánchez, J., González-Aguilera, D., Arias, P., Gesto, M., Díaz-Vilarino, L. 2015.** Metrological comparison between Kinect I and Kinect II sensors. Measurement, 70: 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2015.03.042>.
- Hansson, G. Å., Balogh, I., Ohlsson, K., Rylander, L., Skerfving, S. 1996.** Goniometer measurement and computer analysis of wrist angles and movements applied to occupational repetitive work. J. Electromyogr. Kinesiol., 6: 23-35. [https://doi.org/10.1016/1050-6411\(95\)00017-8](https://doi.org/10.1016/1050-6411(95)00017-8).
- Iqbal, M. M. 2000.** Osteoporosis: epidemiology, diagnosis, and treatment. South. Med. J., 93: 2-18. <https://doi.org/10.1097/00007611-200093010-00002>.

- Jonsson, P., Johnson, P. W. 2001.** Comparison of measurement accuracy between two types of wrist goniometer systems. *Appl. Ergon.*, 32: 599-607. [https://doi.org/10.1016/S0003-6870\(01\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0003-6870(01)00036-9).
- Keleş, E. Şimşek, E., Salmanı, M., Şimşek, T. T., Angın S. 2016.** Eklem hareket açılığı ölçümünde kullanılan iki akıllı telefon uygulamasının uygulayıcı içi ve uygulayıcılar arası güvenilirliğinin incelenmesi. *J. Exerc. Ther. Rehabil.*, 3: 21-29.
- Kitagawa, M., Windsor, B. 2012.** MoCap for artists: workflow and techniques for motion capture, Focal Press, USA.
- Klinich, K. D., Reed, M. P. 2013.** Pediatric anthropometry. In: J. R. Crandall, B. S. Myers, D. F. Meaney, S. Z. Schmidtke [eds.], *Pediatric injury biomechanics*, Springer, New York, pp. 1-31.
- Law, E. Y. H., Chiu, T. T.-W. 2013.** Measurement of cervical range of motion (CROM) by electronic CROM goniometer: a test of reliability and validity. *J. Back Musculoskelet. Rehabil.*, 26: 141-148. <https://doi.org/10.3233/BMR-2012-00358>.
- Magdin, M. 2017.** Simple MoCap System for Home Usage. *Int. J. Interact. Multimed. Artif. Intell.*, 4. <https://doi.org/10.9781/ijmai.2017.4410>.
- McGinnis, R. S., Hough, J., Perkins, N. C. 2017.** Accuracy of wearable sensors for estimating joint reactions. *J. Comput. Nonlinear Dyn.*, 12. <https://doi.org/10.1115/1.4035667>.
- Medved, V. 2000.** Measurement of human locomotion, CRC press, USA.
- Moissenet, F., Armand, S. 2015.** Qualitative and quantitative methods of assessing gait disorders. *Orthop. Manag. Child. with Cereb. Palsy A Compr. Approach*, 215-240.
- Muro-de-la-Herran, A., García-Zapirain, B., Méndez-Zorrilla, A. 2014.** Gait analysis methods: An overview of wearable and non-wearable systems, highlighting clinical applications. *Sensors (Switzerland)*, 14: 3362-3394. <https://doi.org/10.3390/s140203362>.
- Noiumkar, S., Tirakoat, S. 2013.** Use of optical motion capture in sports science: A case study of golf swing. International Conference on Informatics and Creative Multimedia, IEEE, p. 310-313, Malaysia. <https://doi.org/10.1109/ICICM.2013.58>.
- Norkin, C. C., White, D. J. 2016.** Measurement of joint motion: a guide to goniometry. FA Davis, USA.
- Ouckama, R.A. 2007.** Comparison of Flexible Electrogoniometers to a 3D Optical Tracking System for Measurements of Ankle Angles During Level Walking and Running. Master Sci. Diss., 67.
- Paulich, M., Schepers, M., Rudigkeit, N., Bellusci, G. 2018.** Xsens MTw Awinda: Miniature wireless inertial-magnetic motion tracker for highly accurate 3D kinematic applications. Xsens: Enschede, Netherlands.
- Pearlmutter, L. L., Bode, B. Y., Wilkinson, W. E., Maricic, M. J. 1995.** Shoulder range of motion in patients with osteoporosis. *Arthritis Rheum. Off. J. Am. Coll. Rheumatol.*, 8: 194-198. <https://doi.org/10.1002/art.1790080313>.
- Piryaprasarth, P., Morris, M. E., Winter, A., Bialocerkowski, A. E. 2008.** The reliability of knee joint position testing using electrogoniometry. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 9: 1-10. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-9-6>.
- Reese, N. B., Bandy, W. D. 2016.** Joint range of motion and muscle length testing, Elsevier Health Sciences, China.
- Resnick, D. L., Kransdorf, M. J. 2004.** Bone and joint imaging E-Book, Elsevier Health Sciences, USA.
- Rezende, A., Alves, C., Marques, I., Silva, M. A., Naves, E. 2018.** Polymer optical fiber goniometer: A new portable, low cost and reliable sensor for joint analysis. *Sensors (Switzerland)*, 18: 1-9. <https://doi.org/10.3390/s18124293>.
- Riecký, A., Madaras, M., Piovarci, M., Durikovic, R. 2018.** Optical-inertial Synchronization of MoCap Suit with Single Camera Setup for Reliable Position Tracking. in VISIGRAPP (GRAPP), 40-47.
- Roach, S., San Juan, J. G., Suprak, D. N., Lyda, M. 2013.** Concurrent validity of digital inclinometer and universal goniometer in assessing passive hip mobility in healthy subjects. *Int. J. Sports Phys. Ther.*, 8: 680.
- Roetenberg, D., Luinge, H., Slycke, P. 2009.** Xsens MVN: Full 6DOF human motion tracking using miniature inertial sensors. Xsens Motion Technol. BV, Tech. Rep 1.
- Rosenhahn, B., Klette, R., Metaxas, D. 2008.** Human motion. Understanding, Model. Capture.
- Rowe, P. J., Nicol, A. C., Kelly, I. G. 1989.** Flexible goniometer computer system for the assessment of hip function. *Clin. Biomech.*, 4: 68-72. [https://doi.org/10.1016/0268-0033\(89\)90041-7](https://doi.org/10.1016/0268-0033(89)90041-7).
- Ruiz, A. R. J., Granja, F. S. 2017.** Comparing ubisense, bespoon, and decawave uwb location systems: Indoor performance analysis. *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, 66: 2106-2117. <https://doi.org/10.1109/TIM.2017.2681398>.
- Ruiz-Olaya, A. F., Callejas-Cuervo, M., Lara-Herrera, C. N. 2017.** Wearable low-cost inertial sensor-based electrogoniometer for measuring joint range of motion. *Dyna*, 84: 180. <https://doi.org/10.15446/dyna.v84n201.59054>.
- Shiratsu, A., Coury, H. J. C. G. 2003.** Reliability and accuracy of different sensors of a flexible electrogoniometer. *Clin. Biomech.*, 18: 682-684. [https://doi.org/10.1016/S0268-0033\(03\)00110-4](https://doi.org/10.1016/S0268-0033(03)00110-4).

- Shull, P. B., Jirattigalachote, W., Hunt, M. A., Cutkosky, M. R., Delp, S. L. 2014.** Quantified self and human movement: a review on the clinical impact of wearable sensing and feedback for gait analysis and intervention. *Gait Posture*, 40: 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2014.03.189>.
- Soni, P., Suchdeo, K. 2012.** Exploring the serial capabilities for 16x2 LCD interface. *Int. J. Emerg. Technol. Adv. Eng.*, 2: 109-112.
- Surer, E., Kose, A. 2011.** Methods and technologies for gait analysis. In: A.A. Salah, T. Gevers [eds.], *Computer Analysis of Human Behavior*, Springer, London, pp. 105-123.
- Takata, S., Yasui, N. 2001.** Disuse osteoporosis. *J. Med. Invest.*, 48: 147-156.
- van der Kruk, E., Reijne, M. M. 2018.** Accuracy of human motion capture systems for sport applications; state-of-the-art review. *Eur. J. Sport Sci.*, 18: 806-819. <https://doi.org/10.1080/17461391.2018.1463397>.
- Wang, P. T., King, C. E., Do, A. H., Nenadic, Z. 2011.** A durable, low-cost electrogoniometer for dynamic measurement of joint trajectories. *Med. Eng. Phys.*, 33: 546-552. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2010.12.008>.
- Yankai, A., Manosan, P. 2009.** Reliability of the Universal and Invented Gravity Goniometers in Measuring Active Cervical Range of Motion in Normal Healthy. *Int. J. Appl.*, 2: 49.



# The Five Dimensional Transformed Weyl–Yang–Kaluza–Klein Theory of Gravity

## Beş Boyutlu Dönüşürtülmüş Weyl–Yang–Kaluza–Klein Kütleçekim Teorisi

Halil Kuyrukcu\*

Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Science, Department of Physics, Zonguldak, Turkey

### Abstract

We study the case in which the five dimensional theory is the transformed Weyl–Yang–Kaluza–Klein gravity. The dimensionally reduced equations of motion are derived by considering an alternative form of the main equation of the theory in the coordinate basis. The conformal transformation rules are applied to the invariants. We also discuss the possible specific cases and the new Lorentz force density term, in detail.

**Keywords:** Weyl–Yang–Kaluza–Klein theory, Dimensional reduction, Conformal transformation, Field equations

### Öz

Beş boyutlu teorinin, dönüştürülmüş Weyl–Yang–Kaluza–Klein kütleçekim olduğu durum incelendi. Boyutsal olarak indirgenmiş hareket denklemleri, teorinin ana denklemiin alternatif formu düşünürlerek koordinat bazında türetildi. Değişmezler için konformal dönüşüm kuralları uygulandı. Ayrıca olası özel durumlar ve yeni Lorentz kuvvet yoğunluğu terimi ayrıntılı olarak tartışıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Weyl–Yang–Kaluza–Klein kuramı, Boyutsal indirgenme, Konformal dönüşüm, Alan denklemleri

### 1. Introduction

Quadratic curvature Lagrangians have been used by many researchers to generalize or expand Einstein's theory of general relativity for over a century (for early works, see, e.g., Weyl 1918, Weyl 1919, Pauli 1919, Weyl 1921, Eddington 1924). The simple alternative forms of the scalar curvature,  $R$ , could be the square version of the scalar curvature,  $R^2$ , the Ricci tensor,  $R_{\mu\nu}R^{\mu\nu}$ , or of the Riemann tensor,  $R_{\mu\nu\lambda\sigma}R^{\mu\nu\lambda\sigma}$ , and a linear combination of those, such as the well-known Gauss–Bonnet invariant (Lanczos 1938, Lanczos 1949, Lanczos 1957), as one step forward. Among them, mathematically, the most similar to the Yang–Mills gauge theory (Yang and Mills 1954) is the following matter-free gravitational action quadratic equation in  $R_{\mu\nu\lambda\sigma}$ :

$$I = \frac{1}{2\chi^2} \int_M d^4x \sqrt{-g} R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} \quad (1)$$

where  $\chi$  and  $g$  represent the coupling constant and the

determinant of  $g_{\mu\nu}$ , respectively, on a four-dimensional (4D) spacetime  $M$ . By accepting that an affine connection is a Levi–Civita connection, i.e., torsion is absent, and considering a Palatini variational method, i.e., the metric  $\{g\}$  and connection  $\{\Gamma\}$  are assumed to be independent variables (Palatini 1919, Misner et al. 1973), the connection variation  $\delta\{\Gamma\}$  of this curvature-squared action (1) provides the field equation without matter (Lichnerowicz 1958, Loos 1963, Loos and Treat 1967, Yang 1974)

$$D_\mu R^\mu_{\nu\lambda\sigma} = 0 \quad (2)$$

which is known as Yang's gauge gravity equations in the literature. The third-order equations (2) are more complicated than well-established Einstein's field equations; however, they include Einstein's vacuum solutions in a natural manner. From the relation

$$D_\mu R^\mu_{\nu\lambda\sigma} \equiv D_\lambda R_{\nu\sigma} - D_\sigma R_{\nu\lambda} = 0, \quad (3)$$

which is derived from the second Bianchi identity  $D_{[\rho} R_{\mu\nu]\lambda\sigma} = 0$ , where  $D$  refers to the typical covariant derivative, the obvious vacuum solutions,  $R_{\mu\nu} = 0$  and  $R_{\mu\nu} = \lambda g_{\mu\nu}$ , for any constant  $\lambda$ , satisfy the equivalent equation (3). Conversely, the Palatini variation of the action (1) with respect to the metric  $\{g\}$  without matter can be

\*Corresponding author: kuyrukcu@beun.edu.tr

Halil Kuyrukcu orcid.org/0000-0002-5585-9838



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

written as follows (Stephenson 1958, Fairchild 1976, Fairchild 1977):

$$R_{\mu\rho\lambda\sigma}R_v^{\rho\lambda\sigma} - \frac{1}{4}g_{\mu\nu}R_{\tau\rho\lambda\sigma}R^{\tau\rho\lambda\sigma} = 0. \quad (4)$$

The field equations (4) are initially considered to eliminate nonphysical solutions (Pavelle 1975, Pavelle 1976, Fairchild 1976) even though numerous physical ones exist in the literature (Pavelle 1974, Thompson 1975, Thompson 1975a, Ni 1975, Pavelle 1978, Başkal 1999, Kuyrukcu 2013, Kuyrukcu 2021) (for more historical notes, see, e.g., Dean 1999, Kuyrukcu 2021). Besides, Baekler and Yasskin (Baekler and Yasskin 1984) noted that the standard variation of (1) produces the equations, which is fourth order for a metric

$$R_{\mu\rho\lambda\sigma}R_v^{\rho\lambda\sigma} - \frac{1}{4}g_{\mu\nu}R_{\tau\rho\lambda\sigma}R^{\tau\rho\lambda\sigma} + 2D^\lambda D^\sigma R_{\sigma\mu\lambda\nu} = 0, \quad (5)$$

which is Eddington's equation (Eddington 1924). They also noted that “if a metric (or tetrad) satisfies the torsion-free vacuum equations (2) and (4), it also satisfies the vacuum Eddington equation (5), but not vice versa”. For the case in which torsion is zero, but the matter Lagrangian term exists and  $\kappa = 1$ , the field equations (2) and (4) become

$$D_\mu R^{\nu}_{\nu\lambda\sigma} = S_{\lambda\sigma\nu}, \quad (6)$$

$$R_{\mu\rho\lambda\sigma}R_v^{\rho\lambda\sigma} - \frac{1}{4}g_{\mu\nu}R_{\tau\rho\lambda\sigma}R^{\tau\rho\lambda\sigma} = T_{\mu\nu}, \quad (7)$$

where  $S_{\lambda\sigma\nu}$  represents the canonical spin tensor and  $T_{\mu\nu}$  represents the canonical energy-momentum tensor in the aspect of the quadratic Poincaré gauge theory of gravity (Baekler and Yasskin 1984). Camenzind and Fairchild also considered the equation (7) as an energy-momentum tensor of this alternative theory rather than the typical field equations (Camenzind 1975, Fairchild 1977). Kilmister et al. (1961) also introduced the current term  $S_{\lambda\sigma\nu}$ , which satisfies a covariant conservation property of the form  $D_\nu S^{\lambda\sigma\nu} = 0$ , but they could not clearly define what it was. Besides, the cyclic symmetry property of  $S_{\lambda\sigma\nu}$ , i.e.,  $S_{[\lambda\sigma\nu]} = 0$ , is proposed by Öktem (1985). Furthermore, by considering Einstein's field equations,  $G_{\mu\nu} = T_{\mu\nu}$ , along with the field equation (3), the source term can be written in the following forms

$$S_{\lambda\sigma\nu} = D_\lambda(T_{\nu\sigma} - \frac{1}{2}g_{\nu\sigma}T) - D_\sigma(T_{\nu\lambda} - \frac{1}{2}g_{\nu\lambda}T), \quad (8)$$

where  $T_{\nu\sigma}$  represents the covariantly conservative,  $D_\mu T^{\mu\nu} = 0$ , energy-momentum tensor, whose trace is  $T = T^\nu_\nu$ . This current density term  $S_{\lambda\sigma\nu}$  in (8) was first used for Yang–Mills field equations with the SO(3,1) gauge group by Camenzind (Camenzind 1975, Camenzind 1975a, Camenzind 1977, Camenzind 1978, Camenzind 1978a). The metric is a nondynamic variable, i.e., a priori in this

sense. Later, Cook used Camenzind's matter current term (8) by considering a formal analogy between Einstein's theory of relativity and classical electrodynamics, which means the connection  $\{\Gamma\}$  and Riemann tensor  $\{R\}$  correspond to the vector potential  $\{A\}$  and electromagnetic field tensor  $\{F\}$ , respectively, to solve vacuum energy, cosmological constant, and dark energy problems (Cook 2008, see also, e.g., Chen et al. 2013). However, even if the term (8) is suggested to solve the source-term problem of this simple gravity model, it cannot be obtained from an action principle, meaning that it is inconsistent.

The main motivation in this work is to extend and generalize our previous results (Başkal and Kuyrukcu 2013) to the Einstein frame in which the Ricci scalar has its canonical form by considering that the five-dimensional (5D) theory is the Weyl–Yang–Kaluza–Klein (WYKK) theory of gravity (for non-Abelian WYKK theory, see also Kuyrukcu 2014). Weyl was the first to consider using the  $R_{\mu\nu\lambda\sigma}R^{\mu\nu\lambda\sigma}$  invariant in the action to unify gravitation with electromagnetism by employing the principle of gauge invariance, the vacuum gravitational field equation (2) was proposed by Yang in an integral formalism for gauge fields without additional equations (4) and (5), and Kaluza and Klein (KK) assumed that gravitation and electromagnetism can be unified in the 5D spacetime (Kaluza 1921, Klein 1926, Mandel 1926, Klein 1926a). Then, we can prefer to call this higher-dimensional model the WYKK theory of modified gravity rather than just KK reduction of a quadratic gravity even though they are all different situations. Conversely, we can note that the field equations (2), (4), (6), (7), and (8) are also known as Stephenson–Kilmister–Yang–Camenzind equations in the literature. In this sense, we take advantage of the horizontal lift basis that is given by Misner et al. (1973) for faster calculations rather than the differential forms available in the literature (Pope, Perry 2009). Moreover, the dimensionally reduced vielbein components of the curvature tensor, which are important for the considered model, are explicitly presented in the opened-notation form rather than the compact-notation form. The possible special cases are also investigated and discussed, along with the new Lorentz force density term, in detail. Before we attempt to obtain the reduced conformal equations, we wish to revisit our previous work (Başkal and Kuyrukcu 2013) to explain how we can use an alternative equation (3) to derive the field equations for the reader's convenience.

The layout of this paper is as follows: In Section 2, we present a brief review of the 5D WYKK theory of gravity and

derive new accurate field equations, in particular. In Section 3, the transformed equations of motion are found for the generalized KK metric ansatz. Section 4 is concerned with obtaining the reduced form of the Kretschmann invariant,  $R_{\mu\nu\lambda\sigma}R^{\mu\nu\lambda\sigma}$ , (Kretschmann 1915) both by applying a circle reduction mechanism and performing the conformal scale transformations in the so-called Einstein frame. Section 5 is devoted to investigating special cases of the reduced equations. In Section 6, we finally present our findings and future work.

## 2. Revisit of the Reduced Equations of the WYKK Theory

As usual, the 5D standard KK action,  $\hat{I}$ , is given by

$$\hat{I} = \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{\mathcal{M}}} d^4x dy \sqrt{-\hat{g}} \hat{R}, \quad (9)$$

on the 5D manifold  $\hat{\mathcal{M}}$  with compactification of the type  $\hat{\mathcal{M}} = \mathcal{M} \times S^1$ , where  $\mathcal{M}$  is the usual 4D spacetime as used previously, and  $S^1$  has the geometry of a small circle. Conversely,  $\hat{R}$ ,  $\hat{\chi}$ , and  $\hat{g}$  refer to the ordinary 5D Ricci curvature; the coupling constant, which is related to the 4D coupling constant,  $\chi$  and the radius of the fifth dimension,  $r$ , as  $\hat{\chi}^2 = \chi^2 \int dy = 2\pi r \chi^2$ ; and the determinant of  $\hat{g}_{MN}$ , i.e.,  $\hat{g} = \det(\hat{g}_{MN})$ , respectively. Here the classical metric ansatz of the theory, which is independent of the fifth dimension, becomes

$$\hat{g}_{MN}(x, y) = \begin{pmatrix} g_{\mu\nu}(x) + \varphi^2(x) A_\mu(x) A_\nu(x) & \varphi^2(x) A_\mu(x) \\ \varphi^2(x) A_\nu(x) & \varphi^2(x) \end{pmatrix}, \quad (10)$$

and hence  $\sqrt{-\hat{g}} = \varphi \sqrt{-\det(g_{\mu\nu})} = \varphi \sqrt{-g}$ . Moreover,  $\varphi(x)$  is the dilaton field,  $A_\mu(x)$  is the gauge potential, and  $g_{\mu\nu}(x)$  is the 4D metric tensor in the usual manner. Kaluza also assumed that the derivatives of all the fields with respect to the new fifth coordinate,  $y$ , vanish (Kaluza 1921). In what follows, the hatted/unhatted fields are 5D/4D. We can also introduce 5D coordinates as  $\hat{x}^A = (x^\mu, x^5)$  or, in short,  $\hat{x} = (x, y)$ , where the capital curved Latin indices are  $A, B, \dots = 0, 1, 2, 3, 5$ , and the Greek curved indices are  $\mu, \nu, \dots = 0, 1, 2, 3$ .

For shortcut calculations, we can consider the Maurer–Cartan exterior forms rather than the coordinate basis as a type of strategy. In this fashion, the 5D line element,  $\hat{G}(x, y) = \hat{g}_{MN} dx^M dx^N$ , takes the form

$$\hat{G}(x, y) = \hat{\eta}_{\hat{A}\hat{B}} \hat{E}^{\hat{A}} \otimes \hat{E}^{\hat{B}}, \quad (11)$$

where the coframes one-form become

$$\begin{aligned} \hat{E}^{\hat{\mu}}(x, y) &= E^\mu(x), \\ \hat{E}^{\hat{5}}(x, y) &= \varphi(x) [A(x) + dy], \end{aligned} \quad (12)$$

and the 5D Minkowski or orthonormal metric is  $\hat{\eta}_{\hat{A}\hat{B}} = \text{diag}(\eta_{\hat{\mu}\hat{\nu}}, +1)$ . Hence, we can write the 4D line element as  $G(x) = \eta_{\hat{\mu}\hat{\nu}} E^{\hat{\mu}}(x) \otimes E^{\hat{\nu}}(x)$  with  $\eta_{\hat{\mu}\hat{\nu}} = \text{diag}(-1, +1, +1, +1)$ , and the gauge fields as  $A(x) = A_\mu(x) E^\mu(x)$ , where all hatted indices refer to the orthonormal basis, i.e., the flat indices. We can now obtain the dimensionally reduced components of the spin connection one-form,  $\hat{\Gamma}_{\hat{A}\hat{B}}$ , and the curvature two-form  $\hat{\mathcal{R}}^{\hat{A}}_{\hat{B}}$  by considering Maurer–Cartan structure equations (see, e.g., Dereli and Üçoluk 1990, Kuyrukcu 2013). However, we prefer to transform the desired components in opened-notation form rather than the compact-notation form to better understand the structure of these equations as follows:

$$\begin{aligned} \hat{\Gamma}_{\hat{\nu}\hat{\lambda}}^{\hat{\mu}} &= \Gamma_{\hat{\nu}\hat{\lambda}}^{\hat{\mu}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\nu}}^{\hat{5}} &= \frac{1}{2} \varphi F_{\hat{\mu}\hat{\nu}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\nu}\hat{\delta}\hat{\nu}}^{\hat{\mu}} &= \hat{\Gamma}_{\hat{\nu}\hat{\delta}\hat{\nu}}^{\hat{\mu}} = -\frac{1}{2} \varphi F_{\hat{\nu}\hat{\delta}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\delta}\hat{\delta}}^{\hat{\mu}} &= -\varphi^{-1} \varphi^{\hat{\mu}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\delta}}^{\hat{5}} &= \varphi^{-1} \varphi_{\hat{\mu}}, \end{aligned} \quad (13)$$

and

$$\begin{aligned} \hat{R}_{\hat{\nu}\hat{\lambda}\hat{\sigma}}^{\hat{\mu}} &= R_{\hat{\nu}\hat{\lambda}\hat{\sigma}}^{\hat{\mu}} - \frac{1}{4} \varphi^2 (2F_{\hat{\nu}\hat{\lambda}}^{\hat{\mu}} F_{\hat{\lambda}\hat{\sigma}} + F_{\hat{\nu}\hat{\lambda}}^{\hat{\mu}} F_{\hat{\nu}\hat{\sigma}} - F_{\hat{\nu}\hat{\sigma}}^{\hat{\mu}} F_{\hat{\nu}\hat{\lambda}}), \\ \hat{R}_{\hat{\delta}\hat{\lambda}\hat{\sigma}}^{\hat{\mu}} &= -\frac{1}{2} \varphi D^{\hat{\mu}} F_{\hat{\lambda}\hat{\sigma}} - \frac{1}{2} (2\varphi^{\hat{\mu}} F_{\hat{\lambda}\hat{\sigma}} + \varphi_{\hat{\lambda}} F_{\hat{\delta}\hat{\sigma}} - \varphi_{\hat{\sigma}} F_{\hat{\delta}\hat{\lambda}}), \\ \hat{R}_{\hat{\delta}\hat{\lambda}\hat{\delta}}^{\hat{\mu}} &= -\varphi^{-1} D_{\hat{\lambda}} \varphi^{\hat{\mu}} - \frac{1}{4} \varphi^2 F^{\hat{\mu}\hat{\rho}} F_{\hat{\rho}\hat{\lambda}}. \end{aligned} \quad (14)$$

Note that  $\hat{R}_{\hat{\sigma}\hat{\delta}\hat{\mu}}^{\hat{\lambda}} = -\hat{R}_{\hat{\delta}\hat{\lambda}\hat{\sigma}}^{\hat{\mu}}$ , and  $D_{\hat{\mu}} \varphi_{\hat{\nu}} = D_{\hat{\nu}} \varphi_{\hat{\mu}}$  as well as  $D_{\hat{\mu}}$ ,  $F_{\hat{\mu}\hat{\nu}}$ , and  $\varphi_{\hat{\mu}}$  refer to the 4D covariant derivative, the electromagnetic field tensor i.e.,  $F_{\hat{\mu}\hat{\nu}} = \partial_{\hat{\mu}} A_{\hat{\nu}} - \partial_{\hat{\nu}} A_{\hat{\mu}}$ , and  $\varphi_{\hat{\mu}} = D_{\hat{\mu}} \varphi = \partial_{\hat{\mu}} \varphi$ . The same results, (13) and (14), have already been discussed in the language of horizontal lift basis (see, e.g., Başkal and Kuyrukcu 2013, as well as Lee 1983 for metric signature (+, -, -, -, -) and  $\varphi(x) = 1$ ). Conversely, for later convenience, we set

$$\hat{R}_{\hat{\mu}\hat{\nu}} \equiv \overline{\mathcal{P}}_{\hat{\mu}\hat{\nu}}, \quad \hat{R}_{\hat{\delta}\hat{\nu}} \equiv \overline{\mathcal{Q}}_{\hat{\nu}}, \quad \hat{R}_{\hat{\delta}\hat{\delta}} \equiv \overline{\mathcal{U}}, \quad (15)$$

and in terms of vielbeins, which are the orthonormal basis vectors, the 5D metric takes the form  $\hat{g}_{MN} = \hat{h}^{\hat{A}}_M \hat{h}^{\hat{B}}_N \hat{\eta}_{\hat{A}\hat{B}}$ , where the vielbeins and the inverse vielbeins are

$$\begin{aligned} \hat{h}^{\hat{A}}_M &= \begin{pmatrix} \hat{h}^{\hat{\mu}}_v & \hat{h}^{\hat{\mu}}_5 \\ \hat{h}^{\hat{5}}_v & \hat{h}^{\hat{5}}_5 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} h^{\hat{\mu}}_v & 0 \\ \varphi A_v & \varphi \end{pmatrix}, \\ \hat{h}^M_{\hat{A}} &= \begin{pmatrix} \hat{h}^v_{\hat{\mu}} & \hat{h}^v_{\hat{5}} \\ \hat{h}^5_{\hat{\mu}} & \hat{h}^5_{\hat{5}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} h^v_{\hat{\mu}} & 0 \\ -A_{\hat{\mu}} & \varphi^{-1} \end{pmatrix}, \end{aligned} \quad (16)$$



The reduced field equations, which can be written by considering the  $\{\mathcal{P}_{\mu\nu}, \mathcal{Q}_v, \mathcal{U}\}$  set, have already been given in our previous work (Başkal and Kuyrukcu 2013). However, the expressions (30) – (32) containing the  $\{\overline{\mathcal{P}}_{\mu\nu}, \overline{\mathcal{Q}}_v, \overline{\mathcal{U}}\}$  set clearly seem to be more accurate than those containing the  $\{\mathcal{P}_{\mu\nu}, \mathcal{Q}_v, \mathcal{U}\}$  set, and we now have the three equations corresponding to the three variables. Another way of obtaining the field equations is the 5D WYKK action, which is given by

$$\hat{I} = \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{\mathcal{M}}} d^4x dy \sqrt{-\hat{g}} \hat{R}_{ABCD} \hat{R}^{ABCD}. \quad (34)$$

By substituting the dimensionally reduced form of the Kretschmann invariant,  $\hat{\mathcal{K}} = \hat{R}_{ABCD} \hat{R}^{ABCD}$ , which is found to be in Başkal and Kuyrukcu (2013), into action (34) and dropping the total derivative terms that can come out with the help of Leibniz rule from the action gives

$$\begin{aligned} I = & \frac{1}{2\chi^2} \int_{\mathcal{M}} d^4x \sqrt{-g} \varphi [R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} - \frac{3}{2} \varphi^2 R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma} \\ & + \frac{3}{8} \varphi^4 F_{\mu\nu} F_{\lambda\sigma} F^{\lambda\sigma} + \frac{5}{8} \varphi^4 F_{\mu\nu} F^{\nu\lambda} F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} + 6(\varphi_\lambda \varphi^\lambda F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} \\ & - \varphi_\mu \varphi^\lambda F_{\lambda\nu} F^{\nu\mu}) + 4\varphi(\varphi^\lambda F^{\mu\nu} + \varphi^\mu F^{\lambda\nu}) D_\lambda F_{\mu\nu} \\ & - \varphi^2 F^{\mu\nu} D_\lambda D^\lambda F_{\mu\nu} - 2\varphi F^{\mu\lambda} F^{\nu\lambda} D_\mu \varphi_\nu - 4\varphi^{-2} \varphi^\nu D^\mu D_\mu \varphi_\nu]. \end{aligned} \quad (35)$$

Finally, the independent variation of action,  $I[\mathbf{g}, \Gamma, F, \varphi_\mu]$ , (35) with respect to the four variables gives the four field equations. The Palatini variation of the above action with respect to the metric  $\{\mathbf{g}\}$  should directly produce the dimensionally reduced equations of (4). However, we cannot directly obtain equations (30) – (32) from the variational principle, as expected. For instance, the connection variation  $\delta\{\Gamma\}$  leads to an equation that can transform into (30) by using various identities (which are given by Başkal and Kuyrukcu 2013). Additionally, to obtain expressions that can be written in forms of (31) and (32), we should vary the action with respect to the field tensor  $\{F\}$  and the partial derivative of the boson fields  $\{\varphi_\mu\}$  rather than the usual variables  $\{A\}$  and  $\{\varphi\}$ , respectively; otherwise we cannot obtain the proper equations (Çelik 2021).

### 3. The Reduced Field Equations from the Transformed WYKK theory

To obtain the field equations that are not only dimensionally reduced but also transformed from the conformal rescaling procedure, it is useful to first write the D-dimensional Weyl-rescaled Ricci scalar,  $\tilde{R}$  (Hawking and Ellis 1999, Dabrowski et al. 2009), as

$$\tilde{R} = \xi^{-2} [R - 2(D-1)\xi^{-1}D_\mu\xi^\mu - (D-1)(D-4)\xi^{-2}\xi_\mu\xi^\mu], \quad (36)$$

where the tilde quantities denote fields in the Einstein frame, as usual, under the Weyl rescaling of the metric with a conformal factor,  $\xi(x)$ , as follows:

$$\tilde{g}_{\mu\nu}(x) = \xi^2(x) g_{\mu\nu}(x). \quad (37)$$

After that, for  $D=5$ , the KK action (9) changes

$$\tilde{I} = \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{\mathcal{M}}} d^4x dy \sqrt{-\tilde{g}} \tilde{R}, \quad (38)$$

$$= \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{\mathcal{M}}} d^4x dy \sqrt{-g} \xi^5 \varphi \xi^{-2} [\hat{R} - 8\xi^{-1} \hat{D}_A \xi^A - 4\xi^{-2} \xi_A \xi^A], \quad (39)$$

by using  $\sqrt{-\tilde{g}} = \xi^D \sqrt{-g}$ . Hence, to obtain the correct coefficient of  $\hat{R}$ , meaning that  $\xi^5 \varphi \xi^{-2} = 1$ , we must choose  $\xi = \varphi^{-1/3}$ . Therefore, the conformal transformation of the metric (10) becomes

$$\tilde{g}_{MN} = \begin{pmatrix} \varphi^{-2/3} g_{\mu\nu} + \varphi^{4/3} A_\mu A_\nu & \varphi^{4/3} A_\mu \\ \varphi^{4/3} A_\nu & \varphi^{4/3} \end{pmatrix}. \quad (40)$$

Inspired by equation (40), one can write a generalized KK metric ansatz, which is the special case of the DeWitt ansatz (Cvetic et al. 2003), in terms of the actual 4D fields as follows:

$$\hat{g}_{MN} = \begin{pmatrix} e^{2\alpha\psi} g_{\mu\nu} + e^{2\beta\psi} A_\mu A_\nu & e^{2\beta\psi} A_\mu \\ e^{2\beta\psi} A_\nu & e^{2\beta\psi} \end{pmatrix}, \quad (41)$$

where the  $\psi = \psi(x)$  is a new scalar field, and  $\alpha$  and  $\beta$  are arbitrary constants, which will be determined later. The obvious choice of the vielbein basis is inspired by coframes (12) as (see, e.g., Pope, Perry 2009).

$$\begin{aligned} \hat{E}^\mu(x, y) &= e^{\alpha\psi(x)} E^\mu(x), \\ \hat{E}^5(x, y) &= e^{\beta\psi(x)} [A(x) + dy]. \end{aligned} \quad (42)$$

By using the relation between dual fields,

$\hat{E}^{\hat{B}}(\hat{X}_A) = \hat{\iota}_{\hat{X}_A} \hat{E}^{\hat{B}} = \hat{\delta}_{\hat{A}}^{\hat{B}}$ , the basis vectors are explicitly found to be

$$\begin{aligned} \hat{\iota}_{\hat{X}_\mu}(x, y) &= e^{-\alpha\psi(x)} [\iota_{X_\mu} - A_\mu(x) \iota_{X_y}], \\ \hat{\iota}_{\hat{X}_5}(x, y) &= e^{-\beta\psi(x)} \iota_{X_5}, \end{aligned} \quad (43)$$

where the  $\iota_{X_\mu} E^\hat{\mu} = \delta_\mu^{\hat{\mu}}$  is also satisfied in four dimensions. We can employ the horizontal lift basis formalism, which is the easiest way to obtain not only field equations but also invariants. For this purpose, the 5D connection coefficients can be written as follows (Misner et al. 1973):

$$\hat{\Gamma}_{ABC} = \frac{1}{2} [\hat{\iota}_{\hat{X}_C} \hat{g}_{AB} + \hat{\iota}_{\hat{X}_B} \hat{g}_{AC} - \hat{\iota}_{\hat{X}_A} \hat{g}_{BC} + \hat{f}_{ABC} + \hat{f}_{ACB} + \hat{f}_{CBA}]. \quad (44)$$



In this regard, we have the solution set:  $\tilde{S}_{WYKK} = \{\tilde{P}_{\nu\lambda\sigma} = 0, \tilde{S}_{\lambda\sigma} = 0, \tilde{Q}_{\nu\lambda} = 0, \tilde{U}_\lambda = 0\}$ . Again, it is easy to see that  $\tilde{S}_{\lambda\sigma} = \tilde{Q}_{\sigma\lambda} - \tilde{Q}_{\lambda\sigma}$ , so that we can ignore equation (57) without loss of generality. Hence, the final forms of the reduced field equations of the transformed WYKK theory become

$$\begin{aligned} & D_\lambda \tilde{P}_{\nu\sigma} - D_\sigma \tilde{P}_{\nu\lambda} + \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} (F_{\nu\sigma} \tilde{Q}_\lambda - F_{\nu\lambda} \tilde{Q}_\sigma + 2F_{\lambda\sigma} \tilde{Q}_\nu) \\ & + \alpha [\psi^\rho (g_{\nu\lambda} \tilde{P}_{\rho\sigma} - g_{\nu\sigma} \tilde{P}_{\rho\lambda}) + \psi_\lambda \tilde{P}_{\nu\sigma} - \psi_\sigma \tilde{P}_{\nu\lambda}] = 0, \\ & D_\lambda \tilde{Q}_\nu + \alpha g_{\nu\lambda} \psi^\rho \tilde{Q}_\rho + (\beta - \alpha) \psi_\nu \tilde{Q}_\lambda + \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} F_\nu^\rho \tilde{P}_{\rho\lambda} \\ & - \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} F_{\nu\lambda} \tilde{U} = 0, \\ & D_\lambda \tilde{U} + \beta \psi_\lambda \tilde{U} - \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} F_\lambda^\rho \tilde{Q}_\rho - \beta \psi^\rho \tilde{P}_{\rho\lambda} = 0. \end{aligned} \quad (60)$$

As expected, the corresponding equations of motion are more complicated than those given in (30) – (32).

#### 4. The Reduced Actions from the Transformed WYKK Theory

By considering a popular dimensional reduction method, the quadratic curvature term can be expanded as

$$\hat{K} = \hat{R}_{ABCD} \hat{R}^{ABCD} = \hat{R}_{\mu\nu\lambda\sigma} \hat{R}^{\mu\nu\lambda\sigma} + 4\hat{R}_{\mu\nu\lambda\sigma} \hat{R}^{\mu\sigma\lambda\nu} + 4\hat{R}_{\mu\nu\lambda\sigma} \hat{R}^{\mu\nu\lambda\sigma}. \quad (61)$$

As is well-known, the invariant does not depend on the choice of basis. Thus, by using directly (48) – (50) and the relation  $2R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\lambda} F^{\nu\sigma} = R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma}$  and after long but careful manipulations and reorganization of the terms, we have the following reduced expression:

$$\begin{aligned} \hat{K} = & e^{-4\alpha\psi} [R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} - \frac{3}{2} e^{2(\beta-\alpha)\psi} R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma} \\ & + \frac{3}{8} e^{4(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} F_{\lambda\sigma} F^{\lambda\sigma} + \frac{5}{8} e^{4(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\nu\lambda} F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} \\ & + (9\alpha^2 - 14\alpha\beta + 6\beta^2) e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi_\lambda \psi^\lambda F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} \\ & + 2(3\alpha^2 - 2\alpha\beta - 2\beta^2) e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi_\mu \psi^\lambda F_{\lambda\nu} F^{\nu\mu} \\ & + 4(\beta - \alpha) e^{2(\beta-\alpha)\psi} (\psi^\lambda F^{\mu\nu} + \psi^\mu F^{\lambda\nu}) D_\lambda F_{\mu\nu} \\ & + e^{2(\beta-\alpha)\psi} D_\lambda F_{\mu\nu} D^\lambda F^{\mu\nu} + 2(3\alpha - \beta) e^{2(\beta-\alpha)\psi} F^{\mu\lambda} F^{\nu\lambda} D_\mu \psi_\nu \\ & + 4(2\alpha^2 + \beta^2) D_\mu \psi_\nu D^\mu \psi^\nu \\ & + 4\alpha e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi^\mu F_{\mu\nu} D_\lambda F^{\lambda\nu} + 8\alpha (\alpha \psi_\mu \psi_\nu - D_\mu \psi_\nu) R^{\mu\nu} \\ & - 4\alpha^2 \psi_\mu \psi^\nu R + 4\alpha^2 D_\mu \psi^\nu D_\nu \psi^\mu \\ & + 8\alpha (2\alpha^2 + \beta^2) \psi_\mu \psi^\nu D_\nu \psi^\mu - 8(2\alpha^3 + 2\alpha\beta^2 - \beta^3) \psi^\mu \psi^\nu D_\mu \psi_\nu \\ & + 4(3\alpha^4 + 4\alpha^2 \beta^2 - 2\alpha\beta^3 + \beta^4) \psi_\mu \psi^\mu \psi_\nu \psi^\nu], \end{aligned} \quad (62)$$

where the 4D Ricci tensor and Ricci scalar appear in the above conformal equation. Furthermore, the comparison between the invariants (35) and (62) causes us to introduce new interaction terms such as  $\psi^2 R$ ,  $\psi^2 D\psi$ , and  $\psi^4$ .

Another way of obtaining the reduced Kretschmann scalar (62) is directly using the conformal transformation rule of the squaring curvature  $\tilde{R}_{\mu\nu\lambda\sigma} \tilde{R}^{\mu\nu\lambda\sigma}$ , which is expressed as (see, e.g., Carneiro et al. 2004, Bao et al. 2008)

$$\begin{aligned} \tilde{R}_{\mu\nu\lambda\sigma} \tilde{R}^{\mu\nu\lambda\sigma} = & e^{-4\xi} \{R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} + 8(\xi_\mu \xi_\nu - D_\mu \xi_\nu) R^{\mu\nu} \\ & + 4[D_\mu \xi^\mu D_\nu \xi^\nu + (D-2) D_\mu \xi_\nu D^\mu \xi^\nu] \\ & - 4\xi_\mu \xi^\mu R + 8(D-2)[\xi_\mu \xi^\mu D_\nu \xi^\nu - \xi^\mu \xi^\nu D_\mu \xi_\nu] \\ & + 2(D-1)(D-2) \xi_\mu \xi^\mu \xi_\nu \xi^\nu\}, \end{aligned} \quad (63)$$

if the metric changes as

$$\tilde{g}_{\mu\nu}(x) = e^{2\xi(x)} g_{\mu\nu}(x). \quad (64)$$

Conversely, the 5D metric (41) can be rewritten in terms of 4D fields as follows:

$$\tilde{g}_{MN} = e^{2\alpha\psi} \begin{pmatrix} g_{\mu\nu} + e^{2(\beta-\alpha)\psi} A_\mu A_\nu & e^{2(\beta-\alpha)\psi} A_\mu \\ e^{2(\beta-\alpha)\psi} A_\nu & e^{2(\beta-\alpha)\psi} \end{pmatrix}, \quad (65)$$

which means that the new conformal factor is equal to  $\xi(x) = \alpha\psi(x)$ . Hence, equation (63) changes the following result for  $D = 5$

$$\begin{aligned} \tilde{R}_{ABCD} \tilde{R}^{ABCD} = & e^{-4\alpha\psi} \{\hat{R}_{ABCD} \hat{R}^{ABCD} + 8\alpha(\alpha \hat{\psi}_A \hat{\psi}_B - \hat{D}_A \hat{\psi}_B) \hat{R}^{AB} \\ & - 4\alpha^2 \hat{\psi}_A \hat{\psi}^A \hat{R} + 4\alpha^2 [\hat{D}_A \hat{\psi}^A \hat{D}_B \hat{\psi}^B + 3\hat{D}_A \hat{\psi}_B \hat{D}^A \hat{\psi}^B] \\ & + 24\alpha^3 [\hat{\psi}_A \hat{\psi}^A \hat{D}_B \hat{\psi}^B - \hat{\psi}^A \hat{\psi}^B \hat{D}_A \hat{\psi}_B] + 24\alpha^4 \hat{\psi}_A \hat{\psi}^A \hat{\psi}_B \hat{\psi}^B\}. \end{aligned} \quad (66)$$

Moreover, a comparison between metrics (10) and (65) leads us to obtain a new potential term,  $e^{(\beta-\alpha)\psi(x)}$ . As a result, terms  $\hat{R}_{ABCD} \hat{R}^{ABCD}$  in (35), the anholonomic components of  $\hat{R}^{\hat{A}\hat{B}}$ , and  $\hat{R}$ , which comes from equation (14), rescale under the redefined scalar field,  $\varphi(x) = e^{(\beta-\alpha)\psi(x)}$ , transformation. For example, the curvature invariant changes accordingly in the following form:

$$\hat{R} = R - 2(\beta - \alpha)^2 \psi_\mu \psi^\mu - \frac{1}{4} e^{2(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} - 2(\beta - \alpha) D_\mu \psi^\mu. \quad (67)$$

We should also calculate the following necessary relations of the function  $\psi(x)$  as

$$\begin{aligned} \hat{D}_\mu \psi_\nu &= D_\mu \psi_\nu, \\ \hat{D}_\mu \psi_5 &= \hat{D}_5 \psi_\mu = \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} \psi_\lambda F^{\lambda\mu}, \\ \hat{D}_5 \psi_5 &= (\beta - \alpha) \psi_\lambda \psi^\lambda, \end{aligned} \quad (68)$$

and it is clear that  $\psi_5 = \psi^5 = 0$ , by considering the new versions of the connections (13), which are obtained the same way

$$\begin{aligned}\hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\lambda}}^\hat{\mu} &= \Gamma_{\hat{\mu}\hat{\lambda}}^\mu, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\mu}\hat{\beta}}^\hat{\beta} &= \frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} F_{\hat{\mu}\hat{\beta}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\lambda}\hat{\beta}}^\hat{\lambda} &= \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\beta}}^\hat{\lambda} = -\frac{1}{2} e^{(\beta-\alpha)\psi} F^{\hat{\mu}\hat{\beta}}, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\lambda}\hat{\lambda}}^\mu &= -(\beta-\alpha)\psi^\mu, \\ \hat{\Gamma}_{\hat{\mu}\hat{\beta}}^\lambda &= (\beta-\alpha)\psi_\mu.\end{aligned}\quad (69)$$

As a mathematical challenge, if we substitute all results into equation (66), after careful calculations, we exactly obtain equation (62). Conversely, in the lower dimension, the modified KK action (38) is transformed into

$$\begin{aligned}\tilde{I} &= \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{M}} d^4x dy \sqrt{-g} e^{(4\alpha+\beta)\psi} e^{-2\alpha\psi} \\ &\times [R - 2(3\alpha^2 + 2\alpha\beta + \beta^2) \psi_\mu \psi^\mu - \frac{1}{4} e^{2(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} \\ &- 2(3\alpha + \beta) D_\mu \psi^\mu],\end{aligned}\quad (70)$$

where we use  $\hat{R}$  that is obtained by (48)–(50), and  $\sqrt{-\hat{g}} = e^{\xi D} \varphi \sqrt{-g} = e^{(4\alpha+\beta)\psi} \sqrt{-g}$  for  $D=5$ . We can find exactly the same result by considering the rescaled curvature scalar in Einstein frame, which is once again given by Carneiro et al. (2004) and Bao et al. (2008)

$$\tilde{R} = e^{-2\xi} [R - (D-1)(D-2) \xi_\mu \xi^\mu - 2(D-1) D_\mu \xi^\mu], \quad (71)$$

together with the equations (67) and (68). This is the easy way, if one wants to obtain field equations from implementing the least action principle to the action after computing the Ricci scalar by only considering (71).

## 5. The Special Cases

It is easy to read off from the action (70) that to rid of the coefficient of the Einstein–Hilbert term, i.e., to obtain minimally coupled gravity, we must choose  $\beta = -2\alpha$ . Besides, the term  $\psi_\mu \psi^\mu$  can be a canonical normalized term if  $\alpha^2 = 1/12$ , i.e.,  $(\alpha, \beta) = (\pm 1/2\sqrt{3}, \mp 1/\sqrt{3})$ . Note that,  $(\alpha, \beta) = (-1/3, 2/3)$  in (40) also satisfies the condition  $\beta = -2\alpha$ , and see Gibbons and Wiltshire (1986) for  $(\alpha, \beta) = (-1/\sqrt{3}, 2/\sqrt{3})$ . Conversely, for a  $D=N+1$  dimensional spacetime, the proper values of the constants become  $\alpha^2 = 1/[2(N-1)(N-2)]$  and  $\beta = -(N-2)\alpha$  in Pope, meaning that  $(\alpha, \beta) = (\pm 1/2\sqrt{3}, \mp 1/\sqrt{3})$  is obviously correct for  $N=4$ . The  $\hat{R}$  term in (70) is also compatible with the result of Pope for  $N=4$ , except for the coefficient of the term  $D_\mu \psi^\mu$ , which is a total divergence and does not contribute to the field equations, as usual. However,

we can say that it seems that there is a typographical error in Pope because the same coefficient, i.e.,  $-2(3\alpha + \beta)$ , was also obtained in Perry (2009). Finally, if we consider the modified WYKK action from (62), then we have

$$\begin{aligned}\tilde{I} &= \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{M}} d^4x dy \sqrt{-g} e^{(4\alpha+\beta)\psi} e^{-4\alpha\psi} [R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} \\ &- \frac{3}{2} e^{2(\beta-\alpha)\psi} R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma} + \frac{3}{8} e^{4(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} F_{\lambda\sigma} F^{\lambda\sigma} \\ &+ \frac{5}{8} e^{4(\beta-\alpha)\psi} F_{\mu\nu} F^{\nu\lambda} F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} \\ &+ (9\alpha^2 - 14\alpha\beta + 6\beta^2) e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi_\lambda \psi^\lambda F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} \\ &+ 2(3\alpha^2 - 2\alpha\beta - 2\beta^2) e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi_\mu \psi^\lambda F_{\lambda\nu} F^{\nu\mu} \\ &+ 4(\beta - \alpha) e^{2(\beta-\alpha)\psi} (\psi^\lambda F^{\mu\nu} + \psi^\mu F^{\lambda\nu}) D_\lambda F_{\mu\nu} \\ &+ e^{2(\beta-\alpha)\psi} D_\lambda F_{\mu\nu} D^\lambda F^{\mu\nu} + 2(3\alpha - \beta) e^{2(\beta-\alpha)\psi} F^{\mu\lambda} F^{\nu\lambda} D_\mu \psi_\nu \\ &+ 4(2\alpha^2 + \beta^2) D_\mu \psi_\nu D^\mu \psi^\nu + 4\alpha e^{2(\beta-\alpha)\psi} \psi^\mu F_{\mu\nu} D_\lambda F^{\lambda\nu} \\ &+ 8\alpha(\alpha \psi_\mu \psi^\nu - D_\mu \psi_\nu) R^{\mu\nu} - 4\alpha^2 \psi_\mu \psi^\mu R \\ &+ 4\alpha^2 D_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu + 8\alpha(2\alpha^2 + \beta^2) \psi_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu \\ &- 8(2\alpha^3 + 2\alpha\beta^2 - \beta^3) \psi^\mu \psi^\nu D_\mu \psi_\nu \\ &+ 4(3\alpha^4 + 4\alpha^2 \beta^2 - 2\alpha\beta^3 + \beta^4) \psi_\mu \psi^\mu \psi_\nu \psi^\nu].\end{aligned}\quad (72)$$

Now, we have to set  $\beta = 0$  to obtain a standard form of  $R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma}$ . Hence, the two special cases are investigated to find the new reduced equations in the following subsections:

### 5.1 The $\beta = -2\alpha$ case

For  $\beta = -2\alpha$  case, the field equations (60) are simplified as follows:

$$\begin{aligned}D_\lambda \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\sigma} - D_\sigma \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\lambda} + \frac{1}{2} e^{-3\alpha\psi} (F_{\nu\sigma} \tilde{\mathcal{Q}}_\lambda - F_{\nu\lambda} \tilde{\mathcal{Q}}_\sigma + 2F_{\lambda\sigma} \tilde{\mathcal{Q}}_\nu) \\ + \alpha [\psi^\rho (g_{\nu\lambda} \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\sigma} - g_{\nu\sigma} \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\lambda}) + \psi_\lambda \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\sigma} - \psi_\sigma \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\lambda}] = 0, \\ D_\lambda \tilde{\mathcal{Q}}_\nu + \alpha g_{\nu\lambda} \psi^\rho \tilde{\mathcal{Q}}_\rho - 3\alpha \psi_\nu \tilde{\mathcal{Q}}_\lambda - 2\alpha \psi_\lambda \tilde{\mathcal{Q}}_\nu \\ + \frac{1}{2} e^{-3\alpha\psi} F_\nu^\rho \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\lambda} - \frac{1}{2} e^{-3\alpha\psi} F_{\nu\lambda} \tilde{\mathcal{U}} = 0, \\ D_\lambda \tilde{\mathcal{U}} - 2\alpha \psi_\lambda \tilde{\mathcal{U}} - \frac{1}{2} e^{-3\alpha\psi} F_\lambda^\rho \tilde{\mathcal{Q}}_\rho + 2\alpha \psi^\rho \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\lambda} = 0.\end{aligned}\quad (73)$$

Here, the conformal KK equations  $\{\tilde{\mathcal{P}}_{\mu\nu}, \tilde{\mathcal{Q}}_\nu, \tilde{\mathcal{U}}\}$  become

$$\begin{aligned}\tilde{\mathcal{P}}_{\mu\nu} &= e^{-2\alpha\psi} R_{\mu\nu} - \frac{1}{2} e^{-8\alpha\psi} F_{\mu\rho} F^\rho_\nu - \alpha e^{-2\alpha\psi} g_{\mu\nu} D_\rho \psi^\rho \\ &- 6\alpha^2 e^{-2\alpha\psi} \psi_\mu \psi_\nu, \\ \tilde{\mathcal{Q}}_\nu &= -\frac{1}{2} e^{-5\alpha\psi} D_\rho F^\rho_\nu + 3\alpha e^{-5\alpha\psi} \psi_\rho F^\rho_\nu, \\ \tilde{\mathcal{U}} &= 2\alpha e^{-2\alpha\psi} D_\rho \psi^\rho + \frac{1}{4} e^{-8\alpha\psi} F_{\rho\tau} F^{\rho\tau},\end{aligned}\quad (74)$$

from the 4D point of view. There is full agreement between the above equations (74) and Pope for  $N=4$ . Conversely, for action (72) one finds that

$$\begin{aligned}
\tilde{I} = & \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_M d^4x dy \sqrt{-g} e^{-2\alpha\psi} [R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} - \frac{3}{2} e^{-6\alpha\psi} R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma} \\
& + \frac{3}{8} e^{-12\alpha\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} F_{\lambda\sigma} F^{\lambda\sigma} + \frac{5}{8} e^{-12\alpha\psi} F_{\mu\nu} F^{\nu\lambda} F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} \\
& + 61\alpha^2 e^{-6\alpha\psi} \psi_\lambda \psi^\lambda F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} - 2\alpha^2 e^{-6\alpha\psi} \psi_\mu \psi^\lambda F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} \\
& - 12\alpha e^{-6\alpha\psi} (\psi^\lambda F^{\mu\nu} + \psi^\mu F^{\lambda\nu}) D_\lambda F_{\mu\nu} + e^{-6\alpha\psi} D_\lambda F_{\mu\nu} D^\lambda F^{\mu\nu} \\
& + 10\alpha e^{-6\alpha\psi} F^{\mu\lambda} F^{\nu\lambda} D_\mu \psi_\nu + 24\alpha^2 D_\mu \psi_\nu D^\mu \psi^\nu \\
& + 4\alpha e^{-6\alpha\psi} \psi^\mu F_{\mu\nu} D_\lambda F^{\lambda\nu} + 8\alpha (\alpha \psi_\mu \psi_\nu - D_\mu \psi_\nu) R^{\mu\nu} \\
& - 4\alpha^2 \psi_\mu \psi^\mu R + 4\alpha^2 D_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu + 48\alpha^3 \psi_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu \\
& - 144\alpha^3 \psi^\mu \psi^\nu D_\mu \psi_\nu + 204\alpha^4 \psi_\mu \psi^\mu \psi_\nu \psi^\nu]. \tag{75}
\end{aligned}$$

Finally, we can say that the quadratic term  $R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma}$  does not have its canonical form in this case, as expected. However, to avoid this problem, we can set  $\psi(x) = 0$  which is not an acceptable condition in the KK theories, so that a nonphysical constraint,  $F_{\rho\sigma} F^{\rho\sigma} = 0$ , arises from the last equation of (74). In fact, this is the well-known inconsistency problem of the KK theories. Conversely, in the considered model,  $\tilde{Q}_\nu$  and  $\tilde{U}$  in (74) are not necessarily zero, and even if  $\psi(x) = 0$ , we do not have  $F_{\rho\sigma} F^{\rho\sigma} = 0$ , but the Lorentz force density term,  $f_\lambda = F_\lambda^\rho D_\tau F^{\tau\rho}$ , appears in the last equation of (73) as

$$f_\lambda = -D_\lambda (F_{\rho\sigma} F^{\rho\sigma}), \tag{76}$$

which can also be obtained from equations (18) and (32) if we recall that  $\varphi(x) = 1$  in Başkal and Kuyrukcu (2013).

## 5.2 The $\beta = 0$ case

Let us investigate the reduced equations by assuming that  $\beta = 0$ . This strong restriction actually breaks the high-dimensional structure of the metric (41). Nonetheless, this case still deserves attention from the viewpoint of the considered model, and  $\alpha$  is a free parameter. In this regard, we have from equation (60) that

$$\begin{aligned}
D_\lambda \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\sigma} - D_\sigma \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\lambda} + \frac{1}{2} e^{-\alpha\psi} (F_{\nu\sigma} \tilde{Q}_\lambda - F_{\nu\lambda} \tilde{Q}_\sigma + 2F_{\lambda\sigma} \tilde{Q}_\nu) \\
+ \alpha [\psi^\rho (g_{\nu\lambda} \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\sigma} - g_{\nu\sigma} \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\lambda}) + \psi_\lambda \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\sigma} - \psi_\sigma \tilde{\mathcal{P}}_{\nu\lambda}] = 0, \\
D_\lambda \tilde{Q}_\nu + \alpha g_{\nu\lambda} \psi^\rho \tilde{Q}_\rho - \alpha \psi_\nu \tilde{Q}_\lambda + \frac{1}{2} e^{-\alpha\psi} F_\nu^\rho \tilde{\mathcal{P}}_{\rho\lambda} \\
- \frac{1}{2} e^{-\alpha\psi} F_{\nu\lambda} \tilde{U} = 0, \\
D_\lambda \tilde{U} - \frac{1}{2} e^{-\alpha\psi} F_\lambda^\rho \tilde{Q}_\rho = 0, \tag{77}
\end{aligned}$$

where the corresponding equations of motion of the unified theory are equal to

$$\begin{aligned}
\tilde{\mathcal{P}}_{\mu\nu} = & e^{-2\alpha\psi} R_{\mu\nu} - \frac{1}{2} e^{-4\alpha\psi} F_{\mu\rho} F_\nu^\rho - \alpha e^{-2\alpha\psi} [g_{\mu\nu} D_\rho \psi^\rho + 2D_\mu \psi_\nu] \\
& - 2\alpha^2 e^{-2\alpha\psi} [g_{\mu\nu} \psi_\rho \psi^\rho - \psi_\mu \psi_\nu], \\
\tilde{Q}_\nu = & -\frac{1}{2} e^{-3\alpha\psi} D_\rho F_\nu^\rho, \\
\tilde{U} = & \frac{1}{4} e^{-4\alpha\psi} F_{\rho\tau} F^{\rho\tau}, \tag{78}
\end{aligned}$$

in the four dimensions. Moreover, the final form of the action (72) is similarly reorganized as:

$$\begin{aligned}
\tilde{I} = & \frac{1}{2\hat{\chi}^2} \int_{\hat{M}} d^4x dy \sqrt{-g} [R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma} - \frac{3}{2} e^{-2\alpha\psi} R_{\mu\nu\lambda\sigma} F^{\mu\nu} F^{\lambda\sigma} \\
& + \frac{3}{8} e^{-4\alpha\psi} F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} F_{\lambda\sigma} F^{\lambda\sigma} + \frac{5}{8} e^{-4\alpha\psi} F_{\mu\nu} F^{\nu\lambda} F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu} \\
& + 3\alpha^2 e^{-2\alpha\psi} (3\psi_\lambda \psi^\lambda F_{\mu\nu} F^{\mu\nu} + 2\psi_\mu \psi^\lambda F_{\lambda\sigma} F^{\sigma\mu}) \\
& - 4\alpha e^{-2\alpha\psi} (\psi^\lambda F^{\mu\nu} + \psi^\mu F^{\lambda\nu}) D_\lambda F_{\mu\nu} + e^{-2\alpha\psi} D_\lambda F_{\mu\nu} D^\lambda F^{\mu\nu} \\
& + 6\alpha e^{-2\alpha\psi} F^{\mu\lambda} F^{\nu\lambda} D_\mu \psi_\nu + 4\alpha^2 (2D_\mu \psi_\nu D^\mu \psi^\nu + D_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu) \\
& + 4\alpha e^{-2\alpha\psi} \psi^\mu F_{\mu\nu} D_\lambda F^{\lambda\nu} + 8\alpha (\alpha \psi_\mu \psi_\nu - D_\mu \psi_\nu) R^{\mu\nu} \\
& - 4\alpha^2 \psi_\mu \psi^\mu R + 16\alpha^3 (\psi_\mu \psi^\mu D_\nu \psi^\nu - \psi^\mu \psi^\nu D_\mu \psi_\nu) \\
& + 12\alpha^4 \psi_\mu \psi^\mu \psi_\nu \psi^\nu]. \tag{79}
\end{aligned}$$

In this case, the coefficient of the gravitational part  $R$ , which does not have its canonical form, becomes  $e^{2\alpha\psi}$  in (70), but the  $R_{\mu\nu\lambda\sigma} R^{\mu\nu\lambda\sigma}$  term is canonical in (79). The equation (78) also gives the  $D_\rho F_\nu^\rho = 0$  and  $F_{\rho\sigma} F^{\rho\sigma} = 0$ , if  $\tilde{Q} = 0$  and  $\tilde{U} = 0$ , respectively, despite  $\psi(x) \neq 0$ . As mentioned before, this is not a problem for the WYKK theory due to the structure of general field equations (77). Actually,  $\tilde{U} \neq 0$  is the necessary condition in this case; otherwise all equations in (77) fall into triviality. Besides, we can now determine the following new Lorentz force density term including boson fields as follows:

$$f_\lambda = -D_\lambda (\psi F_{\rho\sigma} F^{\rho\sigma}), \tag{80}$$

from the last equations of (77) and (78) if we choose the parameter  $\alpha = -1/4$ , and without considering, certainly,  $\psi(x) \neq 0$ .

## 6. Conclusion

In this work, by employing an alternative form of the basis equation of the considered model in the review section, we have recomputed the reduced field equations in terms of the new  $\{\overline{\mathcal{P}}_{\mu\nu}, \overline{Q}_\nu, \overline{U}\}$  set, i.e., the equations of the typical KK theory. The new expressions (30)–(32) seem to be more accurate than others, including the  $\{\mathcal{P}_{\mu\nu}, Q_\nu, U\}$  set in Başkal and Kuyrukcu (2013). Then, using simplifications that result from the horizontal lift basis, we have generalized the resulting equations to the Einstein frame in which the conformal metric ansatz contains arbitrary parameters  $\alpha$

and  $\beta$ . After these reduction procedures, we have derived the desired set of field equations, which are governed by the new conformal  $\{\tilde{\mathcal{P}}_{\mu\nu}, \tilde{\mathbf{Q}}_\nu, \tilde{\mathcal{U}}\}$  set, and the transformed quadratic action in the coordinate basis both by considering the vielbeins fields and the conformal transformation rules. Conversely, we have investigated the consequences of the two possible cases,  $\beta = -2\alpha$  and  $\beta = 0$ , on this approach. As we mentioned in our previous work (Başkal and Kuyrukcu 2013), for the condition  $\psi(x) = 0$ , the standard KK theory renders the well-known nonphysical constraint,  $F_{\rho\tau}F^{\rho\tau} = 0$ , whereas this Lorentz invariant term does not have to be equal to zero in the WYKK theory because of the more general field equation (73). By contrast, the Lorentz force density,  $f_\lambda = F_\lambda^\rho D_\tau F^{\tau\rho}$ , appears for the former case naturally. Additionally, even if  $\psi(x) \neq 0$ , we have demonstrated that the density term can only be equal to the negative gradient of the new invariant, i.e.,  $f_\lambda = -D_\lambda(\psi F_{\rho\tau}F^{\rho\tau})$  for the latter case with  $\alpha = -1/4$ .

Let us finally remark that we can extend our formalism to investigate the dimensionally reduced form of equation (7), whose second term had already been calculated in (62), in the 5D generalized KK theory for completeness. Furthermore, whether the first equation of (60) can be written in the form of the equation (8) can be studied. We have already shown that (Kuyrukcu 2016) the first field equations, i.e.,

$$D_\lambda \mathcal{P}_{\nu\sigma} - D_\sigma \mathcal{P}_{\nu\lambda} - \frac{1}{4}\varphi^2(F_{\nu\sigma}Q_\lambda - F_{\nu\lambda}Q_\sigma + 2F_{\lambda\sigma}Q_\nu) = 0, \quad (81)$$

which is given by Başkal and Kuyrukcu (2013) or can be obtained from (30) using  $\overline{\mathcal{P}}_{\mu\nu} = \mathcal{P}_{\mu\nu}$  and  $\overline{\mathbf{Q}}_\nu = -(1/2)\varphi Q_\nu$ , can exactly be written in the following Camenzind's current density form

$$D_\mu R^\mu_{\nu\lambda\sigma} = D_\lambda(T_{\nu\sigma} - \frac{1}{2}g_{\nu\sigma}T) - D_\sigma(T_{\nu\lambda} - \frac{1}{2}g_{\nu\lambda}T), \quad (82)$$

for the case in which  $Q_\lambda = 0$ ,  $\mathcal{U} = 0$ , or more generally  $Q_\lambda = 0$ , and  $D_\lambda \mathcal{U} = 0$ . Here  $T_{\nu\sigma}$  represents the stress-energy tensor that comes from the KK theory of gravity (Liu and Wesson 1997). We are working on obtaining such relationships for the model under consideration.

## 7. Acknowledgments

The author would like to thank the anonymous referees for the constructive comments.

## 8. References

**Baekler, P., Yasskin, PB.** 1984. All torsion-free spherical vacuum solutions of the quadratic Poincaré gauge theory of gravity. *General Relativity and Gravitation*, 16: 1135–1155. doi: 10.1007/BF00760237

- Bao, L., Bielecki, J., Cederwall, M., Nilsson, BEW., Persson, D.** 2008. U-Duality and the compactified Gauss–Bonnet term. *Journal of High Energy Physics*, 07: 048. doi: 10.1088/1126-6708/2008/07/048
- Başkal, S.** 1999. Radiation in Yang–Mills formulation of gravity and a generalized pp-wave metric. *Progress of Theoretical Physics*, 102 (4): 803–807. doi: 10.1143/PTP.102.803
- Başkal, S., Kuyrukcu, H.** 2013. Kaluza–Klein reduction of a quadratic curvature model. *General Relativity and Gravitation*, 45: 359–371. doi: 10.1007/s10714-012-1476-7
- Camenzind, M.** 1975. On the curvature dynamics for metric gravitational theories. *Journal of Mathematical Physics*, 16: 1023–1031. doi: 10.1063/1.522654
- Camenzind, M.** 1975a. Theories of gravity with structure-dependent's. *Physical Review Letters*, 35: 1188–1189. doi: 10.1103/PhysRevLett.35.1188
- Camenzind, M.** 1977. On the Yang–Mills structure of gravitation: A new issue of the final state. *General Relativity and Gravitation*, 8: 103–108. doi: 10.1007/BF00770729
- Camenzind, M.** 1978. Weak and strong sources of gravity: An SO(1,3)-gauge theory of gravity. *Physical Review D*, 18: 1068. doi: 10.1103/PhysRevD.18.1068
- Camenzind, M.** 1978a. Homogeneous and isotropic world models in the Yang–Mills dynamics of gravity: The structure of the adiabats. *Journal of Mathematical Physics*, 19: 624–634. doi: 10.1063/1.523693
- Carneiro, DF., Freiras, EA., Goncalves, B., de Lima AG., Shapiro IL.** 2004. On useful conformal transformations in general relativity. *Gravitation and Cosmology*, 10 (4): 305–312.
- Chen, P., Izumi, K., Tung, N-E.** 2013. Natural emergence of cosmological constant and dark radiation from the Stephenson–Kilmister–Yang–Camenzind theory of gravity. *Physical Review D*, 88 (12): 123006. doi: 10.1103/PhysRevD.88.123006
- Cook, RJ.** 2008. The gravitational-electromagnetic analogy: A possible solution to the vacuum-energy and dark-energy problems. arXiv: gr-qc/0810.4495 (preprint).
- Cvetic, M., Gibbons, GW., Lu, H., Pope, CN.** 2003. Consistent group and coset reductions of the bosonic string. *Classical and Quantum Gravity*, 20: 5161–5194. doi: 10.1088/0264-9381/20/23/013
- Çelik, S.** 2021. Compatibility of the dimensional reduction and variation procedures for a quadratic curvature model with a Kaluza–Klein ansatz. Master of Science, Middle East Technical University, 92 p.
- Dabrowski, MP., Garecki, J., Blaschke, DB.** 2009. Conformal transformations and conformal invariance in gravitation. *Annalen der Physik*, 18: 13–32. doi: 10.1002/andp.200810331

- Dean, BH.** 1999. Variational results and solutions in gauge gravity and a bifurcation analysis of black hole orbital dynamics. Graduate Theses, West Virginia University, Source DAI-B 61/03.
- Dereli, T., Üçoluk, G.** 1990. Kaluza–Klein reduction of generalized theories of gravity and nonminimal gauge couplings. *Classical and Quantum Gravity*, 7: 1109–1115. doi: 10.1088/0264-9381/7/7/009
- Eddington, AS.** 1924. *The Mathematical Theory of Relativity*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 141–144.
- Fairchild, JrEE.** 1976. Gauge theory of gravitation. *Physical Review D*, 14: 384–391. [erratum: 1976. *Physical Review D*, 14: 2833]. doi: 10.1103/PhysRevD.14.384
- Fairchild, JrEE.** 1977. Yang–Mills formulation of gravitational dynamics. *Physical Review D*, 16: 2438–2447. doi: 10.1103/PhysRevD.16.2438
- Gibbons, GW., Wiltshire, DL.** 1986. Black holes in Kaluza–Klein Theory. *Annals of Physics*, 167: 201–223. doi: 10.1016/S0003-4916(86)80012-4
- Hawking, SW., Ellis, GFR.** 1999. The large scale structure of space-time. Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- Kaluza, Th.** 1921. Zum unitätsproblem der physik. *Sitzungsberichte der Preussischen Akademie der Wissenschaften*, K1: 966–972.
- Kilmister, CW., Newman, DJ., Bondi, H.** 1961. The use of algebraic structures in physics. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 57: 851. doi: 10.1017/S0305004100036008
- Klein, O.** 1926. Quantentheorie und fünfdimensionale relativitätstheorie. *Zeitschrift für Physik*, 37 (2–3): 895–906. doi: 10.1007/BF01397481
- Klein, O.** 1926a. The atomicity of electricity as a quantum theory law. *Nature*, 118: 516. doi: 10.1038/118516a0
- Kretschmann, E.** 1915. Über die prinzipielle bestimbarkeit der berechtigten bezugssysteme beliebiger relativitätstheorien (I). *Annalen der Physik*, 353 (23): 907–942. doi: 10.1002/andp.19153532303
- Kuyrukcu, H.** 2013. PP-wave solutions of the Weyl–Yang theory of gravity with a five-dimensional Kaluza–Klein ansatz. *Classical and Quantum Gravity*, 30 (15): 155013. doi: 10.1088/0264-9381/30/15/155013
- Kuyrukcu, H.** 2014. The non-Abelian Weyl–Yang–Kaluza–Klein gravity model. *General Relativity and Gravitation*, 46: 1751. doi: 10.1007/s10714-014-1751-x
- Kuyrukcu, H.** 2016. A black hole solution of higher-dimensional Weyl–Yang–Kaluza–Klein theory by the Wu–Yang ansatz. arXiv: gr-qc/1602.02418v1 (preprint).
- Kuyrukcu, H.** 2021. A black hole solution of higher-dimensional Weyl–Yang–Kaluza–Klein theory. *Classical and Quantum Gravity*, 38 (17): 175009. doi: 10.1088/1361-6382/ac161a
- Lanczos, C.** 1938. A remarkable property of the Riemann–Christoffel tensor in four dimensions. *Annals of Mathematics*, 39: 842–850. doi: 10.2307/1968467
- Lanczos, C.** 1949. Lagrangian multiplier and Riemannian spaces. *Reviews of Modern Physics*, 21 (3): 497–502. doi: 10.1103/RevModPhys.21.497
- Lanczos, C.** 1957. Electricity and general relativity. *Reviews of Modern Physics*, 29 (3): 337–350. doi: 10.1103/RevModPhys.29.337
- Lee, HC.** 1983. An introduction to Kaluza–Klein theories: Proceedings of the workshop on Kaluza–Klein theories. Chalk River, Canada, p. 187.
- Lichnerowicz, A.** 1958. Sur un procédé de quantification du champ de gravitation. *C. R. Acad. Sci.*, 247: 433–436.
- Liu, H., Wesson, PS.** 1997. The physical properties of charged five-dimensional black holes. *Classical and Quantum Gravity*, 14 (7): 1651–1663. doi: 10.1088/0264-9381/14/7/006
- Loos, HG.** 1963. Spin connection in general relativity. *Annals of Physics*, 25: 91–108. doi: 10.1016/0003-4916(63)90335-X
- Loos, HG., Treat, RP.** 1967. Conditional dynamic equivalence of free Yang–Mills fields and free gravitational fields. *Physics Letters A*, 26 (2): 91–92. doi: 10.1016/0375-9601(67)90117-X
- Mandel, H.** 1926. Zur herleitung der feldgleichungen in der allgemeinen relativitätstheorie. *Zeitschrift für Physik*, 39 (12): 136–145. doi: 10.1007/BF01321980
- Misner, CW., Thorne, KS., Wheeler, JA.** 1973. *Gravitation*. Freeman WH and company, San Francisco.
- Ni, W-T.** 1975. Yang's gravitational field equations. *Physical Review Letters*, 35 (5): 319–320. [erratum: 1975. *Physical Review Letters*, 35 (25): 1748. doi: 10.1103/PhysRevLett.35.1748]. doi: 10.1103/PhysRevLett.35.319
- Öktem, F.** 1985. *Doğa Bilim Dergisi* A1(9): 3.
- Palatini, A.** 1919. Deduzione invariantiva delle equazioni gravitazionali dal principio di Hamilton. *Rendiconti del Circolo Matematico di Palermo*, 43: 203–212. doi: 10.1007/BF03014670
- Pauli, W.** 1919. Zur theorie der gravitation und der elektrizität von H Weyl. *Physikalische Zeitschrift*, 20: 457–467.
- Pavelle, R.** 1974. Yang's gravitational field equations. *Physical Review Letters*, 33 (24): 1461–1463. doi: 10.1103/PhysRevLett.33.1461
- Pavelle, R.** 1975. Unphysical solutions of Yang's gravitational field equations. *Physical Review Letters*, 34: 1114. doi: 10.1103/PhysRevLett.34.1114
- Pavelle, R.** 1976. Unphysical characteristics of Yang's pure-space equations. *Physical Review Letters*, 37 (15): 961–964. doi: 10.1103/PhysRevLett.37.961

- Pavelle, R.** 1978. Mansouri–Chang gravitation theory. *Physical Review Letters*, 40 (5): 267–270. doi: 10.1103/PhysRevLett.40.267
- Perry, M.** 2009. Applications of Differential Geometry to Physics. p. 36. <https://sgielien.files.wordpress.com/2018/01/diffgeo.pdf>
- Pope, CN.** Kaluza–Klein Theory. p. 4. <http://people.physics.tamu.edu/pope/ihplec.pdf>
- Stephenson, G.** 1958. Quadratic Lagrangians and general relativity. *Il Nuovo Cimento*, 9 (2): 263–269. doi: 10.1007/BF02724929
- Thompson, AH.** 1975. Yang's gravitational field equations. *Physical Review Letters*, 34 (8): 507–508. doi: 10.1103/PhysRevLett.34.507
- Thompson, AH.** 1975a. Geometrically degenerate solutions of the Kilmister–Yang equations. *Physical Review Letters*, 35 (5): 320–322. doi: 10.1103/PhysRevLett.35.320
- Weyl, H.** 1918. Gravitation und elektrizität. *Sitzungsberichte der Königlich Preußischen Akademie der Wissenschaften* (Berlin), 1918: 465–478. doi: 10.1007/978-3-663-19510\_811
- Weyl, H.** 1919. A new extension of relativity theory. *Annalen der Physik*, 59: 101–133. doi: 10.1002/andp.19193641002
- Weyl, H.** 1921. Über die physikalischen grundlagen der erweiterten relativitätstheorie. *Physikalische Zeitschrift*, 22: 473–480.
- Yang, CN., Mills, RL.** 1954. Conservation of isotopic spin and isotopic gauge invariance. *Physical Review*, 96 (1): 191–195. doi: 10.1103/PhysRev.96.191
- Yang, CN.** 1974. Integral formalism for gauge fields. *Physical Review Letters*, 33 (7): 445–447. doi: 10.1103/PhysRevLett.33.445



# Characteristics of Molecular Weight Distribution of Natural Organic Matter and Trihalomethane Formation Properties in Conventional Drinking Water Treatment Processes

*Konvansiyonel İçme Suyu Arıtma Tesislerinde Doğal Organik Maddenin Moleküler Ağırlık Dağılımı ve Trihalometan Oluşumunun Özellikleri*

Kadir Özdemir\*

Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Zonguldak, Turkey

## Abstract

In this study, ultrafiltration (UF) technique was used for natural organic matter (NOM) characterization in water samples taken from Ulutan drinking water treatment plant (UWTP) units (raw water, coagulation and disinfection process) in Zonguldak. The distribution of NOM fractionation was performed the carbon mass balance of the UF processes according to the Total organic carbon (TOC) measurements. The NOM fraction with molecular weight (MW) <1000 Da (1 kDa) is the dominant fraction among all the fractionated water samples. Its percentage ranged from 54.29% to 69.76% between raw and disinfection processes stages in UWTP. During treatment process, higher MW fractions were removed more efficiently than MW< 1kDa, especially coagulation step. This result showed that low molecular weight organics are relatively hydrophilic and not effectively removed by coagulation. Disinfection stage had limited effect on removing organic fractions. On the other hand, as the raw water samples were chlorinated, the highest trihalomethane formation potential (THMFP) was observed the fraction of < 1kDa as 163.2 µg/L during the reaction times of 168 hours and followed by 1-3kDa (15.3 µg/L), 3-5kDa (12.6 µg/L) and >5kDa (8.4 µg/L), respectively. The highest specific trihalomethane formation potential (STHMFP) concentration was determined MW<1kDa as 35.8 µg THMFP/ mg TOC. As a result, the findings of this study demonstrated that the determination of NOM fractions with the UF technique may be an applicable strategy for operation of conventional drinking water treatment plants.

**Keywords:** Ultrafiltration, Natural organic matter, Molecular weight, Trihalomethane

## Öz

Bu çalışmada Zonguldak iline içme suyu sağlayan Ulutan içme suyu arıtma tesisi (USAT) ünitelerinden (Ham su, koagülasyon ve dezenfeksiyon) alın su numunelerinde bulunan doğal organik madde (DOM) karakterizasyonu ultrafiltrasyon (UF) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DOM fraksiyonlarının dağılımı UF prosesi ile toplam organik karbon (TOC) konsantrasyon değerleri esas alınarak karbon kütle dengesine göre yapılmıştır. USAT'de ham sudan dezenfeksiyon ünitelerinden alınan su numunelerinde UF prosesi ile karakterize edilmiş bütün organik fraksiyonlar arasında en fazla bulunan moleküller ağırlığı (MA) 1000 Da (1kDa)'dan daha küçük olan organik fraksiyonlar olduğu tespit edilmiştir. Ham sudan dezenfeksiyon ünitesine kadar 1kDa'dan küçük olan NOM fraksiyonlarının bulunma yüzdesi %54.26-%69.76 arasında yer almaktadır. Arıtma prosesi süresince, en yüksek giderim verimi koagülasyon adımda ve MA yüksek olan organik fraksiyonlarda meydana gelmiştir. Bu sonuç aynı zamanda koagülasyon prosesinde düşük MA sahip hidrofilik özellikteki fraksiyonların etkili bir şekilde giderilemediğini göstermektedir. Diğer yandan tüm organik fraksiyonlarda en düşük giderim verimi dezenfeksiyon prosesinde meydana gelmiştir. Klorlanmış ham su numunelerinde 168 saatlik reaksiyon süresinde en yüksek trihalometan oluşum potansiyeli (THMOP) miktarı (163.2 µg/L) MA 1kDa'dan küçük olan DOM fraksiyonlarda görülmürken, sırası ile MA 1-3kDa olanlarda 15.3 µg/L, 3-5kDa olanlarda 12.6 µg/L ve MA 5kDa'dan büyük olan fraksiyonlarda ise 8.4 µg/L olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte, DOM fraksiyonları arasında en yüksek spesifik trihalometan oluşum potansiyeli (STHMOP) konsantrasyonu (35.8 µg THMFP/ mg TOC) MA 1kDa'dan küçük olan fraksiyonlarda gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular UF teknigi ile DOM fraksiyonlarının tespit edilmesinin konvansiyonel içme suyu arıtma tesislerinin işletmesinde uygulanabilir bir strateji olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Ultrafiltrasyon, Doğal organik madde, Moleküler ağırlık, Trihalometan

\*Corresponding author: kadirozdemir73@yahoo.com

Kadir Özdemir orcid.org/0000-0003-1464-7078



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY NC)".

## 1. Introduction

Natural organic matter (NOM) in water consists of a wide variety of organic compounds and also plays a significant role in water treatment. It forms from largely aliphatic to colored aromatics (Swietlik et al., 2004). Some of the organic substances are negatively charged compounds with different content and molecular size. The amount and characteristic features of natural organic substances in surface waters vary depending on the topography, climate and geology of that place (Fabris et al., 2008, Wei et al., 2008a).

On the other hand, NOM affects drinking water treatment on many aspects, like the dose of treatment chemicals (Yang et al., 2016). Further, ensuring a desired quality water production in drinking water treatment plants requires the removal of these organics with a high efficiency (Sillanpää et al., 2011). There are many studies on the removal technologies of natural organic substances in the related literature (Jiang et al., 2018, Mao et al., 2018).

Among these treatment technologies, the most common and economical method is coagulation and flocculation, followed by precipitation and filtration steps (Galjaard et al., 2018). The increase in the concentration of NOM causes negative effects in terms of water quality in drinking water resources. These problems include the level of taste and odor in the water, the increase in the amount of disinfectant with the dose of coagulant used, the occurrence of disinfection by-products with potentially harmful effects, the occurrence of microbial growth in the networks and the increase in complexed heavy metal concentrations. NOM reacts with disinfectants like chlorine, during water disinfection, halogenated disinfection byproducts (DBPs) form (Zha et al., 2014). Trihalomethanes (THMs) and haloacetic acids (HAAs) are the most common disinfection by-products (DBPs) from chlorinated drinking water reservoirs (Chu et al., 2017, Han and Zhang 2018). Some researches have reported that NOM is the main precursor of chlorinated by-products (Hua and Reckhow 2007). In the mean time, the chemical and physical structure of NOM has an important place in the formation of disinfection by-products Ozdemir (2014). On the other hand, if the organic matter consists of high MW substances such as aromatic compounds, higher amounts of THMs and HAAs are observed as a result of chlorination of hydrophobic organics. NOM is generally divided into hydrophobic, transphilic, and hydrophilic groups. Hydrophobic NOM consists of humic and fulvic acids. Hydrophilic NOM includes mostly

aliphatic carbon and nitrogenous compounds (Chen et al., 2008). Additionally, NOM characterization focused on general parameters, including total organic carbon (TOC), UV absorbance at 254 nm wavelength ( $UV_{254}$ ) and specific ultraviolet absorbance (SUVA) (Awad et al., 2016.) These are surrogate parameters for providing information of DBP precursors (Uyak et al., 2007).

Fractionation techniques as physical and chemical can be useful for NOM characterization (Chow et al., 2005). Ultrafiltration, size separation chromatography, ultracentrifugation are the most well-known physical fractionation methods. On the other hand, one of the most widely used chemical separation methods is resin fractionation. UF technique has been used for separating of NOM fractions related to their molecular sizes the range from 1000 to 30000 Daltons (Da) (Gang et al., 2003). Also, UF technique is no requirement for chemical reagents. The goal of study is to find the MW distribution of NOM fractions in conventional treatment processes and analyze to the trihalomethane formation potential (THMFP) of different MW fractions of NOM. Also, this study is one of the first studies on the fractionation of natural organic materials found in drinking water sources in the Western Black Sea region by ultrafiltration method.

