

Hull-White Stokastik Diferansiyel Denklemin Lie Simetri Analizi

Lie Symmetry Analysis to the Hull-White Stochastic Differential Equation

Burhaneddin İZGİ¹, Ahmet BAKKALOĞLU²

¹ İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Mühendisliği Bölümü, 34469 Maslak, İstanbul

² Mimar Sinan Güzel Sanatlar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü, Şişli-Bomonti 34380, İstanbul

Öz

Bu makalede, stokastik diferansiyel denklemlere Lie simetri analizinin bir uygulaması olarak asıl çözümün nasıl elde edileceğini göstereceğiz. Yapacağımız bu analizler stokastik faiz oranı modellerinden Hull-White modeli özelinde yapılacaktır. İlk olarak Hull-White stokastik modeline karşılık gelen Hull-White (1+1) lineer parabolik kısmi türevli denklemini elde edeceğiz. Daha sonra, elde ettiğimiz bu denklemin Lie simetri analiz yöntemleriyle özellikle de değişmezlik kriterleri altında klasik anlamdaki ısı denkleminin dönüşebileceğini göstereceğiz ve ilgili dönüşümleri bulacağız. Son olarak da, Hull-White kısmi türevli diferansiyel denkleminin asıl çözümünü, bulduğumuz bu dönüşümlerle ve ısı denkleminin literatürdeki özelliklerini kullanarak elde edeceğiz.

Anahtar Kelimeler: Stokastik diferansiyel denklemler, ısı denkleminin, Lie simetri analizi

Abstract

In this paper we present, as an application of the Lie symmetry analysis, that how to obtain the fundamental solution of the stochastic differential equations. Especially, we focus on Hull-White stochastic interest rate model, among others. First of all, we obtain the corresponding (1+1) scalar linear parabolic partial differential equation (PDE) to the Hull-White stochastic model. Later on, we exhibit that this Hull-White PDE can be converted to the classical heat equation under the invariant criteria, and we achieve the related transformations. Finally, we obtain the analytical solution of the Hull-White PDE with these transformations using the properties of heat equation in the literature.

Keywords: Stochastic differential equations, heat equation, Lie symmetry analysis

1. GİRİŞ

Günümüzde stokastik diferansiyel denklemlerle modelleme yapmak sadece matematiksel finans veya ekonomi alanları için değil fizik, oyun teorisi, elektrik, meteoroloji gibi birçok temel bilim ve mühendislik alanları için kaçınılmaz araçlar arasında yerini almış bulunmaktadır. Stokastik diferansiyel denklemlerle çalışmak her ne kadar gerçek olayları doğru veya daha az hatayla modellemek açısından güzel bir yöntem olsa da işin doğası gereği bazı zorlukları da aşmak bir o kadar güç olabilmektedir. Öyle ki, birçok stokastik diferansiyel denklemin açık çözümü bulunamamakta veya açık çözümü olanların bile çözüm bileşenlerinin içinde rassal terimlerin olması asıl çözüme ulaşmada bazı ekstra işlem veya adımların olması gerekliliğini yanında getirmektedir. İşte tam bu noktada, simülasyon tabanlı sayısal yöntemler oldukça ön plana çıkmaktadır. Son zamanlarda bu duruma alternatif bir yaklaşım olarak stokastik diferansiyel denklemlere Lie simetri analizleri uygulanması oldukça önem arz eden çalışmalar arasında literatürde yerini almış bulunmaktadır. Böylece, doğası gereği karmaşık yapıya sahip olan stokastik diferansiyel denklemler, Lie simetri yaklaşımı ile daha anlaşılır ve bilinen forma indirgenebilmektedir. İndirgenen form yardımıyla da ilgili stokastik denklemin çözüm veya çözüm uzayı hakkında daha kapsamlı bilgi elde etmek mümkün olabilmektedir.

Biz de bu çalışmamızda Hull-White [1] stokastik faiz oranı modelinin numerik çözümü yerine, stokastik kalkulus ile elde edilen ve ona karşılık gelen (1+1) lineer skaler parabolik kısmi türevli denklemin Lie simetri analizini uygulayarak klasik anlamdaki

ısı (birinci tip Lie kanonik formu) denkleminin dönüşebileceğini göstereceğiz ve ilgili dönüşümleri elde edeceğiz. Daha sonra ise, Hull-White kısmi türevli diferansiyel denkleminin asıl çözümünü bulduğumuz bu dönüşümlerle ve ısı denkleminin literatürdeki özelliklerini kullanarak elde edeceğiz.

Literatüre baktığımızda bu konudaki öncü ilk çalışma Gazizov ve Ibragimov [2] tarafından 1998 yılında Merton-Black-Scholes [7] denkleminin uygulanarak yapılmıştır. Hemen sonrasında 2000 yılında Goard [3] Lie metodu yardımıyla bono fiyatlandırması için kullanılan kısmi türevli denkleme yeni bir çözüm bulmuştur. Poee ve arkadaşları sıfır-kupon bono fiyatlandırma problemine temel çözüm buldukları çalışmayı ise 2004 yılında yayınlamışlardır [8].

Mahomed 2008 yılında, (1+1) lineer skaler kısmi türevli denklemlerin sınıflandırması konusunda oldukça kapsamlı bir çalışmaya imza atmıştır [6]. Bu çalışmada, Mahomed (1+1) tipindeki lineer skaler kısmi türevli denklemlerin Lie'nin 1881'de [4] bulunduğu dört kanonik formdan hangisine indirgenebileceği konusunda gerek ve yeter koşulları ortaya koymuştur. Daha sonra Mahomed ve arkadaşları 2013 yılında yapmış oldukları çalışmada değişmezlik koşullarını finans alanında sıkça kullanılan bazı denklemlere uygulamanın yanı sıra Hamiltonian adı verilen yeni yaklaşımı da sunmuşlardır [5].

Bakkaloğlu ve arkadaşları ise 2016'da [9] Lie simetri değişmezlik koşulları ile optimal yatırım ve harcama probleminin çözümü üzerine makale yayınlamışlardır. Buna ek olarak, Bakkaloğlu ve arkadaşları 2017 yılında yayınladıkları makalelerinde [10] de Vasicek ve Cox-Ingersoll-Ross(CIR) rassal faiz oranları için değişmezlik kriterlerini uygulayarak bu modellerin sırasıyla birinci ve ikinci tip Lie kanonik formuna indirgenebileceğini göstererek, temel çözümleri üzerine çalışmışlardır.

Benzer şekilde, İzgi ve Bakkaloğlu da 2017 yılında matematiksel finans alanında yaygın bir şekilde kullanılan Ho-Lee ve Black-Derman Toy stokastik faiz oranı modelleri için temel çözüm bulma odaklı çalışmalarını Lie simetri tabanlı analizleri kullanarak yapmışlardır. İzgi ve Bakkaloğlu, Ho-Lee modelinin ikinci tip (klasik ısı denkleminin) Lie kanonik formuna indirgenebileceğini gösterdikleri [11, 12] çalışmalarında model parametrelerinin kalibrasyonu konusunda da simülasyon destekli sonuçlar ortaya koymuşlardır. Diğer bir çalışmalarında ise, Black-Derman-Toy rassal faiz oranı modelinin üçüncü tip Lie kanonik formuna indirgenebileceğini gösterip, ilgili (1+1) lineer skaler kısmi türevli denklemin asıl çözümünü bulmuşlardır [13].

Makalenin geri kalan bölümleri ise şu şekilde organize edilmiştir. İkinci bölümünde kısaca Hull-White stokastik faiz oranı modelinden bahsedilecektir. Üçüncü bölümde

lineer parabolik (1+1) kısmi türevli denklemleri için Lie simetri yöntemi ve değişmezlik şartları sunulacaktır. Dördüncü bölümde ise Hull-White modelinin için ilk olarak ikinci kanonik forma indirgenmesini sağlayacak dönüşümler elde edilecektir. Daha sonra ise değişmezlik koşulları altındaki temel çözümü bulunacaktır.

II. HULL - WHITE STOKASTİK FAİZ ORANI MODELİ

Hull-White stokastik diferansiyel denkleminin 1993 yılında John Hull ve Alan White tarafından yayınlanan makalelerinde [1] tek faktörlü faiz oranı modeli olarak ortaya atılmıştır. Hull-White stokastik faiz oranı modeli

$$dr(t) = [b(t) - k r(t)]dt + \sigma dW(t)$$

formundadır. Buradaki sürüklenme katsayısında bulunan $r(t)$ rassal faiz oranını, k sabiti ortalamaya dönüş hızını göstermektedir. Ayrıca difüzyon katsayısında sabit olan σ volatilitiyeyi, $W(t)$ de tek boyutlu Brown hareketini göstermektedir. Özellikle, arbitrajın olmadığı modellerin geliştirilmesindeki öncü modeller arasında bulunan Hull-White modeli her ne kadar Vasicek faiz oranı modeline benzese de sürüklenme katsayısında bulunan $b(t)$ parametresi iki model arasındaki en temel farkı temsil etmektedir. Öyle ki, Vasicek modelindeki sürüklenme katsayısı olan " b " sabit bir sayı iken, Hull-White modelinde bu katsayı zamana (t 'ye) bağlı rassal olmayan bir fonksiyondur. Bu durum tıpkı Ho-Lee modelinde olduğu gibi gerçek data'lara yaklaşım yapmak için Hull-White modelinin oldukça önemli bir özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ayrıca, Hull-White faiz oranı modeline Lie simetri analizlerini uygulayabilmek için ilk olarak ona karşılık gelen kısmi türevli diferansiyel denkleminin bulunması gerekmektedir. Bu noktada stokastik diferansiyel denklemlerdeki stokastik kalkulus veya Ito kalkülüsünden yararlanmak gerekir. Eğer $u(x, t)$ 'te (buradaki x , r 'yi temsil etmek üzere) Ito kalkülüsü uygulanıp, gerekli işlemler yapılırsa

$$u_t = -\frac{1}{2}\sigma^2 u_{xx} - [b(t) - kx]u_x + xu \quad (1)$$

Hull-White (1+1) lineer skaler kısmi türevli denkleminin elde edilir.