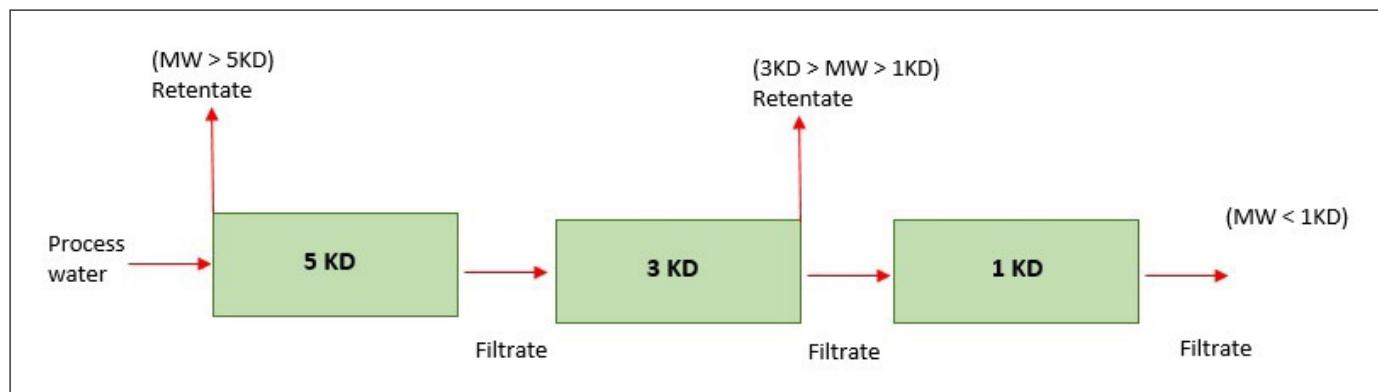
## 2. Materials and Methods

### 2.1. Water Sampling

In the study, water samples were taken from the Ulutan Drinking Water Treatment plant (UWTP) in Zonguldak. Ulutan Dam is the main water reservoir in Zonguldak and provides a maximum of 34,000m<sup>3</sup>/day of water to UWTP. UWTP is a kind of conventional treatment plant including aeration, coagulation-flocculation, filtration and disinfection processes.

### 2.2. Ultrafiltration

UF process was used to fractionate the NOM components according to their molecular size. UF was conducted by using a stirred UF cell (Millipore 8200) with YM disc membrane made of regenerated cellulose (Amicon, USA). Prior to filtration, ultrapure water was passed through the membranes to remove any possible leached organics until TOC in the permeate was <0.1 mg/L. After that, the membrane was installed into the UF cell and rinsed two times using 0.01 mol L<sup>-1</sup> NaOH and HCl alternatively. The stirrer kept agitating more than 10 min for each rinse. High purity nitrogen (99.99%) was used to pressurize the



**Figure 1:** A schematic flow chart showing UF process.

filtration process, and the permeate was stored at +4 °C until analysis. The MW of the applied membranes was as follows: 1, 3 and 5 kDa. NOM was separated by using ultrafiltration membranes, including a fraction with MW < 1 kDa, 1-3kDa, 3-5 kDa and > 5kDa. Water samples taken from raw water, coagulation and disinfection units were passed through the membranes of MW < 1 kDa, 1-3kDa, 3-5 kDa and > 5kDa. The cleaning process was performed by the procedure of Zhao et al. (2006). Transmembrane pressure value of 0.35 MPa was applied for UF tests with surface water samples. The scheme of the UF process is given in Figure 1.

### 2.3. Chlorination and THMFP Procedure

Chlorination of water samples was made in a 500 cm<sup>3</sup> amber-color glass bottle. Water samples were buffered to pH 7.5 with 5 mM phosphate buffer. Chlorine stock (1000 mg/L) solutions was prepared using commercial 4% NaOCl and standardized by iodometric titration. THMFP test was done according to Standard Methods of 5710-B (APHA 2005). According to this method, the pH value of the water samples should be brought to 7 with phosphate buffer and chlorinated, and then kept at 25 °C for 7 days. The chlorinated samples were placed into 125-mL amber glass bottles with polypropylene screw caps and TFElined caps. Afterwards, residual chlorine amounts should be determined according to the DPD colorimetric method (APHA 2005).

### 2.4. Analytical Procedure

Ultrapure water (Sartorius Co., Germany) was used to prepare the standard solutions used in all experimental procedures and analyzes carried out in the laboratory. TOC analyses were performed with a Shimadzu TOC-5000 Analyzer, using high temperature combustion, according to APHA-3510B. UV-1608 Shimadzu spectrophotometer

was used for measurements of UV<sub>254</sub>. SUVA was found as the UV<sub>254</sub> divided by the TOC values. Analyses involving THM compounds were conducted with the liquid-liquid extraction method in the EPA 551 method (USEPA 1998). HP 6890 Series II Gas Chromatograph equipped with a micro Electron Capture Detector (GC μECD) instrument with a DB-1 capillary column (30 m×0.32 mm I.D.×1.0 μm, J&W Science) was used for THM measurements.

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Distribution of NOM

The UF technique is widely used for the determination of molecular weight distributions of NOM in water treatment. Prior to UF processes, a mass balance must be done for each NOM fraction with TOC analysis. In addition, any loss or contamination situations are also reviewed in the mass balance calculation for NOM fractions. The results of the mass balance for each NOM fraction are presented in Table 1. As can be seen Table 1, The TOC values of each NOM fraction analyzed in the purification steps are given in the left column. Then, the TOC mass of each NOM fraction was calculated by multiplying the volume of the sample with the measured TOC concentration in mg. The distribution of NOM fractions in each treatment step was found by dividing the TOC value of each fraction by the sum of TOC value. Also, in this section, the recovering percentage of each TOC in the raw water, coagulation and chlorination units of each fraction were found. TOC recovery including those in raw water, coagulation and chlorination process were recorded as (100 ± 10.21%), (100 ± 6.2%), (100 ± 3.53%), and (100±7.41%), respectively. Brockmeyer and Spitzky (2013) examined the TOC mass balance of fractionated NOM samples collected from Outer Alster Lake in Hamburg city,

**Table 1:** TOC Mass Balance for Each Water Treatment Unit

Water source	Molecular Dimension	TOC	Sample volume	TOC mass	TOC distribution
<b>Raw water</b>	Dalton (Da)	(mg/L)	(L)	mg	(%)
	Raw water	8.78	0.18	1.58	
	>5000 D (>5kDa)	0.34	0.54	0.18	12.14
	5000-3000 D (5kDa-3kDa)	0.46	0.54	0.25	13.93
	3000-1000 D (3kDa-1kDa)	0.48	0.54	0.26	15.36
	<1000 D (<1kDa)	4.56	0.18	0.82	54.29
	Total mass=	Sum of fractions	1.779	1.51	100
		Recovery (%)			101.4
<b>Coagulated water</b>	Coagulated water	6.45	0.18	1.16	
	>5000 D (>5kDa)	0.19	0.54	0.10	9.56
	5000-3000 D (5kDa-3kDa)	0.25	0.54	0.14	12.58
	3000-1000 D (3kDa-1kDa)	0.32	0.54	0.17	16.11
	<1000 D (<1kDa)	3.68	0.18	0.66	61.74
	Total mass=	Sum of fractions	1.779	1.07	100
		Recovery (%)			103.3
<b>Chlorinated water</b>	Chlorinated water	5.23	0.18	0.94	
	>5000 D (>5kDa)	0.16	0.54	0.09	9.68
	5000-3000 D (5kDa-3kDa)	0.21	0.54	0.11	12.70
	3000-1000 D (3kDa-1kDa)	0.29	0.54	0.16	17.54
	<1000 D (<1kDa)	3.46	0.18	0.62	69.76
	Total mass=	Sum of fractions	1.779	0.89	100
	Recovery (%)				105.6

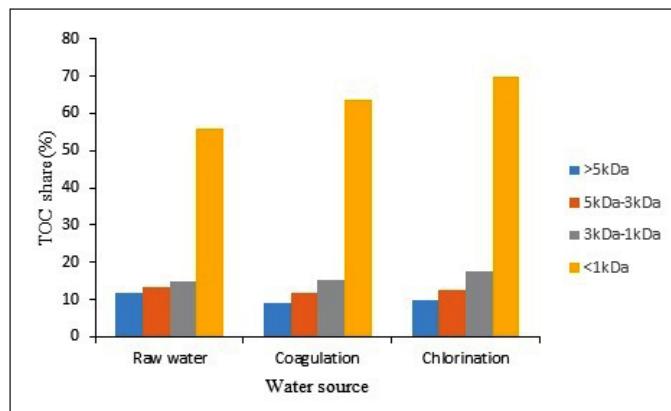
Germany. The results of this study showed well recoveries. In other words, NOM fractions recoveries of 0.5kDa, 1kDa and 10kDa were found as (100 ±14), (100±7) and (100±5). Schwalger and Spitzky (2013) has reported that organic carbon recoveries were calculated as 99±13 for MW<1kDa, 100 ±20 for MW>5kDa and 100 ± 3 for MW >50kDa in fresh and estuarine waters in Germany. These experimental studies reveal that TOC mass balance values indicate no major loss or contamination of NOM fractions as a result of the UF process. On the other hand, when the results of this study were compared with previous studies, it was seen that the relevant literature was supported Wang et al. (2008). Similar recoveries have been presented in other literature studies (Wilding et al., 2005, Kottelat et al., 2008).

### 3.2. NOM Size Distribution in Water Sources

Figure 2 illustrates the distribution of fractions during the conventional treatment processes in ÜWTP. The results included that the predominant fraction of NOM in raw water stage was <1 kDa, accounting for 54.29 % of total TOC,

followed by 1kDa-3kDa and 5kDa-3kDa with 15.36% and 13.93 %, respectively. The least common fraction was >5kDa, as 12.14%. These results confirm to the data from previous studies (Han et al., 2015). Similar results were obtained in studies by Wei et al. (2008b). They have noted that the NOM fraction of < 1kDa composes at the major portion of TOC content in four water reservoir. Gu et. al (2006) collected water samples from Guangzhou section of the Pearl River in China to investigate soluble organic fractions with UF technique. They indicated that the majority of NOM was composed of fractions less than 500kDa as a result of the characterization of the water samples in the Pearl River. The results of this part of study show that organic carbon of NOM in raw water samples consists of hydrophilic fractions which are characterized by more aliphatic carbon and nitrogenous compound such as carbohydrates, sugars, and amino acids. Additionally, coagulation can remove organics. NOM fractions with MW >5 kDa, 5-3 kDa, 3-1 kDa, and < 1 kDa in coagulation step were determined as 9.56%, 12.58%; 16.11% and 61.74%, respectively, based

on the TOC concentration calculations. In the meantime, while the removal rates of with MW >5 kDa and 5-3 kDa were observed as about 50%, the removal rates of 3-1 kDa, and < 1 kDa was recorded as 33% and 21%, respectively.



**Figure 2.** Fraction mass distribution of water treatment processes.

The findings presented that the removal ratio generally rose with the increase in MW. In addition, molecules with small size are not effectively removed by coagulation especially, < 1kDa. Chen et al. (2021) have performed that raw water (RW), settled water (SW), and filtered water (FW) samples collected from a drinking water treatment plant were fractionated into 24 NOM fractions with varying molecular weights. The results revealed that MW < 1kDa NOM fraction is the most abundant in raw water (RW) (71.22%), sediment water (SW) (46.26%) and filtrate water (FW) (41.12%). Also, the findings of this investigation illustrated that hydrophilic fractions can not be treated effectively in FW, which contributed to the low aliphatic precursors remaining in the FW. However, after the SW process, the hydrolysis and complexation induced by  $\text{AlO}_4\text{A}_{112}(\text{OH})^{+7}$  and  $\text{AlCl}_3$  greatly contribute to the removal of the organics. On the other hand, some experimental studies in the literature have shown that most of the organic fractions with high molecular weight like 10 kDa can be removed by the coagulation process (Matlianen et al., 2002, Song et al., 2019). Disinfection with chlorine increased slightly the concentration of NOM fractions. The distributions of MW >5 kDa, 5-3 kDa and 3-1 kDa were calculated as 9.68%, 12.70% and 17.54 %, respectively. Although the percentage of organic fraction with MW less than 1kDa (69.76%) was found to increase more with chlorination, the lowest removal rate as TOC concentration was determined in the fraction of MW < 1kDa. Some researchers have found that organic fractions greater than 2.5kDa are decreased more

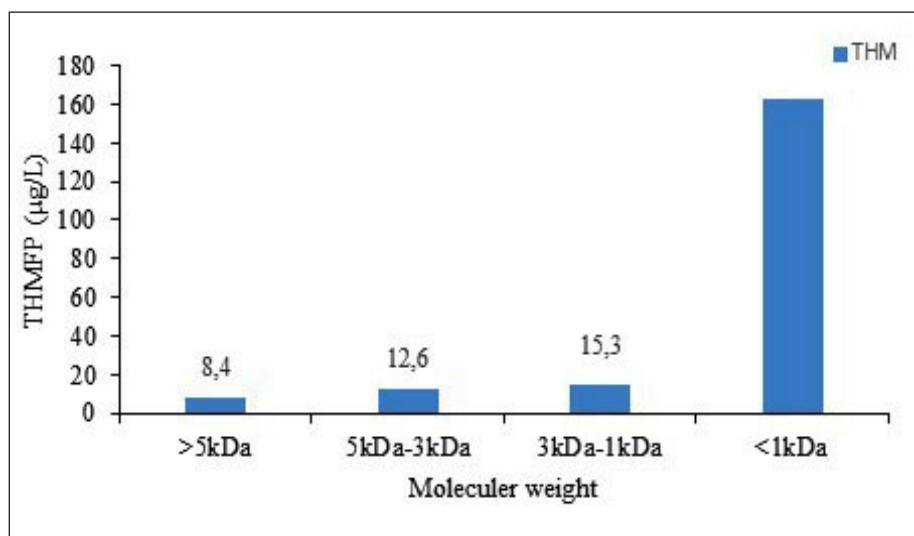
than other NOM fractions during disinfection (Kristiana et al., 2013). This finding also revealed that chlorination leads to the partial oxidation of NOM and thus, hydrophilic fraction of NOM increased through chlorination. Similar observations have been reported by some researches (Zhao et al., 2013, Zheng et al., 2016).

Overall, the conventional applications removed the hydrophobic compounds more effectively than the hydrophilic ones. Further, low MW fractions of NOM were not effectively removed by conventional treatment process and also higher removal in NOM fractions was coagulation unit in UWTP.

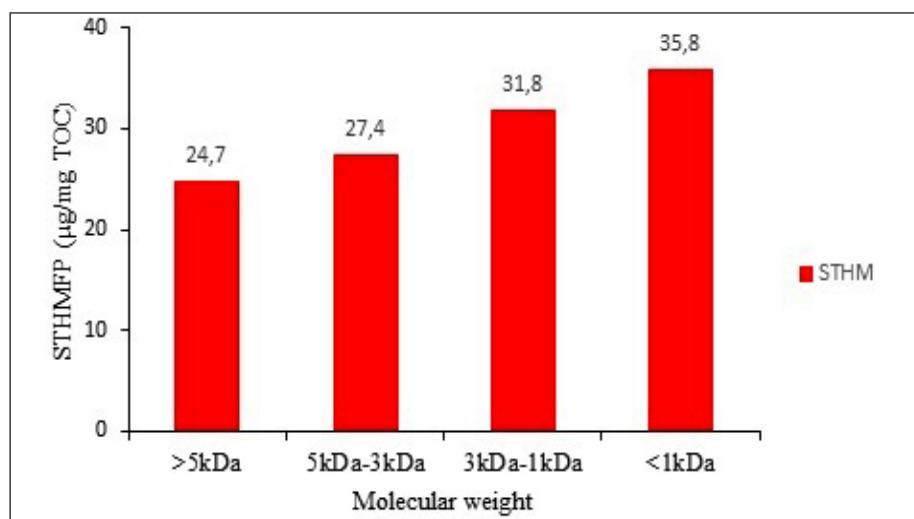
### 3.3. Identification of THM Precursors in Raw Water

Figure 3 shows the trihalomethane formation of NOM fractions in chlorinated raw water samples at the reaction time of 168 hours. According to Figure 2, while the fraction of < 1kDa had the highest THMFP level (163.2  $\mu\text{g/L}$ ), the fraction of > 5kDa had the lowest THM concentration (8.4  $\mu\text{g/L}$ ). The fractions of 5-3 kDa and 3-1 kDa were accounted for 12.6  $\mu\text{g/L}$  and 15.3  $\mu\text{g/L}$ , respectively. These findings displayed that hydrophilic compounds play a greater role in the formation of THMs and studies on the subject in the previous literature support the results obtained in this study (Xu et al., 2012, Zhang et al., 2020). The removal efficiency of DBP precursors in conventional treatment systems largely depends on the hydrophobicity and MW of the NOM (Yan et al., 2017). Zhao et al. (2006) suggested that the low-molecular-weight 0.5–1K fraction was the major precursor of THM formation for effluent of each of the four treatment processes in a conventional drinking water plant in Guangzhou. Previous studies have shown that higher concentrations of THM are formed as a result of chlorination of NOM, which is composed of especially organic carbon aromatic compounds rather than aliphatic compounds (Li et al., 2016). In the results of study by Niu et al (2018) show that the main DBP precursors were the fraction with MW <1 kDa and fraction with MW 3–10 kDa, and the DBP's generation ability of lower molecular weight DOM (<10 kDa) was higher than that of higher molecular weight NOM. Therefore, we can generally report that the THMFP was closely related to the MW and the concentration of fractions.

On the other hand, Figure 4 gives specific THMFP (STHMFP) levels. The STHMFP of MW >5kDa, 5kDa-3kDa, 1kDa-3kDa and <1kDa increased in that order (24.7  $\mu\text{g/mg}$ , 27.4  $\mu\text{g/mg}$ , 31.8  $\mu\text{g/mg}$ , 35.8  $\mu\text{g/mg}$ ), and



**Figure 3:** Trihalomethane formation potential of NOM fraction in Ulutan Dam water.



**Figure 4:** Specific trihalomethane formation potential of NOM fractions in Ulutan Dam water.

MW <1 kDa had a stronger STHMFP than the higher MW ones (Figure 3). We can generally suggest that the highest STHMFP is observed with the decrease of MW and that lower NOM fractions produce more THMs. In the study of Nkambule et al. (2019) on THM formations for the optimization of drinking water treatment plant, higher amount of THM formation was observed during the chlorination of NOM fractions with hydrophobic organic carbon. The results displayed that there is a strong correlation between STHMFP and the aromatic fraction of NOM in the treatment plant. Similar results have also been confirmed by other researches, which have shown that lower MW fractions as the important precursors in the THM formation (Roe et al., 2008). In the study of Karapinar et al. (2014) on seasonal NOM characterization, they took water samples from Terkos Lake, which provides

drinking water to the province of Istanbul, and carried out the fractionation process with the UF technique. Then, as a result of chlorination of each fraction, it was determined that the highest STHMFP occurred in NOM fractions of MW<1kDa. In other words, this result might be revealed that the STHMFP level depends on the origin of NOM.

#### 4. Conclusion

In this study, NOM characterization in water samples taken from Ulutan drinking water treatment plant (UWTP) units was used by using UF technique has been carried out. As a result of the experimental studies, it was observed that NOM fractions with a molecular weight less than 1 kDa were dominant in each treatment unit. This result also shows that NOM fractions with a hydrophilic molecular weight less than 1 kDa cannot be effectively removed. It

has been determined that the hydrophilic fraction of NOM plays an important role in THM formations that occur as a result of chlorinated water samples during the treatment period. In other words; the fraction of < 1kDa had the highest THMFP level (163.2 µg/L). Further, the highest STHMFP concentration as 35.8 µg THMFP/ mg TOC was recorded in MW < 1kDa. The results of this study show that the realization of the NOM fractionation process with the UF technique can make an important contribution to the efficient operation of conventional drinking water treatment plants.

## 5. References

- APHA, 2005.** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22th ed. American Public Health Association, Washington DC. <http://www.apha.org/>
- Awad, J., Van Leeuwen, J., Chow, C., Drikas, M., Smernick J., Bestland, E. 2016.** Characterization of dissolved organic matter for prediction of trihalomethane formation potential in surface and sub-surface waters. *J. Hazard Mater.* 308:430-439. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2016.01.030>
- Brockmeyer, B., Spitz, A. 2013.** Evaluation of a Disc Tube Methodology for Nano- and Ultrafiltration of Natural Dissolved Organic Matter (DOM). *Int. J. Organic. Chem.* 3: 17-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ijoc.2013.31A002>
- Chen, Z., Zhao, S., Shen, J., Huo, X., Li, J., Zhou, Y., Kang, J., Zhang, X., Wang, B. 2021.** Variations of disinfection byproduct precursors through conventional drinking water treatment processes and a real-time monitoring method. *Chemosphere.* 272: 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129930>.
- Chen, C., Zhang, X., Zhu, L., Liu, J., He, W., Han, H. 2008.** Disinfection by-products and their precursors in a water treatment plant in North China: seasonal changes and fraction analysis. *Sci. Total Environ.* 397: 140-147. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2008.02.032](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.032)
- Chow, A.T., Gao, S., Dahlgren, R.A. 2005.** Physical and chemical fractionation of dissolved organic matter and trihalomethane precursors: a review, *J. Water Supply*, 54(8): 475-507 DOI: <https://doi.org/10.2166/aqua.2005.0044>
- Chu, W., Yao, D., Deng, Y., Sui, M., Gao, N. 2017.** Production of trihalomethanes, haloacetaldehydes and haloacetonitriles during chlorination of microcystin-LR and impacts of pre-oxidation on their formation. *J. Hazard Mater.* 327: 153-160. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2016.12.058>
- Fabris, R., Chow, C.W.K., Drikas, M., Eikebrokk, B. 2008.** Comparison of NOM character in selected Australian and Norwegian drinking waters. *Water Res.* 42:4188-4196. DOI: [10.1016/j.watres.2008.06.023](https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.06.023)
- Galjaard, G., E. Koreman, E., Metcalfe, D., G. Moore, G., Ericsson, P. 2018.** NOM-removal by the SIX-process. *Water Pract. Technol.* 13(3): 254-541. DOI: [10.2166/wpt.2018.072](https://doi.org/10.2166/wpt.2018.072).
- Gang, D., Clevenger, T. E., Banerji, S.K. 2003.** Relationship of chlorine decay and THMs formation to NOM size. *J. Hazard Mater.* 96(1): 1-12. DOI: [10.1016/s0304-3894\(02\)00164-4](https://doi.org/10.1016/s0304-3894(02)00164-4).
- Gu, J.D., Fan, X.J., Li, H.B., Zhao, Z.Y. 2006.** Molecular size distribution of dissolved organic matter in water of the Pearl River and trihalomethane formation characteristics with chlorine and chlorine dioxide treatments. *J. Hazard Mater.* 134: 60-66. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2005.10.032](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.10.032).
- Han, Q., Yan, H., Zhang, F., Xue, N., Wang, Y., Chu, Y., Gao, B. 2015.** Trihalomethanes (THMs) precursor fractions removal by coagulation and adsorption for biotreated municipal wastewater: molecular weight, hydrophobicity/hydrophilicity and fluorescence. *J. Hazard Mater.* 297: 119-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.04.070>.
- Han, J., Zhang, X. 2018.** Evaluating the comparative toxicity of DBP mixtures from different disinfection scenarios: a new approach by combining freeze-drying or rotoevaporation with a marine polychaete bioassay. *Environ. Sci. Technol.* 52: 10552-10561. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02054>.
- Hua, G., Reckhow, D.A. 2007.** Characterization of disinfection byproduct precursors based on hydrophobicity and molecular size. *Environ. Sci. Technol.* 41: 3309-3315. DOI: [10.1021/es062178c](https://doi.org/10.1021/es062178c).
- Jiang, J., Li, W., Zhang, X., Liu, J., Zhu, X. 2018.** A new approach to controlling halogenated DBPs by GAC adsorption of aromatic intermediates from chlorine disinfection: effects of bromide and contact time. *Separ. Purif. Technol.* 203: 260-267. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.04.050>.
- Karapinar, N., Uyak, V., Soylu, S., Topal, T. 2014.** Seasonal Variations of NOM Composition and their Reactivity in a Low Humic Water. *Environ. Prog. Sustain. Energy.* 33(3): 962-971. DOI: [10.1002/ep.11878](https://doi.org/10.1002/ep.11878).
- Kottelat, R., Vignati, D. A. L., Chanudet, V. & Dominik, J. 2008.** Comparison of small- and large-scale ultrafiltration systems for organic carbon and metals in freshwater at low concentration factor. *Water Air Soil Pollut.* 187(1): 343-351. DOI: [10.1007/s11270-007-9504-z](https://doi.org/10.1007/s11270-007-9504-z).
- Kristiana, I., Tan, J., Joll, C.A., Heitz, A., von Gunten, U., Charrois, J.W.A. 2013.** Formation of N-nitrosamines from chlorination and chloramination of molecular weight fractions of natural organic matter. *Water Res.* 47 (2), 535-546. DOI: [10.1016/j.watres.2012.10.014](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.014).

- Li, J., Moe, B., Vemula, S., Wang, W., Li, X.F. 2016.** Emerging Disinfection Byproducts, Halobenzoquinones: Effects of Isomeric Structure and Halogen Substitution on Cytotoxicity, Formation of Reactive Oxygen Species, and Genotoxicity. *Environ. Sci. Technol.* 50: 67446752. DOI: 10.1021/acs.est.5b05585
- Matilainen, A., Lindqvist, N., Korhonen, S., Tuhkanen, T. 2002.** Removal of NOM in the different stages of the water treatment process, *Environ. Int.* 28: 457–465. DOI: 10.1016/s0160-4120(02)00071-5.
- Mao, Y., Guo, D., Yao, W., Wang, X., Yang, H., Xie, Y.F., Komarneni, S., Yu, G., Wang, Y. 2018.** Effects of conventional ozonation and electro-peroxone pretreatment of surface water on disinfection by-product formation during subsequent chlorination. *Water Res.* 130: 322-332. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.019>.
- Niu, Z., Zhao, P., Zhang, N., Zhang, Y. 2018.** Characteristics of molecular weight distribution of dissolved organic matter in bromide-containing water and disinfection by-product formation properties during treatment processes. *J. Environ. Sci.* 65: 179–189. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2017.03.013>.
- Nkambule, T.T.I., Mamba, B., Msagati, T.A.M., Ncube, E.C., Marais, S.S. 2019.** Assessment of trihalomethane (THM) precursors using specific ultraviolet absorbance (SUVA) and molecular size distribution (MSD). *J. Water. Process. Eng.* 27: 143–151. DOI: [https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.039](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.11.0</a></p><p><b>Özdemir, K. 2016.</b> The use of carbon nanomaterials for removing natural organic matter in drinking water sources by a combined coagulation process. <i>Nanomater Nanotechnol.</i>,6: 1-12. DOI: 10.1177/1847980416663680.</p><p><b>Roe, J., Baker, A., Bridgeman, J. 2008.</b> Relating organic matter character to trihalomethanes formation potential: a data mining approach, <i>Water Sci. Technol.</i> 8(6): 717–723. DOI:10.2166/ws.2008.150</p><p><b>Sillanpää, M., Bhatnagar, A., Hed, L., Lahtinen, T., Gjessing, ET., Matilainen, A. 2011.</b> An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. <i>Chemosphere.</i> 83: 1431-1442. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.01.018.</p><p><b>Song, J., Jin, P., Jin, X., Wang, X.C. 2019.</b> Synergistic effects of various in situ hydrolyzed aluminum species for the removal of humic acid. <i>Water Res.</i> 148,106-114. DOI: <a href=).
- Schwalger, B., Spitzt, A. 2009.** Separation of natural organic colloids with a PALL tangential flow filtration system. *Water Sci. Technol.* 9(5): 583-590. DOI: 10.2166/ws.2009.574
- Swietlik,, J., Dabrowska, A., Raczyk-Stanislawiak, U., Nawrocki, J. 2004.** Reactivity of natural organic matter fractions with chlorine dioxide and ozone. *Water Res.* 38: 547–558. DOI: 10.1016/j.watres.2003.10.034.
- USEPA (US Environmental Protection Agency), 1998.** National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection byproducts notice of data availability. *Fed. Regist.* 63 (61): 15673-15692. <http://www.epa.gov/>.
- Uyak, V., Özdemir, K., Toröz, İ. 2007.** Seasonal variations of disinfection by-product precursors profile and their removal through surface water treatment plants. *Sci. Total. Environ.* 390: 417-424. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.09.046.
- Wang, DS., Feng, CH., Wei, QS., Shi, B., Zhang, L., Tang, HX. 2008a.** Seasonal variations of chemical and physical characteristics of dissolved organic matter and trihalomethane precursors in a reservoir: a case study *J. Hazard Mater.* 150: 257-264. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.04.096
- Wei, Q., Feng, C., Wang, D., Shi, B., Zhang, L., Wei, Q., Tang, H. 2008a.** Seasonal variations of chemical and physical characteristics of dissolved organic matter and trihalomethane precursors in a reservoir: a case study. *J. Hazard. Mater.* 150: 257–264. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.04.096.
- Wei, Q., Wang, D., Qiao, C., Shi, B., Tang, H. 2008b.** Size and resin fractionations of dissolved organic matter and trihalomethane precursors from four typical source waters in China. *Environ. Monit. Asses.* 141: 347-357. DOI: 10.1007/s10661-007-9901-1.
- Wilding, A., Liu, R., Zhou, J. L. 2005.** Dynamic behaviour of river colloidal and dissolved organic matter through cross-flow ultrafiltration system. *J. Colloid Interface Sci.* 287(1): 152–158. DOI:10.1016/j.jcis.2005.01.114.
- Xu, B., Zhu, H.Z., Lin, Y.L., Shen, K.Y., Chu, W.H., Hu, C.Y., Tian, K.N., Mwakagenda, S.A., Bi, X.Y. 2012.** Formation of volatile halogenated byproducts during the chlorination of oxytetracycline. *Water Air Soil Pollut.* 223: 4429- 4436. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1206-5>.
- Yan, M., Roccaro, P., Fabbricino, M., Korshin, G.V. 2018.** Comparison of the effects of chloramine and chlorine on the aromaticity of dissolved organic matter and yields of disinfection by-products. *Chemosphere.* 191: 477-484. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.063>.
- Yang, P., Huan, L., Xiangru, Z., Aimin, L. 2016.** Characterization of natural organic matter in drinking water: Sample preparation and analytical approaches. *Trends Environ. Anal. Chem.* 12: 23-30. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.teac.2016.11.002>.

- Zha, X.S., Liu, Y., Liu, X., Zhang, Q., Dai, R.H., Ying, L.W. 2014.** Effects of bromide and iodide ions on the formation of disinfection by-products during ozonation and subsequent chlorination of water containing biological source matters. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (4): 2714–2723. DOI: 10.1007/s11356-013-2176-x
- Zhang, X., Chen, Z., Shen, J., Zhao, S., Kang, J., Chu, W., Zhou, Y., Wang, B. 2020.** Formation and interdependence of disinfection byproducts during chlorination of natural organic matter in a conventional drinking water treatment plant. *Chemosphere.* 242: 125227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125227>.
- Zhao, Z.-Y., Gu, J.-D., Fan, X.-J., Li, H.-B. 2006.** Molecular size distribution of dissolved organic matter in water of the Pearl River and trihalomethane formation characteristics with chlorine and chlorine dioxide treatments. *J. Hazard Mater.* 134(1–3): 60–66, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.10.032.
- Zhao, Y., Xiao, F., Wang, D., Yan, M., Bi, Z. 2013.** Disinfection byproduct precursor removal by enhanced coagulation and their distribution in chemical fractions. *J. Environ. Sci.* 25 (11): 2207–2213. DOI: 10.1016/s1001-0742(12)60286-1
- Zheng, Q., Yang, X., Deng, W., Le, X.C., Li, X.F. 2016.** Characterization of natural organic matter in water for optimizing water treatment and minimizing disinfection by-product formation. *J. Environ. Sci.* 42 (4): 1–5. DOI:10.1016/j.jes.2016.03.005



## Eğilme Etkisindeki Büyük Dairesel Boşluklu Kirişlerin Davranışının Deneysel İncelenmesi

*Experimental Investigation of Behavior of Beams with Large Circular Opening Under Bending*

Abdulwahed Qaderi<sup>1</sup> , Mouad Ben Saoud<sup>2</sup> , Volkan Eren<sup>3</sup> , Abdullah Gündoğay<sup>1</sup> , Sila Yaman<sup>1</sup> , Hamide Tekeli Kabaş<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup>Mouad Ben Saoud Tripoli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Tripoli, Libya

<sup>3</sup>Volkan Eren Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, İnşaat Bölümü, Zonguldak, Türkiye

### Öz

Günümüzde betonarme binalarda hem ihtiyaç hem de estetik açıdan su tesisatı, telefon hattı, bilgisayar ağı, vb. hizmetlerin dösemelerin altından geçirilerek asma tavan ile kapatılması tercih edilmektedir. Ancak bu tesisat borularının geçirilmesi taşıyıcı sistem elemanlarının beton dökümü sonrasında gerçekleştirilmektedir. Bu yüzden uygulamada bazen bu borular estetik kaygılarla uygulama mühendislerinin de haberi olmadan kiriş elemanlarında boşluk açılarak oluşturulmaktadır. Dikdörtgen, kare veya daire şeklinde olabilen bu boşluklar taşıyıcı elemanlarda önemli ölçüde zayıflamalara yol açmaktadır. Bu çalışmada betonarme kiriş gövdesinde bırakılan boşluk adedinin ve yatay doğrultudaki konum değişiminin kiriş davranışının üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaçla dokuz adet betonarme kiriş numunesi üretilmiş ve dört noktalı eğilme testine maruz bırakılarak deneyleri yapılmıştır. Bu kirişlerden bir adedi boşlusuz referans numunedir. Diğer tüm numunelerde dairesel boşluk bırakılmış ve kiriş üzerindeki boşluk adedi ve konumu değiştirilmiştir. Elde edilen sonuçlardan boşluk adedi arttıkça ve boşluğun yeri mesnete yaklaşıkça numune yük taşıma kapasitesinin, yerdeğiştirme yeteneğinin ve enerji tüketme kapasitesinin önemli mertebeleerde azaldığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Betonarme, Dairesel boşluk, Eğilme, Kiriş

### Abstract

It is preferred in reinforced concrete buildings nowadays from the structural and serviceability point of view to hide the service pipes and cables like telephone lines, computer networks, etc. under the suspended ceilings or raised floors. However, the installation of those services in the existing buildings leads in real life to an opening in structural elements especially beams without the knowledge of the structural engineers. These openings which may be in all shapes circular, rectangular, or square, can weaken the structural elements significantly. The effect of change the number and the location of these openings in the horizontal direction of the reinforced concrete beams on behavior is investigated in this study. For this reason, nine reinforced concrete beams are constructed and tested by performing a four-point bending experiment. One of these beams is beam without gaps as reference. The other beams have circular openings with different numbers and locations. The test results clearly show that the load-carrying capacity, deflection, and energy assumption of the specimen decreased significantly as the number of openings increased and the location of the openings approached the support.

**Keywords:** Reinforced concrete, Circular opening, Bending, Beam

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: hamidetekeli@sdu.edu.tr

Abdulwahed Qaderi [orcid.org/0000-0002-7405-9027](https://orcid.org/0000-0002-7405-9027)

Mouad Ben Saoud [orcid.org/0000-0002-0077-4124](https://orcid.org/0000-0002-0077-4124)

Volkan Eren [orcid.org/0000-0002-3525-7346](https://orcid.org/0000-0002-3525-7346)

Abdullah Gündoğay [orcid.org/0000-0002-5355-9014](https://orcid.org/0000-0002-5355-9014)

Sila Yaman [orcid.org/0000-0003-3131-1090](https://orcid.org/0000-0003-3131-1090)

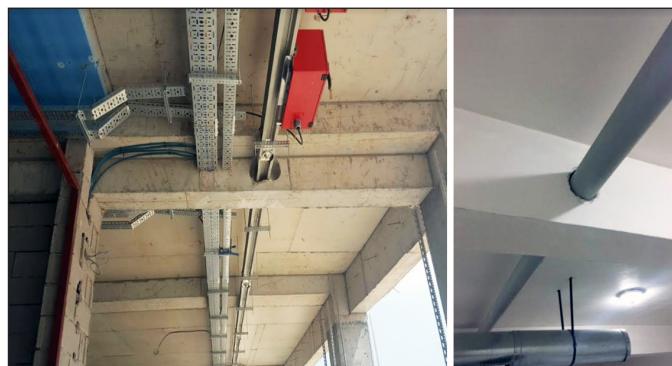
Hamide Tekeli Kabaş [orcid.org/0000-0002-3515-6836](https://orcid.org/0000-0002-3515-6836)



## 1. Giriş

Ülkemizde son yıllarda meydana gelen depremler, mevcut binaların deprem güvenliğinin sağlanmasının ve depreme dayanıklı binaların inşa edilmesinin önemini ortaya çıkarmıştır. Mevcut binaların deprem güvenliği ancak taşıyıcı sistem elemanlarının güvenliği ile sağlanabilir. Betonarme binaların taşıyıcı sistemi tamamlandıktan sonra elektrik tesisatı, su tesisatı, telefon kablosu, vb. hatların geçirilmesi için kiriş elemanlarının gövdesinde hesaplamalarda dikkate alınmayan boşluklar oluşturulabilmektedir. Bu boşluklar boyut olarak küçük veya büyük, geometrisi ise genellikle kare, dikdörtgen veya daire şeklinde olabilmektedir (Şekil 1). Bırakılan bu boşlukların kiriş davranışını dolayısıyla bina davranışını olumsuz yönde etkileyeceği ortadadır. Bu nedenle kirişte bırakılan bu boşlukların betonarme kiriş davranışının üzerindeki etkilerinin tanımlanması büyük önem taşımaktadır.

Literatürde bulunan bazı araştırmalarda, kiriş gövdesinde açılan boşlukların şekil ve boyut değişimlerinin kiriş davranışının üzerindeki etkinliği deneyel olarak araştırılmıştır. Örneğin, Yang vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, yüksek dayanımlı derin kirişlerde dikdörtgen boşlukların etkisi beton dayanımı, kesme açılığı oranı ve boşluk boyutları için deneyel ve analitik olarak araştırılmıştır. Deneyler sonucunda, boşluk boyutunun ilk yüklemeye adımlarında eleman yerdeğiştirmesini fazla etkilemediği ancak diagonal çatlak oluşumundan sonra oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca beton dayanımı değişiminin eleman rijitliğini fazla etkilemediği de vurgulanmıştır. Yoo vd. (2007), boşluklu ve öngörmeli derin kirişlerin taşıma gücü yükünü deneyel olarak araştırmış ve sonuçları mevcut tasarım yöntemleriyle karşılaştırmıştır. Elde edilen sonuçlardan, mevcut tasarım yöntemlerinin boşluklu derin kirişlerde yetersiz kaldığı görülmüştür. Lee vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada, çeşitli konumlarda dairesel



Şekil 1. Kirişlerde bırakılan boşluklara örnekler.

boşlukları bulunan derin kirişlerin davranışları deneyel olarak incelenmiştir. Deneyler sonucunda boşluk bulunan numunelerin yük taşıma kapasitesinin, boşluklu numuneye göre yaklaşık %10 azaldığı görülmüştür.

Campione ve Minafò (2012) tarafından yapılan çalışmada, düşük kesme açılığı oranına sahip derin kirişlerde dairesel boşlukların etkisi deneyel ve analitik olarak incelenmiştir. Çalışmada boşluğun konumu ile enine ve boyuna donatı miktarı değişken parametre olarak seçilmiştir. Numuneler sonlu elemanlar programı ATENA2D ile modellenerek sonuçlar kıyaslanmıştır. Al-Sheikh (2014) yaptığı çalışmada, farklı konumlarda, boyutlarda ve şekillerde oluşturulan boşluğun kirişlerin eğilme davranışının üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmada 27 adet kiriş deneyi yapılmıştır. Kirişlerdeki boşluk konumunun kesme bölgesinde olması durumunda yük taşıma kapasitesinde maksimum azalma olduğu ve dairesel boşluğa sahip elemanların yük taşıma kapasitesinin kare ve dikdörtgen boşluklu elemanlara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, Chin ve Doh (2015) tarafından yapılan çalışmada, gövdesinde iki adet kare veya dairesel boşluk bulunduran derin kirişlerde boşluk boyutu ve şeklinin etkisi araştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda dairesel boşluklu kirişlerin yük taşıma kapasitesinde %30-35, kare boşluklu kirişlerde ise %40-80 azalma meydana gelmiştir.

Özkal (2017), derin kirişlerde düşey doğrultudaki boşluk konumunun ve şeklinin yapısal davranış üzerindeki etkilerini deneyel olarak incelemiştir. Boşluklar daire, kare ve dikdörtgen şeklinde seçilmiştir. Boşlukların hasar türü, taşıma gücü, süneklik ve rijitlik değerlerine olan etkileri değerlendirilmiştir. En önemli davranış farkına boşluk şeklinin neden olduğu görülmüştür. Shoeib ve Sedawy (2017) tarafından yapılan çalışmada, kirişlerdeki farklı boyutlarda ve şekillerde (kare, dikdörtgen ve dairesel) oluşturulan boşluğun davranışının üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaçla beton dökülmeden önce, beton döküldükten sonra ve kiriş belirli bir yükle maruz bırakılarak belli seviyede hasar gördükten sonra boşluk bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlardan, boşluğun beton dökülmeden önce veya sonra oluşturulması arasında önemli bir davranış farklılığının ortaya çıktığı ve dairesel boşluğa sahip kirişlerin daha fazla yük taşıdığını görülmüştür. Abdo ve Mabrouk (2017), saf burulmaya maruz kalan dikdörtgen boşluklu kirişlerin davranışının üzerinde boşluk sayısının, kiriş yüksekliğinin ve etriye aralığının etkisini incelemiştir. ANSYS programı kullanılarak numuneler modellenmiş ve deneyler esnasında oluşan çatlakların dağılımı kıyaslanmıştır. Boşluk sayısının azalması, kiriş yüksekliğinin artması

veya etriye aralığının azalması kirişlerin burulma kapasitesini artırmıştır. Osman vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, dairesel boşluklu betonarme kirişlerin kesme dayanımı deneysel olarak ve sonlu elemanlar programı ANSYS kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada kiriş kesme açılığı oranı, boşluk boyutu ve konumu değişken parametre olarak seçilmiştir. Deney ve analiz sonuçları birbirile uyumlu olarak elde edilmiştir.

Jasim vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, gövdesinde iki adet kare boşluk bulunan derin kirişlerde boşluk boyutu ve konumunun davranış üzerindeki etkisi incelenmiştir. Numuneler ABAQUS sonlu elemanlar programı kullanılarak modellenmiş ve deney sonuçlarıyla kıyaslanmıştır. Elkersh vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, kemerli kirişlerde dikdörtgen boşluk bulunması durumunun etkileri deneysel ve analitik olarak incelenmiştir. ANSYS programı kullanılarak analitik çalışma genişletilerek boşluk genişliği ve şeklärın incelendiği parametrik çalışma da yapılmıştır.

Aykaç ve Yılmaz (2011) tarafından yapılan çalışmada, gövdesinde daire veya üçgen şeklinde düzenli büyük boşluklar bulunan betonarme kirişlerin davranışını incelenmiştir. Boşluk geometrisi ve çekme donatısı oranı değişken parametre olarak seçilmiştir. Yapılan deneyler, dayanım ve süneklik açısından dairesel boşluklu kirişlerin, üçgen boşluklu kirişlere göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Boşluklardan dolayı kirişlerin eğilme rıjiliklerinde %10-30 arasında bir azalma meydana gelmiştir. Kalkan (2014) yaptığı çalışmada, düzenli boşluklara ve farklı donatı düzenebine sahip betonarme kirişlerin deneylerinden bulduğu sehim değerlerini literatürde mevcut bulunan formüllerden elde edilen analitik değerlerle karşılaştırmıştır. Kalkan vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, çekme donatısı oranı değişen düzenli kare boşluklu betonarme kirişlerin eğilme davranışını ANSYS programı kullanılarak araştırılmıştır. Donatı oranının artmasıyla kirişlerin yük taşıma kapasitesi ve eğilme rıjiliklerinde artış, sehim de ise azalma sağlanarak boşluksuz kirişin davranışına yaklaşmanın mümkün olduğu görülmüştür.

Murugesan ve Narayanan (2017), betonarme kiriş içerisinde farklı boyutlarda ve konumlarda oluşturulan bir adet dairesel boşluğun eğilme davranışının üzerindeki etkisini deneysel ve teorik olarak incelemiştir. Deneylerden elde edilen ilk çatlama yükünün ve eğilme dayanımının teorik hesaplamalar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Kumbasaroglu ve Korkmaz (2020), betonarme kirişlerin içerisinde geçen tesisat borularının eğilme dayanımına etkisini deneysel olarak araştırmıştır. Kirişlerin boyuna doğrultusunda çekme,

basınç ve tarafsız eksen seviyesinde dairesel kesitli boşluklar bırakılmıştır. Boşlukların mümkün olduğunda tarafsız eksen seviyesinden geçmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

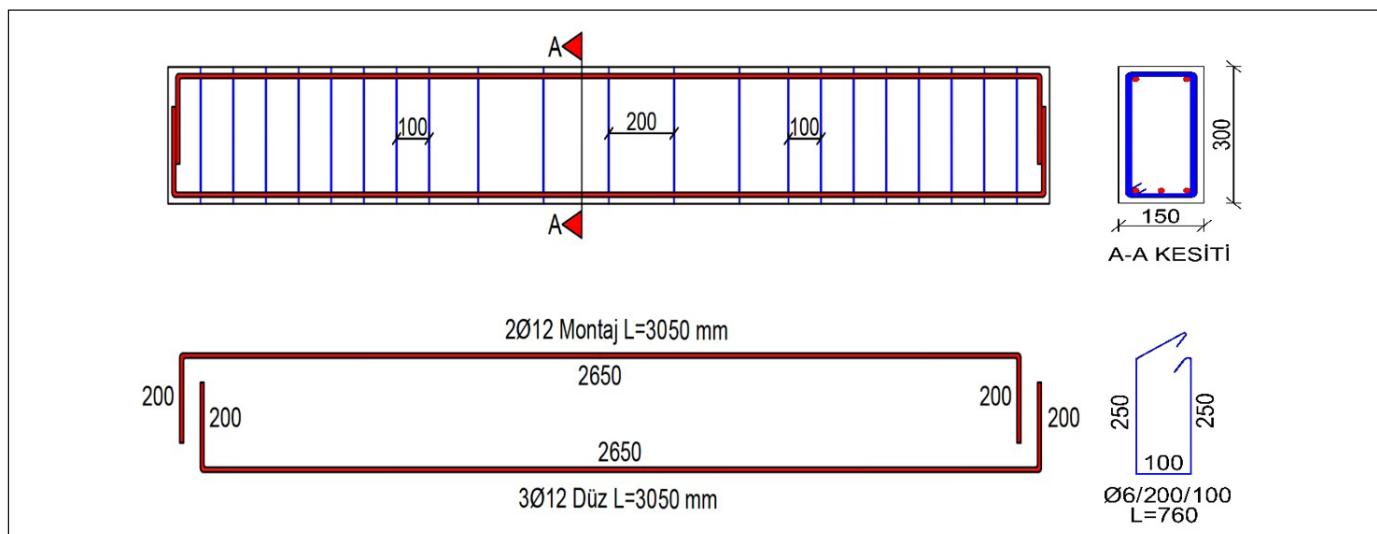
Literatürde genel olarak, kiriş gövdesinde düzenli şekilde boşluğun bırakıldığı veya derin kirişler için boşluğun incelendiği çalışmalarla rastlanmaktadır. Özel bir donatı tasarımını yapılmaksızın tesisat borusu vb. gibi gerekçelerle sonradan oluşturulan boşluğun davranış üzerindeki etkinliğini inceleyen çalışma sayısı oldukça az sayıdır. Dolayısıyla bu konudaki verilerin artırılması, boşlukların eleman davranışını nasıl etkilediğinin anlaşılmasında ve onarım yönteminin seçiminde kolaylık sağlayacaktır. Bu amaçla yapılan deneysel çalışmada, betonarme kiriş üzerinde sonradan oluşturulan boşlukların adedinin ve yatay doğrultudaki konumunun değişiminin kiriş davranışının üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda bir adedi boşluksuz diğerleri bir, iki ve üç adet dairesel boşluğa sahip olmak üzere toplam dokuz adet dikdörtgen kesitli kiriş numunesi üretilmiştir. Tüm kiriş numunelerinin dört noktalı eğilme testleri gerçekleştirılmıştır. Deneylerden kirişlerin hasar dağılımları, yük taşıma kapasitesi, maksimum yerdeğiştirme, enerji tüketme kapasitesi ve eğilme rıjitliği elde edilerek gerekli kıyaslamalar yapılmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

Çalışma kapsamında 150 mm x 300 mm en kesitine ve 2700 mm uzunluğa sahip  $\frac{1}{2}$  ölçekli dokuz adet betonarme kiriş numune üretilmiştir. Kirişin üstünde 2f12, altında ise 3f12 boyuna donatı mevcuttur. Kiriş numune boyutlarının ve donatılarının seçiminde ülkemizdeki mevcut kirişlerin genel özelliklerini yansıtması amaçlanmıştır. Sarılma bölgesinde f6/100 mm, orta bölgede f6/200 mm aralıklarla enine donatı uygulanmıştır. Enine ve boyuna donatı miktarları, Türkiye Bina Deprem Yönetmeliği 2018 (TBDY)'in minimum koşullarını sağlayacak şekilde seçilmiştir. Eriye kancaları 135° olacak şekilde hazırlanmıştır. Üretilen betonarme kirişlere ait boyut ve donatı detayları Şekil 2'de verilmiştir.

Beton dökümü sırasında beton karışımından 150 mm boyutlarında küp numuneler alınmış ve 28 gün süre ile kür edilmiştir. Kür işlemi sonunda deney gününde test edilen küp numunelerin ortalama beton basınç dayanımları ( $f_c$ ) Çizelge 1'de verilmiştir.

Kiriş üretiminde kullanılan 6 ve 12 mm çapındaki nervürlü donatıdan üçer adet numune alınarak çekme deneyleri gerçekleştirılmıştır. Deneyler sonucunda 6 mm çapındaki donatı için ortalama akma dayanımı 330 MPa, 12 mm çapındaki donatı için 450 MPa olarak elde edilmiştir.



**Şekil 2.** Kirişlerin boyut ve donatı detayı.

**Çizelge 1.** Numunelere ait beton basınç dayanım değerleri.

Kiriş No	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9
$f_c$ (MPa)	47	46	45	44	44	42	42	42	47

Üretilen dokuz adet kirişten bir adedi boşlusuz, dört adedi tek boşluklu, üç adedi iki boşluklu ve bir adedi ise üç boşluklu olarak tasarlanmıştır. Tüm boşluklu numunelerde dairesel boşluk çapı 150 mm olarak uygulanmıştır. Tek boşluklu dört adet kirişte boşluğun kiriş başlangıcına olan mesafeleri 375 mm, 525 mm, 825 mm ve 1350 mm olarak seçilmiştir. İki boşluklu ve üç boşluklu numunelerde kıyaslamaların yapılabilmesi için boşluğun başlangıç mesafesi 375 mm olarak sabit tutulmuş ve boşluklar arası mesafeler değiştirilmiştir. Kiriş numunelerindeki boşluk adedi ve konumları, mevcut binalardaki kiriş elemanlarında sonradan oluşturulan boşluk özelliklerine benzeştirilerek seçilmiştir. Üretilen deney numunelerine ait boşluk sayıları ve konumları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2'de tanımlanan kodlamada N harfi "Numune" ifadesinin kısaltılmasını, N harfinden sonraki rakamlar sırasıyla numune numarasını, boşluk adedini, boşluğun kiriş başlangıcına olan mesafesini (mm) ve boşluklar arası mesafeyi (mm) göstermektedir.

Numuneler üretim ve kür işleminin tamamlanmasının ardından dört noktalı eğilme testine maruz bırakılmıştır. Deney sırasında kullanılan yükleme düzeneği şematik ve fotoğraf olarak Şekil 3'te verilmiştir. Kirişler, solda sabit, sağda ise hareketli olarak mesnetlenmiştir.

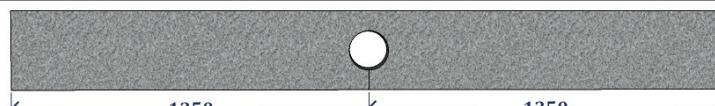
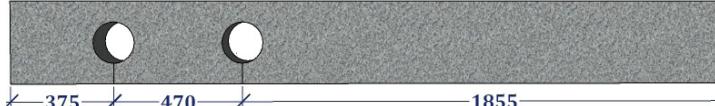
Deneysel sırada uygulanan yükün değeri, 300 kN kapasiteli yük hücresi ile ölçülmüştür. Deney numunelerinin üzerindeki yerdeğiştirmeler (düsey yükün uygulandığı noktalarda, kiriş açıklığının ortasında ve mesnet bölgelerinde) 0.01 mm hassasiyetli yerdeğiştirme ölçerler (LVDT) ile ölçülmüştür. Deneylerde kullanılan ölçüm aletlerinin konumları Şekil 4'te verilmiştir.

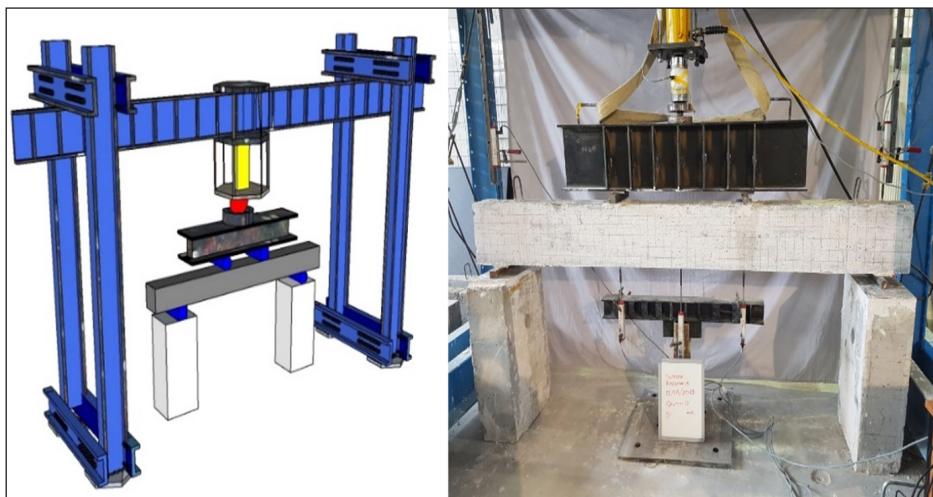
Betonarme kirişlerin deneyleri yerdeğiştirme kontrollü olarak yapılmıştır. Deneylerde uygulanan yükleme protokolü Şekil 5'te verilmiştir.

### 3. Bulgular

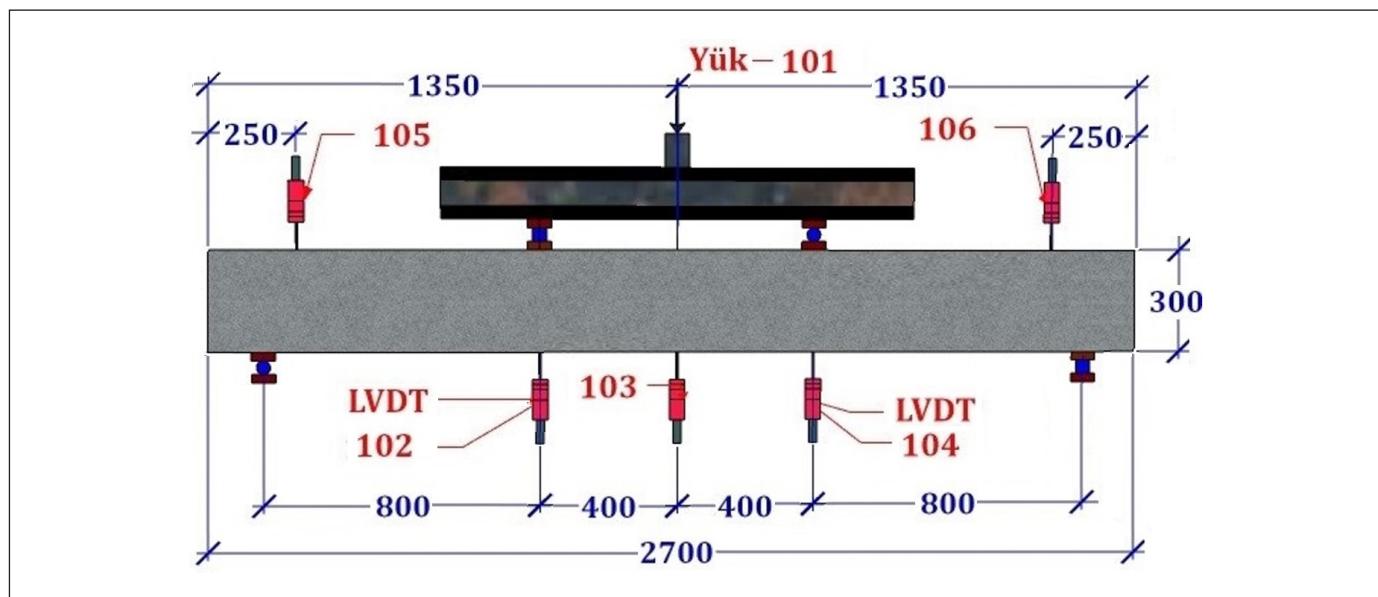
Deneylere başlamadan önce, deney esnasında oluşan hasarın net bir şekilde gözlenebilmesi için tüm kiriş numunelerin yüzeyleri kireç ile badana edilerek 50 mm aralıklarla karelaj uygulaması yapılmıştır. Kiriş numuneleri sırasıyla deney düzeneğine yerleştirilerek dört noktalı eğilme testine maruz bırakılmıştır. Deneyler sırasında yükleme, el kumandalı hidrolik kriko yardımıyla yapılmıştır. Oluşan çatlaklar ve hasarlar, yükleme ve boşaltmanın her adımı için renkli tebeşir kullanılarak kirişler üzerine çevrim numarası ile birlikte işaretlenmiştir. Kiriş numunelerde deney sırasında oluşan hasarlara ait görünümler Şekil 6'da verilmiştir.

**Çizelge 2.** Üretilen deney numunelerine ait boşluk sayıları ve konumları.

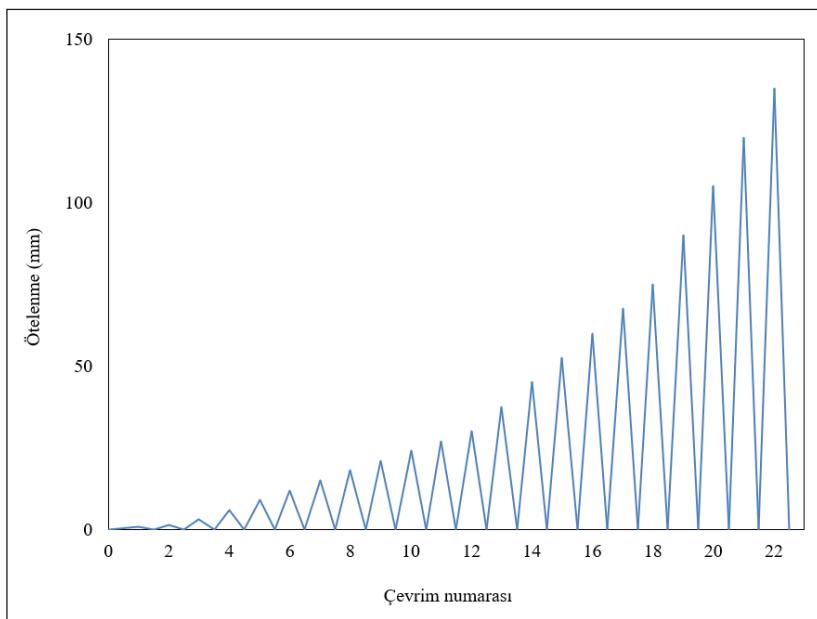
Numune Adı	Numune Özellikleri
N1-0	
N2-1-375	
N3-1-525	
N4-1-825	
N5-1-1350	
N6-2-375-260	
N7-2-375-370	
N8-2-375-470	
N9-3-375-260	



**Şekil 3.** Yükleme düzeneğinin görünümü.



Şekil 4. Ölçüm aletlerinin konumları.

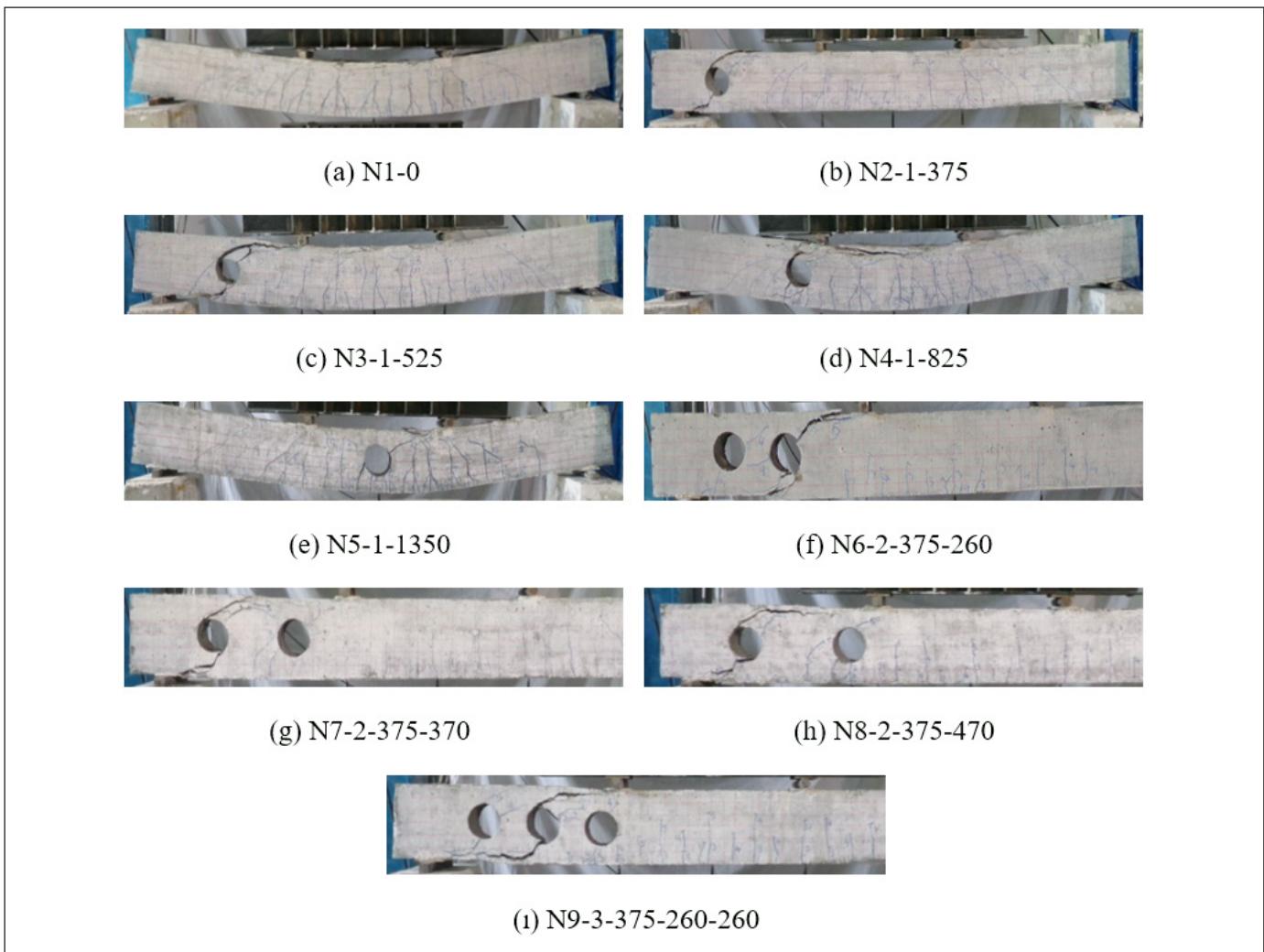


Şekil 5. Deneylerde uygulanan yükleme protokolü.

Boşluksuz referans kiriş numunenin (N1-0) hasarı sünek eğilme kırılması şeklinde ortaya çıkmıştır. Kiriş üzerinde çok sayıda kılcal eğilme çatlağı oluşmuştur. Yüklemenin ilerlemesiyle çatlaklarda genişleme meydana gelmiştir. Numunenin basınç bölgesinde betonun ezilmesi ile deney sonlandırılmıştır (Şekil 6.a). Boşluklu kiriş numunelerde, boşluksuz numuneye göre daha az sayıda eğilme çatlağı meydana gelmiş ve bunu takiben boşluk kenarından numunenin üst ve altına doğru çapraz devam eden ani kesme hasarının oluşması ile güç tükenmesine ulaşılmıştır.

Yük kapasitesinde meydana gelen ani düşme ile deneyler sonlandırılmıştır.

Tek boşluklu numunelerin (N2-1-375, N3-1-525, N4-1-825, N5-1-1350) hasarları kendi içerisinde genel olarak kıyaslandığında, boşluğun mesnete yaklaşması ile numunedeki eğilme çatlağı sayısının azlığı ve kesme kırılması ile daha erken seviyelerde güç tükenmesine ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 6.b-e). Dolayısıyla kiriş davranışının, boşluğun kiriş mesnetine yaklaşması ile daha kritik hale geldiği söylenebilir. Boşluğun açıklık ortasına yaklaşığı



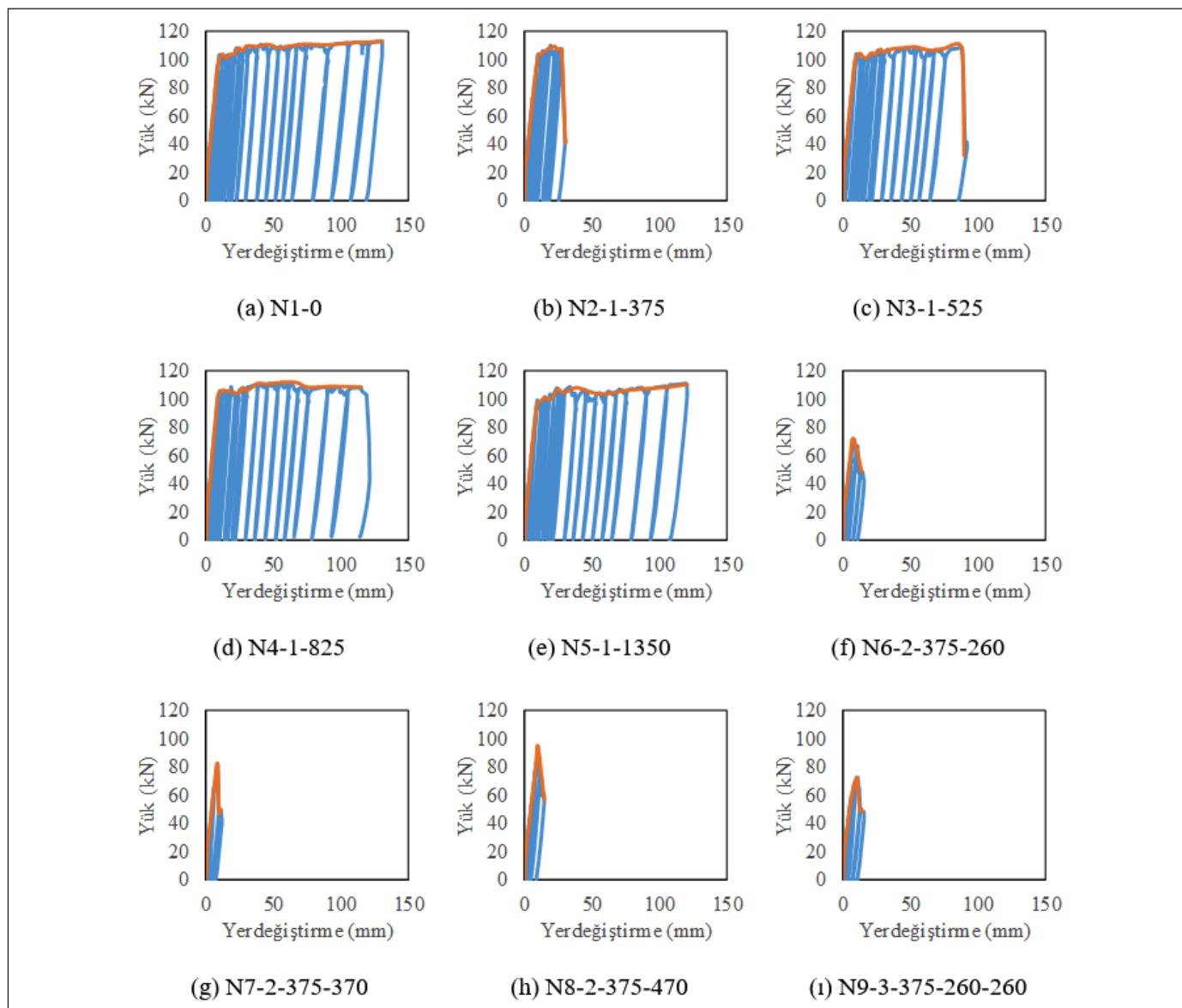
**Şekil 6.** Numunelere ait hasar görüntümleri.

numunelerde (N4-1-825, N5-1-1350) güç tükenmesi sırasında, boşluğun üst tarafında meydana gelen eğik çatlamadan kiriş üstüne kadar uzanmasıyla bu bölgede beton basınç ezilmesinin de ortaya çıktıığı görülmüştür (Şekil 6.d-e). Mesnete en uzak (tam ortasında) boşluk bulunan kiriş numunesinde (N5-1-1350) gözlenen davranış neredeyse boşluksuz kiriş (N1-0) davranışına benzemektedir. İki (N6-2-375-260, N7-2-375-370, N8-2-375-470) ve üç boşluklu (N9-3-375-260) numunelerde de güç tükenmesi boşluk etrafındaki ani kesme hasarı ile ortaya çıkmıştır (Şekil 6.f-i). Ayrıca birden fazla boşluğa sahip numunelerde tek boşluklu numunelere göre daha az sayıda kılcal eğilme çatlaşının ortaya çıktıığı görülmüştür.

Deneysel sırada elde edilen tüm numunelere ait çevrimisel yük – yerdeğiştirme grafikleri ve her bir çevrime ait tepe noktalarının birleştirilmesi ile oluşturulan zarf eğrileri

Şekil 7'de sunulmuştur. Grafikler, boşluk adedi ve yerleşim farklılığının eleman davranışını önemli derecede etkilediğini göstermektedir. İki ve üç boşluklu numunelerin tamamında kiriş ani şekilde gevrek kırılmaya maruz kalırken, tek boşluklu numunelerde boşluk açıklık ortasına yaklaşıkça boşluksuz referans kiriş numuneye yakın bir davranış sergilemiştir. Ancak boşluğun mesnete yakın bölgelerde konumlanmasıyla eleman yük taşıma kapasitesine ulaşmış ve kısa bir süre sonra ani olarak güç tükenmesine ulaşmıştır. Benzer sonuçlar boşluksuz referans numunenin zarf eğrisi ile bir, iki ve üç boşluklu numunelerin zarf eğrilerinin kıyaslanması sonucunda da görülebilmektedir (Şekil 8).

Betonarme kirişlerin yük taşıma kapasiteleri ( $P$ ), maksimum yerdeğiştirme ( $D$ ), enerji tüketme kapasitesi ve eğilme rıjtılığı sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Buradaki yerdeğiştirme maksimum yükün en fazla %15 azalma meydana geldiği



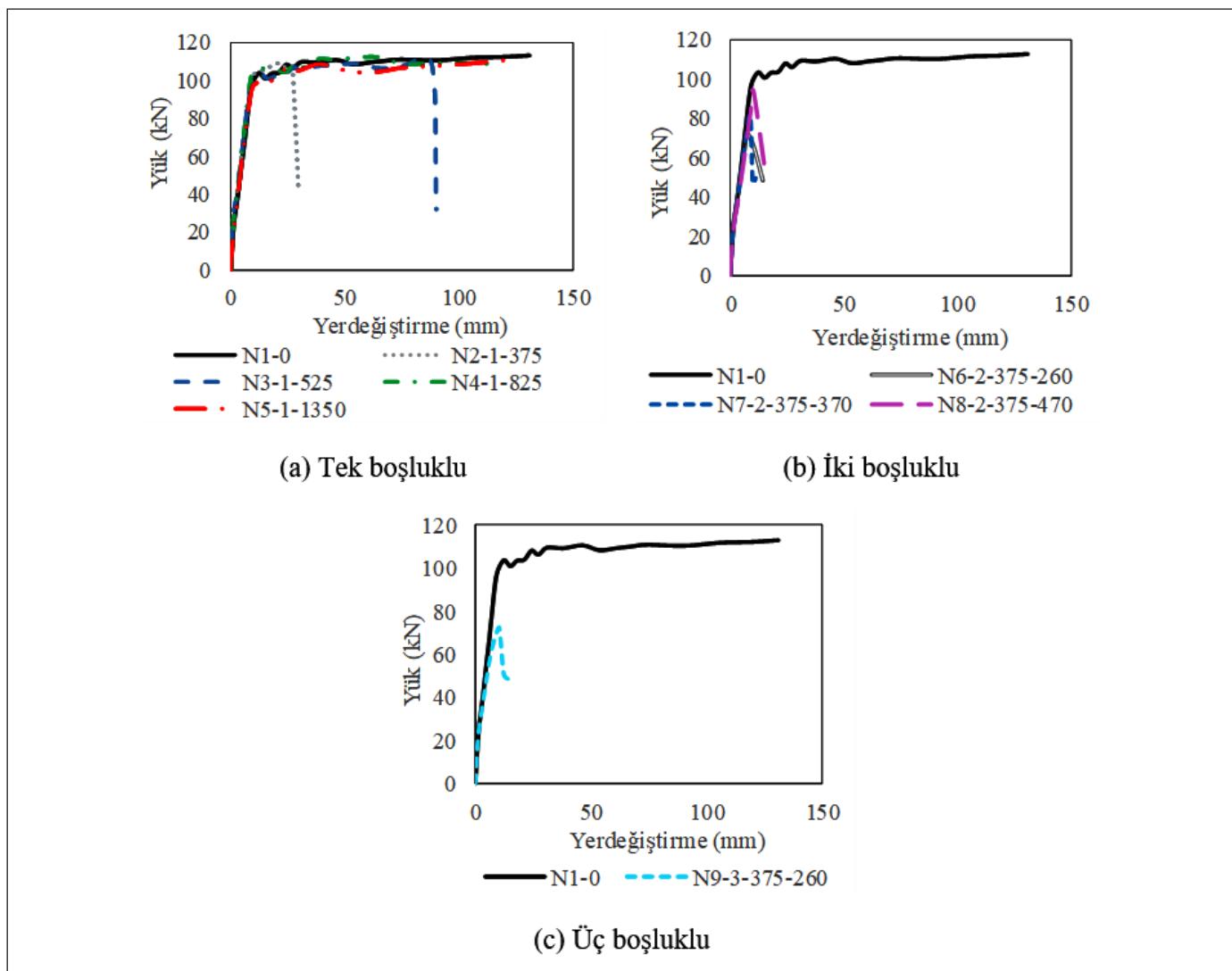
Şekil 7. Numunelere ait çevrimisel yük-yerdeğiştirmeye grafikleri ve zarf eğrileri.

değere karşılık gelen yerdeğiştirmeye değerlerini temsil etmektedir. Yük-yerdeğiştirmeye grafiğindeki her bir çevrim içindeki alan hesaplanarak enerji tüketimi, elde edilen değerlerin toplanması ile de toplam enerji tüketimi elde edilmiştir. Burada toplam enerji tüketimi değeri maksimum yükün en fazla %15 azalmasına karşılık gelen değer için elde edilmiştir. Deney sonuçlarının yorumlanabilmesi açısından boşluklu numunelere ait değerler, boşlusuz referans numuneye oranlanarak elde edilen değişim yüzdeleri de Çizelge 3'te verilmiştir. Yüzdelerdeki artı işaret referans numuneye göre ortaya çıkan artışı, eksi işaret ise azalma oranını göstermektedir.

Çizelge 3 incelendiğinde tek boşluklu numunelerin yük taşıma kapasitesi değerleri boşlusuz referans numuneninki ile benzerlik göstermektedir. Ancak yerdeğiştirmeye değerleri açısından değerlendirildiğinde önemli azalmaların olduğu dikkat çekmektedir. En büyük azalma, boşluğun mesnete yakın olduğu numunelerde ortaya çıkmıştır. Boşluk açıklık ortasına doğru kaydıkça numunenin davranışının boşlusuz referans kirişe yaklaşmaktadır.

#### 4. Tartışma

Betonarme kirişlerin gövdesinde dikdörtgen, kare, daire veya üçgen şeklinde açılan boşluklar, kiriş davranışının



Şekil 8. Boşluk sayısına göre numunelerin zarf eğrilerinin kıyaslanması.

Çizelge 3. Numunelere ait deney sonuçlarının kıyaslanması.

Numune Adı	P (kN)	P (%)	D (mm)	D (%)	Enerji Tüketicisi (kNm)	Enerji Tüketicisi (%)	Rijitlik (kN/mm)	Rijitlik (%)
N1-0	112.83	-	131	-	13978	-	41.15	-
N2-1-375	109.54	-2.92	28	-78.63	2238	-83.99	40.23	-2.24
N3-1-525	108.84	-3.54	88	-32.82	9524	-31.86	37.54	-8.77
N4-1-825	112.11	-0.64	115	-12.21	13172	-5.77	35.78	-13.05
N5-1-1350	110.59	-1.19	121	-7.63	13421	-3.98	24.61	-40.19
N6-2-375-260	71.96	-36.22	9	-93.13	332	-97.62	30.45	-26.00
N7-2-375-370	81.15	-28.08	9	-93.13	414	-97.04	24.85	-39.61
N8-2-375-470	94.00	-16.69	12	-90.84	483	-96.54	20.57	-50.01
N9-3-375-260-260	70.29	-37.70	11	-91.60	348	-97.51	22.61	-45.05

önemli derecede zayıflamasına yol açabilmektedir. Boşluklu kırışlerdeki boşluk şeclinin davranışını etkileyen önemli parametrelerden biri olduğu bilinmektedir (Özkal, 2017). Özellikle dairesel boşluğa sahip kırışların yük taşıma kapasitesinin, diğer boşluk şekillerine göre daha fazla olduğu farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur (Aykaç ve Yılmaz, 2011; Al-Sheikh, 2014; Chin ve Doh, 2015; Shoeib ve Sedawy, 2017). Yapılan çalışma kapsamında betonarme kiriş gövdesinde sonradan ortaya çıkarılan dairesel boşlukların sayısının ve yerinin değişiminin kiriş davranışının üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla bir adedi referans boşlusuz kiriş, dört adedi tek boşluklu, üç adedi iki boşluklu ve bir adedi ise üç boşluklu olmak üzere dokuz adet kiriş numunesi üretilmiş ve dört noktalı eğilme testine maruz bırakılmıştır.

Boşlusuz referans numunenin hasarı incelendiğinde, kiriş eğilme bölgesinde çok sayıda kılcal çatlakların meydana geldiği ve elemanın sünek eğilme hasarı ile güç tükenmesine ulaştığı görülmüştür. Boşluklu numunelerde ise ilk hasar genellikle boşluk etrafında kiriş doğrularla ilerleyen kesme çatlaması şeklinde ortaya çıkmıştır. Chin ve Doh (2015) tarafından yapılan boşluklu derin kırışların davranışının incelendiği çalışmada da, meydana gelen gerilme yıgılmaları nedeniyle benzer hasarların oluştugu vurgulanmıştır. Ortaya çıkan bu çatlamadan genişlemesi ile elemanda ani yük düşüşü meydana gelmiştir. Özellikle boşluk mesnete yaklaşıkça hasar ani olarak ortaya çıkmış ve elemanın gevrek bir davranış sergilemesine sebep olmuştur. Boşluğun açıklık bölgesinde bulunması durumundaki davranış ise neredeyse boşlusuz kiriş benzer şekilde çok sayıda eğilme çatlığı olarak ortaya çıkmıştır.

Tüm numuneler arasında en büyük taşıma gücü yükü boşlusuz referans kirişte ortaya çıkarken, en küçük taşıma gücü yükü üç boşluklu kirişte (N9) ve mesnete en yakın boşluklara sahip iki boşluklu kirişte (N6) meydana gelmiştir. Tek boşluklu numunelerde boşluğun yerine bağlı olarak referans numuneye oranla yük taşıma kapasitesinde %0.6 ile %3.5 arasında, iki boşluklu numunelerde %16.7 ile 36.2 arasında, üç boşluklu numunedede ise %37.7 azalma meydana gelmiştir. Tek boşluklu numunedeki taşıma gücü yükü değerleri birbirine oldukça yakındır. İki boşluklu numunelerde ise boşluk mesnete yaklaşıkça numunenin yük taşıma kapasitesi azalmaktadır. Benzer olarak Elkersh vd. (2020), kare ve tek boşluklu betonarme kırışların davranışını incelenmiş ve boşluğun eğilme bölgesinde olmasının durumunda %0.1, kesme bölgesinde olmasının durumunda ise %5 azalma gerçekleştigini vurgulamıştır.

Dolayısıyla literatürdeki çalışmalarında kirişteki boşluğun kesme bölgesinde olmasının durumunda yani boşluk mesnete yaklaşıkça elemanın kapasitesinin daha fazla azalmış olduğunu doğrulamaktadır. Benzer sonuçlar Campione ve Minafò (2012) ile Al-Sheikh (2014) tarafından yapılan çalışmalarında da görülebilir. Özellikle iki boşluklu numunelerdeki ikinci boşluğun mesnete yaklaşması ile yük taşıma kapasitesindeki azalma daha büyük oranda ortaya çıkmaktadır. Taşıma gücü yükü boşluk sayısı arttıkça azalmaktadır.

Tek boşluklu numunelerde boşluk yerinin değişimi taşıma gücü yükünü çok değiştirmese de boşluğun mesnete yaklaşması ile yerdeğiştirme kapasitesinin oldukça azaldığı ve numunenin gevrek davranış sergilediği görülmektedir. Tek boşluklu numunelerde referans numuneye oranla yerdeğiştirme değerinde %7.6 ile %78.6 arasında, iki boşluklu numunelerde %90.8 ile %93.1 arasında, üç boşluklu numunedede ise %91.6 azalma meydana gelmiştir. Genel olarak, buradaki küçük değerler boşluğun açıklık ortasında (eğilme bölgesinde), büyük değerler ise boşluğun mesnet tarafına yaklaşığı (kesme bölgesinde) durumda sonuçları ifade etmektedir. Dolayısıyla boşluk mesnete yaklaşıkça yerdeğiştirme kapasitesinin azalduğu söyleyebilir. Elkersh vd. (2020) tarafından yapılan deneyler ve analizler sonucunda, kemerli kirişin yerdeğiştirme kapasitesinde, boşluğun eğilme bölgesinde olması durumunda %8, kesme bölgesinde olması durumunda ise %17 azalma gerçekleştiği vurgulanmıştır. Dolayısıyla literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak kesme bölgesindeki azalma eğilme bölgesindeki azalmadan daha fazla olarak karşımıza çıkmaktadır.

Numunelerin davranışını, yük-yerdeğiştirme grafiklerinden elde edilen enerji tüketme kapasiteleri açısından referans numuneye göre değerlendirildiğinde, tek boşluklu numunelerde enerji tüketme kapasitesinde %4.0 ile %84.0 arasında, iki boşluklu numunelerde %96.5 ile %97.6 arasında, üç boşluklu numunedede ise %97.5 azalma meydana gelmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü gibi boşluğun bulunması ile numunedeki enerji tüketme kapasitesi önemli miktarda azalmaktadır.

Numunelere ait rıjilik değerleri incelendiğinde, boşluk açıklık ortasına doğru yaklaşıkça ve boşluk sayısı arttıkça genel olarak numune rıjılığı azalmıştır. Tek boşluklu numunelerde boşluğun yerine bağlı olarak rıjilik değerinde %2.2 ile %40.2 arasında, iki boşluklu numunelerde %26 ile %50 arasında, üç boşluklu numunedede ise %45.1 azalma meydana gelmiştir.

Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, boşluk sayısı arttıkça ve boşluğun yeri mesnete yaklaşıkça numunenin yük taşıma kapasitesinin, yerdeğiştirme yeteneğinin ve enerji tüketme kapasitesinin önemli merteblerde azaldığı söylenebilir.