III. LİNEER PARABOLİK (1+1) KISMİ TÜREVLİ DENKLEMLER İÇİN LİE SİMETRİ YÖNTEMİ VE DEĞİŞMEZLİK ŞARTLARI

Bu bölümde kısaca, F. Mahomed'in Lie simetri tabanlı (1+1) parabolik kısmi türevli diferansiyel denklemler için

elde etmiş olduğu değişmezlik koşullarından bahsedeceğimiz [1]. Mahomed [1]'de bir zaman ve bir uzay boyutlu (1+1) lineer kısmi türevli denklemlerden aşağıdaki formda bulunan denklemleri incelemiştir:

$$u_t = a(t, x)u_{xx} + b(t, x)u_x + c(t, x)u$$

Buradaki a, b ve c katsayıları t ve x değişkenlerine bağlı olan sürekli fonksiyonlardır. Lie 1881 yılında yapmış olduğu çalışmasında [4] skaler lineer parabolik kısmi türevli denklemlerin dört farklı kanonik tiplerinin olduğunu göstermiştir. Biz de bu çalışmamızda Hull-White (1+1) lineer kısmi türevli denkleminin, bu dört kanonik formdan ilki olan ve bilinen anlamda ısı denkleminin dönüşümüyle ilgileneceğiz. Diğer üç kanonik form ve ayrıntıları için [6] nolu çalışmayı inceleyiniz.

Bu noktada, F. Mahomed'in literatüre kazandırdığı (1+1) lineer kısmi türevli denklemlerin aşağıdaki dört kanonik formdan

$$u_t = u_{xx}$$

$$u_t = u_{xx} + \frac{A}{x^2}u, A \neq 0$$

$$u_t = u_{xx} + c(x)u, c \neq 0, A/x^2$$

hangisine düşeceğini belirleyen ve makalemizde de sonuçlarından faydalanacağımız değişmezlik koşullarını içeren teoremleri sunacağız.

Theorem 1 [Mahomed, [6]]. Lineer parabolik (1+1) kısmi türevli denklem aşağıdaki dönüşümler yardımıyla birinci tip $\frac{\partial \bar{u}}{\partial \bar{t}} = \frac{\partial^2 \bar{u}}{\partial \bar{x}^2}$ kanonik forma (ısı denkleminin) dönüştürülebilir:

$$\bar{t} = \phi(t),$$

$$\bar{x} = \pm \int [\dot{\phi} a(t, x)^{-1}]^{\frac{1}{2}} dx + \beta(t),$$

$$\bar{u} = v(t) |a(t, x)|^{-1/4} u \exp \left(\int \frac{b(t, x)}{2a(t, x)} dx \right)$$

$$-\frac{1}{8} \frac{\ddot{\phi}}{\dot{\phi}} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 - \frac{1}{2} \int \frac{1}{a(t, x)} \frac{\partial}{\partial t} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) dx \mp \frac{1}{2} \frac{\dot{\beta}}{\dot{\phi}^{1/2}} \int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}}$$

Buradaki $\dot{\phi}$ ve a aynı işaretli olmak ve $\dot{\phi}, \beta$ ve v de aşağıdaki denklemleri sağlamak üzere,

$$\dot{\phi} \bar{c} = J + \frac{\partial}{\partial t} \int \frac{b(t, x)}{2a(t, x)} dx - \frac{1}{2} \int \frac{1}{|a(t, x)|^{1/2}} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) dx$$

$$+ f(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 + g(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) + h(t)$$

öyle ki buradaki $J, f(t), g(t)$ ve $h(t)$ ise sırasıyla

$$J = c - \frac{b_x}{2} + \frac{ba_x}{2a} + \frac{a_{xx}}{4} - \frac{3}{16} \frac{a_x^2}{a} - \frac{a_t}{2a} - \frac{b^2}{4a}$$

$$f(t) = \frac{1}{16} \frac{(\ddot{\phi})^2}{(\dot{\phi})^2} - \frac{1}{8} \frac{(\ddot{\phi})}{(\dot{\phi})_t}$$

$$g(t) = \pm \frac{1}{8} \frac{\dot{\phi}}{\dot{\phi}} \frac{\dot{\beta}}{(\dot{\phi})^{1/2}} \pm \frac{1}{2} \frac{(\dot{\beta})}{(\dot{\phi})^{1/2}}_t$$

$$h(t) = \frac{1}{4} \frac{\ddot{\phi}}{\dot{\phi}} + \frac{1}{4} \frac{(\dot{\beta})^2}{\dot{\phi}} + \frac{\dot{v}}{v}$$

eşitlikleri yardımıyla elde edilecektir.

Theorem 2 [Mahomed, [6]]. Aşağıdaki koşullar birbirlerine denk koşullardır:

(a) Skaler lineer (1+1) parabolik kısmi türevli diferansiyel denkleminin 6 tane aşikar olmayan simetrileri yanı sıra sonsuz sayıda da superpozisyon simetrileri de mevcuttur.

(b) (1+1) parabolik kısmi türevli diferansiyel denkleminin katsayıları, J Teorem1'deki gibi ve L, M, N ise aşağıdaki gibi olmak üzere,

$$L = |a|^{1/2} [|a|^{1/2} J_x]_x, M = |a|^{1/2} [|a|^{1/2} \partial_t \left(\frac{b}{2a} \right)]_x,$$

$$N = |a|^{1/2} \partial_t^2 \left(\frac{1}{|a|^{1/2}} \right) N = |a|^{1/2} \partial_t^2 \left(\frac{1}{|a|^{1/2}} \right)$$

olmak üzere

$$2L_x + 2M_x - N_x = 0$$

değişmez denklemlerini sağlar.

(c) lineer parabolik (1+1) kısmi türevli diferansiyel denklemi Teorem1'deki dönüşümler yardımıyla klasik ısı $\frac{\partial \bar{u}}{\partial \bar{t}} = \frac{\partial^2 \bar{u}}{\partial \bar{x}^2}$ denkleminin aşağıdaki denklem ile dönüştürülür:

$$J + \frac{\partial}{\partial t} \int \frac{b(t, x)}{2a(t, x)} dx - \frac{1}{2} \int \frac{1}{|a(t, x)|^{1/2}} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) dx + f(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 + g(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) + h(t) = 0$$

IV. LİE SİMETRİ ANALİZİ İLE HULL-WHITE KİSİMİ TÜREVLİ DENKLEMİNİN ÇÖZÜMÜ

Bu bölümde 2. Bölümde elde edilen Hull-White kısmi türevli denkleminin (1), 3. Bölümde ortaya konan Lie simetri teoremleri ve değişmezlik koşulları yardımıyla çözümünü bulacağız.

İlk olarak (1) nolu Hull-White kısmi türevli diferansiyel denklemini, (1+1) lineer parabolik denklemle

$$u_t = a(t, x)u_{xx} + b(t, x)u_x + c(t, x)u$$

karşılaştıracak olursak, katsayıların

$$a(t, x) = -\frac{1}{2}\sigma^2$$

$$b(t, x) = -[b(t) - kx]$$

$$c(t, x) = x$$

olduğu kolaylıkla görülür. İlk olarak Teorem 2 (b) yardımıyla klasik ısı denkleminde dönüşebileceğini gösterelim. Öyle ki bunun için ilk olarak Teorem 1'de tanımlanan

$$J = c - \frac{b_x}{2} + \frac{ba_x}{2a} + \frac{a_{xx}}{4} - \frac{3a_x^2}{16a} - \frac{a_t}{2a} - \frac{b^2}{4a}$$

a, b ve c katsayıları yardımıyla gerekli işlemler yapıldıktan sonra $J = x - \frac{k}{2} + \frac{[b(t) - kx]^2}{2\sigma^2}$ olarak bulunur.

Şimdi de L, M, N 'yi hesaplayalım.

$L = |a|^{1/2} [|a|^{1/2} J_x]_x$ olduğundan, $L = \frac{\sigma}{\sqrt{2}} \left(\frac{\sigma k^2}{\sqrt{2} \sigma^2} \right) = \frac{k^2}{2}$ olarak elde edilir. Öte yandan,

$M = |a|^{1/2} [|a|^{1/2} \partial_t \left(\frac{b}{2a} \right)]_x$, ve $N = |a|^{1/2} \partial_t^2 \left(\frac{1}{|a|^{1/2}} \right)$ için

gerekli işlemler yapıldıktan sonra

$$M = 0, N = 0 \quad (4)$$

oldukları kolayca görülür. Değişmezlik şartı altında, yani

$2L_x + 2M_x - N_x = 0$ denkleminde L, M ve N yerlerine konulursa

$$2 \left(\frac{k^2}{2} \right)_x + 2.0 - 0 = 0$$

olur. O halde Hull-White kısmi türevli denkleminin Teorem 2 yardımıyla klasik ısı denkleminde indirgenebileceğini söyleyebiliriz.

Şimdi ilk olarak $f(t), g(t)$ ve $h(t)$ fonksiyonlarını Teorem 2'de tanımlanan

$$J + \frac{\partial}{\partial t} \int \frac{b(t, x)}{2a(t, x)} dx - \frac{1}{2} \int \frac{1}{|a(t, x)|^{1/2}} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) dx + f(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 + g(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) + h(t) = 0$$

denkleminde elde etmeye çalışacağız. Bu denklem, $a = -\frac{1}{2}\sigma^2$ olduğundan ve bazı terimler 0 olacağından aşağıdaki forma dönüşür.

$$J + \partial_t \int \frac{b}{2a} dx + f(t) \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 + g(t) \int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} + h(t) = 0$$