## 5. Kaynaklar

- Abdo, T., Mabrouk, R.** 2017. Effect of web openings on the structural behavior of RC beams subjected to pure torsion. *MATEC W. Conf.*, 120:. Doi: 10.1051/matecconf/201712001007
- Afet ve Acil Durum Başkanlığı.** 2018. Türkiye Bina Deprem Yönetmeliği. *Resmi Gazete*, Sayı:30364, Ankara.
- Al-Sheikh, SA.** 2014. Flexural behavior of RC beams with opening. *Concr. Res. Lett.*, 5(2): 812-824. Doi:-
- Aykaç, S., Yılmaz, MC.** 2011. Düzenli üçgen veya dairesel boşluklara sahip betonarme kırışların davranış ve dayanımı. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, 26(3): 711-718. Doi:-
- Campione, G., Minafò, G.** 2012. Behaviour of concrete deep beams with openings and low shear span-to-depth ratio. *Eng. Struct.*, 41: 294-306. Doi: 10.1016/j.engstruct.2012.03.055
- Chin, SC., Doh, SI.** 2015. Behaviour of reinforced concrete deep beams with openings in the shear zones. *J. Eng. Tech.*, 6(1): 60-71. Doi:-
- Elkersh, IH., Lotfy, E., Abd Ellatif, E., Aboshosha, MR.** 2020. Flexural behavior of reinforced concrete beams with arched openings. *IOSR J. Mech. Civil Eng.*, 17(2): 25-36. Doi: 10.9790/1684-1702032536
- Jasim, WA., Allawi, AA., Oukaili, NK.** 2019. Effect of size and location of square web openings on the entire behavior of reinforced concrete deep beams. *Civ. Eng. J.*, 5(1): 209-226. Doi: 10.28991/cej-2019-03091239
- Kalkan, İ.** 2014. Düzenli boşluklu betonarme kırışların düzlem içi eğilme davranışları. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, 29(1): 155-163. Doi: 10.17341/gummfd.94985
- Kalkan, İ., Kahraman, E., Başaran, B.** 2019. Farklı donatı oranlarına sahip düzenli kare boşluklu betonarme kırışların eğilme davranışları. *J. Inst. Sci. Tech.*, 9(3): 1417-1430. Doi: 10.21597/jist.474147
- Kumbasaroglu, A., Korkmaz, E.** 2020. Betonarme kırışlarından geçen tesisat borularının eğilme dayanımına etkisi. 4. Uluslararası GAP Matematik-Mühendislik Fen ve Sağlık Bilimleri Kongresi, s.12-35, Gaziantep.
- Lee, JK., Li, CG., Lee, YT.** 2008. Experimental study on shear strength of reinforced concrete continuos deep beams with web opening. In The 14th World Conference on Earthquake Engineering, p.12-17, Beijing.
- Murugesan, A., Narayanan, A.** 2017. Influence of a longitudinal circular hole on flexural strength of reinforced concrete beams. *Pract. Period. Struct. Des. Constr.*, 22(2): 04016021. Doi: 10.1061/(ASCE)SC.1943-5576.0000307
- Osman, BH., Wu, E., Ji, B., Abdulhameed, SS.** 2017. Shear behavior of reinforced concrete (RC) beams with circular web openings without additional shear reinforcement. *KSCE J. Civ. Eng.*, 21(1): 296-306. Doi: 10.1007/s12205-016-0387-7
- Özkal, FM.** 2017. Betonarme yüksek kırışlarında boşluk konumu ve şeklärının yapısal davranış üzerindeki etkilerinin deneysel olarak incelenmesi. *Uludağ Üniv. Müh. Fak. Der.*, 22(2): 149-160. Doi: 10.17482/uumfd.338788
- Shoeib, AE., Sedawy, AE.** 2017. Shear strength reduction due to introduced opening in loaded RC beams. *J. Build. Eng.*, 13: 28-40. Doi: 10.1016/j.jobe.2017.04.004
- Yang, KH., Eun, HC., Chung, HS.** 2006. The influence of web openings on the structural behavior of reinforced high-strength concrete deep beams. *Eng. Struct.*, 28(13): 1825-1834. Doi: 10.1016/j.engstruct.2006.03.021
- Yoo, TM., Doh, JH., Guan, H., Fragomeni, S.** 2007. Experimental work on reinforced and prestressed concrete deep beams with various web openings. Proceedings of the 4th International Conference on Structural and Construction Engineering, Melbourne.



## Suggestion of a Perimeter Formula for Super Ellipses and their Use in Rectangular Boundary Value Problems in Physics

*Süper Elipsler için bir Çevre Formülü Önerisi ve Fizikte Dikdörtgensel Sınır Değer Problemlerinde Kullanımı*

Kadir Can Erbaş\*

Başkent University, Faculty of Engineering, Department of Biomedical Engineering, Ankara, Turkey

### Abstract

Super ellipses or Lame curves introduced by Gabriel Lame have been frequently studied subjects in physics and engineering in recent years. While the calculation of the area of super-ellipses is analytically possible, the lack of formulations for circumference calculations is noteworthy. To overcome this deficiency, this study aimed to write a code that computes the circumferences of super ellipses numerically and to find an approximate circumference formulation compatible with the numerical results. Additionally, the perimeter formulation obtained shows that in a rectangular boundary condition, Laplace's equation can be reduced to approximately one dimension with super ellipses and a practical approximate solution to a difficult physical problem can be found.

**Keywords:** Super ellipse, Perimeter, Circumference, Laplace equation, Rectangular boundary

### Öz

Gabriel Lame tarafından tanıtılan süper elipsler veya Lame eğrileri, son yıllarda fizik ve mühendislikte sıkça çalışılan konular olmuştur. Süper elips alanlarının hesaplanması analitik olarak mümkün olsa da, çevre hesaplamaları için formüllerin eksikliği dikkat çekicidir. Bu eksikliği gidermek için bu çalışma, süper elipslerin çevrelerini sayısal olarak hesaplayan bir kod yazmayı ve sayısal sonuçlarla uyumlu yaklaşık bir çevre formülasyonu bulmayı amaçlamıştır. Ek olarak, elde edilen çevre formülasyonu, bir dikdörtgen sınır koşulunda, Laplace denkleminin süper elipslerle yaklaşık bir boyuta indirgenebileceğini ve zor bir fiziksel probleme pratik bir yaklaşık çözüm bulunabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Süper elips, Çevre, Laplace denklemi, Dikdörtgensel sınırlar

### 1. Introduction

Super ellipses are shapes that can transform into ellipses, rectangles and asteroids, first proposed by Gabriel Lame (Gridgeman 1970). In Cartesian coordinates, it is represented by using Equation 1.

$$\left| \frac{x}{a} \right|^n + \left| \frac{y}{b} \right|^n = 1 \quad (1)$$

where  $a$ ,  $b$  and  $n$  are positive real numbers. For different values of  $n$ , the shape of the super ellipse changes in angularity, while variations in parameters  $a$  and  $b$  lead to changes in the aspect ratio and size of the shape (Figure

1). For similar figures, readers can see the paper of Erbaş (Erbaş 2020) and web page of Wikipedia (Superellipse 2021). When the parameters  $a$  and  $b$  are equal, equilateral shapes such as square ( $n \rightarrow \infty$ ) and circle ( $n=2$ ) appear. Some authors prefer to call  $n=4$  of these shapes as "squircle" and some as "super circle" (Li and Boyd 2015) When  $n=4$  and  $a \neq b$ , it is called "rectellipse" (Weisstein 2021a, 2021b).

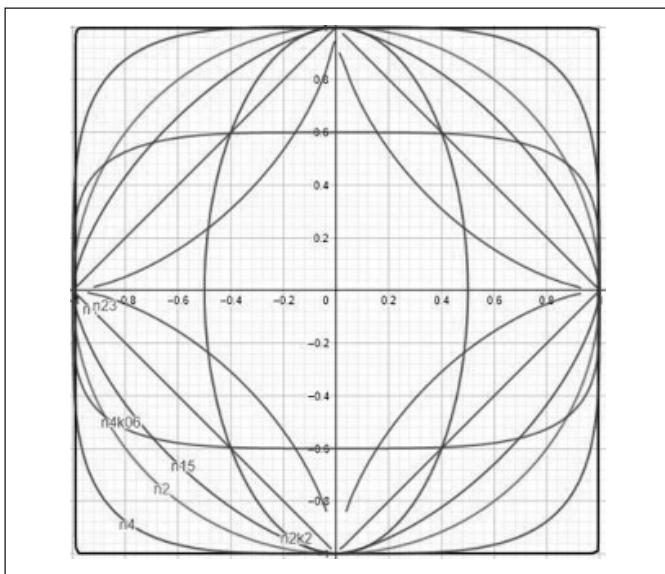
After Piet Hein's works on design (Hein 2021), super-ellipses have become an interesting topic for many disciplines such as architecture, design, physics, engineering and computer vision (Gardner 2020). Recently, studies have shown that products designed as round or curved polygons are more preferred than angular or pointed polygons (Bar and Neta 2006, 2007, Silvia and Barona 2009, Westerman et al. 2012). Based on this, the popularity of super ellipses has also manifested itself in the field of design and architecture.

\*Corresponding author: kcerbas@gmail.com

Kadir Can Erbaş [orcid.org/0000-0002-6446-829X](https://orcid.org/0000-0002-6446-829X)



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".



**Figure 1.** Super ellipses for different parameters. **n100** (approximately square):  $n=100$ ,  $a=b=1$ ; **n4** (squircle):  $n=4$ ,  $a=b=1$ ; **n2** (circle):  $n=2$ ,  $a=b=1$ ; **n15** (curved rhombus):  $n=1.5$ ,  $a=b=1$ ; **n1** (rhombus):  $n=1$ ,  $a=b=1$ ; **n23** (asteroid):  $n=2/3$ ,  $a=b=1$ ; **n4k06** (super ellipse):  $n=4$ ,  $a=1$ ,  $b=0.6$ ; **n2k2** (ellipse):  $n=2$ ,  $a=0.5$ ,  $b=1$ .

Not only in design and architecture, but also in physics and engineering, super-ellipses have reached widespread use. Studies in this subject are summarized as diffraction optics (Manenkov 2014, Kleev and Kyurkchan 2015, Manenkov 2019, Kyurkchan et al. 2019), superelliptical boundary conditions in the Helmholtz equation (Panda and Hazra 2014), tire-ground contact area (Hallonborg 1996), contact-force for packing (Delaney and Cleary 2010, Arifuzzaman et al. 2020), radiotherapy (Méndez and Casar 2021), electromagnetic source transformations (Allen et al. 2009), shape fitting (Rosin 2000, Osian et al. 2004), computer vision (Zhang and Rosin 2003), skull prosthesis modeling (Lin et al. 2016) and superplasticity (Anishchenko et al. 2019, Anishchenko et al. 2020).

When studies in physics and engineering are examined in more detail, it is seen that super ellipses are used in calculations in mathematical physics. Nagornov et al. report that equipotential lines of the capture potential of the 2x NADEL ICR cell are formed as super-ellipses in the plane perpendicular to the magnetic field (Nagornov et al. 2021). Huang et al. 2021 reported that the interface between solid and fluid domains in a Stefan problem changed from the initial circular configuration to an up-down asymmetric egg-shaped geometry. Also, square cylinders have become a hot topic in engineering (Sert 2021) and therefore super-

ellipses can be used to model the temperature contour lines that will form around the square cylinder.

Some researchers report that solutions of differential or integral equations in near corner regions are difficult compared to smooth bounds. (Bremer et al. 2010, Dhaia et al. 2021). Applying the finite element method in a boundary condition with rounded corners is a time-consuming and costly method because it is necessary to create a mesh with many nodes. Even when the rounded corners are sharpened, the calculations are correct, but locally incorrect (Krähenbühl et al. 2011).

To overcome the difficulties in the corner regions, Erbaş showed that he could model the contour lines (equipotential curves) of super ellipses with a good approximation in his studies, in which he examined the approximate solution of Laplace's equation in rectangular boundary conditions (Erbaş 2019, Erbaş 2020). Applying Gauss's law for a Gaussian surface defined on equipotential curves around a square conductor, he could calculate the characteristic impedance of a rectangular transmission line with a reasonable approximation.

Assuming that the contours that will form around the angular boundaries in two dimensions can be modeled with convex super ellipses, it is important to know the circumferences of the convex super ellipses in accordance with the 2D divergence theorem. To the best of our knowledge, there is no large-scale study in the literature that covers the circumferences of all degrees and edge ratios of convex superellipses. To address this important shortcoming, a numerical method that can calculate the circumferences of super-ellipses much more precisely and an analytical formulation that overlaps with the numerical results with a good approximation is proposed in this study. With the proposed contour formulation, one-dimensional approximate solution of Laplace's equation in rectangular boundary conditions is also obtained.

With the results of the study, perimeter calculations of super-ellipses, which are increasingly used, will be facilitated and practical solutions to the boundary value problems used in physics will be offered. In addition, it will be able to offer a solution to the computational problems seen in the regions with angular borders mentioned in the literature.

## 2. Material and Method

In Cartesian coordinates, arc length of a smooth function  $y=f(x)$  between  $x=x_1$  and  $x=x_2$  is calculated using Equation 2 (Weir et al. 2005).

$$L = \int_{x_1}^{x_2} \sqrt{1 + \left(\frac{dy}{dx}\right)^2} dx \quad (2)$$

In most cases, this integral does not come in terms of familiar conventional functions and is expressed in functions of complex structure, such as hypergeometric functions. Although the difficulty of integrating due to the square root is tried to be overcome with numerical calculations, it costs a lot of effort to write the computer codes for numerical calculations. Moreover, in regions where the derivative approaches infinity, the numerical sum may produce erroneous results.

A familiar solution to overcome this problem is to calculate the perimeter in a different coordinate system. The first coordinate system that comes to mind is polar coordinates, the formulation of which is given in Equation 3. For a closed curve,  $\theta_1$  and  $\theta_2$  limits can be selected as 0 and  $2\pi$ . Equation 4 is a parametric arc length formula for an ellipse (Weir et al. 2005). To compute the quarter perimeter of ellipse,  $t_1$  and  $t_2$  can be chosen as 0 and  $\pi/2$  (Abbot 2011).

$$L = \int_{\theta_1}^{\theta_2} \sqrt{r^2 + \left(\frac{dr}{d\theta}\right)^2} d\theta \quad (3)$$

$$L = \int_{t_1}^{t_2} \sqrt{\left(\frac{dx}{dt}\right)^2 + \left(\frac{dy}{dt}\right)^2} dt \quad (4)$$

## 2.1. Numerical Computation of the Perimeter

To find a formulation that predicts the circumference of the super ellipse expressed by Equation 1, the notation and basic

concepts are explained in Equation 5 (Superellipse 2011). Perimeter of a super ellipse of degree  $n$  is given by

$$P_n(a,b) = aP_n(1,k) = 4a(L_n(k) + S_n(k)) \quad (5)$$

where  $k=b/a$  is the ratio of the minor axis to the major axis and the subscript  $n$  denotes the degree of the super ellipse.  $L_n(k)$  and  $S_n(k)$  show the arc lengths above and below the diagonal respectively. The numerical calculation of the  $L_n$  value is easier than for the  $S_n$  value because while the  $dy/dx$  derivative takes values close to zero in  $L_n$ , it approaches infinity for  $S_n$  (Figure 2A). Large derivatives can cause some numerical difficulties in the perimeter integral. Therefore, the length  $S_n$  can be calculated for a super-ellipse where the arc is positioned more horizontally (Figure 2B). The integral expressions for  $L_n$  and  $S_n$  are as follows:

$$y = k(1 - x^2)^{\frac{1}{n}} \quad (6)$$

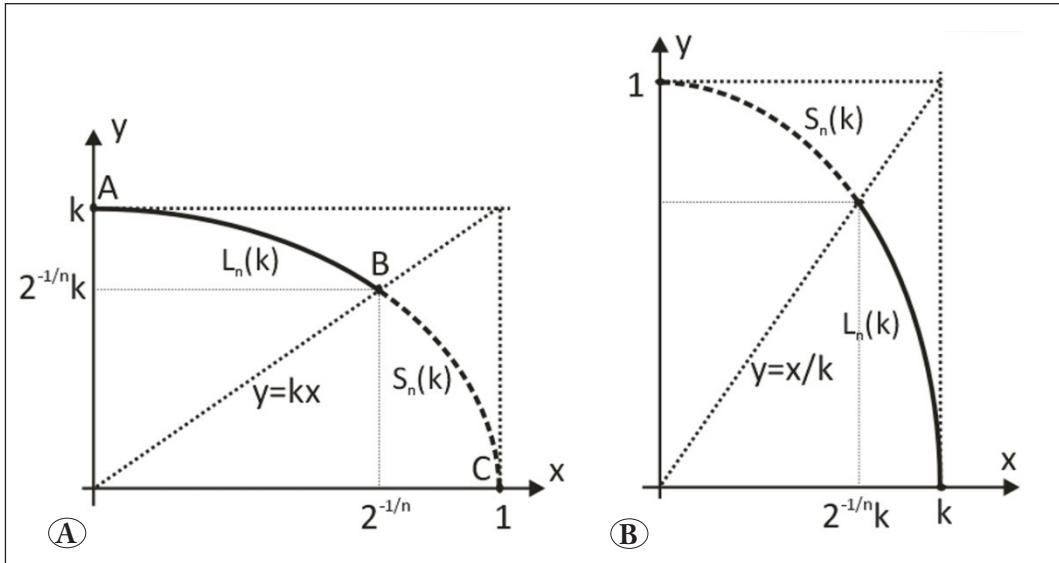
$$\frac{dy}{dx} = -kx^{n-1}(1-x^n)^{\frac{1}{n}-1} = \frac{-kx^{n-1}}{(1-x^n)^{\frac{n-1}{n}}} = -k\left(\frac{x^n}{1-x^n}\right)^{\frac{n-1}{n}} \quad (7)$$

Using Equation 2 leads

$$L_n(k) = \int_{x=0}^{x=2^{-1/n}} \sqrt{1 + k^2 \left(\frac{x^n}{1-x^n}\right)^{\frac{2n-2}{n}}} dx \quad (8)$$

$S_n(k)$  can be calculated from both Figure 2A and B as in Equation 9.

$$S_n(k) = \int_{x=2^{-1/n}}^{x=1} \sqrt{1 + k^2 \left(\frac{x^n}{1-x^n}\right)^{\frac{2n-2}{n}}} dx \\ = \int_{x=0}^{x=k2^{-1/n}} \sqrt{1 + \frac{1}{k^2} \left(\frac{(x/k)^n}{1-(x/k)^n}\right)^{\frac{2n-2}{n}}} dx \quad (9)$$



**Figure 2. A)** The first quarter of a super ellipse with  $a=1$  and  $b=k$ . Arc lengths of the arcs AB and BC are denoted by  $L_n(k)$  and  $S_n(k)$  respectively.  
**B)** Rotated and mirrored version with  $a=k$  and  $b=1$ .

The curve in Figure 2B is obtained by writing  $1/k$  instead of  $k$  in the curve in Figure 2A and enlarging it  $k$  times. Applying the  $t=x/k$  transformation to the second integral of Equation 9, Equation 10 and 11 are obtained.

$$S_n(k) = k \int_{x=0}^{t=2^{-1/n}} \sqrt{1 + \frac{1}{k^2} \left( \frac{t^n}{1-t^n} \right)^{\frac{2n-2}{n}}} dt = k L_n\left(\frac{1}{k}\right) \quad (10)$$

$$P_n(1,k) = 4 \left( L_n(k) + k L_n\left(\frac{1}{k}\right) \right) \quad (11)$$

In Equation 9, the first and second integrals come from Figure 2A and B respectively. Equation 10 gives the relationship between  $L_n$  and  $S_n$ . Finally, Equation 11 expresses the perimeter of a super ellipse with unit semi-major axis in terms of  $L_n(k)$  defined in Equation 8.  $P_n(1,k)$  in Equation 11 (Superellipse 2011) is the key factor for the calculation of all super ellipses with different ratios and degrees by the help of Equation 5.

Using Matlab's numerical integral tool (R2021b),  $L_n(k)$  values in Equations 8 were computed with 0.10 step size in the range  $0 < k < 1$  and  $1 < n < 20$ . Perimeters  $P_n(1,k)$  in Equation 11 were finally computed and recorded in Table 1. The Matlab code for this numerical computation is given in the Appendix.

## 2.2. Suggestion of a General Perimeter Formula

The two special cases of super ellipses,  $n=1$  and  $n=\infty$ , correspond to rhombus and rectangular shapes, respectively ( $n1$  and  $n100$  in Figure 1). Their perimeters with semi-axis 1 and  $k$  are given by Equations 12 and 13 (Mathisfun 2020).

$$P_1(k) = 4\sqrt{1+k^2} = 4(1+k^2)^{\frac{1}{2}} \quad (12)$$

$$P_\infty(k) = 4(1+k) = 4(1+k^1)^{\frac{1}{1}} \quad (13)$$

One can assert that the power in Equation 9 and 10 change with the degree of super ellipse ( $n$ ). Therefore, a general perimeter formula for a super ellipse of degree  $n$  and axis ratio  $k$  can be assigned as

$$P_n(k) = 4(1+k^{s(n)})^{\frac{1}{s(n)}} \quad (14)$$

where  $s(n)$  represents the power in terms of the degree with specific values  $s(1)=2$  and  $s(\infty)=1$ . However, this is not the only suggestion without any alternatives. In equation 15, by writing  $\alpha(1)=0$  and  $\alpha(\infty)=2$ , equations 12 and 13 can be obtained, respectively. Moreover, by combining Equations 14 and 15, Equation 16 can also be assigned as an alternative formula for super ellipse perimeter formulation.

$$P_n(1,k) = 4(1+\alpha(n).k+k^2)^{\frac{1}{2}} \quad (15)$$

$$P_n(1,k) = 4(1+\alpha k^{s(n)}+k^{2s(n)})^{\frac{1}{2s(n)}} \quad (16)$$

As a third alternative, Ramanujan's (Ramanujan and Hardy 1962) ellipse approximation in Equation 17 can be used as a basis (Villarino 2005). Equation 18 is Ramanujan's approximation expressed with four parameters ( $A$ ,  $B$ ,  $C$  and  $D$ ). The values  $A_2=\pi$ ,  $B_2=3\pi$ ,  $C_2=10$  and  $D_2=7$  are valid for the ellipse.

$$P_{n=2}(1,k) = \pi \left[ 1+k + \frac{3(1-k)^2}{10(1+k)+\sqrt{1+14k+k^2}} \right] \quad (17)$$

$$P_n(1,k) = A_n(1+k) + \frac{B_n(1-k)^2}{C_n(1+k)+\sqrt{1+2D_n k+k^2}} \quad (18)$$

It is clear that  $2A_n$  will give the circumference of the  $k=1$  *super circle*, since in the case of  $k=1$  there will be  $2A_n$  remaining from Equation 18. Of the other special super ellipses, the relevant parameters for  $n=1$  should be  $A_i=2\sqrt{2}$ ,  $B_i=2$ ,  $C_i=\sqrt{2}/2$  and  $D_i=0$  because under these conditions

**Table 1.** Perimeters of super ellipses calculated by numerical integration 2 in the Appendix.

<b>n\k</b>	<b>0.10</b>	<b>0.20</b>	<b>0.30</b>	<b>0.40</b>	<b>0.50</b>	<b>0.60</b>	<b>0.70</b>	<b>0.80</b>	<b>0.90</b>	<b>1.00</b>
<b>1.0</b>	4.020	4.079	4.176	4.308	4.472	4.665	4.883	5.122	5.381	5.657
<b>1.5</b>	4.033	4.122	4.257	4.429	4.631	4.857	5.105	5.369	5.648	5.939
<b>2.0</b>	4.064	4.202	4.386	4.603	4.844	5.105	5.382	5.672	5.973	6.283
<b>2.5</b>	4.099	4.277	4.497	4.746	5.015	5.300	5.598	5.906	6.223	6.547
<b>3.0</b>	4.130	4.339	4.586	4.857	5.146	5.448	5.761	6.082	6.410	6.745
<b>4.0</b>	4.179	4.430	4.712	5.013	5.328	5.653	5.985	6.324	6.669	7.018
<b>6.0</b>	4.240	4.538	4.857	5.190	5.531	5.880	6.234	6.592	6.953	7.318
<b>9.0</b>	4.288	4.618	4.963	5.318	5.678	6.043	6.412	6.783	7.157	7.533
<b>20.0</b>	4.347	4.715	5.090	5.469	5.851	6.235	6.620	7.007	7.395	7.784
<b>inf</b>	4.400	4.800	5.200	5.600	6.000	6.400	6.800	7.200	7.600	8.000

the Rhombus circumference in equation 12 is obtained. In the case of  $n=\infty$ ,  $B_\infty=0$  is sufficient to obtain equation 13 with a rectangular perimeter.

Since at  $k=0$  all  $P_n(1,k)$  values will approach 4, parameter  $B_n$  can be expressed in terms of others. Equation 19 guarantees to give the perimeter value correctly for the extreme values of  $k=0$  and  $k=1$ .

$$\begin{aligned} P_n(1,k) = & \frac{P_n(1,1)}{2}(1+k) \\ & + \frac{(4-P_n(1,1)/(1+C_n)(1-k)^2}{C_n(1+k)+\sqrt{1+2D_nk+k^2}} \end{aligned} \quad (19)$$

In short, there are 4 different perimeter formulation alternatives so far (Equations 14-16, 19). As a result of many curve fitting methods tried with these functions, it was seen that Equation 19 gave the best values. As a result, it was aimed to find the parameters in Equation 19 for each  $n$  value.

### 2.3. Computation of the Parameters for the Perimeter Formula

In Equation 19, the two unknown parameters to be calculated by curve fitting are parameters C and D. The desired parameters were calculated for certain n values with the Matlab Curve fit tool (Matlab 2021). When choosing n values, those giving approximately equally distributed perimeter values for the super circle were chosen. For the k ratio of the super ellipse, steps with 0.05 were preferred. Selected n and k values for Curve fit are

$$\begin{aligned} n = & \{1.0, 1.3, 1.5, 1.7, 1.8, 2.0, 2.2, 2.5, 3.0, 4.0, \\ & 6.0, 9.0, 20.0\}; \\ k = & \{0.0, 0.05, 0.10, 0.15, \dots, 1\}. \end{aligned} \quad (20)$$

First, the parameters for the  $n=2$  ellipse were found with curve fit, unlike the values found by Ramanujan (Villarino 2005), as in Table 2.

For all n values in Equation 20, parameters  $C_n$  and  $D_n$  were obtained with errors less than  $10^{-4}$ . The  $C_n$  and  $D_n$  parameter sets were fitted as a function of  $n$  and directed to surface fit tool to find the most general  $P_n(1,k)$  function. After several trials and intervening curve fits, an appropriate  $P_n(1,k)$

function was found with surface fit with RMSE: 0.001598. Surface fit results are presented in Equation 21.

$$P_n(1,k) = \frac{\left(1.176\left(1-\frac{1}{n}\right)^{1.89} + 2.825\right)(1+k)}{\left(-0.03 * n^2 + 25 * n - 16.6\right)(1-k)^2} + \frac{\left(10 * n^2 + 0.2 * n - 7.6\right)(1+k) + \left(n^2 - 1.5 * n + 5\right)\sqrt{1 + 240 * \left(1-\frac{1}{n}\right)^{4.74} * k + k^2}}{(10 * n^2 + 0.2 * n - 7.6)(1+k) + \left(n^2 - 1.5 * n + 5\right)\sqrt{1 + 240 * \left(1-\frac{1}{n}\right)^{4.74} * k + k^2}} \quad (21)$$

## 3. An application of Physics: Potential Around a Square Conductor

### 3.1. Numerical Solution

Can contour lines be modeled with super ellipses and reduced to 1 dimension under ideal conditions? To find the answer to this question, the potential distribution around a conductive square whose potential is held constant was studied as a boundary value problem, whose contour lines resemble super ellipses. The problem in question was defined between a 50 unit radius circle, held at a concentric potential of 0 volts, and a unit radius square with a potential of 1 volt, as shown in Figure 3. The boundaries of the square are the 1-volt equipotential curve. As you move away from the square, the equipotential curves will become more and more rounded because at infinity the square becomes pointlike and the equipotential curve approaches the circle. This means that the first contour line at the square is  $n=\infty$ , and the one at infinity is  $n=2$  super circles. Contours in between form a family of super ellipses going from  $n=\infty$  to  $n=2$ .

This problem can be expressed mathematically as in Equation 22-24 and Figure 3A, B. It was solved by MATLAB PDE tool and the potentials  $V(x,y)$  at some points were recorded as in Table 5.

$$\nabla^2 V(x,y) = 0 \quad (22)$$

$$V(1,y) = V(-1,y) = 1 \text{ at } -1 \leq y \leq \text{ and} \quad (23)$$

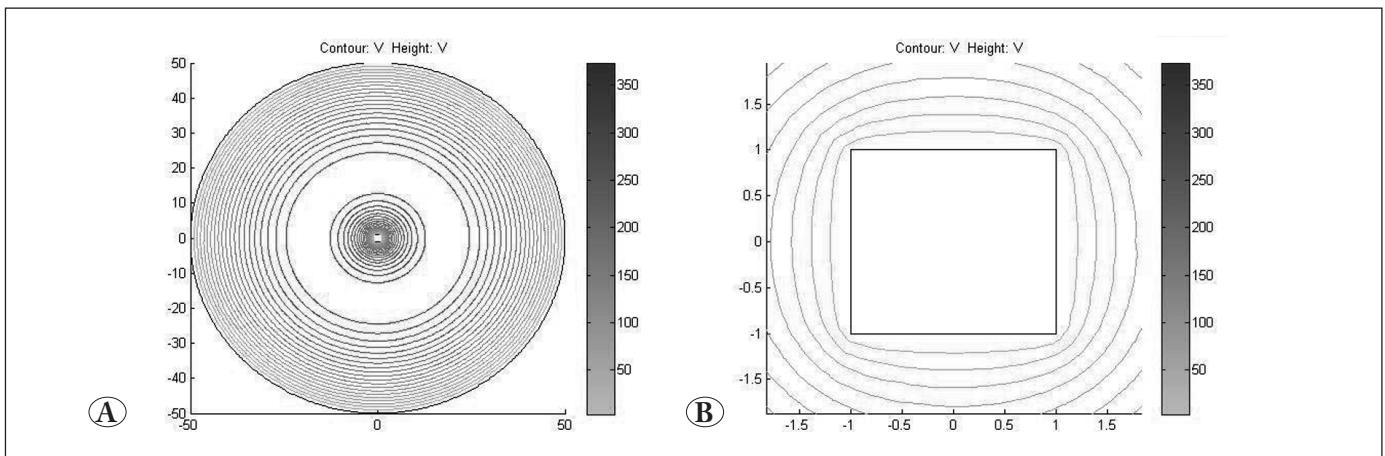
$$\begin{aligned} V(x,1) &= V(x,-1) = 1 \text{ at } -1 \leq x \leq 1 \\ V(x,y) &= 0 \text{ at } x^2 + y^2 = 50^2 \end{aligned} \quad (24)$$

### 3.2. Approximated Solution

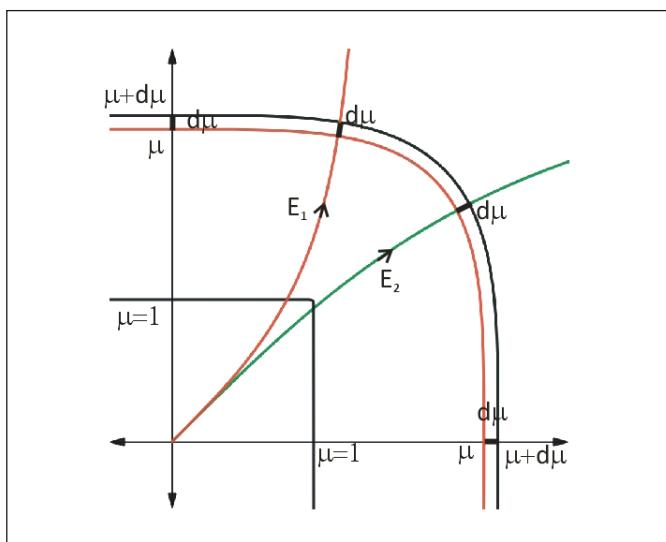
Can this boundary value problem be made 1-dimensional with respect to  $\mu$  by transforming  $x^n+y^n=\mu^n$  in symmetric

**Table 2.** Curve fit results for  $n=2$ .

General model	$P_2(1,k) = pi*(1+k)+(4-pi)*(C+1)*(1-k)^2/(C*(1+k)+sqrt(1+2*D*k+k^2))$		
Parameters	C = 12.33	D = 8.997	
Goodness of fit	SSE: 1.918e-008	R-square: 1	RMSE: 3.177e-005



**Figure 3.** Equipotential lines of Equations 22-24. **A)** Full scale, **B)** zoomed scale. Inner square and outer circle are held at  $V=1$  and  $V=0$  respectively.



**Figure 4.** Equipotential lines between two neighboring contours.  $E_1$  and  $E_2$  represent any two electric field lines (gradient).

conditions, similar to how Laplace's equation is reduced to 1 dimension with respect to  $r$  with  $x^2+y^2=r^2$  transform in circularly symmetric conditions? Proving this is the subject of a separate study. In this study, it will be assumed that it can be reduced to 1 dimension and the results will be compared. Under this assumption, the superellipse degree "n" should be taken as a function of  $\mu$ .

### 3.2.1. Finding $n(\mu)$

In a one-dimensional problem, the electric field must be of constant magnitude on each equipotential curve. As you move away from the squared boundary,  $\mu$  increases and  $n$  decreases. A suitable choice of  $n(\mu)$  in Equation 25 (Erbaş 2019, Erbaş 2020) can explain increasingly rounded families

of super circles. To find the appropriate  $n(\mu)$  function, on the contour of a given  $\mu$  value, it must depend only on  $\mu$  in the electric field (Equation 26 and Figure 4).

$$x^{n(\mu)} + y^{n(\mu)} = \mu^{n(\mu)} \quad (25)$$

$$\vec{E} = -\nabla V \Rightarrow E(\mu) = -\frac{dV(\mu)}{d\mu} \quad (26)$$

If the electric field ( $E$ ) and potential difference ( $dV$ ) are homogeneous on the contour, then according to equation 26, the perpendicular coordinate length  $d\mu$  is also homogeneous on the contour. The area  $dA$  of the region of thickness  $d\mu$  is expressed as in Equation 27, depending on the contour perimeter  $P$ .

$$P(\mu)d\mu = dA(\mu) \Rightarrow P(\mu) = \frac{dA(\mu)}{d\mu} \quad (27)$$

The perimeters  $P(\mu)$  and areas  $A(\mu)$  of super circles are directly proportional to their radii and their squares, respectively, with coefficients  $p(n)$  and  $a(n)$  (Erbaş 2020). Therefore, perimeters and areas can be expressed as in Equation 28.

$$P(\mu) = \mu \cdot p(n) \text{ and } A(\mu) = \mu^2 a(n) \quad (28)$$

If equation 28 is substituted in equation 27, a differential equation depending on  $\mu$  and  $n$  is obtained as in Equation 29.

$$\begin{aligned} \mu p(n) &= 2\mu a(n) + \mu^2 \frac{da(n)}{d\mu} \\ \Rightarrow p(n) &= 2a(n) + \mu \frac{da}{d\mu} \frac{da(n)}{dn} \end{aligned} \quad (29)$$

The solution of Equation 29 is Equation 30 with  $a_n$  denotes derivative of  $a$  with respect to  $n$ .

$$\begin{aligned}\frac{\mu_n(n)}{\mu(n)} &= \frac{a_n(n)}{p(n) - 2a(n)} \rightarrow \mu(n) - 1 \\ &= \exp\left[\int_{\infty}^n \frac{a_n(n) \cdot dn}{p(n) - 2a(n)}\right]\end{aligned}\quad (30)$$

Since the boundaries have equal axis, the perimeter coefficient  $p(n)$  in Equation 31 can be obtained by writing  $k=1$  in Equation 21 and area coefficients  $a(n)$  (Weisstein 2021a) is given by Equation 32.

$$p(n) = 2.352(1 - \frac{1}{n})^{1.89} + 5.65 \quad (31)$$

$$a(n) = 4 \cdot \frac{(1-\frac{1}{n})}{\sqrt{\pi}} \frac{\Gamma(1+\frac{1}{n})}{\Gamma(\frac{1}{2}+\frac{1}{n})} \quad (32)$$

From the solution of the equations, a function that gives  $n(\mu)$  is obtained. When these functions are fitted to the appropriate functions, the following results are obtained with RMSE=1.333\*10<sup>-9</sup> which has very high accuracy. Equation 33 gives the degrees of the rounding super circles shown in Figure 4.

$$n(\mu) = 2 + \frac{3.19}{\mu - 1} \quad (33)$$

### 3.2.2. Finding the Potential $V(\mu)$

The problem given by Equation 22-24 is a Laplace equation in quadratic symmetric boundary conditions. Assuming the contour lines will be modeled with Equation 33, Laplace's equation can be expressed in 1 dimension according to  $\mu$  with the help of Gauss's Law. The equipotential surface corresponding to a given value  $\mu$  defines a super circular closed cylinder of circumference  $P(\mu)$  of length  $L$ . Since the electric field will be constant on this cylinder, the closed surface integral can be written as in Equation 34 and potential  $V$  can be solved as in Equation 35. Parameters  $q$  and  $\epsilon_0$  denote charge and permittivity of vacuum respectively.

$$\iint_S \vec{E} \cdot d\vec{A} = E \cdot A = \frac{q}{\epsilon_0} \rightarrow -\frac{dV}{d\mu} \cdot L \cdot P(\mu) = \frac{q}{\epsilon_0} \quad (34)$$

$$V(\mu) - V(1) = -\frac{q}{L\epsilon_0} \int_1^\mu \frac{d\mu}{P(\mu)} \quad (35)$$

To obtain the  $1/P(\mu)$  function in the integral in Equation 35, Equations 31 and 33 are combined to find  $P(\mu)$  as in Equation 36. The inverse of this function,  $1/P(\mu)$ , fits very well with the function shown in Equation 37.

$$P(\mu) = \mu p(n) = 2.352\mu\left(1 - \frac{1}{n}\right)^{1.89} + 5.65\mu \quad (36)$$

$$\frac{1}{P(\mu)} = \frac{0.1608}{\mu + 0.2595} \quad (37)$$

When the function in Equation 37 is substituted into the integral in 35, it gives a function in Equation 38 form with two unknown parameters (A and C). Here, A and C depend on the boundary conditions.

$$V(\mu) = A \ln(\mu + 0.2595) + C \quad (38)$$

Since the boundary values are  $V(1)=1$  and  $V(50)=0$ , the function  $V(\mu)$  that provides these values is represented by Equation 39.

$$V(\mu) = \ln\left[\frac{\mu + 0.2595}{50 + 0.295}\right] / \ln\left[\frac{1 + 0.2595}{50 + 0.295}\right] \quad (39)$$

Finally, equation 40 is the intended approximate solution to the boundary value problem. Its derivative function is the expression of the electric field and is given in Equation 41.

$$V(\mu) = -0.2712 \cdot \ln\left[\frac{\mu + 0.2595}{50.295}\right] \quad (40)$$

$$E(\mu) = \frac{0.2712}{\mu + 0.2595} \quad (41)$$

The formulations shown by Equation 40 and 41 can explain the potential or electric field on the x-axis, y-axis and y=+x lines with good approximation. To find the value at any (x,y) point, it is necessary to find the  $\mu$  value corresponding to each (x,y) point based on Equation 25. Using the modeling of contour lines with super ellipses, Erbaş calculated the capacitance of square-shaped capacitors or the characteristic impedance of transmission lines. (Erbaş 2020).

## 4. Results and Discussion

Matlab numerical integral tool was used in two different ways to calculate the circumferences of convex superellipses numerically. In the first, the integral is taken directly from zero to one, while in the second, it is taken from two different parts (as in Equation 11). The consistency of the two different numerical methods tried was tested with the elliptic integral function giving the circumference of the ellipse ( $n=2$ ). The codes of these integral methods are given in Appendix as "Numerical Integration 1 (NI 1)" and "Numerical Integration 2 (NI 2)", respectively. The results for some extreme values of the ellipse are listed in Table 3 with their relative errors.

As can be seen from Table 3, NI2 gives better results for the ellipse circumference. Therefore, when calculating the circumferences of superellipses with different degrees, NI 2 was taken as reference. The approximate perimeter formulation proposed in this study (Equation 21) and Aldaher's approximate perimeter formulation (Aldaher

**Table 3.** Peripheral arc lengths of some ellipses for different values of  $k$  by numerical integration 1 and 2 with their relative errors with respect to elliptic integral of the second kind.

<b>k</b>	<b>Elliptic Int</b>	<b>NI 1</b>	<b>NI 2</b>	<b>Error 1</b>	<b>Error 2</b>
0.05	4.019426	4.019426	4.019426	1.33E-12	0
0.5	4.844224	4.844224	4.844224	3.08E-14	0
1	6.283185	6.283185	6.283185	4.93E-14	0

**Table 4.** Peripheral arc lengths of some superellipses for different values of  $n$  and  $k$  by numerical integrations, web calculators and approximated formulas with relative errors with respect to NI 2.

<b>n</b>	<b>k</b>	<b>NI 1</b>	<b>NI 2</b>	<b>Procato</b>	<b>Had2know</b>	<b>Aldaher</b>	<b>Eq.21</b>
1.1	0.05	4.00515	4.00515	4.01000	4.00600	4.00908	4.00920
1.1	0.5	4.48252	4.48252	4.48000	4.48300	4.50899	4.47944
1.1	1	5.67712	5.67712	5.68000	5.67800	5.70411	5.67530
4	0.05	4.07324	4.07326	4.07000	4.07300	4.09252	4.07471
4	0.5	5.32784	5.32803	5.33000	5.32700	5.39194	5.32755
4	1	7.01730	7.01770	7.02000	7.01600	7.04689	7.01554
80	0.05	4.05878	4.19159	4.19000	1.23200	4.21641	4.19015
80	0.5	4.63377	5.96195	5.96000	1.77300	5.94028	5.96280
80	1	5.28863	7.94499	7.94000	2.30600	7.85535	7.94674
<b>Rel.Err</b>		<b>Rel.Err</b>	<b>Rel.Err</b>	<b>Rel.Err</b>	<b>Rel.Err</b>	<b>Rel.Err</b>	<b>Rel.Err</b>
1.1	0.05	2.15E-09	0	1.21E-03	2.13E-04	9.83E-04	1.01E-03
1.1	0.5	2.81E-08	0	-5.62E-04	1.07E-04	5.90E-03	-6.87E-04
1.1	1	1.34E-08	0	5.08E-04	1.55E-04	4.75E-03	-3.19E-04
4	0.05	-4.85E-06	0	-8.01E-04	-6.42E-05	4.73E-03	3.54E-04
4	0.5	-3.71E-05	0	3.69E-04	-1.94E-04	1.20E-02	-9.05E-05
4	1	-5.64E-05	0	3.28E-04	-2.42E-04	4.16E-03	-3.08E-04
80	0.05	-3.17E-02	0	-3.80E-04	-7.06E-01	5.92E-03	-3.44E-04
80	0.5	-2.23E-01	0	-3.27E-04	-7.03E-01	-3.64E-03	1.43E-04
80	1	-3.34E-01	0	-6.27E-04	-7.10E-01	-1.13E-02	2.21E-04

2012) were calculated and compared with numerical studies. Also, two calculator sites related to super ellipse circumference calculations have been found on the internet and the results on these sites are *Procato* (Natural Superellipse 2022) and *had2know* (Lamé Curve Calculator 2022) are included in the comparison in Table 4.

It can be seen from Table 4 that the calculations deviate more from each other as the degree of superellipse gets larger. If the degree is 80, the superellipse will look more like a rectangle, so its circumference will be closer to the value of Equation 13. Similarly, the  $n=1.1$  super ellipse should come out close to the value from equation 12. According to the results in the table, it can be said that the *NI 1* and *had2know* calculator results are largely bankrupt. At small degrees, the *procato* calculator gives a larger error than the

others. According to these results, it can be said that the best numerical method is *NI 2* and the best approximate formula is Equation 21. Equation 21, which is the product of this study, proves that the degree of super ellipse  $n$  and the edge ratio  $k$  is a large-scale approximation with a relative error between  $1e-3$  and  $1e-4$  in almost every scale. In more detailed error measurements, it was seen that Equation 21 gave an absolute mean relative error of  $2.43e-4$  compared to *NI2*.

The potential values computed with the numerical solutions of Laplace's equation with MATLAB PDE tool and the potential values calculated from Equation 40 approximately are shown in Table 5. Additionally, this table also shows the percentage errors of the approximate method compared to the numerical method.

**Table 5.** Numerical solution ( $V$ ) and approximate analytical solution ( $V_a$ ) with percentage errors

$\mu$	$V$	$V_a$	%er	$\mu$	$V$	$V_a$	%er
1.00	1.0000	1.0000	0.00	8.47	0.4744	0.4748	0.09
1.33	0.9478	0.9364	-1.21	10.11	0.4270	0.4281	0.27
1.65	0.9004	0.8866	-1.54	12.07	0.3797	0.3812	0.39
2.02	0.8531	0.8397	-1.57	14.41	0.3324	0.3340	0.49
2.43	0.8058	0.7943	-1.43	17.21	0.2850	0.2867	0.58
2.91	0.7584	0.7495	-1.17	20.54	0.2377	0.2393	0.68
3.48	0.7111	0.7051	-0.84	24.53	0.1903	0.1917	0.75
4.17	0.6637	0.6592	-0.68	29.28	0.1430	0.1442	0.82
4.97	0.6164	0.6137	-0.44	34.95	0.0957	0.0965	0.88
5.94	0.5691	0.5675	-0.27	41.70	0.0483	0.0490	1.37
7.10	0.5217	0.5213	-0.07	50.00	0.0000	0.0000	0.00

## 5. Conclusion

In this study, a general formula that describes the circumferences of super-ellipses is proposed and an approximate solution method of the Laplace equation to obtain electric potential in square boundary conditions is proposed with this formulation. The mean absolute error of the perimeters calculated by this approximated perimeter formula is 0.0243%. The average of the absolute errors in computing potential is 0.74%.

With the information obtained in this study, the circumferences of super-ellipses can be calculated more precisely numerically or can be obtained with a good approximation using a simple formulation. Also, in an angular boundary condition, boundary value problems can be simplified. The methods proposed in the study are open to development and can be generalized to methods that can yield appropriate results even under rounded-corner boundary conditions. Considering that super-elliptical forms will be used more widely in the future due to the negative aspects of angular devices or materials, further development of the work should be expected in the future.

## 6. References

- Abbott, P. 2011.** On the perimeter of an ellipse. *Mathematica Journal*, 11(2), 172. <http://dx.doi.org/doi:10.3888/tmj.11.2-4>
- Aldaher, M. A. 2012.** New Simpler Equations for Properties of Lame Curve (Hypoellipse, Ellipse, Superellipse and Asteroid Curves), ICMS 2012 : International Conference on Marketing Studies, Bangkok
- Allen, J., Kundtz, N., Roberts, D. A., Cummer, S. A., Smith, D. R. 2009.** Electromagnetic source transformations using superellipse equations. *Appl. Phys. Lett.*, 94(19), 194101. <https://doi.org/10.1063/1.3130182>
- Anishchenko, O. S., Kukhar, V. V., Grushko, A. V., Vishtak, I. V., Prysiazhnyi, A. H., & Balalayeva, E. Y. 2019.** Analysis of the sheet shell's curvature with lame's superellipse method during superplastic forming. *In Mat. Sci. Forum* (Vol. 945, pp. 531-537). Trans Tech Publications Ltd.
- Arifuzzaman, S. M., Dong, K., Hou, Q., Zhu, H., Zeng, Q. 2020.** Explicit contact force model for superellipses by Fourier transform and application to superellipse packing. *Powder Technol.*, 361, 112-123. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.10.018>
- Bar, M., Neta, M. 2006.** Humans prefer curved visual objects. *Psyc. Sci.*, 17(8), 645-648. <https://doi.org/10.1111%2Fj.1467-9280.2006.01759.x>
- Bar, M., Neta, M. 2007.** Visual elements of subjective preference modulate amygdala activation. *Neuropsychologia*, 45(10), 2191-2200. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.03.008>
- Bremer, J., Rokhlin, V., Sammis, I. 2010.** Universal quadratures for boundary integral equations on two-dimensional domains with corners. *J. Comput. Phys.*, 229(22), 8259-8280. <https://doi.org/10.1016/j.jcp.2010.06.040>
- Delaney, G. W., Cleary, P. W. 2010.** The packing properties of superellipsoids. *EPL (Europhysics Letters)*, 89(3), 34002. <http://dx.doi.org/10.1209/0295-5075/89/34002>
- Dhia, A. S. B. B., Hazard, C., Monteghetti, F. 2021.** Complex-scaling method for the complex plasmonic resonances of planar subwavelength particles with corners. *J. Comput. Phys.*, 440, 110433. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jcp.2021.110433>
- Erbaş K.C. 2019.** Reducing the Laplace Equation to a 1D Problem in a Square Shaped Boundary, ICCMAS2019 International Conference on Computational Methods in Applied Sciences, İstanbul, Turkey, July 2019, p. 284.

- Erbaş K.C. 2020.** Calculation of the characteristic impedance of a square coaxial line by fitting the equipotential curves to the super circles, *1st international Ankara multidisciplinary studies congress*, Ankara, Turkey, August 2020, pp. 115-125
- Gardner, M. 2020.** Mathematical carnival. *Am. Math. Soc.*, 1989 Ed. Newyork, 297 p.
- Gridgeman, N. T. 1970.** Lamé ovals. *The Mathematical Gazette*, 54(387), 31-37.
- Hallonborg, U. 1996.** Super ellipse as tyre-ground contact area. *J. Terramechanics*, 33(3), 125-132. [https://doi.org/10.1016/S0022-4898\(96\)00013-4](https://doi.org/10.1016/S0022-4898(96)00013-4)
- Hein, P. 2021.** “Piet Heine” <https://piethein.com/piet-hein/>
- Huang, J.M., Shelley, M.J., Stein, D.B. 2021.** A stable and accurate scheme for solving the Stefan problem coupled with natural convection using the Immersed Boundary Smooth Extension method. *J. Comput. Phys.*, 432, 110162. <https://doi.org/10.1016/j.jcp.2021.110162>
- Kleev, A. I., Kyurkchan, A. G. 2015.** Application of the pattern equation method in spheroidal coordinates to solving diffraction problems with highly prolate scatterers. *Acoust. Phys.*, 61(1), 19-27. <https://doi.org/10.1134/S1063771014060104>
- Krähenbühl, L., Buret, F., Perrussel, R., Voyer, D., Dular, P., Péron, V., Poignard, C. 2011.** Numerical treatment of rounded and sharp corners in the modeling of 2D electrostatic fields. *J. Microw. Optoelectron. Electromagn. Appl.*, 10(1), 66-81. <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-10742011000100008>
- Kyurkchan, A. G., Manenkov, S. A., Smirnova, N. I. 2019.** Solution of Problems of Wave Scattering by Bodies Having Boundary Breaks and Fractal-Like Bodies of Rotation. *Opt. and Spectrosc.*, 126(5), 466-472. <http://dx.doi.org/10.1134/S0030400X19050175>
- Lamé Curve Calculator 2022.** <https://www.had2know.com/academics/lame-curve-area-perimeter-superellipse-calculator.html>
- Li, S., Boyd, J. P. 2015.** Approximation on non-tensor domains including squircles, Part III: Polynomial hyperinterpolation and radial basis function interpolation on Chebyshev-like grids and truncated uniform grids. *J. Comput. Phys.*, 281, 653-668. <https://doi.org/10.1016/j.jcp.2014.10.035>
- Lin, Y. C., Chen, C. Y., Cheng, Y. W., Shih, C. T. 2016.** Using Differential Evolution in Skull Prosthesis Modelling by Superellipse. *17th APIEMS conference*, Taipei.
- Manenkov, S. A. 2014.** A new version of the modified method of discrete sources in application to the problem of diffraction by a body of revolution. *Acoust. Phys.*, 60(2), 127-133. <http://dx.doi.org/10.1134/S1063771014010102>
- Manenkov, S. A. 2019.** Solution of the Problem of Diffraction by a Body of Revolution Located in a Dielectric Layer. *Opt. Spectrosc.*, 127(6), 1032-1043. <https://doi.org/10.1134/S0030400X19120142>
- Mathisfun 2020.** Perimeter. <https://www.mathsisfun.com/geometry/perimeter.html>
- Matlab, 2021.** R2021b: Updates to MATLAB, Simulink, and more than 90 Other Products [https://www.mathworks.com/products/new\\_products/latest\\_features.html](https://www.mathworks.com/products/new_products/latest_features.html)
- Méndez, I., Casar, B. 2021.** A novel approach for the definition of small-field sizes using the concept of superellipse. *Radiat. Phys. Chem.*, 189, 109775. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2021.109775>
- Nagornov, K. O., Kozhinov, A. N., Tsybin, Y. O. 2021.** Spatially-distributed cyclotron oscillators approach to FT-ICR MS at the true cyclotron frequency: Computational evaluation of sensitivity. *Int. J. Mass Spectrom.*, 466, 116604. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2021.116604>
- Natural Superellipse 2022,** Super-ellipse Calculator and Plotter. <http://www.procato.com/superellipse/>
- Osian, M., Tuytelaars, T., Van Gool, L. 2004.** Fitting superellipses to incomplete contours. In *2004 Conf. on Computer Vision and Patt. Recog. Workshop* (pp. 49-49). IEEE. <http://dx.doi.org/10.1109/CVPR.2004.73>
- Panda, S., Hazra, G. 2014.** Boundary perturbations and the Helmholtz equation in three dimensions. *Eur. Phys. J. Plus.*, 129(4), 1-20. <http://dx.doi.org/10.1140/epjp/i2014-14053-y>
- Ramanujan, A. S., Hardy, G. H. 1962.** Collected papers. New York: Chelsea Pub. Co.355 p.
- Rosin, P. L. 2000.** Fitting superellipses. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 22(7), 726-732. <http://dx.doi.org/10.1109/34.865190>
- Sert, Z. 2021.** Flow and Mixed Convection with Heat Transfer around a Square Cylinder. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 11 (2), 145-153 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/karaelmasfen/issue/66240/889634>
- Silvia, P.J., Barona, C. M. 2009.** Do people prefer curved objects? Angularity, expertise, and aesthetic preference. *Empir. Stud. Arts*, 27(1), 25-42. <https://doi.org/10.2190%2FEM.27.1.b>
- Superellipse (Lamé curve) 2011.** [https://www.fractional-calculus.com/super\\_ellipse.pdf](https://www.fractional-calculus.com/super_ellipse.pdf)
- Superellipse 2021.** <https://en.wikipedia.org/wiki/Superellipse>
- Villarino, M. B. 2005.** Ramanujan's Perimeter of an Ellipse. arXiv preprint math/0506384.
- Weir, M. D., Hass, J., & Giordano, F. R. 2005.** Thomas' calculus: early trancendentals. 11<sup>th</sup> ed. Pearson Addison Wesley, USA, 505 pp.

**Weisstein, Eric W. 2021a.** "Superellipse." From MathWorld--A Wolfram Web Resource. <https://mathworld.wolfram.com/Superellipse.html>

**Weisstein, Eric W. 2021b.** "Rectellipse." From MathWorld--A Wolfram Web Resource. <https://mathworld.wolfram.com/Rectellipse.html>

**Westerman, S. J., Gardner, P. H., Sutherland, E. J., White, T., Jordan, K., Watts, D., Wells, S. 2012.** Product design: Preference for rounded versus angular design elements. *Psych. and Market.*, 29(8), 595-605. <https://doi.org/10.1002/mar.20546>

**Zhang, X., Rosin, P. L. 2003.** Superellipse fitting to partial data. *Pattern Recognit.*, 36(3), 743-752. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-3203\(02\)00088-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-3203(02)00088-2)

## APPENDIX

% Numerical Integration 1 for MATLAB R2021b

n=4; k=0.5;

xmax=1; fun5 = @(x) sqrt(1 + (((1-x.^n).^(1./n-1)).\*k.\*x.^(n-1)).^2 );

P\_1 = 4\*integral(fun5,0,xmax);

% Numerical Integration 2

xmax=2.^(-1/n);

fun5 = @(x) sqrt(1 + (((1-x.^n).^(1./n-1)).\*k.\*x.^(n-1)).^2 ); % Integrand of L\_n

fun6 = @(x) k\*sqrt(1 + (((1-x.^n).^(1./n-1)).\*(1/k).\*x.^(n-1)).^2 ); % Integrand of S\_n

L\_n = integral(fun5,0,xmax); S\_n = integral(fun6,0,xmax);

P\_2= 4\*(L\_n + S\_n);



# A New Paradigm on the Qualitative Behavior of Chua's Circuit

*Chua Devresinin Kalitatif Davranışı Üzerine Yeni Bir Paradigma*

Muzaffer Ateş\* Muhammet Ateş

Van Yuzuncu Yıl University, Van, Turkey

## Abstract

Today, the qualitative behavior of dynamical systems is a very important subject of control theory. Based on this, we consider the stability and instability properties of the equilibrium points of Chua's circuit under suitable conditions by the Lyapunov direct method. This method gives us qualitative information directly without solving the given systems. From this circuit, we construct suitable energy or candidate Lyapunov function and then apply the method as a tool to investigate the global asymptotic stability and instability of the system. We also determine under which conditions the system behaves as a chaotic system or a memristor. In this study, we realized that an unforced dissipative dynamical system with bounded initial states has zero solution or motion at infinity. Some simulation results and examples are given to verify the obtained theoretical predictions.

**Keywords:** Chua's circuit, Lyapunov stability, Memristor, Nonlinear RLC circuit

## Öz

Günümüzde dinamik sistemlerin niteliksel davranışları, kontrol teorisinin çok önemli bir konusudur. Buna dayanarak, Lyapunov direkt yöntemi ile Chua devresinin denge noktalarının uygun koşullar altında kararlılık ve kararsızlık özelliklerini ele alıyoruz. Bu yöntem, verilen sistemleri çözmeden bize doğrudan niteliksel bilgi verir. Bu devreden, uygun enerji veya aday Lyapunov fonksiyonunu oluşturuyoruz ve daha sonra yöntemi, sistemin global asimptotik kararlılığını ve kararsızlığını araştırmak için bir araç olarak uyguluyoruz. Ayrıca sistemin hangi koşullar altında kaotik bir sistem veya bir memristör gibi davranışını da belirleriz. Bu çalışmada, sınırlı başlangıç durumları olan bir zorlamasız tüketen dinamik sistemin sonsuzda sıfır çözümü veya harekete sahip olduğunu fark ettik. Elde edilen teorik tahminleri doğrulamak için bazı simülasyon sonuçları ve örnekler verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Chua devresi, Lyapunov kararlılığı, Memristör, Doğrusal olmayan RLC devresi

## 1. Introduction

In this study the handled Chua-like circuit is a third-order nonlinear autonomous circuit with at least one nonlinear element ( $NR$ ), one linear resistor and three linear energy storage elements (Adamatzky et al. 2013). In 1983, Chua realized that chaos could be produced in such third section- order circuits when shows symmetric piecewise-linear characteristics ( $V_{NR} - I_{NR}$ ), but this is not necessary (Adamatzky et al. 2013), it can also be realized with a cubic characteristic (Chua 1992, Zhong 1994). Since Chua's

circuit has become a reference circuit for studying chaos. Chaotic systems can be found in physics (the Lorentz actuator), in finance, in biology, or electrical circuits (Chua's electrical circuits) which have found interest in the literature (Sene 2021, Srisuchinwong et al. 2007). Here, we will study three different aspects: stability, instability and chaos properties of the circuit. We give the conditions (for  $NR$ ) under which the present model exhibit stability, instability and chaos. We support our theoretical results with graphical representations in 3D. We turn out our discussion on the stability and instability of the defined circuit with the more general nonlinear characteristic of  $NR$ . We also discuss the chaotic behaviors of the circuit for symmetric piecewise-linear characteristics of  $V_{NR} - I_{NR}$ . Hence, understanding nonlinear phenomena will become more and more important as time goes (Johnsen 2012), since nature itself is nonlinear. Therefore, the qualitative behavior of

\*Corresponding author: [ates.muzaffer65@gmail.com](mailto:ates.muzaffer65@gmail.com)

Muzaffer Ateş [orcid.org/0000-0001-5725-9580](https://orcid.org/0000-0001-5725-9580)  
Muhammet Ateş [orcid.org/0000-0003-2223-2745](https://orcid.org/0000-0003-2223-2745)



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

many nonlinear systems (of any order) such as biological, electrical, mechanical and neural systems are analyzed today.

The term *stability* is a device of some sort that operates under certain general conditions (La Salle and Lefschetz 1961). Stability is the heart of control theory (Gil 2005). Therefore, the Lyapunov direct method is a very efficient tool to determine the qualitative behaviors of dynamical systems (Sugie and Amano 2004, Zhang and Yu 2013). The Lyapunov characterizations of the fractional differential equations are detailed in (Sene 2020), and fractional input stability is addressed in a recent paper (Sene 2019). Unlike these studies, we construct the Lyapunov function from the storage elements of the circuit that fortified the application of the method. For stability analysis of differential equations, the proposed approach improves some relevant studies such as (Sugie and Amano 2004) and (Tunc and Tunc, 2007). Because the derivative of the Lyapunov functions in these studies may be in the form of (2) at a blow, but they are not (for explanation see section 4). So, the proposed approach can apply to a fourth-order elliptic filter (Seidi et al. 2007).

In this connection, we shall cite some excellent studies in the relevant literature discussing qualitative behaviors of certain circuit systems (Chua et al. 1986, Kennedy 1994, Tchitnga et al. 2012, Kocamaz and Uyaroglu 2014). Here, we applied the Lyapunov method to certain third-order nonlinear *RLC* circuit systems. Passive systems are stable, in this respect a novel passivity property of nonlinear *RLC* circuit investigated in (Jeltsema et al. 2003).

The rest of this paper is organized as follows. Section 2 presents some definitions and auxiliary results. Section 3 deals with three main results and simulations. Section 4 deals with the discussion. Section 5 closes the paper with a short conclusion.

Let's give the following fundamentals relevant to the subject before the main results.

## 2. Preliminaries

A dynamical system is investigated as a theoretic mathematical model that maps inputs (excitations, causes) into outputs (responses, effects) by a set of intermediate variables (state variables). In this investigation, we consider the nonlinear dynamical system of the form

$$\dot{x}(t) = f(x(t)), x(0) = x_0, \forall t \geq 0, \quad (1)$$

where  $t \in \mathbb{R}^+ (\mathbb{R}^+ = [0, \infty))$  denotes time,  $x \in \mathbb{R}^n$  denotes the state of the system,  $f: \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$  satisfies global Lipschitz

condition. The state vector  $x(t) \in D$ , in which  $D \subseteq \mathbb{R}^n$  is a domain that contains the origin  $x = 0$ . A constant vector  $x_e \in D$  is said to be an equilibrium state of the system (1) if the condition  $f(x_e) = 0$  is satisfied, where 0 is the null vector. The velocity vector  $\dot{x}(t)$  vanishes at the equilibrium state  $x_e$ , and therefore the constant function  $x(t) = x_e$  is a solution of (1). We assume that (1) is well posed, that is, there exists a unique solution  $x: [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}^n$  for every initial data  $x(0) = x_0 \in \mathbb{R}^n$ , and  $x$  depends continuously on  $x_0$  according to the normed topology on  $\mathbb{R}^n$ . Let  $f(0) = 0$ ,  $f(x) \neq 0$  for  $x \neq 0$ . Let the measured output of (1) is  $x(t)$ . The energy or the Lyapunov function  $E(t) = E(x) \in C^1(\mathbb{R}^n, \mathbb{R}_+)$  of (1) is positive definite function (pdf) and continuously differentiable along the motions of (1) such as

$$\frac{d}{dt}E(x(t)) = \dot{E}(t).$$

Now, we can define some properties of the energy (Lyapunov) functions. The following two definitions are from (Zhong et al. 2009).

**Definition 1** A function  $\alpha(\mathbb{R}_+, \mathbb{R}_+)$  is of class  $\mathcal{K}$  if it is continuous, strictly increasing, and  $\alpha(0) = 0$ . A class  $\mathcal{K}_\infty$  function  $\alpha(r)$  is a subset of class  $\mathcal{K}$  if  $\alpha(r) \rightarrow \infty$  as  $r \rightarrow \infty$ .

We extend Proposition 2.1 (Zhong et al. 2009) as the following definition:

**Definition 2** A function  $E(x) \in C^1(\mathbb{R}^n, \mathbb{R}_+)$  is said to be positive definite, decrescent and radially unbounded function if there exist functions  $\alpha$  and  $\beta$  of class  $\mathcal{K}$ , and some pdf  $\gamma$  such that

- (i)  $\alpha(\|x\|) \leq \beta(\|x\|), \forall t \geq 0, \forall x \in \mathbb{R}^n$ ,
- (ii)  $E(0) = 0$ ,
- (iii)  $\dot{E}(x) \leq -\gamma(\|x\|) \leq 0$ .

For globally asymptotically stability of our discussion, we may give the following definition (Haykin 2009).

**Definition 3** The equilibrium state  $x_e$  is said to be globally asymptotically stable if it is stable and all trajectories of the system (1) converge to  $x_e$  as time  $t$  approaches infinity.

**Corollary 1** For any unforced dissipative dynamical system, the time derivative of the storage (Lyapunov) function  $E(t)$  along the system trajectories is

$$\dot{E}(t) = -\sum_{i=1}^n R_i I_i^2 = -\sum_{i=1}^n \frac{1}{R_i} v_i^2 \leq 0 \quad (2)$$

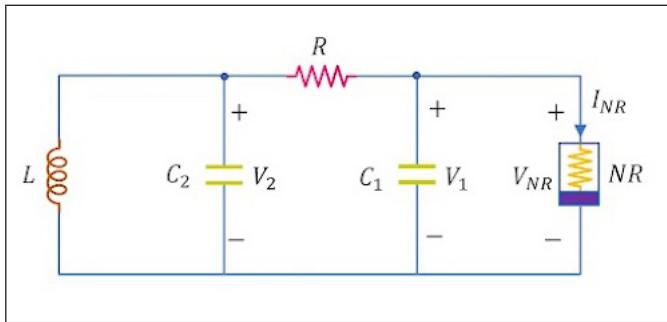
where  $R_i \geq 0$  is the resistance,  $I_i$  and  $v_i$  are the current and voltage of the  $i$ th component of the system. For a

conservative or Hamiltonian system ( $R_i = 0, \dot{E}(t) = 0$ ). The physical significance of (2) may be found in a recent study (Ates 2021).

We are now in a position to state and proof our main results.

### 3. Main Results

Now with the above projection, we can easily discuss the qualitative behaviors of the following Chua's circuit (Adamatzky et al. 2013).



**Figure 1:** Chua's circuit with nonlinear resistor  $NR, I_{NR} = p(x)$ .

Here,  $I_{NR}$  for the stability and instability analysis of the above circuit may be in the form  $p(x) = \frac{1}{k}x^{2n+1} \pm x$ , where  $n \in \mathbb{N}, \mathbb{N} = \{1, 2, 3, \dots\}$  and  $k > 0$  is a constant. The circuit shown in Figure 1 generates the following system (with  $x = v_{c1}, y = v_{c2}, z = i_L$ )

$$\begin{aligned}\dot{x} &= \frac{1}{C_1} \left[ \frac{y-x}{R} - p(x) \right], \\ \dot{y} &= \frac{1}{C_2} \left[ \frac{x-y}{R} - z \right], \\ \dot{z} &= \frac{1}{L} y.\end{aligned}\tag{3}$$

**Theorem 1** The invariant equilibrium point  $(0,0,0)$  of (3) is globally asymptotically stable or this point makes the system lossless if  $p(x)$  satisfies the followings:

- (i)  $p(0) = 0$ ,
- (ii)  $p(x) \geq 0$ ,
- (iii)  $xp(x) \geq 0$ ,
- (iv)  $p(x) \rightarrow \pm\infty$  as  $x \rightarrow \pm\infty$ .

**Proof** The storage energy function  $E_1(t) = E_1(x, y, z)$  of the circuit in Figure 1 from power-energy relationship of the circuit theory is

$$E_1(t) = \frac{1}{2}C_1x^2 + \frac{1}{2}C_2y^2 + \frac{1}{2}Lz^2.$$

The energy function ( $E_1: \mathfrak{R}^3 \rightarrow \mathfrak{R}^+$ ) satisfies

- (i)  $E_1(0, 0, 0) = 0$ ,
- (ii)  $E_1(x, y, z) > 0, \forall x, y, z \in \mathfrak{R} - \{0, 0, 0\}$ .

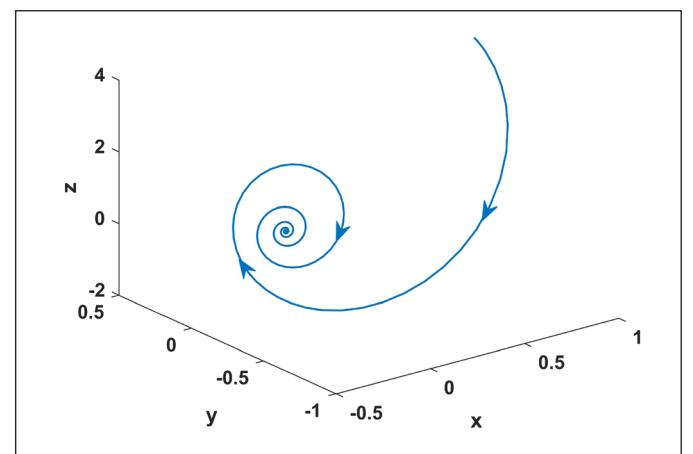
$E_1$  is confirmed by the Definitions 1 and 2. Thus,  $E_1$  is a pdf. Then, we write

$$E_1(t) \geq \frac{1}{2}C_1x^2.$$

The time rate of change of  $E_1(t)$  along trajectory (3) is given by

$$\dot{E}_1(t) = -R \left( \frac{x-y}{R} \right)^2 - \left( \frac{x}{p(x)} \right) p^2(x).$$

$\dot{E}_1(t)$  is in the form of (2). Thus,  $\dot{E}_1(t) \leq 0$  on  $\mathfrak{R}^3$ ,  $E_1(\infty) = 0$  and  $E_1(x) \rightarrow \infty$  as  $x^2 + y^2 + z^2 \rightarrow \infty$ . Hence, (3) have bounded motions. The set  $S$  where  $\dot{E}_1 = 0$  is  $\{0, 0, 0\}$ . This implies that the origin is the only invariant subset of  $S$ . Then, the zero motion  $\{0, 0, 0\}$  or the equilibrium motion of (3) is globally asymptotically stable. Hence,  $E_1$  with the associated system satisfy the properties of Definitions 1, 2 and 3. Consequently, one may conclude that (3) is lossless at infinity, that is,  $x(\infty) = 0$ . For convince, see Figures 2a and 2b with  $C_1 = C_2 = 1F, L = 0.1H, R = 1$ , and  $p(x) = \frac{1}{30}x^3$ .



**Figure 2A:** Stable phase portrait of the system (3).

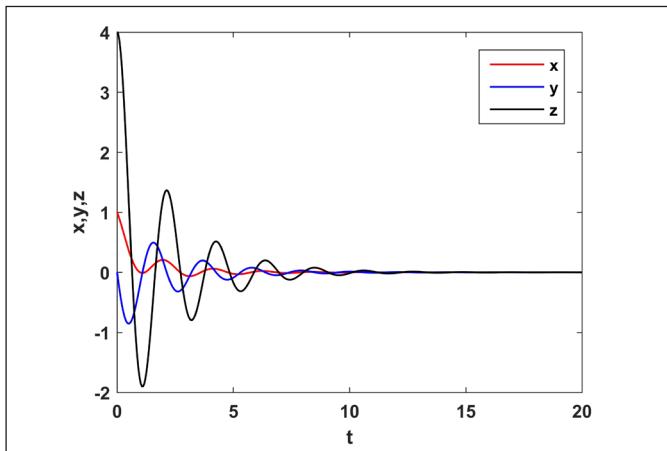
In addition, recall that  $(0, 0, 0)$  is the only invariant equilibrium state of (3). For  $p(x) = x^3 + x$ , we have the following Jacobian matrix for (3) about equilibrium state (with  $R = C_1 = C_2 = L = 1$ )

$$\begin{bmatrix} -2 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

which has the following eigenvalues:

$$-2.5214 + 0.0000i, -0.2393 + 0.8579i, -0.0.8579i.$$

The negative real part of the eigenvalues implies that system (3) is stable. Both the results obtained by the Lyapunov method and the Jacobian matrix method are compatible with Definition 3.



**Figure 2b.** Stable time series solutions of system (3).

**Theorem 2** The system (3) is unstable if the (ii) condition of Theorem 1 is replaced by

$$\dot{p}(0) < 0.$$

**Proof** In this case, let  $p(x) = \frac{1}{k}x^{2n+1} - x$ . Now, the condition (iii) of Theorem 1 is not satisfied in the neighborhood of the origin, that is,  $xp(x) < 0$ . In this case,  $\dot{E}_1(t) > 0$  implies that system (3) is unstable. The phase portrait in the neighborhood of the origin (0,0,0) blow-up which is a fundamental difficulty in the study of nonlinear systems and the time series solutions of (3) do not converge to the

equilibrium point for large time  $t$ . This explanation matches with Figures 3a and 3b. Here, all the parameters of (3) are the same as defined in the above simulations, but only  $p(x)$  is different. The explanation for the new  $p(x)$  will be given in the following example.

Moreover, in this case, the Jacobian matrix

$$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & -1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

verifies the instability of the system (3).

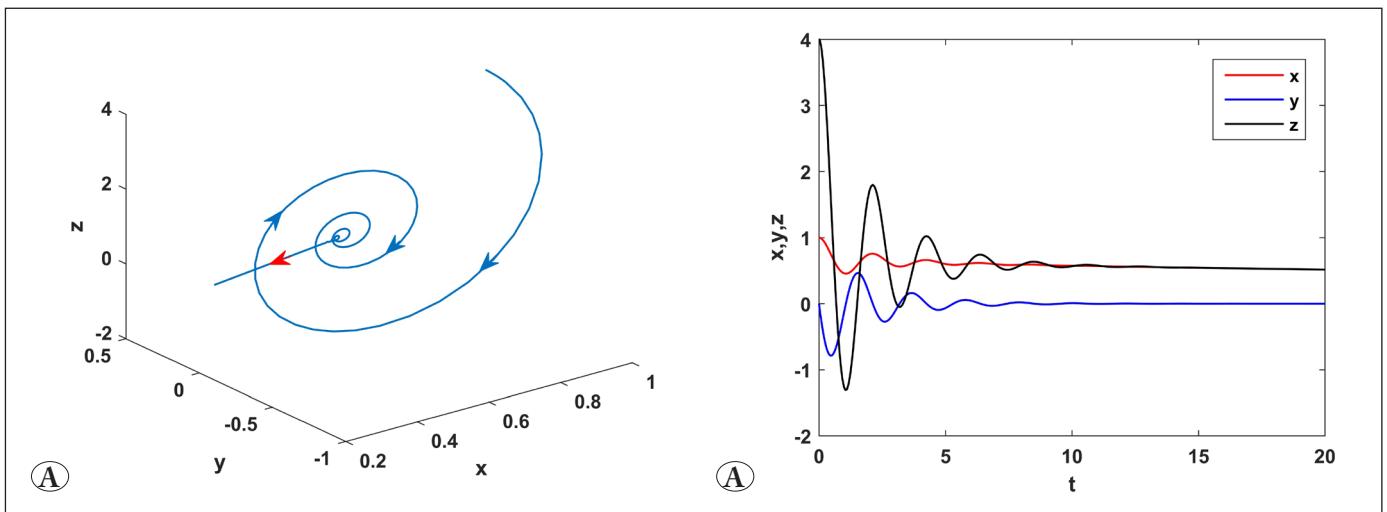
**Example 1** For  $n = 1, p(x) = \frac{1}{30}x^3 - x$  third-order,  $xp(x) < 0$  (in the neighborhood of the equilibrium) which contradicts with (iii) of Theorem 1.

**Theorem 3** The system (3) is chaotic if the nonlinear resistor NR in Chua's circuit represents symmetric piecewise-linear ( $V_{NR} - I_{NR}$ ) characteristics with negative slopes.

**Proof** Now, NR can represent the working process of a memristor or Chua's diode such that

$$p(x) = \begin{cases} bx + (b-a)x_0, & \text{if } x < -x_0 \\ ax, & \text{if } -x_0 \leq x \leq x_0 \\ bx + (a-b)x_0, & \text{if } x > x_0 \end{cases} \quad (4)$$

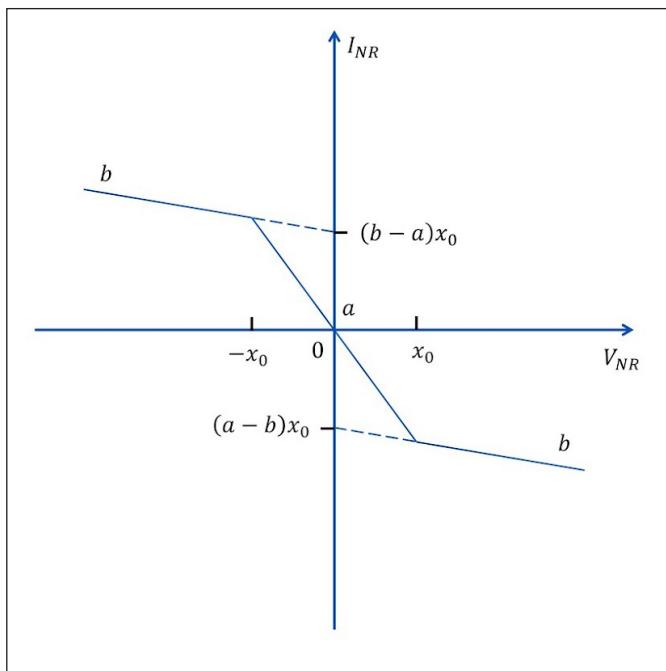
where  $x_0 > 0, a < 0$ , and  $b < 0$  are constants. In this case, the system (3) can be represented by (4). With the following graphic (Figure 4) which has three equilibrium points: one at the origin where NR has a locally negative slope or conductance  $a$ , and the two others occur at  $\pm x_0$ , where NR has a locally negative conductance  $b$ . The new one may represent an affine system, that is,  $p(0) \neq 0$ . The Lyapunov function at the equilibrium points:



**Figure 3:** A) Unstable phase portrait of the system (3). B) Unstable time series solutions of system (3).

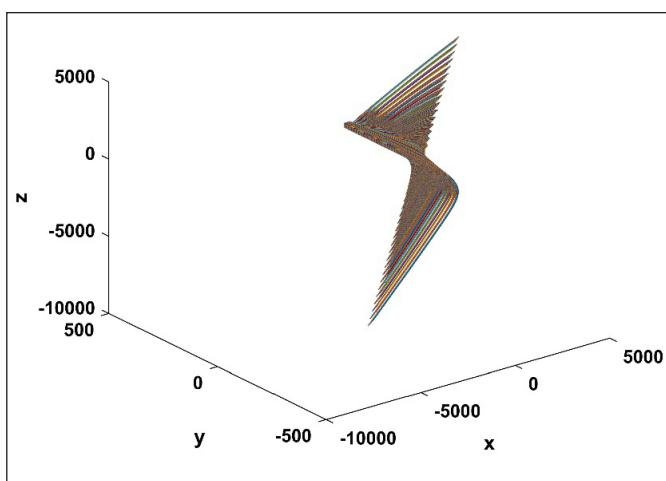
- (i)  $E_1(0,0,0) = 0$ ,
- (ii)  $E_1(\pm x_0, \pm y_0, \pm z_0) \neq 0$ .

The second condition contradicts with the minimum energy configuration at the equilibrium point. The chaotic behavior of the system (3) with (4)



**Figure 4:** The driving point characteristic of the nonlinear resistor  $NR$  in Chua's circuit has breakpoints at  $\pm x_0$ . The driving point characteristic of the nonlinear resistor  $NR$  in Chua's circuit has breakpoints at  $\pm x_0$  and slopes  $a$  and  $b$ .

The chaotic behavior of the system (3) with (4) is depicted in Figure 5.



**Figure 5.** Phase portrait of the system (3) with (4).

#### 4. Discussion

The proposed approach can also be used in the stability analysis of first, second and higher-order (more than 3<sup>rd</sup> order) differential systems, especially  $RLC$  circuits and elliptic filters (Saeidi 2007). In addition, the nonlinear element ( $NR$ ) of Chua's circuit is treated as a cubic nonlinear element form  $p(x) = ax + bx^3$  where  $a, b > 0$  are constants in the relevant literature (Zhong 1994). But, in this study, we relaxed this condition to the most general characteristic of the element as defined above system (3). Moreover, according to the proposed approach the directional derivative of the Lyapunov function of an unforced system is equal to the negative value of the dissipated power. This approach improves some existing conclusions. For example, according to the proposed approach, the derivative of Lyapunov function for system ( $E^*$ ) in (Sugie and Amano 2004) will be  $\dot{V} = -y^2$  that is in the form of (2). But in (Sugie and Amano 2004) it is a long equation and it is not in the form of (2). This is just one example.

#### 5. Conclusion

In this paper, the global asymptotic stability, instability and memristive performance of nonlinear third-order systems have been investigated. The paper presents a new idea to determine the construction and derivative of the Lyapunov function from the perspective of physical meaning. We precisely construct the suitable (real) Lyapunov function by using the power-energy relationship of basic circuit theory. Therefore, the stability and instability of the systems framed by  $LRC$  circuits. So, the obtained results can be unified with (2) and different from the existing literature. Symmetric piecewise-linear ( $V_{NR} - I_{NR}$ ) characteristics with negative slopes of  $NR$  determine the memristive performance of Chua's circuit. The numerical examples have been presented to prove the applicability of the proposed theoretical results. The methodology handled here may be applicable for higher-order differential systems and impressive for future stability analysis.

#### 6. References

- Adamatzky, A., Chen, G. 2013.** Chaos, CNN, Memristors and Beyond a Festschrift for Leon Chua. *World Scientific Publishing*, pp. 3-24.
- Ates, M. 2011.** Circuit theory approach to stability and passivity analysis of nonlinear dynamical systems. *Int J Circuit Theory Appl.*, 40:1165-1174.

- Chua, LO.** 1992. The genesis of Chua's circuit. *Arch Electron Übertrag tech.*, 46: 250–257.
- Chua, LO., Komuro, M., Matsumoto, T.** 1986. The double scroll family. *IEEE Trans Circuits Syst-I*, 33: 1073–1118. <https://doi.org/10.1109/tcs.1986.1085869>
- Gil, MI.** 2005. Stability of linear systems governed by second-order vector differential equations. *Int J Control*, 78: 534–536. <https://doi.org/10.1080/00207170500111630>
- Haykin, S.** 2010. Neural Networks and Learning Machines, NJ, Englewood Cliffs:Prentice-Hall, pp.678–683. <https://doi.org/10.22541/au.160630205.52498627/v1>
- Jeltsema, D., Ortega, R., Scherpen, JMA.** 2003. A novel passivity property of nonlinear RLC circuits. Proceedings of the 4th Mathmod Symposium; ARGESIM Report 24, University of Groningen, Research Institute of Technology and Management, pp. 845–853.
- Johnsen, GK.** 2012. An introduction to the memristor – a valuable circuit element in bioelectricity and bioimpedance. *J Electr Bioimp*, 3: 20–28. <https://doi.org/10.5617/jeb.305>
- Kennedy, MP.** 1994. Chaos in the Colpitts oscillator. *IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Fundamental Theory and Applications*, 41(11), 771–774. <https://doi.org/10.1109/81.331536>
- Kocamaz, UE., Uyaroglu, Y.** 2014. Synchronization of Vilnius chaotic oscillators with active and passive control. *J Circuit Syst Comp.*, 23: 1–17. <https://doi.org/10.1142/s0218126614501035>
- La Salle, S., Lefschetz, S.** 1961. Stability by Liapunov's Direct Method with Applications. New York, NY, USA: Academic Press, pp. 28–29
- Saeidi, B., Solutions, S., Irvine, CA.** 2007. A Fourth Order Elliptic Low-Pass Filter with Wide Range of Programmable Bandwidth, Using Four Identical Integrators. *IEEE Custom Integrated Circuits Conference (CICC)*. <https://doi.org/10.1109/cicc.2007.4405712>
- Sene, N.** 2019. Stability analysis of the generalized fractional differential equations with and without exogenous inputs. *Journal of Nonlinear Sciences and Applications*, 12(09), 562–572. <http://doi.org/10.22436/jnsa.012.09.01>
- Sene, N.** 2020. Generalized Mittag-Leffler Input Stability of the Fractional-Order Electrical Circuits. *IEEE Open Journal of Circuits and Systems*, 1, 233–242. <http://doi.org/10.1109/ojcas.2020.3032546>
- Sene, N.** 2021. Mathematical views of the fractional Chua's electrical circuit described by the Caputo-Liouville derivative. *Revista Mexicana de Física*, 67(1), 91–99. <http://doi.org/10.31349/revmexfis.67.91>
- Srisuchinwong, B., San-Um, W.** 2007. Implementation of Chua's chaotic oscillator using "roughly-cubic-like" nonlinearity. In *4th International Conference on Electrical Engineering/Electronics, Computer, Telecommunications and Information Technology* (pp. 36–37). <https://doi.org/10.1109/apcc.2007.4433503>
- Sugie, J., Amano, Y.** 2004. Global asymptotic stability of non-autonomous systems of Lienard type. *J Math Anal Appl.*, 289: 673–690. <https://doi.org/10.1016/j.jmaa.2003.09.023>
- Tchitnga, R., Fotsin, HB., Nana, B., Fotso, PHL., Woaf, P., Hartley's. Oscillator.** 2012. The simplest chaotic two-component circuit. *Chaos Soliton Fract.*, 45: 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2011.12.017>
- Tunç, C., Tunç, E.** (2007). On the asymptotic behavior of solutions of certain second-order differential equations. *Journal of the Franklin Institute*, 344(5), 391–398. <https://doi.org/10.1016/j.jfranklin.2006.02.011>
- Zhang, L., Yu, L.** 2013. Global asymptotic stability of certain third-order nonlinear differential equations. *Math Meth Appl Sci.*, 36: 1845–1850. <https://doi.org/10.1002/mma.2729>
- Zhong, GQ.** 1994. Implementation of Chua's circuit with a cubic nonlinearity. *IEEE T Circuits Syst-I*, 41: 934–941. <https://doi.org/10.1109/81.340866>
- Zhong, PJ. Yuandan, L., Yuan, W.** 2009. Stabilization of time-varying nonlinear systems: A control Lyapunov function approach. *J Syst Sci Complexity*, 22: 683–696. <https://doi.org/10.1007/s11424-009-9195-1>



# Investigation of Some Biological Properties of Coelomic Fluid Originating from the Red Worm *Eisenia fetida*

*Kırmızı Solucan Eisenia fetida Kaynaklı Söloomik Sıvının Bazı Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması*

Elif Demirkan\* , Tuba Sevgi , Aynur Aybey Çetinkaya , Halime Kocakurt

Bursa Uludag University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Bursa, Turkey

## Abstract

*Eisenia fetida* is abundant and vital member of the soil environment. The coelomic fluid they secrete help their physiological activities. This liquid, which they release during stress, also has a significant effect on soil health and ecotoxicity. In this study, some biological properties of coelomic fluid were investigated. For this purpose, 3 bacteria were selected from coelomic fluid, they were identified based on the 16S rRNA sequence and 2 of these were similar to *Bacillus cereus* and 1 to *Bacillus thuringiensis*. When the enzymatic activities in the coelomic fluid were controlled, the presence of lipase, cellulase, amylase, protease, phytase and arylsulfatase activities were detected. The antibacterial effects of the coelomic fluid was investigated against *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* and *Pseudomonas aeruginosa*. According to the results, it showed inhibitory effects on test bacteria. Additionally, the thin layer chromatography results showed the presence of glucose and maltose in the coelomic fluid. Protein pattern of fluid showed five clear protein bands in the range of 17–46 kDa. With this study, some biological properties of coelomic fluid have been revealed, and will shed light on future studies.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Coelomic fluid, Earthworm, Eisenia fetida, Enzyme activity, Protein profile

## Öz

*Eisenia fetida*, toprak ortamının bol bulunan hayatı üyeleriindendir. Salgıladıkları söloomik sıvı fizyolojik aktivitelerine yardımcı olur. Stres sırasında serbest bırakıkları bu sıvı, toprak sağlığı ve ekotoksiste üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir. Bu çalışmada, söloomik sıvının bazı biyolojik özellikleri araştırılmıştır. Bu amaçla söloomik sıvıdan 3 bakteri seçilmiş, 16S rRNA dizilimine göre tanımlanmış ve bunlardan 2 tanesi *Bacillus cereus* ve 1 tanesi *Bacillus thuringiensis* ile benzerlik göstermiştir. Söloomik sıvıdaki enzimatik aktiviteler kontrol edildiğinde lipaz, selülaz, amilaz, proteaz, fitaz ve arilsülfataz aktivitelerinin varlığı tespit edilmiştir. Söloomik sıvının antibakteriyel etkileri *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı araştırılmıştır. Sonuçlara göre söloom bakterileri üzerinde inhibitör etkiler göstermiştir. Buna ek olarak, ince tabaka kromatografisi sonuçları ise söloomik sıvıda glikoz ve maltoz varlığını göstermiştir. Sıvının protein paterni, 17–46 kDa aralığında beş açık protein bandı göstermiştir. Bu çalışma ile söloomik sıvının bazı biyolojik özellikleri ortaya konulmuş olup, bundan sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, Söloomik sıvı, Solucan, Eisenia fetida, Enzim aktivitesi, Protein profili

## 1. Introduction

Protection of soil life is the first thing against the sustainable management of its biological properties of soil life for long-

term quality and productivity. It is explained as soil biota helps to soil fertility, but there is not so much informations about soil-dwelling organisms and the functioning of soil ecosystems. The role of earthworms in fertility of soil has been known since 1881 (Bhaduria and Saxena 2010). Earthworms are the *Annelidae*, *Lumbricidae* family, oligochaetes class and it has up 8000 species (Blouin et al. 2013). Soil fauna, like earthworms, indirectly change the soil and subsoil environment through their biological structures (dumps, galleries, pellets, etc.), thereby influencing soil plant growth, physical features and cycling of nutrient (Scheu

\*Corresponding author: edemirkan@uludag.edu.tr

Elif Demirkan orcid.org/0000-0002-5292-9482

Tuba Sevgi orcid.org/0000-0002-7528-9529

Aynur Aybey Çetinkaya orcid.org/0000-0003-2743-9745

Halime Kocakurt orcid.org/0000-0002-9302-3011



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

2003). Earthworms are an important for soil fauna in many of the natural ecosystems and make up a big portion of the macrofauna biomass (Lavelle 1995).