Burada, ilgili katsayılar ışığı altında gerekli basit kalkülüs hesaplamalarından sonra f, g ve h fonksiyonları

$$f(t) = \frac{\sigma^2 - k^2}{2 \cdot 2\sigma^2} = \frac{-k^2}{4}$$

$$g(t) = \frac{-\sigma}{\sqrt{2}} \left(\frac{b'(t)}{\sigma^2} - \frac{kb(t)}{\sigma^2} + 1 \right)$$

$$h(t) = \frac{k}{2} - \frac{b^2(t)}{2\sigma^2}$$

olarak elde edilir. Şimdi de bu fonksiyonları Teorem 1'deki koşulda aşağıdaki gibi yerlerine koyarsak

$$\frac{1}{16} \left(\frac{\partial}{\partial t} \right)^2 - \frac{1}{8} \left(\frac{\partial}{\partial t} \right)_t = -\frac{k^2}{4}$$

$$\pm \frac{1}{4} \frac{\partial}{\partial t} \frac{\beta}{(\phi)^{1/2}} \mp \frac{1}{2} \left(\frac{\beta}{(\phi)^{1/2}} \right)_t = -\frac{1}{\sqrt{2}} \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right)$$

$$\frac{1}{4} \frac{\partial}{\partial t} + \frac{1}{4} \left(\frac{\beta}{\phi} \right)_t + \frac{\partial}{\partial t} = \frac{k}{2} - \frac{b^2(t) \frac{1}{\phi}}{2\sigma^2 \cdot 4} + \frac{1}{4} \left(\frac{\beta}{\phi} \right)_t + \frac{\partial}{\partial t} = \frac{k}{2} - \frac{b^2(t)}{2\sigma^2}$$

denklemleri elde edilir. Bu denklemlerin her biri gerekli katsayılar hesaplanıp, yerlerine konulduktan sonra çözümlerini sırasıyla

$$\phi(t) = \frac{1}{k} \tan(kt)$$

$$\beta(t) = \int \left[\pm \sqrt{2} \int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right] dt$$

$$v = \exp \left(\int \left\{ \frac{k}{2} - \frac{b^2(t)}{2\sigma^2} - \frac{k}{2} \tan(kt) - \frac{1}{2} \left[\int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right]^2 \cos^2(kt) \right\} dt \right)$$

fonksiyonları elde edilir. Şimdi bu fonksiyonlar ile Teorem 1’de çizgili koordinatlarda tanımlanan dönüşümleri elde edebiliriz. İlk olarak

$$\bar{t} = \frac{1}{k} \tan(kt)$$

kolayca elde edilir. Benzer şekilde, Teorem 1’de

$\bar{x} = \pm \int [\dot{\phi} a(t, x)^{-1}]^{\frac{1}{2}} dx + \beta(t)$ şeklinde tanımlanmıştır. Burada gerekli olan

$$a(t, x) = -\frac{1}{2} \sigma^2$$

$$\left[\frac{\dot{\phi}(t)}{a(t, x)} \right]^{1/2} = \frac{\sqrt{2}}{\sigma} \sec(kt)$$

$$\int [\dot{\phi}(t) a(t, x)^{-1}]^{1/2} dx = \frac{\sqrt{2}}{\sigma} x \sec(kt)$$

terimleri yerlerine konulduktan sonra

$$\bar{x} = \pm \frac{\sqrt{2}}{\sigma} x \sec(kt) + \int \left[\pm \sqrt{2} \int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right] dt$$

olarak elde edilir. Benzer şekilde \bar{t} ve \bar{x} yardımıyla da Hull-White kısmi türevli denkleminin çizgili koordinatlardaki çözümünü Teorem 1’deki

$$\bar{u} = v(t) |a(t, x)|^{-1/4} u \exp \left(\int \frac{b(t, x)}{2a(t, x)} dx \right)$$

$$-\frac{1}{8} \frac{\dot{\phi}}{\phi} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right)^2 - \frac{1}{2} \int \frac{1}{a(t, x)} \frac{\partial}{\partial t} \left(\int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}} \right) dx \mp \frac{1}{2} \frac{\dot{\beta}}{\phi^{1/2}} \int \frac{dx}{|a(t, x)|^{1/2}}$$

ifade yardımıyla ve ilgili terimler hesaplandıktan sonra

$$\bar{u} = v(t) \left| -\frac{1}{2} \sigma^2 \right|^{-1/4} u \exp \left\{ \frac{1}{\sigma^2} \left[b(t)x - \frac{kx^2}{2} \right] - \frac{1}{2} k \tan(kt) \frac{x^2}{\sigma^2} \pm \left(\sqrt{2} \left[\int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right] \cos(kt) \right) \left(\frac{\sqrt{2}x}{\sigma} \right) \right\}$$

olarak elde edilir. Ayrıca, Poee, Mahomed and Soh klasik ısı denkleminin çizgili koordinatlardaki çözümünün

$$\bar{u} = \frac{1}{2\sqrt{t\pi}} \exp \left[-\frac{(\bar{x})^2}{4\bar{t}} \right]$$

şeklinde olduğu 2004 yılındaki makalelerinde verilmiştir [8]. Bu sonuç yardımıyla da

$$\frac{1}{2\sqrt{t\pi}} \exp \left[-\frac{(\bar{x})^2}{4\bar{t}} \right] = v(t) \left| -\frac{1}{2} \sigma^2 \right|^{-1/4} u \exp \left\{ \frac{1}{\sigma^2} \left[b(t)x - \frac{kx^2}{2} \right] - \frac{1}{2} k \tan(kt) \frac{x^2}{\sigma^2} \pm \left(\sqrt{2} \left[\int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right] \cos(kt) \right) \left(\frac{\sqrt{2}x}{\sigma} \right) \right\}$$

eşitliği elde edilir.

Sonuç olarak, Hull-White (1+1) lineer parabolik kısmi türevli denkleminin Lie simetri analizi ile değişmezlik kriterleri yardımıyla çözümü

$$u(x, t) =$$

$$v^{-1} \left| -\frac{1}{2} \sigma^2 \right|^{1/4} \frac{1}{2\sqrt{t\pi}} \exp \left[-\frac{(\bar{x})^2}{4\bar{t}} \right] \exp^{-1} \left\{ \frac{1}{\sigma^2} \left[b(t)x - \frac{kx^2}{2} \right] - \frac{1}{2} k \tan(kt) \frac{x^2}{\sigma^2} \pm \left(\sqrt{2} \left[\int \left(\frac{b'(t)}{\sigma} - \frac{kb(t)}{\sigma} + \sigma \right) \sec(kt) dt \right] \cos(kt) \right) \left(\frac{\sqrt{2}x}{\sigma} \right) \right\}$$

olarak elde edilir. Dikkat edilecek olunursa, eşitliğin sağ tarafında bulunan çizgili koordinatlardaki parametreler (\bar{x} ve \bar{t}) yerlerine yazılarak elde ettiğimiz asıl çözüm tamamen daha açık olarak da yazılabilmektedir.

V. TEŞEKKÜR

Makalenin yazım aşamalarındaki desteklerinden ötürü Murat Özkaya’ya, ayrıca dergi editör ve hakemlerine yapıcı eleştirileri ve tavsiyelerinden dolayı kendilerine teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- [1] Hull, J. ve White, A., (1993). One-Factor Interest Rate Models and the Valuation of Interest-Rate Derivative Securities, *The Journal of Financial and Quantitative Analysis*, 28, 2, 235-254.
- [2] Gazizov, R. K. ve Ibragimov N. H., (1998). Lie Symmetry Analysis of Differential Equations in Finance, *Nonlinear Dynam.* 17(4), 387-407.
- [3] Goard, J., (2000). New Solutions to the Bond-Pricing Equation via Lie’s Classical Method, *Math. Comput. Model.*, 32, 299-313.
- [4] Lie, S., (1881). On Integration of a Class of Linear Partial Differential Equations by means of Definite Integrals *Archiv for Matematik og Naturvidenskab*, VI(3) 328-368.
- [5] Mahomed, F. M., Mahomed, K. S., Naz, R. ve Momoniat, E., (2013). Invariant Approaches to Equations of Finance, *Math. Comput. Appl.*, 18(3), 244-250.
- [6] Mahomed, F. M., (2008). Complete Invariant Characterization of Scalar Linear (1+1) Parabolic Equations, *J. Nonlinear Math. Phys.*, 15, 112-123.

- [7] Merton, R., (1976). Option Pricing when Underlying Stock Returns are Discontinuous, *J. Financial Economics*, 3, 125-144.
- [8] Pooe, C. A., Mahomed, F. M. ve Wafo Soh, C., (2004). Fundamental Solutions for Zero-Coupon Bond Pricing Models, *Nonlinear Dynam.*, 36, 69-76.
- [9] Bakkaloğlu, A., Aziz, T., Fatima, A., Mahomed, F.M. ve Khalique, C. M., (2016). Invariant Approach to Optimal Investment-Consumption Problem: the constant elasticity of variance (CEV) model, *Mathematical Methods in the Applied Sciences*, 40, 5, 1382-1395.
- [10] Bakkaloğlu, A., Mahomed, ve F. M., Aziz, T., (2017). Invariant Criteria for the Zero-Coupon Bond Pricing Vasicek and Cox-Ingersoll-Ross Models, *New Trends in Mathematical Sciences*, 2, 29-46.
- [11] İzgi, B. ve Bakkaloğlu, A., (2017). Deterministic Solutions of the Stochastic Differential Equations Using Invariant Criteria, *Proceedings of ICPAS 2017*, ISBN: 978-605-9546-02-7, 323-326.
- [12] İzgi, B. ve Bakkaloğlu, A., (2017). Fundamental Solution of Bond Pricing in the Ho-Lee Stochastic Interest Rate Model Under the Invariant Criteria, *New Trends in Mathematical Sciences*, 5, 1, 196-203.
- [13] İzgi, B. ve Bakkaloğlu, A., (2018). Invariant Approaches for the Analytic Solution of the Stochastic Black-Derman Toy Model, *Thermal Science*, 22, 1, 265 - 275, DOI <https://doi.org/10.2298/TSCI171120030I>.

Production and Utilization Stage Analysis of Biogas: Case of İZAYDAS Plant

Biyogazın Üretim ve Kullanım Aşama Analizi: İZAYDAŞ Fabrika Örneği

Berrin KURŞUN^{ID}

Marmara University Faculty of Engineering, Chemical Engineering Department

Abstract

This study investigates size and operating condition effects on energy production efficiency, greenhouse gas (GHG) mitigation and economic potentials in production and utilization stages of a biogas system. In İZAYDAS plant, efficiencies of biogas production and electricity generation are found to be 28 % and 20 % independently from operating scheme, respectively. When these results are compared to a small capacity plant without an automatic control keeping the biogas system at or close to favorable conditions for fermentation and a lower quality electricity generator, both biogas and electricity production efficiencies are found to be lower showing the importance of operating conditions and size on energy production efficiency. Organic waste processing is the major contributor to the GHG mitigation potential followed by fossil electricity and then chemical fertilizer replacement. Economically, liquid fraction of digestate is the major source of income due to its high amount followed by solid fraction of digestate and electricity sold to the grid. When different utilization paths are investigated for biogas, it is found that direct utilization of biogas has a higher GHG mitigation potential and favorable energetically.