Earthworms are metamerically segmented organisms (Gudeta et al. 2020). Although the worm has a primitive organization, its circulatory, nervous, muscular, digestive, excretory and reproductive systems are developed well. It's one of important feature is its body segmentation. It has the same general functions like the division of the body to organs, different segments perform different functions (Aydilek 2005).

Earthworms secrete a pungent yellow liquid on stress (heat, cold, mild electric current, etc.) (Nadana et al. 2020). This fluid secreted from the coelom, which is the space between the body wall and the alimentary canal, is called coelomic fluid (CF). The yellow colour comes from riboflavin, which is found partly in the fluid. However, CF is a mixture contains aromatic metabolites are known as species-specific small molecules, but its true content is not fully known (Rochfort et al. 2017). However, researchers determined that this liquid contains some enzymes such as fibrinolytic enzymes, metalloenzymes, lysozymes, proteases, and antimicrobial proteins, polysaccharides, some nutrients and also defense substances that support the growth of plants beside inhibit plant from diseases (Wang et al. 2007, Gudeta et al. 2021). Bioactive components in the liquid have cytolytic, proteolytic, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant and antitumor, hemolytic, hemagglutination, tumorolytic and mitogenic activities (Li et al. 2017). Antimicrobial substances like antigen binding proteins and lysozyme that are the significant elements for immune system have also found in the CF (Wang et al. 2006). Antimicrobial peptides are the most important defense components, are now considered as universal host defense tools against microbial infection (Valembois et al. 1992, Scherbert and Messner 1997).

Researchers have investigated the activities of several enzymes such as protease, amylase, and prophenoloxidase isolated and purified from CF (Kauschke et al. 2007, Ramian et al. 2018).

CF has also been reported to have anticancer activity. The high concentration of CF exerted a toxic effect on HeLa cells, causing cell lysis and fragmentation (Esaivani et al 2017).

Many techniques have been developed so as to obtain CF from earthworms for various biological activities etc. There

are usually four methods are practicing nowadays for the collection of CF from earthworms namely; warm water method, electric shock method, cold shock method and heat shock method (Patil and Biradar 2017).

CF with complex matrix with many biological functions and its own immune defense and microbial fertilizer has long been of interest (Cooper et al. 2002, Shen 2010). With the development of biotechnology, the bioactive compounds in the worm began to attract more and more attention.

*Eisenia fetida* (older spelling: *foetida*), also known as the California red worm, is one of the richest terrestrial species. They have an important role to maintain the ecological function of the soil by restoring and converting waste products into high-value useful plant growth medium (vermicompost: biofertilizer) (Devi and Khwairakpam 2020).

The aim of our study is to reveal some important biological properties of CF from *E. fetida*. For this, we intend to contribute to the literature by isolating bacteria from CF, presence of enzymes, antibacterial effect, presence of sugar, protein content in the fluid, and also by detecting the protein profile of the fluid with SDS-PAGE.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

The worm *Eisenia fetida*, which was used as a CF source in the study, was obtained from Solitera Compost Ecological Products Food, Agriculture and Livestock Company (Bursa), which produces chemical fertilizers and earthworms. For antibacterial activity tests, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 *Escherichia coli* ATCC 25922 *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 were obtained from Department of Microbiology and Infection Diseases, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University.

### 2.2. Methods

#### 2.2.1. Extraction of coelomic fluid by salt shock method

The earthworms were washed twice with distilled water and 0.85% NaCl (physiological salt water) respectively, dried on a paper, and then put in a glass beaker. The 5 V stimulation for 30 s was applied to the earthworms. It was induced them to release CF from the epidermal dorsal pores. The collected CF was vortexed and filtered with 0.22 µm syringe filter

(Macherey-Nagel sterile filter) (Vasantha et al. 2019). Cell-free supernatant was used in the experiments.

### 2.2.2. Isolation and identification of bacterial strains

Nutrient agar medium was used to isolate bacteria. 1 mL of CF obtained from the worm was mixed by vortexing in 10 mL of 0.85% of NaCl solution A series of dilutions were made from the solution sample and inoculated into petri dishes. They were incubated overnight at 37 °C. Identification and phylogenetic analyzes of 3 selected bacteria were performed by Refgen Biotechnology company (Ankara, Turkey). The bacterial identification and phylogenetic analysis were done after extraction of genomic DNA of bacteria (Qbiogene, Montreal, PQ, Canada). The sequence was analyzed with ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) and sequences were checked and analyzed by a similarity search on the NCBI GenBank database using BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) to compare with the related sequences (Altschul et al. 1990). The CLUSTAL W was used to obtain multiple alignments of nucleotides for 16S rRNA genes. The phylogenetic analysis was constructed by MEGA 6.0, the phylogenetic tree was created using the neighbor-joining method (Saitou and Nei 1987). Gram and spore staining were also performed. The sequences were submitted to NCBI GenBank database and accession numbers were obtained.

### 2.2.3. Protein concentration determination

The biomass of protein content in CF was determined by Lowry et al. (1951) method. The protein concentration of the test sample was performed from a standard curve.

### 2.2.4. Enzyme activities of coelomic fluid

The presence of important enzymes such as lipase, cellulase, amylase, protease, phytase and arylsulfatase activities in CF was investigated.

#### Lipase

Titrimetric analysis was used to determine the lipase activity (Sugihara et al. 1991). Reaction mixture (4.5 mL of 50 mM Tris-HCl (pH 7.0) and 0.1 M CaCl<sub>2</sub>), 1 mL of olive oil and 1 mL of filtered CF were incubated at 30 °C for 30 minutes by shaking. The 20 mL of 99.8% ethanol was used to stop enzymatic reaction. The pH was titrated to 10.5 by using a burette containing 50 mM KOH. One unit enzyme activity was described as the amount of enzyme releasing 1 µmol of fatty acid.

#### Cellulase

The method by Miller (1959) was used for the determination of cellulase enzyme activity. 0.5 mL of 1% carboxyl methyl cellulose substrate solution was added to 0.5 mL of CF and solution was incubated at 37 °C for 30 minutes in a water bath. In order to stop the reaction, 1 mL of Dinitrosalicylic acid (DNS) reagent (Garriga et al. 2017) was put and tubes were incubated in boiling water for 5 min., the absorbance was measured at 540 nm after cooling. One unit (U) of enzyme activity was defined as the enzyme amount that releases 1 µmol glucose per minute.

#### Amylase

Amylase activity was assayed by the starch-iodine method (Yoo et al. 1987). 5 mL of substrate solution (0.1% w/v) was kept for 10 min at 37 °C in a water bath and, then CF (0.5 mL) was added and incubated under the test conditions. After that 5 mL stopping reagent (0.1 M HCl) was added to the reaction mixture. 0.5 mL of mixture was added to 5 mL iodine solution. The absorbance was measured at 620 nm. One unit of enzyme was defined as the amount of enzyme that hydrolyzed 1 mg of starch (0.1%) under experimental conditions.

#### Protease

Total protease activity was measured using a casein substrate Anson Method (Keay and Wildi 1970). One milliliter of the CF, 1 mL 0.05 M phosphate buffer-0.1 M NaOH (pH 7.0 adjusted with phosphoric acid) was taken in a test tube containing 2% casein. Then test tube was placed in a water bath at 37 °C for 10 min. After reaction, 2 mL 0.4 M Trichloroacetic acid (TCA) was added for stopping the reaction. After 20 min stand at 37 °C, the solution was centrifuged at 6000 rpm for 10 min. From 1 mL supernatant was treated with 5 mL 0.4 M NaCO<sub>3</sub>. To this mixture 1 mL of 1:3 diluted Folin-Ciocalteu reagent was added, the contents were mixed properly and placed in dark for 20 min before the absorbance was measured at 660 nm. A standard curve was plotted from the concentrations of 0-60 µg/mL tyrosine and one unit of protease activity was defined as the amount of enzyme required to liberate 1 µg/mL tyrosine.

#### Phytase

Phytase activity was assayed according to the method described by Choi et al. (2001). 0.1 mL of CF and 0.9 mL of 2 mM sodium phytate was mixed in the test tubes containing 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.0). The reaction mixture was incubated in a water bath at 37 °C for 10 min

and then the reaction was stopped by adding 0.75 mL of 5% (w/v) TCA. Freshly prepared 1,5 mL of color reagent [four volumes of 2.5% (w/v) ammonium molybdate in 5.5% (v/v) sulfuric acid and one volume of 2.5% ferrous sulfate (w/v)] was added to the test tube and the released phosphate was measured at 700 nm. One enzyme unit was defined as the amount of phytase liberating 1 µmol of inorganic phosphate in a minute under the assay conditions.

#### Arylsulfatase

Arylsulfatase activity was determined by using method of Ohresser et al. (1997). 0.4 M glycine-NaOH buffer pH 9.0, 10 mM imidazole and the enzyme substrate 0.3 mM 5-bromo-4 chloro-indolylsulphate ( $X\text{-SO}_4$ ) were added to 400 µl CF in a total volume of 500 µl the reaction mixture. The sample was incubated at 37 °C for 1 h with  $X\text{-SO}_4$ , then 500 µl of 4% SDS in 0.2 M Na acetate buffer pH 4.8 and 100 µl of 10 mg/mL tetrazotized-o-dianisidine (Fast Blue B) (Sigma) was used to stop reaction. Fast Blue B coupled to the  $\alpha$ -naphthol released in the reaction, a purple precipitate which is soluble in SDS was observed. The absorbance at 540 nm was measured within 2 min after the addition of Fast Blue B. Arylsulfatase activity was expressed as  $\alpha$ -naphthol concentration formed in 1 hour at 37°C according to the total amount of protein (µg  $\alpha$ -naphthol/mg protein hour).

#### 2.2.5. Agar well diffusion method for antibacterial activity

Agar well diffusion method was used to determine CF's antibacterial activity (Haque et al. 1995). The test strains were incubated at 37°C for 24 h in nutrient broth. The inoculates with a density equivalent to  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL were spread over the Nutrient Agar (NA) with a cotton swab dipped in. Then, wells (7 mm in diameter) were made in the inoculated agar under sterile conditions. Filtered CF (0.22 µm syringe filter, Macherey-Nagel) was collected in sterile 1.5 mL microcentrifuge tubes and applied in concentration of 1 mg protein/mL dH<sub>2</sub>O. 100 µl of diluted solutions of bacitracin (Merck), ampicillin (Calbiochem), penicillin (Merck) (1mg/mL) and CF filtrate and distilled water as control were added to wells. The plates were left to dry for 1 h at room temperature. All the plates were incubated at 37 °C for 48 h and observed for zones of inhibition. Zones were recorded by measuring in millimeter(mm).

#### 2.2.6. SDS-PAGE

Characterization of CF proteins was determined by sodium dodecyl sulphate / polyacrylamide gels (SDS-PAGE) according to Laemmli (1970). The protein separation was accomplished by using 10% SDS run at 100 V for 2 h.

#### 2.2.7. Determination of carbohydrates by TLC method

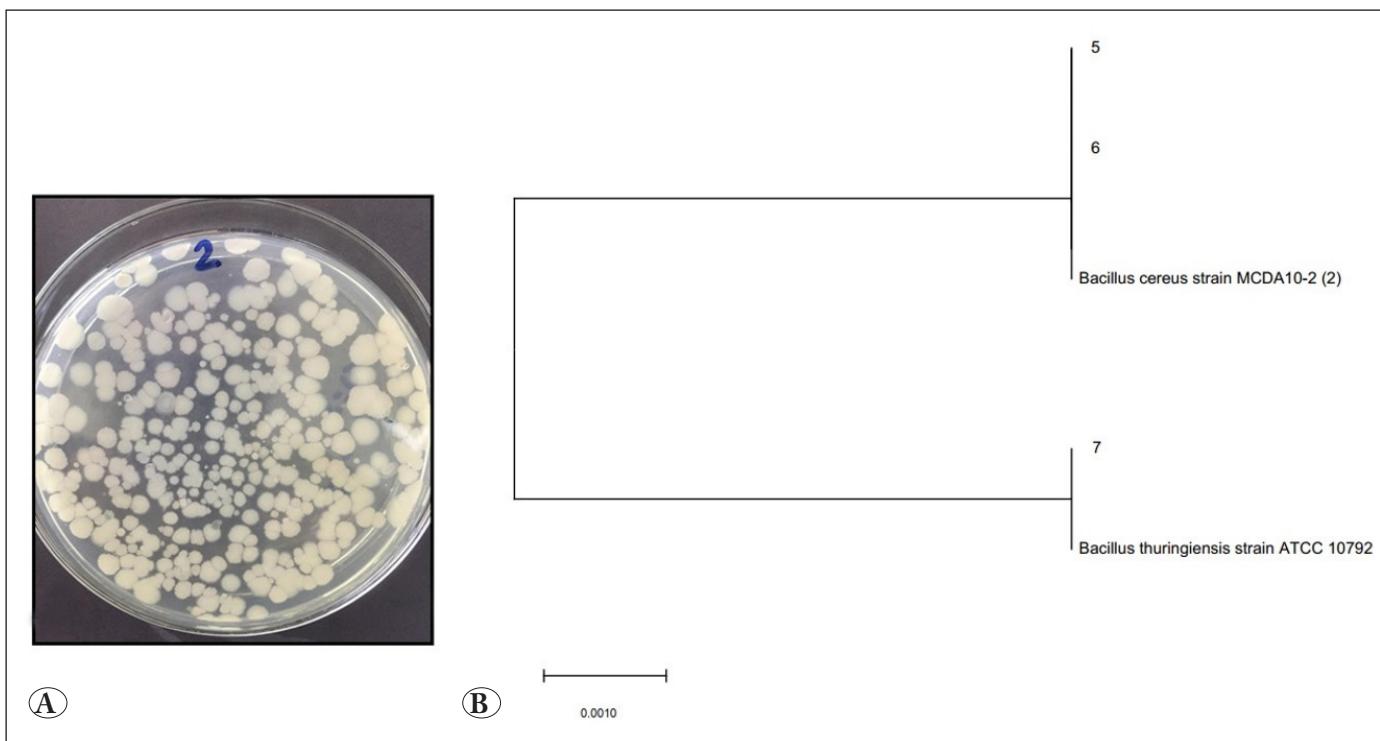
Thin layer chromatography (TLC) method was used according to Stahl (1965). for the determination of carbohydrates in CF and in commercial coelomic fluid (CCF) procured from Solitera Compost Ecological Products Food, Agriculture and Livestock Company (Bursa) Silica gel plates with a size of 20×10 cm and a thickness of 0.2 mm were used (Merck, 100390). The CF was applied as 5 µl with a microsyringe (Hamilton), and the plates were allowed to dry at room temperature. Butanol, ethanol, distilled water (5:3:2) were used as solvents. The plate remained in the tank until the solvent removed. Then the plate was removed and kept in an oven at 110 °C for 10 minutes to dry out. A solution of sulfuric acid and methanol (1:3, v/v) was carefully sprayed onto the plate. The plate was then dried in an oven again at 110 °C for 10 minutes, to monitor carbohydrates as black or brown spots on the white plate (Robyt and White 1987).

### 3. Results and Discussion

Earthworms release liquid from the coelom to the external environment in case of rough use or stress. CF, which consists of the aqueous fluid released from the dorsal pores of the worms and composed of coelomocytes such as amoebocytes, mucocytes, circular cells and chloragogen cells, plays a very important role in the fight against pathogenic microorganisms in the immunity of the worms. There are many chemical components with medicinal value in the CF. With the development of biotechnology, the bioactive compounds in the worm began to attract the attention of more and more scientists (Cooper et al. 2002, Shen 2010).

In this study, some biological properties of CF obtained from *E. fetida* were revealed. Bacterial load of CF was determined as  $10^3$  CFU/mL in NA. There were over 100 bacterial colonies on petri dish, morphologically different three bacteria were selected. They were named as bacteria 5, 6, and 7. As can be seen on phylogenetic tree, bacteria 5, 6 showed 100% sequence identity with *Bacillus cereus* and bacteria 7 showed 100% similarity with *Bacillus thuringiensis* (Figure 1). The partial 16S rRNA of the isolated bacteria 5, 6, and 7 were deposited in GenBank (accession numbers OM457246, OM457247, and OM458830 respectively).

Yakkou et al. (2021) was analyzed the structure of the bacterial community of the earthworm's CF and it was obtained that 28 different bacterial isolates were found from total 70 colonies. Out of them 16 isolated bacteria were selected and they were found as *Aeromonas*, *Bacillus*, *Buttiauxella*,



**Figure 1.** Bacterial load in CF (A), Phylogenetic tree of four bacteria based on the neighbor-joining method (B). Bar, 0.0010 substitutions per nucleotide position.

*Enterobacter, Raoultella, Pantoea, and Pseudomonas*. Among them there are species which *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas azotoformans*, *Pseudomonas helmanticensis* have important role in the rhizosphere and beneficial bacteria for plant growth and also used in soil fertilization and biocontrol (Mishra et al. 2014, Yousra et al. 2018).

Earthworms are considered as major terrestrial ecosystem engineers for their ability to modify physical (aggregate structure, porosity), chemical (nutrient supply and cycling) and biological (soil fauna, microbial and enzymes activities) properties of the soil profile. The decomposition and mineralization of organic matter in nature is associated with the presence of extracellular and intracellular enzymes of both soil and worm gut bacteria (Jouni 2018).

They are also known to have many digestive enzymes such as amylase, cellulase, lipase, lumbrokinase, endoglucanase and  $\beta$ -glucosidase etc. These enzymes are also useful for biomass utilization (Akazawa et al. 2018). Earthworms contain abundant of enzymes useful for bioremediation of contaminated soils, in animal feeds for improving the digestion of proteins, lipids, and carbohydrates, and also in the saccharification of starch, detergents, animal and human therapeutics (Ramian et al. 2018).

In present study the enzyme activity of CF was demonstrated in Figure 2. The presence of lipase, cellulase, amylase, protease, phytase and arylsulfatase enzymes were detected in CF obtained from *E.fetida*. The activity values for lipase, cellulase, amylase, protease and phytase in the coelom fluid were compared with the enzyme activity results obtained from our previous studies with *Bacillus* sp. bacteria. While lipase was 9.5 U/mL in CF, it was 6.6 U/mL in *Bacillus cereus* ATA179 (Demirkan et al. 2020); while cellulase was 48 U/mL in CF, it was 68 U/mL in *Bacillus* sp. (Msakni 2020); while amylase was 496.2 U/mL in CF, it was 21.2 U/mL in *Bacillus* sp.M10 (Demirkan et al. 2016); while protease was 115.6 U/mL in CF, 224 U/mL in *Bacillus* sp. N-40 (Sevinç and Demirkan 2011); while phytase was 528 U/mL in CF, it was 210 U/mL in *Bacillus megaterium* EBD 9-1 (Demirkan et al. 2017). The arylsulfatase as value was compared with the data of the study conducted with *Chlamydomonas reinhardtii* (Sevgi and Demirkan 2021). The arylsulfatase activity was found to be quite low in CF. The presence of phytase enzyme in fluid was reported for the first time in this study. These enzymes in CF may be released by *Bacillus* sp. bacteria found in CF. According to these results, the fact that amylase and phytase activities were found high in the CF, which are useful for biomass utilization.

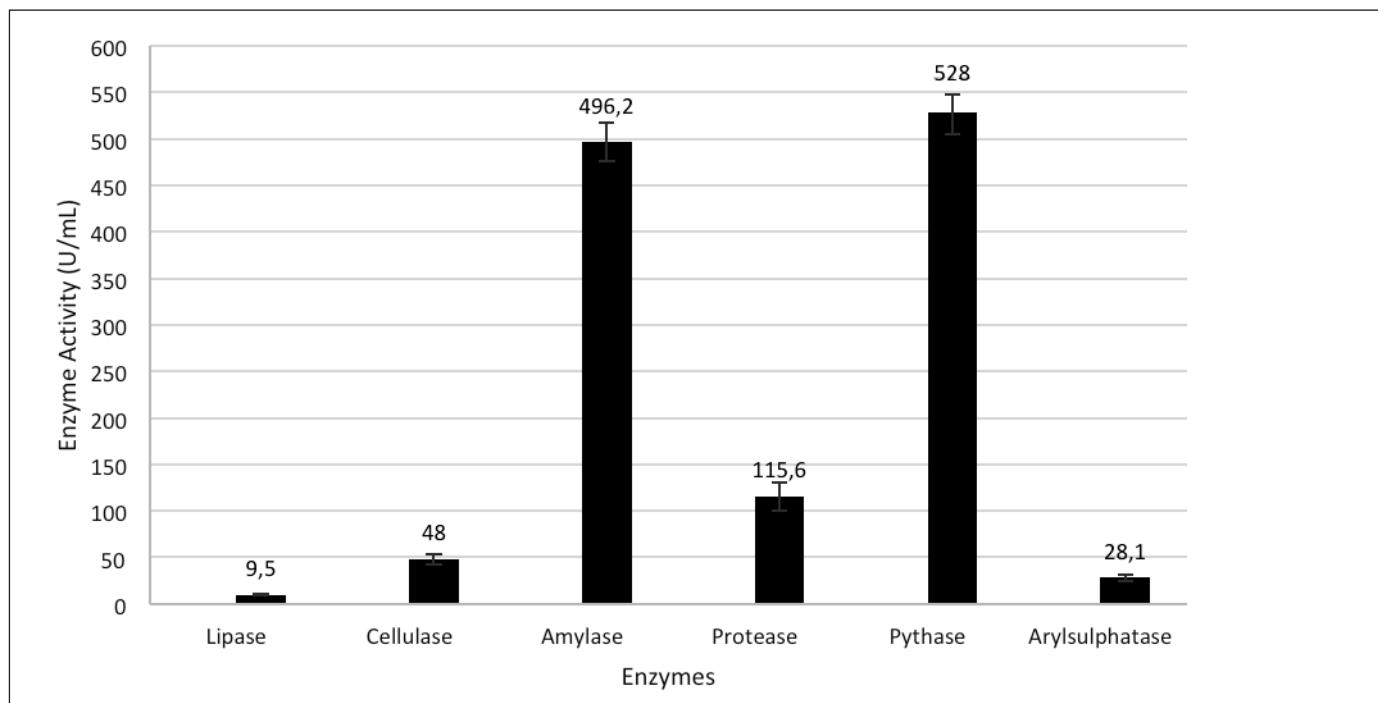


Figure 2. Enzyme activities in coelomic fluid from *E. fetida*.

Some researchers have investigated the enzymes in the *E. fetida* CF. Akazawa et al. (2018) reported the presence of lumbrokinase, amylase, endoglucanase, glucosidase and lipase in CF of *E. fetida*. Raw-starch-digesting (Amy I) and cold-adapted (Amy II)  $\alpha$ -amylases from the earthworm *E. fetida* were purified and characterized by Tsukamoto et al. (2021). Ramian et al. (2018) reported the effects of pH, temperature and metals on amylase enzyme in CF obtained from *Allolobophora chlorotica* worm and Kauschke et al. (1997) reported the presence of proteolytic enzymes in CF from earthworms *Lumbricus terrestris*, identified eight proteases at different electrophoretic mobility and showed their trypsin and chymotrypsin and found relatively heat stable, are classified as serine proteases. Bilej et al. (1995) identified a cytolytic protein in the CF of *E. fetida* earthworms and is capable of lysing different mammalian tumor cell lines. Yamaji et al. (1998) identified a newly sphingomyelin-specific binding protein called Lysenin, purified from CF of the earthworm *E. fetida*, which induces erythrocyte lysis. Kizilkaya et al. (2010) reported the enzyme activities such as urease, phosphatase and arylsulphatase during vermicomposting by earthworm *E. fetida*. Eue et al. (1998) also reported hemolytic activity in CF of *E. fetida*.

Plants grown on vermicompost treated soils have been shown to be more resistant to diseases and pests. The antibacterial and antifungal effect of vermicompost on plants is due to

the CF that worms secrete out of their bodies for various reasons. Enzymes and proteins such as agglutinin, fetidin, lumbricin and chitinase in the structure of CF mixed with vermicompost act against some fungi, bacteria and pests that contain chitin in their structure, thus weakening the effects of lots of diseases and pests. (Wang et al. 2006, Gudeta et al. 2021).

In this study, agar well diffusion assay was applied for the antibacterial activity of the CF extracted from *E. fetida* against pathogenic bacteria causing diseases in human such as *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* and *Pseudomonas aeruginosa* and the data were compared with standard antibiotics as controls (Table 1). As a result, CF obtained from *E. fetida* have shown zones of inhibition between 15-35 mm against of the pathogenic bacterial strains. It was observed that the effect of CF was significantly higher than standard antibiotics particularly bacitracin (BAC). The highest inhibitory effects of CF were identified on the growth of *K. pneumoniae* and *E. coli*. The antibacterial impact of CF was studied highest to lowest as follows *K. pneumonia*, *E. coli* = *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* (Table 1). The findings showed that CF had a high potential to inhibit the bacterial growth used in the research. Due to

**Table 1.** Antibacterial activity of coelomic fluid (CF) against different pathogens.

Test bacteria	CF (1 mg/mL)	Diameters of inhibition zones (mm)		
		Antibiotics (1 mg/mL)		
		AMP	PEN	BAC
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 35032	21	12	11	8
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 9610	25	21	12	15
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 70603	35	17	14	12
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	20	20	24	15
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	22	16	15	9
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35	22	18	19
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	25	17	26	19
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	15	9	12	10

BAC: bacitracin, AMP: Ampicillin, PEN: Penicillin.

extensive antibacterial properties of CF, extracted CF may have potential applications for the pharmaceutical industry.

Earthworms always expose the invasion of pathogen microorganisms in their environments, so they live because of helping their defense system, since the beginning of evolution (Engelmann et al. 2004). Because of this, CF of the earthworms have more than 40 proteins and they exhibit some biological activities like antimicrobial, cytolytic, haemolytic, haemagglutinating, proteolytic, mitogenic and tumorolytic activities (Cooper and Roch, 2003, Gudeta et al. 2020).

There are so much studies about antibacterial components in CF of earthworms in literature. Valembois et al. (1992) reported that the CF from *E. fetida* has an antibacterial activity against Gram negative *Aeromonas hydrophila* and Gram positive *Bacillus megaterium* as pathogenic bacteria. Scherbert and Messner (1997) identified some lysozyme like molecules as bacterolytic molecules and found active only against gram positive bacteria. Murugan and Umamaheswari (2021) assayed CF of *Eudrilus eugeniae* on gram positive bacteria (*S. faecalis*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus*) and gram negative bacteria (*E. coli*, *Salmonella abony*, *P. aeruginosa*) and identified the best inhibitory effects on the growth of *P. aeruginosa* and *B. subtilis*. Milochau et al. (1997) stated that CF of *Eisenia fetida andrei* indicates strong hemolytic activity against some mammalian erythrocytes and bacteria. Vasanthi et al. (2013) reported that the extract from *Eudrilus eugeniae* showed strong antimicrobial activity against *E. coli*, *B. subtilis*, *S. abony*, *S. aureus* and *K. pneumoniae* bacteria and *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* and

*Penicillium notatum* fungus. Tutar and Karaman (2017) also found the zone diameters of the CF obtained from *E. fetida* between 8-54 mm against the microorganisms *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas carotae* and *Xanthomonas campestris*

The presence of sugar in the CF extracted from *E. fetida* was determined by TLC. According to the TLC result, when glucose and maltose were used as standards, the presence of very little glucose and maltose was observed. However, the presence of sugar was not observed in commercial CF (Figure 3).

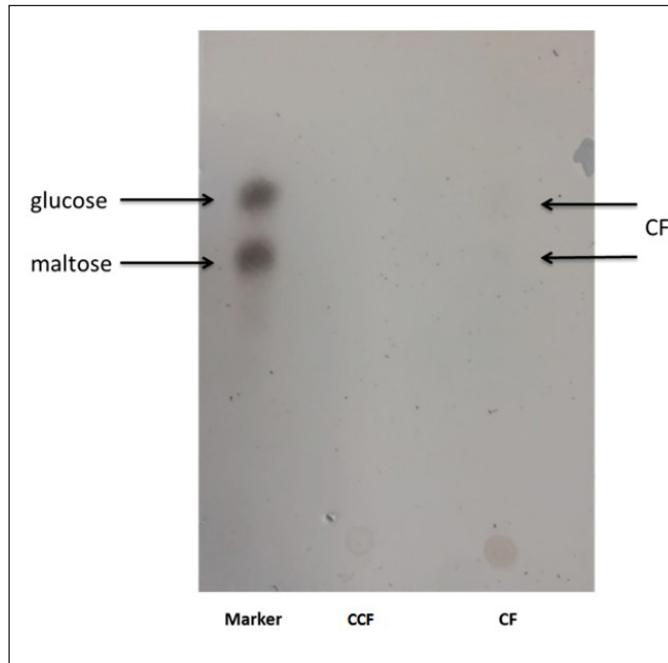
Konosu et al. (1966) showed glucose and maltose in TLC using several different solvent systems. The properties of the CF in starch column chromatography showed three peaks and the behaviors agreed well with glucose and maltose. Clark (1964) also reported the presence of glucose, maltose and trisaccharide in coelomic fluid of other species of marine worm, *Nephtys hombergi*. Yuk et al. (2012) reported that 1D NMR spectrum of the CF carbohydrates are present at trace levels of various sugars including maltose, glucose. Ramian et al. (2018) also reported the amylases in CF and body extract from the earthworm *Allolobophora chlorotica* and showed the enzyme hydrolyzed raw starch to main products.

In this study, when the protein profiles of the CF were analyzed by SDS-PAGE, several proteins, which were estimated as dark and light bands, were detected. The molecular weights of these proteins are estimated to be between 15-46 kDa. Estimated molecular weights among

3 of them were found between 46-32 kDa, while one of them was 32 kDa and another one as 15 kDa (Figure 4). The protein bands obtained in this study are predicted to be phytase, amylase, protease or antibacterial peptides. The protein that appears as a thick band is estimated to be a phytase enzyme. Because, the molecular weight of phytase enzymes were determined as approximately 45 kDa (Demirkan et al. 2017).

In the CF of *A. caliginosa* several proteolytic bands below 94 kDa were detected and the inhibition assays showed that these CF protease as serine proteases (Kauschke et al. 2007). Milochau et al. (1997) reported Fetidin proteins' molecular masses 40 kDa and 45 kDa and determined that they were stable under at 56°C. Bilej et al. (1995) depicted a protein in CF with western blot analysis with 42 kDa molecular weight. Molecular mass of lysenin protein from CF of *Eisenia fetida* had found as 41 kDa (Yamaji et al 1998). Three proteins Hemolytic protein (H) 1, H2, H3 had hemolytic activity had molecular weights of 46, 43 and 40 kD, respectively (Eue et al. 1998).

They also defend themselves against pathogenic microbes and pests through their humoral defense mechanism which includes bioactive molecules. Other metabolites such as hormones, enzymes, vitamins, proteins, different macro and

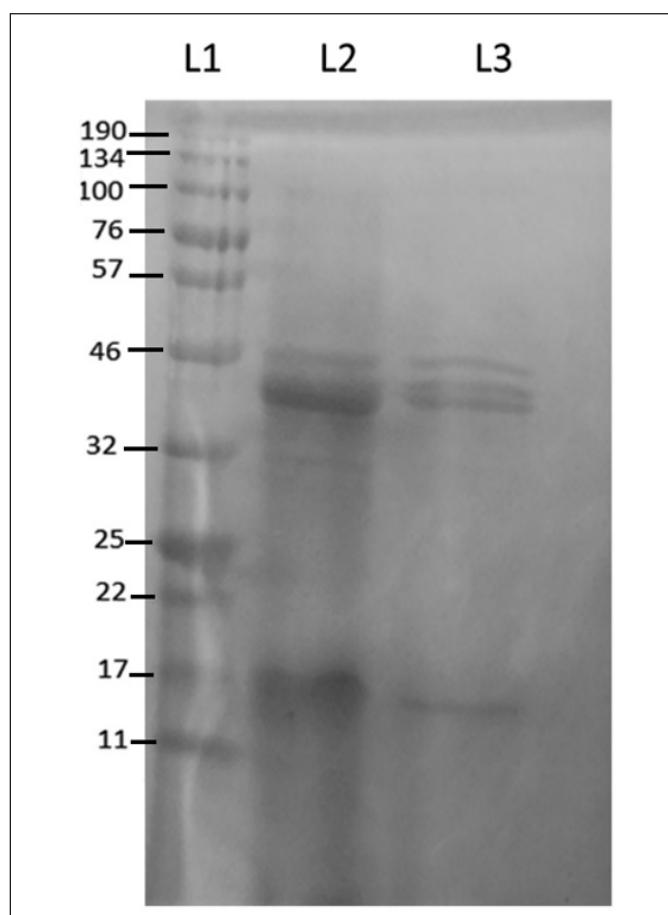


**Figure 3.** Determination of the presence of glucose and maltose by thin layer chromatography. **CF:** coelomic fluid from *E.fetida*, **CCF:** commercial coelomic fluid product.

micronutrients, and a massive amount of microbes facilitate a conducive environment for the growth of a plant by reducing stress conditions and create unfavorable condition for pathogenic soil microbes and pests (Gudeta et al. 2021).

#### 4. Conclusion

Earthworm coelomic fluid contains important defense components such as bacteriostatic/bactericidal, hemolytic, cytolytic and proteolytic substances. Many researchers have focused on the study of bioactive proteins in worm coelomic fluid. In this study, some biological properties of *E. fetida* coelomic fluid were revealed. Especially, due to the high antibacterial properties of coelomic fluid, it has a high potential for use in the pharmaceutical industry. It has the potential to be used in enzyme production with the isolation of bacteria in coelomic fluid that secrete enzymes of industrial importance. The data obtained are of a nature to shed light on other studies.



**Figure 4.** SDS-PAGE showing protein profile standard protein markers (L1), coelomic fluid (L2), 1:10 diluted coelomic fluid (L3).

## 5. References

- Akazawa, S.I., Tokuyama, H., Sato, S., Watanabe, T., Shida, Y., Ogasawara, W.** 2018. High-pressure tolerance of earthworm fibrinolytic and digestive enzymes. *J. Biosci. Bioeng.*, 125(2): 155-159. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.08.011>
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J.** 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Bio.* 215(3): 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Aydilek, S.** 2005. The effect of coelomic fluid of earthworms against various cells. MSc, İstanbul University, İstanbul, Turkey.
- Bhaduria, T., Saxena, K.G.** 2010. Role of earthworms in soil fertility maintenance through the production of biogenic structures. *Appl. Environ. Soil Sci.* <https://doi.org/10.1155/2010/816073>
- Bilej, M., Brys, L., Beschin, A., Lucas, R., Vercauteren, E., et al.** 1995. Identification of a cytolytic protein in the coelomic fluid of *Eisenia foetida* earthworms. *Immun. Lett.* 45: 123-128. [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(94\)00248-P](https://doi.org/10.1016/0165-2478(94)00248-P)
- Blouin, M., Hodson, M.E., Delgado, E.A., Baker, G., Brussaard, L. et al.** 2013. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur. J. Soil Sci.* 64: 161-182. <https://doi.org/10.1111/ejss.12025>
- Choi, Y.M., Suh, H.J., Kim, J.M.** 2001. Purification and properties of extracellular phytase from *Bacillus* sp. KHU-10. *J. Protein Chem.* 20: 287-292. <https://doi.org/10.1023/a:1010945416862>
- Clark, M.E.** 1964. Biochemical studies on the coelomic fluid of *Nephtys hombergi* (Polychaeta: Nephtyidae), with observations on changes during different physiological states. *Biol. Bull.* 127(1): 63-84. <https://doi.org/10.2307/1539345>
- Cooper, E.L., Ellen, K., Andrea, C.** 2002. Digging for innate immunity since Darwin and Metchnikoff. *Bio Essay*, 24: 319-333. <https://doi.org/10.1002/bies.10077>
- Cooper, E.L., Roch, P.** 2003. Earthworm immunity: a model of immune competence. *Pedobiologia*, 47: 676-688. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00245>
- Demirkan, E., Aybey Çetinkaya, A., Abdou, M.** 2021. Lipase from new isolate *Bacillus cereus* ATA179: optimization of production conditions, partial purification, characterization and its potential in the detergent industry. *Turk. J. Biol.* 45(3): 287-300. <https://doi.org/10.3906/biy-2101-22>
- Demirkan, E., Sevgi, T., Akcakoca, D., Ersoy, F.** 2017. Partial purification, characterization and wheat bran degradation studies of a new phytase from the *Bacillus megaterium* EBD 9-1 strain. *Turk. J. Biochem.* 4(3): 329-337. <https://doi.org/10.1515/tjb-2016-0265>
- Demirkan, E., Sevgi, T., Baskurt, M.** 2016. Optimization of Physical factors affecting the production of the  $\alpha$ -Amylase from a newly Isolated *Bacillus* sp. M10 strain. *Karaelmas Sci. Eng. J.* 6(2): 1-8.
- Devi, C., Khwairakpam, M.** 2020. Feasibility of vermicomposting for the management of terrestrial weed *Ageratum conyzoides* using earthworm species *Eisenia fetida*. *Environ. Technol. Innov.* 18: 100696. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100696>
- Engelmann, P., Kiss, J., Cooper, E.L., Nemeth, P.** 2004. Earthworm leukocytes kill Hela, Hep-2, PC -12 and PA 317 cells invitro. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 61: 215-228. <https://doi.org/10.1016/j.bbmm.2004.04.004>
- Esaivani, C., Vasanthi, K., Singh, A.J.** 2017. An Investigation on antimicrobial potency of coelomic fluid of earthworm *Eudrilus eugeniae*. *British J. Med. Health Res.* 4(4): 2394-2967.
- Eue, I., Kauschke, E., Mohrig, W., Cooper, E.L.** 1998. Isolation and characterization of earthworm hemolysins and agglutinins. *Dev. Comp. Immunol.* 22: 13-25. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(97\)00049-9](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(97)00049-9)
- Garriga, M., Almaraz, M., Marchiaro, A.** 2017. Determination of reducing sugars in extracts of *Undaria pinnatifida* (harvey) algae by UV-visible spectrophotometry (DNS method). *Actas de Ingeniería* 3: 173-179.
- Gudeta, K., Kumari, S., Bhagat, A., Julka, J.M., Goyal, R.** 2020. Mitogenic, Antioxidative and Antimicrobial Activities of G-90 and Coelomic Fluid From Earthworm As A Therapeutic Agent. *Inter. J. Pharmaceut. Sci. Res.* 11(11): 5298-5307. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(11\).5298-07](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(11).5298-07)
- Gudeta, K., Julka, J.M., Kumar, A., Bhagat, A., Kumari, A.** 2021. Vermiwash: An agent of disease and pest control in soil, a review. *Heliyon*, 7(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06434>.
- Haque, S.F., Sen, S.K., Pal, S.C.** 1995. Nutrient optimization for production of broad spectrum antibiotic by *Streptomyces antibioticus* SR15. 4. *Acta Microbiol. Immun. Hungar.* 42 (2): 155-162.
- Jouni, F.** 2018. Synergistic interaction earthworm-microbiota : a role in the tolerance and detoxification of pesticides?. Présentée pour obtenir le grade de docteur de L'Université d'Avignon.
- Kauschke, E., Pagliara, P., Stabili, L., Cooper, E.L.** 1997. Characterization of Proteolytic Activity in Coelomic Fluid of *Lumbricus terrestris* L. (Annelida, Lumbricidae) *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochem. Mol. Biol.* 116:235-242. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(96\)00248-9](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(96)00248-9)
- Kauschke, E., Mohrig, W., Cooper, E.L.** 2007. Coelomic fluid proteins as basic components of innate immunity in earthworms. *Eur. J. Soil Biol.* 43: 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.08.043>

- Keay, L., Wildi, B.S. 1970.** Proteinases of the genus *Bacillus*. I. Neutral proteinases. Biotech. Bioeng. 12: 179-212. <https://doi.org/10.1002/bit.260120205>.
- Kizilkaya, R., Dengiz, O. 2010.** Variation of land use and land cover effects on some soil physico-chemical characteristics and soil enzyme activity. Zemdirbyste. 97(2): 15-24.
- Konosu, S., Chen, Y.N., Hashimoto, Y. 1966.** Constituents of the extracts of a marine worm, *Perinereis brevicirrus*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 32(10): 881-886.
- Laemmli, U.K. 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227(5259): 680-685.
- Lavelle, P., Chauvel, A., Fragoso, C. 1995.** Faunal activity in acid soils. In: Date R.A., Grunden N.J., Rayment G.E., Probert M.E. (editors). Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management. Developments in Plant and Soil Sciences, Springer, Dordrecht, pp. 201-211. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0221-6\\_29](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0221-6_29)
- Li, C., Chen, M., Li, X., Yang, M., Wang, Y., Yang, X. 2017.** Purification and function of two analgesic and anti-inflammatory peptides from coelomic fluid of the earthworm, *Eisenia foetida*. Peptides. 89: 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.01.016>.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
- Miller, G. 1959.** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Milochau, A., Lassègues, M., Valembois, P. 1997.** Purification, characterization and activities of two hemolytic and antibacterial proteins from coelomic fluid of the annelid *Eisenia fetida andrei*. Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Protein Struc. Mol. Enzym. 1337(1): 123-132. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(96\)00160-4](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(96)00160-4)
- Mishra, P.K., Bisht, S.C., Jeevanandan, K., Kumar, S., Bisht, J.K., Bhatt, J.C. 2014.** Synergistic effect of inoculating plant growth-promoting *Pseudomonas* spp. and *Rhizobium leguminosarum*-FB1 on growth and nutrient uptake of rajmash (*Phaseolus vulgaris* L.). Arch. Agron. Soil Sci. 60: 799-815. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.843773>
- Msakni, S. 2020.** Screening of cellulase enzyme production by *Bacillus* sp. isolated from Turkish soils, nutritional optimization, partial purification of enzyme, characterization and effectiveness of plant waste removal in wool fabric. MSc, Bursa Uludağ University, Bursa, Turkey.
- Murugan, S., Umamaheswari, S. 2021.** Identification of lysenin protein function in coelomic fluid of *Eudrilus Eugeniae*. Eur. J. Mol. Clin. Med. 8(3): 2021.
- Nadana, G.R.V., Selvaraj, K., Sivakumar, P., Palanichelvam, K. 2020.** Coelomic fluid of earthworms extruded by cold stress method has commercially significant compounds and trigger seed germination in *Vigna radiata* L. Environ. Technol. Innov. 19: 100814. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100814>
- Ohresser, M., Matagne, R.F., Loppes, R. 1997.** Expression of the arylsulfatase reporter gene under the control of the nit 1 promoter in *Chlamydomonas reinhardtii*, Curr. Gen. 31: 264-271. <https://doi.org/10.1007/s002940050204>
- Patil, S.R., Biradar, P.M. 2017.** Earthworm's coelomic fluid: extraction and importance. Int. J. Adv. Sci. Res. 2(2): 1-4.
- Ramian, P., Arabi, M., Hemmati, R. 2018.** Novel Amylase in Coelomic Fluid and Body Extract from the Earthworm *Allolobophora Chlorotica*. Biomacromol. J. 4(1): 35-45.
- Robyt, J.F., White, B.J. 1987.** Biochemical techniques, Theory and practice. Wadsworth. Inc., Belmont, California, USA.
- Rochfort, S., Wyatt, M.A., Liebeke, M., Southam, A.D., Viant, M.R. et al. 2017.** Aromatic metabolites from the coelomic fluid of Eisenia earthworm Species. Eur. J. Soil Biol. 78: 17-19. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.11.008>
- Saitou, N., Nei, M. 1987.** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4(4): 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Scherbert, I., Messner, B. 1997.** Untersuchungen über das vor kommenvon lysozyme bei anneliden. Zool. Jahr. Physiol. Biol. 76: 36-50.
- Scheu, S. 2003.** Effects of earthworms on plant growth: patterns and perspectives. Pedobiologia, 47(5): 846-856.
- Sevgi, T., Demirkhan, E. 2021.** Evaluation of the effects of temperature, light, and UV-C radiation on HSP70A expression in *Chlamydomonas reinhardtii*. Turk. J. Bot. 45: 671-680. <https://doi.org/10.3906/bot-2012-43>
- Sevinc, N., Demirkhan, E. 2011.** Production of protease by *Bacillus* sp. N-40 isolated from soil and its enzymatic properties. J. Biol. Environ. Scie. 5(14): 95-103.
- Shen, Y. 2010.** Earthworms in Traditional Chinese Medicine. Zoology in the Middle East, 51 (sup2): 171-173. <https://doi.org/10.1080/09397140.2010.10638470>.
- Stahl, E. (Ed.). 1965.** Thin-layer chromatography: a laboratory handbook. Springer Science and Business Media.
- Sugihara, A., Tani, T., Tominaga, Y. 1991.** Purification and characterization of a novel thermostable lipase from *Bacillus* sp. J. Biochem. 109(2): 211-216.
- Tsukamoto, K., Ariki, S., Nakazawa, M., Sakamoto, T., Ueda, M. 2021.** Novel cold-adapted raw-starch digesting  $\alpha$ -amylases from *Eisenia fetida*: Gene cloning, expression, and characterization. Biotechol. Rep. 31: e00662. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00662>

- Tutar, U., Karaman, İ.** 2017. Investigation of antibacterial properties of mucus and coelomic fluid obtained from *Eisenia fetida*. Cumhuriyet Sci. J. 38(3):427-434. <https://doi.org/10.17776/csj.340474>
- Valembois, P., Lassegues, M., Roch, P.** 1992. Formation of brown bodies in the coelomic cavity of the earthworm *Eisenia foetida Andrei* and attendant changes in shape and adhesive capacity of constitutive cells. Develop. Comp. Immun. 16: 95-101. [https://doi.org/10.1016/0145-305x\(92\)90010-a](https://doi.org/10.1016/0145-305x(92)90010-a)
- Vasantha, N.C., Rajagopalan, K., Selvan Christyraj, J.D., Subbiahanadar Chelladurai, K., Ganesan, M. et al.** 2019. Heat-inactivated coelomic fluid of the earthworm *Perionyx excavatus* is a possible alternative source for fetal bovine serum in animal cell culture. Biotechnol. Prog. 35(4): e2817. <https://doi.org/10.1002/btpr.2817>
- Vasantha, K., Chairman, K., Ranjit Singh, A.J.A.** 2013. Antimicrobial activity of earthworm (*Eudrilus eugeniae*) paste. Afr. J. Environ. Sci. Technol. 7(8): 789-793. <https://doi.org/10.5897/AJEST2013.1455>
- Wang, C., Sun, Z., Zheng, D.** 2006. Research advance in antibacterial immunity ecology. J. Appl. Ecol. 17(3): 525-529.
- Wang, C., Sun, Z.J., Liu, Y.Q., Zheng, D.M., Liu, X.L. et al.** 2007. Earthworm polysaccharide and its antibacterial function on plant-pathogen microbes in vitro. Eur. J. Soil Biol. 43: 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.08.035>.
- Yakkou, L., Houida, S., Dominguez, J., Raouane, M., Amghar, S. et al.** 2021. Identification and characterization of microbial community in the coelomic fluid of earthworm (*Aporrectodea molleri*). Microbiol. Biotechno. Lett. 49(3): 391-402. <https://doi.org/10.48022/mbl.2104.04013>
- Yamaji, A., Sekizawa, Y., Emoto, K., Sakuraba, H., Inoue, K., et al.** 1998. Lysenin, a novel sphingomyelin-specific binding protein. J. Biol. Chem. 273: 5300-5306. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.9.5300>
- Yoo, Y.J., Hong, J., Hatch, R.T.** 1987. Comparison of α-amylase activities from different assay methods. Biotechnol. Bioeng. 147-51. <https://doi.org/10.1002/bit.260300120>
- Youstra, B.** 2018. Diversity in the susceptibility of *Botryotinia cinerea* strains to the biological control agent *Pseudomonas helmanticensis*. IOBC/WPRS Bull. 133:100-104.
- Yuk, J., Simpson, M.J., Simpson, A.J.** 2012. Coelomic fluid: a complimentary biological medium to assess sub-lethal endosulfan exposure using <sup>1</sup>H NMR-based earthworm metabolomics. Ecotoxicol. 21(5): 1301-1313. <https://doi.org/10.1007/s10646-012-0884-5>



# Bolu İli Hava Kirletici Maddeler ile Meteorolojik Faktörler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi

*Investigation of Relationships between Air Pollutants and Meteorological Factors in Bolu Province*

Ceren Ünal\* , Gamze Özel

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Beytepe, Ankara, Türkiye

## Öz

Kirleticiler atmosferde duman, toz, saf olmayan su buharı ve gaz şeklinde bulunabilmektedir. Bu kirleticilerin maddi zararlara sebep olacak miktarlara yükselmesi ve/veya canlıların ve insanların sağlıklarını olumsuz yönde etkileyebilecek seviyelere yükselmesi hava kirliliği olarak adlandırılmaktadır. Hava kirliliğine ise, sıcaklık, yağış miktarı, nem, yatay ve dikey hava akımları gibi meteorolojik koşullar etki etmektedir. Bu çalışma kapsamında, 2017-2020 yılları arasında Bolu iline ait iklim parametrelerinin (hava sıcaklığı, rüzgar yönü, rüzgar hızı, bağıl nem ve hava basıncı) hava kirliliği üzerine (partikül madde ( $PM_{10}$ ), kükürd dioksit ( $SO_2$ ), azot ( $NO$ ), azot dioksit ( $NO_2$ ), azot oksit ( $NO_X$ ) ve karbon monoksit ( $CO$ ) düzeyleri üzerindeki etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Hava konsantrasyonlarına dair ve meteorolojik veriler kullanılarak hava kirleticilerinin zamansal değişiminde çoklu doğrusal regresyon ve korelasyon yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan analizler esnasında  $PM_{10}$ ,  $SO_2$ ,  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $NO_X$  ve  $CO$  değerleri bağımlı değişken, meteorolojik parametreler ise bağımsız değişken olarak ele alınmıştır. Verilerden yararlanılarak analizler, aralarındaki bağıntıyı gösteren korelasyon katsayıları hesaplanmış ve hava kirleticilerine ait regresyon denklemleri elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çoklu doğrusal regresyon, Hava kalitesi indeksi, Hava kirliliği, İklim parametreleri, Korelasyon

## Abstract

Pollutants can be found in the atmosphere in the form of smoke, dust, impure water vapor, and gas. The increase of these pollutants to the levels that will cause material damage and/or the increase to the levels that will negatively affect the health of living things and people is called air pollution. Meteorological conditions such as temperature, precipitation amount, humidity, horizontal and vertical air currents affect air pollution. Within the scope of this study, between 2017-2020, the climate parameters (air temperature, wind direction, wind speed, relative humidity, and air pressure) of Bolu province on air pollution (particulate matter ( $PM_{10}$ ), sulfur dioxide ( $SO_2$ ), nitrogen ( $NO$ ), nitrogen dioxide ( $NO_2$ ), nitrogen oxide ( $NO_X$ ) and carbon monoxide ( $CO$ ) levels. Multiple linear regression and correlation methods were used in the temporal variation of air pollutants using meteorological data and air concentrations. During the analysis,  $PM_{10}$ ,  $SO_2$ ,  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $NO_X$ , and  $CO$  values are considered as dependent variables, and meteorological parameters are considered as independent variables. By using the data, the correlation coefficients showing the correlation between them are calculated and the regression equations for air pollutants are obtained.

**Keywords:** Multiple linear regression, Air Quality Index, Air pollution, Climate parameters, Correlation

## 1. Giriş

Hava kirlenmesi, normalde havanın bileşiminde bulunan bazı maddelerin yine çeşitli doğal ve yapay nedenler ile yüksek miktarlara erişmesi veya çeşitli yapay/doğal sebepler ile doğal

olarak havanın bileşiminde bulunmayıp bazı maddelerin havanın bileşimine katılması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, insanların sağlıklarını ve hayvan ve bitkilerin ise gelişim ve yaşamlarını olumsuz olarak etkilemektedir (İskan vd., 2015). Hava kirliliği rüzgârlarla dağlara, eşitli kimyasal reaksiyonlarla ayrışarak veya toprak, deniz ve göller üzerine çökerek kendini temizleyebilmektedir. Havayı kirleten en önemli partiküller arasında Kükürd dioksit ( $SO_2$ ), Karbondioksit ( $CO_2$ ), Partikül Madde ( $PM$ ), Ozon ( $O_3$ ), Hidrokarbonlar ( $HC$ ), Karbon monoksit ( $CO$ ) ve Azot oksitler ( $NO_X$ ) olarak sıralanabilmektedir (Cekim, 2020).

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: cerenunal@hacettepe.edu.tr

Ceren Ünal orcid.org/0000-0002-9357-1771

Gamze Özel orcid.org/0000-0003-3886-3074



Bu eser "Creative Commons Ahıntı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

Hava kirliliği, atmosferik sınır tabakada meteorolojik faktörlerin, çeşitli kaynaklardan atmosfere salınan hava kirleticilerinin ve yüzey topografiya özelliklerinin etkileriyle birlikte oluşmaktadır (Abdullahı ve Çakır, 2017). Sıcaklık, rüzgâr yönü, hızı, basınç ve nem gibi meteorolojik faktörlerle beraber yüzey pürüzlülük özellikleri de hava kirleticilerinin dağılımında önem teşkil etmektedir. Atmosferik hava kirliliğinde meteorolojinin en önemli rolü; taşınım, dağılım ve atmosferden ayrılma aşamalarında etkili olmasıdır. (Oğuz ve Pekin, 2015)

Modern yaşamın getirdiği şehirleşmenin bir sonucu da hava kirliliğidir ve küresel ölçekte etkisi bulunmaktadır. Hava kirliliğinin insan sağlığına olan etkisinin önemli olması sebebiyle, bu konuya küresel olarak büyük önem verilmektedir (Sharma vd., 2003). Bu problemi çözmek ve strateji belirlemek amacıyla, atmosferik kirletici konsantrasyonlarını izlemek ve analiz etmek konularına odaklanılmıştır (Kyrkilis vd., 2007). Hava kirliliğinin düzeyini sınıflamada tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir sınıflama sistemi bulunmaktadır. Belli bir bölgedeki hava kalitesinin karakterize edilmesi için ülkelerin kendi sınır değerlerine göre dönüştürükleri ve kirlilik sınıflandırılmasının yapıldığı bu indeks hava kalitesi indeksi (HKİ) (Air Quality Index/AQI) adı verilmektedir (Özel ve Çakmakçıyan, 2015). Bu sistem ile havadaki kirleticilerin konsantrasyonlarına göre hava kalitesini iyi, orta, kötü, tehlikeli vb. derecelendirme yapmaktadır. İndeks derecelendirmelerine göre farklı tanım

ve renkler kullanılarak ifade edilmekte ve ölçümlü yapılan her kirletici için ayrı ayrı düzenlenmektedir (Yavuz, 2010). Ulusal Hava Kalitesi İndeksi, EPA Hava Kalitesi İndeksini ulusal mevzuatımız ve sınır değerlerimize uyarlayarak oluşturulmuştur (Sürekli İzleme Merkezi SİM, 2022). Partikül maddeler ( $PM_{10}$ ), karbon monoksit (CO), kükürt dioksit ( $SO_2$ ), azot dioksit ( $NO_2$ ) ve ozon ( $O_3$ ) olmak üzere bu beş adet temel kirletici için hava kalitesi indeksi hesaplanmaktadır (Yavan ve Hotunluoğlu, 2018). Çizelge 1'de EPA hava kalitesi indeksine ait göstergeler, Çizelge 2'de ulusal hava kalitesi indeksi kesme noktaları ve Çizelge 3'te indeks hesaplanan parametrelerin sınır değerleri verilmiştir (Sürekli İzleme Merkezi SİM, 2022).

Literatürde yer alan çeşitli çalışmalarda hava kirliliği incelenmiş ve çeşitli yöntemlerle analizi yapılmıştır (Yılmaz 2017, Mutlu 2019 ve Yılmaz 2018). Bu çalışmada ise, 2017-2020 periyodu arasında Bolu ilinde hava kirleticilerinin sıcaklık, rüzgâr yönü ve hızı, bağıl nem ve hava basıncı gibi meteorolojik parametrelerle olan ilişkileri araştırılmıştır.

## 2. Yöntem ve Bulgular

İki veya daha fazla sayıdaki değişken arasında ilişki olup olmadığı ve eğer bir ilişki mevcutsa bu ilişkinin derecesi de istatistiksel bir yöntem olan regresyon analizi ile incelenir. Değişkenler arasında bulunan ilişkiden yararlanılarak bu etkileşimin nedenini açıklamak ve değişkenlerin birinden yararlanarak diğer değişkeni tahmin etmek mümkündür.

**Çizelge 1.** EPA hava kalitesi indeksi.

Hava Kalitesi İndeksi (AQI) Değerler	Sağlık Endişe Seviyeleri	Renkler	Anlamı
0 – 50	İyi	Yeşil	Hava kalitesi memnun edici ve hava kirliliği az riskli veya hiç risk teşkil etmiyor.
51 – 100	Orta	Sarı	Hava kalitesi uygun fakat alışılmadık şekilde hava kirliliğine hassas olan çok az sayıdaki insanlar için bazı kirleticiler açısından orta düzeyde sağlık endişesi oluşabilir.
101 – 150	Hassas	Turuncu	Hassas gruplar için sağlık etkileri oluşabilir. Genel olarak kamunun etkilenmesi olası değildir.
151 – 200	Sağlıksız	Kırmızı	Herkes sağlık etkileri yaşamaya başlayabilir, hassas gruplar için ciddi sağlık etkileri söz konusu olabilir.
201 – 300	Kötü	Mor	Sağlık açısından acil durum oluşturabilir. Nüfusun tamamının etkilenme olasılığı yüksektir.
301 – 500	Tehlikeli	Kahverengi	Sağlık alarmı: Herkes daha ciddi sağlık etkileri ile karşılaşabilir.

**Çizelge 2.** Ulusal hava kalitesi indeksi kesme noktaları.

İndeks	HKİ	$\text{SO}_2[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{NO}_2[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{CO}[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{O}_3[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{PM}_{10}[\mu\text{g}/\text{m}^3]$
		1 Sa. Ort	1 Sa. Ort	8 Sa. Ort	8 Sa. Ort	24 Sa. Ort
İyi	0 – 50	0 – 100	0 – 100	0 – 5500	0 – 120	0 – 50
Orta	51 – 100	101 – 250	101 – 200	5501 – 10000	121 – 160	51 – 100
Hassas	101 – 150	251 – 500	201 – 500	10001 – 16000	161 – 180	101 – 260
Sağlıksız	151 – 200	501 – 850	501 – 1000	16001 – 24000	181 – 240	261 – 400
Kötü	201 – 300	851 – 1100	1001 – 2000	24001 – 32000	241 – 700	401 – 520
Tehlikeli	301 – 500	>1101	>2001	>32001	>701	>521

**Çizelge 3.** Hesaplanan parametrelerin sınır değerleri.

Parametre	$\text{SO}_2[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{NO}_2[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{CO}[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{O}_3[\mu\text{g}/\text{m}^3]$	$\text{PM}_{10}[\mu\text{g}/\text{m}^3]$
	1 Sa. Ort	1 Sa. Ort	8 Sa. Ort	8 Sa. Ort	24 Sa. Ort
<b>Ulusal Sınır Değer</b>	380	260	10000	120	60
<b>AB Üye Ülkeleri Sınır Değeri</b>	350	200	10000	120	50

**Çizelge 4.** Meteorolojik parametreler ile hava kirlilik parametrelerinin 2017-2020 dönemine ait ortalama yıllık değerleri.

	Hava Sıcaklığı	Rüzgâr Yönü	Rüzgâr Hızı	Bağıl Nem	Hava Basıncı
<b>Ortalama</b>	16,764	205,904	3,399	49,623	1063,712
<b>Standart Hata</b>	0,232	0,560	0,114	0,442	4,095
<b>Ortanca</b>	16	201	1	47	1019
<b>Kip</b>	11	200	1	39	1016
<b>Standart Sapma</b>	7,843	18,911	3,864	14,913	138,102
<b>Varyans</b>	61,521	357,657	14,931	222,414	19072,308
<b>Basıklık</b>	-0,996	1,063	-0,973	1,117	7,404
<b>Çarpıklık</b>	-0,012	1,177	1,001	1,096	3,051
<b>Aralık</b>	33	109	10	77	532
<b>En Büyük</b>	-1	171	1	24	1003
<b>En Küçük</b>	32	280	11	101	1535
<b>Toplam</b>	19061	234113	3865	56422	1209441

Bu çalışmada, meteorolojik faktörler ve kirlilik değişkenleri arasındaki ilişki SPSS yazılımı kullanılarak regresyon analizi ile incelenmiştir. Bağımlı değişken  $\text{PM}_{10}$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_x$  ve  $\text{CO}$  olmak üzere bağımsız değişkenler ise nem, basınç, rüzgâr, sıcaklık olarak ele alınmış ve aralarındaki ilişkiler çoklu regresyon analiziyle incelenmiştir.

Çizelge 4'de Bolu Bölgesi'ne ait meteorolojik parametreler ile hava kirlilik parametrelerinin 2017-2020 dönemine ait tanımlayıcı istatistikleri görülmektedir. Bolu'da ortalama

sıcaklık değeri  $16,7^{\circ}\text{C}$ , maksimum sıcaklık değeri  $32^{\circ}\text{C}$ , minimum sıcaklık değeri  $-1^{\circ}\text{C}$ 'dir. En soğuk ay olan ocak ayının ortalama sıcaklığı ise  $0,9^{\circ}\text{C}$  iken, en sıcak ay olan temmuz ayı ortalama sıcaklığı  $19,9^{\circ}\text{C}$ 'dir. Ortalama rüzgâr hızı  $3,39 \text{ m/sn}$  olup maksimum rüzgâr hızı  $11 \text{ m/sn}'ye$  kadar ulaşmaktadır. Ortalama bağıl nem yüzdesi  $49,6\%$ dir. Basınç değerleri ele alındığında ise ortalama basınç değerinin  $1063 \text{ hPa}$ ; minimum basınç değerinin  $1003 \text{ hPa}$  ve maksimum basınç değerinin  $1535 \text{ hPa}$  olduğu görülmektedir.

Karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ); trafik, enerji kullanımı, biokütle yanması, endüstriyel süreçler, ormanların yok olması, Azot dioksit ( $\text{NO}_2$ ), gübrelenmiş topraklar, fosil yakıtların yakılmasından ortaya çıkan gazlardır ve iklim değişikliğine yol açmaktadır. Kükürt dioksit ( $\text{SO}_2$ ) ve Azot monoksit ( $\text{NO}$ ) ise asit yağmurları oluşumunda en etken maddelerdir. Hava kirlilik ve meteorolojik parametrelerin 2017-2020 dönemine dair yıllık değerleri Çizelge 5'de verilmiştir.

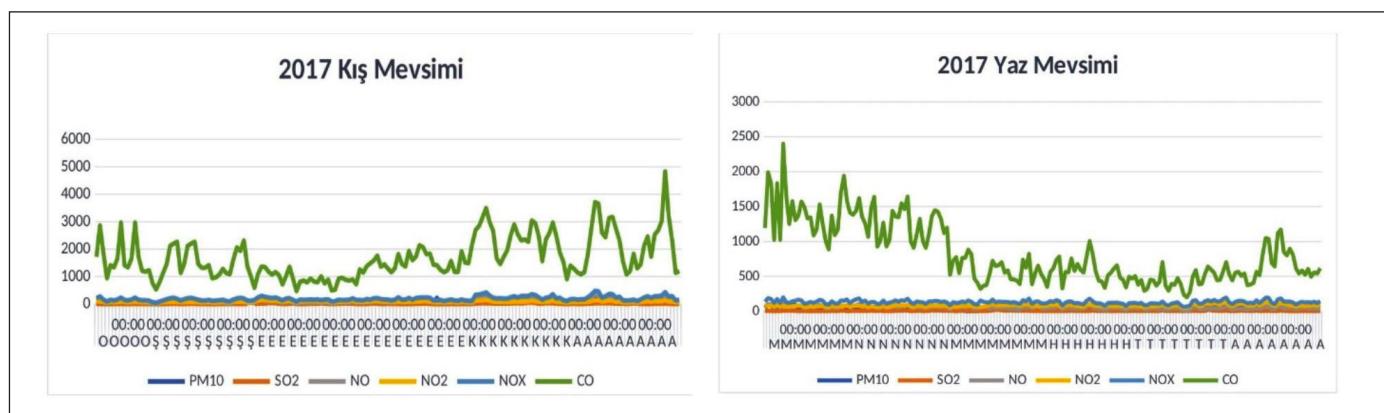
Şekil 1'e göre, 2017 kiş mevsimine ait Bolu ili hava kirliliği verilerine bakıldığından kasım ayından itibaren yükselmeye başladığını aralık ayında mevsimsel koşullarla birlikte en fazla hava kirliliğinin gözlemlendiği görülmektedir. 2017

yaz mevsimine ait hava kirliliği verilerine baktığımızda ise, en yüksek hava kirliliğinin mart ayında olduğunda ama normallerin üzerine çıkmadığını, mart ayından itibaren havaların ısınmasıyla kirlletici etkenlerin daha da azaldığı görülmektedir.

Şekil 2'ye göre, 2018 Kişi mevsimine ait hava kirliliği verilerine göre yine kasım aylarında hava kirliliği verilerinde bir yükseliş olduğunu ve bunun şubat ayları sonuna kadar devam ettiği görülmektedir. 2018 Yaz mevsimine ait hava kirliliği verilerine bağlı olarak yaz mevsiminde en çok düşüşün temmuz ayında olduğunu diğer aylarda ortalama hava kirliliği miktarının aynı düzeylerde olduğu görülmektedir.

**Çizelge 5.** Meteorolojik parametreler ile hava kirlilik parametrelerinin 2017-2020 dönemine ait yıllık değerleri.

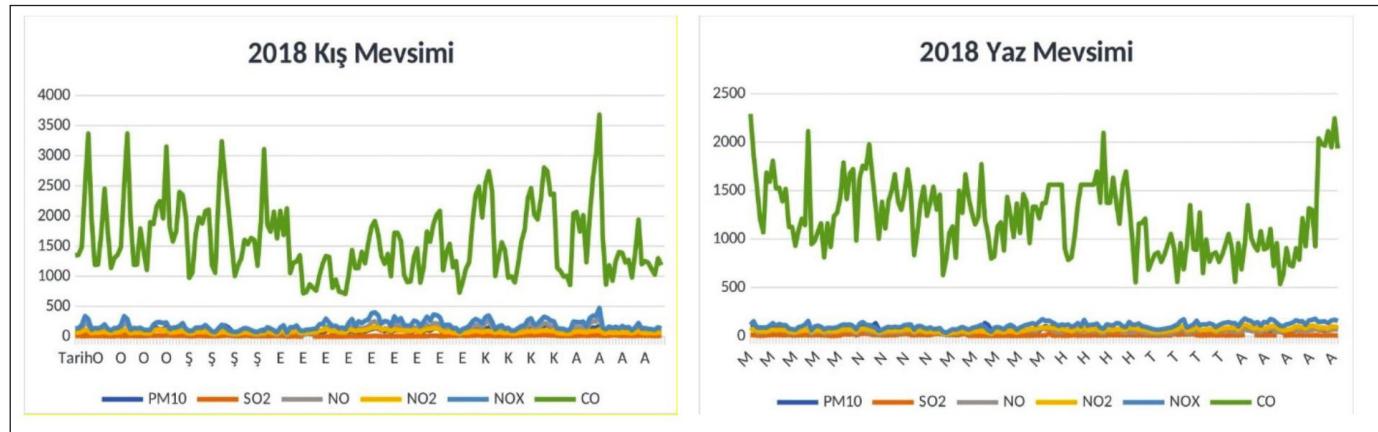
Yıl		$\text{PM}_{10}$	$\text{SO}_2$	NO	$\text{NO}_2$	$\text{NO}_x$	CO	Sıcaklık	Rüzgar Yönü	Rüzgar Hızı	Bağlı Nem	Hava Basıncı
2017	Ortalama	67,03	9,30	77,67	83,99	161,82	1234,88	16,94	203,84	4,43	62,28	1158,33
	Standart Sapma	37,03	8,02	52,62	18,58	64,61	751,93	8,00	18,00	4,16	17,76	220,83
2018	Ortalama	71,38	9,96	75,34	72,07	147,45	1414,80	17,34	206,07	5,17	43,07	1026,30
	Standart Sapma	34,09	5,64	52,68	22,45	70,64	53,17	7,84	18,37	4,37	8,4	9,48
2019	Ortalama	84,69	7,88	74,16	64,42	138,59	1048,49	17,03	207,8	1,00	43,65	1017,23
	Standart Sapma	42,81	3,00	48,92	28,89	71,53	486,5	7,79	20,07	0,00	9,08	2,45
2020	Ortalama	69,91	6,11	62,75	46,35	109,09	1160,58	10,05	205,36	1,00	52,05	1017,33
	Standart Sapma	28,62	2,88	19,53	6,69	24,72	258,2	2,57	19,36	0,00	4,82	3,80



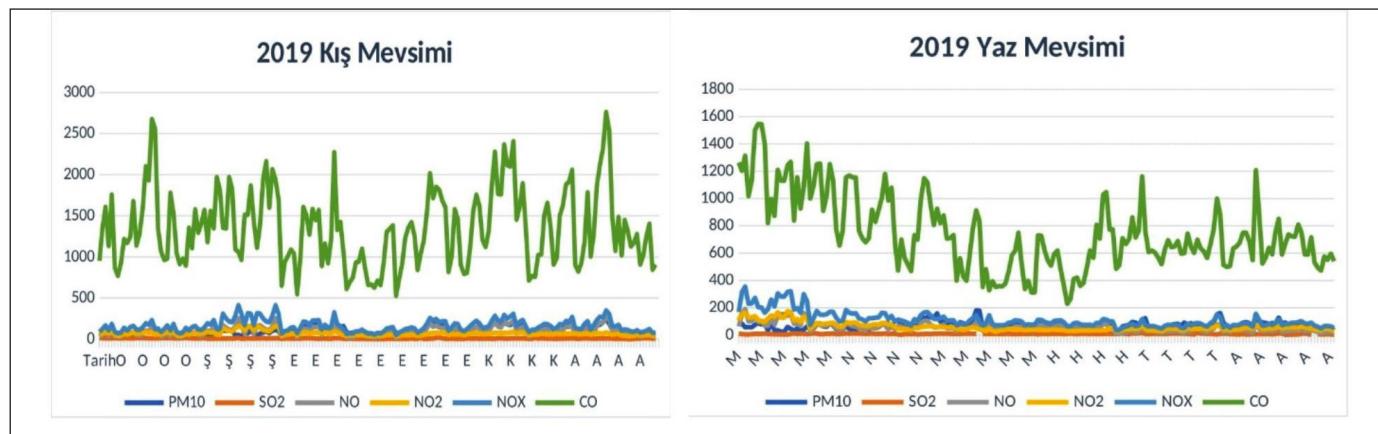
**Şekil 1.** 2017 kişi ve yaz mevsimlerine ait Bolu ili hava kirliliği.

Şekil 3'e göre, 2019 Kış mevsimi hava kirliliği verilerine bakıldığımızda en yüksek karbon monoksit miktarlarına aralık ve ocak aylarında karşılaşıldığını diğer aylarda miktarların ortalaması olarak aynı olduğu görülmektedir. 2019 Yaz mevsimi hava kirliliği verileri için yine kış aylarının son ayları olarak görülen mart ayında karbondioksit miktarının diğer aylara oranla fazla olduğunu görmektedir.

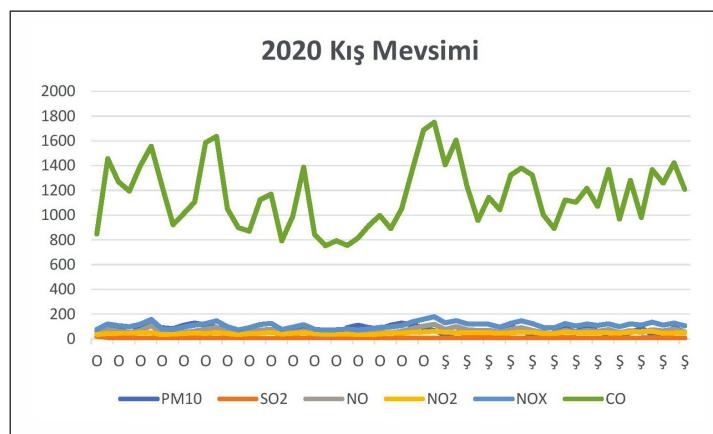
Belirtilen göre, 2017-2020 verilerine ait hava kirliliği verileri değerlendirildiğinde; özellikle kış aylarında hava kirliliğinin daha çok arttığını yaz mevsimi içinde değerlendirdiğimiz mart ayını gözlem dışı tuttuğumuzda ise genel olarak hava kirliliğinde düşüş gözleğini söyleyebiliriz. Aylık değişim değerlendirildiğinde,  $PM_{10}$  değerlerinde Mayıs, Haziran,



Şekil 2. 2018 kış ve yaz mevsimlerine ait Bolu ili hava kirliliği.



Şekil 3. 2019 kış ve yaz mevsimlerine ait Bolu ili hava kirliliği.



Şekil 4. 2020 kış mevsimine ait Bolu ili hava kirliliği.

temmuz, ağustos ve eylül aylarında belirgin bir azalış; kasım, aralık, ocak, şubat ve mart aylarında ise belirgin bir artış görlmektedir. Bunun sebepleri olarak da kışın ısınma ve taşıt gazlarının hava kirliliği verilerinin artmasında rol oynadığı düşünülebilir.

Çizelge 6'da bağımlı değişken  $PM_{10}$  ve bağımsız değişkenler hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, sıcaklık ve bağıl nem olarak alınarak kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayısı verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için,  $PM_{10}$  düzeyine etki eden faktörlere ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

Çizelge 6'ya göre bağımlı değişken  $PM_{10}$ 'nun bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan modelin anlamlılığı test edilmiş ve model anlamlı ( $\text{Önem Seviyesi} < 0,05$ ) bulunmuştur. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler bağımlı değişken  $PM_{10}$ 'nun %10,6'sını açıklamaktadır. Bağımsız değişkenler arasında %33'lük ilişki bulunmaktadır. Bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde rüzgâr hızı ve hava basıncı anlamsız bulunmuştur ( $\text{Önem Seviyesi} > 0,05$ ). Bu yüzden modele dâhil edilmemiştir.  $PM_{10}$  için elde edilen regresyon denklemi aşağıdaki gibidir:

$$PM_{10} = 210,477 + (-0,914) \text{ Hava sıcaklığı} + (-0,342) \text{ Rüzgâr yönü} + (-0,673) \text{ Bağıl nem}$$

**Çizelge 6.**  $PM_{10}$  düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon modeli sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	R <sup>2</sup>
Regresyon	177351,285	5	35470,257	26,727	0,0001	0,325	0,106
Artık	1499652,683	1130	1327,126				
Toplam	1677003,968	1135					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Standartlaştırmış Katsayılar		t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata	Beta				Tolerans	VIF
Sabit	210,477	15,288		13,768	0,0001			
Sıcaklık	-0,914	0,181	-0,186	-5,053	0,0001	0,582	1,719	
R. Yönü	-0,342	0,058	-0,168	-5,870	0,0001	0,961	1,040	
R. Hızı	-0,409	0,287	-0,041	-1,425	0,155	0,951	1,052	
B. Nem	-0,673	0,100	-0,260	-6,711	0,0002	0,527	1,896	
H. Basıncı	-0,015	0,010	-0,053	-1,466	0,143	0,607	1,649	

R. Yönü= Rüzgâr Yönü, R.Hızı= Rüzgâr Hızı, B.Nem= Bağıl Nem, H.Basıncı= Hava Basıncı.

Anlamlı bulunan regresyon modeline göre, Bolu ilinde hava sıcaklığının 1 birim artması partikül madde miktarının ortalama 0,914 birim azalmasına, rüzgâr yönünün 1 birim artması partikül madde miktarının ortalama 0,342 birim azalmasına, bağıl nemin 1 birim artması partikül madde miktarının ortalama 0,673 birim azalmasına neden olmaktadır.

$PM_{10}$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 7'de gösterilmiştir.

Çizelge 7'de yer alan sonuçlara göre, bağımlı değişken  $PM_{10}$  ile hava sıcaklığı arasında negatif yönlü %6'luk, rüzgâr yönü ile negatif yönlü %16'luk, bağıl nem ile negatif yönlü %21'luk, hava basıncı ile negatif yönlü %18'luk bir ilişki vardır.  $PM_{10}$ 'nun bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde; hava sıcaklığı ( $0,12 < 0,05$ ), rüzgâr yönü ( $0,0001 < 0,05$ ), bağıl nem ( $0,0001 < 0,005$ ) ve hava basıncı ( $0,0005 < 0,05$ ) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuştur.  $PM_{10}$  ile rüzgâr hızı arasındaki ilişki ise öneksiz ( $0,397 > 0,05$ ) bulunmuştur.

Çizelge 8'de bağımlı değişken  $SO_2$  ve bağımsız değişkenler hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, sıcaklık ve bağıl nem olarak alınarak kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayısı verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için,  $SO_2$  düzeyine etki eden faktörlere ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

**Çizelge 7.** PM<sub>10</sub> değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.

		PM <sub>10</sub>	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	PM <sub>10</sub>	1,000	-0,067	-0,168	0,008	-0,213	-0,184
	Sıcaklık	-0,067	1,000	-0,140	-0,045	-0,420	0,290
	R. Yönü	-0,168	-0,140	1,000	0,058	0,110	-0,094
	R. Hızı	0,008	-0,045	0,058	1,000	-0,169	-0,120
	B. Nem	-0,213	-0,420	0,110	-0,169	1,000	0,377
	H. Basıncı	-0,184	0,290	-0,094	-0,120	0,377	1,000

**Çizelge 8.** SO<sub>2</sub> düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon model sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	R <sup>2</sup>
Regresyon Artık Toplam	6411,962	5	1282,392	44,348	0,0001	0,406	0,165
	32444,115	1122	28,916				
	38856,077	1127					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Beta	t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata				Tolerans	VIF
Sabit	12,601	2,262		5,571	0,0001		
Sıcaklık	-0,251	0,027	-0,334	-9,344	0,001	0,581	1,720
R. Yönü	-0,009	0,009	-0,029	-1,041	0,298	0,963	1,038
R. Hızı	0,277	0,042	0,183	6,527	0,0001	0,951	1,051
B. Nem	-0,168	0,015	-0,424	-11,299	0,001	0,528	1,893
H. Basıncı	0,009	0,001	0,215	6,135	0,0001	0,603	1,657

Elde edilen sonuçlara göre, kurulan regresyon modeli anlamlı (Önem Seviyesi <0,05) bulunmuştur. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler bağımlı değişken hava kirliliği SO<sub>2</sub>'nin %16,5'ini açıklamaktadır. Bağımsız değişkenler arasında %41'lük bir ilişki bulunmaktadır. Çizelge 8'de bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde rüzgâr yönü meteorolojik değişkeni anlamsız bulunmuştur (Önem Seviyesi>0,05). Buna göre elde edilen regresyon modeli aşağıdaki gibidir:

$$\text{SO}_2 = 12,601 + (-0,251) \text{ Sıcaklık} + (0,277) \text{ Rüzgâr hızı} + (-0,168) \text{ Bağlı nem} + (0,009) \text{ Hava basıncı}$$

Elde edilen bu modele göre, hava sıcaklığının 1 birim artması kükürt dioksit miktarının ortalaması 0,251 birim azalmasına, rüzgâr hızının 1 birim artması kükürt dioksit miktarının ortalaması 0,277 birim artmasına, bağlı nemin 1 birim artması kükürt dioksit miktarının ortalaması 0,168

birim azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca hava basıncının 1 birim artması kükürt dioksit miktarının ortalaması 0,009 birim artmasına neden olur.

SO<sub>2</sub> değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 9'da gösterilmiştir.

Çizelge 9'a göre, bağımlı değişken SO<sub>2</sub> ile hava sıcaklığı arasında negatif yönlü %9'luk, rüzgâr yönü ile negatif yönlü %3'lük, bağlı nem ile negatif yönlü %23'lük, hava basıncı ile negatif yönlü %6'luk ve rüzgâr hızı ile pozitif yönlü %24'lük bir ilişki vardır. SO<sub>2</sub>'nin bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde; hava sıcaklığı (0,001<0,05), rüzgâr hızı (0,0002<0,05), bağlı nem (0,001<0,005) ve hava basıncı (0,018<0,05) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuştur. SO<sub>2</sub> ile rüzgâr yönü arasındaki ilişki öbensiz (0,102>0,05) bulunmuştur.

Çizelge 10'da bağımlı değişken NO ve bağımsız değişkenler hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, sıcaklık ve bağıl nem olarak alınarak kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayısı verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için, NO düzeyine etki eden faktörlere ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, bağımlı değişken NO'nun bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan modelin anlamlılığı test edilmiş ve model anlamlı (*Önem Seviyesi*<0,05) bulunmuştur ve bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler; bağımlı değişken hava kirliliği NO'nun %14,3'ünü açıkladığı görülmektedir. Bağımsız değişkenler arasında ise %38'lik bir ilişki bulunmaktadır. Çizelge 10'a göre, bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde rüzgâr hızı ve hava basıncı anlamsız bulunmuştur (*Önem Seviyesi*>0,05).