Keywords: Biogas production, GHG mitigation, Efficiency, Renewable Energy

Öz

Bu çalışma bir biyogaz sisteminin üretim ve kullanım aşamalarındaki boyut ve işletme koşullarının enerji üretim verimi, sera gazı salınımının azaltılması ve ekonomik potansiyele etkisini incelemektedir. İZAYDAŞ tesisinde, biyogaz ve elektrik üretim verimleri işletim planından bağımsız olarak sırasıyla %28 ve % 20 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, biyogaz sistemini fermentasyon prosesi için optimum ya da optimuma yakın koşullarda tutan bir kontrol sistemine sahip olmayan düşük kapasiteli bir biyogaz tesisi ile karşılaştırıldığında, hem elektrik hem de biyogaz verimleri işletme koşullarının ve boyutun enerji üretim verimi üzerindeki etkisini gösterir şekilde düşük çıkmıştır. İncelenen tesiste, organik atıkların işlenmesi ve ardından fosil yakıt ve kimyasal gübre kullanımının ikame edilmesi sera gazı salınımlarının düşürülmesinde ki önemli faktörlerdir. Ekonomik olarak, elde edilen sıvı gübre ardından katı gübre ve şebekeye satılan elektrik gelir kaynaklarını oluşturmaktadır. Biyogaz için farklı kullanım yolları incelendiğinde, biyogazın doğrudan kullanımı enerjetik açıdan daha tercih edilir ve sera gazı azaltma potansiyelinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Biyogaz üretimi, sera gazı salınımı azaltma, verimlilik, yenilenebilir enerji

I. INTRODUCTION

Biogas is a multi-beneficial “green” fuel that is acquired via anaerobic digestion of organic wastes. Broadly, anaerobic digestion (AD) of organic wastes creates value added products, namely organic fertilizer (digestate) and biogas fuel (main component CH_4). Handling organic wastes via anaerobic digestion provides a way to avoid local sanitation problems and methane emissions caused by landfilling of organic materials. Additionally, obtained organic fertilizer in the process can substitute or lessen chemical fertilizer usage that helps avoid another source of greenhouse gas emission [1]. In a developing country context, biogas provides an affordable and reliable clean energy source for the rural households

where conventional energy from fossil fuels is not available [2, 3]. Having affordable energy eases energy scarcity problems and reduces dependence on wood for cooking or heating [2]. Less dependence on wood alleviates deforestation issues and rural women spend less time on collecting wood. Having clean energy decreases health problems due to wood burning in the house, especially for women and children that have more exposure [2, 4]. Utilization of AD digestate as fertilizer both increase crop yields because of its better quality than animal manure and provide economic benefit because of reducing dependence on chemical fertilizers. Moreover, renewable energy creates job opportunities for local people [2, 4]. In urban areas, biogas can be fed to the central natural gas grid after upgrading or can be used to generate electricity. This reduces the dependence on fossil fuels and contributes to climate change mitigation [5,6]. Hence, biogas is a fuel that has environmental, social and economic benefits locally and in greater scales.

An important part of studies in literature deals with life cycle energy performance of biogas production systems [7,8,9]. One common finding is that utilizing mixed feedstock (a mixture of different types of feedstocks) increases biogas production [7,8,9]. Burning biogas in a combined heat and power (CHP) system and recovering cogenerated heat improves the energetic performance of whole system significantly [7,8]. If extra biogas formed in AD digestate store areas is harvested, system efficiency can improve an additional 5-6 % [7]. Transportation of feedstock is another factor that affects energetic performance of biogas production [9]. Transportation from distant places can make the net energy gain negative, which also emphasizes the local character of renewable energy technologies.

In literature environmental impacts of biogas production are also broadly investigated. Climate change mitigation due to deterred GHG emissions is the common result [10-13]. In most life cycle impact categories, biogas production performs better than target fossil fuels to be replaced if digestate is handled and utilized properly [10,11]. If digestate is utilized as fertilizer in required amounts (different for each soil and crop type), ammonia emissions can be avoided, making biogas production system better in acidification and eutrophication impacts than alternative fossil fuels [6, 13]. However, one should be careful in broad utilization of AD digestate as fertilizer since digestates may contain heavy metals that can accumulate in soil. Necessary precautions should be taken for widely utilization of AD digestate as fertilizer [14].

This study focuses on biogas production and biogas utilization phases in a biogas system rather than life cycle impacts (which are evaluated in many contexts and scales) to be able to study more energy efficient and more GHG mitigating ways to use produced biogas. For this, analysis of production efficiency, GHG mitigation and economic potentials of biogas production in IZAYDAS biogas plant (located in Kocaeli, Turkey) are performed. Secondly, a scenario where biogas is directly utilized instead of being converted into electricity and where biogas replaces natural gas and fossil electricity in cooking has been analyzed in terms of energetic performance and GHG emissions.

The organization of the rest of this article is as follows: Following introduction come the background section that presents plant specifications, input-output characteristics and process details. Methodology section includes assumptions and techniques utilized in these calculations. Production efficiency, GHG mitigation, economic potential and energy utilization scenario findings are presented in results and discussion section. Lastly, conclusions drawn from the findings of this study and related recommendations are presented.

II.BACKGROUND

2.1 IZAYDAŞ Biogas Plant

IZAYDAS biogas plant is a result of a collaboration project realized for Kocaeli Municipality and is located in Kocaeli, Turkey. It has been operating since April 2011. Figure 1 shows the geographical location of the plant and the digesters where the fermentation process takes place.



Figure 1: IZAYDAS biogas plant [15,16]

Table 1: Input and output characteristics of IZAYDAS biogas plant under current and ideal operating schemes [16].

Inputs	Current	Ideal
Grass (tonnes/year)	535	5900
Cow Dung(tonnes/year)	2729	350
Chicken Manure(tonnes/year)	178	1950
Vegetable Wastes(tonnes/year)	484	2050
Rumen Wastes	233	430
Total	4159	10680
Outputs	Current	Ideal
Biogas(m ³ /year)	145000	340000
CH ₄ (%)	67,0	67,0
H ₂ (%)	1,5	1,5
CO ₂ (%)	30,0	30,0
Other (%)	1,5	1,5
Electricity(kWh/year)	200000	482000
Solid Fraction of Digestate (tonnes/year)	29	85
Liquid Fraction of Digestate (tonnes/year)	3446	10100

The plant consists of a storage for vegetable waste of 100 m³ volume, two fermenters of 2400 m³ volume each with mixers and H₂S removal system, a 330 kW electricity generator and a storage for liquid fraction of digestate of 1000 m³ volume. IZAYDAS biogas plant processes various organic wastes including cow dung, chicken manure, grass and vegetable wastes coming from different parts of the province. Plant operates under two schemes, **current** and **ideal** cases. Under current case plant generates 145000 m³ of biogas and 200000 kWh of electricity annually. For the ideal case, these numbers are 340000 m³ and 482000 kWh, respectively. Generated electricity is sold to grid and organic fertilizer is given to farmers who provide cow dung and chicken manure. Table 1 summarizes the input and output characteristics of the plant under two operating schemes analyzed [16].

2.2 Process

In the process, the vegetable wastes are copped into proper size in the waste storage, all wastes are mixed and water is added to this mix in the dosing unit to obtain a 9.0 % dry matter content required for the fermentation. This mixture is fed to two fermenters via conveyor unit. The residence time in fermenter changes from 47 to 95 days [16]. Biogas procured at the end of the fermentation is sent to cogeneration unit to produce electricity and heat, simultaneously. Most of the heat is utilized for the parasitic needs of the plant to achieve the fermentation temperature, 37⁰C. And, the digested slurry is sent to the separator where liquid and solid fractions

of digestate (solid and liquid fertilizer) are separated. Here, solid fraction of digestate sinks to the bottom due to gravity and is filtrated, then these different fractions are sent to different storage areas. Figure 2 presents the process steps in IZAYDAS biogas plant [16].

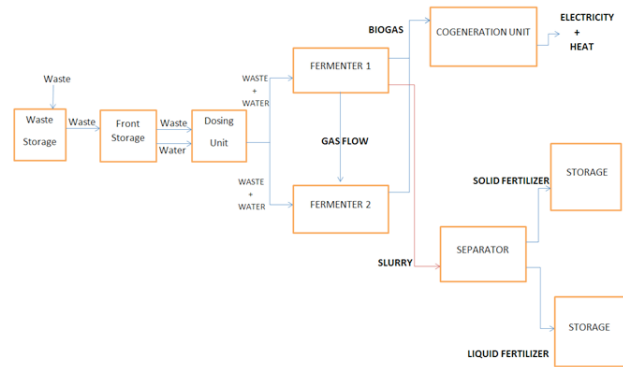


Figure 2: Process steps in IZAYDAS biogas plant.

III.MATERIALS AND METHODS

3.1 Biogas Production and Electricity Generation Efficiency

Biogas production efficiency refers to the ratio where the energy content of biogas is divided by the energy content of waste material processed in biogas digesters. And, electricity generation efficiency refers to the ratio where energy content of generated electricity is divided by the energy content of biogas used in electricity generation. Equations 1 and 2 represent the mathematical calculation of biogas production and electricity generation efficiencies, respectively.

$$\eta_{biogas} = \frac{\text{Energy content of biogas}}{\text{Energy content of organic material processed}} \quad (1)$$

$$\eta_{electricity} = \frac{\text{Energy content of electricity generated}}{\text{Energy content of biogas used in electricity generation}} \quad (2)$$

To calculate energy content of organic material mix processed in IZAYDAS plant, the moisture content and the dry weights of each feedstock type are determined. Then, dry weights are multiplied the by corresponding unit calorific values and all energy values are added to calculate the calorific value of 1 kg of organic material mix after being multiplied by each type of feedstock’s ratio in the mix. Table 2 summarizes the moisture content, dry weights and calorific values of organic wastes processed. Last column of the table presents the references utilized.

$$\sum_1^i (m_i c_i r_i) \quad (3)$$

Equation 3 represents the calculation of energy content of 1 kg of organic material mix where m_i is the dry weight of i th organic material, c_i is the energy content and r_i is the ratio of this material in the mix. Energy content of biogas is calculated according to the gas percentage data given in table 1 as 25.04 MJ/m³.