Bu yüzden modele dâhil edilmemiştir. Elde edilen regresyon modeli aşağıdaki gibidir.

$$\text{NO} = 219,140 + (-0,2526) \text{ Hava sıcaklığı} + (-0,316) \text{ Rüzgâr yönü} + (-0,472) \text{ Bağıl nem}$$

Kurulan anlamlı regresyon modeline göre, hava sıcaklığının 1 birim artması azot miktarının ortalama 0,252 birim azalmasına neden olur. Rüzgâr yönünün 1 birim artması azot miktarının ortalama 0,316 birim azalmasına, bağıl nemin 1 birim artması ise azot monoksit miktarının ortalama 0,472 birim azalmasına neden olmaktadır.

NO değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 11'de gösterilmiştir.

Bağımlı değişken NO ile hava sıcaklığı arasında negatif yönlü %32'lik, rüzgâr yönü ile negatif yönlü %7'lik, rüzgâr hızı ile pozitif yönlü %2'lik, hava basıncı ile negatif yönlü %18'lik bir

**Çizelge 9.**  $\text{SO}_2$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.

		$\text{SO}_2$	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	$\text{SO}_2$	1,000	-0,098	-0,038	0,241	-0,238	-0,062
	Sıcaklık	-0,098	1,000	-0,136	-0,041	-0,417	0,293
	R. Yönü	-0,038	-0,136	1,000	0,057	0,105	-0,094
	R. Hızı	0,241	-0,041	0,057	1,000	-0,171	-0,121
	B. Nem	-0,238	-0,417	0,105	-0,171	1,000	0,378
	H. Basıncı	-0,062	0,293	-0,094	-0,121	0,378	1,000

**Çizelge 10.** NO düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon model sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	R <sup>2</sup>
Regresyon Artık Toplam	412255,42	5	82451,08	37,71	0,001	0,378	0,143
	2470448,62	1130	2186,24				
	2882704,04	1135					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Beta	t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata				Tolerans	VIF
Sabit	219,140	19,622		11,168	0,001		
Sıcaklık	-2,526	0,232	-0,393	-10,883	0,0005	0,582	1,719
R. Yönü	-0,316	0,075	-0,119	-4,219	0,0002	0,961	1,040
R. Hızı	-0,157	0,368	-0,012	-,426	0,670	0,951	1,052
B. Nem	-0,472	0,129	-0,139	-3,671	0,0002	0,527	1,896
H. Basıncı	-0,012	0,013	-0,033	-0,930	0,352	0,607	1,649

ilişki vardır. NO'nun bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde; hava sıcaklığı ( $0,001 < 0,05$ ), rüzgâr yönü ( $0,005 < 0,05$ ) ve hava basıncı ( $0,001 < 0,05$ ) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuş. NO ile rüzgâr hızı ve bağıl nem arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 12'de bağımlı değişken NO<sub>2</sub>'nin bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayıları verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için, NO<sub>2</sub> düzeyine etki eden faktörlerde ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

Bağımlı değişken NO<sub>2</sub>'nin bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan modelin anlamlılığı test edilmiş ve model anlamlı (Önem Seviyesi  $< 0,05$ ) bulunmuştur. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler; bağımlı değişken hava kirliliği

NO<sub>2</sub>'nin %4'ünü açıklamaktadır. Bağımsız değişkenler arasında %20'lük ilişki bulunmaktadır. Çizelge 12'ye göre, bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde bağıl nem anlamsız bulunmuştur (Önem Seviyesi  $> 0,05$ ). Bu yüzden modele dâhil edilmemiştir. Elde edilen regresyon modeli aşağıdaki gibidir:

$$\text{NO}_2 = 61,607 + (-0,252) \text{ Hava sıcaklığı} + (-0,101) \text{ Rüzgâr yönü} + (0,607) \text{ Rüzgâr hızı} + (0,035) \text{ Hava basıncı}$$

Kurulan anlamlı modele göre, hava sıcaklığının 1 birim artması azot dioksit miktarının ortalama 0,252 birim azalmasına neden olur. Rüzgâr hızının 1 birim artması azot dioksit miktarının ortalama 0,607 birim artmasına, rüzgâr yönü 1 birim artması azot dioksit miktarının ortalama 0,101 birim azalmasına neden olmaktadır. Hava basıncının 1 birim artması ise azot dioksit miktarının ortalama 0,035 birim artmasına neden olur.

**Çizelge 11.** NO değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.

		NO	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	NO	1,000	-0,327	-0,076	0,026	0,002	-0,187
	Sıcaklık	-0,327	1,000	-0,140	-0,045	-0,420	0,290
	R. Yönü	-0,076	-0,140	1,000	0,058	0,110	-0,094
	R. Hızı	0,026	-0,045	0,058	1,000	-0,169	-0,120
	B. Nem	0,002	-0,420	0,110	-0,169	1,000	0,377
	H. Basıncı	-0,187	0,290	-0,094	-0,120	0,377	1,000

**Çizelge 12.** NO<sub>2</sub> düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon model sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	R <sup>2</sup>
Regresyon Artık Toplam	28780,26	5	5756,052	9,434	0,005	0,200	0,040
	689491,66	1130	610,170				
	718271,92	1135					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Beta	t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata				Tolerans	VIF
Sabit	61,607	10,366		5,943	0,005		
Sıcaklık	-0,252	00,123	-,078	-2,053	0,040	0,582	1,719
R. Yönü	-0,101	0,040	-0,076	-2,550	0,011	0,961	1,040
R. Hızı	0,607	0,195	0,093	3,121	0,002	0,951	1,052
B. Nem	-0,079	0,068	-0,047	-1,162	0,246	0,527	1,896
H. Basıncı	0,035	0,007	0,192	5,140	0,001	0,607	1,649

$\text{NO}_2$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 13'de gösterilmiştir.

Bağımlı değişken  $\text{NO}_2$  ile rüzgâr yönü ile negatif yönlü %8'lik, rüzgâr hızı ile pozitif yönlü %7'lük, bağıl nem ile pozitif yönlü %3'lük ve hava basıncı ile pozitif yönlü %14'lük bir ilişki vardır.  $\text{NO}_2$ 'nın bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde rüzgâr yönü ( $0,003 < 0,05$ ), rüzgâr hızı ( $0,005 < 0,05$ ) ve hava basıncı ( $0,01 < 0,05$ ) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuş.  $\text{NO}_2$  ile hava sıcaklığı ve bağıl nem arasındaki ilişki önelsiz bulunmuştur.

Çizelge 14'de bağımlı değişken  $\text{NO}_x$ 'ın bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayısı verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için,  $\text{NO}_x$  düzeyine etki eden faktörlere ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

Bağımlı değişken  $\text{NO}_x$ 'nın bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan modelin anlamlılığı test edilmiş ve model anlamlı ( $\text{Önem Seviyesi} < 0,05$ ) bulunmuştur. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler; bağımlı değişken hava kirliliği  $\text{NO}_x$ 'ın %8'ini açıklamaktadır. Bağımsız değişkenler arasında %29'luk ilişki bulunmaktadır. Bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde rüzgâr hızı ve hava basıncı anlamsız bulunmuştur ( $\text{Önem Seviyesi} > 0,05$ ) bu yüzden modelde olmamalıdır. Elde edilen regresyon modeli aşağıdaki gibidir:

$$\text{NO}_x = 280,488 + (-2,782) \text{ Hava sıcaklığı} + (-0,418)$$

$$\text{Rüzgâr yönü} + (-0,552) \text{ Bağıl nem}$$

Elde edilen sonuçlara göre, hava sıcaklığının 1 birim artması azot oksit miktarının ortalama 2,782 birim azalmasına, rüzgâr yönünün 1 birim artması azot oksit miktarının

**Çizelge 13.**  $\text{NO}_2$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.

		$\text{NO}_2$	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	$\text{NO}_2$	1,000	0,003	-0,083	0,077	0,035	0,148
	Sıcaklık	0,003	1,000	-0,140	-0,045	-0,420	0,290
	R. Yönü	-0,083	-0,140	1,000	0,058	0,110	-0,094
	R. Hızı	0,077	-0,045	0,058	1,000	-0,169	-0,120
	B. Nem	0,035	-0,420	0,110	-0,169	1,000	0,377
	H. Basıncı	0,148	0,290	-0,094	-0,120	0,377	1,000

**Çizelge 14.**  $\text{NO}_x$  düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon model sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	$R^2$
Regresyon Artık Toplam	434931,05	5	86986,21	19,975	0,003	0,285	0,08
	4920921,67	1130	4354,80				
	5355852,72	1135					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Beta	t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata				Tolerans	VIF
Sabit	280,488	27,693		10,128	0,001		
Sıcaklık	-2,782	0,328	-0,317	-8,490	0,001	0,582	1,719
R. Yönü	-0,418	0,106	-0,115	-3,957	0,0005	0,961	1,040
R. Hızı	0,449	0,520	0,025	0,863	0,388	0,951	1,052
B. Nem	-0,552	0,182	-0,119	-3,042	0,002	0,527	1,896
H. Basıncı	0,024	0,018	0,048	1,303	0,193	0,607	1,649

ortalama 0,418 birim azalmasına, bağıl nemin 1 birim artması ise azot oksit miktarının ortalama 0,552 birim azalmasına neden olmaktadır.

$\text{NO}_x$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 15'de gösterilmiştir.

Bağımlı değişken  $\text{NO}_x$  ile hava sıcaklığı ile negatif yönlü %23'lük, rüzgâr yönü ile negatif yönlü %8'lik, rüzgâr hızı ile pozitif yönlü %4'lük, bağıl nem ile pozitif yönlü %1'lik ve hava basıncı ile negatif yönlü %8'lik bir ilişki vardır.  $\text{NO}_x$ 'un bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde hava sıcaklığı ( $0,0001 < 0,05$ ), rüzgâr yönü ( $0,02 < 0,05$ ), ve hava basıncı ( $0,003 < 0,05$ ) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuş.  $\text{NO}_x$  ile bağıl nem ve rüzgâr hızı arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 16'da bağımlı değişken CO'nun bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan regresyon modeline ait sonuçlar ile birlikte ilişki miktarı ve belirtme katsayıları verilmiştir. Kurulan regresyon modeli için, CO düzeyine etki eden faktörlere ait katsayılar elde edilerek ilgili model kurulmuştur.

Bağımlı değişken CO'nun bağımsız değişkenler (hava basıncı, rüzgâr yönü, rüzgâr hızı, hava sıcaklığı ve bağıl nem) ile kurulan modelin anlamlılığı test edilmiş ve model anlamlı (Önem Seviyesi  $< 0,05$ ) bulunmuştur. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler; bağımlı değişken hava kirliliği CO'ın %57'sini açıklamaktadır. Bağımsız değişkenler arasında %32'lik bir ilişki bulunmaktadır. Bağımsız değişkenlerin anlamlılıkları incelendiğinde bağıl nem anlamsız bulunmuştur (Önem Seviyesi  $> 0,05$ ). Bu yüzden modelde olmamalıdır. Elde edilen regresyon modeli aşağıdaki gibidir:

**Çizelge 15.**  $\text{NO}_x$  değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları.

		$\text{NO}_x$	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	$\text{NO}_x$	1,000	-0,238	-0,087	0,047	0,015	-0,081
	Sıcaklık	-0,238	1,000	-0,140	-0,045	-0,420	0,290
	R. Yönü	-0,087	-0,140	1,000	0,058	0,110	-0,094
	R. Hızı	0,047	-0,045	0,058	1,000	-0,169	-0,120
	B. Nem	0,015	-0,420	0,110	-0,169	1,000	0,377
	H. Basıncı	-0,081	0,290	-0,094	-0,120	0,377	1,000

**Çizelge 16.** CO düzeyine etki eden faktörlere ait regresyon model sonuçları.

Model	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare Hata	F	Önem Seviyesi	R	$R^2$
Regresyon Artık Toplam	136412187,7	5	27282437,5	110,13	0,009	0,32	0,57
	279941067,1	1130	247735,5				
	416353254,8	1135					

Model	Standartlaştırmamış Katsayılar		Beta	t	Önem Seviyesi	Collinearity Statistics	
	B	Standart Hata				Tolerans	VIF
Sabit	3854,61	208,875		18,454	0,001		
Sıcaklık	-26,750	2,471	-0,346	-10,825	0,001	0,582	1,719
R. Yönü	-6,527	0,797	-0,204	-8,194	0,0005	0,961	1,040
R. Hızı	44,019	3,919	0,281	11,231	0,001	0,951	1,052
B. Nem	1,622	1,369	0,040	1,185	0,236	0,527	1,896
H. Basıncı	-0,999	0,137	-0,228	-7,278	0,0001	0,607	1,649

**Çizelge 17.** CO değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri.

	CO	Sıcaklık	R. Yönü	R. Hızı	B. Nem	H. Basıncı
Pearson Korelasyon	CO	1,000	-0,413	-0,113	0,305	0,029
	Sıcaklık	-0,413	1,000	-0,140	-0,045	-0,420
	R. Yönü	-0,113	-0,140	1,000	0,058	0,110
	R. Hızı	0,305	-0,045	0,058	1,000	-0,169
	B. Nem	0,029	-0,420	0,110	-0,169	1,000
	H. Basıncı	-0,328	0,290	-0,094	-0,120	0,377
						1,000

$$\text{CO} = 3854,612 + (-26,750) \text{ Hava sıcaklığı} + (-6,527) \text{ Rüzgâr yönü} + (44,019) \text{ Rüzgâr hızı} + (-0,999) \text{ Hava basıncı}$$

Kurulan modele göre, hava sıcaklığının 1 birim artması CO miktarının ortalama 26,75 birim azalmasına neden olur. Rüzgâr yönünün 1 birim artması CO miktarının ortalama 6,52 birim azalmasına, rüzgâr hızının 1 birim artması CO miktarının ortalama 44,09 birim artmasına, hava basıncının 1 birim artması ise CO miktarının ortalama 0,999 birim azalmasına neden olmaktadır.

CO değerleri ile meteorolojik parametre değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 17'de gösterilmiştir.

Bağımlı değişken CO ile hava sıcaklığı ile negatif yönlü %41'lik, rüzgâr yönü ile negatif yönlü %11'lik, rüzgâr hızı ile pozitif yönlü %30'luk, bağıl nem ile pozitif yönlü %2'lik ve hava basıncı ile negatif yönlü %32'lik bir ilişkisi vardır. CO'nun bağımsız değişkenlerle olan ilişkisinin anlamlılıkları incelendiğinde hava sıcaklığı ( $0,001 < 0,05$ ), rüzgâr yönü ( $0,001 < 0,05$ ), rüzgâr hızı ( $0,005 < 0,05$ ) ve hava basıncı ( $0,001 < 0,05$ ) ile olan ilişkileri anlamlı bulunmuştur. CO ile bağıl nem ( $0,163 > 0,05$ ) arasındaki ilişki önelsiz bulunmuştur.

### 3. Tartışma ve Sonuç

Emisyon ve kirliliğe sebep olan kaynakların atmosfer ve arazi ile etkileşimlerini kapsayan bir anlayış, hava kirliliği için belirlenen uygun yönetim planları ve stratejilerinin geliştirilmesinde önem teşkil etmektedir (Menteşe ve Tağıl, 2012). Birçok çalışmada görülmüştür ki, hava kirliliği ile iklim parametreleri arasında bir ilişkilidir. Bu nedenle, atmosfer ile emisyonlar arasındaki etkileşimden dolayı yapılacak olan stratejilerde önem teşkil etmektedir.

Yapılan bu çalışma ile, Bolu ili için 2017-2020 yılları arasında hava sıcaklığı, nem, rüzgâr hızı ve basınç olarak belirlenen iklim elemanlarının hava kalitesi ( $\text{PM}_{10}$ ,  $\text{SO}_2$ ,

$\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{CO}$  ve  $\text{NO}_x$ ) üzerinde bulunan etkisi ile istatistiksel yöntemlerden yararlanılarak hava kirliliğine dair ele alınan parametrelerin zamansal değişimleri incelenmiştir. Analizlerde elde edilen regresyon modellerinin devamında korelasyon katsayılarından yararlanarak ilişki miktarları hakkında yorumlar yapılmaktadır. Bağımsız değişkenler olan meteorolojik veriler; bağımlı değişken hava kirliliği  $\text{PM}_{10}$ 'un %11'ini,  $\text{SO}_2$ 'nin %16,5'ini,  $\text{NO}$ 'nun %14,3'ünü,  $\text{NO}_2$ 'nın %4'ünü ve  $\text{NO}_x$ 'ın ise %8'ini açıklamaktadır. Elde edilen ilişki miktarlarına göre bağımsız değişkenler ile en yüksek ilişkiye sahip olan bağımlı değişken  $\text{SO}_2$  olup, pozitif yönlü ve %41'lik bir ilişki bulunmaktadır. En düşük ilişkiye sahip olan bağımlı değişken ise  $\text{NO}_2$  olup, yine pozitif yönlü ve %20'lik bir ilişki söz konusu olmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, hava kirleticileri ile iklim elemanları arasında sıcaklık, hava basıncı ve rüzgâr yönü ile orta düzey; rüzgâr hızı ve bağıl nem ile düşük düzeyde bir ilişkinin mevcut olduğu söylenebilmektedir.

### 4. Kaynaklar

**Abdullah, A.H., Çakır, S. 2017.** Hava kirletici konsantrasyonlarının meteorolojik parametrelerle dayalı çoklu-lineer regresyonla analizi: Kuzey Kıbrıs örneği. *VII. Ulusal Hava Kirliliği Ve Kontrolü Sempozyumu*, 59-70, 1-3 Kasım 2017, Antalya.

**Cekim, H.O. 2020.** Forecasting  $\text{PM}_{10}$  concentrations using time series models: a case of the most polluted cities in Turkey. *Environ Sci Pollut Res.* 27: 25612–25624. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08164-x>.

**İskan, B., Sıdal, H.C., Malak, U. 2015.** Çimento sektörü, döner fırın bacalarından çıkan ağır metal sonuçlarının incelenmesi, yaktılara göre değişimlerin incelenmesi. *6. Ulusal Hava Kirliliği ve Kontrolü Sempozyumu*, 7-9 Ekim 2015, İzmir.

**Kyrkilis, G., Chaloulakou, A., Kassomenos, P.A. 2007.** Development of an aggregate Air Quality Index for an urban Mediterranean agglomeration: Relation to potential health effects. *Environ. Int.*, 33(5): 670-676. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.01.010>

- Menteşe, S., Tağıl, Ş. 2012.** Bilecik'te iklim elemanlarının hava kirliliği üzerine etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 15(28): 3-16. <https://dergipark.org.tr/en/pub/baunsobed/issue/50183/645979>
- Mutlu, A. 2019.** Hava kalitesi ve meteoroloji: korelasyon, trend ve epizot analizleri. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(4): 724-741. doi:10.17714/gumusfenbil.563848
- Oğuz, K., Pekin, M.A. 2015.** Meteorolojik koşulların hava kirliliği üzerine etkilerinin incelenmesi: Keçiören ilçesi örneği. VII. Uluslararası Katılımlı Atmosfer Bilimleri Sempozyumu, 28-30 Nisan, 2015.
- Özel, G., Çakmakçıyan, S. 2015.** A new approach to the prediction of PM10 concentrations in Central Anatolia Region, Turkey. *Atmospheric Pollution Research*, 6(5): 735-741. <https://doi.org/10.5094/APR.2015.082>
- Sharma, S., Ruud, A. 2003.** On the path to sustainability: integrating social dimensions into the research and practice of environmental management. *Bus Strategy Environ*, 12(4): 205-214. <https://doi.org/10.1002/bse.366>
- Sürekli İzleme Merkezi, "Hava Kalitesi İzleme Sistemi". 2022.** <https://sim.csb.gov.tr/Home/HKI?baslik=HAVZA%20%C4%B0ZLEME%20S%C4%B0STEM%C4%B0>
- Yavsan, S., Hotunluoğlu, H. 2018.** Yerel yönetimlerin çevre harcamaları ile hava kalitesi ilişkisi: il bazlı bir analiz. *Aydın İktisat Fakültesi Dergisi*, 3(1): 36-47. <https://dergipark.org.tr/en/pub/aifd/issue/42001/498064>
- Yavuz, V.A. 2010.** Sürdürülebilirlik kavramı ve işletmeler açısından sürdürülebilir üretim stratejileri/Concept of sustainability and sustainable production strategies for business practices. *Mustafa Kemal Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 7(14): 63-86. <https://dergipark.org.tr/en/pub/mkusbed/issue/19556/208640>
- Yılmaz, A. 2017.** The effects of climate parameters on air pollution parameters: Bolu province sample. *Curr. Res. J. Soc.*, 7(2): 413-436. doi: 10.26579/jocress-7.2.30
- Yılmaz, B. 2018.** Manisa'da partikül madde (pm10) kirliliğinin değerlendirilmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(1): 626-633. <https://doi.org/10.25092/baunfbed.442994>



## Farklı Hücre Hatlarında KLK4 Gen İfadesinin Belirlenmesi

### *Expression of KLK4 Gene Expression Different Cell Lines*

Fatma Poyrazlı<sup>1</sup>, Sümeyye Aydoğan Türkoğlu<sup>2\*</sup>, Derya Okuyan<sup>3</sup>, Feray Köçkar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup>Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi, Susurluk Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Pr., Bandırma, Türkiye

### Öz

Kallikrein releted peptidaz (KLK) gen ailesi, insan genomundaki en büyük proteaz geni kümesi tarafından kodlanmaktadır ve yüksek oranda korunmuş 15 serin proteazdan oluşur. Bu ailenin doku kallikrein ve kallikrein ile ilişkili peptidazların en çok bilinen ve biyobelirteç olarak kullanılan üyesi prostata spesifik antijen (PSA- KLK3)'dır. Biyobelirteç olarak kullanılan diğer üyeleri ise, insan glandüler kallikrein 2 (KLK2) ve KLK4 (KLK-L1, PRSS17, AI2A1, ARM1, EMSP, EMSP1, PSTS TMPRSS2 ve prostaz) dür. PSA ve diğer KLK'lar arasındaki yapısal benzerlik göz önüne alındığında, ailenin kalan üyelerinin kanser biyobelirteçleri olarak potansiyel rolü son yıllarda çokça araştırılmaktadır. Çalışmamızda PC-3/LNCaP (insan prostat karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu), ve HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücresi) hücre hatlarında KLK4'ün ifadesi mRNA ve protein düzeyinde çalışılmıştır. Çalışılan tüm hücre hatlarında ifadesinin olduğu, yine literatürle tutarlı olarak androjen bağımlı prostat kanserlerinde ise ifadesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca farklı evrelerde olan kolon kanseri hücre hatlarında, kanser ilerleyışı ile ilişkili olarak KLK4 ifadesinin HT-29 hücrelerinde SW480 hücrelerine kıyasla yüksek bulunmuştur. Çalışmamız sonuçlarının KLK4 regülasyonunu hedefleyen kanser çalışmaları için hücre seçiminde yönlendirici olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatoselüler karsinom, İnsan umbilikal ven endotel hücresi, KLK4, Kolon kanseri, Prostat kanseri

### Abstract

The highly conserved Kallikrein-related peptidase (KLK) gene family, encoded by the largest set of protease genes in the human genome, consists of 15 serine proteases. Prostate-specific antigen (PSA-KLK3) is the most well-known and biomarker member of tissue kallikrein and kallikrein-related peptidases. Others are human glandular kallikrein 2 (KLK2) and KLK4 (KLK-L1, PRSS17, AI2A1, ARM1, EMSP, EMSP1, PSTS TMPRSS2 and prostasis). Given the structural similarity between PSA and other KLKs, the potential role of remaining family members as cancer biomarkers has been extensively investigated in recent years. In our study, the expression of KLK4 in PC-3/LNCaP (human prostate carcinoma), HEP3B (human hepatocellular carcinoma), HT-29/SW480 (human colon carcinoma), and HUVEC (human umbilical vein endothelial cell) cell lines was studied at the mRNA and protein level. KLK4 mRNA and protein expression were found in all studied cell lines and its expression is high in androgen-dependent prostate cancers (LNCaP), which is also consistent with the literature. In addition, a high level of KLK4 expression was found in HT-29 cells than SW480 cells which are different stages of colon carcinoma cell lines, and this high-level expression is correlated with cancer progression. It is thought that the results of our study will be guided in the selection of cells for cancer studies targeting the regulation of KLK4.

**Keywords:** Human umbilical vein endothelial cell, Hepatocellular carcinoma, KLK4, Colon cancer, Prostate cancer

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: saydogan@balikesir.edu.tr

Fatma Poyrazlı orcid.org/0000-0001-8069-6447

Sümeyye Aydoğan Türkoğlu orcid.org/0000-0003-1754-0700

Derya Okuyan orcid.org/0000-0001-6758-8556

Feray Köçkar orcid.org/0000-0003-2572-8391



Bu eser "Creative Commons Alıntı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

## 1. Giriş

Kallikreinler, ilk olarak kininojenaz aktiviteleri ve kininojenlerden vazoaktif peptit (lys) bradikinin üretme yetenekleri ile tanımlanan serin proteazların bir alt grubudur. Kallikrein ilk olarak pankreas özütlerinde tanımlanmıştır (Kraut vd. 1930, Werle E. 1934). Yapılan çalışmalarla karaciğerden türetilen bir plazma kallikreini ve birkaç dokunun lokal doku ortamında aktif olan glandüler veya doku kallikreini belirlenmiştir (Clements vd. 2004).

İnsan genomundaki en büyük proteaz geni kümesi tarafından kodlanan, yüksek oranda korunmuş KLK gen ailesi 15 serin proteazdan oluşmaktadır (Clements vd. 2001, Tefekli 2012, Emami ve Diamandis 2008, Korkmaz vd. 2004, Xi vd. 2004). Tüm bu genler, 19q13.4 kromozomu üzerindeki insan KLK lokusunda kümelenmiştir (Kontos ve Scorilas 2012, Diamandis vd. 2000, Lundwalla ve Brattandsb 2008). Çeşitli türlerde bugüne kadar tanımlanan tüm doku kallikrein genlerinin ortak özellikleri, beş ekzonun benzer bir genomik organizasyonu, serin proteaz katalitik aktivitesi için korunmuş bir amino asit rezidüsü ve birinci ekzonda kodlanmış bir sinyal peptid dizisini içermeleridir (Korkmaz 2004).

Normal ve neoplastik prostat dokuları üzerinde yapılan çalışmalarla, prostat spesifik antijen KLK3 (PSA olarak da bilinir), glandüler kallikrein 2 (KLK2), TMPRSS2 ve prostaz/ KLK4 (diğer isimleri: PRSS17/EMSP1) yüksek oranda ifade oldukları ve androjenik hormonlar tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (Matsumura vd. 2005).

Kallikrein ile ilgili peptidaz 4 (KLK4), androjenler tarafından düzenlenen ve ekspresyonu prostat için oldukça spesifik olan ve prostat kanseri kemik metastazlarında bol miktarda bulunan serin proteazdır (Xi vd. 2004, Fuhrman-Luck vd. 2016). KLK4; KLK-L1, PRSS17, AI2A1, ARM1, EMSP, EMSP1, PSTS olarak da bilinir (Obiezu vd. 2001). 254 amino asitten oluşan 4.38 kb genomik DNA'yı kapsar. 5 ekzon ve 4 introndan oluşur. Bir salgılama sinyaline (pre-) peptit (26 amino asit), ardından bir aktivasyon (pro-) peptit (4 amino asit) ve 1 potansiyel N-bağılı glikosilasyon yerine sahip olgun zincir (224 amino asit) bulunur. His71, Asp116, Ser207 (Met = 1'e göre ve ekson 1' de ATG1 tarafından kodlanan) katalitik üçlüsü korunur ve proteolitik aktivite için gereklidir. Bir KLK4 tam uzunlukta protein olarak sentezlendikten sonra, sinyal peptidi çıkarılır ve pro-KLK4 (zimogen) daha sonra hücreden salgılanır. Aktivasyon üzerine, olgun aktif enzimi üretmek için propeptit uzaklaştırılır. KLK4 geni orijinal olarak PRSS17 geni olarak

adlandırılmıştır ve EMPS1 (Enamel matrix serine protease 1) proteinini kodlayan dejener primerler kullanılarak domuzda gelişmekte olan dış emaye epitel hücrelerinden klonlanmıştır (Lai vd. 2009).

RT-PCR deneyleri ile yapılan çalışmalar sonucunda meme, yumurtalık, endometriyum, tükrük bezi, akciğer, adrenal bez, kolon, trakea da KLK4' ün ifade olduğu gösterilmiştir. Northern blot analizi ile insan dokularındaki daha sonraki çalışmalar, KLK4 mRNA ekspresyonunun prostata ağırlıklı olarak lokalize olduğunu göstermiştir; beyin, testis, omurilik, tiroid, deri ve böbrek de düşük ile orta seviyelerde KLK4 mRNA' yi ifade ettiği gösterilmiştir. KLK4 mRNA, *in situ* hibridizasyon deneyleriyle yağ bezlerinde, ter bezlerinde, kıl folikülleri, stratum bazale, stratum spinosum ve stratum granulosumda da tespit edilmiştir. (Dong vd. 2001, Majumdar ve Diamandis 1999, Lai 2009, Wang, 2018). Yapılan bir çalışmada, KLK4 ekspresyonunun, prostat kanseri kaynaklı LNCaP hücre hattında androjenler tarafından yukarı regule edildiği ve meme karsinoması hücre hattı BT-474' te hem androjenler hem de progestinler tarafından yukarı regule edildiği gösterilmiştir (Obiezu vd. 2001). KLK4, prostat kanseri hücrelerinin çoğalmasının desteklenmesinde ve genel olarak, siklin B1 ve E2F1 gibi hücre döngüsü ile ilgili genlerin düzenlenmesi yoluyla malign fenotip değişikliklerinde eşsiz bir role sahip olduğu gösterilmiştir. (Avgaris vd. 2012).

PSA ve diğer KLK'lar arasındaki yapısal benzerlik göz önüne alındığında, ailenin kalan üyelerinin kanser biyobelirteçleri olarak potansiyel rolü son yıllarda çokça araştırılmıştır. Yakın tarihli araştırmalar, KLK2 ve KLK4 dahil diğer KLK'ların testislerde üretildiğini ve dolayısıyla testis kanseri için biyolojik belirteç olarak potansiyel olabileceği önermektedir. Biyolojik belirteç olarak kullanımlarının dışında, kanser patogenezinde bir dizi kritik işlevsel rolünün tespiti KLK'ların terapötik hedefler olarak potansiyel kullanımlarını ortaya çıkarmıştır (Emami ve Diamandis 2008, Kontos ve Scorilas 2012, Kryza vd. 2017). KLK4' ün regülasyonunu hedefleyen kanser çalışmaları için hücre seçimi oldukça önemlidir. Literatür incelendiğinde LNCaP, PC-3, DU145 prostat kanseri hücrelerinde (Klokk vd. 2007), HT-29 kolon kanseri hücrelerinde (Gratio vd. 2010), meme karsinoması hücre hattı BT-474, (Obiezu vd. 2001), ameloblast benzeri hücreler (LS8) (Liv d. 2022), dışında bir çalışma bulunmamaktadır. Bu kapsamda çalışmamızda, bu zamana kadar genellikle dokular üzerindeki ifadesine bakılan KLK4' ün, farklı prostat karsinom hücre hatlarında (PC-3/LNCaP), hepatoselüler kanser hücre hattında (HEP3B),

farklı kolon karsinom hücre hattlarında (HT-29/SW480) ve normal hücre hattı olan HUVEC (insan umblikal ven endotel hücresi) hücre hattındaki ifadesi belirlenmiştir.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Hücre Kültürü

Çalışmamızda PC-3/LNCaP (insan prostat karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu), ve HUVEC (insan umblikal ven endotel hücresi) hücre hatları kullanılmıştır. PC-3 ve LNCaP hücreleri Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümünden Prof. Dr. Kemal Sami Korkmaz' dan; HEP3B hücreleri Cardiff Üniversitesiinden Dr. Dipak P. Ramji' den, HT-29 hücreleri Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünden Doç. Dr. Tuğba Boyueğmez' den; SW480 hücreleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümünden Prof. Dr. Sreperna Banerjee' nden; HUVEC hücreleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Bölümünden Prof. Dr. Berrin Tunca' dan temin edilmiştir. Hücre kültürleri, PC-3 hücre hattı DMEM/F12 Mix (EuroClone), LNCaP hücre hattı RPMI 1640 (EuroClone), HEP3B/HT-29/SW480 ve HUVEC hücre hattı DMEM high glukoz (EuroClone) medyumunda 2mM L-Glutamin ve %10 FCS içeren 1X antibiyotik-antimikotik (EuroClone) besiyerinde, %5 CO<sub>2</sub> içeren nemli atmosferde 37 °C de gerçekleştirildi.

### 2.2. Canlı Hücrelerin Belirlenmesi ve Hücre Sayımı

Süspansiyon hale getirilen hücrelerden hücre sayımı yapmak için ve hücre canlılığının belirlenmesi amacıyla, hücreler tripan mavisi ile boyandı. Boyanan hücrelerin mililitresindeki sayısını bulabilmek için üzerinde 25 küçük kare bulunan, 1 mm<sup>2</sup> alan içeren ve 0.1 mm derinliğe sahip olan hemositometre lami kullanıldı. Flaslardan Tripsin-EDTA kullanılarak kaldırılan hücreler, çöktürme işlemi için 1000 rpm'de santrifüj yapıldı. Santrifüjden alınan hücrelerin süpernatant kısmı dökülkerek, hücre pelleti FCS içeren medyumda çözüldü. Ayrı bir ependorfa süspansiyon hale getirilen hücrelerden ve tripan mavisinden eşit hacimde konularak, bu karışım 3 dakika inkübe edildi. Ardından ölü ve canlı hücreleri ayırt etmek için bu karışımından 10 µl hemositometre lamına aktarılıarak sayım yapıldı. Ölü hücreler tripan mavisi ile mavi renge boyanırken canlı hücreler mavi renge boyanmadı. Mavi renge boyanmayan canlı hücreler sayılı ve böylelikle hücre süspansiyonun mililitresindeki canlı hücre sayısı hesaplandı (Türkoğlu vd. 2019). Çalışmamızda kullanılan PC-3/LNCaP (insan prostat

karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu), ve HUVEC (insan umblikal ven endotel hücresi) hücre hatları 25 cm<sup>2</sup> flasklara, hem RNA hem de protein deneyi için 2x10<sup>6</sup> olarak ayrı ayrı ekildi. 24 saat sonunda hücreler tripsinizasyon yöntemi ile flasklardan kazınarak RNA pelletleri -80 °C ye kaldırıldı. Yine 24 saat sonunda RIPA Buffer ile flasklardan hücreler bir kazıcı spatül ile kazınarak protein izolasyonu yapıldı ve -80 °C ye kaldırıldı.

### 2.3. Hücre Pelletlerinden RNA Izolasyonu ve cDNA Eldesi

PC-3/LNCaP (insan prostat karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu), ve HUVEC (insan umblikal ven endotel hücresi) hücre hatlarında KLK4 geninin mRNA ifadesini belirlemek amacıyla RNA izolasyonu için -80 °C' den çıkarılan pelletlerden RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Thermo Scientific-GeneJET RNA purification kiti ile RNA izolasyonu yapıldı. RNA'ların saflık ve miktar tayini için spektrofotometre 260 nm ve 280 nm' de absorbansları ölçüldü. Elde edilen RNA'lardan 1µg RNA olacak şekilde alınması gereken miktar hesaplandı. RevertAid RT Reverse Transcription Kiti (Thermo Scientific) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Bunun için öncelikle her bir tüpe 1µg RNA, konuldu ve üzerlerine Oligo dT' den 1µl eklenecek dH<sub>2</sub>O ile 12.5µl hacime tamamlandı. PZR cihazına konulan örnekler 65 °C' de 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir tüpe, 4µl Buffer RT, 2µl dNTP, 1µl Revers Transkriptaz enzimi ve 0.5µl Ribolock İnhibitorinden oluşan karışımından 7.5µl paylaştırıldı. Son hacimi 20 µl olan tüpler PZR cihazında 42 °C de 1 saat ve 72 °C 10 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Internal kontrol olarak kullanılan insan β2 primerleri ile Polimeraz zincir reaksiyonu yapılarak cDNA'lar kontrol edildi. Ardından agaroz jel elektroforezi yapılarak cDNA'lar görüntülendi.

### 2.4. Gerçek Zamanlı PZR (Real Time PCR)

KLK4 mRNA ifadesinin belirlenebilmesi amacıyla elde edilen cDNA'lardan 1µl hacimde (1µg), ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerinden 0.5' er µl (100 ng/µl), 6.25µl RealQ Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon) ve 4.25µl dH<sub>2</sub>O kullanılarak 12.5µl son hacime tamamlanarak PZR gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) için Light Cycler 485 (Roche Diagnostic) cihazı kullanıldı. Bütün cDNA'lar 3 tekrarlı olarak çalışıldı ve elde edilen Ct değerlerinin ortalamaları alındı. KLK4 ekspresyon primerleri için NM\_004917.5/NP\_004908.4

**Çizelge 1.** Ekspresyon çalışmasında kullanılan primerler.

KLK4				
Forward	Reverse	Accession Number	Ürün Büyüklüğü	Bağlanması Sıcaklığı
5'-CACTGGTCATGGAAAACGA-ATT-3'	5'-ATGAGGTCGTTAGCGAG-CAAG-3'	NM_004917 XM_001134318	214bp	55°C
H $\beta$ 2 (İnsan $\beta$ 2 Mikroglobulinin)				
Forward	Reverse	Accession Number	Ürün Büyüklüğü	Bağlanması Sıcaklığı
5' TTTCTGGCCTGGAGGCTATC '3	5'CATGTCTCCATCCCCTAATC '3	NM_004048	314 bp	55°C

kodlu dizi üzerinden 2. ve 3. ekzon arasından biyoinformatik olarak primerler dizayn edildi. KLK4 ekspresyon primerleri ve kontrol genimiz olan Human- $\beta$ -2 mikroglobülin (H $\beta$ 2) genine ait primerler (Çizelge 1) için bağlanması sıcaklığı 55 °C olarak belirlendi.

### 2.5. Gerçek Zamanlı PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Gerçek zamanlı PZR sonuçlarından elde edilen sonuçlar Livak metoduna göre değerlendirildi (Livak ve Schmittgen 2001). KLK4 mRNA seviyesini belirlemek için yapılan gerçek zamanlı PZR sonucunda elde edilen KLK4 Ct değerleri, internal kontrol gen olarak kullanılan insan beta 2 Mikroglobulinin (H $\beta$ 2) Ct ortalamasından çıkartılarak normalize edildi. Çalışma sonuçları melting curve analizi ile doğrulandı. Sonuçlar OneWay Anova ile değerlendirildi. Veriler istatistiksel olarak p≤0,05 olduğunda anlamlı olarak kabul edildi.

### 2.6. Western Blot

25 cm<sup>2</sup> flasklara, 2x10<sup>6</sup> olarak ekilen hücrelerden 24 saat sonunda KLK4 geninin protein ifadesini belirlemek amacıyla, RIPA Buffer ile protein izolasyonu gerçekleştirildi. Her bir hücre hattına ait proteinden 35 $\mu$ g kullanılarak %10'luk poliakrilamid jеле yüklenindi ve PVDF membrana (Millipore) transfer ile aktarıldı. Membranda spesifik olmayan bağlanmayı önlemek için %0,1 (v/v) Tween20 ve %5 (w/v) yağsız süt tozu içeren 1X Tris salin tamponu (TBS) içerisinde 1 saat bloke edildi. Ardından Tween20 içeren 1X TBS tamponu ile 3 kez yıkandı. Yıkama işleminden sonra primer antikor olan KLK4 (Invitrogen, PA5-72768) antikoru ile bir gece +4 °C de muamele edildi. Ertesi gün 1X TBS tamponu ile 3 kez yıkama yapıldı ve sekonder antikor (HRP-konjugate anti-rabbit) ile 1.5 saat muamele edildi. Tekrar 3 kez yıkaması

yapılan membran Pierce ECL (Western Blotting Substrate-Thermo) substratiyla muamele edilerek, Fusion FX VILBER LOURMAT cihazında görüntülendi. KLK4 protein miktarı,  $\beta$ -Aktin proteini miktarı ile normalleştirildi.

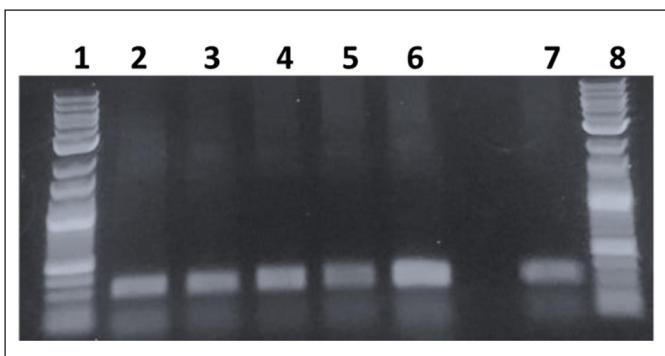
### 3. Sonuçlar

#### 3.1. KLK4'ün SW480, HT-29, HEP3B, HUVEC, PC-3 ve LNCaP Hücre Hatlarındaki mRNA İfadesi

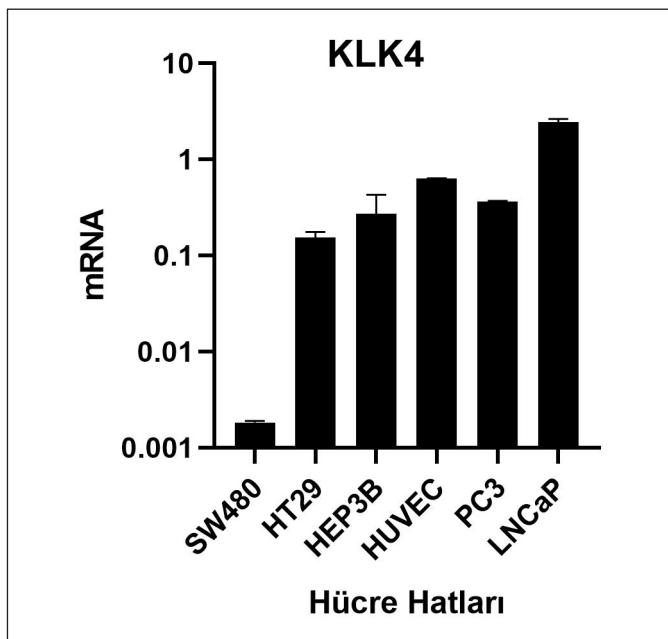
2x10<sup>6</sup> olacak şekilde ekim yapılan hücrelerden 24 saat sonunda flasklardan kaldırılarak RNA izolasyonları gerçekleştirildi. Bu RNA'lardan 1 $\mu$ g kullanılarak Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) ile cDNA sentezi yapıldı. Internal kontrol gen olarak kullanılan insan  $\beta$ 2 Mikroglobulin ile PZR yapılarak cDNA'ların kontrolü sağlandı. PZR sonuçları elektroforez jеле yüklenerek görüntülendi (Şekil 1). KLK4 geninin farklı hücre hatları olan PC-3/LNCaP (insan prostat karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu), ve HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücresi) hücrelerinde mRNA ifadesini belirleyebilmek amacıyla spesifik KLK4 ve H $\beta$ 2 primerleri kullanılarak gerçek zamanlı PZR gerçekleştirildi. Yapılan analizlere göre (Şekil 2) KLK4'ün tüm hücre hatlarında ifadesi bulunurken en çok androjen bağımlı prostat kanseri hücresi olan LNCaP hücrende, en az ise kolon kanseri hücresi olan SW480'de mRNA ifadesinin olduğu görüldü.

#### 3.2. KLK4'ün SW480, HT-29, HEP3B, HUVEC, PC-3 ve LNCaP Hücre Hatlarındaki Protein İfadesi

25 cm<sup>2</sup> flasklara, 2x10<sup>6</sup> olacak şekilde ekim yapılan hücrelerden 24 saat sonunda flasklardan Ripa Buffer ile kazınarak elde edilen protein miktarları Bradford yöntemiyle belirlendi. Poliakrilamid jеле her bir protein 35 $\mu$ g yüklenerek

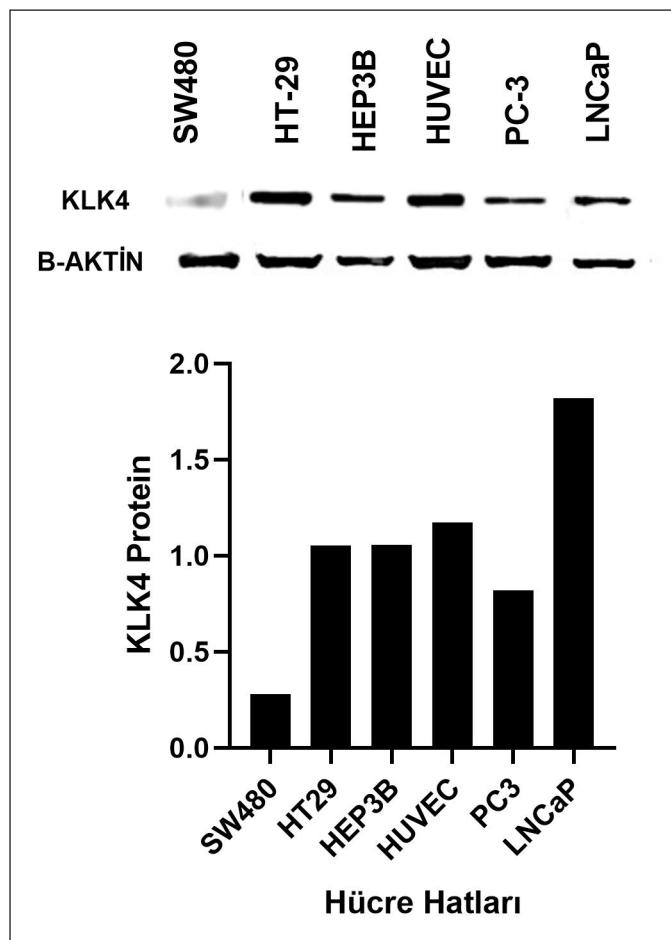


**Şekil 1.** Farklı hücre hatlarından yapılan cDNA'ların H $\beta$ 2 PZR elektroforez jel görüntüsü (1:100bç marker, 2: SW480 kolon kanseri hücre hattı, 3: HT-29 kolon kanseri hücre hattı, 4: HEP3B hepatoselüler kanseri hücre hattı, 5: HUVEC umbralik ven endotel hücresi, 6: PC-3 prostat kanseri hücre hattı, 7: LNCaP prostat kanseri hücre hattı, 8: 100bç marker).



**Şekil 2.** Farklı hücre hatlarında KLK4 mRNA ifadesi (SW480 kolon kanseri hücre hattı, HT-29 kolon kanseri hücre hattı, HEP3B hepatoselüler kanseri hücre hattı, HUVEC umbralik ven endotel hücresi, PC-3 prostat kanseri hücre hattı, LNCaP prostat kanseri hücre hattı).

90V da yürütüldü. Yürüttülen jellerdeki proteinler membrana transfer işlemi ile aktarıldı. İşlem sonunda membranda spesifik olmayan bağlanmayı önlemek için yağsız süt tozu ve Tween20 içeren 1X TBS ile 1 saat bloke edildi. Ardından KLK4 primer antikoru ile bir gece +4 °C de muamele edildi. Ertesi gün 1X TBS tamponu ile 3 kez yıkama işleme



**Şekil 3.** Farklı hücre hatlarında KLK4' ün protein ifadesi (SW480 kolon kanseri hücre hattı, HT-29 kolon kanseri hücre hattı, HEP3B hepatoselüler kanseri hücre hattı, HUVEC umbralik ven endotel hücresi, PC-3 prostat kanseri hücre hattı, LNCaP prostat kanseri hücre hattı).

yapıldıktan sonra sekonder antikor (HRP-konjuge anti-rabbit) ile 1.5 saat muamele edildi. 1X TBS ile 3 kez yıkaması yapılan membran Pierce ECL (Western Blotting Substrate-Thermo) substratıyla 3 dakika inkübe edildi ve Fusion FX VILBER LOURMAT cihazında görüntülendi. Aynı membranda normalizasyon için İnsan  $\beta$ -aktin bantlarında görüntülendi. KLK4' ün protein seviyesini belirlemek için yapılan western blot sonucunda ise elde edilen bantlar imaj J programında analiz edildi. Analizler sonucunda elde edilen KLK4 protein miktarı,  $\beta$ -Aktin proteini miktarı ile normalleştirildi. Yapılan analizlere göre (Şekil 3), KLK4' ün tüm hücre hatlarında ifadesi bulunurken, yine mRNA analizleri ile tutarlı olarak en çok androjen bağımlı prostat kanseri hücresi olan LNCaP hücrende, en az ise kolon kanseri hücresi olan SW480 de protein ifadesi tespit edildi.

#### 4. Tartışma

Literatürde KLK4'ün ifadesiyle ilgili çalışmalar incelenince, çalışmaların genellikle insana ait kanserli dokular veya normal dokulardaki KLK4 ifadesine yönelik olduğu görülmektedir. Kanser hücre hatları kullanılarak yapılan birkaç çalışma bulunmaktadır.

KLK4 ekspresyonunun, prostat kanseri kaynaklı LNCaP hücre hattında androjenler tarafından yukarı regule edildiği ve meme karsinomu hücre hattı BT-474' te hem androjenler hem de progestinler tarafından ifadesinin arttığı gösterilmiştir (Obiezu vd. 2001).

Literatür incelendiğinde bazı serin proteazların, proteaz aktive olan reseptörler (PAR'lar) aracılığıyla hareket eden sinyal molekülleri olduğu düşünülmektedir. İnsan kolon kanser gelişimi PAR1 (proteazla aktive olan reseptör) ve PAR4 (trombin reseptörleri) ayrıca PAR2 (tripsin reseptörü) ile ilişkilendirmiştir. KLK4 ifadesi, normal insan kolonunun epitel hücrelerinde azdır ancak insan kolon adenokarsinomlarında KLK4 ekspresyonu yüksektir. Serin proteaz ailesinin bir üyesi olan KLK4'ün insan kolon kanserinde PAR1 ve PAR2'yi aktive edip etmediğinin araştırıldığı bir çalışmada, PAR1 ve PAR2 ifade eden insan kolon kanseri hücre hattı olan HT-29 hücrelerinde, rekombinat KLK4 uygulanmış ve hücre içi  $\text{Ca}^{+2}$ deki değişiklikler izlenmiştir. HT-29 hücrelerinde KLK4'ün PAR1 yoluyla sinyal传递 gösterilmiştir. Western blot analizleri ile yapılan yolak çalışmalarında ise, PAR1 bloke edici antikorların, KLK4'ün kalsiyum geçişleri üzerindeki etkisini tamamen ortadan kaldırdığı ve KLK4 ile indüklenen ERK1/2-MAP kinaz yolunun kalsiyum mobilizasyonu ile indüklenmesi için gerekenden daha az KLK4 konsantrasyonu ile aktivasyonun başladığını gösterilmiştir. Sonuç olarak bu veriler, PAR1 aracılı KLK4 sinyal iletim yolunun kolon tümörijenezinde yeni bir sinyal iletim yolu olabileceğini düşündürmektedir (Gratio vd. 2010).

Kallikrein ailesi üyeleri proteinler, farklı dokular arasında ekspresyon ve fonksiyon açısından büyük farklılıklara sahiptir. Kallikrein ailesi genlerinin farklı kanser türlerinde potansiyel biyobelirteç rolü üzerine yapılan bir çalışmada (Tailor vd. 2018), The Cancer Genome Atlas (TCGA) gen ekspresyon verileri kullanılarak kallikrein ailesinin farklı kanser türlerinde diferansiyel ekspresyonu incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada kallikrein ailesinin (KLK1-15) 15 üyesinin tümü, TCGA'dan alınan gen ekspresyon verileri kullanılarak incelenmiştir. Her kanser türü için ayrıca kontrol örnekleri de kullanılmıştır. Bu çalışmada özellikle KLK4'ün ifadesine bakılan; 66 Kromofob renal hücreli

karsinom örneği ve 25 kontrol örneği ile yapılan analizde KLK4'ün ifadesinin Kromofob renal hücreli karsinomda 234 kat arttığı, bu artış ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) ekspresyonunun artması ile ilişkilendirilmiştir. 1097 meme invaziv karsinom örneği ve 114 kontrol örneğinde KLK4'ün meme invaziv karsinomda aşırı ifade olan tek kallikrein olduğu, prostat adenokarsinomunda ve üreteryal mesane karsinomunda kontrol gruplarına göre sırasıyla 3 kat ve 2 kat arttığı gösterilmiştir. Özofagus karsinomundan da kontrol örneklerine kıyasla ifadesinin 3 kat arttığı, uterus endometriyal kanserde 6 kat ve tiroid karsinomunda ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Tailor vd. 2018).

Yine ameloblast benzeri hücrelere (LS8) sodyum florür (NaF) uygulanarak KLK4 mRNA ve protein seviyesine bakılan bir çalışmada NaF ile muamele edilmiş LS8 hücrelerinde KLK4 mRNA ve protein seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı gösterilmiştir (Li vd. 2022).

Kallikrein ile ilişkili peptidaz ailesinin üyesi olan KLK4'ün yumurtalık kanseri dokusunda, meme kanseri dokusunda, Polimorf adenokarsinom (PAC) dokusunda, aşırı ifadesi olduğu gösterilmiştir. Yüksek KLK protein seviyelerinin sıkılıkla yumurtalık kanseri hastalarının serum ve füzyon sıvılarında da bulunması geçeyle tutarlıdır. Yüksek dereceli seröz yumurtalık kanseri olan 138 hastayı içeren bir deney grubunda, KLK4 tümör dokusu mRNA ekspresyon seviyelerini analiz edildiğinde yaşın yanı sıra asit sıvı hacmininde KLK4 mRNA ekspresyon seviyeleri ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gong vd. 2019).

KLK4, normal ve iyi huylu meme dokularına kıyasla kanserli meme dokularında yukarı regule edildiği gösterilmiştir. Yüksek KLK4 mRNA ve miR-378 ekspresyon seviyelerinin, üçlü negatif meme kanserinde nüks ve hayatı kalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gong vd. 2021).

Polimorf adenokarsinom (PAC), minör tükürük bezlerinin ikinci en sık görülen malign tükürük bezi tümöridür. PAC doku örneklerinde KLK mRNA düzeylerini belirlemek ve KLK ekspresyonunun tümör hücreleriyle sınırlı olup olmadığını anlamak amacıyla 19 vakadan PAC ve normal tükürük bezi dokusu alınarak, KLK1-15'in kantitatif ekspresyon seviyesine bakılan bir çalışmada, yüksek ve düşük KLK ekspresyonu sergileyen numuneler aynı zamanda immünohistokimya boyaması için seçilmiştir. Sonuçlar, normal tükürük bezi dokusu ile karşılaştırıldığında, PAC doku numunelerinde KLK1, KLK4, KLK10, KLK12 ve KLK15 için ortalama KLK mRNA ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir.

İmmünohistokimya sonuçları ise, tümör hücrelerinde KLK'ların bulunduğu ve mRNA ve protein düzeyinde tükürük bezi neoplazisinin KLK profiline önemli ölçüde katkıda bulunduğu göstermiştir (Cox vd. 2021).

KLK4'ün dokulardaki ekspresyon profili için yapılan bir başka çalışmada ise; plasenta, böbrek, kalp, beyin, iskelet kası, dalak, yumurtalık, lökosit, karaciğer, timüs ve pankreasla neredeyse hiç ekspresyonunun görülmemişti bununla birlikte, en yüksek ifadesinin prostatta görüldüğü, testis ve ince bağırsakta ise nispeten yüksek seviyelerde ifadesinin olduğu görülmüştür (Lundwall vd. 2021). Çok sayıda çalışma, KLK4'ün insana ait farklı kanser doku türlerindeki ifadesinin bu kanser türleri için bir anahtar rol oynadığını önermektedir.

Çalışmamızda, qPCR ve western blot analizleriyle, PC-3/LNCaP (insan prostat karsinomu), HEP3B (insan hepatoselüler karsinomu), HT-29/SW480 (insan kolon karsinomu) ve HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücresi) hücrelerinde KLK4 mRNA ve protein seviyeleri ölçülmüştür. LNCaP hücreleri, PC-3 hücrelerinden farklı olarak androjen bağımlı prostat kanseri hücreleridir. LNCaP hücreleri, AR (androjen reseptörü)'nu ifade ederken aynı zamanda PSA'yı da eksprese eder ve büyümeleri, insan prostat adenokarsinomuna benzer şekildedir. PC-3 hücreleri, AR ve PSA'yı eksprese etmez ve proliferasyonu, androjenden bağımsızdır (Tai vd. 2011). Yapılan çalışmalar KLK4'ün androjen bağımlı prostat kanserlerinde ifadesinin arttığını göstermektedir. Çalışmamızda KLK4'ün mRNA ve protein seviyesinde ifadesine baktığımızda diğer hücre hatlarına kıyasla en çok androjen bağımlı LNCaP hücrelerinde ifadesinin arttığı literatürle tutarlı olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda incelenen kolon kanseri hücre hatlarından biri olan HT-29 hücrelerinde, androjen reseptörü ve estrogen reseptörü β anlatımı olduğu bilinmektedir. c-myc, K-ras, H-ras, N-ras, Myb, sis ve fos onkogenlerin ekspresyonu için pozitiftir. p53 proteini mutasyona (R273H) uğramıştır ve p53 geninin kodon 273'ünde bir Arg-His ile sonuçlanan bir G-A mutasyonu vardır. Ayrıca HT-29 hücreleri Dukes C evresi insan kolon adenokarsinomundan türetilmiştir (Gala de Pablo vd. 2018). Çalışmamızda incelenen diğer kolon kanseri SW480 hücreleri, c-myc, K-ras, H-ras, N-ras, myb, sis ve fos onkogenlerin ekspresyonu için pozitiftir. p53 geninin 273. kodonunda bir Arg-His ikamesi ile sonuçlanan bir G-A mutasyonu ve bir Pro-Ser ile sonuçlanan kodon 309'da bir C-T mutasyonu vardır. SW480 hücreleri Dukes B tipi insan kolon adenokarsinomundan türetilmiştir (Rochette vd. 2005). Sonuç olarak farklı özellikte olan HT-

29 ve SW480 kolon kanseri hücrelerinde KLK4'ün mRNA ve protein düzeyindeki ifadesi karşılaştırıldığında HT-29 hücrelerindeki KLK4 ifadesinin SW480 hücrelerine kıyasla hem mRNA hem de protein düzeyinde daha yüksek ifade edildiği tespit edilmiştir. HT-29 hücre hattında tespit edilen artmış KLK4 ifadesinin özellikle Duke B (SW480) ve Duke C (HT-29) olarak sınıflandırılan kolon kanseri evrelerinden elde edilmiş bu hücre hatlarında ilerleyiş basamaklarında KLK4'ün anahtar rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Literatür incelediğinde KLK4'ün sağlıklı hücre hatlarıyla ifadesine yönelik çalışmalar daha çok sağlıklı dokular yönündedir. Normal insan derisinde KLK mRNA ekspresyonunu ve lokalizasyonunu RT-PCR ve *in-situ* hibridizasyon yoluyla yapılan bir çalışmada kantitatif RT-PCR analizi sonucu KLK4'ün mRNA ifadesinin olduğu gösterilmiştir (Komatsu vd. 2003). Sağlıklı dış dokularında da bulunan KLK4, dış emayesinin nihai sertliğine ulaşabilmesi için ekstraselüler matriks proteinlerini parçalama işlevi görür (Christiono ve Anggarani 2021). Bunun dışında sağlıklı böbrek, karaciğer,前列腺, kolon ve akciğer dokularıyla KLK4 immünohistokimya çalışmalarında böbrek, karaciğer ve prostatta immuno yanıt gözlenmiştir (Seiz vd. 2010). Literatürde sağlıklı hücre hattı modeli olarak kullanılan HUVEC (insan umbilikal ven endotel hücresi) hücre hattıyla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda bir serin proteaz olan KLK4'ün HUVEC hücre hattında mRNA ve protein düzeyindeki ifadesinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Normal karaciğer dokusunda ifade edildiği tespit edilen (Seiz vd. 2010) KLK4'ün HEP3B (insan hepatoselüler karsinoma) hücre hattında ifadesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda ilk kez karaciğer kanseri hücre hattı olan HEP3B hücrelerinde KLK4'ün hem mRNA hem de protein düzeyinde ifadesi tespit edilmiştir.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK 118Z369 nolu 1001 projesi ile desteklenmiştir.

Bu çalışma 2018-2022 YÖK 100/2000 ve 2021-2022 Bİ-DEB 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programında bulunan Doktora öğrencisi Fatma POYRAZLI'nın doktora tezinin bir bölümünü kapsamaktadır.

## 6. Kaynaklar

- Avgaris, M., Mavridis K., Scorilas A. 2012. Kallikrein-related peptidases in prostate, breast, and ovarian cancers: from pathobiology to clinical relevance. *Biol. Chem.*, 393, 301-317, DOI: 10.1515/hsz-2011-0260.

- Christiono, S., Anggarani, W. 2021.** The effect of pregnancy milk on the expression of kallikrein related peptidase-4 (KLK-4) and collagen type 1 (Coll-1) in amelogenesis. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)*, 6(2), 126-130.
- Clements, J., Hooper, J., Dong, Y., Harvey, T. 2001.** The expanded human kallikrein (KLK) gene family: genomic organisation, tissue-specific expression and potential functions. *Biol. Chem.*, 382(1), DOI: 10.1515/BC.2001.002.
- Clements, J. A., Willemse, N. M., Myers, S. A., Dong, Y. 2004.** The tissue kallikrein family of serine proteases: functional roles in human disease and potential as clinical biomarkers. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 41(3), 265-312, DOI: 10.1080/10408360490471931.
- Cox, J., Khan, Z., Jackson-Boeters, L., Armstrong, J., Darling, M. 2021.** Human Tissue Kallikreins in Polymorphous Adenocarcinoma: A Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemical Study. *Head Neck Pathol.*, 15(1), 169-178, DOI: 10.1007/s12105-020-01196-2.
- Diamandis, E. P., Yousef, G. M., Clements, J., Ashworth, L. K., Yoshida, S., Egelrud, T., Nelson, P.S., Shiosaka, S., Little, S., Lilja, H., Stenman, U.F., Rittenhouse, H.G., Wain, H. 2000.** New nomenclature for the human tissue kallikrein gene family. *Clin. Chem.*, 46(11), 1855-1858, DOI: 10.1093/clinchem/46.11.1855.
- Dong, Y., Kaushal, A., Bui L., Chu S Fuller, P. J., Nicklin, J., Samaratunga H., Clements, J. A. 2001.** Human Kallikrein 4 (KLK4) Is Highly Expressed in Serous Ovarian Carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 7(8), 2363-2371.
- Emami N., Diamandis E.P. 2008.** Utility of Kallikrein-Related Peptidases (KLKs) as Cancer Biomarkers. *Clin. Chem.*, 54(10), 1600-1607, DOI: 10.1373/clinchem.2008.105189.
- Fuhrman-Luck R.A., Stansfield S.H., Stephens C.R., Loessner D., Clements, J. A. 2016.** Prostate Cancer-Associated Kallikrein-Related Peptidase 4 Activates Matrix Metalloproteinase-1 and Thrombospondin-1. *J. Proteome Res.*, 15(8), 2466-2478, DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b01148.
- Gala de Pablo, J., Armistead, F. J., Peyman, S. A., Bonthon, D., Lones, M., Smith, S., Evans, S. D. 2018.** Biochemical fingerprint of colorectal cancer cell lines using label-free live single-cell Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 49(8), 1323-1332, DOI: 10.1002/jrs.5389.
- Gong, W., Liu, Y., Seidl, C., Dreyer, T., Drecoll, E., Kotzsch, M., Bronger, H., Dorn, J., Magdolen, V. 2019.** Characterization of kallikrein-related peptidase 4 (KLK4) mRNA expression in tumor tissue of advanced high-grade serous ovarian cancer patients. *PLoS one*, 14(2), e0212968, DOI: 10.1371/journal.pone.0212968.
- Gong, W., Zhu, C., Liu, Y., Muckenhuber, A., Bronger, H., Scorilas, A., Kiechle, M., Dorn, J., Magdolen, V., Dreyer T. 2021.** Elevated levels of both microRNA 378 (miR-378) and kallikrein-related peptidase 4 (KLK4) mRNA are associated with an unfavorable prognosis in triple-negative breast cancer. *Am. J. Transl. Res.*, 13(3), 1594-1606.
- Gratio, V., Beaufort, N., Seiz, L., Maier, J., Virca, G. D., Debela, M., Grebenchtchikov N., Magdolen, V., Darmoul, D. 2010.** Kallikrein-related peptidase 4: a new activator of the aberrantly expressed protease-activated receptor 1 in colon cancer cells. *Am. J. Pathol.*, 176(3), 1452-1461, DOI: 10.2353/ajpath.2010.090523.
- Klok, T. I., Kilander, A., Xi, Z., Wæhre, H., Risberg, B., Danielsen, H. E., & Saatcioglu, F. 2007.** Kallikrein 4 is a proliferative factor that is overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res.*, 67(11), 5221-5230, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4728.
- Komatsu, N., Takata, M., Otsuki, N., Toyama, T., Ohka, R., Takehara, K., Saijoh, K. 2003.** Expression and localization of tissue kallikrein mRNAs in human epidermis and appendages. *J. Invest. Dermatol.*, 121(3), 542-549, DOI: 10.1046/j.1523-1747.2003.12363.x.
- Kontos C.K., Scorilas A. 2012.** Kallikrein-related peptidases (KLKs): a gene family of novel cancer biomarkers. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 50(11), 1877-1891, DOI: 10.1515/cclm-2012-0247.
- Korkmaz, S.K., Korkmaz G.C., Pretlow G.T., Saatcioglu F. 2004.** Distinctly Different Gene Structure of KLK4/KLK-L1/Prostase/ARM1 Compared with Other Members of the Kallikrein Family: Intracellular Localization, Alternative cDNA Forms, and Regulation by Multiple Hormones. *DNA Cell Biol.*, DOI: 10.1089/104454901750361497.
- Kraut H., Frey E. K., Werle E. 1930.** Der nachweis eines kreislaufhormons in der pankreasdrüse. Hoppeleyers. *Z. Physiol. Chem.*, 189, 97-106, DOI: 10.1515/bchm2.1930.189.3-4.97.
- Kryza T., Silva L.M., Bock N., Fuhrman-Luck R. A., Stephens C.R., Gao J., Samaratunga H., Lawrence M.G., Hooper J. D., Dong Y., Risbridger G. P. and Clements J.A. 2017.** Kallikrein-related peptidase 4 induces cancer-associated fibroblast features in prostate-derived stromal cells. *Molecular Oncology*, 11, 1307-1329, DOI: 10.1002/1878-0261.12075.
- Lai J., Dong Y., Clements J.A. 2009.** KLK4 (kallikrein-related peptidase 4). *Arias Genet. Cytogenet Oncol. Haematol.*, 13(12), DOI: 10.4267/2042/44638.
- Li, J., Kou, M., Cui, M., Ruan, J., Cheng, Z. 2022.** NaF reduces KLK4 expression by decreasing Foxo1/Runx2 expression in LS8 cells. *Archives of oral biology*, 133, 105311, DOI: 10.1016/j.anchoralbio.2021.105311.

- Livak, K.J., Schmittgen T.D., 2001.** Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 (-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 25 (4), 402–408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- Lundwall, A., Ylitalo, E. B., Wikström, P., Brattsand, M. 2021.** Klk4t2 is a hormonally regulated transcript from the klk4 locus. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(23), 13023, DOI: 10.3390/ijms222313023.
- Lundwalla, Brattsandb M. 2008.** Kallikrein-related peptidases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 65, 2019–2038, DOI: 10.1007/s00018-008-8024-3.
- Majumdar S., Diamandis E.P. 1999.** The promoter and the enhancer region of the KLK 3 (prostate specific antigen) gene is frequently mutated in breast tumours and in breast carcinoma cell lines. *Br. J. Cancer*, 79(9/10), 1594–1602.
- Matsumura, M., Bhatt, A. S., Andress, D., Clegg, N., Takayama, T. K., Craik, C. S., Nelson, P. S. 2005.** Substrates of the prostate-specific serine protease/prostase/KLK4 defined by positional-scanning peptide libraries. *The Prostate*, 62(1), 1-13, DOI: 10.1002/pros.20101.
- Obiezu, C. V., Scorilas, A., Katsaros, D., Massobrio, M., Yousef, G. M., Fracchioli, S., Rigault de la Longrais, I.A., Arisio R., Diamandis, E. P. 2001.** Higher human kallikrein gene 4 (KLK4) expression indicates poor prognosis of ovarian cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 7(8), 2380-2386.
- Rochette, P. J., Bastien, N., Lavoie, J., Guérin, S. L., Drouin, R. 2005.** SW480, a p53 double-mutant cell line retains proficiency for some p53 functions. *J. Mol. Biol.*, 352(1), 44-57, DOI: 10.1016/j.jmb.2005.06.033.
- Tai, S., Sun, Y., Squires, J. M., Zhang, H., Oh, W. K., Liang, C. Z., Huang, J. 2011.** PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *The Prostate*, 71(15), 1668-1679, DOI: 10.1002/pros.21383.
- Tailor, P. D., Kodeboyina, S. K., Bai, S., Patel, N., Sharma, S., Ratnani, A., Copland, J.A., She, J.X., Sharma, A. 2018.** Diagnostic and prognostic biomarker potential of kallikrein family genes in different cancer types. *Oncotarget*, 9(25), 17876-17888., DOI: 10.18632/oncotarget.24947.
- Tefekli A.H. 2012.** Prostat Kanserinde Yeni Belirteçler ve Phi Skoru. *Turk Urol Sem*, 3: 61-9, DOI: 10.5152/tus.2012.11.
- Türkoğlu, S. A., Tosun, S. G., Köçkar, F. 2019.** Farklı Hücre Hatlarında Hipoksik Koşullarda ADAMTS-2 İfadelerinin Değişimi. *AKÜ FEMÜBİD*, 19(1), 22-33, DOI: 10.35414/akufemubid.428822.
- Seiz, L., Kotzsch, M., Grebenchtchikov, N. I., Geurts-Moespot, A. J., Fuessel, S., Goettig, P., Gkazepis, A., Wirth, M.P., Schmitt, M., Lossnitzer, A., Sweep, F.C.G.J., Magdolen, V. 2010.** Polyclonal antibodies against kallikrein-related peptidase 4 (KLK4): immunohistochemical assessment of KLK4 expression in healthy tissues and prostate cancer. *Biol. Chem.*, DOI: 10.1515/bc.2010.033.
- Wang, P., Magdolen, V., Seidl, C., Dorn, J., Drecoll, E., Kotzsch, M., Yang, F., Schmitt, M., Schilling, O., Rockstroh, A., Clements, J.A., Loessner, D. 2018.** Kallikrein-related peptidases 4, 5, 6 and 7 regulate tumour-associated factors in serous ovarian cancer. *Br. J. Cancer*, 119(7), 1-9, DOI: 10.1038/s41416-018-0260-1.
- Werle E. 1934.** Zur Kenntnis des haushalts des Kallikreins. *Biochem. Z.*, 269: 415–34.
- Xi Z., Klokk T.I., Korkmaz K., Kurys P., Elbi C., Risberg B., Danielsen H., Loda M., Saatcioglu F. 2004.** Kallikrein 4 is a Predominantly Nuclear Protein and Is Overexpressed in Prostate Cancer. *Cancer Res.*, 64, 2365–2370, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2025.



# İkincil Enaminon Bileşiklerinin Suda Sentezi ve Karakterizasyonu

*Synthesis and Characterization of Secondary Enaminone Compounds in Water*

Füsün Şeyma Güngör\*

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, İstanbul, Türkiye

## Öz

Enaminon bileşikleri, sentetik organik kimyada çok geniş bir yelpazede uygulama alanına sahiptir. Özellikle son yıllarda, enaminona içeren organik sentezler ve onların katalitik uygulamalara yönelik araştırmalar çokça yapılmıştır. Bu çalışmada da üçüncü enaminoketon ve enaminoester bileşikleri ile aromatik aminlerin  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  katalizörlüğünde su içinde gerçekleştirilen tepkimelerinden yüksek verimle ve kısa sürede ikincil enaminon bileşikleri sentezlenmiştir. Yöntemde tepkimeler su içinde gerçekleştirilmiş olup bir organik çözücüye ihtiyaç duyulmamıştır. Tepkimenin su içinde gerçekleştirilmesi tepkime veriminin artmasına neden olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Enaminon, Katalizör, Kondensasyon, Su, Yeşil sentez

## Abstract

Enaminon compounds have a wide range of applications in synthetic organic chemistry. Especially in recent years, many studies have been conducted on organic syntheses containing enaminone and their catalytic applications. In this study, secondary enaminone compounds were synthesized with high yield and in a short time from the reactions of tertiary enaminoketone and enaminoester compounds and aromatic amines in water with  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  as a catalyst. In the method, the reactions were carried out in the water and an organic solvent was not needed. Performing the reaction in water resulted in increased reaction yield.

**Keywords:** Enaminone, Catalyst, Condensation, Water, Green synthesis

## 1. Giriş

Enaminon bileşikleri organik sentezde önemli bir yere sahiptir. Taksol, peptidler ve amino alkoller gibi biyolojik olarak aktif bileşikler için ara ürün olarak kullanılırlar. Enaminonların en büyük avantajı fizyolojik pH koşullarında kararlı olmaları ve düşük toksisiteye sahip olmalarıdır (Zhang vd. 2012). Kolaylıkla elde edilebilen bu çok yönlü bileşiklerde molekülün kendi içinde iki adet elektronca eksik merkezi ve bir adet elektronca zengin merkezi olduğundan hem elektrofillerle hem de nükleofillerle kolaylıkla tepkimeye girebilir (Şekil 1). Enaminonlar halkalı ya da açık zincirli olarak sınıflandırılabilir. Birincil ve ikincil asiklik enaminonlar farklı tautomer formlarında bulunabilir (Şekil 1) (Kascheres 2003).

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: gungorfus@itu.edu.tr

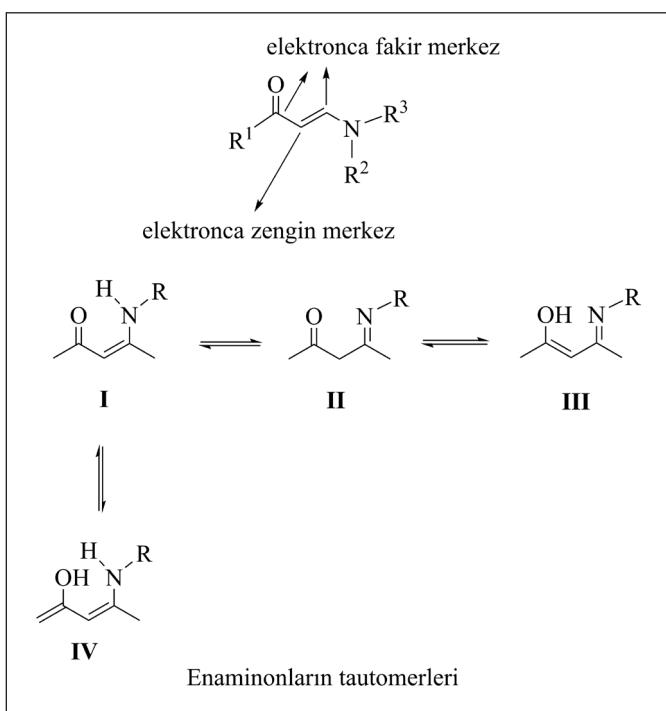
Füsün Şeyma Güngör orcid.org/0000-0003-0870-4048



Bu eser "Creative Commons Ahıtu-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

Günümüzde enaminon bileşiklerini elde etmek için çok farklı sentez yöntemleri mevcuttur. Bu yöntemlerden bir tanesi aromatik hidrokarbonlar ile dialkilamino dimetil asetallerin çözücsüz ortamındaki veya etanol, dietileter, toluen, dimetil formamid gibi çözüçüler içerisinde azot ortamında kondensasyonudur (Reidlunger vd. 1998, Al-Omrان vd. 2001, Lue ve Greenhill 1997, Al-Omrان vd. 1998, Caubere vd. 1994, Reis vd. 1994, Selic vd. 1997, Svete vd. 1997, Zupancic vd. 2001, Hedge ve Jones 1993, San Martin vd. 1994). Hem halkalı hem de açık zincirli aktif metilen ketonlardan bu yönteme farklı yapılara sahip enaminonlar elde edilebilir (Schuda vd. 1986). Bir başka klasik enaminon sentez yöntemi,  $\alpha$ ,  $\beta$ -konjuge alkin bileşiklerine amin katılmasıdır. Birincil aminlerin elektronca fakir alkin bileşiklerine katılması yoluyla farklı yapılara sahip enaminonlar sentezlenmiştir (Hedge ve Jones 1993, Huisgen vd. 1966, Yang vd. 2010, Um vd. 2005, Thorwirth ve Stolle 2011).

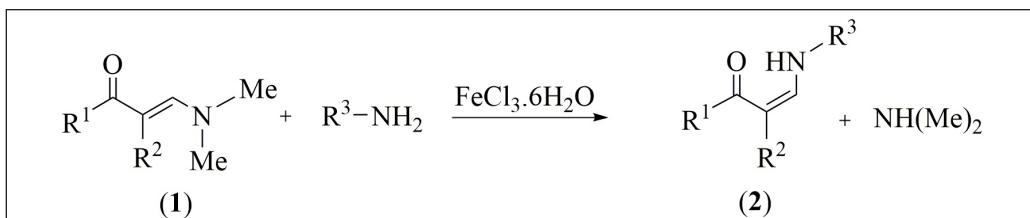
Klasik organik sentez yöntemlerinden farklı olarak da enaminon bileşiklerinin sentezi mümkündür (Stefani vd. 2000, Govindh vd. 2012, Liu vd. 2013, Olyaei vd. 2021).



Şekil 1. Enaminon bileşiklerinin yapısı.

Bu yöntemlerden biri olan yeşil sentez yönteminde (Liu vd. 2013), enaminonlar sulu ortamda ve yüksek verimlerle elde edilmiştir. Bu yeşil senteze Lewis asitleri ve aynı zamanda Bronsted asitleri olan çok çeşitli katalizörleri de kullanarak denemeler yapılmıştır.

Daha önceki çalışmalarımızda, bakır katalizör kullanarak enaminonlar ile elektronca fakir karbenlerin tepkimeleri sonucu çok çeşitli ve ilgi çekici heterosiklik bileşikleri yüksek verimlerle sentezlemiştir (Gungor vd. 2007, 2011, 2013). Atfedilen çalışmalarımızda çıkış bileşiği olarak kullandığımız enaminonlar organik çözücü içinde ısı varlığında kondenzasyon tepkimeleriyle elde edilmiştir. Bu çalışmada ise daha önce kullandığımız yöntemden farklı olarak Liu vd.'nin 2013 yılındaki çalışması temel alınarak Z-konformasyonuna sahip ikincil enaminonlar sentezlenmiştir (Şekil 2, Çizelge 1).



Şekil 2. İkincil enaminonların suda sentezi.

Çizelge 1. İkincil enaminonların FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O katalizörlüğünde suda sentezi

Entry	1		R <sup>3</sup> NH <sub>2</sub>	2			Tepkime süresi (saat)	Verim (%)
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>		
a	Ph	H	Ph	Ph	H	Ph	3	98
b	Ph	H	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -p-Me	Ph	H	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -p-Me	1	95
c	Ph	H	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -p-NO <sub>2</sub>	Ph	H	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -p-NO <sub>2</sub>	3	90
d	Ph	H	CH <sub>2</sub> Ph	Ph	H	CH <sub>2</sub> Ph	1	90
e	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -m-NO <sub>2</sub>	H	Ph	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -m-NO <sub>2</sub>	H	Ph	4	81
f	OEt	H	Ph	OEt	H	Ph	8	62
g	$R^1-R^2 =$		Ph	$R^1-R^2 =$		Ph	1,5	92
h	$R^1-R^2 =$		Ph	$R^1-R^2 =$		Ph	2	88

## 2. Gereç ve Yöntem

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma Aldrich firmasından satın alınmıştır. Yapılan  $^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR analizleri Bruker AC 250/60 MHz ve Agilent VNMRS 500/125 MHz cihazlarında TMS iç standart kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kaymalar ( $\delta$ ) ppm olarak verilmiştir. Sinyallerin yarılmalarında s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), p (pentet), m (multiplet) ve bs (broad singlet) olarak gösterilmiştir. GC analizlerinde Agilent 6850 cihazına bağlı HP-1 kapiler kolon kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 100°C'de 5 dakika izotermal, dakikada 20°C hız ile 290°C'de 10 dakika izotermaldir. Alıkonma zamanları ( $t_{\text{R}}$ ) dakika cinsinden verilmiştir. GC-MS analizleri için Thermo Finnigan trace dsq cihazında %5 fenil polifenilen-silosan kapiler kolonu ve FID kullanılarak helyum taşıyıcı gazıyla yapılmıştır.

### 2.1. Klasik Yöntemle (E)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (1a) Sentezi (Greenhill 1977)

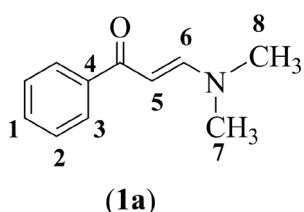
Asetofenon (8.9 g, 74 mmol) ve dimetilformamid dimetil asetal (20 mL) karışımı 120°C'de iki saat süreyle kaynatılır. Karışım vakumda konsantre edildiğinde sarı katılar oluşur. Katılar soğuk heksan ile yıkanır ve kurutulur.

### 2.2. İkincil Enaminon Sentezi

25 mL'lik balona üçüncü enaminon (1) (0.3 mmol), birincil amine (0.3 mmol), %20 mol  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ve 1.5 mL su eklendi. Balon oda sıcaklığında tepkime tamamlanana kadar karıştırlı. Tepkimenin tamamlanması TLC ile takip edildi. Tepkime tamamlandıktan sonra karışımı 5 mL su eklendi. Etil asetat ile ekstraksiyon işlemi yapıldı (3 x 10 mL). Organik fazlar birleştirildi, susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ile kurutuldu. Etil asetat döner buharlaştırıcıda buharlaştırıldı. Katı elde edilen ürünler kristallendirilerek sıvı elde edilen ürünler ise kromatografi ile saflaştırıldı.

## 3. Bulgular

### 3.1. (E)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (1a)

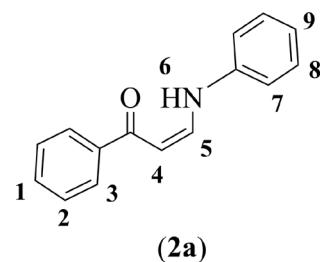


Bölüm 2.1'deki prosedür kullanılarak 1a %75 verimle elde edildi;  $t_{\text{R}}$ : 12.07; EI-MS (m/z): 175 ( $\text{M}^+$ , 49), 158 (100), 105

(21), 98 (64), 77 (21);  $^1\text{H}$  NMR (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.88 (bozuk dd,  $J = 9.8/2.5$  Hz, 2H, Ar-H), 7.82 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H, H-6), 7.44-7.34 (m, 3H, Ar-H), 5.70 (d,  $J = 12.4$  Hz, 1H, H-5), 3.11 (geniş s, 3H, H-7), 2.91 (geniş s, 3H, H-8).

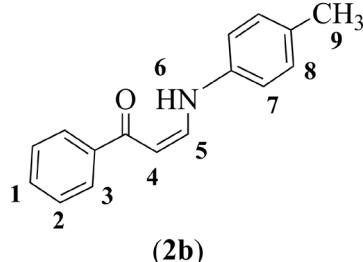
### 3.2. Sentezlenen İkincil Enaminonlar

#### 3.2.1 (Z)-1-Fenil-3-(fenilamino)prop-2-en-1-on sentezi (2a)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak (E)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (1a) ve anilinin tepkimesinden sentezlendi. Tepkimeden elde edilen katı heksandan kristallendirildi. Sarı renkli kristaller elde edildi. Erime noktası: 127 – 132 °C;  $t_{\text{R}}$ : 13.0; EI-MS (m/z): 223 ( $\text{M}^+$ , 11), 146 (25), 118 (12), 105 (100), 77 (20);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.16 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H, H-6), 7.95 (dubletin bozuk tripleti,  $J = 7.4/1.2$  Hz, 2H, Ar-H), 7.55 (dd,  $J = 12.2/7.9$  Hz, 1H, H-5), 7.51 – 7.45 (m, 3H, Ar-H), 7.37 (dd,  $J = 8.3/7.4$  Hz, 2H, Ar-H), 7.13 (dd,  $J = 8.3/1$  Hz, 2H, Ar-H), 7.10 (bozuk triplet,  $J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 6.05 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H, H-4);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  190.4 (C=O), 145.0 (C-5), 140.8 (C<sub>Ar</sub>-NH), 139.5 (C<sub>Ar</sub>-C=O), 133.1 (C<sub>Ar</sub>), 130.5 (C<sub>Ar</sub>), 129.9 (C<sub>Ar</sub>), 128.4 (C<sub>Ar</sub>), 127.9 (C<sub>Ar</sub>), 115.8 (C<sub>Ar</sub>), 94.8 (C-4).