Produced biogas and generated electricity quantities are presented in table 1 for both current and ideal cases. After conversion of kWh to MJ with appropriate conversion factor (which is 3.6), equation 2 is applied for electricity generation efficiency calculation.

Table 2: Moisture, dry solid and calorific content values utilized in biogas and electricity production efficiency calculations.

Inputs	Moisture	Dry Solid	Calorific Content (MJ/kg)	References
Grass	89,0%	11,0%	16,50	[17]
Cow Dung	80,0%	20,0%	17,61	[16]
Chicken Manure	28,7%	71,3%	11,25	[18]
Vegetable Waste	89,0%	11,0%	14,90	[17]
Rumen Wastes	86,0%	14,0%	4,18	[16]

3.2 GHG Emission Mitigation

GHG emission mitigation potential of biogas production in IZAYDAS plant is based on three aspects. First is due to the prevention of decomposition of organic waste in landfills. Secondly, liquid and solid fractions of digestate can substitute the chemical fertilizer use in agriculture. Thus, GHG emitted for chemical fertilizer production can be prevented. Lastly, electricity generated from biogas can replace fossil electricity use and related GHG emissions [1].

To calculate emissions due to organic waste decomposition, dry weights of each type of waste is multiplied by corresponding unit emission values. And, total emissions mitigated are calculated by addition of the individual emissions of each type of waste processed. GHG emission prevented per kg of N included in the wet feedstock is calculated for chemical fertilizer replacement. Emissions per kg of N are listed in table 3. Lastly, emissions mitigated due to substituted fossil electricity are calculated by multiplying Turkey energy mix emission value (462gCO₂/kWh) with the generated electricity quantity in IZAYDAS [19]. Table 3 summarizes unit conversion values utilized for GHG emission mitigation calculations.

Equations 4, 5, 6 present calculation of avoided GHG emissions from organic waste decomposition, fertilizer and

electricity substitution, respectively. Here, m_i is the dry weight of i th organic material, e_i is the corresponding emission coefficient. E_i is different GHG types (CO₂, CH₄, NO₂) emitted per kg of N available in wet feedstock. N_i is the nitrogen content of feedstock in kilograms. Lastly, P_{kWh} represents electricity generated in kWh in current and ideal cases. NO₂ and CH₄ emissions in these calculations are converted into CO₂ equivalent by multiplication with appropriate factors. Details regarding these conversions can be found in reference 12.

$$Ed = \sum_1^i (m_i e_i) \quad (4)$$

$$Ef = \sum_1^i (E_i N_i) \quad (5)$$

$$Ee = 462 P_{kWh} \quad (6)$$

Table 3: GHG coefficients utilized in calculations.

GHG Mitigation Sources	Turkey Energy Mix (gCO ₂ /kWh)	References
1.Fossil fuel sourced electricity replacement	462	[19]
2. Chemical fertilizer replacement	g/kg of N	[13]
CO ₂	3200	
CH ₄	3,1	
NO ₂	18	
3.Organic Waste Processed	g CO ₂ /kg of dry feedstock	
Grass	420	[20]
Cow Dung	447	[21]
Chicken Manure	447	[21]
Vegetable Waste	420	[20]

3.3 Economic Analysis

In Turkey, government subsidies renewable energy and purchases electricity generated from renewable sources for 13.3 cents per kWh. Hence, electricity generated in the plant is sold to the grid for 13.3 cents per kWh [16]. Liquid and solid organic fertilizers are sold for 0.5 \$ per kg and 0.6\$ per kg, respectively [22]. Quantities presented in table 1 for electricity, liquid and solid fractions of digestate are multiplied by corresponding prices and added up to calculate the revenue acquired from process outputs. Although there is no legal regulation related to usage of digestates as fertilizer in Turkey and some economic investment is necessary to benefit from them as fertilizer, using them chemical fertilizer replacement has its economic benefits in addition to environmental and social benefits [4,6, 23]. Since these policy issues are beyond the scope of the article, they are not analyzed.

1.4 Different Energy Utilization Scenarios and Related Emissions

We spend different amount of energy to perform the same task with different fuels. For example, we use less joules of natural gas than coal in generation of the same joules of electricity. To convert one energy type to equivalent of another energy type, this difference should be considered [24, 25]. Hence, on the basis of energy conversion efficiencies 1 J of electricity is accounted as equivalent to 2.5 J of natural gas and 5.0 J of biogas energy and all energy types accounted are converted into electricity equivalents as kWh_{elect}. Equation 7 presents the coefficients utilized in energy equivalence calculations.

$$1.0 \text{ J of elect} = 5.0 \text{ J of biogas} = 2.5 \text{ J of natural gas}; 1 \text{ kWh} = 3600 \text{ kJ} \quad (7)$$

Then, to achieve the same magnitude of cooking task; required electricity, natural gas and biogas energy quantities are calculated based on cooking efficiencies of these fuels. Lastly, GHG emissions related to utilization of the fuels are calculated. Table 4 summarizes the coefficients used. With these calculations, the aim is to compare the validity of different energy utilization scenarios based on energy efficiency and GHG emission magnitudes.

Table 4: Cooking related GHG emission and efficiencies of fuel utilization in cooking.

	Cooking Efficiency	CO ₂ Emissions Due to Cooking	References
Natural Gas	55%	91,4 g CO ₂ /MJ	[26,27]
Electricity	70%	462 gCO ₂ /kWh	[26,27]
Biogas	55%	2,8 g CO ₂ /MJ	[26,27]

IV.RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Biogas Production and Electricity Generation Efficiencies

Figure 3 shows the efficiency results for biogas production and electricity generation in IZAYDAS plant. Here, operating scheme (current or ideal) does not create a difference in production efficiencies (28 % for biogas and 20 % for electricity). However, if these values are compared to the results of small capacity biogas plant located in Jhansi district of India [28], efficiencies are found to be 17 % and 11% for biogas and electricity, respectively. Indian biogas plant is a 1.75 kW capacity floating dome biogas digester with no automatic system control or system heating for environmental conditions

lower than 15⁰C. The feedstock for Indian biogas plant is cattle manure only [28]. On the contrary, IZAYDAS plant has an automatic control system including mixing for homogenous dispersion, and external heating with hot water to keep temperature fixed at 36-37⁰C. Being kept at or close to favorable conditions for fermentation through control in IZAYDAS plant explains the higher biogas production. Additionally, the generator used in IZAYDAS plant has a higher capacity (330 kW) than the Indian plant generator (6 kW) with better specifications explaining the higher electricity generation efficiency IZAYDAS. Accordingly, efficiency results for biogas and electricity production in industrial scale biogas has comparable results with IZAYDAS plant. And, as the extent of process control increases, energy production efficiency increases [7,10,11,29,30]. Lastly, the usage of mixed feedstock can contribute the higher efficiencies in IZAYDAS which is in accordance with the literature [7,8,9].

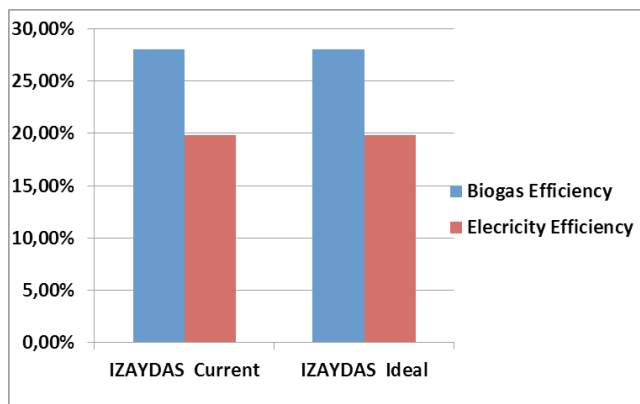


Figure 3: Biogas production and electricity generation efficiencies of IZAYDAS biogas plant.

4.2 GHG Mitigation Potential

The amount of GHG emissions mitigated due to biogas production is determined by the quantities of organic waste processed, chemical fertilizer production substituted and fossil based electricity use replaced. Among these, quantity of organic waste processed contributes the most to the GHG mitigation followed by fossil based electricity and chemical fertilizer production replacement both for the current and ideal cases. As seen in figure 4, total amount of GHG emissions prevented almost triples in ideal case because of higher quantity of waste processed, electricity generated and fertilizer replaced.

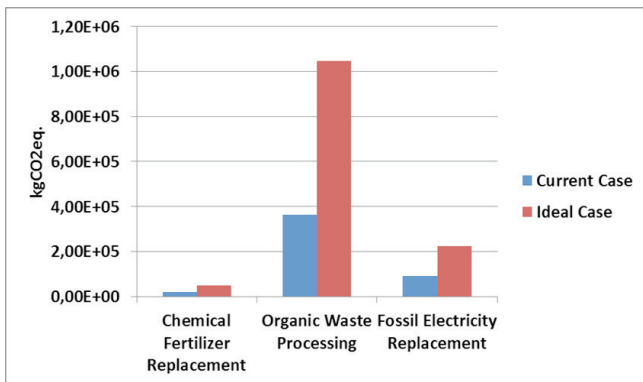


Figure 4: Comparison of GHG mitigation sources in IZAYDAS plant for current and ideal cases

4.3 Economic Potential

Figure 5 shows the revenue gained from sold products in IZAYDAS plant. The highest source of revenue is from liquid fraction of digestate selling due to its high quantity. If a proper market can be created, liquid digestate selling can be an important source of income for the facility.

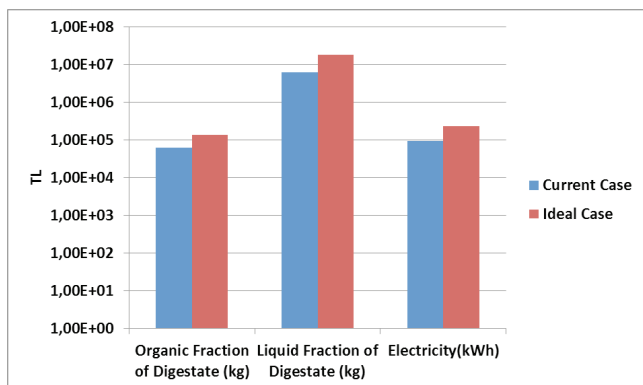


Figure 5: Revenue obtained from biogas production in IZAYDAS plant

4.4 Different Energy Utilization Scenarios and Related Emissions

4.4.1 Energy utilization

We consider that 1.0 J of electrical energy is equivalent to 2.5 J of natural gas energy and 5.0 J of biogas energy to convert all energy types into electricity equivalents. As explained in methodology section, it takes 5.0 J of biogas and 2.5 J of natural gas energy to generate 1.0 J of electrical energy. Based on this and cooking efficiencies of each energy source, figure 6 shows the results to perform equal magnitude of cooking task. There is almost 4

times difference between the necessary electrical and biogas energy types needed to perform the same magnitude of cooking. This difference is sourced mainly from the available energy lost during generation of electricity from biogas or natural gas. Hence, utilizing biogas directly instead of converting into electricity is more favorable energetically.

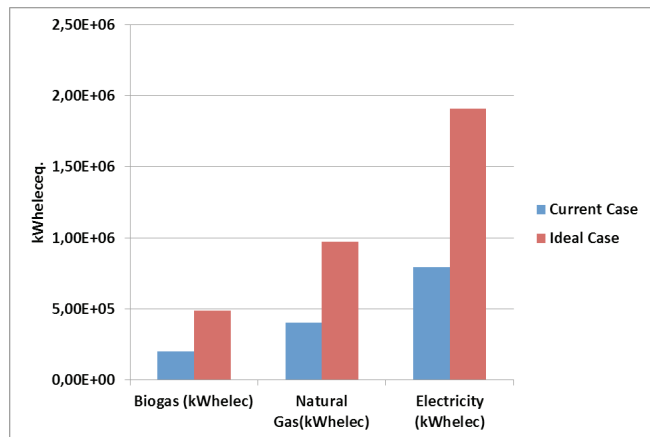


Figure 6: Energy required to perform equal amount of cooking task with different fuels.

4.4.2 Emissions

The results for GHG emitted in CO₂ equivalents for cooking are given in figure 7. The tremendous difference (the graph is logarithmic!) between biogas and electricity use emission results also confirm favorable direct utilization of biogas rather than being converted into electricity from environmental point of view. Additionally, there is significant difference for the emission values of fossil fuel natural gas and a renewable fuel biogas that promotes biogas use.

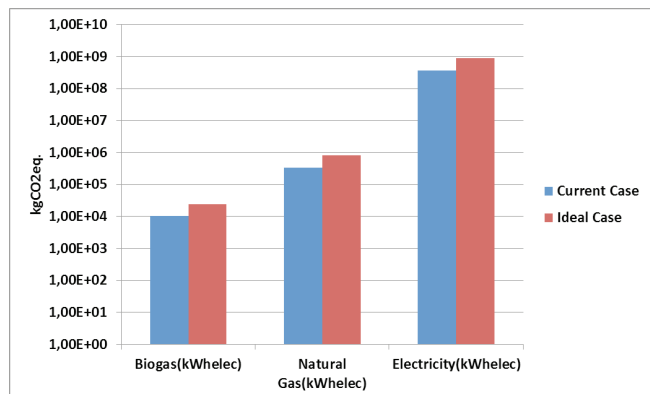


Figure 7: GHG emitted in CO₂ equivalents for cooking.

4.5 Discussion

Presented study covers two main stages of a biogas producing system: Production and utilization. Production stage analysis includes biogas production and electricity generation efficiency calculation, comparison of these results with a smaller capacity biogas plant and comparable size industrial plant; GHG mitigation and economic potential analysis. Utilization stage analysis includes a scenario where biogas is directly utilized instead of being converted into electricity and this biogas replaces natural gas or fossil electricity use in cooking. This scenario analysis has been done in terms of energetic performance and GHG emissions.

The biogas production and electricity generation efficiencies in IZAYDAS plant are found to be 28% and 20%, respectively. Whereas these results are 17% and 11% for the small capacity plant operating in Jhansi district of India. Being a higher capacity and being operated under the control of a process control system, IZAYDAS plant has better energy efficiency values. This stresses the importance of providing optimum environmental and technical conditions to have effective energy production from biological sources also confirmed by results obtained from many industrial scale biogas plants. Under ideal operating conditions, the amount of organic wastes (in terms of dry solid) processed in IZAYDAS plant roughly triples. This directly reflects to the GHG mitigation potential of the plant in current and ideal cases. For both cases, organic waste processing is the major contributor to the GHG mitigation potential followed by fossil electricity replacement and then chemical fertilizer replacement. Economically, liquid fraction of the fertilizer is the major source of income due to its high amount followed by organic fertilizer and electricity sold to the grid. Here, lack of legal regulation for use of digestates as fertilizer in Turkey can create drawbacks for economic potential. Extent of these drawbacks should be studied and recommendations to facilitate biogas digestate use adoption instead of chemical fertilizer utilization should be made. This can have two benefits. Firstly, increased economic potential can stimulate spreading of biogas plants especially in rural areas. Secondly, in addition to its economic benefits, environmental and social benefits of using digestates as fertilizer can be harnessed.

To perform the same magnitude of cooking task, it is found that almost 4 times more the electrical energy (as available energy) is needed compared to biogas. This difference is sourced mainly from the available energy lost during generation of electricity from biogas. Hence, utilizing biogas directly instead of converting into electricity is found to be favorable energetically because more available energy can be harnessed from direct utilization pathway. In terms of

GHG emitted due to cooking, there is a tremendously more GHG is emitted when electricity is used compared to biogas again confirming favorable direct utilization of biogas. Additionally, the significantly more GHG emission values of fossil fuel natural gas pushes the preference towards the renewable fuel, biogas. All in all, utilizing biogas directly instead of converting into electricity is found to be more favorable both energetically and environmentally in our study.

Acknowledgements

Writer expresses her special thanks to Şahan Dede and Arzu Ulutaş for providing IZAYDAS data and their support during this work.

References

- [1] Deublein, D., Steinhauser, A. (2011). Biogas from waste and renewable resources. Weinheim, Germany. WILEY-VCH.
- [2] Katuval, H., Bohara, A.K (2009). Biogas: A promising renewable technology and its impact on rural households in Nepal. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13, 2668-2674.
- [3] Abbas, A., Ali, G., Adil, S.A., Bashir, M.K., Kamran, M.A. (2017). Economic analysis of biogas adoption technology by rural farmers: The case of Faisalabad district in Pakistan. *Renewable Energy* 107, 431-439.
- [4] Yasar, A., Nazir, S., Tabinda, A.B., Nazar, M., Rasheed, R., Afzaal, M. (2017a) Socio-economic, health and agriculture benefits of rural household biogas plants in energy scarce developing countries: A case study from Pakistan. *Renewable Energy* 108, 19-25.
- [5] Holm-Nielsen, J.B., Saedi, T.A., Oleskowicz-Popiel, P. (2009) The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology* 100, 5478-5484.
- [6] Yasar, A., Rasheed, R., Tabinda, A.B., Tahir, A., Sarwar, F. (2017b) Life cycle assessment of a medium commercial scale biogas plant and nutritional assessment of effluent slurry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 67, 364-371.
- [7] Poschl, M., Ward, S., Owende, P. (2010). Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways. *Applied Energy* 87, 3305-3321.
- [8] Bacenetti, J., Megri, M., Fiala, M., Gonzalez-Garcia, S (2013). Anaerobic digestion of different feedstocks: Impact on energetic and environmental balances of biogas process. *Science of the Total Environment* 463-464, 541-551.
- [9] Berlund, M., Borjesson, P. (2006). Assessment of energy performance in the life-cycle of biogas production. *Biomass and Bioenergy* 30, 254-266.
- [10] Eriksson, O., Bisailon, M., Haraldsson, M., Sunberg, J. (2016). Enhancement of biogas production from food waste and sewage sludge environmental and economic life cycle

- performance. *Journal of Environmental Management* 175, 33-39.
- [11] Whiting, A., Azapagic, A. (2014). Life cycle environmental impacts of generating electricity and heat from biogas produced by anaerobic digestion. *Energy* 70, 181-193.
- [12] Börjesson, P., Berglund, M. (2006). Environmental systems analysis of biogas systems—Part I: Fuel-cycle emissions. *Biomass and Bioenergy* 30, 469–485.
- [13] Börjesson, P., Berglund, M. (2007). Environmental systems analysis of biogas systems—Part II: The environmental impact of replacing various reference systems. *Biomass and Bioenergy* 31, 326–344.,
- [14] Nkoa, R. (2014) Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 473-492.
- [15] Location of IZAYDAS (2017). <https://www.google.com.tr/maps/search/IZAYDA%C5%9F+HAR%C4%B0TA/@40.7889202,12.0834592,4z?dcr=0>. Accessed June 22.
- [16] IZAYDAS (2016). Process data and documents provided by plant operators.
- [17] Bouallagui, H., Cheikh, R.B., Marouani, L., Hamdi, M. (2003). Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste in a tubular digester. *Bioresource Technology* 86, 85–89.
- [18] Oliveira, M.O., Somariva, R., Ando Junior, O.H., Neto, J.M., Bretas, A.S., Perrone, O.E., Reversat, J.H.(2012). Biomass electricity generation using industry poultry waste. *International Conference on Renewable Energies and Power Quality (ICRE PQ'12) Santiago de Compostela (Spain), 28th-30th March*.
- [19] Energy mix of Turkey (2017). <http://www.enerjiatlasi.com/elektrik-uretimi/> Accessed July 20.
- [20] Lou, X.F., Nair, J.(2009).The impact of landfilling and composting on greenhouse gas emissions – A review. *Bioresource Technology* 100, 3792–3798.
- [21] Hao, X., Chang, C., Larney, F.J., Travis, G.R. (2001) Greenhouse Gas Emissions during Cattle Feedlot Manure Composting. *Journal of Environmental Quality* 30, 376–386.
- [22] Alibaba fertilizer prices (2017).<https://turkish.alibaba.com/g/organic-fertilizer-prices.html>. Accessed July 20.
- [23] Senol H., Elibol, E.A., Açikel U., Senol M. (2017). Türkiye’de Biyogaz Üretimi İçin Başlıca Biyokütle Kaynakları. *BEU Journal of Science* 6, 81-92.
- [24] Bakshi, B.R., Baral, A., Hau, J.L. (2011) Thermodynamic Methods for Resource Accounting. In *Thermodynamics and the Destruction of Resources*; Bakshi, B.R., Gutowski, T.G., Sekulic, D.P. Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, U.K.,87–112
- [25] Cleveland, C. J. (1992). Energy quality and energy surplus in the extraction of fossil fuels in the U.S. *Ecological Economics* 6, 139–162.
- [26] Bhattacharya, S.C., Salam, P.A. (2002). Low greenhouse gas biomass options for cooking in the developing countries. *Biomass and Bioenergy* 22, 305 – 317.
- [27] Kaygusuz, K. (2011). Energy services and energy poverty for sustainable rural development. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 936–947.
- [28] Kursun, B., Bhavik, B.R., Mahata, M., Martin, J.F. (2015). Life cycle and emergy based design of energy systems in developing countries: Centralized and localized options. *Ecological Modelling* 305, 40-53.
- [29] Nizami, A.S., Shahzad, K., Rehan, M., Ouda, O.K.M., Khan, M.Z., Ismail, I.M.I., Almeelbi, T., Bahasi, J.M., Demirbas, A.(2017). Developing waste biorefinery in Makkah: A way forward to convert urban waste into renewable energy. *Applied Energy* 186, 189-196.
- [30] Budzianowski W.M., Budzianowska D.A. (2015). Economic analysis of biomethane and bioelectricity generation from biogas using different support schemes and plant configurations. *Energy* 88, 658-666.