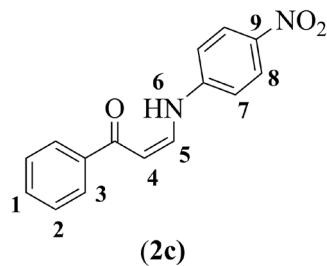
#### 3.2.2 (Z)-1-Fenil-3-(p-tolilamino)prop-2-en-1-on sentezi (2b)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak (E)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (1a) ve *p*-toluidinin tepkimesinden sentezlendi. Ham katı karışım heksandan kristallendirildi. Koyu sarı renkli katı elde edildi. Erime noktası: 153 – 154 °C;  $t_{\text{R}}$ : 13.5; EI-MS (m/z): 237 ( $\text{M}^+$ , 11), 132 (100), 105 (92), 91 (62), 77 (43);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.16 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H, H-6), 7.90 (dubletin bozuk tripleti,  $J$

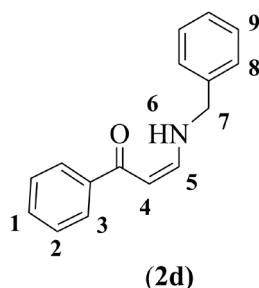
= 7.6/1.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, *H*-5), 7.51 – 7.45 (m, 3H, Ar-H), 7.17 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, *H*-7), 7.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, *H*-8), 6.01 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, *H*-4), 2.34 (s, 3H, *H*-9); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 190.2 (C=O), 145.1 (C-5), 138.5 (C<sub>Ar</sub>-NH), 137.6 (C<sub>Ar</sub>), 133.2 (C<sub>Ar</sub>), 131.0 (C<sub>Ar</sub>), 129.9 (C<sub>Ar</sub>), 128.1 (C<sub>Ar</sub>), 128.0 (C<sub>Ar</sub>), 115.4 (C<sub>Ar</sub>), 92.8 (C-4), 20.7 (C-9).

### 3.2.3 (*Z*)-3-((4-Nitrofenil)amino)1-fenilprop-2-en-1-on sentezi (2c)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak (*E*)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1a**) ve 4-nitroanilinin tepkimesinden sentezlendi. Ham katı karışım heksan-benzen ikili karışımından kristallendirildi. Koyu kahve renkli katı elde edildi. Erime noktası: 180 – 182 °C; *t*<sub>R</sub>: 13.8; EI-MS (m/z): 268 (M<sup>+</sup>, 5), 222 (32), 146 (100), 137 (12), 105 (80), 91 (57), 77 (35); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.28 (bs, 1H, *H*-6), 8.26 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, *H*-8), 7.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, *H*-3), 7.57 – 7.48 (m, 4H, *H*-1, *H*-7, *H*-5), 7.17 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, *H*-2), 6.22 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, *H*-4); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 189.9 (C=O), 141.6 (C-5), 139.5 (C<sub>Ar</sub>), 139.4 (C<sub>Ar</sub>), 132.1 (C<sub>Ar</sub>), 129.5 (C<sub>Ar</sub>), 127.9 (C<sub>Ar</sub>), 126.5 (C<sub>Ar</sub>), 115.1 (C<sub>Ar</sub>), 97.4 (C-4).

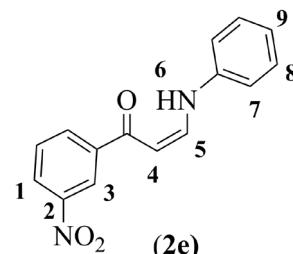
### 3.2.4 (*Z*)-3-(benzilamino)-1-fenil-prop-2-en-1-on sentezi (2d)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak (*E*)-3-(dimetilamino)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1a**) ve benzilaminin tepkimesinden sentezlendi. Ham katı karışım heksandan kristallendirildi. Açık sarı renkli toz katı elde edildi. Erime noktası: 67 – 70 °C; *t*<sub>R</sub>: 13.6; EI-MS (m/z): 237 (M<sup>+</sup>, 2), 146 (85), 135 (24),

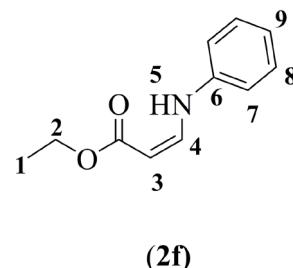
106 (37), 105 (28), 91 (100), 77 (56); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.62 (bs, 1H, *H*-6), 7.90 (dubletin bozuk tripleti, *J* = 6.9/1.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.48 – 7.36 (m, 5H, Ar-H), 7.33 – 7.30 (m, 3H, Ar-H), 7.03 (dd, *J* = 12.7/7.3 Hz, 1H, *H*-5), 5.79 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, *H*-4), 4.48 (d, *J* = 6 Hz, 2H, *H*-7); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 186.2 (C=O), 134.5 (C<sub>Ar</sub>), 134.4 (C<sub>Ar</sub>), 133.6 (C-5), 130.2 (C<sub>Ar</sub>), 128.8 (C<sub>Ar</sub>), 128.6 (C<sub>Ar</sub>), 128.5 (C<sub>Ar</sub>), 128.2 (C<sub>Ar</sub>), 110.0 (C-4), 53.4 (C-7).

### 3.2.5 (*Z*)-1-(3-Nitrofenil)-3-(fenilamino)prop-2-en-1-on sentezi (2e)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak (*E*)-3-(dimetilamino)-1-(3-nitrofenil)prop-2-en-1-on (**1e**) ile anilinin tepkimesinden sentezlendi. Kahve renkli toz katı elde edildi. Erime noktası: 145 – 147 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.22 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H, *H*-6), 8.77 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, *H*-3), 8.37 – 8.35 (m, 1H, *H*-1), 7.66 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (dd, *J* = 7.7/2.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.63 – 7.61 (m, 1H, Ar-H), 7.41 – 7.38 (m, 2H, Ar-H), 7.17 – 7.15 (m, 3H, Ar-H ve *H*-5), 6.06 (dd, *J* = 7.7/2.2 Hz, 1H, *H*-4); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 190.2 (C=O), 144.8 (C-2), 141.3 (C-5), 138.6 (C<sub>Ar</sub>), 130.9 (C<sub>Ar</sub>), 130.5 (C<sub>Ar</sub>), 129.9 (C<sub>Ar</sub>), 129.2 (C<sub>Ar</sub>), 127.1 (C<sub>Ar</sub>), 125.2 (C<sub>Ar</sub>), 121.9 (C<sub>Ar</sub>), 116.4 (C<sub>Ar</sub>), 92.8 (C-4).

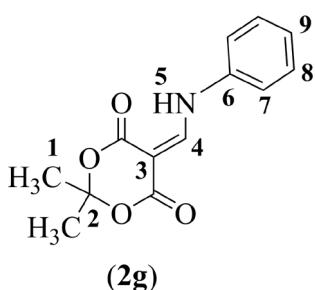
### 3.2.6 Etil (*Z*)-3-(fenilamino)akrilat sentezi (2f)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak etil (*E*)-3-(dimetilamino)akrilat (**1f**) ile anilinin tepkimesinden sentezlendi. Ham tepkime karışımında ürün ve çıkış bileşигinin (**1f**) karışımı olduğu görüldü. Çıkış bileşigi düşük basınçta vakum damıtması ile uzaklaştırıldı ve ürün koyu kahve renkli yağ halinde elde edildi. *t*<sub>R</sub>: 11.4; EI-MS (m/z): 191

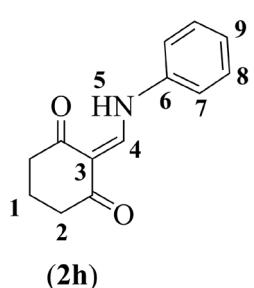
(M<sup>+</sup>, 8), 162 (25), 146 (100), 118 (14), 92 (35), 77 (60), 73 (14); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.72 (d, J = 13.1 Hz, 1H, H-5), 7.70 (d, J = 13.2 Hz, 1H, H-4), 7.31 – 7.28 (m, 2H, H-8), 7.06 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H-9), 7.01 (d, J = 7.7 Hz, 2H, H-7), 4.78 (bs, 1H, H-3), 4.27 (q, J = 7.2 Hz, 2H, H-2), 1.34 (t, J = 7.2 Hz, 3H, H-1); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.4 (C=O), 142.4 (C-4), 139.3 (C-6), 129.8 (C-9), 124.3 (C-8), 116.5 (C-7), 98.5 (C-3), 60.4 (C-2), 14.4 (C-1).

### 3.2.7 2,2-Dimetil-5-((fenilamino)methilen)-1,3-dioksan-4,6-dion (2g)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak 5-((dimetilamino)methilen)-2,2-dimetil-1,3-dioksan-4,6-dion (**1g**) ile anilinin tepkimesinden sentezlendi. Heksandan kristallendirildi. *t*<sub>R</sub>: 11.8; EI-MS (m/z): 247 (M<sup>+</sup>, 1), 145 (100), 117 (75), 90 (95), 58 (14), 50 (8); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11.3 (d, J = 13.3 Hz, 1H, H-5), 8.65 (d, J = 14.7 Hz, 1H, H-4), 7.45 (t, J = 7.8 Hz, 2H, H-8), 7.28 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H-9), 7.26 (d, J = 7.8 Hz, 2H, H-7), 1.76 (s, 6H, H-1); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.6 (C=O), 163.5 (C=O), 152.6 (C-4), 137.8 (C-6), 130.1 (C-8), 126.9 (C-9), 118.0 (C-7), 105.2 (C-2), 87.3 (C-3), 27.1 (C-1).

### 3.2.8 2-((Fenilamino)methilen)sikloheksan-1,3-dion (2h)



Bölüm 2.2'deki prosedür kullanılarak 2-((dimetilamino)methilen)sikloheksan-1,3-dion (**1h**) ile anilinin tepkimesinden sentezlenmiştir. Heksandan kristallendirildi. Beyaz toz katı elde edilmiştir. *t*<sub>R</sub>: 12.7; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.9 (bs, 1H, H-5), 8.62 (d, J = 13.7 Hz, 1H, H-4), 7.39 (dt, J = 7.7 Hz, 2H, H-7), 7.25 – 7.20 (m, 3H, H-8, H-9), 2.54 (p, J = 6.3 Hz, 4H, H-2), 2.01 (p, J = 6.4 Hz, 2H, H-1); <sup>13</sup>C NMR

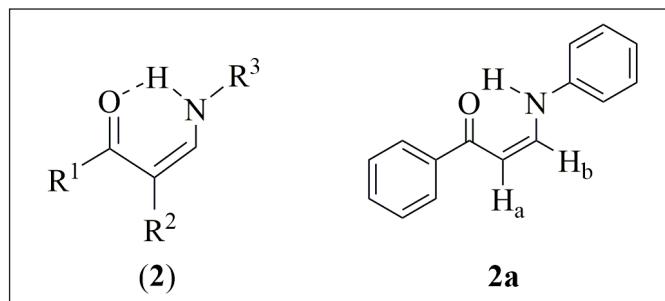
(CDCl<sub>3</sub>) δ 194.2 (C=O), 194.0 (C=O), 151.6 (C-4), 138.4 (C-6), 129.5 (C<sub>Ar</sub>), 125.2 (C<sub>Ar</sub>), 117.3 (C<sub>Ar</sub>), 113.1 (C-3), 37.9 (C-2), 37.6 (C-2'), 19.3 (C-1).

## 4. Sonuçlar ve Tartışma

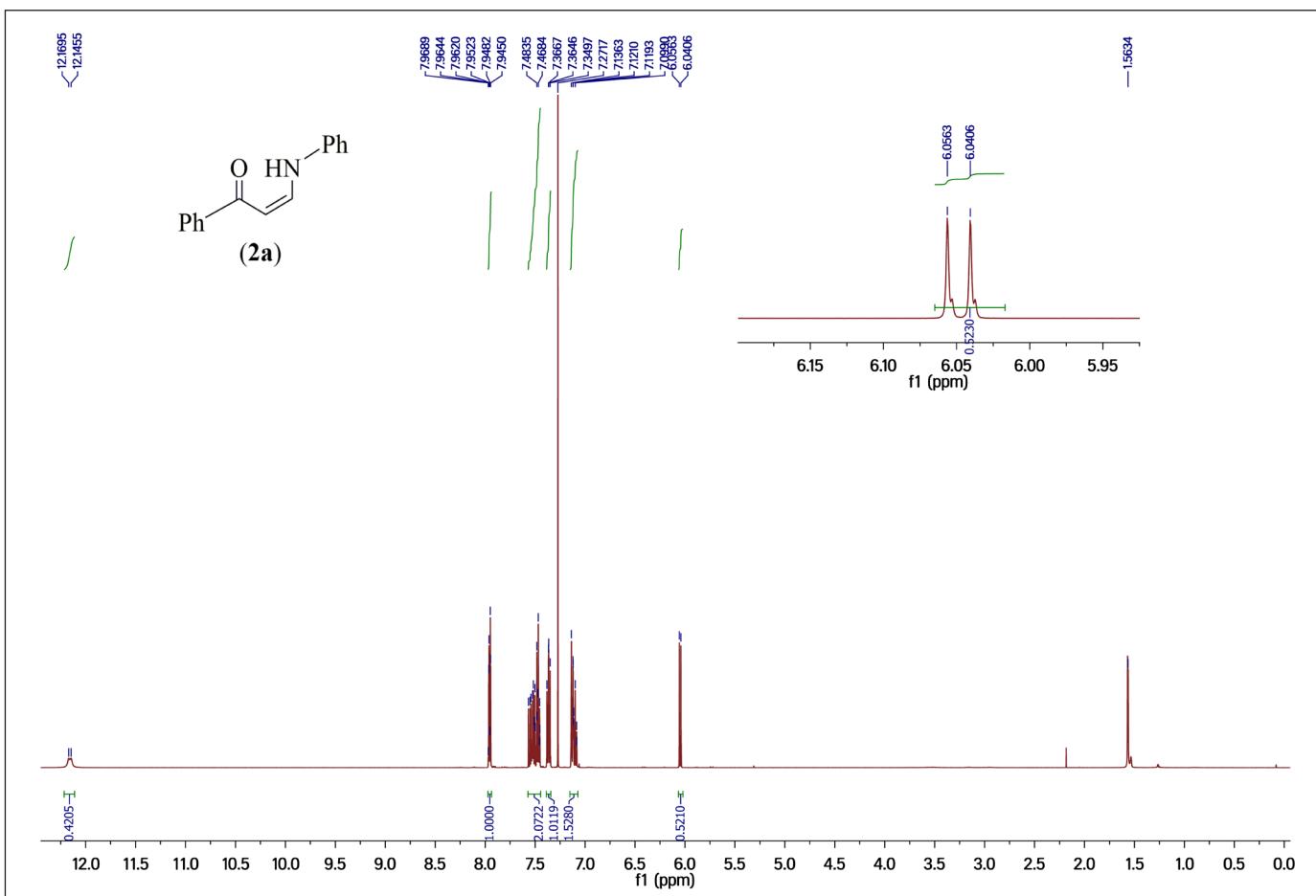
Bu çalışmada, (*E*)-*N,N*-disübstiyü enaminonlar ile biringil aminlerin su varlığında ve FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O katalizörliğinde tepkimeleri gerçekleştirilerek hedeflenen ikincil (*N*-sübstiyü) enaminon bileşikleri elde edilmiştir. Tepkimeler daha önce literatürde var olan Greenhill 1977, San Martin vd. 1994, Kascheres 2003, Thorwirth ve Stolle 2011 ve Zhang vd. 2012'de yapılmış çalışmaların koşullardan farklı olarak sulu ortamda 1-8 saat süre aralığında gerçekleştirilmiştir. Gerekli ayırma işlemleri yapıldıktan sonra kolaylıkla elde edilen katı ham ürünler, kristallendirme yoluyla saflaştırılmıştır.

Liu vd. 2013'de yapmış olduğu çalışmasındaki deney koşulları temel alınarak gerçekleştirilen sentezlerde göreceli olarak daha yüksek verimlerle ürünler elde edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada (Liu vd. 2013) sadece aril grubu olan enaminonlar sentezlerde kullanılmış olup alifatik enaminon ile tepkimelerin gerçekleşmediği belirtilmiştir. Ancak bu çalışmada, enaminondaki aril grubunun ester grubu ile yer değiştirilmesiyle de ürünün (**2f**) olduğu gözlenmiştir. Oluşan ürün (**2f**) %62 verimle elde edilmiştir. Aynı tepkimede, aril grubu aldehit grubu ile değiştirilip yapıldığında tepkimenin gerçekleşmediği gözlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca halkalı alifatik gruplarla da deneyler yapılmıştır ve ürünler (**2g** ve **2h**) yüksek verimlerle elde edilmiştir.

**2g** ve **2h** bileşikleri dışında sentezlenen ikincil enaminonlar (*Z*)-izomeridir (Şekil 3). Bileşiklerin (*Z*)-izomeri oldukları <sup>1</sup>H NMR spektrumundaki çift bağ protonlarının üç bağ üzerinden eşleşme sabitlerinden anlaşılmaktadır. Örneğin, Şekil 3'de gösterilen **2a** bileşiğinde H<sub>a</sub> ve H<sub>b</sub> protonlarının (δ 6.05 ile 7.56, sırasıyla) birbiriyile eşleşme sabiti (*3J*<sub>cis</sub>) 7.85 Hz'dır (Şekil 4). Ayrıca azot atomu üzerindeki hidrojen ile



Şekil 3. (*Z*)-Enaminonların gösterimi.



**Şekil 4.** 2a bileşiginin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu.

karbonil grubunun oksijeni molekül içi hidrojen köprüsü yaptığından yapılar kararlılık kazanmaktadır.

2g ve 2h bileşiklerinde yapılarındaki simetri nedeniyle böyle bir izomerleşmenin olamayacağı açıklıdır. Tüm sentezlenen bileşiklerin yapılarıyla NMR spektrasi uyumludur.

Sonuç olarak, çalışmamızda sekiz adet ikincil enaminonların sentezleri  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  katalizörlüğünde suda gerçekleştirılmıştır. Tepkimelerin yüksek verimlerle gerçekleştiği gözlenmiştir. Elde edilen ürünlerin yapıları spektroskopik teknikler ile kanıtlanmıştır.

## 5. Kaynaklar

**Al-Omran, A-ZA., Elassar, A., El-Khair, A.** 2001. Synthesis of condensed heteroaromatics: a novel synthesis of aminoquinolinizone derivatives as anti-HIV agents. *Tetrahedron*, 57:10163-10170. Doi: 10.1016/S0040-4020(01)01039-0

**Al-Omran, F., El-Khair, AA., Elnagdi, MH.** 1998. Studies with polyfunctionally substituted heteroaromatics: a novel synthesis of substituted 4,8-diaminoisoquinolines as potential antiparasitic agents. *J. Chem. Res. (S)*, 798-799. Doi: 10.1039/A804639E

**Caubere, C., Caubere, P., Ianelli, S., Nardelli, M., Jamart-Gregoire, B.** 1994. Aggregative activation and heterocyclic chemistry I complex bases promoted arynic cyclisation of imine or enaminoketones; regiochemical synthesis of indoles. *Tetrahedron*, 50:11903-11920. Doi: 10.1016/S0040-4020(01)89304-2

**Govindh, B., Diwakar, BS., Murthy, YLN,** 2012. A brief review on synthesis and applications of  $\beta$ -enamino carbonyl compounds. *Org. Commun.*, 3: 105-119. Doi: N/A

**Greenhill, JV.** 1977. Enaminones. *Chem. Soc. Rev.*, 6:277-294. Doi: 10.1039/CS9770600277

**Gungor, FS., Anac, O., Sezer, O.** 2007. Observations on the copper(II) catalyzed reactions of enaminones and dimethyl diazomalonate. *Tetrahedron Lett.*, 48:4883-4886. Doi: 10.1016/j.tetlet.2007.05.063

- Gungor, FS., Anac, O., Sezer, O.** 2011. Synthesis of the naphthalenone, dihydroquinoline, and dihydrafuran derivatives. *Helv. Chim. Acta*, 94:1115-1129. Doi: 10.1002/hlca.201000386
- Gungor, FS., Hancioğlu, N., Anac, O.** 2013. Reactions of enaminones with diazocarbonyl compounds. *Helv. Chim. Acta*, 96:488-493. Doi: 10.1002/hlca.201200233
- Hegde, SG., Jones, CR.** 1993. Synthesis of 1,6-dihydro-5-hydroxy-6-oxo-3-(trifluoromethyl)-4-pyridazinecarboxylates. *J. Heterocycl. Chem.*, 30:1501-1508. Doi: 10.1002/jhet.5570300607
- Huisgen, R., Herbig, K., Siegel, K., Huber, H.** 1966. Die addukte primärer und sekundärer amine an carbonester der acetylenreihe und ihre konfiguration. *Chem. Ber.*, 99:2526-2545. Doi: 10.1002/cber.19660990820
- Kascheres, CM.** 2003. The chemistry of enaminones, diazocarbonyls and small rings: our contribution. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14:945-969. Doi: 10.1590/S0103-50532003000600012
- Liu, Y., Zhou, R., Wan, J-P.** 2013. Water-promoted synthesis of enaminones: mechanism investigation and application in multicomponent reactions. *Synth. Commun.*, 43:2475-2483. Doi: 10.1080/00397911.2012.715712
- Lue, P., Greenhill, JV.** 1997. Enaminones in heterocyclic synthesis. *Adv. Heterocycl. Chem.* Alan Katritzky [ed], e-book, Academic press, 67, pp-207-343. ISBN: 9780080576541
- Olyaei,A., Mohamadi,A., Rahmani,N.** 2021. Green synthesis of new lawsone enaminones and their Z/E(C=C)-isomerization induced by organic solvent. *RSC Advances*, 11:12990-12994. Doi: 10.1039/D1RA01858B
- Reidlinger, C. Dworzak, R., Junk, H.** 1998. Cyanoacetophenone as a synthon for 1,4,5-substituted pyrazoles. *Monatsh. Chem.*, 129:1207-1211. Doi: 10.1007/PL00010132
- Reis, LV., Lobo, AM., Prabhakar, S.** 1994. Enehydroxylamines as versatile compounds in 3,3-sigmatropic rearrangements. *Tetrahedron Lett.*, 35:2747-2750. Doi: 10.1016/S0040-4039(00)77022-5
- San Martin, R., de Marigorta, EM., Dominguez, E.** 1994. A convenient alternative route to  $\beta$ -aminoketones. *Tetrahedron*, 50:2255-2264. Doi: 10.1016/S0040-4020(01)85083-3
- Schuda, PF., Ebner, CB., Morgan, TM.** 1986. The synthesis of mannich bases from ketones and esters via enaminones. *Tetrahedron Lett.*, 27:2567-2570. Doi: 10.1016/S0040-4039(00)84586-4
- Selic, L., Grdadolnik, SG., Stanovnik, B.** 1997. Methyl and phenylmethyl 2-acetyl-3-prop-2-enoate in the synthesis of heterocyclic systems: preparation of 3-amino-4H-[1,2-a] pyrimidin-4-ones. *Helv. Chim. Acta*, 80:2418-2425. Doi: 10.1002/hlca.19970800811
- Stefani, HA., Costa, IM., de OSilva, D.** 2000. An easy synthesis of enaminones in water as solvent. *Synthesis*, 11:1526-1528. Doi: 10.1055/s-2000-7608.
- Svete, J., Aljaz-Rozic, M., Stanovnik, B** 1997. 2-Benzoyl-2-ethoxycarbonylvinyl-1 and 2-benzoylamino-2-methoxy-carbonylvinyl-1 as *N*-protecting groups in peptide synthesis. Their application in the synthesis of dehydropeptide derivatives containing *N*-terminal 3-heteroaryl amino-2,3-dehydroalanine. *J. Heterocycl. Chem.*, 34:177-193. Doi: 10.1002/jhet.5570340128
- Thorwirth, R., Stolle, A.** 2011. Solvent-free synthesis of enamines from alkyl esters of propionic or but-2-yne dicarboxylic acid in a ball mill. *Synlett*, 2200-2202. Doi: 10.1055/s-0030-1261179
- Um, I-H., Lee, E-J., Seok, J-A., Kim, KH.** 2005. The  $\alpha$ -effect in reactions of sp-hybridized carbon atom: Michael type reactions of 1-aryl-2-propyn-1-ones with primary amines. *J. Org. Chem.*, 70:7530-2536. Doi: 10.1021/jo050624t
- Yang, J., Wang, C., Xie, X., Li, H., Li, Y.** 2010. Acid-catalyzed cascade reactions enaminones with aldehydes: C-H functionalization to afford 1,4-dihydropyridines. *Eur. J. Org. Chem.*, 4189-4193. Doi: 10.1002/ejoc.201000607
- Zhang, M., Abdukader, A., Fu, Y., Zhu, C.** 2012. Efficient synthesis of  $\beta$ -enaminones and  $\beta$ -enaminoesters catalyzed by gold (I)/silver (I) under solvent-free conditions. *Molecules*, 17:2812-2822. Doi: 10.3390/molecules17032812
- Zupancic, S., Svete, J., Stanovnik, B.** 2001. Synthesis and transformations of alkyl 1,5-bis(dimethylamino)-3-oxopenta-1,4-diene-2,4-dicarboxylates. A simple synthesis of dialkyl 1-substituted 4-oxo-1,4-dihydropyridine3,5-dicarboxylates. *Heterocycl.*, 53:2033-2042. Doi: 10.3987/COM-00-8944



# Pulse Detection Using Sub-Optimal Detectors Under Additive non-Gaussian Noise Having Unknown Level of Impulsiveness

*Bilinmeyen Dürtüselliğe Sahip Toplamsal Gauss Olmayan Gürültü Altında Alt-Optimal Seziciler Kullanarak Darbe Sezimi*

Mehmet Emre Cek\* Eda Dinc

Dokuz Eylül University, Faculty of Engineering, Department of Electrical and Electronics Engineering, İzmir, Turkey

## Abstract

In this study, real time rectangular pulse detection problem is addressed when the channel noise distribution is not known in advance. Since there is no information about the noise parameters, sub-optimal detectors such as soft limiter, sign correlator and the proposed signed power are utilized for real time pulse detection problem using only received noisy samples. Noting that the unknown channel noise is not necessarily to be Gaussian, symmetric  $\alpha$ -stable (S $\alpha$ S) distribution is given as non-Gaussian noise model. Since one of the main objectives is to detect the existent pulse within minimum observation interval, detector performances characterized by detection and false alarm probabilities are analyzed with respect to pulse length under both Gaussian and S $\alpha$ S noise. It is shown that not only the given sub-optimal detectors can exhibit performance close to optimal linear detector under Gaussian noise, but also they provide superior performance under S $\alpha$ S distribution. When the channel has strong impulsiveness, it is observed that the sign correlator and signed power detector introduced in this study exhibit better detection performance compared with soft limiter detector. Consequently, these detectors can be practically implemented to determine existence of pulse within a certain observation interval when there is no prior information about channel noise which is most likely non-Gaussian. Among the other sub-optimal detectors, the proposed signed-power detector is observed to exhibit more stable detection performance under channel noise having varying impulsiveness.

**Keywords:** Binary hypothesis testing, Non-Gaussian noise, Probability of detection, Probability of false alarm, Sign correlator detector, Signed power detector, Soft limiter detector

## Öz

Bu çalışmada, kanaldaki gürültünün dağılımı önceden bilinmiyorken gerçek zamanlı dikdörtgensel darbe algılama problemi ele alınmaktadır. Gürültü parametreleri hakkında bilgi olmadığından, sadece alınan gürültülü örnekleri kullanan yumuşak kırıcı, işaret iletileyici ve önerilen işaretli güç sezicisi gibi alt-optimal algılayıcılarından gerçek zamanlı darbe sezim problemi için faydalанılır. Bilinmeyen kanal gürültüsünün Gauss olmasının gerekliliğini dikkate alarak, simetrik  $\alpha$ -kararlı (S $\alpha$ S) dağılım Gauss olmayan gürültü modeli olarak verilmektedir. Ana amaçlardan birisi mevcut darbenin minimum gözlem aralığında sezilmesi olduğundan, sezim ve yanlış alarm olasılığı ile tanımlanan sezici başarımı Gauss ve dürtüsель davranış gösteren S $\alpha$ S dağılım altında darbe uzunluğununa göre analiz edilmektedir. Verilen alt-optimal sezicilerin, Gauss dağılım altında optimal doğrusal seziciye yakın başarım sergilemeyece kalmayıp S $\alpha$ S dağılım altında üstün başarım sağladığı gösterilmektedir. Kanal gürültüsü kuvvetli dürtüselliğe sahip olduğunda işaret iletileyici ve bu çalışmada tanıtılan işaretli güç sezicisinin yumuşak kırıcı seziciye kıyasla daha iyi sezim başarımı sergilediği gözlenmektedir. Sonuç olarak, yüksek olasılıkla Gauss olmayan kanal gürültüsü hakkında ön bilgi olmadığından, bu seziciler belirli bir gözleme aralığı içinde darbenin varlığına karar vermek için pratik olarak uygulanabilir. Diğer alt-optimal seziciler arasında, önerilen işaretli güç sezicisinin değişen dürtüselliğe sergileyen kanal gürültüsü altında daha kararlı bir sezim başarımı sergilediği gözlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İkili hipotez testi, Gauss olmayan gürültü, Sezim olasılığı, Yanlış alarm olasılığı, İşaret iletinti sezici, İşaretli güç sezicisi, Yumuşak kırıcı sezici

\*Corresponding author: emre.cek@deu.edu.tr

Mehmet Emre Cek orcid.org/0000-0002-0230-3529

Eda Dinc orcid.org/0000-0001-7041-0193



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

## 1. Introduction

In radar systems, the pulse repetition interval (PRI) is one of the significant parameters to characterize targets in terms of variation of duration between adjacent pulses (Wiley, 2006). Analysis of radar systems containing rectangular pulse is given in detail (Hao et al., 2022). Basic PRI modulation type is defined as a function of difference between times of arrival (TOA) of each pulse (Gencol et al., 2016) for a specified target. However, these radar pulses are observed in noisy environment and detection accuracy of a particular pulse onset directly affects the deviation from exact PRI modulation pattern. The deviation in PRI modulation types is analyzed in (Gao and Tian, 2015). In this context, recent studies concentrate on detecting existence of radar pulse where short time Fourier transform is used in (Liu et al., 2019), alternatively the pulses are detected by edge enhancement (Li et al., 2020), and edge detection is performed by Haar wavelet filter (Ranney et al., 2021). Moreover, moving sum filter is used to detect magnitude change for pulse detection (Ranney et al., 2022).

In (Tsihrintzis and Nikias, 1997), radar clutter is modelled by  $\alpha$ -stable distribution as an earlier application on radar signal processing. Moreover, it is reported by (Win et al., 2009) network interference on wireless systems can be statistically modelled by symmetrical  $\alpha$ -stable distributions. The evidence of impulsive noise in applications of communication and radar/sonar signal processing brings a motivation to construct further analysis to extract the information related with the application area. Therefore, it is shown in these studies that the channel noise does not always exhibit Gaussian behaviour. The pulses need to be analyzed in presence of non-Gaussian noise which is modelled by  $\alpha$ -stable distribution in this study.

An earlier approach based on maximum correntropy is also applied for antipodal signal detection in (Hakimi and Hodtani, 2018). In (Sun et al., 2021), fractional lower moment is evaluated within the observed sliding time interval. Similarly, robust detection of a target is performed by utilizing fractional lower order moments (Huang et al., 2021). Receiver design and detection regions under impulsive noise interference are also investigated in (Clavier et al., 2021). In the literature, it is seen that the noise in the channel is generally assumed to be known. However, the noise distribution may not be known exactly in practice or its parameters may not remain unchanged. Therefore, the optimal maximum likelihood detector and Cauchy detector are not involved in this study since entire noise parameters

and noise intensity are respectively required to decide the existence of pulse for these detectors. Consequently, there is a lack in the literature performing real time pulse detection in case of unknown noise. Since the detection performance is assumed to be determined in real time, the length of the time interval is significant to provide reasonable detection probability obtained from short signal length.

The main contribution of this study is not only to implement practical suboptimal detectors used in digital communication systems in order to detect rectangular pulse when the statistical information related with channel noise is unknown, but also a sub-optimal detector called signed power detector based on fractional power of the observed signal is proposed in this study to exhibit robust detection performance under impulsive noise channels with unknown impulsiveness. The paper is organized as follows. In the next section rectangular pulse detection problem and analytical results are derived under Gaussian noise condition. Subsequently, the sub-optimal detectors together with the proposed signed power detector are described. The performances of these detectors are illustrated by computer simulations in Section 3 under Gaussian and symmetric  $\alpha$ -stable (*S $\alpha$ S*) distribution having different impulsiveness. In the last section obtained results are concluded.

## 2. Method

Pulse detection problem within a certain time interval is formulated in terms of binary hypothesis testing and the sub-optimal detectors are described in the following subsection.

### 2.1. Pulse Detection

In the given signal detection problem under Additive White Gaussian Noise (AWGN), the entire observed signal having  $N$  samples including rectangular pulse with known amplitude  $A$  having duration  $N_p$  samples is modelled as given in Equation 1.

$$\times[n] = \begin{cases} w[n] & , n = 1, 2, \dots, N_0 \\ A + w[n] & , n = N_0 + 1, \dots, N_0 + N_p \\ w[n] & , n = N_0 + N_p + 1, \dots, N \end{cases} \quad (1)$$

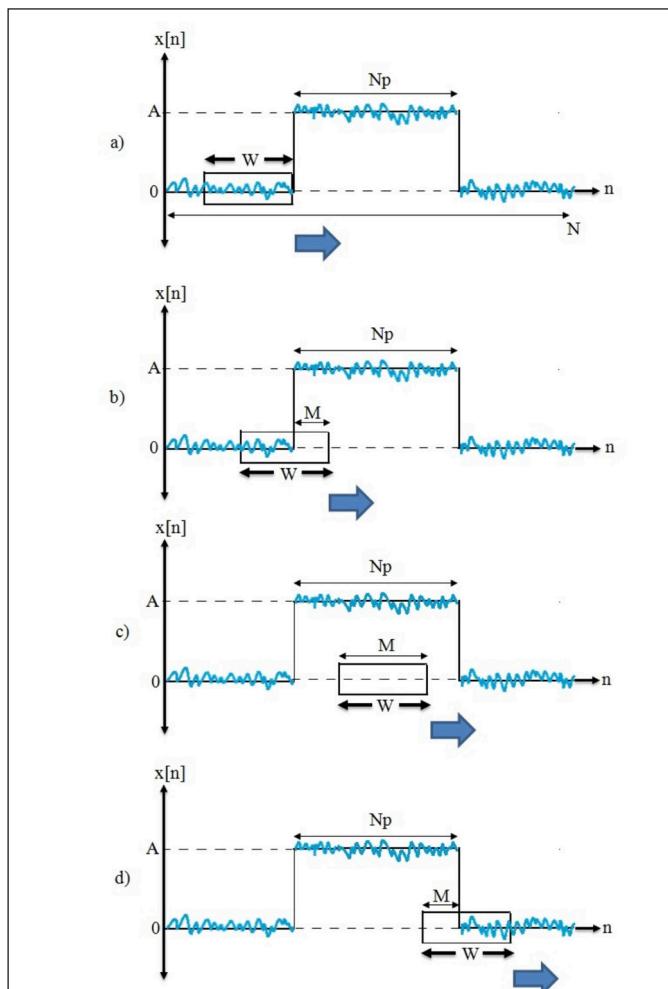
where the noise samples are taken from the Gaussian distribution  $w[\cdot] \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2)$  and the time instant of pulse onset  $N_0$  is assumed to be unknown. In order to perform real time analysis, a running window having length  $W < N_p$  is defined in which the existence of pulse is investigated. Evolution of observed signal within the window length involving all possible scenarios is illustrated in Figure 1.

Since the main objective is restricted to online detection of pulse onset, the problem is localized to construct the binary hypothesis testing within the duration  $M \leq W < N_p$  where the parameter  $M$  is the length of the existing rectangular pulse within the running window. Accordingly, the binary hypothesis test becomes as given in Equation 2.

$$\begin{aligned} H_0: x[n] &= w[n] & n = 1, 2, \dots, W \\ H_1: x[n] &= \begin{cases} w[n] & , n = 1, 2, \dots, W-M \\ A + w[n] & , n = W-M+1, \dots, W \end{cases} \end{aligned} \quad (2)$$

It is obvious that first  $W - M$  samples are common for both hypotheses and act as irrelevant data since any information cannot be provided. Thus, the problem is reduced to detecting existence of pulse only within the length of interval  $M$  given in Equation 3.

$$\begin{aligned} H_0: x[n] &= w[n] & n = 1, 2, \dots, M \\ H_1: x[n] &= A + w[n] & n = 1, 2, \dots, M \end{aligned} \quad (3)$$



**Figure 1.** Evolution of real time pulse detection problem based on running window.

Considering the pulse amplitude is reasonably assumed to be known, the observed signal can be modified as  $y[n] = x[n] - \frac{A}{2}$  and the binary hypothesis test in (3) is reformulated as in Equation 4.

$$\begin{aligned} H_0: y[n] &= -\frac{A}{2} + w[n], & n = 1, 2, \dots, M \\ H_1: y[n] &= \frac{A}{2} + w[n], & n = 1, 2, \dots, M \end{aligned} \quad (4)$$

where the problem is converted into antipodal signal detection. The likelihood functions under the Gaussian noise having zero mean and  $\sigma^2$  variance are given in (5) and (6)

$$p(y[n]; H_0) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(y[n] + \frac{A}{2})^2}{2\sigma^2}\right) \quad (5)$$

and

$$p(y[n]; H_1) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left(-\frac{(y[n] - \frac{A}{2})^2}{2\sigma^2}\right) \quad (6)$$

Once the investigation of pulse existence is characterized by samples, Neyman-Pearson test can be applied to determine the likelihood ratio (Kay, 1998)  $L(x) = \frac{p(x; H_1)}{p(x; H_0)} > \gamma$  by comparing with threshold  $\gamma$  and is given in (7)

$$L(y) = \frac{\frac{1}{(2\pi\sigma^2)^{\frac{M}{2}}} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{n=0}^{M-1} (y[n] - \frac{A}{2})^2\right]}{\frac{1}{(2\pi\sigma^2)^{\frac{M}{2}}} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{n=0}^{M-1} (y[n] + \frac{A}{2})^2\right]} > \gamma \quad (7)$$

Analytically, the likelihood ratio is obtained as

$$\bar{y} = \frac{1}{M} \sum_{n=0}^{M-1} y[n] > \frac{\sigma^2}{MA} \ln \gamma = \gamma' \quad (8)$$

where  $\bar{y}$  denotes sample mean and is considered as the test statistics  $T(y) = \bar{y}$ . Note that  $T(y)$  is statistically characterized by determining mean under each hypothesis as found in (9) and (10)

$$E(T(y); H_0) = E\left[\frac{1}{M} \sum_{n=0}^{M-1} \left(-\frac{A}{2} + w[n]\right)\right] = -\frac{A}{2} \quad (9)$$

$$E(T(y); H_1) = E\left[\frac{1}{M} \sum_{n=0}^{M-1} \left(\frac{A}{2} + w[n]\right)\right] = \frac{A}{2} \quad (10)$$

and variance, obtained under both hypotheses as in (11)

$$\text{var}(T(y); H_{0,1}) = \text{var}\left(\frac{1}{M} \sum_{n=0}^{M-1} \left(\frac{A}{2} + w[n]\right)\right) = \frac{\sigma^2}{M} \quad (11)$$

Finally, the test statistic for this antipodal signal detection problem is expressed in (12)

$$T(y) \sim \begin{cases} \mathcal{N}\left(-\frac{A}{2}, \frac{\sigma^2}{M}\right) & \text{under } H_0 \\ \mathcal{N}\left(+\frac{A}{2}, \frac{\sigma^2}{M}\right) & \text{under } H_1 \end{cases} \quad (12)$$

The probability of detection and probability of false alarm are determined in (13) and (14), respectively,

$$P_{FA} = \Pr\{T(y) > \gamma'; H_0\} = Q\left(\frac{\gamma' + \frac{A}{2}}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{M}}}\right) \quad (13)$$

$$P_D = \Pr\{T(y) > \gamma'; H_1\} = Q\left(\frac{\gamma' - \frac{A}{2}}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{M}}}\right) \quad (14)$$

where  $Q(x)$  is the right tail probability and is given as  $Q(x) = \int_x^\infty \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}} dt$ . Relation between detection probability and signal strength is characterized by signal to noise ratio (in (15))

$$SNR(dB) = 10 \log \frac{A^2}{\sigma^2} \quad (15)$$

Since the observed waveform model is converted to exhibit antipodal behaviour, the decision boundary can be set  $\gamma' = 0$  and the theoretical results for false alarm and detection probabilities are respectively evaluated as

$$P_{FA} = Q\left(\frac{A/2}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{M}}}\right) \quad (16)$$

$$P_D = Q\left(-\frac{A/2}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{M}}}\right) = 1 - P_{FA} \quad (18)$$

which results in  $P_D + P_{FA} = 1$ . Consider that  $P_D = P_{FA}$  may occur as the worst case and hence the lower bound for detection probability can be given as  $P_D = 0.5$ . In the sequel, the practical suboptimal detectors are described for pulse detection problem.

## 2.2. Sub-Optimal Detectors for Pulse Detection

Conventional linear detector which is reported to be optimal under Gaussian noise (Johnson, 1996) and (Sureka and Kiasaleh, 2013) determines existence of pulse according to the rule given in (18)

Linear detector (Sureka and Kiasaleh, 2013):

$$\sum_{n=1}^M y[n] \stackrel{H_1}{\geqslant} 0 \quad (18)$$

The soft limiter (SL) detectors clips the observed signal depending on the predefined threshold  $\kappa > 0$  as formulated in (19)

Soft Limiter (SL) Detector (Sureka and Kiasaleh, 2013):

$$\sum_{n=1}^M g(y[n]) \stackrel{H_1}{\geqslant} 0 \quad (19)$$

where

$$g(z) = \begin{cases} -\mathcal{K} & z \leq -\mathcal{K} \\ z & |z| < \mathcal{K} \\ \mathcal{K} & z \geq \mathcal{K} \end{cases} \quad (20)$$

An alternative detector is defined to be the sign correlator (SC) detector which converts the observed noisy signal into binary form and determines the existence of a pulse according to operation in (21)

Sign Correlator (SC) Detector (Saleh et al., 2012):

$$\sum_{n=1}^M sgn(y[n]) \stackrel{H_1}{\geqslant} 0 \quad (21)$$

where  $sgn(z) = \begin{cases} 1, z \geq 0 \\ -1, z < 0 \end{cases}$ . The Non-Gaussian channel noise exhibiting impulsive and infinite variance behaviour is modelled by distribution which is expressed by its characteristic function as given in (22) (Nikias and Shao, 1995)

$$\varphi(\theta) = e^{-\sigma^\alpha |\theta|^\alpha + j\delta\theta} \quad (22)$$

where the parameters  $\alpha \in (0, 2]$  is the characteristic exponent tuning the impulsiveness of the noise,  $\delta$  is the shift parameter adjusting the location. The impulsive noise is symmetrical around the origin when  $\delta = 0$  and correspondingly the location parameter  $\delta$  is assumed to be  $\delta = 0$  in this study. The scale parameter  $\sigma$  arranges the intensity of the noise. When  $\alpha = 2$ , it can be considered as identical with the standard deviation of Gaussian noise. Note that pdf of S $\alpha$ S noise cannot be analytically expressed except for special cases where Gaussian noise is obtained for characteristic exponent  $\alpha = 2$  and Cauchy noise is obtained for  $\alpha = 1$  which is frequently used to characterize the impulsive noise. In the presence of such an impulsive noise with infinite variance for  $\alpha < 2$ , the term generalized signal to noise ratio (GSNR) needs to be defined alternative to SNR (Sureka and Kiasaleh, 2013)

$$GSNR(dB) = 10 \log \frac{A^2}{\sigma^\alpha} \quad (23)$$

## 2.3. Signed Power Detector

One of the distinctive properties of  $\alpha$ -stable random variable  $X$  is described in terms of its moments. Note that a random variable  $X$  having alpha-stable distribution for  $0 < \alpha < 2$  is given to have finite moments according to the satisfaction of the condition in (24) (Nikias and Shao, 1995), (Samorodnitsky and Taqqu, 1994)

$$\begin{aligned} E[|X|^p] &< \infty \text{ if } 0 < p < \alpha \\ E[|X|^p] &= \infty \text{ if } p \geq \alpha \end{aligned} \quad (24)$$

According to (24), one can conclude only the fractional lower order moments (FLOM) satisfying  $p < \alpha$  is finite, otherwise they are said to be infinite. This property is utilized in density parameter estimation from the set of observations having length to determine the signed fractional moment (Kuruoglu, 2001) given in (25)

$$S_p = \frac{1}{L} \sum_{k=1}^L X_k^{<p>} \quad (25)$$

where  $X_k$  are taken from  $S\alpha S$  distribution and the  $p$ th signed power of a number  $z$  is described as (Kuruoglu, 2001)

$$z^{<p>} = \text{sign}(z)|z|^p \quad (26)$$

One of the challenging problems is the selection of moment order which is comprehensively discussed in different studies (Ma and Nikias, 1995), (Tsihrintzis and Nikias, 1996), (Kuruoglu, 2001) and (Bibalan et al., 2017). Utilizing the feedback from the studies in the literature, the moment order in this study is set constant  $p = 0.01$  where the characteristic exponent of the channel is assumed to be  $\alpha > 0.01$  although it is declared to be unknown. Under  $S\alpha S$  noise, the signed power (SP) detector is defined as

$$\sum_{n=1}^M \text{sgn}(y[n]) |y[n]|^p \stackrel{H_0}{\geqslant} 0 \quad (27)$$

satisfying the condition  $p < \alpha$ . Performances of these detectors are shown in simulation results in the next section.

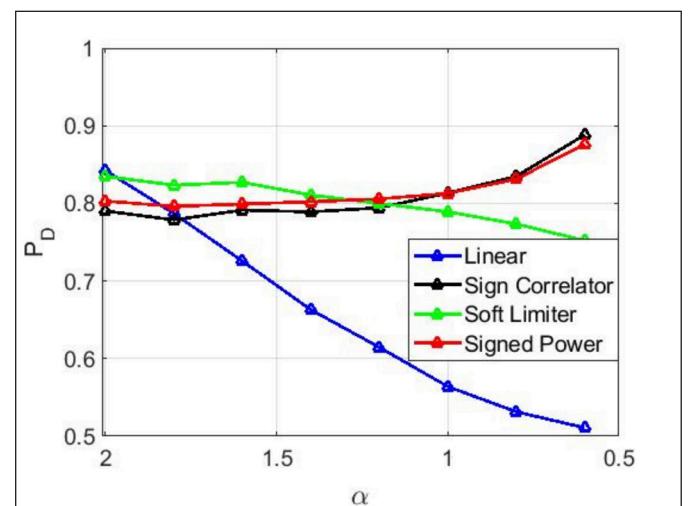
### 3. Simulation Results and Discussion

The experimental results are obtained by Monte Carlo simulations using Matlab software as a result of ensemble averaging of  $10^4$  realizations. The threshold for soft limiter and the signed power detector are taken as  $\chi = 4A$  consistent with (Sureka, and Kiasaleh, 2013) and  $p = 0.01$ , respectively. For sake of simplicity, the noise intensity for both Gaussian and  $S\alpha S$  noise is set  $\sigma = 1$  and the pulse amplitude is tuned according to the specified  $SNR$  or  $GSNR$  value.

#### 3.1. Effect of Channel Impulsiveness

The simulation results reflecting the effect of impulsiveness on detection probability of rectangular pulse is shown in Figure 2 as a function of characteristic exponent  $\alpha$  according to fixed observed pulse length  $M$  and  $GSNR$  values. The characteristic exponent range lies between  $\alpha = 2$  (Gaussian noise) and  $\alpha = 0.6$  corresponding to

strongly impulsive noise. Although the optimal linear detector given in (Johnson, 1996) is seen to yield the best detection performance under Gaussian noise as expected, when the channel noise becomes impulsive as decreases, the linear detector performance get worse dramatically compared with other detectors. This result indicates the necessity of other suboptimal detectors in case the noise exhibits non-Gaussian behaviour. Moreover, the suboptimal detector performances need to be analyzed in two regions according to results in Figure 2 where the soft limiter in (Sureka and Kiasaleh, 2013) exhibits superior detection probability compared with sign correlator in (Saleh et al., 2012) and proposed signed power detector as it is observed to be  $\alpha > 1.2$ . However, when the noise samples have extreme outliers, especially for  $\alpha \leq 1$ , the signed correlator and signed power detector performances become apparently better than soft limiter detector.



**Figure 2.** Variation of  $P_D$  with respect to stable noise impulsiveness parameter  $\alpha$ ;  $M = 50$ ,  $GSNR = -8$  dB.

Therefore, the remaining analyses investigating the effect of observed pulse length  $M$  and  $SNR$  are explained under Gaussian noise and  $\alpha$ -stable noise simulated at two different characteristic exponent, separately. As an overall assessment considering entire characteristic exponent range, the proposed signed power detector is seen to exhibit more stable behaviour compared with the other sub optimal detectors sign correlator given in (Saleh et al., 2012) and soft limiter detector given in (Sureka and Kiasaleh, 2013). This finding is put forward by evaluating the mean detection probability and its standard deviation given in Table 1 obtained from the entire range of characteristic exponents.

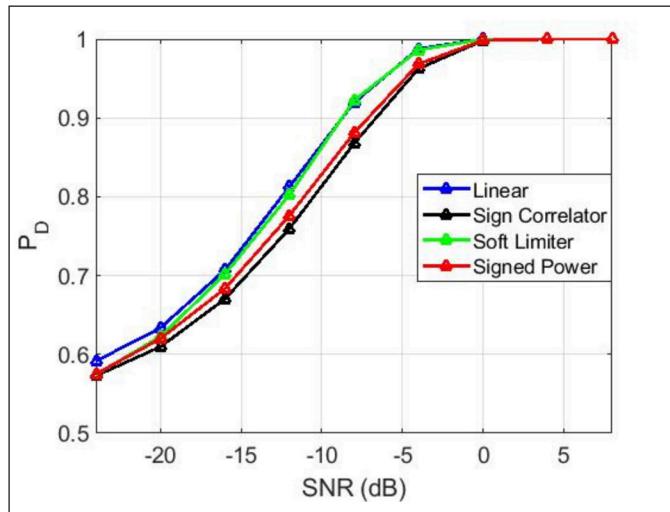
**Table 1.** Mean Detection Performance and its standard deviation in the range.

Method	Mean Value of $P_D$	Std. Dev. of $P_D$
Gaussian	0.65	0.1234
Soft Limiter	0.80	0.0296
Sign Correlator	0.81	0.0349
Signed Power	0.82	0.0269

As it can be clearly seen, the best detection performance with lowest standard deviation can be achieved by the proposed signed power detector.

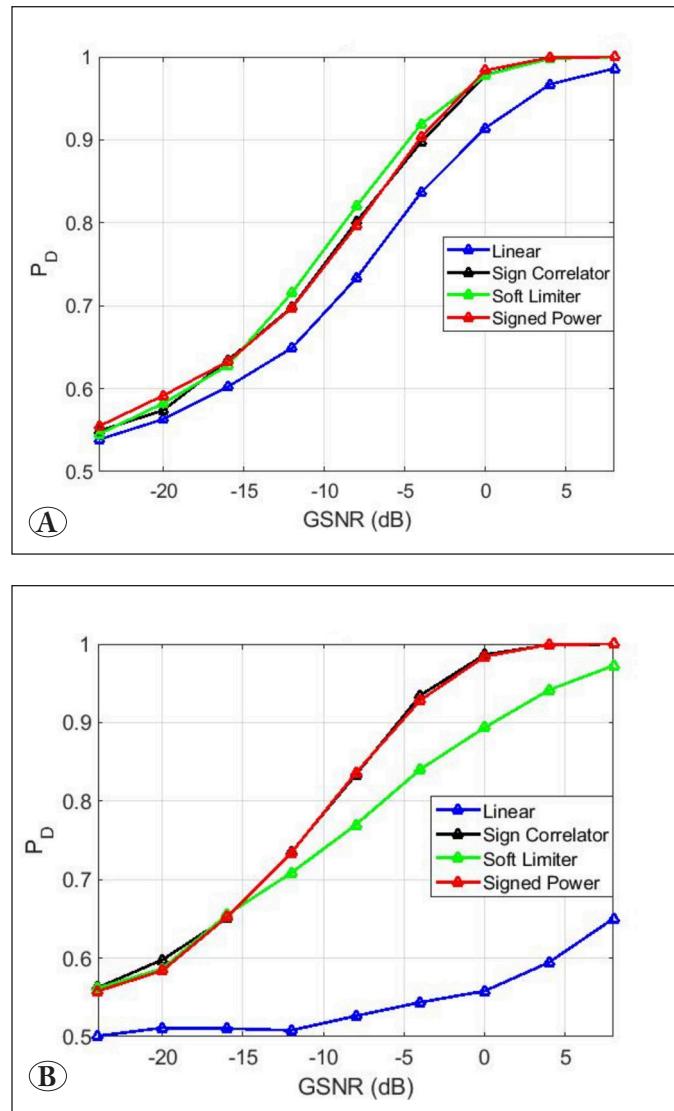
### 3.2. Effect of SNR

The detection probability with respect to signal to noise ratio is illustrated in Figure 3 under Gaussian noise and in Figure 4 under *SαS* noise, respectively. It is seen in Figure 3 that, linear detector has the best detection probability compared with other detectors. However, when the channel noise becomes impulsive as the results shown in Figure 4A, especially for lower value i.e. increased impulsiveness as the detector performances shown in Figure 4B, the distinctive degradation on detection performance of linear detector is apparent although it is optimal under Gaussian case.

**Figure 3.** Detection probabilities with respect to SNR under Gaussian noise.

On the other hand, soft limiter detector can be said to exhibit better detection probability according to Figure 4a compared with other sub-optimal detectors such as signed correlator and signed power detector when noise slightly deviates from Gaussian behaviour and soft limiter detector given in (Sureka and Kiasaleh, 2013) may be a

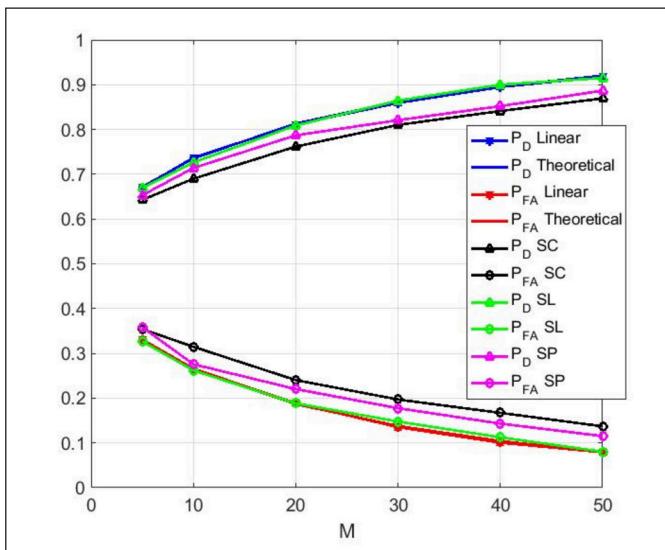
reasonable selection rather than other detectors under moderate impulsiveness. However, if the channel exhibits strongly impulsive characteristic, the sign correlator (Saleh et al., 2012) and the proposed signed power detector performances are observed to be apparently superior to both linear (Johnson, 1996) and soft limiter (Sureka, Kiasaleh, 2013) detectors as shown in Figure 4B.

**Figure 4.** Detection probabilities with respect to GSNR under *SαS* noise; A) ( $\alpha = 1.6$ ), B) ( $\alpha = 0.8$ ).

### 3.3. Effect of $M$

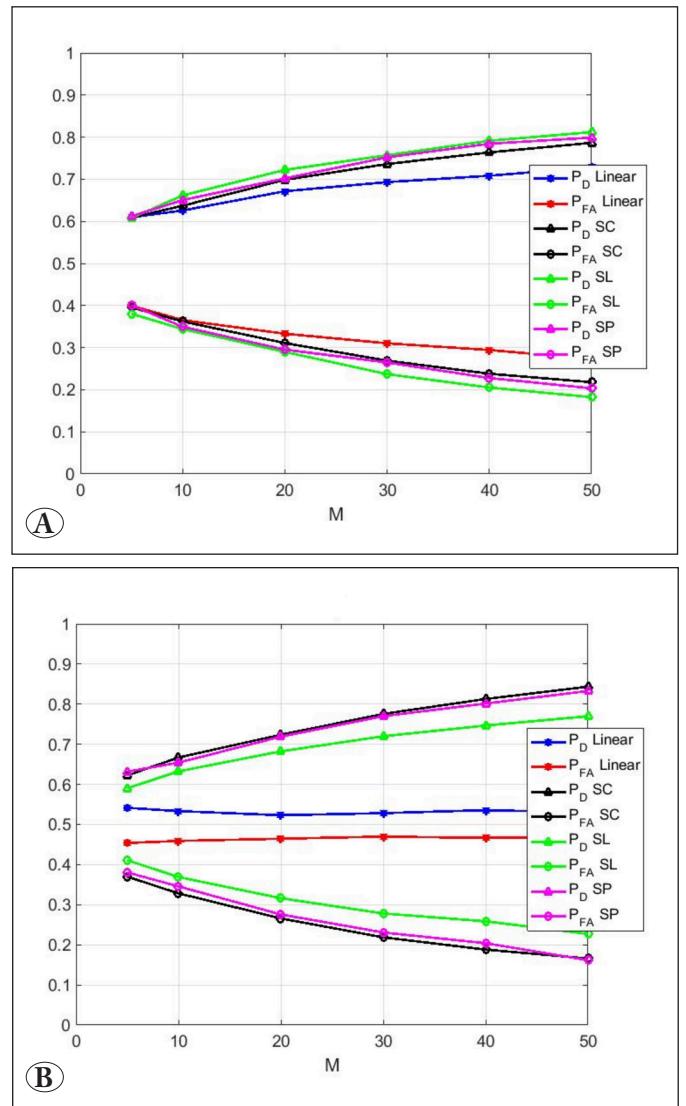
It is seen that the sub-optimal detectors soft limiter and sign correlator together with signed power detector are not critically affected from variation of noise distribution whereas the linear detector performance degrades dramatically when the noise distribution becomes impulsive. Rather than the

method in the literature (Li et al., 2020) which processes entire data, it is concentrated on instant detection within the observation length much smaller than pulse length. Since the observed data length is one of the parameters to compare detection performance within short time length, the time-frequency techniques as given in (Liu et al, 2019) are not considered since the spectral resolution becomes poor to yield satisfactory result for the signal within short time interval. Sensitivity of the sub-optimal detectors to the length of observed pulse length  $M$  are shown in terms of  $P_D$  and  $P_{FA}$  in Figure 5 and Figure 6 under Gaussian and  $S\alpha S$  noise, respectively. It is clear that the linear detector achieves the theoretical result and exhibits the best  $P_D - P_{FA}$  characteristic among the other detectors as shown in Figure 5 under Gaussian case. As the channel impulsiveness increases, the linear detector yields the lowest detection performance for specified  $M$  as illustrated in Figure 6A and 6B, respectively.



**Figure 5.**  $P_D - P_{FA}$  of detectors as a function of  $M$  samples under Gaussian noise. ( $SNR = -8 \text{ dB}$ ).

According to the results in Figure 6A, soft limiter has more sensitivity to the observed pulse length under  $S\alpha S$  noise whereas its performance gets worse than other suboptimal detectors under stronger impulsive noise condition as shown in Figure 6B. Additionally,  $P_D - P_{FA}$  performances of sign correlator and the proposed signed power detectors are close to that of soft limiter detector as given in Figure 6A under weak impulsiveness condition and better results are observed under strong impulsive channel as shown in Figure 6B.



**Figure 6.**  $P_D - P_{FA}$  of detectors as a function of  $M$  samples under  $S\alpha S$  noise, ( $GSNR = -8 \text{ dB}$ ); A) ( $\alpha = 1.6$ ), B) ( $\alpha = 0.8$ ).

Nevertheless, one can generally conclude that the given sub optimal detectors yield notable robust behaviour against the variation of noise impulsiveness and it can be said that improved detection performance can be achieved for the fixed observed pulse length.

#### 4. Conclusions

This paper proposes utilization of the sub-optimal detectors in detection problem of rectangular pulse in real time within a limited observation interval when the channel noise is assumed to be unknown in advance. The proposed approach is shown to provide a detection mechanism independent of the noise distribution parameters and can be designed to

exhibit robust performance against the outlier components in channel noise. It should be noted that the soft limiter detector yields a reasonable pulse detection performance unless the channel exhibits strongly impulsive characteristic. The sign correlator and the proposed signed power detectors come forward if the impulsive outlier samples become dominant in observed data. In terms of different channel noise distribution conditions, the proposed detector can be said to exhibit better detection performance with smaller fluctuation, i.e., more robust stability in detection probability and this can be considered as superiority compared with other sub-optimal detectors.

## 5. Acknowledgements

Authors would like to thank Tuğçe Toprak for her technical support in preparation of graphical tools in this paper.

## 6. References

- Bibalan M., H., Amindavar, H., Amirmazlaghani M., 2017.** Characteristic function based parameter estimation of skewed alpha-stable distribution: An analytical approach, *Signal Process.*, 130: 323 – 336. Doi: 10.1016/j.sigpro.2016.07.020.
- Clavier, L., Peters G., W., Septier, F., Nevat, I., 2021.** Impulsive noise modeling and robust receiver design, *EURASIP J. Wireless Com. Network*, 2021, 13: 1-30. Doi: 10.1186/s13638-020-01868-1.
- Gao, Y., Tian, M. 2015.** A method dealing with complex PRI modulation with adaptive prediction in real-time pulse tracking, *IET International Radar Conference*, p. 1-4, Hangzhou, China. Doi: 10.1049/cp.2015.1239
- Gencol, K., At, N., Kara, A. 2016.** A wavelet-based feature set for recognizing pulse repetition interval modulation patterns, *Turk. J. Elec. Eng. Comp. Sci.*, 24: 3078 – 3090. Doi: 10.3906/elk-1405-152.
- Hakimi, S., Hodtani G., A., 2018.** Generalized maximum correntropy detector for non-Gaussian environments, *Int. J. Adapt. Control Signal Process.*, 32. 1: 83 – 97. Doi: 10.1002/acs.2827
- Hao, C., Orlando, D., Liu,J., Yin, C. 2022.** Advances in Adaptive Radar Detection and Range Estimation, 1<sup>st</sup> Ed., Springer, Singapore, 386 pp.
- Huang, X., Zhang, L., Chen, Z., Zhao, R. 2021.** Robust detection and motion parameter estimation for weak maneuvering target in the alpha-stable noise environment, *Digit. Signal Process.*, 108: 102885. Doi: 10.1016/j.dsp.2020.102885.
- Johnson, D., H., 1996.** Optimal linear detectors for additive noise channels, *IEEE Trans. Signal Process.*, 44. 12: 3079-3084. Doi: 10.1109/78.553481.
- Kay, S. M. 1998.** Fundamentals of Statistical Signal Processing – Detection Theory, 1<sup>st</sup> Ed., Prentice Hall, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, USA, 576 pp.
- Kuruoglu, E. E. 2001.** Density parameter estimation of skewed alpha-stable distributions, *IEEE Trans. Signal Process.*, 49. 10: 2192 – 2201. Doi: 10.1109/78.950775.
- Li, C., Niu, Y., Yu, M., Li,Y., Wang, L., Pan,X., 2020.** Pulse train detection algorithm based on edge enhancement, *Proc. ICWSN Conf.*, p. 30-34, New York. Doi: 10.1145/3411201.3411202.
- Liu, X., Fan, X., Su, S. 2019.** Adaptive pulse edge detection algorithm based on short-time Fourier transforms and difference of box filter, *J. Appl. Remote Sens.*, 13. 2: 024502. Doi: 10.1117/1.JRS.13.024502.
- Ma, X., Nikias, C., 1995.** Parameter estimation and blind channel identification in impulsive signal environments, *IEEE Trans. Signal Process.*, 43. 12: 2884 – 2897. Doi:10.1109/78.476432
- Nikias, C. L., Shao, M. 1995.** Signal Processing with Alpha-stable Distributions and Applications, 1<sup>st</sup> Ed., Wiley Interscience, New York, 184 pp.
- Ranney, K., Tom, K., Tadas, D., Tesny, N., Magill, A., Diehl, W., 2021.** An efficient pulse detector and pulse width estimator for waveform characterization, *Proc. Radar Sensor Tech. XXV*, 117421E. Doi: 10.1117/12.2586969.
- Ranney, K. I., Tom, K., Tadas, D., Tesny, N., Magill, A., Diehl, W., 2022.** Magnitude-based pulse width estimation via efficient edge detection. *J. Appl. Remote Sens.*, 16. 1: 016509. Doi: 10.1117/1.JRS.16.016509.
- Saleh, T. S., Marsland, I., El-Tanany, M., 2012.** Suboptimal detectors for alpha-stable noise: Simplifying design and improving performance, *IEEE Trans. Commun.*, 60.10: 2982 – 2989. Doi: 10.1109/TCOMM.2012.071812.100789.
- Samorodnitsky, G., Taqqu, M., S., 1994.** Stable Non-Gaussian Random Processes, 1<sup>st</sup> Ed., Chapman & Hall / CRC, New York, 632 pp.
- Sun, B., Xu, J., Hong, W., Li, X., 2021.** A novel detection algorithm for radar signal under non-Gaussian clutter, *Proc. DSIT*, p. 28-31, Shanghai. Doi: 10.1145/3478905.3478911.
- Sureka, G., Kiasaleh, K., 2013.** Sub-Optimum receiver architecture for AWGN channel with symmetric alpha-stable interference, *IEEE Trans. Commun.*, 61.5: 1926 – 1935. Doi: 10.1109/TCOMM.2013.022713.120490.
- Tsihrintzis, G., Nikias, C., 1996.** Fast estimation of the parameters of alpha-stable impulsive interference, *IEEE Trans. Signal Process.* 44. 6: 1492–1503. Doi: 10.1109/78.506614.
- Tsihrintzis, G., Nikias, C., 1997.** Evaluation of fractional, lower-order statistics-based detection algorithms on real radar sea-clutter data, *IEE Proc. Radar Son. Nav.*, 144. 1: 29-37. Doi: 10.1049/ip-rsn:19970933.
- Wiley, R. G., 2006.** ELINT: The Interception and Analysis of Radar Signals, 1<sup>st</sup> Ed., Artech House, Boston, USA, 451 pp.
- Win, M., Z., Pinto, P., C., Shepp, L., A., 2009.** A Mathematical theory of network interference and its applications, *Proc. IEEE*, 97. 2: 205-230. Doi: 10.1109/JPROC.2008.2008764.



# Effects of Basalt Fibre Utilization on Durability and Mechanical Properties of SIFCON

## *Bazalt Lif Kullanımının SIFCON'un Dayanıklılık ve Mekanik Özelliklerine Etkisi*

Zeynep Algın\* , Erdal Özbebek , Sümeyra Gerginci , Kasım Mermerdaş

Harran University, Engineering Faculty, Civil Engineering Department, Sanliurfa, Turkey

### Abstract

The basalt fibre utilisation in Slurry Infiltrated Fibre Concrete (SIFCON) production has been studied to investigate how the durability and mechanical properties of SIFCON are affected by the basalt fibre replacement with steel fibre. Steel fibre with a length of 30 mm and the basalt fibre having a length of 24 mm are used in the SIFCON mixtures with the replacement ratios of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% by volume. The extensive laboratory studies have been conducted to specify compressive strength, flexural strength, sorptivity, water absorption, acid attack and Bohme abrasion resistance in terms of the basalt fibre replacement variation. The results reveal that the increment in basalt fibre replacement ratio decreases the compressive strength and the capillary water absorption while increasing the water absorption values. No significant change in the flexural strength is observed up to 50% basalt fibre utilisation and lower weight loss values are specified in this range for the SIFCON samples exposed to acid solution. The highest Bohme abrasion resistance is identified for samples having the basalt fibre replacement ratio of 25%. The results signify that the basalt fibre utilisation provides advantages considering the variations in flexural strength, physical and chemical degradation.

**Keywords:** Abrasion resistance, Acid attack, Basalt fibre, Permeability, SIFCON, Strength

### Öz

Bu çalışmada SIFCON üretiminde çelik lif yerine bazalt lif kullanımının SIFCON'un dayanıklılık ve mekanik özelliklerini nasıl etkilediği araştırılmıştır. SIFCON numunelerinde, 24 mm uzunluğundaki bazalt lif hacimce %0, %25, %50, %75 ve %100 oranlarında 30 mm uzunluğundaki çelik lif ile yer değiştirilerek kullanılmıştır. SIFCON numunelerinin dayanıklılık ve mekanik özelliklerini belirlemek için basınç dayanımı, eğilme dayanımı, su emme, kılcal su emme, asit saldırısı ve Böhme aşınma direnci deneyleri yapılmıştır. Sonuçlar, bazalt lifin yer değiştirme oranındaki artışla SIFCON numunelerinin su emme değerinin arttığını, basınç dayanımı ve kılcal su emme değerlerinin ise azaldığını göstermiştir. %50 oranına kadar bazalt lif kullanımı, SIFCON numunelerinin eğilme dayanımı sonuçlarında önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Asit çözeltisine maruz bırakılan SIFCON numuneleri için %50 oranına kadar bazalt lif içeren numunelerde elde edilen ağırlık kaybı değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. En yüksek Böhme aşınma direnci %25 oranında bazalt lif içeren SIFCON numunelerinde elde edilmiştir. Sonuç olarak, eğilme dayanımı, fiziksel ve kimyasal aşınma deneylerindeki değişimler göz önüne alındığında SIFCON üretiminde bazalt lif kullanımı avantaj sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Aşınma direnci, Asit saldırısı, Bazalt lif, Geçirimlilik, SIFCON, Dayanım

### 1. Introduction

The conventional concrete with high-volume steel fibre is not suggested in practical concrete design due to the reduction

in workability occurs in concrete mixture incorporated with high-volume steel fibre utilisation targeting to attain higher ductility, flexural, compressive and tensile strength values (Akçaözoglu and Killi 2021). On the other hand, much higher steel fibre utilisation is possible with Slurry Infiltrated Fibre Concrete (SIFCON) technique (i.e. 5-30% by volume), which was first developed by Lankard (Lankard 1984, Lankard and Newell 1984). SIFCON is produced by the special slurry poured into fibre, which contains the mixture of cement, fine sand, silica fume, water and super plasticizer (e.g. (Wang and Maji 1994, Tabak 2004). Since

\*Corresponding author: zyilmaz@harran.edu.tr

Zeynep Algın orcid.org/0000-0001-7004-8403

Erdal Özbebek orcid.org/0000-0001-9035-9815

Sümeyra Gerginci orcid.org/0000-0001-5912-7311

Kısmı Mermerdaş orcid.org/0000-0002-1274-6016



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

high-volume fibre and fine material are used in the slurry, the SIFCON matrix provides superior flexural strength, toughness and subsequently higher ductility properties (e.g. (Yazıcı et al. 2010, Beglarigale et al. 2014, Elavarasi and Mohan 2016)).

The extensive compressive and tensile strength tests to determine the mechanical properties of SIFCON samples containing 4-10% hooked steel fibre have been conducted by the previous studies which reveal that tensile strength and fracture toughness of samples are improved with the increment in fibre content (e.g. (Wecharatana and Lin 1992, Yan et al. 2002)). Although no substantial change in compressive strength variation is observed in this increasing range of fibre content by Wecharatana and Lin (1992), Yan et al. (2002) states otherwise by referring to the significant increases in compressive and flexural strength values (especially in fracture toughness). The highest compressive and flexural strength results are obtained from the samples having the fibre content of 10% as 127.8 MPa and 78.7 MPa, respectively. It is highlighted that the cracks formed on the side surfaces of the sample beams are distributed more homogeneously in the cases of the fibre amount is increased. Sharma and Singh (2008) concludes that the best compressive strength performance is identified in the samples having the fibre content of 8% based on the results obtained from samples with the fibre content range of 0-9%. The observed reduction in the compressive strength values obtained from the samples having the fibre content of 9% is attributed to the prevention of free and uniform spreading of the cement slurry through the utilised high-volume fibre which leads to many voids in fibre matrix. It is highlighted that the compressive and flexural strength values are decreased due to the difficulty of passing mortar through the fibre matrix because of these resulting voids.

Giridhar and Rao (2015) examined the effect of steel fibre utilisation on the mechanical properties of SIFCON in terms of compressive, flexural and tensile strength values obtained from the samples having the steel fibre content of 4-8%, among which the highest compressive, flexural and splitting tensile strength values are attained from the samples produced with 8% steel fibre content. The coinciding results are also obtained from the studies conducted by Soylu and Bingol (2019). The maximum compressive and flexural strength are obtained from the 28-day samples produced with a fiber volume of %8, as 80.12 MPa and 35.85 MPa respectively. Tuyan and Yazici (2012) investigated the mechanical properties of SIFCON produced by steel fibre

with hook-end and smooth shapes, and the bond between fibre and matrix. It is revealed that the adherence is increased with the appropriate curing conditions and the increment in the strength of matrix and the fibre diameter. It is also stated that the bonding ability of the hook-end fibre is superior to that of the smooth fibre. It is underlined that as the fibre embedded length is increased, the toughness is improved with the surge in the adherence ability.

Ipek et al. (2014) investigated the flexural strength and fracture toughness of SIFCON samples produced with the steel fibre having the length of 35 mm and 60 mm. It is revealed that while the strain capacity of the samples with steel fibre having the length of 60 mm is higher, the maximum tensile capacity (47.06 MPa) of the samples produced by using steel fibre combination having the length of 35 mm and 60 mm is higher. Yardimci et al. (2007) produced SIFCON samples using single or combined steel and synthetic fibre content of up to 12%. These samples were cured under low steam pressure at 80°C for 24 hours. The highest flexural strength (62 MPa) is obtained from the samples containing 12% steel fibre and the highest flexural toughness value (103367 Nmm) is attained from the samples with 9% steel and 3% synthetic fibre contents. The combined effect of steel and polypropylene fibre on the physical and mechanical properties of SIFCON was investigated by Canbay (2014). It is indicated that steel fibre is more effective on the mechanical properties of samples than that of polypropylene fibre. The compressive strength test results of SIFCON containing 100% steel fiber, 50% steel fiber-50% polypropylene fiber and 100% polypropylene fiber are obtained as 141.29, 110.38 and 108.73 MPa, and flexural strength results are obtained as 32.95, 19.21 and 15.60 MPa, respectively. Although polypropylene fibre has lower strength compared to steel fibre, it is suggested that polypropylene fibre would be superior to be used where corrosion risk is higher.

The performance assessment of conventional reinforced concrete and SIFCON has been evaluated in terms of the results obtained from compressive, flexural, tensile strength and abrasion tests by Vijayakumar and Kumar (2017). In this study, the SIFCON samples were produced with the glass fibre content of 1% and the steel fibre contents in the range of 5-11%. The highest compressive and flexural strength values are 36.98 MPa and 5.52 MPa in SIFCON samples containing 1% glass fiber and 9% steel, respectively. It is revealed that SIFCON provides superior performance compared to that of normal reinforced concrete. It is

underlined that the highest performance is attained from the samples having the steel fibre content of 9%, higher the fibre content is more difficult for mortar to settle, which adversely affects the results. Ipek and Aksu (2019) investigated the combined effect of steel and polypropylene fibre blends. The highest flexural strength values obtained from fully fibre-filled beam samples are attained as 44 MPa and 41 MPa from the samples having the steel fibre combined lengths of 60 mm and 35 mm, and the combined lengths of 60 mm steel and 50 mm polypropylene fibre, respectively. It is highlighted that the combined polypropylene and steel fibre utilisation improves flexural strength and fracture toughness. The polypropylene fibre provides significant advantages in terms of its unit weight and cost compared to steel fibre.

The reason of basalt fiber preferred to be used in SIFCON applications in the presented study is not just because it is an environmental-friendly material and it has a superior characteristic as higher tensile strength properties, it also overcomes the drawbacks such as corrosion and higher weight of steel fibre that could be more critical in some specific SIFCON applications. Although several researches in the literature present the effect of steel and polypropylene

fibre on the mechanical properties of SIFCON, it is the first time in the literature (to the best of the authors' knowledge), the basalt fibre utilisation is considered in the production of SIFCON and presented in this paper. The durability and mechanical properties of SIFCON incorporated with basalt fibre having various volumetric replacement ratios of steel fibre are investigated in this presenting research and some substantial conclusions are drawn.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

In this study, the silica fume which is obtained from Eti Elektrometalurji Inc. in Turkey and CEM I 42.5R type of Portland cement are used. The physical properties and chemical compositions of Portland cement and silica fume are given in Table 1.

CEN standard sand complying with TS EN 196-1 (2016) was used to prepare SIFCON mixtures. Standard sand is produced by Limak Trakya Cement Factor in Turkey. The sieve analysis results of sand having the specific gravity of 2.6 are given in Table 2. The polycarboxylic-ether based superplasticizer (SP) having the specific gravity of 1.10 was utilised.

KMX 55/30 BL type of steel fibre having hooks on both ends obtained from Kemerli Metal Industry and Trade Inc. were used, which are of the length of 30 mm, the diameter of 0.55 mm and the specific gravity of 7.18. The basalt fibre was procured from Spinteks Textile Construction Industry and Trade Inc., which are having the length of 24 mm, the diameter of 14 microns, and the specific gravity of 2.78. The close view images of steel and basalt fibre used in the presented study are given in Figure 1.

### 2.2. Detail of Mixes and Preparation

Although there is no standard for SIFCON slurry mixes at present, the slurry must have a sufficient level of fluidity to pass through the fibre without snagging to attain a void-free structure. The water/cement (w/c) ratio of the SIFCON slurry prepared in this study was specified as 0.3, the content of binder was designated as 1000 kg/m<sup>3</sup>, and the silica fume was incorporated as 10% of the binder. It is stated by the previous researchers that the mini-flow diameter of SIFCON slurry should be approximately 38 cm

**Table 1.** Chemical composition and physical properties of cement and silica fume.

Chemical properties	Portland cement	Silica fume
CaO	63.52	2.06
SiO <sub>2</sub>	19.54	91.92
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4.47	0.42
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2.94	0.20
MgO	1.27	3.28
SO <sub>3</sub>	2.73	0.83
K <sub>2</sub> O	0.90	2.58
Na <sub>2</sub> O	0.14	0.55
Loss on ignition (%)	3.92	1.68
Physical properties		
Specific gravity	3.12	2.2
Blaine fineness (m <sup>2</sup> /kg)	384	20000

**Table 2.** Sieve analysis results of sand.

Sieve size (mm)	2.00	1.60	1.00	0.50	0.16	0.08
Percentage passing (%)	0.00	6.37	33.47	67.18	86.92	99.33

for adequate workability for the utilization of steel fiber (e.g. (Ipek et al. 2014, Ipek and Aksu 2019)). In this study, the mini-flow test was carried out as per TS EN 1015-3/A2 (2000) on the trial mixtures using various superplasticizer ratios. Accordingly, the amount of superplasticizer required in the mixture for the flow diameter of  $38\pm 1$  cm was specified as 1.4% of the binder (see Figure 2A). In addition, the mini V-funnel test shown in Figure 2B was conducted and the flow time for SIFCON slurry was obtained as 3.21 s. The mix proportions for the SIFCON slurry used in this study are given in Table 3.

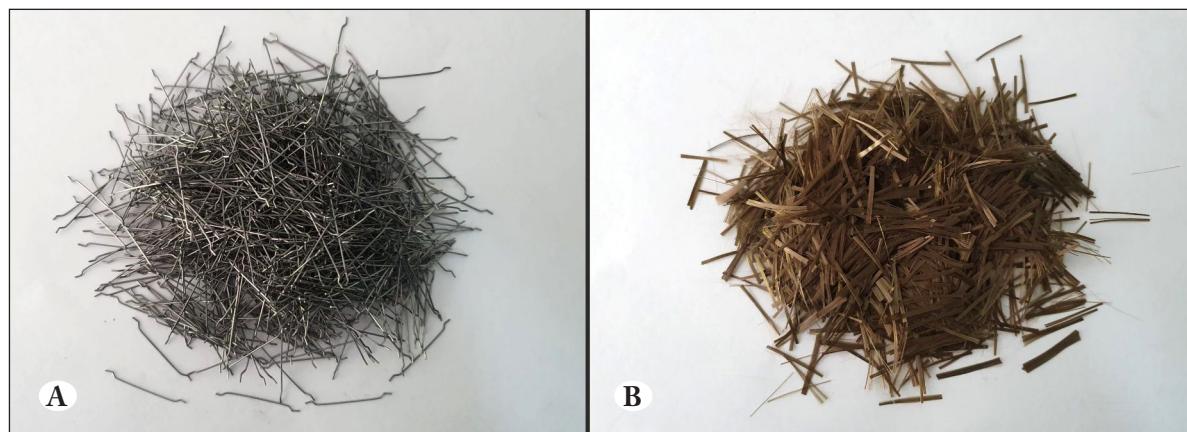
In the mixing procedure for the SIFCON slurry, initially, the cement and silica fume as a binder were mixed, then sand was added and mixed until a uniform distribution was attained. Then, two-thirds of the water was added to the mixture and mixed, and finally, the remaining water mixed

with the superplasticizer was added into the mixture and mixed for another 2–3 minutes.

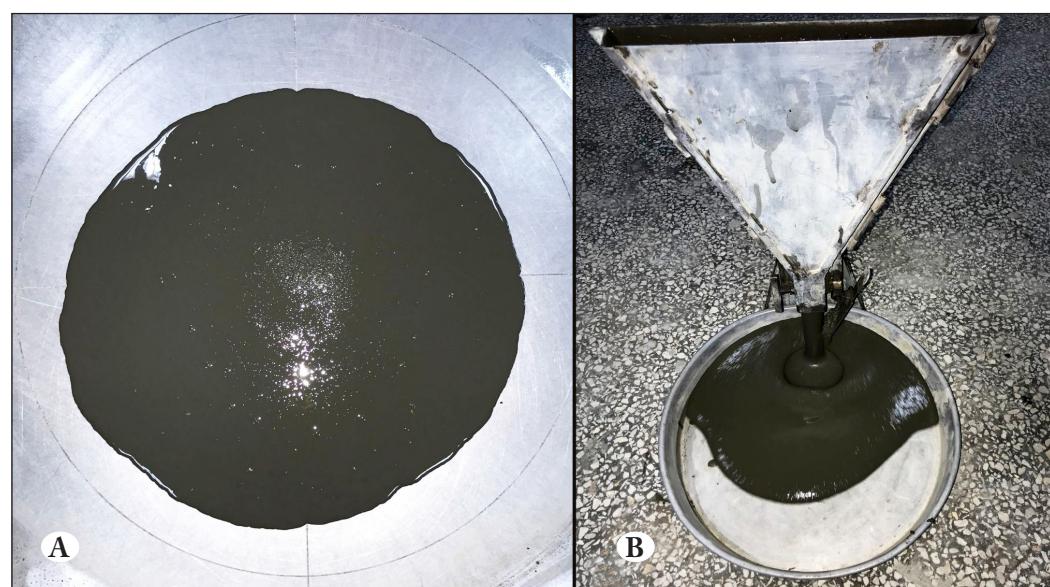
The fibre rate of 6.8% by volume was used in the production of all SIFCON samples. The total number of 5 SIFCON mixtures have been produced with the rates of fibre which are 100% steel fibre (control), 75% steel fibre and 25% basalt

**Table 3.** Mixing ratios for SIFCON slurry in 1 m<sup>3</sup>.

Materials	Amount (kg)
Cement	900
Silica fume	100
Sand	919
Water	300
Superplasticizer	14



**Figure 1.** Fibre used in the production of SIFCON (A) steel fibre (B) basalt fibre.



**Figure 2.** Flowability of SIFCON slurry (A) mini slump-flow (B) mini V-funnel.

fibre, 50% steel fibre and 50% basalt fibre, 25% steel fibre and 75% basalt fibre, and finally 100% basalt fibre. Several studies in the literature suggest considering the multi-layer method for the production of SIFCON samples in order to attain a homogeneous fibre distribution at every point of the mould and to allow the slurry fully flowing through the fibre (Abdalay et al. 2019, Ali 2018, Khamees et al. 2020, Alcan and Bingol 2019, Bajpai and Chandak 2018). Therefore, in the present study, the three-layer technique was used in the production of SIFCON samples. In this method, after one-third of the total fibre volume was randomly placed in the mould, the SIFCON slurry was then poured into the mould for slightly covering the fibre placed in the mould, and similarly, the process was repeated for the other two layers. After 24 hours of casting, the cube and beam specimens were demoulded and cured in water until the day of experiment was conducted.

### 2.3. Testing

The testing programs were designed to identify how the basalt fibre replacement ratios affect the durability and mechanical properties of SIFCON. Accordingly, compressive strength, flexural strength, sorptivity, water absorption, acid attack and Bohme abrasion tests were conducted. Compressive strength values for 7, 14 and 28-day samples were determined using 3 cube sample sets having the dimensions of 50x50x50 mm obtained from each SIFCON mixture according to ASTM C109/C109M-20 (2020). In order to identify the flexural strength values, the three-point flexural tests were carried out complying with ASTM C348-18 (2018) standard on three beam samples having the dimensions of 40x40x160 mm cured up to 7 and 28 days for each mixture.