Preparation of Stearic Acid/Graphene Oxide Based Form-Stable Composite Phase Change Materials

Stearik Asit/Grafen oksit Esaslı Form-Kararlı Kompozit Faz Değişim Malzemelerinin Hazırlanması

Burcu OKTAY^{ID}

Marmara Üniversitesi, Kimya Bölümü, 34722, İstanbul, Türkiye

Abstract

Composite phase change materials (PCM) of stearic acid/graphene oxide were prepared by thiol-alkyne click coupling reaction. Stearic acid was firstly modified with propargyl to introduce thiol-yne clickable sites. Different amounts of graphene oxide were added to thiol-alkyne clickable formulation. To evaluate phase change properties of PCMs differential scanning calorimeter (DSC) was used. Thermal stability and degradation profiles of PCMs were investigated. The structural characterization of stearic propargyl ester and PCMs was performed by ATR-FTIR spectroscopy. The addition of graphene oxide increased the maximum weight loss temperature from 328 to 351 °C with respect to the base formulation. Moreover, the crosslinking of stearic acid prevented the leakage of PCMs.

Keywords: Phase change materials, thiol-yne click, graphene oxide

Öz

Stearik asit-grafen oksit kompozit faz değişim malzemeleri (PCM) tiyol-alkin klik kapanma reaksiyonu ile hazırlandı. Öncelikle stearik asit tiyol-yne klik gruplarının bağlanması amacıyla modifiye edildi. Farklı miktarlarda grafen oksit tiyol-klik formülasyonuna eklendi. PCM'lerin faz değişim özelliklerini incelemek için diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanıldı. PCM'lerin termal kararlılık ve bozunma profili incelendi. Stearik propargyl esteri ve PCM'lerin yapısal karakterizasyonu ATR-FTIR spektroskopisi ile gerçekleştirildi. Grafen oksit eklenmesiyle baz formülasyona göre maksimum kütle kaybı sıcaklığı 328 dan 351 °C ye yükseldi. Aynı zamanda stearik propargyl çapraz bağlanmasıyla PCM'lerin akma problemi engellendi.

Anahtar Kelimeler: Faz değişim malzemeleri, tiyol-yne klik, grafen oksit

I. INTRODUCTION

Rapid development and growth of population reveal the need for energy. Hence, the storage of thermal energy has become an important area in modern technology. Phase change materials (PCMs) are a kind of thermal energy storage materials. PCMs have high energy storage density and can store energy in isothermal process. In addition, PCMs show extremely small temperature variation during charging and discharging processes [1]. PCM technology has been used for many fields such as solar energy storage and transfer systems, heat storage cloths and industrial waste heat recovery [2]. PCMs can be divided in three categories; inorganic compounds, organic compounds and eutectic mixtures [3]. Inorganic PCMs contain hydrate salts, metals and alloy, which have high volumetric heat storage capacity and good thermal conductivity. However, their applications are restricted because of their super cooling and phase decomposition [4].

Organic PCMs can be categorized into two major categories: paraffin (hydrocarbons) and non-paraffinic (fatty acids and their derivatives) based materials. Fatty acids have superior properties such as chemical stability, melting congruency,

non-toxicity and high latent heat compared to other available PCMs. Furthermore, another advantage of fatty acids there are abundantly available due to derive from common vegetable and animal oils. The Capric acid, Lauric acid, Palmitic acid and Stearic acid are majorly studied fatty acids [5].

There are some works, which consider the use of fatty acids in PCMs. For instance, Alva et al. prepared myristic acid–palmitic acid (MA–PA) eutectic mixture with silica shell and characterized by differential scanning calorimeter (DSC) [6]. Zhang et al. prepared stearic acid/polymethylmethacrylate (PMMA) PCMs. The latent heats of PCMs with stearic acid percentage of 52.20 wt% are 102.1 and 102.8 J/g at 55.3 and 48.8 °C, respectively [7]. Doğuşcu et al. investigated palmitic acid (PA) and capric acid (CA) eutectic composition ratio of the mixture. The phase change temperatures and latent enthalpies of PCMs were determined using DSC found between 13.5–17.9 °C and 45.0–77.3 J/g, respectively [8].

Among fatty acids, stearic acid has a suitable phase change materials. Literature survey shows that the thermal characteristics of stearic acid and its esters indicated available for heat storage in buildings [9]. However, stearic acid tends to leakage when melting. Leakage is an important problem for PCMs, which limits their usage area [10]. Several preparation techniques have been used to overcome this problem such as encapsulation, photopolymerization [11], embedding like metal particles and fatty alcohol into PCMs [12].

Carbon nanomaterials such as carbon nanotube, graphene, graphene oxide exhibit high stability and thermal conductivity as well as low density. The excellent properties of carbon nanomaterials make them suitable additives for PCMs. Graphene oxide is an oxygen-rich carbonaceous layered material, which is composed by sp³-hybridized carbons and sp²-hybridized carbons. Graphene oxide can interact with hydrophilic groups of polymers through hydrogen bonding. Also, graphene oxide has a physical crosslinking agent to obtain interacting polymer [13].

Zhong et al. prepared composite PCMs consisting graphene oxide and octadecanoic acid. The thermal conductivity of the composite PCM was about 14 times than that of pure octadecanoic acid [14]. Cui et al. obtained carbon nanotube and carbon nanofiber containing soy wax and paraffin wax PCMs. The thermal conductivity of composite PCMs increases with addition of carbon nanotube and carbon nanofiber [15]. Li et al. expanded graphite and carbon nanotube added into stearic acid. The composite PCMs were prepared via melt blending. The increasing of carbon nanomaterials content from 1 to 9% thermal conductivity increased [10]. Based on the literature described above, thermal conductivity and thermal stability of the composite PCMs considerably enhance

with addition carbon nanomaterial. The phase change temperature of composite PCMs stays almost the same. The latent heat of composite PCMs very little decreases but is still preserve its high latent heat storage ability. In addition, leakage of composite PCMs is greatly prevented with the addition of carbon nanomaterials.

The objective of our study is to prepare crosslinked stearic acid network via thiol-alkyne photopolymerization and investigate the effect of different amount of graphene oxide on the latent heat of composite PCMs. Propargyl groups bearing stearic acid was firstly synthesized to obtain thiol-alkyne clickable network. Photo-curable PCMs were prepared by mixing propargyl stearic acid, 3SH, different amount of graphene oxide and photoinitiator (DMPA). The chemical structures of PCMs were investigated by means of ATR–FTIR technique. Thermal properties and phase transition behaviors of the nanofiber based PCMs were determined by TGA and DSC.

II. MATERIALS AND METHODS

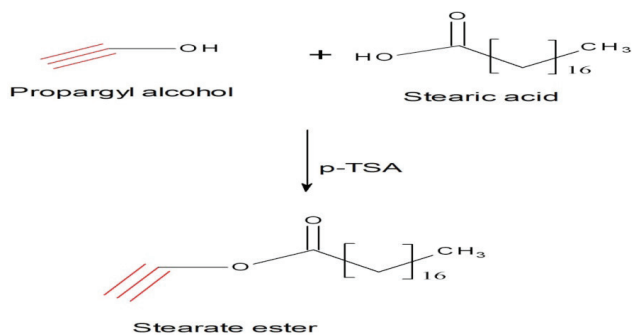
2.1. Reagents and Apparatus

Propargyl alcohol (99%), stearic acid, trimethylpropanetrakis(3-mercaptopropionate) ($\geq 95.0\%$) (3SH), 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (99%) (DMPA), graphene oxide (4 mg/mL, dispersion in H₂O), p-toluensulfonic acid (98%) (p-TSA) were purchased from Aldrich.

The structure of ester of stearic acid was identified by Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared spectroscopy (ATR-FTIR). The spectra were collected using a Perkin Elmer Spectrum 100 ATR-FTIR spectrophotometer. The spectrums were recorded over a scanning range of 4000 and 400 cm⁻¹. Thermal properties of PCMs were examined by Thermal Gravimetric Analysis (TGA) using a Perkin-Elmer Thermogravimetric analyzer STA6000 model. TGA curves of the nanofibers were obtained in the 30 - 750 °C temperature range with heating rate of 10 °C/min under air and nitrogen atmospheres. Phase change properties and phase transitions of PCMs were examined by Pyris Diamond differential scanning calorimeter (DSC). DSC analysis was run from 0 °C to 80 with 5 °C/min heating and cooling rates under nitrogen at 25 ml/min.

2.2. Synthesis of stearate ester

Stearic acid (0.035 mol) and propargyl alcohol (0.17 mol) were stirred at 80 °C in the presence of toluene-4-sulfonic acid (0.052 mmol) in 25 mL THF for 24 h. After 24 h, the mixture was washed with water to remove un-reacted propargyl alcohol and toluene-4-sulfonic acid. Then THF was removed by evaporation and the product was dried in vacuum. The synthesis pathway of stearic propargyl ester shows in Scheme 1.