The sorptivity test was performed on 28-day cured cube samples having the dimensions of 50x50x50 mm, which were initially dried to obtain the constant weight in the oven and then kept in ambient temperature to cool them down. The side surfaces of samples were covered with waterproof tape in order to allow the capillary absorption only from the bottom surface. After measuring the mass, they were placed into the container which was filled with enough water to just cover the bottom surface. In order to obtain the mass gained at different time intervals (i.e. 1, 4, 9, 16, 25, 36, 49 and 64 minutes) the samples were removed out of the container, surface dried and weighed. Accordingly, the sorptivity values were specified considering the slope of regression curve based on the relationship between the amount of water absorbed from the unit surface area and the square root of elapsed time. The water absorption test

was performed using 28-day cured cube samples having the dimensions of 50x50x50 mm complying with ASTM C642-21 (2021). The saturated surface dry weight ( $W_{ssd}$ ) of the SIFCON samples were measured and then the samples were dried in an oven until attaining a constant weight. After the dry weight ( $W_d$ ) measurement of the samples, the water absorption ratios of SIFCON samples were calculated using the equation as follows.

$$WA = \frac{W_{ssd} - W_d}{W_d} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

The performance of SIFCON samples against acid attack was identified by examining the change in weight, compressive and flexural strength values. The cube and prism samples having the dimensions of 50x50x50 mm and 40x40x160 mm cured in water for 28 days were placed in a solution with 7%  $H_2SO_4$  (acid) concentration after the curing time is ended. Another set of samples from each mixture was kept in water to identify the acid effect by comparison. The solution was renewed every 20 days due to the change in the concentration of the acid solution in which the samples were kept. During this acid solution change, the surface of samples was cleaned, dried and their weights were measured. Compressive and flexural strength tests were applied to the samples exposed to  $H_2SO_4$  solution for 90 days and samples kept in water.

Bohme test complying with TS 2824 EN 1338 (2005) was carried out to determine the abrasion resistance of SIFCON samples. The cube samples with a size of  $71 \pm 1.5$  mm were used in this experiment. The 28-day cured samples were dried in the oven until attaining the constant weight. Then the measurements of weight and dimensions of the samples were undertaken. The samples were placed in a clamp and an axial force of  $294 \pm 3$  N was applied. After placing 20 g of standard abrasive grain on the test track, the sample was subjected to 22 revolutions which is referred as a cycle. After each cycle, the disc and the contacted face of the sample were cleaned and the sample was rotated by  $90^\circ$  around its vertical axis. After each 4 cycle-set the dimensions and weight of the sample were measured. After the test was repeated 16 cycle-set, the total volume loss was determined using the equation as follows.

$$\Delta V = \frac{\Delta m}{\rho} \quad (\text{Eq. 2})$$

$\Delta V$  = is volume loss after 16 cycle-set (measured from mass),  $cm^3$

$\Delta m$  = is mass loss after 16 cycle-set, g

$\rho$  = is volume bulk density of the sample  $g/cm^3$

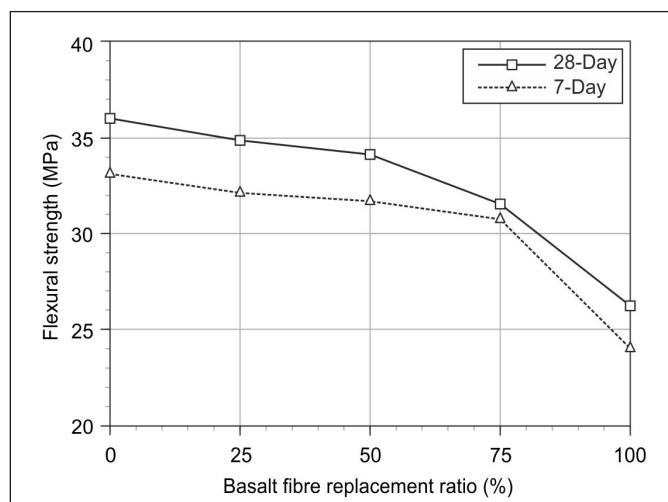
### 3. Results and Discussion

The flexural strength tests were performed on the 7-day and 28-day water cured SIFCON samples having the basalt fibre replacement ratios of 0%, 25%, 50%, 75% and 100%. Figure 3 indicates the variation of flexural strength values in terms of the basalt fibre replacement ratios. Figure 3 shows that the flexural strength values from the 7-day cured samples are in the range of 23–33 MPa and the results from the 28-day cured samples are in the range of 26–36 MPa. The flexural strength values from the 7-day cured samples with the basalt fibre replacement ratios of 0, 25, 50, 75 and 100% were obtained approximately as 33, 32, 32, 31 and 24 MPa, respectively. The flexural strength results from the 7-day cured samples reveal that using basalt fibre replacement ratios up to 75% insignificantly affect the flexural strength of SIFCON samples. However, Figure 3 indicates that using 100% basalt fibre replacement ratio reduces the flexural strength of the 7-day cured samples by approximately 28% compared to the samples produced with 100% steel fibre (control). The flexural strength values from the 28-day cured samples having the basalt fibre replacement ratios of 0, 25, 50, 75 and 100% were obtained approximately as 36, 35, 34, 32 and 26 MPa, respectively. Figure 3 shows that using basalt fibre replacement ratios up to 50% insignificantly affect the flexural strength values from the 28-day cured samples. However, the flexural strength results from the 28-day cured sample having 75 and 100% basalt fibre replacement ratios are reduced by approximately 12% and 27% compared to the samples produced with 100% steel fibre, respectively.

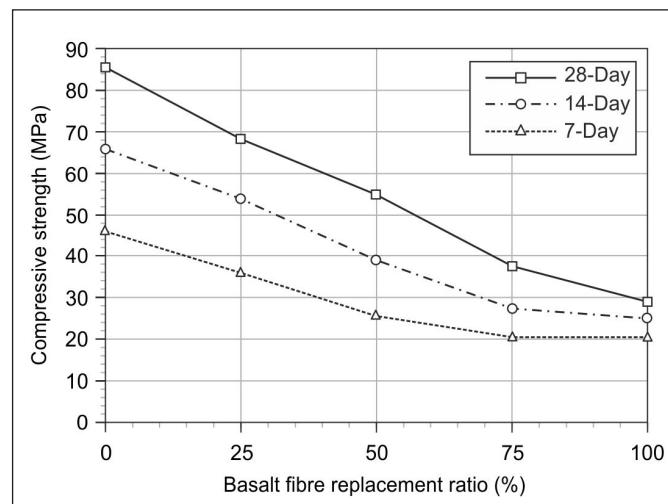
The research conducted by Ipek and Aksu (2019) has revealed the similar results compared to the results obtained in the presented study. It is highlighted in their study that the highest flexural strength values attained in the fully fibre-filled beam samples are specified as 44 MPa and 41 MPa, respectively, for the samples having the combination of equal volume steel fibre having the lengths of 60 mm and 35 mm, and for the samples having the combination of steel fibre having the length of 60 mm (66% of total fiber volume) and polypropylene fibre having the length of 50 mm (33% of total fiber volume).

Figure 4 shows the compressive strength results from the SIFCON samples, which are obtained at the curing ages of 7, 14 and 28 days. The results from the samples with 100% steel fibre (i.e. the basalt replacement ratio of 0%) for all curing ages are within the range of 46–86 MPa. Figure 4 indicates that the compressive strength results vary as 86, 68, 55, 38 and 29 MPa for the samples having the basalt

fibre replacement ratios of 0, 25, 50, 75 and 100% at the curing age of 28-day, respectively. Figure 4 shows that the compressive strength results are reduced with the increase in basalt fibre replacement ratio for all curing ages. The percentage reductions in compressive strength for 7-day cured samples are about 22%, 44%, 56% and 56%, for 14-day cured samples are about 18%, 40%, 58% and 62%, for 28-day cured samples are about 20%, 35%, 56% and 66% (for the basalt replacement of 25%, 50%, 75% and 100%), respectively. When the compressive strength values in Figure 4 are compared in terms of the curing time, the rate of increment corresponding to the same replacement ratios gradually decreases with an increase in basalt fibre content.



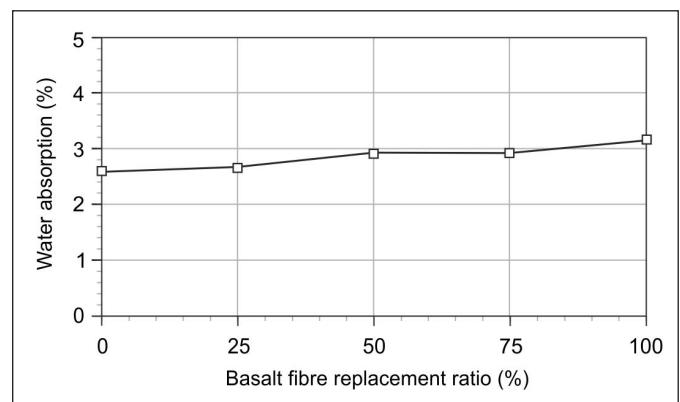
**Figure 3.** The variation of flexural strength values in terms of the basalt fibre replacement ratios.



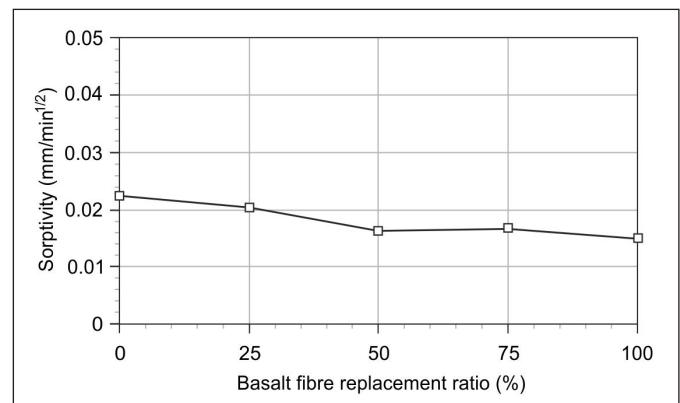
**Figure 4.** The variation of compressive strength values in terms of the basalt fibre replacement ratios.

The difference in compressive strength results for 7, 14 and 28-day cured samples with 100% basalt fibre replacement ratio are minimal compared to the results obtained from the samples having lower replacement ratios. Since basalt fibre is of lower density than that of steel fibre, the quantity of basalt fibre is higher than the steel fibre volumetrically replaced. Since the agglomeration of the basalt fibre occurs in the samples with high replacement ratio, the compressive strength result dramatically reduces due to non-uniformity of the sample, which is attributed to the non-infiltration of cement slurry through the basalt fibre. This outcome of the presented study also coincides with the comments made by Zhang et al. (2020) investigated the mechanical properties of reactive powder concrete (RPC) using steel and basalt fibers. Zhang et al. (2020) reveals that as the amount of steel fiber used is high, the excessive amount of basalt fiber causes adverse effects such as entanglement and agglomeration of the fibers. Accordingly, the contact interface decreases between the fiber and the cementitious material, resulting in a weakening of the bond between the fiber and the cement slurry. This subsequently affects the compactness of the RPC matrix, increases the internal defects, reduces the effective internal bearing contact surface area of the RPC material and makes harder to improve the mechanical properties.

Figure 5 shows the variation of water absorption results obtained from 28-day cured samples in terms of the basalt fibre replacement ratios, which fall within the range of 2.6-3.2 %. Figure 5 indicates that the water absorption values slightly increase with the increment in the basalt fibre replacement ratio, which are about 3%, 13%, 13% and 22% for the basalt ratio of 25%, 50%, 75% and 100%, respectively. The sorptivity values obtained from the SIFCON samples are given in Figure 6 which demonstrates that the results vary in the range of 0.0225-0.015 mm/min<sup>1/2</sup>. Figure 6 shows that the sorptivity coefficients reduce with an increase in the basalt fibre replacement ratio. The percentage reduction in sorptivity result is about 9%, 28%, 25% and 33% for the basalt replacement ratios of 25%, 50%, 75% and 100%, respectively. The capillarity and permeability properties of concrete defer widely depending on the void structure of concrete, which vary in terms of both the continuity and the ratio of voids along with the voids' size variation. Sorptivity depends on the amount of continuous capillary voids in the concrete (viz. total capillary void volume) and their size. Accordingly it is observed in this study that the increase in water absorption capacity and the reduction in the sorptivity occur due to the increase in basalt fiber content of SIFCON since the basalt fibre utilization increases the void size and ratio in the



**Figure 5.** The variation of water absorption values in terms of the basalt fibre replacement ratios.



**Figure 6.** The variation of sorptivity values in terms of the basalt fibre replacement ratios.

vicinity of fiber, which restrains the flow of cement slurry through the fiber properly. Figure 7 indicates the correlation between the sorptivity and the water absorption results obtained from the SIFCON samples. The coefficient of determination level (the R<sup>2</sup> value) for this correlation is also considerably high as 0.98. Bankir, MB (2020) has obtained a similar relationship between the results of the water absorption test and the sorptivity test compared to that of the presented study. It is specified that the capillary water absorption coefficient was low in concretes having high water absorption capacity. This is explained by the bridging effect of the fibers, the movement of water in the fiber line and the number of voids encountered in the concrete.

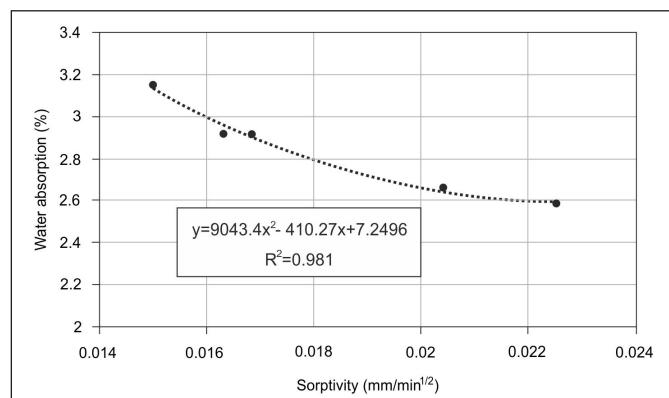
The flexural strength results from the SIFCON samples immersed in 7% sulfuric acid solution and kept in water are shown in Figure 8. This figure also indicates the resulting percentage reduction in the strength values. It demonstrates that for the samples immersed in the aggressive acid solution at 90 days, the flexural strength values are reduced compared

to the samples kept in water at the same period. The results from the samples kept in water are in the range of 28–39 MPa, while the flexural strength values from the samples exposed to the sulfuric acid solution are in the range of 20–37 MPa. Figure 8 implies that the results from the samples exposed to acid solution are reduced with an increase in the basalt fibre replacement ratio. The flexural strength values from the samples exposed to acid solution and having the basalt fibre contents of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% are reduced approximately by 6%, 12%, 17%, 21% and 30% compared to that of the samples kept in water corresponding to the same basalt fibre replacement ratio, respectively.

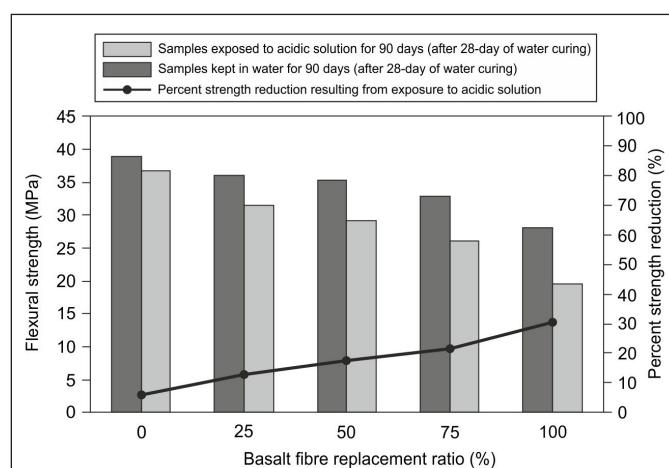
The compressive strength results of SIFCON samples immersed in 7% sulfuric acid solution and kept in water are shown in Figure 9. This figure also indicates the resulting percentage reduction in the strength values. It demonstrates that the compressive strength values from the samples immersed at 90 days in aggressive sulfuric acid solutions are reduced comparing with the samples kept in water at the same period. The results from the samples kept in water are in the range of 52–107 MPa, while the compressive strength values from the samples exposed to the sulfuric acid solution are in the range of 11–43 MPa. Figure 9 shows that the results from the samples exposed to acid solution are reduced with an increase in the basalt fibre replacement ratio. The results from the samples exposed to acid solution and having the basalt fibre replacement ratios of 0%, 25%, 50%, 75% and 100% are reduced approximately by 60%, 72%, 72%, 77% and 78% compared to that of the samples kept in water corresponding to the same basalt fibre replacement ratio, respectively.

Figure 10 shows the time-dependent weight loss results of the SIFCON samples exposed to acid solution. The weight loss values of the samples are in the range of 0–45%. Figure 10 indicates that the weight loss surges by an increase in the exposure time. The weight loss results from the samples containing the basalt fibre replacement ratios of 0% 25% and 50% vary in the range of 0–15%, while the weight loss results from the samples having the basalt fibre replacement ratios of 75% and 100% are diversified within the range of 8–45%. This variation is attributed to the increase of voids in SIFCON owing to the basalt fibre utilisation at a higher rate, accordingly, the acid solution penetrates into the internal structure and subsequently causes more deterioration in the sample.

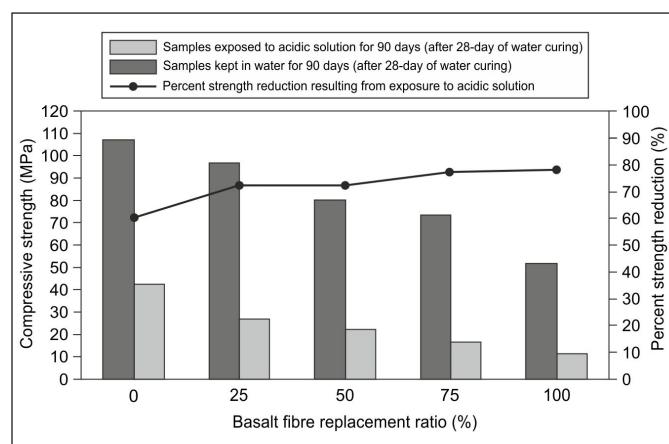
Figure 11 indicates the variation of Bohme abrasion test results obtained from 28-day cured SIFCON samples in



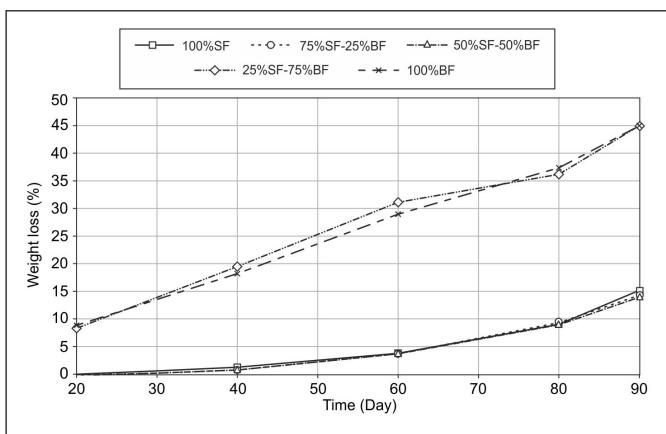
**Figure 7.** Correlation between sorptivity and water absorption values.



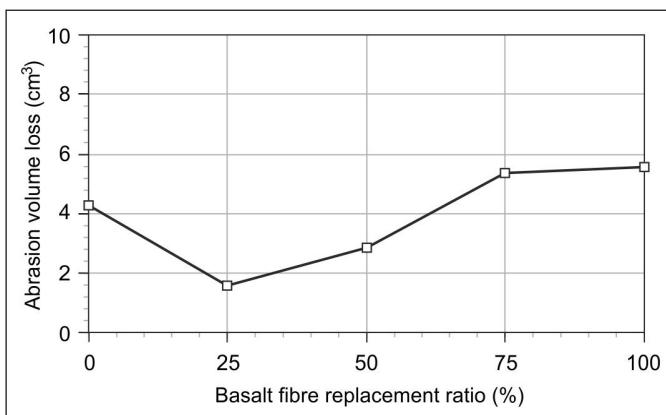
**Figure 8.** The flexural strength values from the samples exposed to acid solution and kept in water, and the percent strength reduction variation.



**Figure 9.** The compressive strength values from the samples exposed to acid solution and kept in water, and the percent strength reduction variation.



**Figure 10.** The time-dependent weight loss variation of SIFCON samples exposed to acid solution.



**Figure 11.** Variation of abrasion loss values for the SIFCON samples in terms of the basalt fibre utilisation ratios.

terms of the basalt fibre replacement ratios. The abrasion loss values of samples are in the range of 1.6–5.6 cm<sup>3</sup>. Figure 11 shows that the abrasion loss is reduced up to the basalt fibre replacement ratio of 50%. The percentage reduction in abrasion loss are about 63% and 33% for the basalt fibre replacement ratios of 25% and 50%, respectively. The percentage increases in abrasion loss from the samples having the basalt fibre replacement ratios of 75% and 100% are about 26% and 31%, respectively.

Atis et al. (2009) states that there is a stronger relationship between surface abrasion and flexural strength rather than compressive strength. This outcome also coincides with the results from the presenting research, in which it is observed that the compressive strength values from the SIFCON samples are reduced with an increase in the basalt fibre replacement ratio, unlike the flexural strength value obtained from 28-day cured samples up to the replacement ratio of 50% (see Figure 3). This signifies that abrasion resistance

is more related to flexural strength rather than compressive strength.

Considering the abrasion volume loss results obtained from the Bohme abrasion test, it is observed that the basalt fibre replacement ratio of up to 50% leads to a reduction in the abrasion volume loss. Since the abrasion is referred to the breaking off the particles from the sample body resulting from the frictional forces caused by the abrasive material or impact forces from the rolling action, it causes the tensile stresses exceeding the corresponding strength of the material subjected to abrasion. It is demonstrated that the fibre act as the crack inhibitors in concrete, which improve the tensile strength and toughness of the samples, and accordingly reduce the abrasion damage. The samples, in which steel and basalt fibre combination is used, demonstrate a superior performance than the samples containing only steel fibre or basalt fibre per se. Thus, a suitable steel and basalt fibre combination provides higher abrasion resistance. In the case of a combined utilisation of macro and micro-fibre, micro-cracks are initially surrounded micro-fibre which delay the coalescence of cracks in the cement paste and mortar phase, and subsequently increase the apparent tensile strength in these phases. Then, the increased stress is transferred to macro-fibre by bridging the micro-cracked region. Thus, convergence and coalescence of cracks are delayed. Accordingly, the utilisation of basalt fibre up to 50% prevents the separation of concrete particles from the sample body due to the friction forces caused by the abrasive material.

#### 4. Conclusion

The following conclusions may be drawn based on the findings from the presented experimental study.

- The flexural strength results from 7-day cured samples reveal that using basalt fibre replacement ratios up to 75% insignificantly affect the flexural strength of SIFCON samples. However, using 100% basalt fibre replacement ratio reduces the flexural strength of 7-day cured samples by approximately 28% compared to the samples produced with 100% steel fibre (control). In the case of 28-day cured samples, using basalt fibre replacement ratios up to 50% also insignificantly affect the flexural strength values. However, the flexural strength results from 28-day cured samples having 75 and 100% basalt fibre replacement ratios are reduce by approximately 12% and 27% compared to the sample produced with 100% steel fibre, respectively.

- The compressive strength reduces with the increase in basalt fibre replacement ratio for all curing age. When the compressive strength values are compared depending on the curing time, the rate of increment corresponding to the same replacement ratios gradually is reduced with an increase in basalt fibre content. The difference in compressive strength results for 7, 14 and 28-day cured samples with 100% basalt fibre replacement ratios are minimal compared to the results obtained from the samples having lower replacement ratios. Since basalt fibre are of lower density than that of steel fibre, the quantity of basalt fibre is higher than the steel fibre volumetrically replaced. Since the agglomeration of the basalt fibre occurs in the samples having high replacement ratio, the compressive strength results are dramatically reduced due to non-uniformity of the sample, which is attributed to the non-infiltration of cement slurry through the basalt fibre.
- The water absorption values are slightly increased with an increment in the basalt fibre replacement ratio due to the increase in the number of pores within the interior structure.
- The sorptivity coefficients are reduced with an increase in the basalt fibre replacement ratio. There is a strong correlation between the sorptivity and the water absorption results obtained from the SIFCON samples.
- The weight loss results from the samples containing the basalt fibre replacement ratios of 0% 25% and 50% vary in the range of 0-15%, while the weight loss results from the samples having the basalt fibre replacement ratios of 75% and 100% diversify in the range of 8-45%. This variation is attributed to the increase of voids in SIFCON owing to the basalt fibre utilisation at a higher rate, the acid solution penetrates into the internal structure and subsequently causes more deterioration in the sample.
- The abrasion loss is reduced up to the basalt fibre replacement ratio of 50%. The percentage reduction in abrasion loss are about 63% and 33% for the basalt fibre replacement ratios of 25% and 50%, respectively. The percentage increases in abrasion loss from the samples having the basalt fibre replacement ratios of 75% and 100% are about 26% and 31%, respectively. This signifies that a suitable steel and basalt fibre combination provides the highest abrasion resistance.

#### 4. References

- Abdalay, N.M.A., Zeini, H.A., Kubba, H.Z. 2019.** Effect of impact load on SIFCON. Global Journal of Researches in Engineering, 19:17-27.
- Akçaözoglu, K., Killi, A. 2021.** The effect of curing conditions on the mechanical properties of SIFCON. Revista de la Construcción, 20:37-51. <https://doi.org/10.7764/RDLC.20.1.37>
- Alcan, H.G., Bingol, A.F. 2019.** Examining SIFCON's mechanical behaviors according to different fiber and matrix phase. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions of Civil Engineering, 43:501-507. <https://doi.org/10.1007/s40996-018-00227-x>
- Ali, M.A. 2018.** Properties of slurry infiltrated fiber concrete (SIFCON). Ph.D. Thesis, Department of Building and Construction Engineering of the University of Technology.
- ASTM C109/C109M-20.** Standard test method for compressive strength of hydraulic cement mortars (Using 2-in. or [50-mm] cube specimens), West Conshohocken, PA, 2020.
- ASTM C348-18.** Standard test method for flexural strength of hydraulic-cement mortars, West Conshohocken, PA, 2018.
- ASTM C642-21.** Standard test method for density, absorption and voids in hardened concrete, West Conshohocken, PA, 2021.
- Atis, C., Karahan, O., Ari, K., Sola, Ö.C., Bilim, C. 2009.** Relation between strength properties (flexural and compressive) and abrasion resistance of fiber (steel and polypropylene)-reinforced fly ash concrete. Journal of Materials in Civil Engineering, 21:402-408. [http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)0899-1561\(2009\)21:8\(402\)](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)0899-1561(2009)21:8(402))
- Bajpai, A., Chandak, R. 2018.** Experimental studies on slurry infiltrated fibrous concrete (SIFCON). International Journal for Technological Research In Engineering, 5:3180-3183.
- Bankir, M.B. (2020).** Investigation of mechanical and durability properties of hybrid fiber concretes and performance optimization. Ph.D. Thesis, Iskenderun Technical University Engineering and Science Institute, 168 p. (In Turkish)
- Beglariagale, A., Yalçınkaya, Ç., Keskinatış, M., Yazıcı, H. 2014.** The influence of fiber-matrix bond characteristics on tensile performance of SIFCON. 11<sup>th</sup> International Congress on Advances in Civil Engineering, Istanbul, Turkey.
- Canbay, M. 2014.** The effect of steel and polypropylene fibers as combination and single use SIFCON. M.Sc. Thesis, Sakarya University The Graduate School of Natural and Applied Sciences, 91 p. (In Turkish)
- Elavarasi, D., Mohan, K.S.R. 2016.** Performance of slurry infiltrated fibrous concrete (SIFCON) with silica fume. International Journal of Chemical Sciences, 14:2710-2722.

- Giridhar, R., Rao, P.R.M. 2015.** Determination of mechanical properties of slurry infiltrated concrete (SIFCON). International Journal for Technological Research in Engineering, 2:1366-1368.
- Ipek, M., Aksu, M. 2019.** The effect of different types of fiber on flexure strength and fracture toughness in SIFCON. Construction and Building Materials, 214:207–218. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.04.055>
- Ipek, M., Aksu, M., Yilmaz, K., Uysal, M. 2014.** The effect of pre-setting pressure on the flexural strength and fracture toughness of SIFCON during the setting phase. Construction and Building Materials, 66:515–521. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.04.107>
- Khamees, S.S., Kadhum, M.M., Alwash, N.A. 2020.** Effects of steel fibers geometry on the mechanical properties of SIFCON concrete. Civil Engineering Journal, 6:21-33. <http://dx.doi.org/10.28991/ccj-2020-03091450>
- Lankard, D.R. 1984.** Properties, applications: slurry infiltrated fiber concrete (SIFCON). Concrete International, 6:44-47.
- Lankard, D.R., Newell, J.K. 1984.** Preparation of highly reinforced steel fiber reinforced concrete composites. Fiber Reinforced Concrete—International Symposium, SP-81, American Concrete Institute, pp. 287–306.
- Sharma, H.K., Singh, V.P. 2008.** Performance characteristics SIFCON plates. 2<sup>nd</sup> IASME/WSEAS International Conference on GEOLOGY and SEISMOLOGY (GES'08), pp. 149-154, Cambridge, UK.
- Soylu, N., Bingöl, A.F. 2019.** Research on effect of the quantity and aspect ratio of steel fibers on compressive and flexural strength of SIFCON. Challenge Journal of Structural Mechanics, 5:29-34. <https://doi.org/10.20528/cjsmec.2019.01.004>
- Tabak, V. 2004.** Effect of fiber aspect ratio and fiber volume variation on mechanical properties of steel concrete. M.Sc. Thesis, Dokuz Eylül University the Graduate School of Natural and Applied Sciences, 148 p. (In Turkish)
- TS 2824 EN 1338.** Concrete paving blocks-Requirements and test methods. Turkish Standards Institute, 2005.
- TS EN 1015-3.** Methods of test for mortar for masonry - Part 3: Determination of consistence of fresh mortar (by flow table). Turkish Standards Institute, 2000.
- TS EN 196-1.** Methods of testing cement - Part 1: Determination of strength. Turkish Standards Institute, 2016.
- Tuyan, M., Yazici, H. 2012.** Pull-out behavior of single steel fiber from SIFCON matrix. Construction and Building Materials, 35:571-577. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2012.04.110>
- Vijayakumar, M., Kumar, P.D. 2017.** Experimental investigation on SIFCON with using different type fibers. International Journal of Scientific Research in Civil Engineering, 2:1-4.
- Wang, M.L., Maji, A.K. 1994.** Shear properties of slurry infiltrated fiber concrete (SIFCON). Construction and Building Materials, 8:161-168. [https://doi.org/10.1016/S0950-0618\(09\)90029-0](https://doi.org/10.1016/S0950-0618(09)90029-0)
- Wecharatana, M., Lin, S. 1992.** Tensile properties of high performance fiber reinforced concrete. High Performance Fiber Reinforced Cement Composites, London, pp. 248-258.
- Yan, A., Wu, K., Zhang, X. 2002.** A quantitative study on the surface crack pattern of concrete with high content of steel fiber. Cement and Concrete Research, 32:1371-1375. [https://doi.org/10.1016/S0008-8846\(02\)00788-3](https://doi.org/10.1016/S0008-8846(02)00788-3)
- Yardımcı, M.Y., Yiğiter, H., Aydin, S., Yazıcı, H. 2007.** Flexural performance of steam cured SIFCON produced with steel and synthetic-macro fibers. 3<sup>rd</sup> International Symposium on Sustainability in Cement and Concrete, pp. 681-690, Istanbul, Turkey.
- Yazıcı, H., Aydin, S., Yiğiter, H., Yardımcı, M.Y., Alptuna, G. 2010.** Improvement on SIFCON performance by fiber orientation and high-volume mineral admixtures. Journal of Materials in Civil Engineering, 22:1093-1101. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0000114](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0000114)
- Zhang, Y., Liu, J., Wang, J., Wu, B. 2020.** Effect of hybrid steel-basalt fiber on behaviors of manufactured sand RPC and fiber content optimization using center composite design. Advances in Civil Engineering, Article ID 8877750, 17 p. <https://doi.org/10.1155/2020/8877750>



## Ratlarda Oluşturulan Kritik Boyutlu Kalvaryal Defektlerde Bakteriyel Selüloz Temelli Hidroksiapatit (BS-HAp) Nanokompozitinin Kemik Oluşumu Üzerine Etkisi

*The Effect of Bacterial Cellulose Based Hydroxyapatite (BC-HAp) Nanocomposite on Bone Formation in Critical Sized Calvarial Defects in Rats*

Aysan Lektemür Alpan<sup>1\*</sup>, Nazime Mercan Doğan<sup>2</sup>, Tuğba Hilal Denizli<sup>2</sup>, Özlem Özmen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pamukkale Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Kınıklı Kampüsü, Pamukkale, Denizli, Türkiye

<sup>2</sup>Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kınıklı Kampüs, Denizli, Türkiye

<sup>3</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veterinerlik Bölümü, Patoloji Anabilim Dalı, İstiklal Yerleşkesi, Burdur, Türkiye

### Öz

Bu çalışmada, sıçanlarda kritik boyuttaki kalvaryal defektlerde bakteriyel selüloz-hidroksiapatit (BS-HAp) kompozitinin kemik rejenerasyonundaki potansiyelinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. *Komagataibacter xylinus* S4 izolatından elde edilen BS-HAp taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenerek içeriğindeki Ca ve P iyonlarının yoğunluğu tespit edilmiştir. Ratlarda oluşturulan kalvaryal defektlere elde edilen BS-HAp dondurulup kurutularak uygulanmıştır. 4. ve 8. haftanın sonunda alınan örnekler histopatolojik olarak incelenmiştir. SEM sonuçlarına göre BS lifleri, ince demetler halinde olup fibril çapı 42,11 nm olarak tespit edilmiştir. HAp, BS pelikülüne dahil olarak içeriğinde yüksek oranda Ca ve P elementleri saptanmıştır. Yapılan in-vivo deneylerin sonunda 4. haftada herhangi bir kemik oluşumuna rastlanmamıştır. BS-HAp grubunda düzgün bağ doku oluşumu gözlenmiştir. 8. haftanın sonunda BS-HAp grubunda biyomateryal komşuluğunda yeni kemik alanları izlenmiştir. *Komagataibacter xylinus* S4 izolatından elde edilen BS-HAp biyomateryal olarak kullanıldığından 8. haftada yeni kemik oluşumunu indüklemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyel selüloz, Biyomateryal, Hidroksiapatit, Kemik rejenerasyonu, Rat

### Abstract

This study, it was aimed to evaluate the potential bone regeneration effect of bacterial cellulose-hydroxyapatite (BC-HAp) composite in calvarial defects of critical size in rats. BC-HAp obtained from *Komagataibacter xylinus* S4 isolate was examined under a scanning electron microscope (SEM), and the concentration of Ca and P ions in its content was determined. BC-HAp was freeze-dried and applied to calvarial defects. Samples taken at the end of the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> weeks were examined histopathologically. According to SEM results, BC fibers were in thin bundles and the fibril diameter was determined as 42.11 nm. As HAp is included in the BC pellicle, high levels of Ca and P elements were detected in its content. At the end of the in-vivo experiments, no bone formation was found in the 4<sup>th</sup> week. Uniform connective tissue formation was observed in the BC-HAp group. At the end of the 8<sup>th</sup> week, new bone areas were observed in the BC-HAp group adjacent to the biomaterial. When BC-HAp obtained from *Komagataibacter xylinus* S4 isolate was used as a biomaterial, it induced new bone formation at 8 weeks.

**Keywords:** Bacterial cellulose, Biomaterial, Hydroxyapatite, Bone regeneration, Rat

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: ysnlpn@gmail.com

Aysan Lektemür Alpan [orcid.org/0000-0002-5939-4783](https://orcid.org/0000-0002-5939-4783)

Nazime Mercan Doğan [orcid.org/0000-0001-8590-8381](https://orcid.org/0000-0001-8590-8381)

Tuğba Hilal Denizli [orcid.org/0000-0003-0200-4948](https://orcid.org/0000-0003-0200-4948)

Özlem Özmen [orcid.org/0000-0002-1835-1082](https://orcid.org/0000-0002-1835-1082)



## 1. Giriş

Diş kaybı, sinüs pnömatizasyonu, periodontal hastalık, faciyal ve dentoalveoler travma, odontojenik ve odontojenik olmayan kistler ve tümörler, oral patolojik lezyonlar ve daha birçok durumda alveoler kemik defektleri oluşmaktadır (Tolsunov vd. 2019). Normal anatomiç çerçeveyi korumak, boş alanı ortadan kaldırmak, estetik restorasyon ve dental implant yerleştirmek adına, oluşan bu defektlerin rekonstrüksiyonu gereklidir. Defektin içini doldurup fiziki bir yapı sağlayan kemik ve kemik yerine geçen materyaller kullanılmaktadır. Bu materyallerin genel ismi "kemik grefti" olarak geçmektedir. Kemik greftleri; osteogenezi, osteoindüksiyonu ve osteokondüksiyonu aktive etmek için kullanılmaktadır (Nandi vd. 2010). Günümüzde kalsiyum fosfat (trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit), kalsiyum sülfat ve biyoaktif cam gibi seramik bazlı malzemeler, yeni mineralize doku ve greft materyali arasında yakın bağ oluşturması nedeniyle sıkılıkla kullanılmaktadır (Boccaccini ve Blaker 2005, Laurencin vd. 2006). Özellikle hidroksiapatit (HAp) kemiğe benzer yapısı ve kompozisyonu dolayısıyla kemik rejenerasyonu uygulamalarında yaygın kullanımı (Wang vd. 2007) onun osteoenjenik olmayan osteokondüksiyon özelliğinden kaynaklanmaktadır. Sentetik HAp, osteointegrasyon oranını artırmak için implant çevresinde başarıyla kullanılmıştır (Moore vd. 2001).

Günümüzde farklı nanokompozit türlerinin (organik-inorganik, inorganik - inorganik ve biyo-organik nano malzemeler), ilaç iletimi, kanser tedavisi, tıbbi görüntüleme ve kimyasal algılama gibi biyomedikal alanlarda kullanımlarına izin verilmiştir (Bramhill vd. 2017). Nanokompozit geliştirmede yoğun olarak araştırılan bir polimer olan bakteriyel selüloz (BS), su tutma kapasitesi yüksek olduğu için yaraya nemli bir ortam sağlar ve yaranın iyileşmesini destekler. Yüzeyindeki hidroksil gruplarının fazlalığı nedeniyle, üretim sırasında ya da üretildikten sonra kolaylıkla modifiye edilebilmekte ve özellikle yaralarda mikroorganizma gelişimini engellenmek amacıyla antimikrobiyal özellikler kazandırılmaktadır (Czaja vd. 2006, Oliveira vd. 2016). BS lifleri kemik kollajenine benzer bir yapıya sahiptir bu yüzden kemik rejenerasyonu için kullanımı alanında yapılan araştırmalar son yıllarda artmıştır (Vadaye vd. 2018). BS'den elde edilen membranlar, kritik ve kritik olmayan kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu için bariyer membran olarak kullanılmıştır (Lee vd. 2015). BS'nin üretim miktarı, kompozisyonu ve buna bağlı olarak biyolojik özellikleri de türde spesifiktir ve bu hem teknolojik hem de bilimsel amaçlar için dikkate alınması gereken önemli bir değişkendir. Modifiye edilme-

miş selülozun antibakteriyel ve antibiyofilm etkisi ilk kez yerel izolatımız olan *Komagataibacter xylinus S4* (*K. xylinus*) ile yapılan çalışmamızda gösterilmiştir (Top vd. 2021). BS'lerin özellikleri ve HAp'in etkili osteoenjenik yeteneği ve gücü göz önüne alındığında, bunları kemik rejenerasyonu için hem biyo hem de mekanik özelliklere sahip hibrit yapı iskelelerine entegre etmek umut verici bir strateji olarak görülmektedir (Liu vd. 2021).

Piyasada kullanılan çok sayıda greft materyallerin pahalı olması ya da kolaylıkla ulaşılaması gibi dezavantajlarından dolayı BS kaynaklı yeni tıbbi malzemelerin üretimi ve selülozun alternatif biyo-materyal potansiyeline ilgiyi çekmiştir. Literatürde *K. xylinus S4* suşundan elde edilen BS-HAp'in kemik rejenerasyonuna etkisini değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda sunulan makale, BS-HAp'tan elde edilen materyalin kemik rejenerasyonuna olan etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. BS' nin fizikokimyasal özelliklerine ve HA'nın kemik rejenerasyonuna önemli katılımına dayanarak, bu çalışmanın amacı, ratlarda oluşturulan kritik boyutlu kalvaryal defekt modelinde *K. xylinus S4* suşundan elde edilen BS-HAp nanokompozitinin kemik rejenerasyonu potansiyelini değerlendirmektir.

## 2. Gereç ve Yöntemler

### 2.1. Bakteriyel Selüloz Üretimi

Çalışmada, selüloz ürettiği bilinen *Komagataibacter xylinus S4* yerel izolat kullanılmıştır (Top vd. 2021). Bakteri, Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür stoklarından temin edilmiştir. BS üretimi için M1A05P5 besiyeri (glukoz 10 gr/l, yeast extract 10 gr/l, pepton 7 gr/l, asetik asit 1.5 gr/l ve 10 ml/l etanol) kullanılmıştır (Cakar vd. 2014). Kültür 30°C'de 3 ile 4 gün inkübe edilmiş ve yüzeyde oluşan selüloz pelikülü nazikçe alınmış ve distile su ile ön yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra besiyerinden gelebilecek tüm kalıntıların uzaklaştırılması için selüloz pelikülü 0,5 M NaOH içerisinde 90°C'de 30dk bekletilmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra BS, NaOH ile muamele edilmiştir. Son olarak, nötr pH'ya ulaşana dek distile su ile yıkanan BS, analiz için buzdolabında saklanmıştır.

### 2.2. Hidroksiapatit Sentezi

Hidroksiapatit (HAp) sentezi, Fosfat ve Ca öncülleri olarak  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  çözeltileri kullanılarak *in vitro* kimyasal çökelim metodu ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikli olarak 0,6 M  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  ve 1,0 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  çözeltilerinin pH'ları, konsantrasyon  $\text{NH}_4\text{OH}$

ile 10,2'ye ayarlanmıştır. Fosfat içeren çözelti, kalsiyum içeren çözeltiye 70 °C'de damlatılarak ilave edilmiş ve 48 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Oluşan çökelti (HAp partikülleri) toplanmış ve 4 kere distile su ile yıkanmıştır. 60°C'de 24 saat kurutulan HAp partikülleri öğütülerek toz haline getirilmiştir (Grande vd. 2009).

### **2.3. Bakteriyel Selüloz-Hidroksiapatit kompozit (BS-HAp) Sentezi**

Homojen biyomimik mineralizasyon reaksiyonun gerçekleştirmesini için bakteriyel selüloz 0,1 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisinde 37°C'de 3 gün inkübe edilerek aktifleştirildi. Daha sonra HAp mineralizasyonunu başlatmak için BS, 1,5xSBF'de 37°C'de 7 ile 14 gün inkübe edildi. Elde edilen BS-HAp kompoziti liyofilize edildi (Hong vd. 2006). Oluşturulan kafa defektine yerleştirilmek üzere dondurulup kurutuldu.

**Sentetik Vücut Sıvısı (SBF);** NaCl (99.5%), NaHCO<sub>3</sub> (99.5%), KCl (99.0%), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (99.5%), MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (99.0%), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> (99.5%), CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (99.0%) ve HCl gibi kimyasallardan oluşmaktadır. 960 mL distile su içerisinde sırası ile 6,5456 gr NaCl; 2,2682 gr NaHCO<sub>3</sub>; 0,373 gr KCl; 0,1419 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O eklendikten sonra sıcaklık 37°C'ye çıkarıldı. 0,3049 MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O; 9 mL 1M HCl; 0,3675 gr CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,071 gr Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 6,057 gr (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub> eklendikten sonra 30 mL 1M HCl kullanılarak pH 7,4'e ayarlandı. Her bir kimyasal distile su içerisinde eklendiğinde üçer dakika karıştırıldı. Hazırlanan SBF, BS-HAp sentezinde kullanılmak üzere +4 C°de muhafaza edildi (Tas 2000).

### **2.4. Taramalı Elektron Mikroskopu Görüntüleri (SEM görüntüleme)**

BS-HAp materyalinin morfolojik yapısı, Pamukkale Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (Denizli) Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) analizi ile incelenmiştir.

### **2.5. Hayvan Deneyi**

Bu araştırma, Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (PAUHDEK-2018/19). Çalışmamızda altı adet erkek 320-400 gr Wistar rat (2-3 aylık) kullanılmıştır. Tüm hayvanlar 22±1 °C'de 12 saatlik aydınlichkeit/karanlık döngüsünde kafeslerde tutulmuştur. Ratlar, ötenaziye kadar yeteri kadar kemirgen yemi ve su almıştır. Deneyler Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

### **2.5.1 Cerrahi İşlemler**

Çalışmada tüm işlemler steril ortamda gerçekleştirilmiş olup hayvanların anestezisi intramüsküler enjeksiyon yöntemi ile 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun 2%, Bayer, İstanbul, Turkey) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Turkey) kullanılarak yapılmıştır. Genel anesteziyi takiben ratların kafa bölgesi tıraş edilip povidone iyot ile kafa derisi dezenfekte edilmiştir. Rat kafa derisinde kalvaryal kemigin bitimine kadar bir kesi atılarak kafa derisi ve periost, kalvaryadan ayrılmıştır. Bunu takiben ratların kalvaryalarında parietal kemigin sağında ve solunda 5mm'lik defektler trepan frez ve steril salın soğutması ile açılmıştır (Alpan vd. 2016). Sol defekt bölgесine, BS-HAp'tan oluşturulan greft materyali defektin çapı kadar hazırlanıp yerleştirilmiştir. Sağ defekt ise boş bırakılmıştır (Şekil 1). Daha sonra periost greft stabilizasyonu ve defekt beslenmesini sağlamak için 5-0 poliglaktin 910 (Vikril Jonson&Johnson/ethicon) ile süture edilmiştir. Kafa derisi ise 4-0 ipek sütür ile suture edimiştir. Postoperatif olarak ratlara 50 mg/kg Seftriakson (Cephaxon-Toprak) *i.m.* ve 4 mg/kg Carprofen (Rimadyl- Pfizer) 20 cc flakon 3 gün süre ile subkütanöz olarak verilmiştir. Ratlar, 4 ve 8 haftalık iyileşme periyodundan sonra 200 mg/kg *i.p.* sodyum pentotal enjeksiyonu (Petothal, Abbott, ABD) kullanılarak sakrifiye edilmiştir.

### **2.5.2. Histolojik Analizler**

Histopatolojik incelemeler için defekt alanlarından alınan örnekler %10 nötr formalin ile sabitlendi. 2 günlük fiksasyondan sonra numuneler EDTA (etilendiamintetraasetik asit) (0,1 M) solüsyonunda 1 hafta süreyle dekalsifiye edildi.



**Şekil 1.** Rat kalvaryasındaki çalışma gruplarının görüntüsü. Sol defekt bölgesinde BS-HAp, sağ defekt bölgesi boş bırakılmıştır.

Ardından doku örnekleri otomatik doku işleme ekipmanı (Leica ASP300S, Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) tarafından rutin olarak işlendi. Parafin bloklarına gömülüş örneklerden 5 mikron kalınlığında seri kesitler, tam otomatik döner mikrotom (Leica 2155, Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) ile alındı. Daha sonra histopatolojik incelemeler için Hematoxylin-Eosin (HE) ile boyanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi. Defekt alanındaki kemik iyileşme bölgesi aşağıdaki gibi puanlandı. Histomorfometrik parametreler ve hesaplamalar;

Toplam iyileşme alanı (THA; mm<sup>2</sup>), defekt kapanma oranı (DCR;%), yeni oluşan kemik alanı (NFB; mm<sup>2</sup>) ve artık materyal alanı (RMA; mm<sup>2</sup>) hesaplandı (Jung vd. 2015). Lezyon bölgesindeki osteoblast ve osteoklastların sayısı 1,23 mm<sup>2</sup> alanda (400 X büyütme) sayıldı (Araujo vd. 2015). Morfometrik analizler ImageJ (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda MD) kullanılarak yapıldı.

## 2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın verileri SPSS ver 21 ile değerlendirilmiştir. Grupların karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile gerçekleştirılmıştır. 4. Hafta ve 8. Hafta verileri ise Wilcoxon testi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

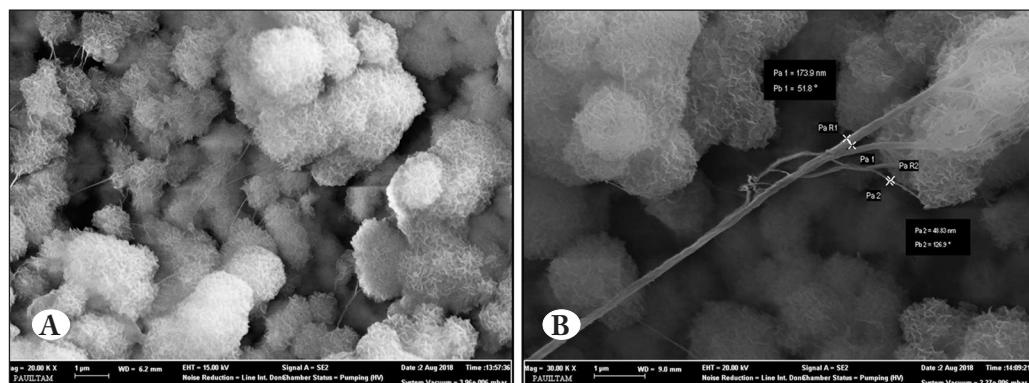
Bu çalışmada, yerel bir izolat olan *K. Xylinus S4* ile üretilen BS-HAp nanokompozitinin, ratlarda oluşturulan kalvaryal defektler üzerine olan kemik rejenerasyon potansiyeli değerlendirilmiştir. Farklı analizlerde gözlemlenen sonuçlar, BS-HAp nanokompozitinin, ratlarda oluşturulan kritik boyutlu defektlerde 8. haftada kemik rejenerasyonunu desteklediği sonucuna varılmıştır. BS; Azotobacter, Pseudomonas, Salmonella and Sarcina ventriculi, *Pseudomonas*, *Salmonella* ve *Sarcina ventriculi* gibi belirli bakteri türleri tarafından hücre dışı olarak sentezlenen bir materyaldir. Bunlar arasında en etkili ve dolayısıyla selüloz üretimi için en çok kullanılan bakteriler *Gluconacetobacter xylinum*, *Gluconacetobacter hanseenii* ve *Gluconacetobacter pasteurianus*'tur (Torres vd. 2019). *Komagataeibacter* cinsinin selüloz üretme kabiliyeti ile dikkat çekici olduğu bulunmuştur (Wang vd. 2018).

Hem saflığı hem de yüksek derecede biyoyumluluk özelliği ile bakteriyel selüloz, kemik doku mühendisliği için potansiyel bir iskele görevi görmektedir. Özellikle toksik olmaması ve yüksek şişme yeteneğinden dolayı BS, biyomedikal uygulamalarda doğal ve sentetik polimerler arasında ön plana çıkmıştır (Svensson vd. 2005). Kollajen ve

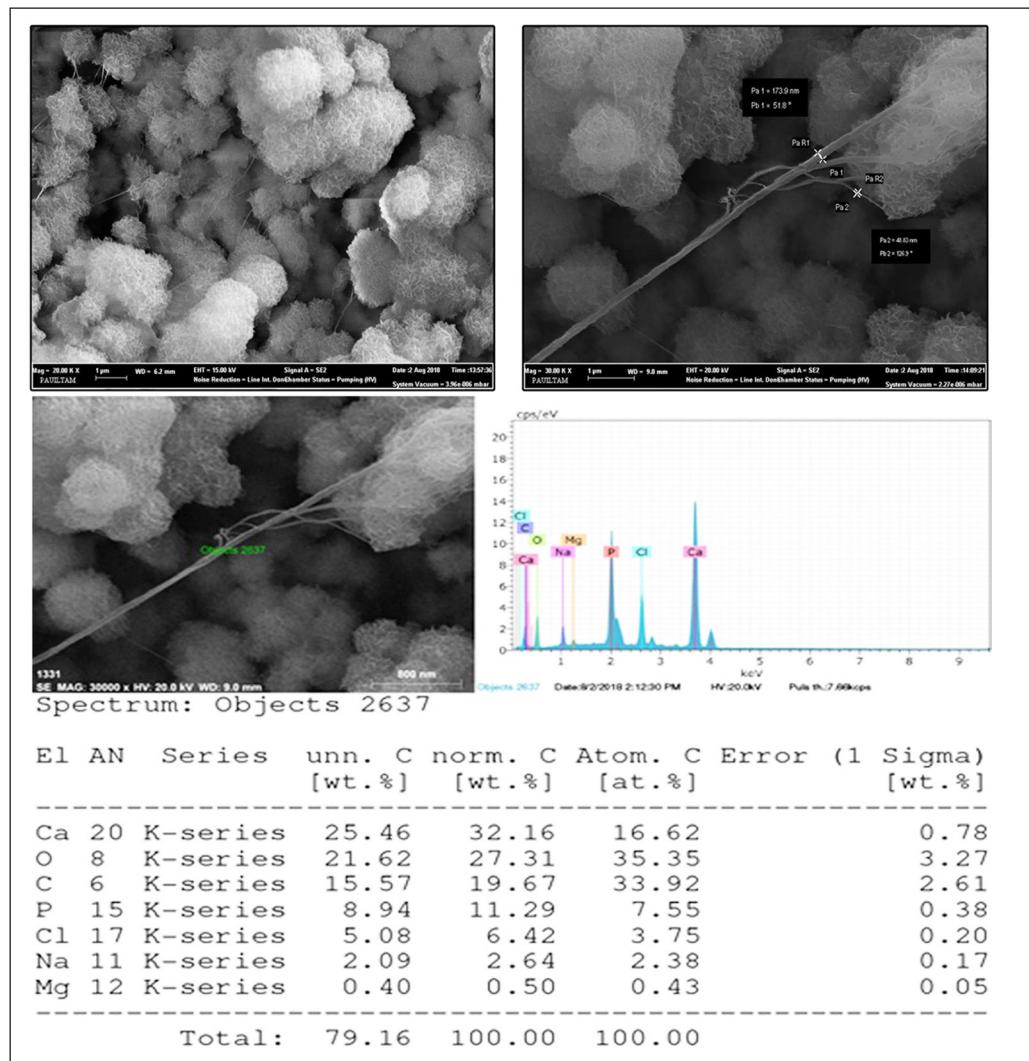
jelatin ile kıyaslandığında, BS hayvansal kaynaklı olmadığı için alerjik de değildir (Fontana vd. 1990). BS, ağısı ultra ince fiber yapısı nedeniyle önemli mekanik özellikler gösterir. BS'nin mekanik özellikleri, bitki selülozünden daha güçlündür (Wahid vd. 2021). Yapay HAp, kemiğin doğal HAp'ı ile aynı kimyasal ve kristal yapıya sahiptir ve kemik rekonstrüksiyonu için kullanılmaktadır. Bu bağlamda, çeşitli çalışmalar, herhangi bir toksisite olmaksızın osteoblast hücrelerinin çoğalmasını arttıracak kemik onarımı için BS ile HAp'ı araştırmıştır (Favi vd. 2016, Grande vd. 2009).

BS ve BS-HAp'ın morfolojik görünümleri SEM ile incelenmiş ve mikrograflar Şekil 2'de verilmiştir. BS lifleri, ince demetler halinde olup fibril çapı 42,11 nm'dir. Farklı ortamlardan elde edilen BS'nin morfolojik görünümü ve fibriler yapısı farklılık gösterir. Örneğin Jung ve arkadaşlarına (Jung vd. 2010)'na göre BS, ultra ince selüloz fibrillerinden oluşan retiküler yapıdadır ve bu fibrillerin çapı gliserollu ortamda yaklaşık 65-80 nm iken, glukozlu ortamda 75-90 nm'dir. Gliserol ve melas içeren ortamdan elde edilen selülozun fibril çapı ise 35-70 nm'dir (Vazquez vd. 2013). *Acetobacter xylinum* selülozik fibrilleri ise 128-207 nm arasında değişmektedir (Gayathry ve Gopalaswamy 2014). Çalışmamızın SEM görüntülerine göre HAp, küresel globüler yapıdadır (Şekil 3). BS-HAp kompozitinde ise, BS liflerinin HAp küresel globüllerin üzerini homojen olarak kapladığı ve bu küresel globüllerin kümeler halinde olduğu görülmüştür. İnce selüloz fibrillerin daha kalın demetler (173 nm) halinde olması BS ve HAp arasında güçlü bağlanmayı göstermektedir. Ayrıca BS-HAp kompozitinin SEM-EDS analizi, HAp'nin kimyasal yapısında bulunan P ve Ca elementlerin yoğunluğu dikkati çekmiştir. Bu elementlerin varlığı, HAp'in BS pelikülüne dahil olduğunu doğrulamıştır (Şekil 3).

Çalışmamızda BS ile HAp entegre edilerek, kemik rejenerasyonunda kullanılmak üzere potansiyel bir biyomaterial elde edilmeye çalışılmıştır. Araştırmalar, BS bazlı hidrojel yapı iskelelerinin doku rejenerasyonu uygulaması için potansiyel bir biyomaterial haline gelebileceğini göstermiştir (Jiang vd. 2018). BS biyoyumlu bir biyopolimerdir ve yüksek kristallik, ultra ince ağ yapısı ve yüksek su emme kabiliyetine sahiptir. BS'nin bu önemli yapısal ve fonksiyonel özellikleri, kas-iskelet/doku mühendisliği/kemik biyomühendisliği uygulamalarında önemini artırmaktadır (Basu vd. 2018). Betatrikalsiyum fosfat ( $\beta$ -TCP), okta-kalsiyum fosfat (OCP) ve HAp gibi biyoaktif kalsiyum fosfat dolgu maddeleri, biyomaterialın osteoiletim ve osteoindüksiyon özelliklerini iyileştirir (Muthukumar vd. 2016) ayrıca HAp



**Şekil 2.** Bakteriyel sellüloz (A) ve Hidroksiapatitin (B) SEM görünümü.



**Şekil 3.** BS-HAp kompozitinin SEM ve SEM-EDS analizi.

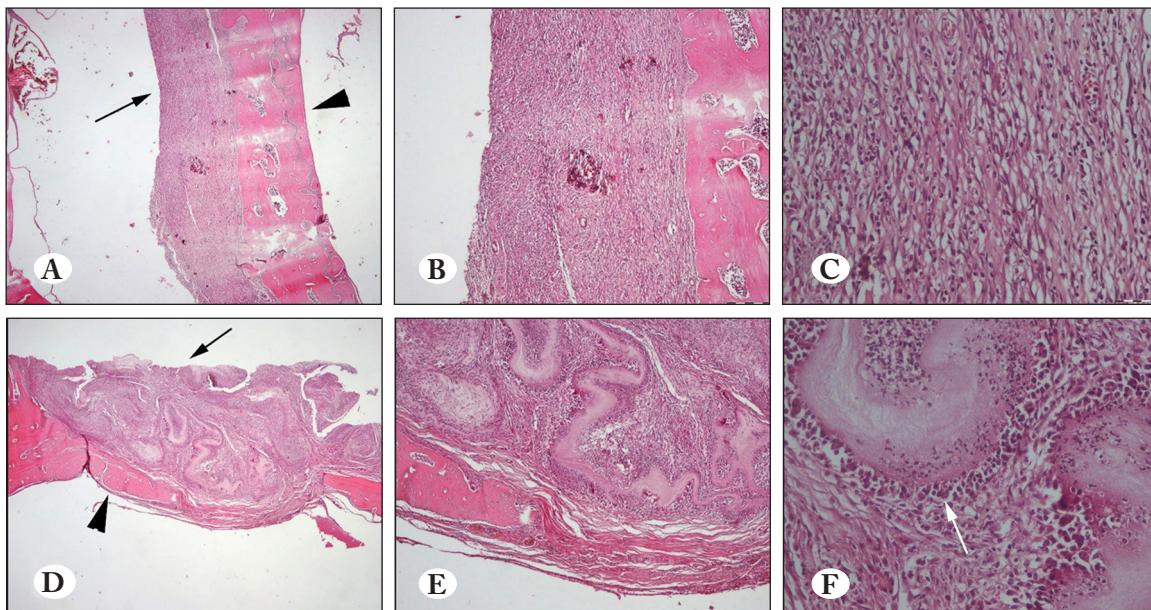
kemiğin ana bileşenlerinden biri olduğundan çalışmamızda HAp kullanımını tercih edilmiştir.

Çalışmamızda 4 haftanın sonunda dekalsifikasyon sonrası ilk 3 ratin kafatasının temporal bölgesinde oluşan lezyonlardan kesitler alındı. BS-HAp uygulanan bölgede düzgün

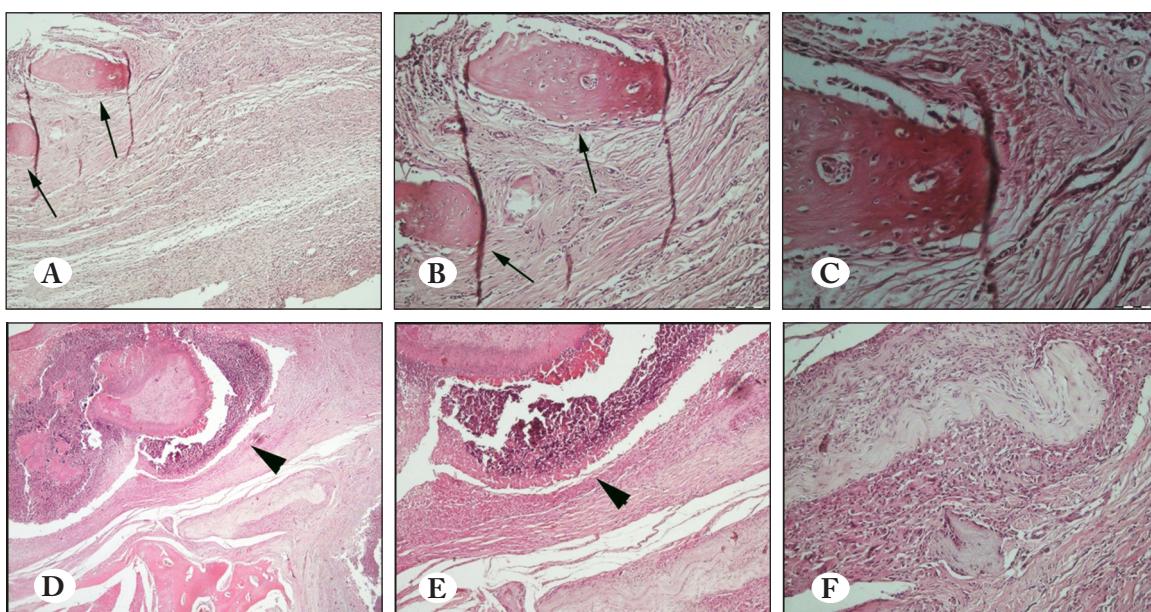
bir bağ dokusu oluşumu görüldürken, boş defekt bölgesinde aşırı enflamasyon izlendi (Şekil 4). Boş defekt grubuna göre BS-HAp grubunda artmış osteoblast sayısı ve azalmış osteoklast sayısı saptandı (Çizelge 1). Bu aşamada her iki grupta da kemikleşme saptanmadı. 8 haftalık örneklerde ise BS-HAp grubunda yeni oluşan kemik adacıkları görür-

ken, boş defekt bölgesinde, belirgin bir iltihabi reaksiyon görüldü. BS-HAp uygulanan defekt alanlarının çevresinden kemik oluşumu ve çok sayıda kemikli adacık izlendi. Boş defekt bölgesinde defekt sınır alanından, defekt merkezine

doğru minimal kemik oluşumu görüldü (Şekil 5). 8. haftada BS-HAp grubunda 4. haftaya göre anlamlı şekilde artmış osteoblast sayısı saptandı (Çizelge 1).



**Şekil 4.** 4. hafta histopatolojik kesit görüntüleri HE boyama. BS-HAp grubunda (A, B, C) defektlideki normal kemik alanının (ok başı) üzerindeki defekt yerinde yeni oluşan bağ dokusu alanı (ok). Boş defekt grubunda (D, E, F) belirgin inflamatuvlar reaksiyon (ok), defekt altında normal kemik dokusu (ok başı), inflamatuvlar reaksiyon (beyaz ok), HE, Ölçek çubukları= 200,100, 40 $\mu$ m (sırasıyla üstten alt sıraya).



**Şekil 5.** 8. hafta histopatolojik kesit görüntüleri HE boyama. BS-HAp grubunda bağ dokusunda yeni oluşan kemik dokusu (A, B, C) (oklar), Boş defekt grubunda (D, E, F) çok şiddetli inflamatuvlar reaksiyon (ok başları), HE, Scale çubukları= 200,100, 40 $\mu$ m (dan sırasıyla üstten alt sıraya).

**Çizelge 1.** Gruplar arasında histomorfometrik sonuçların karşılaştırılması.

Toplam iyileşme alanı ( $\text{mm}^2$ )	BS-HAp 4. hafta	$8.73 \pm 0.47^{\text{a}}$
	Boş defekt 4. hafta	$6.01 \pm 0.42^{\text{b}}$
	BS-HAp 8. hafta	$18.99 \pm 1.92^{\text{c}}$
	Boş defekt 8. hafta	$11.70 \pm 1.18^{\text{d}}$
Defekt kapanma oranı (%)	BS-HAp 4. hafta	$72.26 \pm 1.05^{\text{a}}$
	Boş defekt 4. hafta	$63.56 \pm 2.25^{\text{b}}$
	BS-HAp 8. hafta	$84.90 \pm 1.63^{\text{c}}$
	Boş defekt 8. hafta	$74.89 \pm 2.45^{\text{b}}$
Yani oluşmuş kemik alanı ( $\text{mm}^2$ )	BS-HAp 4. hafta	$6.76 \pm 0.38^{\text{a}}$
	Boş defekt 4. hafta	$3.99 \pm 0.79^{\text{b}}$
	BS-HAp 8. hafta	$24.88 \pm 1.53^{\text{c}}$
	Boş defekt 8. hafta	$10.81 \pm 1.21^{\text{d}}$
Osteoklast sayısı	BS-HAp 4. hafta	$8.66 \pm 0.57^{\text{a}}$
	Boş defekt 4. hafta	$11.33 \pm 0.57^{\text{b}}$
	BS-HAp 8. hafta	$11.66 \pm 1.57^{\text{b}}$
	Boş defekt 8. hafta	$14.33 \pm 0.57^{\text{c}}$
Osteoblast sayısı	BS-HAp 4. hafta	$10.66 \pm 0.57^{\text{a}}$
	Boş defekt 4. hafta	$6.00 \pm 1.00^{\text{b}}$
	BS-HAp 8. hafta	$23.00 \pm 1.00^{\text{c}}$
	Boş defekt 8. hafta	$9.00 \pm 2.00^{\text{b}}$

\*: Aynı kolonda aynı parametreye ait gruptardaki farklılıklar ortalamalar arasındaki istatistiksel farkı belirtir.  $p < 0,05$ \*\*: Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir

Yapılan bir çalışmada BS, pelikülleri simülle edilmiş vücut sıvısına daldırılarak HAp ile kaplanmıştır. BS zarının yüzeyinde HAp küreleri oluşturulmuş ve daha sonra sıçanlarda 4-8 hafta boyunca kalvaryal defektte kemik oluşumu için kullanılmıştır (Ahn vd. 2015). 4. hafta sonunda BS ve BS-HAp gruplarında defekt alanında fibröz bağ dokusu tespit edilmiştir. İki grupta da yeni kemik oluşumu ve bu alanlarda osteoblast aktivitesi gözlenmiştir. Aktif osteoblastlar BS-HAp grubunda BS grubundan daha fazla gözlenmiştir. 8. haftada ise defekt marjininde yeni kemik oluşumu 4. hafṭaya göre artmış ve BS-HAp grubunda BS grubuna göre yeni kemik oluşumu daha fazla gözlenmiştir. İki grupta da enfiamatuvar reaksiyon gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda BS-HAp etkinliği boş defekt grubuya karşılaştırılmıştır. Yukarıdaki çalışmadan farklı olarak çalışmamızda 4. haftanın sonunda iki grupta da kemikleşme saptanmamıştır ve enfiamatuvar reaksiyon saptanmıştır. 8. haftanın sonunda ise BS-HAp grubunda defekt çevresinde kemik oluşumu izlenmiştir (Çizelge 1). Atila ve arkadaşları (Atila vd. 2019), kemik dokusu mühendisliği için ATCC 10245 *Gluconacettobacter xylinum* ile üretilen BC/jelatin/bor katkılı HAp kompozit materyali *in-vitro* olarak değerlendirmiştir. Oluşturulan materyal yaklaşık %68-80 oranında iyi gözeneklilik göstermiştir ve kemik dokusunun desteklenmesi ve yenilenmesi için uygun olan SaOs-2 hücre hattında uygulandığında ALP aktivitesinin istatistiksel olarak arttırmıştır. Pigossi ve diğerleri (Pigossi vd. 2015), osteojen büyümeye peptidi (OGP) içeren ve içermeyen bir BS-HAp kompozitini farelerde oluşturulan kalvaryal defekt modelinde membran olarak uygulamışlar ve kemik onarım potansiyelini ALPL, RUNX2, TNFRSF11B, SPP1, BGLAP ve VEGF genlerinin ekspresyonu yoluyla araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmamızla uyumlu olarak 4. haftada defekt kenarlarında tüm gruptarda fibröz bağ dokusu oluşumu gözlemler. Ayrıca orta derecede bir enfiamatuvar reaksiyon tüm gruptarda gözlenmiştir. 60. ve 90. günde ise hiçbir grupta enfiamatuvar reaksiyon gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda 4. haftada BS-HAp grubunda düzgün bir bağ doku oluşumu tespit edilmişken boş defekt grubunda yaygın enfiamasyon gözlenmiştir. Boş defekt grubunda 8. haftada hala enfiamatuvar reaksiyon gözlenmemiştir.

*cettobacter xylinum* ile üretilen BC/jelatin/bor katkılı HAp kompozit materyali *in-vitro* olarak değerlendirilmiştir. Oluşturulan materyal yaklaşık %68-80 oranında iyi gözeneklilik göstermiştir ve kemik dokusunun desteklenmesi ve yenilenmesi için uygun olan SaOs-2 hücre hattında uygulandığında ALP aktivitesinin istatistiksel olarak arttırmıştır. Pigossi ve diğerleri (Pigossi vd. 2015), osteojen büyümeye peptidi (OGP) içeren ve içermeyen bir BS-HAp kompozitini farelerde oluşturulan kalvaryal defekt modelinde membran olarak uygulamışlar ve kemik onarım potansiyelini ALPL, RUNX2, TNFRSF11B, SPP1, BGLAP ve VEGF genlerinin ekspresyonu yoluyla araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmamızla uyumlu olarak 4. haftada defekt kenarlarında tüm gruptarda fibröz bağ dokusu oluşumu gözlemler. Ayrıca orta derecede bir enfiamatuvar reaksiyon tüm gruptarda gözlenmiştir. 60. ve 90. günde ise hiçbir grupta enfiamatuvar reaksiyon gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda 4. haftada BS-HAp grubunda düzgün bir bağ doku oluşumu tespit edilmişken boş defekt grubunda yaygın enfiamasyon gözlenmiştir. Boş defekt grubunda 8. haftada hala enfiamatuvar reaksiyon gözlenmemiştir.

var reaksiyon gözlenirken BS-HAp grubunda enflamasyon gözlenmemiştir. Çalışmamızdan farklı olarak yukarıdaki çalışmada 4. haftada yeni kemik oluşumu gözlenmişken, bizim çalışmamızda 8. haftada BS-HAp grubunda yeni kemik oluşumu gözlemedi. Bunun nedeni farklı bakterilerden üretilen BS'lerin farklı mekanik özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca yapılan deney hayvanlarının farklılığı ve rejenerasyon kapasitelerinin değişikliğinden kaynaklanabilir.

#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Sonuç olarak, kemik rejenerasyonu düşünüldüğünde, BS-HAp'tan elde ettiğimiz biyomateryal kritik boyuttaki kemik defektlerinde kemik rejenerasyonu için 8. haftada etkili bulundu. Çalışmamızın ön çalışma niteliğinde olmasından dolayı yapılan analizler sınırlı kalmıştır. *K. Xylinus S4* ile üretilen BS-HAp nanokompozitinin kemik rejenerasyonu üzerine etkilerinin daha kapsamlı araştırılabilmesi için daha fazla sayıda deney hayvanı ile farklı zaman periyotlarında çalışılması, sonuçların immünohistokimyasal ve mikro-BT analizleri ile desteklenmesi gerekmektedir.

**Çıkar Çatışması Beyani:** Yazarlar, bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

**Teşekkür:** Yazarlar bu çalışmaya katkısı olan Burak TOP'a teşekkür etmektedir.

**Yazarların Katkısı:** A.L.A.: Dizayn, hayvan deneyleri, metodoloji, veri analizi, orijinal taslak, yazım; N.M.D.: Dizayn, in-vitro üretim, metodoloji, son değerlendirme; T.H.D: Hayvan deneyleri, laboratuvar çalışması; Ö.Ö.: Histopatolojik incelemeler, veri analizi

#### Araştırma ve Yayın Etiği Beyani

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

#### 5. Kaynaklar

Ahn, S. J., Shin, Y. M., Kim, S. E., Jeong, S. I., Jeong, J. O., Park, J. S., Gwon, H. J., Seo, D. E., Nho, Y. C., Kang, S. S., Kim, C. Y., Huh, J. B., and Lim, Y. M. 2015. Characterization of hydroxyapatite-coated bacterial cellulose scaffold for bone tissue engineering. *Biotechnol. Bioprocess Eng* 20(5): 948-955. DOI:10.1007/s12257-015-0176-z

Alpan, A. L., Toker, H., and Ozer, H. 2016. Ozone Therapy Enhances Osseous Healing in Rats With Diabetes With Calvarial Defects: A Morphometric and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*, 87(8): 982-989. DOI:10.1902/jop.2016.160009

- Araujo, A. S., Fernandes, A. B., Maciel, J. V., Netto Jde, N., and Bolognese, A. M. 2015. New methodology for evaluating osteoclastic activity induced by orthodontic load. *J Appl Oral Sci*, 23(1): 19-25. DOI:10.1590/1678-775720140351
- Atila, D., Karatas, A., Evcin, A., Keskin, D., and Tezcaner, A. 2019. Bacterial cellulose-reinforced boron-doped hydroxyapatite/gelatin scaffolds for bone tissue engineering. *Cellulose*, 26(18): 9765-9785. DOI:10.1007/s10570-019-02741-1
- Basu, P., Saha, N., Alexandrova, R., Andonova-Lilova, B., Georgieva, M., Miloshev, G., and Saha, P. 2018. Biocompatibility and Biological Efficiency of Inorganic Calcium Filled Bacterial Cellulose Based Hydrogel Scaffolds for Bone Bioengineering. *Int J Mol Sci*, 19(12). DOI:10.3390/ijms19123980
- Boccaccini, A. R., and Blaker, J. J. 2005. Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds. *Expert Rev Med Devices*, 2(3): 303-317. DOI:10.1586/17434440.2.3.303
- Bramhill, J., Ross, S., and Ross, G. 2017. Bioactive Nanocomposites for Tissue Repair and Regeneration: A Review. *Int J Environ Res Public Health*, 14(1). DOI:10.3390/ijerph14010066
- Cakar, F., Kati, A., Ozer, I., Demirbag, D. D., Sahin, F., and Aytekin, A. O. 2014. Newly developed medium and strategy for bacterial cellulose production. *Biochem. Eng. J.*, 92: 35-40. DOI:10.1016/j.bej.2014.07.002
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., and Brown, R. M., Jr. 2006. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, 27(2): 145-151. DOI:10.1016/j.biomaterials.2005.07.035
- de Oliveira Barud, H. G., da Silva, R. R., da Silva Barud, H., Tercjak, A., Gutierrez, J., Lustri, W. R., de Oliveira, O. B. J., and Ribeiro, S. J. L. 2016. A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. *Carbohydr Polym*, 153: 406-420. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.07.059
- Favi, P. M., Ospina, S. P., Kachole, M., Gao, M., Atehortua, L., and Webster, T. J. 2016. Preparation and characterization of biodegradable nano hydroxyapatite-bacterial cellulose composites with well-defined honeycomb pore arrays for bone tissue engineering applications. *Cellulose*, 23(2): 1263-1282. DOI:10.1007/s10570-016-0867-4
- Fontana, J. D., Desouza, A. M., Fontana, C. K., Torriani, I. L., Moreschi, J. C., Gallotti, B. J., Desouza, S. J., Narciso, G. P., Bichara, J. A., and Farah, L. F. X. 1990. Acetobacter Cellulose Pellicle as a Temporary Skin Substitute. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 24(5): 253-264. DOI:10.1007/Bf02920250
- Gayathry, G., and Gopalaswamy, G. 2014. Production and characterisation of microbial cellulosic fibre from *Acetobacter xylinum*. *IJFTR*, 39(1):93-96.

- Grande, C. J., Torres, F. G., Gomez, C. M., and Bano, M. C.** 2009. Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications. *Acta Biomater.*, 5(5):1605-1615. DOI:10.1016/j.actbio.2009.01.022
- Hong L., W.Y. L., Jia S.R., Huang Y., Gao C., Wan Y.Z.** 2006. Hydroxyapatite/bacterial cellulose composites synthesized via a biomimetic route. *Mater. Lett.*, 60(13-14):1710-1713. DOI:10.1016/j.matlet.2005.12.004
- Jiang, P., Ran, J., Yan, P., Zheng, L., Shen, X., and Tong, H.** 2018. Rational design of a high-strength bone scaffold platform based on in situ hybridization of bacterial cellulose/nano-hydroxyapatite framework and silk fibroin reinforcing phase. *J Biomater Sci Polym Ed*, 29(2): 107-124. DOI:10.1080/09205063.2017.1403149
- Jung, H. I., Lee, O. M., Jeong, J. H., Jeon, Y. D., Park, K. H., Kim, H. S., An, W. G., and Son, H. J.** 2010. Production and Characterization of Cellulose by Acetobacter sp V6 Using a Cost-Effective Molasses-Corn Steep Liquor Medium. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 162(2): 486-497. DOI:10.1007/s12010-009-8759-9
- Jung, I. H., Lim, H. C., Lee, E. U., Lee, J. S., Jung, U. W., & Choi, S. H.** 2015. Comparative analysis of carrier systems for delivering bone morphogenetic proteins. *J Periodontal Implant Sci*, 45(4):136-144. DOI:10.5051/jpis.2015.45.4.136
- Laurencin, C., Khan, Y., and El-Amin, S. F.** 2006. Bone graft substitutes. *Expert Rev Med Devices*, 3(1): 49-57. DOI:10.1586/17434440.3.1.49
- Lee, S. H., Lim, Y. M., Jeong, S. I., An, S. J., Kang, S. S., Jeong, C. M., and Huh, J. B.** 2015. The effect of bacterial cellulose membrane compared with collagen membrane on guided bone regeneration. *J Adv Prosthodont*, 7(6): 484-495. DOI:10.4047/jap.2015.7.6.484
- Liu, F., Wei, B., Xu, X., Ma, B., Zhang, S., Duan, J., Kong, Y., Yang, H., Sang, Y., Wang, S., Tang, W., Liu, C., and Liu, H.** 2021. Nanocellulose-Reinforced Hydroxyapatite Nanobelt Membrane as a Stem Cell Multi-Lineage Differentiation Platform for Biomimetic Construction of Bioactive 3D Osteoid Tissue In Vitro. *Adv Healthc Mater*, 10(8), e2001851. DOI:10.1002/adhm.202001851
- Moore, W. R., Graves, S. E., and Bain, G. I.** 2001. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*, 71(6): 354-361.
- Muthukumar, T., Aravinthan, A., Sharmila, J., Kim, N. S., and Kim, J. H.** 2016. Collagen/chitosan porous bone tissue engineering composite scaffold incorporated with Ginseng compound K. *Carbohydr Polym*, 152: 566-574. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.07.003
- Nandi, S. K., Roy, S., Mukherjee, P., Kundu, B., De, D. K., and Basu, D.** 2010. Orthopaedic applications of bone graft and graft substitutes: a review. *Indian J Med Res*, 132: 15-30.
- Pigossi, S. C., de Oliveira, G. J. P. L., Finoti, L. S., Nepomuceno, R., Spolidorio, L. C., Rossa, C., Ribeiro, S. J. L., Saska, S., and Scarel-Caminaga, R. M.** 2015. Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model. *J Biomed Mater Res A*, 103(10): 3397-3406. DOI:10.1002/jbm.a.35472
- Svensson, A., Nicklasson, E., Harrah, T., Panilaitis, B., Kaplan, D. L., Brittberg, M., and Gatenholm, P.** 2005. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, 26(4): 419-431. DOI:10.1016/j.biomaterials.2004.02.049
- Tas, A. C.** 2000. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 degrees C in synthetic body fluids. *Biomaterials*, 21(14): 1429-1438.
- Tolstunov, L., Hamrick, J. F. E., Broumand, V., Shilo, D., and Rachmiel, A.** 2019. Bone Augmentation Techniques for Horizontal and Vertical Alveolar Ridge Deficiency in Oral Implantology. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 31(2): 163-191. DOI:10.1016/j.coms.2019.01.005
- Top, B., Uguzdogan, E., Dogan, N. M., Arslan, S., Bozbeyoglu, N. N., Kabalay, B.** 2021. Production and Characterization of Bacterial Cellulose from Komagataeibacter xylinus Isolated from Home-made Turkish Wine Vinegar. *Cellulose Chem Technol*, 2: 13-17.
- Torres, F. G., Arroyo, J. J., and Troncoso, O. P.** 2019. Bacterial cellulose nanocomposites: An all-nano type of material. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 98: 1277-1293. DOI:10.1016/j.msec.2019.01.064
- Vadaye Kheiry, E., Parivar, K., Baharara, J., Fazly Bazzaz, B. S., and Iranbakhsh, A.** 2018. The osteogenesis of bacterial cellulose scaffold loaded with fisetin. *Iran J Basic Med Sci*, 21(9): 965-971. DOI:10.22038/IJBM.2018.25465.6296
- Vazquez, A., Foresti, M. L., Cerrutti, P., and Galvagno, M.** 2013. Bacterial Cellulose from Simple and Low Cost Production Media by Gluconacetobacter xylinus. *J. Polym. Environ.*, 2013. 21(2): 545-554. DOI:10.1007/s10924-012-0541-3
- Wahid, F., Huang, L. H., Zhao, X. Q., Li, W. C., Wang, Y. Y., Jia, S. R., and Zhong, C.** 2021. Bacterial cellulose and its potential for biomedical applications. *Biotechnol Adv*, 53, 107856. DOI:10.1016/j.biotechadv.2021.107856
- Wang, H., Li, Y., Zuo, Y., Li, J., Ma, S., and Cheng, L.** 2007. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 28(22): 3338-3348. DOI:10.1016/j.biomaterials.2007.04.014
- Wang, S. S., Han, Y. H., Chen, J. L., Zhang, D. C., Shi, X. X., Ye, Y. X., Chen, D. L., and Li, M.** 2018. Insights into Bacterial Cellulose Biosynthesis from Different Carbon Sources and the Associated Biochemical Transformation Pathways in Komagataeibacter sp. W1. *Polymers (Basel)*, 10(9). DOI:10.3390/polym10090963



## Antibakteriyel Etkiye Sahip Penisilin G'nin *Drosophila melanogaster*'in Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi

*Effect of Antibacterial Penicillin G on Antioxidant Defense System of Drosophila melanogaster*

Utku Can Atilgan<sup>1,\*</sup>, Ender Büyükgüzel<sup>2</sup>

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Zonguldak

### Öz

Tarım ürünlerinin verimini etkileyen zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak veya zararlarını azaltmak için çeşitli pestisitler kullanılmaktadır. Bu kimyasal maddelerin kontrollsüz ve aşırı kullanımları hem çevre hem de bütün canlılar için tehlike oluşturmaktadır. Zararlı böcekler ile mücadelede kullanılan kimyasal maddelerin hem etkinliğinin hem de canlı üzerindeki fizyolojik etkilerinin iyi bilinmesi gereklidir. Bunun için laboratuvar koşullarında model organizmalar üzerinde bu maddelerin denemesi oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışmada model organizma olarak *Drosophila melanogaster* kullanılmış olup, insektisitlere alternatif bir madde olarak antibakteriyel bir etkiye sahip penisilin G'nin böcek üzerinde oksidatif etkisi ve antioksidan kapasitesindeki değişimler incelenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında en düşük denenen konsantrasyon olan 100 mg/L penisilin G içeren besin, böceği 3. evre larvasında, malondialdehit (MDA) miktarını  $8,39 \pm 2,65$  nmol/mg proteinden  $18,92 \pm 3,22$  nmol/mg proteine istatistiksel olarak önemli derecede artırdığı tespit edildi. 400 mg/L'lik besinde 3. evre larvalarında protein karbonil miktarı (PCO)  $1539,69 \pm 286,45$  nmol/mg protein'e yükseldiği tespit edilmiş ve istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında larval evredeki glutatyon-s-transferaz (GST) aktivitesinin 100 mg/L'de istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edildi. Böceği pup ve ergin evresinde 400 mg/L bulunduran besin grubunda, katalaz (CAT) aktivitesi sırasıyla  $547,58 \pm 55,56$   $\mu$ mol/mg protein/dk,  $242,24 \pm 42,85$   $\mu$ mol/mg protein/dk olarak tespit edilmiş olup, bu sonuç kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulundu. Pup evresindeki süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi en düşük penisilin miktarında (100 mg/L) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. 400 mg/L'de kontrol grubuya karşılaştırıldığında pup evresinde glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi yaklaşık iki katı oranında arttığı tespit edildi. Elde edilen sonuçlar ile Penisilin G'nin böceği farklı evrelerindeki antioksidan enzimler üzerinde ve oksidatif stres belirteçlerinde önemli değişimlere sebep olduğu tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, Malondialdehit, Protein karbonil, Katalaz, Süperoksit dismutaz, Glutayon peroksidaz, Penisilin G

### Abstract

Various pesticides are used to prevent, control or reduce harmful organisms that affect the yield of agricultural products. The uncontrolled and excessive use of these chemical substances poses a danger to both the environment and all living things. It is necessary to know both the effectiveness of the chemicals and their physiological effects on the living organism used in the management against to harmful insects. For this, it is very important to test these substances on model organisms in laboratory conditions. In this study, *Drosophila melanogaster* was used as a model organism, and the oxidative effect of penicillin G, which has an antibacterial effect as an alternative to insecticides, on the insect and changes in antioxidant capacity were investigated. 100 mg/L of penicillin G concentration compared to the control, statistically significantly increased the malondialdehyde (MDA) content from  $8.39 \pm 2.65$  nmol/mg protein to  $18.92 \pm 3.22$  nmol/mg protein in the 3rd stage larva of the insect. It was determined that the amount of protein carbonyl (PCO) in the 3rd stage larvae increased to  $1539.69 \pm 286.45$  nmol/mg protein in 400 mg/L diet and it was statistically significant. Compared with the control group, a statistically significant increase in Glutathione S-transferase (GST) activity in the larval stage was detected at 100 mg/L. 400 mg/L of penicillin G concentration in the pupa and adult stages of the insect, the catalase (CAT) activity was determined as  $547.58 \pm 55.56$   $\mu$ mol/mg protein/min,  $242.24 \pm 42.85$   $\mu$ mol/mg protein/min, respectively. was significantly higher compared to the control. A statistically significant increase was observed in the lowest amount of penicillin G (100 mg/L) in the SOD activity in the

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: utkucanatilan@gmail.com

Utku Can Atilgan orcid.org/0000-0003-4167-1540

Ender Büyükgüzel orcid.org/0000-0002-4442-5081

pup stage. Compared to the control group at 400 mg/L, glutathione peroxidase (GPx) activity was found to increase approximately twice in the pup stage. With the results obtained, it was determined that Penicillin G caused significant changes on antioxidant enzymes and oxidative stress markers in different stages of the insect.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, Malondialdehyde, Protein carbonyl, Catalase, Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, Penicillin G

## 1. Giriş

Zararlılarla mücadelede farklı etki mekanizmasına sahip çeşitli pestisitler kullanılmaktadır. Dünya genelinde kontrollü olmayan ve aşırı miktarda kullanılan pestisitler hedef olmayan canlılar ve ekosistem için büyük tehlike oluşturmaktadır (Dey 2016, Catae 2019, He vd. 2021). Son yıllarda geleneksel olarak kullanılan kimyasalların yanı sıra daha az toksik etkiye sahip maddeler tercih edilmektedir. Bunun sebebi hedef olmayan canlılar üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak içindir. Bu kimyasalların hedef olmayan canlılar üzerindeki etkilerinin anlaşılması ve alternatif kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir (Güneş ve Büyükgüzel 2017, Doğan 2019). *Drosophila melanogaster*, ülkemizde özellikle Ege bölgesinin incir bahçelerinde tarım zararlısı olarak tespit edilen *Drosophila* türlerinden biridir. Meyvelerin kurtlanması, çürümesine ve kalitesinin düşmesine neden olmaktadır (Akşit vd. 2003). Ayrıca, yaşam döngüsünün kısa olması, kültürünün kolay ve ucuz olması, genomunun dizilenmiş olması ve etik kısıtlamalar olmaması nedeni ile *D. melanogaster* laboratuvarlarda uzun süredir kullanılan önemli bir model organizmadır (Parvathi vd. 2009). Son 10 yıl içerisinde toksikoloji çalışmalarında ağırlıklı olarak tercih edilen ve önemli çıkarımlar yapılmasına imkan tanıyan bir organizma olarak da görülmektedir (Hirsch 2012, Abolaji vd. 2013). Yaygın kullanımına sahip insektisitlerin yerine alternatif kimyasalların laboratuvar ortamında zararlı böcekler üzerindeki etkilerinin gösterildiği model organizmalar ile yapılan birçok çalışmanın yapıldığı görülmektedir (Büyükgüzel 2007, Büyükgüzel ve Kalender 2009). Bu maddelerin bir grubu antibiyotik yapıda olan insektisitler grubunda da yer almaktadır; örnek olarak abamektin ve streptomisin verilebilir (Büyükgüzel ve Kalender 2007, Büyükgüzel ve Kalender 2009, Keleş vd. 2021). Antibiyotikler ayrıca laboratuvar şartlarında model olarak kullanılan böceklerin yapay besinlerinde mikrobiyal kontaminasyonu engellemek amacıyla da eklenmektedir. Böcekler laboratuvar koşullarında kültüre alınırken özellikle yapay besinin kalitesini artırmak için birçok antimikrobiyal etkiye sahip madde kullanılmaktadır (Pascacio-Villafán vd. 2017, van der Fels-Klerx vd. 2018, Cohen 2018, Aslan

vd. 2019, Ustundag vd. 2019). Belirli konsantrasyonlarda yapay besinlere eklenen antibiyotiklerin böceklerin yaşama, gelişime, عمر uzunlukları, yumurta verimi gibi birçok parametresi üzerinde etkili olduğu farklı böcek türlerinde gözlenmiştir (Büyükgüzel ve Yazgan 2002, Dent ve Binks 2020).

Yapay besin ortamlarına ilave edilen antimikrobiyal özellikteki maddelerin böceğin sadece biyolojik özelliklerine değil aynı zamanda böceğin fizyolojik döngüsü üzerinde olumsuz etki yaptığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Çelik vd. 2019, Ustundag vd. 2019, Aslan vd. 2019, Kastamonuluoglu vd. 2020). Aynı zamanda bu çalışmalarda yapay besin kalitesini artırmak için kullanılan bu maddelerin böcek üzerinde oksidatif stres yaratmış olabileceği de vurgulanmaktadır. Bilindiği gibi oksidatif stres sonucu birçok dokuda serbest radikal oluşumu meydana gelebilmektedir. Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron çifti içeren atom veya moleküller olup, biyolojik sistemlerde farklı yollarla üretilirler (Lushchak 2014). Serbest radikaller ile antioksidanlar arasında bulunan denge, fizyolojik fonksiyonların uygun şekilde yürütübilmesi için çok önemlidir (Huynh vd. 2017, Nair vd. 2018). Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması halinde oksidatif stres meydana gelir (Halliwell ve Gutteridge 2015). Ayrıca, vücutta dışarıdan alınan kimyasal ajanlar (pestisitler, ağır metaller vb.), biyolojik ajanlar (bakteri, mantar, parazit vb.), fiziksel ajanlar (radyasyon, sıcaklık vb.) ve çevresel stres (su kirliliği, mevsimsel değişimler vb.) faktörleri oksidatif stresi tetiklemektedirler (Valko 2007, Halliwell ve Gutteridge 2015). Bu durumlarda biyomoleküller üzerine hasar oluşturabilmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için diğer ökaryotik organizmalar gibi böceklerde de antioksidan enzimatik savunma sistemi vardır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST), sitokrom P450, böceklerdeki antioksidan enzimlerdir (Wu ve Yi 2015, Güneş ve Büyükgüzel 2017). Böceklerde bunların dışında GST izoformlarının (GSTpx), Thioredoksin (TRX), Glutaredoksin (GRX) gibi antioksidan enzimlerde bulunmaktadır (Bauer vd. 2002, Corona ve Robinson 2006, Yao vd. 2014).

Penisilin G, antibakteriyel aktiviteye sahip, bakteri hücre duvarının içinde bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanır bakteri hücre duvarı kuvveti ve sertliği için gerekli olan peptidoglikan zincirlerinin çapraz bağlantısına üzerinde etki göstererek bakteri hücre duvarı sentezini kesintiye uğratır ve bakteri hücre duvarının zayıflamasına ve sonuça hücre lizisine neden olmasını sağlar (Büyükgüzel ve Kalender 2007). 2020 yılında Üstündağ vd. tarafından geniş spektrumlu, beta-laktam özellikle penisilinin laboratuvar koşullarında yapay besin ortamina ilave edilerek *D. melanogaster*'ın tüm yaşama ve gelişme parametreleri incelenmiş ve konsantrasyonlara bağlı olarak böceğin biyolojik özellikleri üzerinde olumsuz etki yaptığı tespit edilmiştir. Ancak yapay besin ortamına farklı penisilin miktarlarının eklenerek elde edilen *D. melanogaster*'ın larva, pup, ergin bireylerinde antioksidan enzimatik savunma sisteminden sorumlu enzimlerden SOD, CAT, GPx, GST enzim aktiviteleri ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışma ile denenen etken maddenin *D. melanogaster* üzerindeki oksidatif etkisi ve böceğin larva, pup, ergin bireylerindeki antioksidan enzim kapasiteleri hakkında bilgiler sunulmaktadır. Ayrıca çalışmamız 2020 Üstündağ vd. tarafından yapılan ve bu etken maddenin *D. melanogaster*'ın tüm yaşama ve gelişme parametreleri üzerinde olumsuz etkisinin gösterildiği çalışmayı da destekleyen sonuçlar elde edilmiş olması bu alandaki çalışmalarla önemli katkı sağlayacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 1.1. Stok Kültürü Oluşturulması

Çalışmada kullanılan *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)'in W1118 soyu kullanıldı. Stok kültür, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Böcek Kültürü Laboratuvarında  $25 \pm 2$  °C sıcaklık, %60-70 bağıl nem ve 12 saatlik fotoperiyot şartlarında) yapay besin (Rogina vd. 2000, Lesch vd. 2007) kullanılarak devamlılığı sağlandı. Yapay besin içeriği: agar-agar (Ultrapure), D-Sükroz (SigmaUltra, ≥ % 99, Sigma-Aldrich), kuru toz maya (Dr. Oetker Gıda San. ve Tic. A.Ş., Torbalı- İzmir), L-Askorbik asit (Sigma Ultra, ≥ % 99), etanolde (ACS reagent, ≥ %99,5), %13,5'lik nipajin (p-hidroksibenzoik asit metil ester, kristal) çözeltisinden, patates püresi (Knorr, Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A.Ş. Ümraniye, İstanbul) ve saf su'dan oluşmaktadır.

### 1.2. Belirlenen konsantrasyonlarda Penisilin G Uygulanması

Laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmalar

sonucunda Penisilin G konsantrasyonları 100, 200, 400, 800 mg/L olarak belirlendi ve deney düzeneğimizde bu konsantrasyonlar kullanıldı. Penisilin G suda çözünebilen bir madde olduğu için yapay besin ortamına direk olarak eklenmiştir. Belirlenen her penisilin konsantrasyonu için yapay besin üzerine 2-3 dişi ve erkek birey bırakıldı ve 250 ml lik kültür şişeleri kullanıldı. Dişi bireyler bu besin üzerine yumurtalarını bıraktı ve yumurtaların açılması için beklandı. Açılan yumurtalardan elde edilen larvalar, pup, ergin örnekleri toplandı.

### 1.3. Örnek Toplanması

Kontrol ve deney gruplarının bulunduğu kültür şişeleri deneyin başlatılmasından sonra gelişme evreleri takip edildi ve 3. evre larvaların besin üzerinde görülmüşsinin ardından erginler kültürden uzaklaştırılmış ve örnek toplama işlemeye geçildi. Larva, pup ve ergin bireylerden her tekrar için 30 birey sayısına ulaşılana kadar örnekler toplanmış ve -80 °C'de analiz yapılana kadar muhafaza edilmek üzere dondurucuya kaldırıldı.

### 1.4. Oksidatif stres belirteçlerinden Malondialdehit (MDA) ve Protein karbonil (PCO) Miktarlarının Belirlenmesi

MDA: *D. melanogaster*'ın olgun larva (3. evre), pup ve ergin evrelerindeki tüm vücut dokularını parçalama işlemi için %1,15'lik KCl kullanılarak ultrasonik homojenizatörden geçirildi (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany). Jain ve Levine 1995 metoduna göre tiyobarbitürk asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA spektrofotometrede 532 nm'deki absorbansı okunarak miktarı hesaplandı. MDA miktarı  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

PCO: Protein karbonil tayini Levine vd. (1994)'in metodu temel alınıp bir ölçüde değiştirilerek (Krishnan ve Kodrik 2006) kuvvetli asit ortamda (2M HCl) proteindeki karbonil gruplarının 2,4 dinitrofenil hidrazin (DNPH) ile kararlı bir 2,4 dinitrofenil (DNP) hidrozon oluşturması ve bu ürünlerin 370 nm'de absorbanslarının ölçülmesi esasına dayanarak yapıldı. Ayrıca protein oksidasyonu sonucunda meydana gelen PCO miktarının hesaplanması için total protein tayini yapıldı. 6M guanidin hidroklorür ile çözülen homojen karışımından alınan 150 µl'ye 1350 µl guanidin hidroklorür ilave edilerek 1:10 oranında sulandırıldı. Örneklerin absorbansları 280 nm'de spektrofotometrede ölçüldü (Pajot 1976).

### 1.5. Antioksidan Enzim Analizleri

*Drosophila melanogaster*'in olgun larva (3. evre), pup ve ergin evrelerindeki tüm vücut dokularının ekstrasyonu homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl (Potasyum klorür), 25 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Potasyum hidrojen fosfat), 5 mM EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit), 2 mM PMSF (Fenilmetilsüfonil florid), 2 mM DTT (Ditiyotiretol), pH: 7,4) içerisinde ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen homojenat ikiye ayrıldı, ilk grup SOD ve CAT tayini için ikinci grup ise GST ve GPx tayini için kullanılmak üzere santrifüjleme işlemeye tabi tutuldu.

SOD: Toplam SOD (EC 1.15.1.1) tayininde Marklund ve Marklund (1974)'un metodu kullanılarak pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ölçüldü. Enzim aktivitesi U/mg protein olarak hesaplandı.

CAT: Katalaz (EC 1.11.1.6) enziminin aktivite tayini Aebi (1984) tarafından belirtilen metod ile yapılarak, enzim aktivitesi  $\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{dk}$  olarak verildi.

GPx: Glutatyon peroksidaz (EC 1.11.1.9) tayini Paglia ve Valentine (1967) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Bu metod okside glutatyon (GS-SG) ve NADPH'ı substrat olarak kullanan glutatyon redüktazın 340 nm'de Nikotinamidadenin-dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)'ı okside etmesi ile meydana gelen azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak verildi.

GST: Glutatyon-S-transferaz (EC 2.5.1.18) Habig vd. (1974) tarafından geliştirilen metod kullanılarak GST (EC 2.5.1.18) aktivitesi ölçüldü. Enzim aktivitesi 340 nm'de ( $\epsilon_{340}: 0,0096 \mu\text{M}.\text{cm}^{-1}$ ) süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına 1 dakikada oluşturulan tioether miktarı olarak ölçüldü. Enzimin spesifik aktivitesi ise mmol/mg protein/dk'dır.

Total Protein Tayini: Folin-Lowry vd. 1951 metoduna göre lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarlarını ve antioksidan enzimlerin (GST, CAT, GPx ve SOD) aktivitesini mg protein başına hesaplamak için örnek öütülerden total protein tayini deneyi yapıldı. Örneklerin absorbansları 600 nm'de ölçüldü. Örneklerdeki protein tayini için farklı konsantrasyonlarda BSA çözeltileri hazırlanarak standart grafik elde edildi. Elde edilen bu standart grafikten toplam protein miktarları hesaplandı.

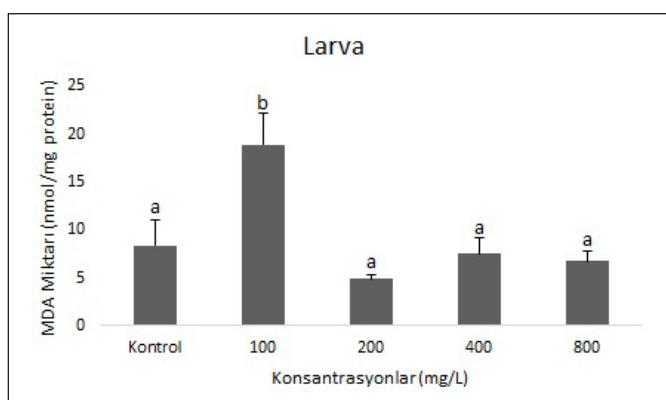
### 1.6. Verilerin Değerlendirilmesi

MDA ve PCO miktarları, antioksidan enzim aktiviteleri (GST, CAT, GPx ve SOD) ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (IBM SPSS 2021, versiyon 28.0), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için "LSD Testi" (IBM SPSS 2021, versiyon 28.0) uygulandı. 0,05 olasılık düzeyinde ortalamaların önemi belirlendi.

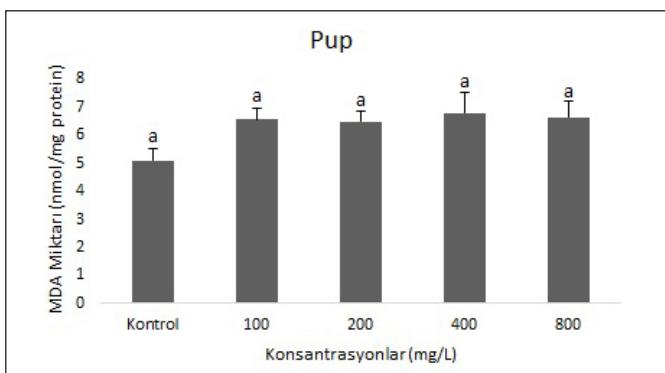
### 2. Bulgular

Kontrol ile karşılaştırıldığında en düşük denenen konsantrasyon olan 100 mg/L penisilin içeren besin, böceğin 3. evre larvasında, malondialdehit (MDA) miktarını  $8,39 \pm 2,65 \text{ nmol}/\text{mg protein}$ inden  $18,92 \pm 3,22 \text{ nmol}/\text{mg protein}$ e istatistiksel olarak önemli derecede artırdığı tespit edildi (Şekil 1). Pup ve ergin evrelerdeki denenen tüm penisilin konsantrasyonlarında MDA miktarları kontrol besinine göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi (Şekil 2, 3).

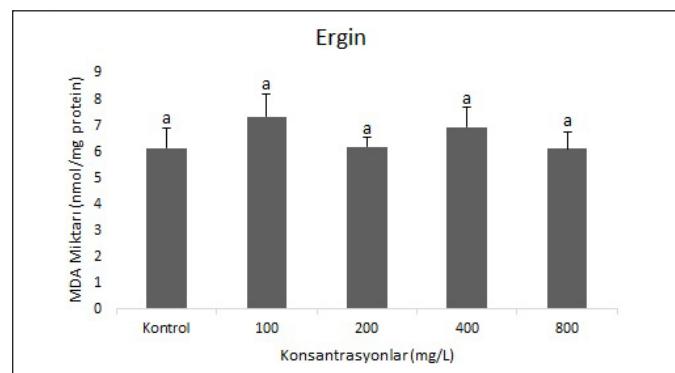
3. evre larvalarında kontrol grubunda protein karbonil (PCO) miktarı  $500,85 \pm 205,26 \text{ nmol}/\text{mg protein}$  elde edilmiş olup bu değer 400 mg/L'lik besinde larvada  $1539,69 \pm 286,45 \text{ nmol}/\text{mg protein}$ 'e yükseldiği tespit edildi ve istatistiksel olarak önemli çıktı (Şekil 4). Pup evresinde 100, 200 ve 400 mg/L penisilin konsantrasyonlarında sırası ile  $222,02 \pm 56,67 \text{ nmol}/\text{mg protein}$ ,  $272,88 \pm 93,20 \text{ nmol}/\text{mg protein}$  ve  $335,62 \pm 70,45 \text{ nmol}/\text{mg protein}$ 'e düşüğü görülmüş ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 5). Ergin evre sadece 400 mg/L penisilin PCO miktarını önemli derecede artırmıştır (Şekil 6).



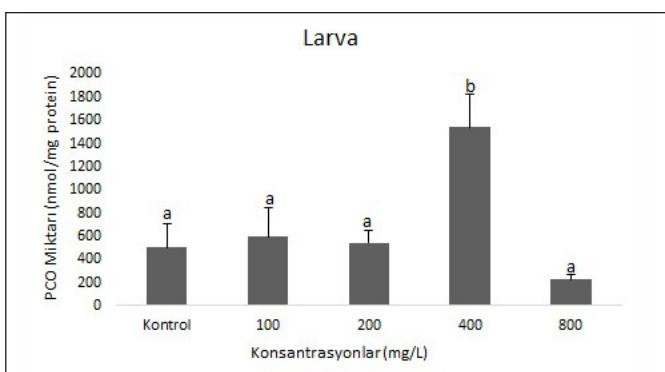
**Şekil 1:** Penisilinin *D. melanogaster*'in larva evresindeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.



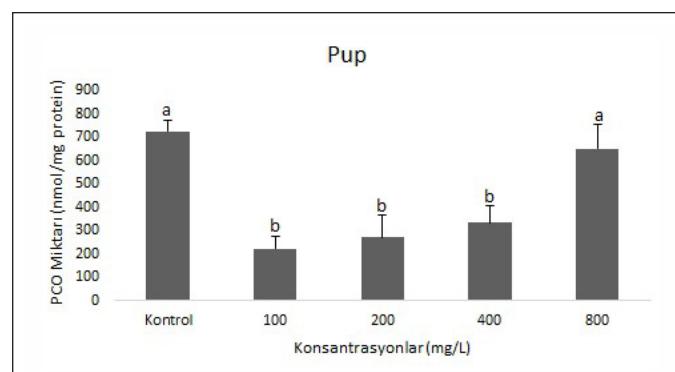
**Şekil 2:** Penisilinin *D. melanogaster*'in pup evresindeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.



**Şekil 3:** Penisilinin *D. melanogaster*'in ergin evresindeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.



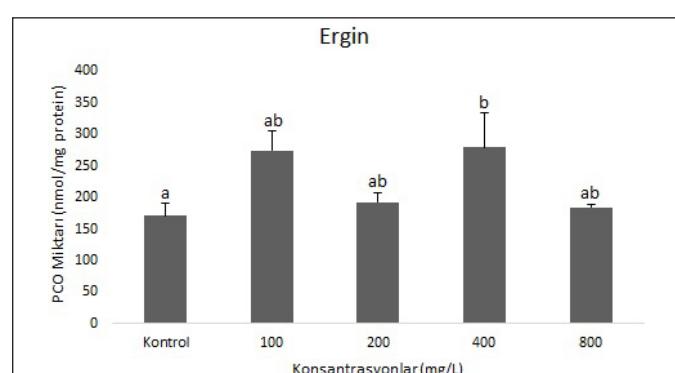
**Şekil 4:** Penisilinin *D. melanogaster*'in larva evresindeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.



**Şekil 5:** Penisilinin *D. melanogaster*'in pup evresindeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında larval evredeki glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesinin 100 mg/L'de istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edildi (Şekil 7). Penisilinin tüm konsantrasyonlarının pup evresinde GST aktivitesinde artışa sebep olduğu görüldü; ancak bu artışın 100 mg/L'de anlamlı olduğu, 200, 400 ve 800 mg/L penisilin miktarlarında anlamlı olmadığı tespit edildi (Şekil 8). Ergin evrede GST aktivitesinde önemli bir fark oluşmamıştır (Şekil 9).

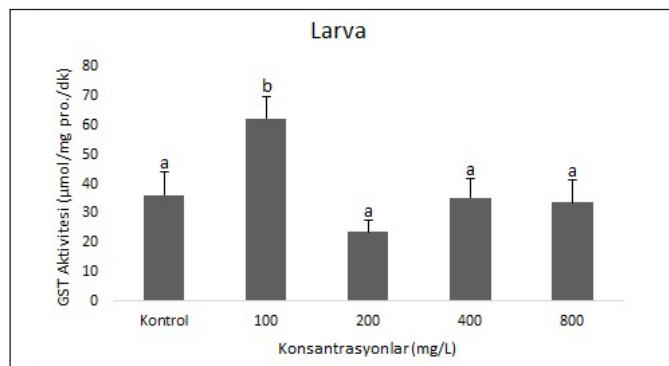
Penisilin içermeyen kontrol grubunda katalaz (CAT) aktivitesi  $775,39 \pm 56,37 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{dk}$ dir. 100, 200, 400 ve 800 mg/L penisilin içeren besin grubu kontrol besinine göre CAT aktivitesinde, önemli bir azalmaya neden olduğu gözlemlendi (Şekil 10). Bu sonucun aksine pup ve ergin evresinde 400 mg/L bulunduran besin grubunda,



**Şekil 6:** Penisilinin *D. melanogaster*'in ergin evresindeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.

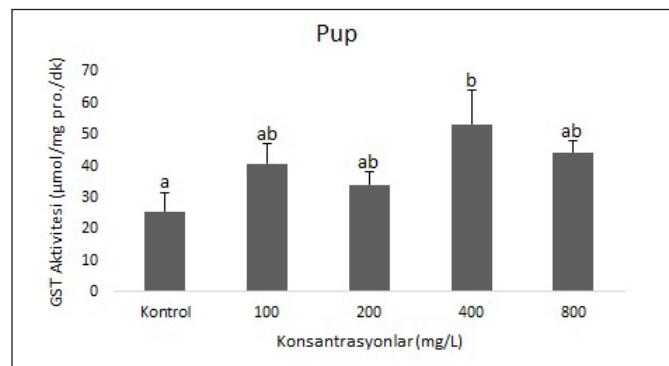
CAT aktivitesi sırasıyla  $547,58 \pm 55,56 \mu\text{mol/mg protein/dk}$ ,  $242,24 \pm 42,85 \mu\text{mol/mg protein/dk}$  olarak tespit edilmiş olup, bu sonuç kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulundu (Şekil 11, 12).

Larval evrede süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde anlamlı bir değişim görülmemiştir (Şekil 13). Pup evresindeki SOD aktivitesi kontrol besin grubunda  $0,69 \pm 0,019 \text{ U/mg protein'dir}$ . Aynı evrenin en düşük penisilin miktarında ( $100 \text{ mg/L}$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 14). En yüksek penisilin konsantrasyonu olan  $800 \text{ mg/L}$  kontrol besini ile karşılaştırıldığında pup evresinde SOD aktivitesinde istatistik açıdan önemli bir azalma tespit edildi. Ergin bireylerde ise  $100$  ve  $400 \text{ mg/L}$  penisilin içeren besin grubu ile kontrol besini karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde istatistik açıdan önemli bir azalma tespit edilmiştir (15).

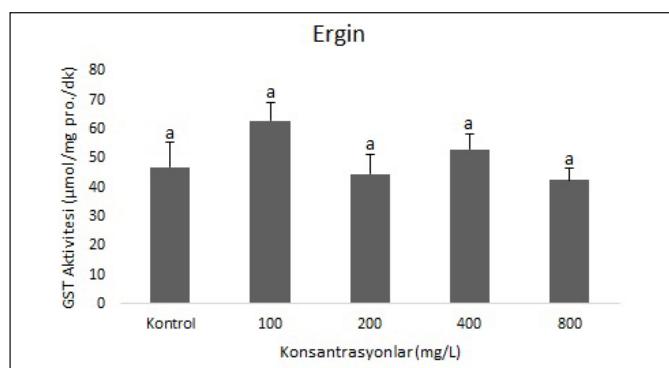


Şekil 7: Penisilinin *D. melanogaster*'nın larva evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.

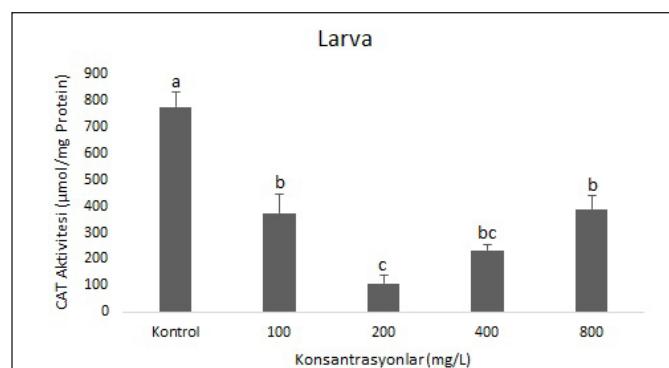
Yapay besindeki  $100$ ,  $400$  ve  $800 \text{ mg/L}$  penisilin konsantrasyonlarında böceğin larval evresindeki GPx aktivitesini düşürmüştür. En fazla azalma  $0,003 \pm 0,0008 \text{ nmol/mg protein/dk}$  enzim aktivitesi olarak tespit edilen en yüksek penisilin konsantrasyonunu ( $800 \text{ mg/L}$ ) içeren besinde gerçekleşti ve bu sonuç istatistik açıdan önemlidir (Şekil 16). Denenen  $200 \text{ mg/L}$  penisilin konsantrasyonu kontrol besinine göre pup evresinde GPx aktivitesini istatistik açıdan önemli bir azalmaya neden oldu. Ancak bu azalma  $400 \text{ mg/L}$ de kontrol grubuya karşılaştırıldığında yaklaşık iki katı oranında arttığı tespit edildi (Şekil 17). Ergin evredeki GPx aktivitesi yalnızca  $100 \text{ mg/L}$  penisilin konsantrasyonu tarafından artırılmış olup diğer konsantrasyonlar etkili olmamıştır (Şekil 18).



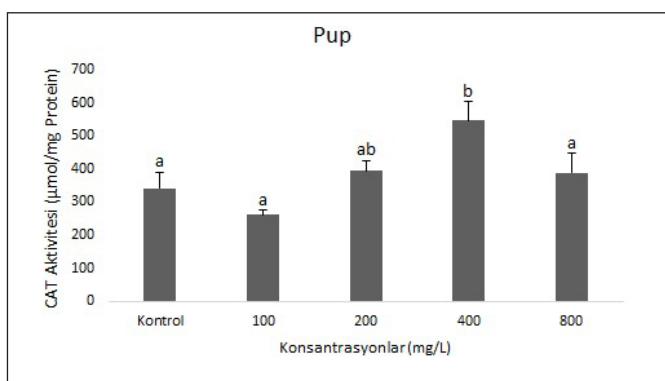
Şekil 8: Penisilinin *D. melanogaster*'nın pup evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.



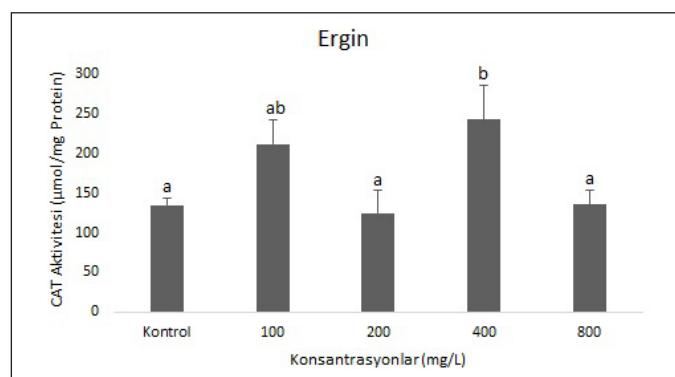
Şekil 9: Penisilinin *D. melanogaster*'nın ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.



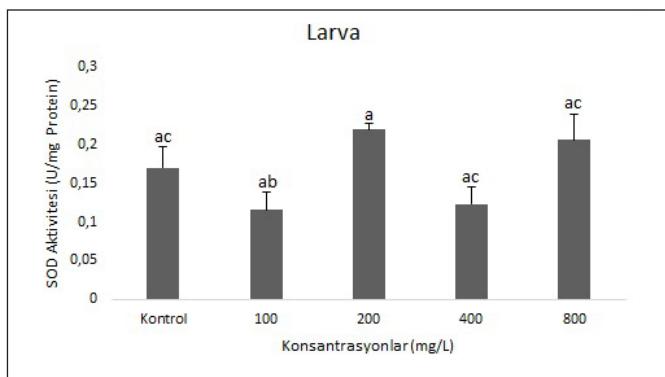
Şekil 10: Penisilinin *D. melanogaster*'nın larva evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.



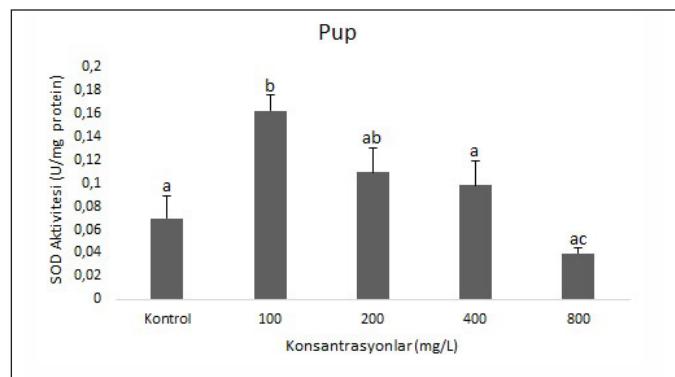
**Şekil 11:** Penisilinin *D. melanogaster*'in pup evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.



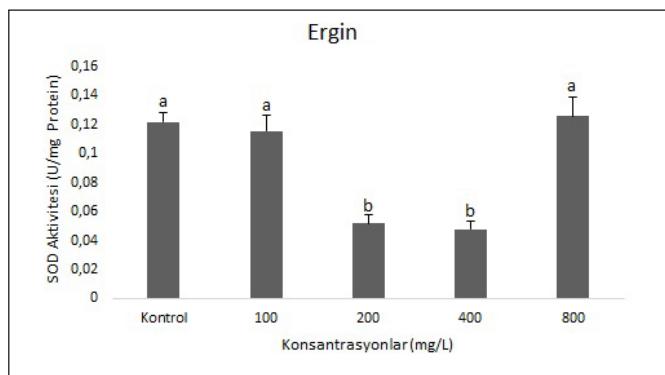
**Şekil 12:** Penisilinin *D. melanogaster*'in ergin evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.



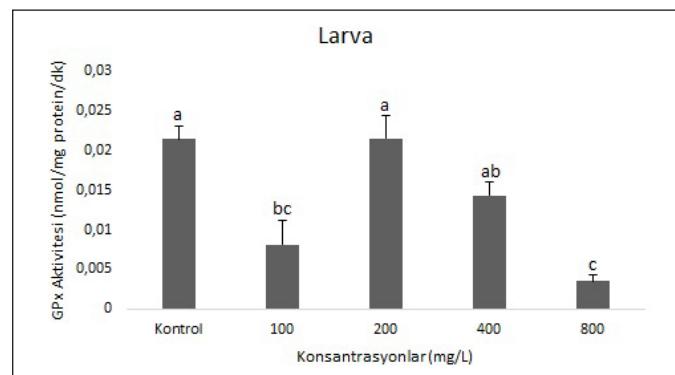
**Şekil 13:** Penisilinin *D. melanogaster*'in larva evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.



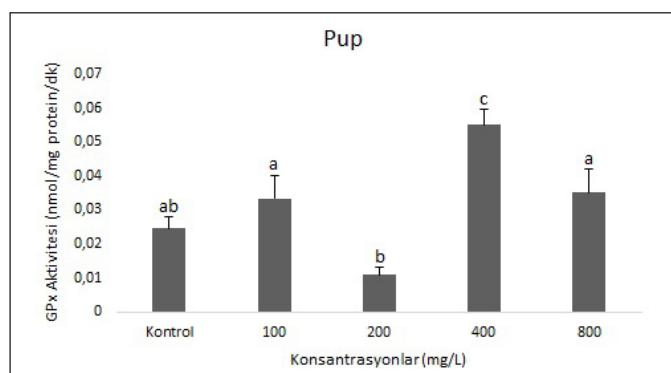
**Şekil 14:** Penisilinin *D. melanogaster*'in pup evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.



**Şekil 15:** Penisilinin *D. melanogaster*'in ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.



**Şekil 16:** Penisilinin *D. melanogaster*'in larva evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva kullanılarak dört defa tekrar edildi.

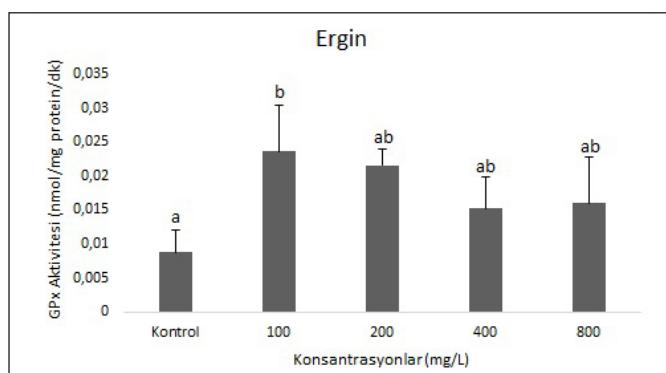


**Şekil 17:** Penisilinin *D. melanogaster*'ın pup evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet pup kullanılarak dört defa tekrar edildi.

#### 4. Tartışma

Pesitisit kullanımının getirdiği olumsuz sonuçların önlenmesi ve sürdürülebilir mücadele yöntemlerinin bulunması amacıyla yeni yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda zararlı böcekler ile kimyasal mücadele çalışmalarında faklı etki mekanizmasına sahip antimikrobiyal ajanların böceklerin üzerindeki biyolojik ve kimyasal etkileri incelenmektedir (Büyükgüzel and Kalender 2008, Büyükgüzel 2009). Antibakteriyel etkiye sahip Penisilin G'nin model organizma *Drosophila melanogaster*'ın larva, pup ve ergin evrelerindeki oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Oksidatif stres belirteçleri olan MDA ve PCO miktarları, larva ve ergin evrelerinde artan konsantrasyonlarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak artış göstermiştir. Bu durum, etken maddeye bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin oluşması sonucu oksidatif hasarın meydana gelmesi ve antioksidan savunma sistemine olumsuz etki oluşturmasis sebebiyle gerçekleşmiş olabilir. *D. melanogaster*'ın larva evresinde 100 mg/L konsantrasyonunda MDA miktarındaki artış ile GST aktivitesindeki artışın korelasyon göstermesi literatürde bulunan diğer çalışmalarda da benzer şekilde görülmektedir (Hyrsl et al. 2007, Büyükgüzel and Kalender 2007, Aslan et al. 2019). Bilindiği gibi; GST, faz II detoksifikasiyonunda görevli temel bir enzimdir; lipit peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasiyonu ve reaktif türlerin konjugasyonu ile oksidatif hasarı önler (Matés 2000, Valko et al. 2007, Halliwell and Gutteridge 2015, Anet et al. 2019). Elde edilen bulgular doğrultusunda larva ile yapılan çalışmalarda MDA miktarındaki artışın, penisiline bağlı reaktif oksijen türleri (ROS) miktarındaki artıştan kaynaklı olabileceği ve



**Şekil 18:** Penisilinin *D. melanogaster*'ın ergin evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ). Deneyler her tekrarda 30 adet ergin kullanılarak dört defa tekrar edildi.

buna bağlı olarak da antioksidan savunma sistemi üzerinde olumsuz etki yaptığı düşünülebilir. Büyükgüzel ve Kalender (2007)'nin antibakteriyel etkiye sahip streptomisinin kullanarak yaptığı çalışmada *Galleria mellonella*'nın larval evrelerinde artan konsantrasyonlara bağlı olarak MDA miktarında artış görülmüş ve bu artış yukarıda belirtilen şekilde penisiline bağlı ROS oluşumu nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. Penisilinin 100 mg/L konsantrasyonunda *D. melanogaster*'ın larval evresinin GST aktivitesinde yükselme, GPx aktivitesinde ise düşme gözlemlenmiş olup; benzer sonuçların Hyrsl ve Büyükgüzel (2007) ve Büyükgüzel ve Kalender (2009) çalışmalarında da rapor edildiği görülmüştür. Bu durum antibiyotik stresinin olduğu koşullarda bazı GST izoformlarının (GSTpx) aktivitelerinin yeniden düzenlenenebileceği Krishnan ve Sehnal (2006)'nın yaptığı çalışmada gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda larval evrede yüksek konsantrasyonlardan biri olan 400 mg/L penisilin konsantrasyonunu kontrol grubuya karşılaştırıldığında PCO miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Kastamonuluoğlu ve ark. 2020 tarafından yapılan çalışmada da *G. mellonella*'nın yapay besiyerine bir antifungal madde olan terbinafin ilave edilmiş ve böceğin MDA ve PCO miktarlarında artış gözlenmiş ve bu artışın oksidatif stres göstergesi olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada, *D. melanogaster* üzerinde genotoksik bir karsinojen olan üretan uygulanmış ve MDA miktarındaki artış ile oksidatif hasar gösterilmiştir (Nagpal and Abraham 2017). Ardından bitkisel kökenli antioksidanlar diyet ile uygulanmış ve MDA miktarının düştüğü bulgusu elde edilmiştir. Bu şekilde MDA miktarı ile oksidatif hasar varlığı arasındaki bağlantı gösterilmiştir.

Böceğin pup evresinde 400 mg/L penisilin miktarında GST ve GPx aktivitesindeki artışa benzer Hyrsl (2007), Büyükgüzel (2009) çalışmalarında da görülmüştür. Bu durum oksidatif stresse karşı böceğin adaptif metabolik cevabının sonucu olabilir. Böcekler dünya üzerinde en fazla biyokütleye sahip canlı grubudur. Aynı zamanda adaptasyon yetenekleri çok yüksek olduğundan çok farklı ortam şartlarında yaşayabilirler. Bu başarıları farklı şartlara metabolik yanıtlarını değiştirek adapte olabilmeleridir (Reece 2010). Süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit dönüştür ve ardından hidrojen peroksit CAT tarafından suya dönüştürülmektedir (Valko 2007). Liu (2019)'nun siprofloksasin ile yaptığı çalışmasında olduğu gibi bu iki antioksidan enzimin aktivitelerinde görülen artışın ve azalmanın korelasyon göstermesi beklenir. Bu çalışmada larva evresinde 100 mg/L konsantrasyonda SOD aktivitesinde kontrol grubu ile istatistik bir fark görülmemesine rağmen azalma gözlenmiş ve bu durumun yansımıası olarak CAT aktivitesinde de azalma tespit edilmiştir. Bu enzimlerin aktivitelerindeki azalma ile MDA miktarındaki artış arasında bağlantı kurulabilir. Benzer bir sonuç Büyükgüzel (2009)'in streptomisin kullanarak *G. mellonella* ile gerçekleştirdiği çalışmasında oksidatif stresse karşı yanıt oluşturan CAT ve SOD aktivitelerindeki azalmanın MDA miktarında artış neden olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmamızda, *D. melanogaster*'ın pup evresinde MDA miktarındaki istatiksel olarak anlamlı artış olmamasına karşın aynı evrede GST, SOD ve CAT enzim aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla artış görülmektedir. Benzer bir sonuç Kaur ve arkadaşlarının (2020) gerçekleştirdikleri çalışmada da gözlemlenmiştir. Antioksidan enzimlerin tamamının aktivitelerinde gözlemlenen artışın oksidatif stres göstergesi olduğunu belirten birçok çalışma bulunmaktadır (Foyer et al. 1994, Ding et al. 2015, Kaur et al. 2020). Zorlu (2018)'nun çalışmasında bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar görülmüş olup; *G. mellonella* ile yapılan bu çalışmada diyetle alınan titanyum dioksit nanopartiküllerinin artan konsantrasyonlarda hemolenfte MDA artışına yol açtığı ve ROS oluşumuna bağlı oksidatif stres meydana geldiği ortaya konulmuştur. Zorlu (2018)'nun titanyum dioksit nanopartiküllerini yüksek dozlarda düşük dozlara göre daha etkili olduğu ve bu durumun MDA miktarındaki yükselmenin canlıda oluşan toksisiteye karşı verdiği yanıta bağlı olabileceği ifade edilmektedir. Zorlu (2018)'nun çalışmasında MDA aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistik farkın olmadığı en yüksek konsantrasyonda CAT aktivitesinde ciddi bir artış olduğu rapor edilmiştir. Bu duruma benzer bir durum bizim çalışmamızın pup ve ergin evrelerinde görülmektedir. MDA miktarında artan konsantrasyonlarda

kontrol grubuna göre bir fark görülmezken SOD ve CAT miktarında aktivitelerinde değişiklikleri bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz enziminin ana görevi ksenebiyotik gibi hücre dışı faktörler tarafından oluşturulan süperoksit radikallerini oksijen ve hidrojen peroksit dönüşturmaktır. Bu bilgiye uyumlu olarak SOD aktivitesindeki artış literatürde farklı çalışmalarla gösterilmiştir (Krishnan and Kodrik 2006, Yong Wang et al. 2012). Bu çalışmada pup evresinde SOD aktivitesinin 100 mg/L ve 200 mg/L konsantrasyonlarında yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu durum hem canlinin artan konsantrasyonlara bağlı olarak adaptasyon göstermesi ile uyumlu hem de literatürde oksidatif stresinoluştugu ve SOD yanıtının ölçüldüğü çalışmalarla uyum göstermektedir (Karthi et. al. 2018, Kaur et al. 2020).

*Drosophila melanogaster*'ın larva evresinde 400 mg/L de PCO miktarında görülen artış ile beraber GST, CAT ve SOD aktivitelerinde düşüş olduğu görülmüştür. Bu durum protein karbonillerinin artışına bağlı olarak enzim yapılarında meydana gelen hasardan dolayı gerçekleşmiş olabilir (Keleş vd. 2021). Bu çalışmada elde edilen bulguları genel olarak şu şekilde açıklayabiliz: Ksenobiyotikler iki detoksifikasiyon yolu ile metabolize edilebilirler, böcekler söz konusu olduğunda bu yollar sonunda toksik etki gösteren madde ya nötralize olur ya da elemine edilir. Faz 1 reaksiyonları esasında ksenebiyotikleri faz 2 reaksiyonları için hazırlar. Faz 2 reaksiyonları sonucu oluşan ürünler daha çözünebilir ve taşınabilir hale gelirler. GST aktivitesi faz 2 reaksiyonlarında görev alan bir enzim olarak düşük aktivite gösterdiğinde faz 1 reaksiyonları sonucunda olmuş ve halen aktif olan reaktiflerin birikmesi söz konusu olabilir. Bir anlamda faz 2 reaksiyon yolağının tikanması lipitler ve proteinler üzerindeki hasarın sebebi olabilir (Matés, 2000, Valko et al. 2007, Halliwell and Gutteridge, 2015, Anet et al. 2019).

Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan pestisitler getirdikleri çözümlere rağmen başlica çevre kirliliği oluşturmaları, sürdürülebilir olmamaları ve hedef olmayan canlılar üzerinde toksik etki gibi sorunlara neden olmaktadır (Dey 2016, Catae 2019, He et al. 2021). Pestisit olarak kullanılma alternatifleri ile beraber bazı kimyasalların laboratuvar koşullarında yetiştirlerek model organizma olarak bilimsel araştırmalarda kullanılan ve protein kaynağı olarak tüketilmek üzere yetiştirilme potansiyeli olan böceklerin besiyerlerinde mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacı ile çeşitli antimikrobiyal maddeler eklendiği literatürde belirtilmektedir (Cohen 2018, van der Fels-Klerx et al. 2018, Aslan et al. 2019, Ustundag et al. 2019).

Bu çalışmanın yukarıda ifade edilen konu başlıklarını için yapılan çalışmalarla katkı sağlayacak nitelikte olduğu düşünülmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi Üstündağ ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmada geniş spektrumlu, beta-laktam özellikle penisilinin laboratuvar koşullarında yapay besin ortamına ilave edilerek *D. melanogaster*'ın tüm yaşama ve gelişme parametreleri üzerinde olumsuz etki yaptığı tespit edilmiş, bizim çalışmamız ile de penisilinin böcek üzerindeki bu olumsuz etkinin kaynakları araştırılmış; oksidatif stres belirteçlerinde ve antioksidan enzimler üzerinde önemli değişimlere sebep olduğu tespit edilmiştir.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma "Farklı Etki Mekanizmasına Sahip Antimikrobiyal Maddelerin *Drosophila melanogaster*'ın Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi" başlıklı doktora tez projesinden elde edilmiştir. 2022-50737594-01 kodlu proje desteği için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz. Biyoloji Bölümü Hayvan Fiziolojisi ve Biyokimyası Araştırma Laboratuvarı'nın imkanlarını kullanmamızı sağlayan Prof. Dr. Kemal Büyükgüzel'e teşekkür ederiz.

## 6. Kaynaklar

- Abolaji, AO., Kamdem, JP., Farombi, EO., Rocha, JBT. 2013.** *Drosophila melanogaster* as a promising model organism in toxicological studies. *Arch. Bas. App. Med.*, 1(1): 33-38.
- Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. *Methods in Enzymol.*, 105: 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Anet, A., Olakkaran S., Purayil AK., Puttaswamygowda, GH. 2019.** Bisphenol a induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *J. Hazard. Mater.*, 370: 42-53. <https://doi.org/10.1016/j.hazmat.2018.07.050>.
- Aslan, N., Büyükgüzel E., Büyükgüzel K. 2019.** Oxidative effects of gemifloxacin on some biological traits of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Environ. Entomol.*, 48 (3): 667-673. <https://doi.org/10.1093/ee/nvz039>.
- Bauer, H., Kanzok, S. M., Schirmer, HR. 2002.** Thioredoxin-2 but not thioredoxin-1 is a substrate of thioredoxin peroxidase-1 from *Drosophila melanogaster*. Isolation and characterization of a second thioredoxin in *D. melanogaster* and evidence for distinct biological functions of Trx-1 and Trx-2. *J. Biol. Chem.*, 277(20):17457-17463. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200636200>.
- Büyükgüzel, E. 2009.** Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.*, 102 (1): 152-159. <https://doi.org/10.1603/029.102.0122>.
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2007.** Penicillin-Induced oxidative stress: effects on antioxidative response of midgut tissues in instars of *Galleria mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100 (5): 1533-1541. <https://doi.org/10.1093/jee/100.5.1533>.
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2008.** *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Entomol. Sci.*, 43 (1): 27-40. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-43.1.27>.
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2009.** Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. *Pestic Biochem Phys.*, 94 (2): 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.04.008>.
- Büyükgüzel, K., Yazgan, Ş. 2002.** Effects of antimicrobial agents on the survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet. *Turk J Zool.*, 26 (1): 111-119.
- Catae, AF., da Silva Menegasso, AR., Pratavieira, M., Palma, MS., Malaspina, O., Roat, TC. 2019.** MALDI-imaging analyses of honeybee brains exposed to a neonicotinoid insecticide. *Pest Manag. Sci.*, 75 (3): 607-615. <https://doi.org/10.1002/ps.5226>.
- Cohen, AC. 2015.** Insect diets: science and technology. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b18562>.
- Corona, M., Robinson, GE. 2006.** Genes of the antioxidant system of the honey bee: Annotation and phylogeny. *Insect Mol. Biol.*, 15 (5): 687-701. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00695.x>.
- Çelik, C., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2019.** The effects of oxyclozanide on survival, development and total protein of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res. Soc.*, 21 (1): 95-108.
- Dey, D. 2016.** Impact of indiscriminate use of insecticide on environmental pollution. *Int. J. Plant Prot.*, 9 (1): 264-267. <https://doi.org/10.15740/has/ijpp/9.1/264-267>.
- Doğan, FN., Karpuzcu, ME. 2019.** Türkiye'de tarım kaynaklı pestisit kirliliğinin durumu ve alternatif kontrol tedbirlerinin incelenmesi. *Pamukkale Üniv. Müh. Bilim Derg.*, 25 (6): 734-747. <https://doi.org/10.5505/pajes.2018.53189>.
- Foyer, CH., Descourvieres, P., Kunert, KJ. 1994.** Protection against oxygen radicals - an important defense-mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.*, 17 (5): 507-523. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00146.x>.

- Güneş, E., Büyükgüzel, E.** 2017. Oxidative effects of boric acid on different developmental stages of *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae). *Turk Entomol Derg.*, 41 (1): 3-15. <https://doi.org/10.16970/ted.59163>.
- Van der Fels-Klerx, HJ., Camenzuli, L., Belluco, S., Meijer, N., Ricci, A.** 2018. Food safety issues related to uses of insects for feeds and foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, 17(5):1172-1183. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12385>.
- Habig, HW., Pabst MJ., Jakoby WB.** 1974. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.*, 249 (22): 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8).
- Halliwell, B., Gutteridge, JMC.** 2015. Free radicals in biology and medicine. In *Free Radicals in Biology and Medicine*. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>.
- Hirsch, HVB., Lnenicka, G., Possidente, D., Possidente, B., Garfinkel, MD., Wang, L., Lu, X., Ruden, DM.** 2012. *Drosophila melanogaster* as a model for lead neurotoxicology and toxicogenomics research. *Front. Genet.*, 3 (68): 1-7. <https://doi: 10.3389/fgene.2012.00068>.
- He, Y., Guo, C., Lv, J., Deng, Y., Xu, J.** 2021. Occurrence, sources, and ecological risks of three classes of insecticides in sediments of the liaohe river basin, china. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28 (44): 62726-62735. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15060-5>.
- Huynh, MP., Meihls, LN., Hibbard, BE., Lapointe, SL., Niedz, RP., Ludwick, DC., Coudron, TA.** 2017. Diet improvement for western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. *PLoS One*, 12 (11): e0187997. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187997>.
- Hyršl, P., Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K.** 2007. The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Arch Insect Biochem Physiol.*, 66 (1): 23-31. <https://doi.org/10.1002/arch.20194>.
- IBM SPSS Statistics 2021.** User's manual, version 28. SPSS, Chicago, IL, USA.
- Jain, SK., Levine, S., Levine, N.** 1994. Elevated lipid peroxidation and vitamin e-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Rad Biol Med.*, 18 (2): 337-341. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00114-y](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00114-y).
- Karthi, S., Vaideki, K., Shivakumar, MS., Ponsankar, A., Thanigaivel, A., Chellappandian, M., Vasantha-Srinivasan, P., Muthu-Pandian, CK., Hunter, WB., Senthil-Nathan, S.** 2018. Effect of *Aspergillus flavus* on the mortality and activity of antioxidant enzymes of *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Pestic Biochem Phys.*, 149: 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.05.009>.
- Kastamonuluoğlu, S., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E.** 2020. The use of dietary antifungal agent terbinafine in artificial diet and its effects on some biological and biochemical parameters of the model organism *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 113 (3): 1110-1117. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa039>.
- Kaur, M., Chadha P., Kaur S., Kaur, A.** 2021. Effect of *Aspergillus flavus* on lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in midgut tissue of *Spodoptera litura* larvae. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.*, 54 (3-4): 177-190. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1826719>.
- Keles, V., Buyukguzel, K., Buyukguzel, E.** 2021. The effect of streptomycin on survival, development, and some biochemical aspects of *Drosophila melanogaster*. *Turk J Zool.*, 45 (6): 432-441. <https://doi:10.3906/zoo-2101-14>.
- Krishnan, N., Kodrik, D.** 2006. Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress? *J Insect Physiol.*, 52 (1): 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.08.009>.
- Krishnan, N., Sehnal, F.** 2006. Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of *Spodoptera littoralis*. *Arch Insect Biochem Physiol.* 63 (1): 1-10. <https://doi.org/10.1002/arch.20135>.
- Liu, J., Li, X., Wang, X.** 2019. Toxicological effects of ciprofloxacin exposure to *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 237: 124542. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124542>.
- Lushchak, VI.** 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem. Biol. Interact.*, 224: 164-175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>.
- Marklund, S., Marklund, G.** 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.*, 47 (3): 469-474. <https://doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>.
- Mateš, JM.** 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153 (1-3): 83-104. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00306-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00306-1).
- Nagpal, I., Abraham, SK.** 2017. Ameliorative effects of gallic acid, quercetin and limonene on urethane-induced genotoxicity and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol. Mech. Methods*, 27 (4): 286-292. <https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1278294>.
- Nair, RV., Kulye MS., Kamath, SP.** 2018. A single semi-synthetic diet with improved antimicrobial activity for mass rearing of lepidopteran insect pests of cotton and maize. *Entomol. Exp. Appl.*, 167 (4): 377-387. <https://doi.org/10.1111/eea.12779>.
- Paglia, DE., Valentine, WN.** 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. lab. clin. med.*, 70 (1): 158-169. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0022214367900765>.

- Pajot, P. 1976.** Fluorescence of proteins in 6-M guanidine hydrochloride. *Euro J Biochem.*, 63 (1): 263-269. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1976.tb10228.x>.
- Parvathi, DV., Amritha, AS., Paul, SFD. 2009.** Wonder animal model for genetic studies-*Drosophila melanogaster*-its life cycle and breeding methods-a review introduction. *Sri Ramachandra j. Med.*, 2 (2): 33-38.
- Pascacio-Villafán, C., Birke, A., Williams, T., Aluja, M. 2017.** Modeling the cost-effectiveness of insect rearing on artificial diets: a test with a tephritid fly used in the sterile insect technique. *PLoS One*, 12 (3): e0173205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173205>.
- Reece, JB., Urry, LA., Cain, ML., Wasserman, SA., Minorsky, PV., Jackson, RB. 2010.** Campbell biology. In *Campbell Biology*. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>.
- Üstündağ, G., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2020.** Penicillin impact on survivorship, development, and adult longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Entomol. Sci.*, 55 (4): 560-569. doi: <https://doi.org/10.18474/0749-8004-55.4.560>.
- Ustundağ, G., Buyukguzel, K., Buyukguzel, E. 2019.** The effect of niclosamide on certain biological and biochemical properties of *Drosophila melanogaster*. *Eur. J. Biol.*, 78 (1): 29-39. <https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2019.0003>.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MTD., Mazur, M., Telser, J. 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39 (1): 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.
- Wang, Y., Oberley, LW., Murhammer, DW. 2001.** Antioxidant defense systems of two lipidopteran insect cell lines. *Free Radic. Biol. Med.*, 30 (11): 1254-1262. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00520-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00520-2).
- Yao, P., Chen, X., Yan, Y., Liu, F., Zhang, Y., Guo, X., Xu, B. 2014.** Glutaredoxin 1, glutaredoxin 2, thioredoxin 1, and thioredoxin peroxidase 3 play important roles in antioxidant defense in *Apis cerana cerana*. *Free Radic. Biol. Med.*, 68: 335-346. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.12.020>.
- Zorlu, T., Nurullahoglu, ZU., Altuntas, H. 2018.** Influence of dietary titanium dioxide nanoparticles on the biology and antioxidant system of model insect, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res. Soc.*, 20 (3): 89-103.



## Similarity Matching of Ontology in Semantic Web

### *Semantik Web'de Ontoloji Benzerliklerinin Eşleşmesi*

Ayse Salman\*

Maltepe University, Department of Computer Engineering, Istanbul, Turkey

#### **Abstract**

Matching Ontologies becomes an important task for many applications in Semantic Web. This paper investigates effective similarity match between ontologies by considering similarity on two levels. We first consider the similarity of the linguistic properties of the ontology entities which takes in consideration both morphological and semantics of the entities. This is then combined with measuring the similarity of the ontology structure as represented by RDF graph. This similarity is derived by constructing a graph from the matched nodes and use it to calculate the measure of structure similarity.

**Keywords:** Linguistic similarity, Ontology matching, RDF (Resource Description Framework) graph, Similarity graph, Similarity measure, Structure similarity

#### **Öz**

Ontolojileri eşleştirmek birçok Semantik Web uygulaması için önemli bir görev haline gelmiştir. Bu makale, iki benzerlik seviyesi kullanarak ontolojiler arasındaki etkili benzerlik eşleşmesini araştırmaktadır. Bu çalışmada, ilk olarak varlıkların hem morfolojisini hem de semantığını hesaba katarak, ontoloji varlıklarının dilsel özelliklerinin benzerliklerinin incelenmesi ile başlamaktadır. Bu daha sonra bir RDF grafiği ile temsil edilen ontoloji yapısının bir karşılaştırması ile birleştirilmektedir. Bu benzerlik, eşleşen düğümlerden bir grafik oluşturularak ve yapı benzerliğinin ölçüsünü hesaplamak için kullanılarak hesaplanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Dilsel benzerlik, Ontoloji eşleştirme, RDF (Kaynak Tanımlama Çerçevesi) grafiği, Benzerlik ölçüsü, Eşleşen grafik, Yapı benzerliği

#### **1. Introduction**

Ontology matching is a key challenge in Semantic Web (Berners-Lee et al. 2001). It is the problem of finding semantic mappings among ontologies for data integration and reuse. To operate effectively, the Semantic Web must be able to make explicit the semantics of Web resources via ontologies, which software agents use to automatically process these resources. Hence, large number of ontologies are constructed covering many domains. Given the nature of the web, being decentralised and lack common criterion for building ontology, many of these ontologies will have overlapping domains, while many others may describe similar domains but using different terminologies. This

heterogeneity presents problems however, particularly in terms of redundancy and ambiguity.

To achieve some degree of interoperability to enable integration and sharing of data across different applications and organizations, virtually any application that involves multiple ontologies must establish correspondences among them (Uschold 2003). Hence, the development of tools to measure the degree of similarity among ontologies has received much attention (Liu et al. 2021).

To be fully meaningful the similarity must consider the use of both linguistic and structural matchings hence adopts two phases to compute similarity of the ontologies and return a measure of the degree of similarity. In this work the measure is considered a real number in the unit interval [0,1], with 0 means no similarity and 1 means complete similarity.

\*Corresponding author: [aysesalmanr@gmail.com](mailto:aysesalmanr@gmail.com)

Ayse Salman [orcid.org/0000-0003-2649-3061](https://orcid.org/0000-0003-2649-3061)



This work is licensed by "Creative Commons Attribution-NonCommercial-4.0 International (CC BY NC)".

## 2. Determining Linguistic Similarity Among Entities

The first phase of the analysis is to compute linguistic similarity among ontologies entities. Generally, linguistic similarity between two entities relies on both morphological and semantic of the entities. Ontologies are usually represented as attributed directed graphs and since the emergence of the Semantic Web, such graph has been standardized by the World Wide Web Consortium (Berners-Lee et al. 2001) as set of RDF triples of the form <subject, predicate, object>. Attribute name or label of a node or an arc in RDF graph can be a URI or a literal, whether string, word or variable, and nodes can also be blanks. Morphological similarity of the ontology entities can be done by comparing their character strings, while semantic similarity is done by comparing their meanings.

To measure morphological similarity, we can use *Levenshtein string edit distance* (Rice et al. 1997). In this method, the similarity of two strings is taken as the minimum number of single characters edit operations: deletions, insertions, or substitutions, which are required in order to transform one string into the other. Thus, the morphological similarity measure  $Sim_{morph}$  is given by:

$$Sim_{morph}(n_i, n_j) = 1 - \frac{ED(n_i, n_j)}{\max(|n_i|, |n_j|)} \quad (1)$$

Where  $ED(n_i, n_j)$  is the Levenshtein's edit distance for label strings of the two entities  $n_i$  and  $n_j$  as character strings irrespective of the types of the labels.

To compare the semantics of ontology entities, their character strings should be *tokenized* using a *tokenization* algorithm such as NLTK (Ramasubramanian and Ramya 2013, Bird et al. 2009). Tokenization is an NLP basic process that partitions a character string into a sequence of units of letters called *tokens* by using delimiters (such as punctuations, upper case, digits etc.) and discarding the non-letter ones. If any such tokens are words, we can measure their semantic similarity by using WordNet (Miller et al. 2006). WordNet is a lexical database that organizes nouns and verbs into a taxonomy of *is-a* relations. Several methods are devised in the bibliography for measuring the correlation or similarity between two terms from the WordNet ontology (Qin et al. 2009, Blanchard et al. 2005, Budanitsky and Hirst 2006, Lin 1998, Ding et al. 2005, Resnik 1995). However, the results on the evaluation of the performance of these similarity methods done by Verlas et al. (Varelas et al. 2005) have shown fairly general agreements among them. Here we

select similarity measures based on counting edges between concepts i.e., their depth in the WordNet is-a taxonomy e.g., the works in (Wu and Palmer 1994, Albergawy et al. 2010), Hence to measure the semantic similarity between two tokens  $t_1$  and  $t_2$  we use Wu and Palmer's formula (2) below that is illustrated in Figure 1.

$$\begin{aligned} Sim_{Tok}(t_1, t_2) &= \frac{2 \times depth(LCS)}{depth(t_1) + depth(t_2)} \\ &= \frac{2 \times D_0}{D_1 + D_2 + 2 \times D_0} \end{aligned} \quad (2)$$

where  $D_1$  and  $D_2$  are the numbers of is-a edges from nodes representing tokens  $t_1$  and  $t_2$  to node  $t_0$ , their first mutual parent (called the Least Common Subsumer LCS) that subsumes them both.  $D_0$  is the number of is-a edges from  $t_0$  to the root of the hierarchy. When tokens are not proper words which means cannot be found in WordNet, then only morphological similarity is considered.

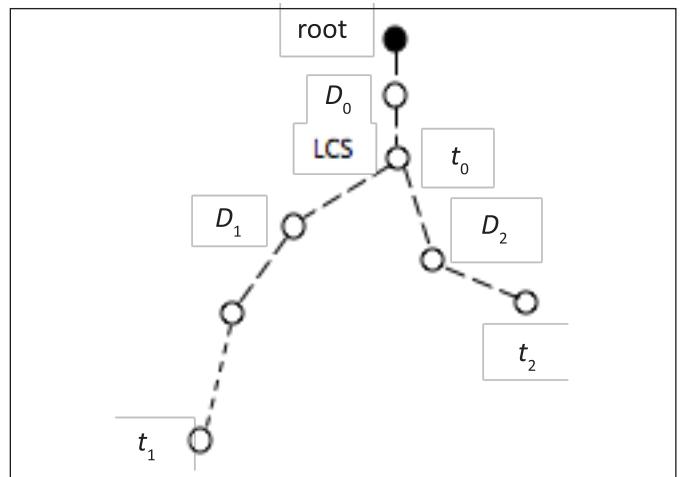


Figure 1. Illustration of the semantic similarity measure in formula (2).

The semantic similarity  $Sim_{Sem}$  of the labels of two entities  $n_i$  and  $n_j$  can be taken as the semantic similarity of their corresponding token sets  $T_1$  and  $T_2$  (Nayak et al. 2007, Salman 2020, Wang et al. 2021). This can be calculated by adding up the best (maximum) similarity of every token in one set to the tokens in the other. The summation is then averaged by dividing over the sum of the two sets cardinalities as shown in formula (3) below:

$$Sim_{Sem}(n_i, n_j) = \frac{\sum_{t_1 \in T_1} [\max_{t_2 \in T_2} Sim_{Tok}(t_1, t_2)] + \sum_{t_2 \in T_2} [\max_{t_1 \in T_1} Sim_{Tok}(t_1, t_2)]}{|T_1| + |T_2|} \quad (3)$$

The linguistic similarity  $Sim_{Ling}(n_i, n_j)$  of two entities  $n_i$  and  $n_j$  can then be calculated by weighted sum combining morphological and semantic similarities (Zhang et al. 2008, Salman 2020, Liu et al. 2021, Lv et al. 2020) and can be defined as:

$$\begin{aligned} & Sim_{Ling}(n_i, n_j) \\ &= p \times Sim_{morph}(n_i, n_j) + q \times Sim_{Sem}(n_i, n_j) \end{aligned} \quad (4)$$

where,  $p, q \in [0,1]$  and  $p + q = 1$

### 3. Structure Similarity Matching

Linguistic similarity as shown in section 2 considers the similarity of the ontology entities without considering the similarity of ontology structure. As the ontology is represented by RDF graph, similarity of ontology structure is turned into similarity matching of RDF graphs. Exact graph matchings have been shown in the literature to be NP-complete, e.g., in (Klyne 2004). However, we rely in RDF graph matching on characteristics of RDF graph (Zhu et al. 2002). An RDF graph representing ontology is simply a set of triples of the form  $\langle \text{subject}, \text{property}, \text{object} \rangle$  (Klyne 2004) and we can define it as follows.

**Definition:** An RDF graph is a directed labelled graph  $G = (N, A)$  where (1)  $N$  is a set of nodes whether represent *subjects* or *objects*, (2)  $A$  is a set of arcs represent *properties* (called also predicates) and (3) each arc  $a \in A$  connects subject node  $s \in N$  to object  $o \in N$  in that direction, representing triple  $\langle s, p, o \rangle$ .

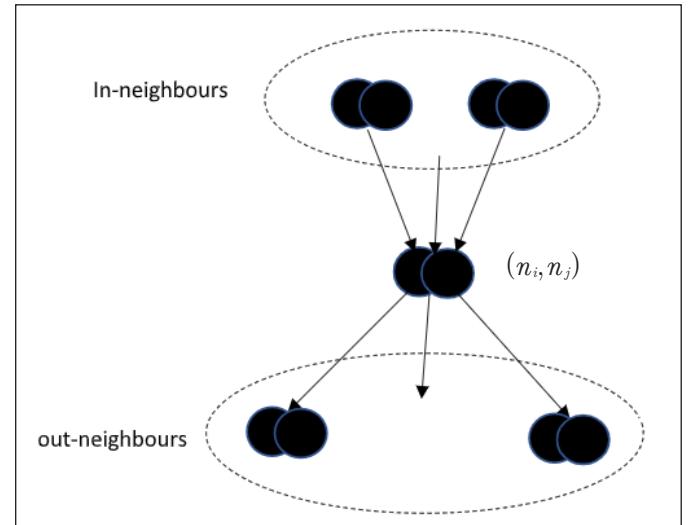
For computing the similarity between two RDF graphs, matching is based on the intuition that if two subject nodes are matched then their objects are also matched if their arcs properties were matched. This idea was proposed in Similarity Flooding work by Melnik et al [8] and also by G. Jeh et al in SimRank (Jeh and Widom 2002). The matching between two graphs can be put in the form of a graph, we call this *similarity graph*, by pairing matched nodes according to the that intuition. Similar procedure was also used in the work in (Zhang et al. 2008) to create matching tree. Hence to compute the similarity between two RDF graphs  $g$  and  $g'$  we first construct a *similarity graph*  $G(g, g')$  according to the following rule. Each node in the similarity graph is an element from  $g \times g'$  such that  $((n_1, n_1'), p, (n_2, n_2')) \in G(g, g') \Leftrightarrow (n_1, p, n_2) \in g$  and  $(n_1', p, n_2') \in g'$  and  $n_1$  is matched to  $n_1'$ . Using graph  $G(g, g')$ , the structure similarity between  $n_i$  in  $g$  and  $n_j$  in  $g'$  is the average of the similarity  $Sim_{Ling}(n_i, n_j)$  and the similarity of the nodes neighbours to node  $(n_i, n_j)$

, in-neighbours and out-neighbours, as illustrated in Figure 2. Similar method was devised in the work in (Zhang et al. 2012) but it uses statements representing triples rather than individual nodes and also in the work in (Zhang et al. 2008) that uses similarity tree rather than similarity graph. The structural similarity  $Sim_{struc}$  of two nodes  $n_i$  and  $n_j$  is then calculated by the following formula:

$$\begin{aligned} & Sim_{struc}(n_i, n_j) = \alpha \times Sim_{Ling}(n_i, n_j) \\ & + \beta \times \frac{\sum_{k=1}^{|I(n_i, n_j)|} Sim_{Ling} I_k(n_i, n_j)}{|I(n_i, n_j)|} \\ & + \gamma \times \frac{\sum_{k=1}^{|O(n_i, n_j)|} Sim_{Ling} O_k(n_i, n_j)}{|O(n_i, n_j)|} \end{aligned} \quad (5)$$

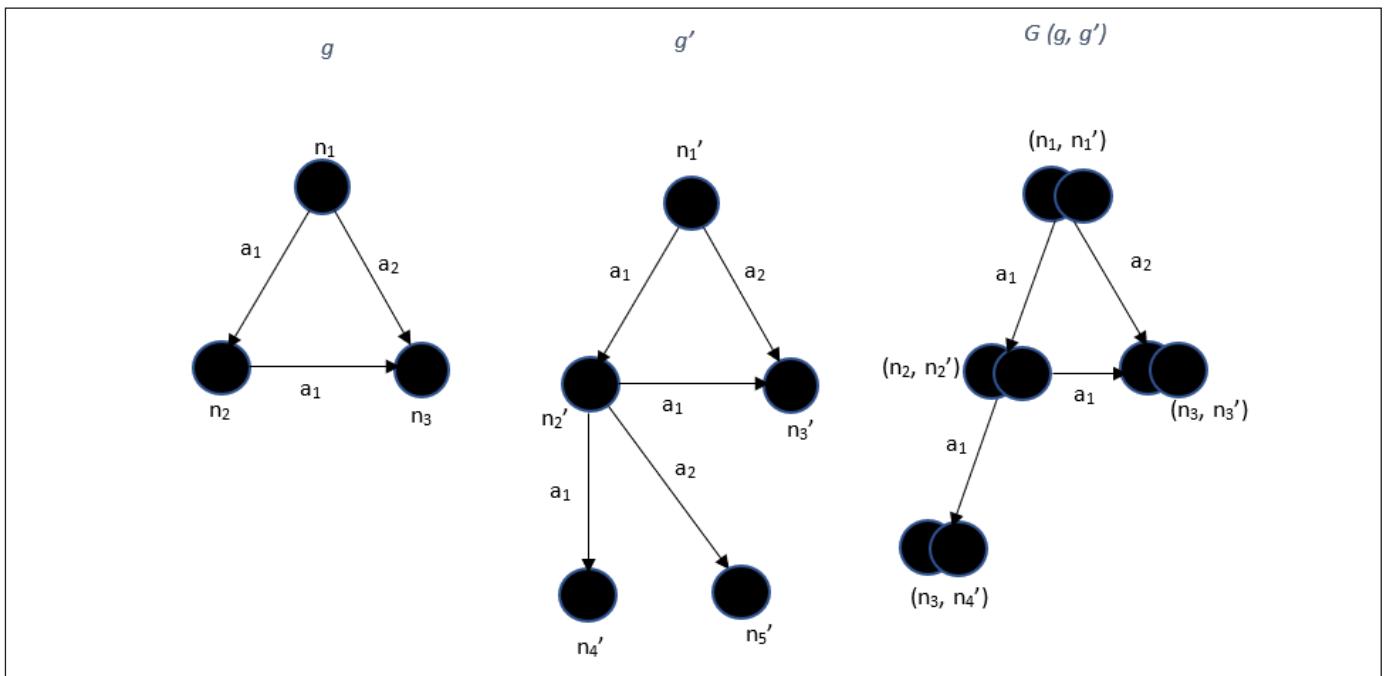
$$\alpha, \beta, \gamma \in [0,1] \text{ and } \alpha + \beta + \gamma = 1$$

Where in-degree  $|I(n_i, n_j)|$  (number of arcs leaving  $(n_i, n_j)$  as subject node), out-degree  $|O(n_i, n_j)|$  (number of arcs entering  $(n_i, n_j)$  as object node). Individual in-neighbour is denoted by  $I_k(n_i, n_j)$ , for  $1 \leq k \leq |I(n_i, n_j)|$  and individual out-neighbour is denoted by  $O_k(n_i, n_j)$ , for  $1 \leq k \leq |O(n_i, n_j)|$ .



**Figure 2.** Neighbouring nodes of the similarity graph node  $(n_i, n_j)$ .

To illustrate how the similarity graph is computed we take the simple example displayed in Figure 3 below. Two ontology RDF graphs  $g$  and  $g'$  are displayed in Figure 3-a and Figure 3-b. To match these two RDF graphs, we create the Similarity Graph  $G(g, g')$  in Figure 3-c in which each node is represented by a pair of matched nodes of  $g$  and  $g'$  starting from the first matched pairs ( $n_1$  and  $n_1'$  in the figure) then follow the corresponding matched arcs.



**Figure 3.** Illustration of creating the similarity graph.

To calculate the similarity between two RDF graphs  $g$  and  $g'$  we can then use the following formula:

$$\text{Sim}(g, g') = \frac{\sum_i^n \text{Sim}_{\text{struct}}(n_i, n_j) \times D(n_i, n_j)}{\sum_i^n D(n_i, n_j)} \quad (6)$$

Where  $n$  is the number of nodes in the similarity graph and  $D(n_i, n_j)$  is the node  $(n_i, n_j)$  degree = indegree  $|I(n_i, n_j)|$  + outdegree  $|O(n_i, n_j)|$ .

#### 4. Conclusion

The work presented in this paper has taken an approach for effective measure of ontology similarity. This is done by combining two measures of similarity. One is the measure of linguistic similarity of ontology entities which considers both morphological and semantics of the entities. The second measure is the similarity of the ontology structure using its representation as RDF graph. This measure avoids the complexity of graph isomorphism by relying on the triples characteristics of RDF graphs to create a similarity graph. While this is a step in the development of the similarity problem, in future work more analysis still required particularly in handling the semantics of the different types of node labelling. in addition to testing and evaluating the method on real data.

#### 5. References

- Algergawy, A., Nayak, R., & Saake, G. (2010). Element similarity measures in XML schema matching. *Information Sciences*, 180(24), 4975-4998.
- Berners-Lee, T., Hendler, J., & Lassila, O. (2001). The semantic web. *Scientific american*, 284(5), 34-43.
- Bird, S., Klein, E., & Loper, E. (2009). *Natural language processing with Python: analyzing text with the natural language toolkit*. "O'Reilly Media, Inc."
- Blanchard, E., Harzallah, M., Briand, H., & Kuntz, P. (2005). A typology of ontology-based semantic measures. *EMOI-INTEROP*, 160, 3-11.
- Budanitsky, A., & Hirst, G. (2006). Evaluating wordnet-based measures of lexical semantic relatedness. *Computational linguistics*, 32(1), 13-47.
- Cyganiak, R., Wood, D., Lanthaler, M., Klyne, G., Carroll, J.J., & McBride, B. (2014). RDF 1.1 concepts and abstract syntax. *W3C recommendation*, 25(02), 1-22.
- Ding, L., Pan, R., Finin, T., Joshi, A., Peng, Y., & Kolari, P. (2005). Finding and ranking knowledge on the semantic web. In *International Semantic Web Conference* (pp. 156-170). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Graves, A., Adali, S., & Hendler, J. (2008). A Method to Rank Nodes in an RDF Graph. In *International Semantic Web Conference (Posters & Demos)* (Vol. 401).

- Jeh, G., & Widom, J. (2002, July).** Simrank: a measure of structural-context similarity. In *Proceedings of the eighth ACM SIGKDD international conference on Knowledge discovery and data mining* (pp. 538-543).
- Klyne, G. (2004).** RDF Concepts and Abstract Syntax W3C Recommendation. <http://www.w3.org/TR/rdf-concepts/>.
- Lin, D. (1998).** An information-theoretic definition of similarity. In *Icmi* (Vol. 98, No. 1998, pp. 296-304).
- Liu, X., Tong, Q., Liu, X., & Qin, Z. (2021).** Ontology matching: state of the art, future challenges and thinking based on utilized information. *IEEE Access*.
- Lv, Q., Jiang, C., & Li, H. (2020).** Solving ontology meta-matching problem through an evolutionary algorithm with approximate evaluation indicators and adaptive selection pressure. *IEEE Access*, 9, 3046-3064.
- Melnik, S., Garcia-Molina, H., & Rahm, E. (2002).** Similarity flooding: A versatile graph matching algorithm and its application to schema matching. In *Proceedings 18th international conference on data engineering* (pp. 117-128). IEEE.
- Miller, G. A., Fellbaum, C., Tengi, R., Wolff, S., Wakefield, P., Langone, H., & Haskell, B. (2006).** WordNet: A lexical database for the English language. *Cognitive Science Lab, Princeton University*, <http://www.cogsci.princeton.edu/wn>.
- Motik, B., & Patel-Schneider, P. (2012).** OWL 2 Web Ontology Language Mapping to RDF Graphs.
- Nayak, R., & Tran, T. (2007).** A progressive clustering algorithm to group the XML data by structural and semantic similarity. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, 21(04), 723-743.
- Qin, P., Lu, Z., Yan, Y., & Wu, F. (2009).** A new measure of word semantic similarity based on wordnet hierarchy and dag theory. In *2009 International Conference on Web Information Systems and Mining* (pp. 181-185). IEEE.
- Ramasubramanian, C., & Ramya, R. (2013).** Effective pre-processing activities in text mining using improved porter's stemming algorithm. *International Journal of Advanced Research in Computer and Communication Engineering*, 2(12), 4536-4538.
- Resnik, P. (1995).** Using information content to evaluate semantic similarity in a taxonomy. *arXiv preprint cmp-lg/9511007*.
- Rice, S. V., Bunke, H., & Nartker, T. A. (1997).** Classes of cost functions for string edit distance. *Algorithmica*, 18(2), 271-280.
- Salman, A. (2020).** Similarity matching of XML schema. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 10(1), 121-129.
- Schneider, P., Hayes, P., & Horrocks, I. (2004).** OWL Web Ontology Language Semantics and Abstract Syntax. W3C Recommendation. *World Wide Web Consortium (W3C)*.
- Uschold, M. (2003).** Where are the semantics in the semantic web?. *Ai Magazine*, 24(3), 25-25.
- Varelas, G., Voutsakis, E., Raftopoulou, P., Petrakis, E. G., & Milios, E. E. (2005).** Semantic similarity methods in wordnet and their application to information retrieval on the web. In *Proceedings of the 7th annual ACM international workshop on Web information and data management* (pp. 10-16).
- Wang, Y., Li, Y., Fan, J., Ye, C., & Chai, M. (2021).** A survey of typical attributed graph queries. *World Wide Web*, 24(1), 297-346.
- Wu, Z., & Palmer, M. (1994).** Verb semantics and lexical selection. *arXiv preprint cmp-lg/9406033*.
- Zhang, D., Song, T., He, J., Shi, X., & Dong, Y. (2012).** A similarity-oriented RDF graph matching algorithm for ranking linked data. In *2012 IEEE 12th International Conference on Computer and Information Technology* (pp. 427-434). IEEE.
- Zhang, R., Wang, Y., & Wang, J. (2008).** Research on ontology matching approach in semantic web. In *2008 International Conference on Internet Computing in Science and Engineering* (pp. 254-257). IEEE.
- Zhu, H., Zhong, J., Li, J., & Yu, Y. (2002).** An approach for semantic search by matching RDF graphs. In *FLAIRS Conference* (pp. 450-454).

**Makalenin Adı:****Yazarların adı (makaledeki sırayla):**

Biz aşağıda imzaları bulunan yazarlar, sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu; başka bir dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini, daha önce yayınlanmadığını, eğer, tümüyle ya da bir bölümü yayınlandı ise yukarıda adı geçen dergide yayınlanabilmesi için gerekli her türlü iznin alındığını ve orijinal telif hakkı devri formu ile birlikte *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi Editörlüğü*'ne gönderildiğini garanti ederiz.

Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz.

Bu vesileyle makalenin telif hakkı Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi'ne devredilmiştir.

*Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi Editörlüğü* makalenin yayınlanabilmesi konusunda yetkili kılınmıştır. Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır:

1. Telif Hakkı dışında kalan patent vb. bütün tescil edilmiş haklar.
2. Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında; makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksiz kullanma hakkı.
3. Makaleyi satmamak koşulu ile kendi amaçları için çoğaltma hakkı.

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere:

**Yazar Adı : (Yazarlar sırayla yazılacaktır)**

Tarih : .../.../.....

İmza :

Yazar Adı :

Tarih : .../.../.....

İmza:

Yazar Adı :

Tarih : .../.../.....

İmza:

Yazar Adı :

Tarih : .../.../.....

İmza:

Yazar Adı :

Tarih : .../.../.....

İmza:

Yazar Adı :

Tarih : .../.../.....

İmza:

**Makaleyi gönderen sorumlu yazarın;**

Adı-Soyadı:

Yazışma Adresi : (**Sorumlu yazarın ait posta gönderim adresi**)

Telefonu : (**Sorumlu yazarla ulaşılabilcek telefon numarası**)

Belge Geçer : (**Sorumlu yazarla ulaşılabilcek faks numarası**)

E-posta : (**Sorumlu yazarın e-mail adresi**)

**Manuscript Title:**

**Full names of all authors (in order to appear on manuscript)**

The undersigned authors, we guarantee that our submitted manuscript is original work; it has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere, if, in whole or part of the publication of the magazine was published for the above-mentioned receipt of all necessary permits and was sent to *Editorial Office of Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi* with copyright transfer form.

We agree to waive the right to assume the responsibility of the copyright of the article and thank signature.

This article is hereby transferred to the copyright of Zonguldak Bülent Ecevit University.

*Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi Editor* of the publication of the article is authorized.

However, the authors reserve the following rights:

1. All proprietary rights Copyright outside, such as patent.
2. to use, free of charge, all parts of this article for the author's future works in books, lectures.
3. the right to reproduce the article for their own purposes provided the copies are not offered for sale.

To be signed by all authors:

Author Name : **(The authors will be written in the order)** Date : .../.../..... Signature :

Author Name : Date : .../.../..... Signature :

Author Name : Date : .../.../..... Signature :

Author Name : Date : .../.../..... Signature :

Author Name : Date : .../.../..... Signature :

Author Name : Date : .../.../..... Signature :

Corresponding author's

Name-Surname:

Address : **(Corresponding author's mail address)**

Phone : **(Corresponding author's contact phone number)**

Fax : **(Corresponding author's contact fax number)**

E-mail : **(Corresponding author's e-mail address)**



**Yazışma Adresi:**

Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi  
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, 67100, Zonguldak  
**Tel:** (372) 291 26 26   **Faks:** (372) 257 40 23  
**Web:** <https://dergipark.org.tr/tr/pub/karaelmasfen>