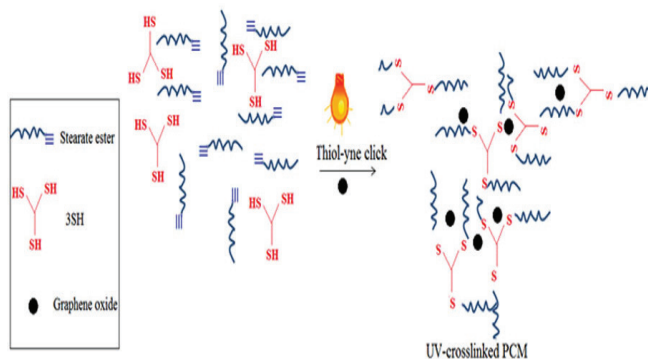


2.3. Preparation of PCMs

All thiol-yne reaction was carried out in Argon filled glove box. Thiol-yne clickable base formulation (P-0) was prepared by mixing stearate ester, 3SH monomer with DMAP as a photoinitiator in a beaker. The mixture was irradiated with 365 nm light (120 W/cm², distance between lamp and surface was 15 cm, OSRAM, Turkey) for 1 h to promote the thiol-yne click reaction. P-5 formulation was prepared by adding %5 wt. graphene oxide to the base formulation (P-0). The mixture was sonicated by ultrasonicator (Bandeline HD3110) for 15 minutes and then irradiated as described above. P-10 and P-15 formulations were prepared by adding of 10 and 15wt.% graphene oxide, respectively. An illustration of the thiol-yne click reaction can be seen in Scheme 2. The composition of all formulations is given in Table 1.

Table 1. Formulation of thiol-yne samples

Samples	Stearate ester (g)	3SH (g)	Graphene oxide (%)	Graphene oxide (g)
P-0	0.25	0.2	0	-
P-5	0.25	0.2	5	0.60
P-10	0.25	0.2	10	0.13
P-15	0.25	0.2	15	0.25



III. RESULTS

3.1. Structural characterizations

Stearate ester was synthesized by reacting propargyl alcohol and stearic acid in the presence of p-TSA. The structure was characterized via FTIR spectroscopy. Figure 1 shows the FTIR spectrum of the stearic acid, propargyl alcohol and synthesized fatty acid propargyl ester, respectively.

In FTIR spectrum of stearic acid (in black), the bands at 2954, 2914 and 2847 cm⁻¹ correspond to the asymmetric and symmetric stretching vibration of CH. The carbonyl groups of stearic acid observed was observed at 1700 cm⁻¹. The characteristic the alkyne peaks of propargyl alcohol (≡C-H and C≡C) observe about 3290 and 2122 cm⁻¹, respectively [16]. These peaks of the characteristic propargylalcohol are also present in the spectrum of fatty acid propargyl ester (in blue). The peaks at 3290 and 2120 cm⁻¹ correspond to the alkyne peaks of propargyl. The asymmetric stretching of -CH₃, as well as symmetric and asymmetric -CH₂ stretching vibrations of stearic acid were observed at 2951, 2910 and 2848 cm⁻¹. The peaks at 1742 and 1702 cm⁻¹ are attributed to -carbonyl band because of the formation of fatty acid ester [17].

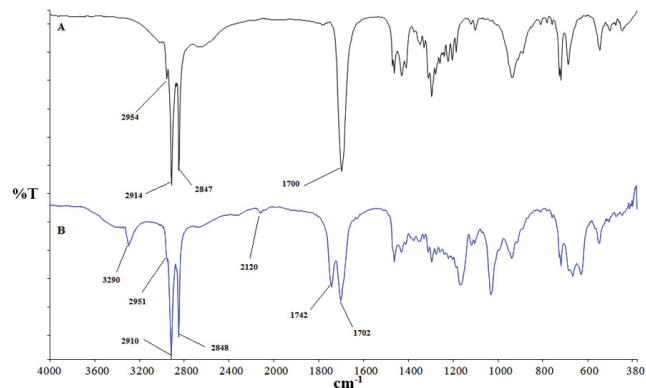


Figure 1. FTIR spectra of (A) stearic acid and (B) stearate ester

3.2. Thiol-yne click reaction

Thiol-yne click reaction occurs between propargyl groups of fatty acid ester and thiol group of 3SH in the presence of DMPA. The overlapped FTIR spectra of P-0, P-5, P-10 and P-15 as well as P-0 of before UV-treatment are shown in Figure 2. In the spectrum A, the peaks at 3286 and 2120 cm⁻¹ correspond to the stretching vibration of H-C and C≡C, respectively [18]. The thiol groups observed at 2550-2600 cm⁻¹.

In the spectrum of P-0 (spectrum B), the bands at 2954, 2914 and 2847 cm⁻¹ correspond to the asymmetric stretching of -CH₃ and symmetric and asymmetric -CH₂ stretching

vibrations, respectively. Ester carbonyl band was observed at 1700 cm^{-1} [17]. In the spectrum C, the peak 1604 cm^{-1} belonging to in-plane vibrations of the skeletal C=C band of hexagonal aromatic ring on the graphene oxide. The peaks at 3026 cm^{-1} corresponding to aromatic =C-H stretching [19]. The characteristic peaks of stearic acid were also observed at about 3026 , 2922 , 2852 and 1738 cm^{-1} the all spectrum.

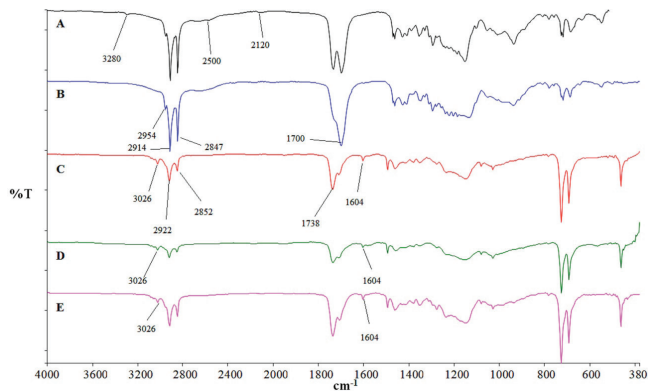


Figure 2. FTIR spectra of (A) P-0, (B) P-5, (C) P-10, (D) P-15 and (E) P-0 of before UV-treatment

3.3. Thermal Properties of PCMs

Figure 3, Figure 4 and Table 2 show thermal degradation profiles of composite PCMs (P-0, P-5, P-10 and P-15) under inert and oxidative atmospheres, respectively. Corresponding derivative curves are also presented in these figures. It can be seen from figure that the 50% weight loss temperature was 332, 335, 345 and 352 °C, respectively under nitrogen atmosphere. 50% weight loss increase slightly with increasing of graphene oxide. Moreover, the char yields increased gradually as the graphene oxide content was increased. In oxidative conditions, graphene oxide was improved 50% weight loss temperature of P-0, P-5, P-10 and P-15. It is clearly that the addition of graphene oxide has a significant contribution to the thermal stability of the PCMs as 20 and 23 degrees of increase was observed in the 50% weight loss temperature of P-15 compared to P-0.

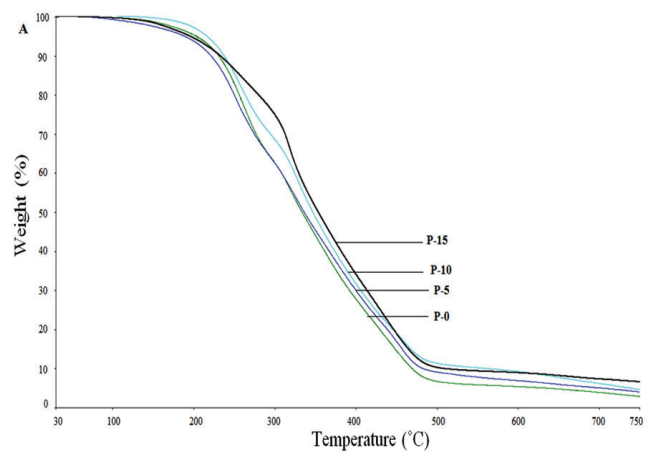


Figure 3A. TGA curves of the composite PCMs, in nitrogen atmosphere

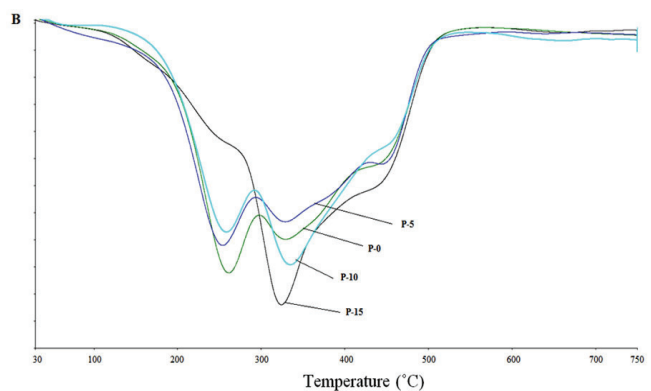


Figure 3B. DTG curves of the composite PCMs, in nitrogen atmosphere

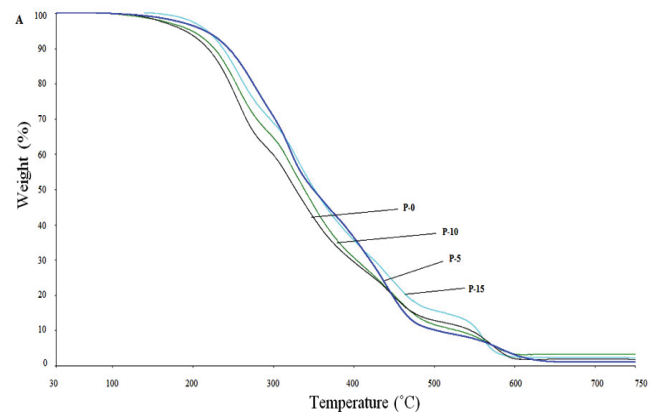


Figure 4A . TGA curves of the composite PCMs, in air atmosphere

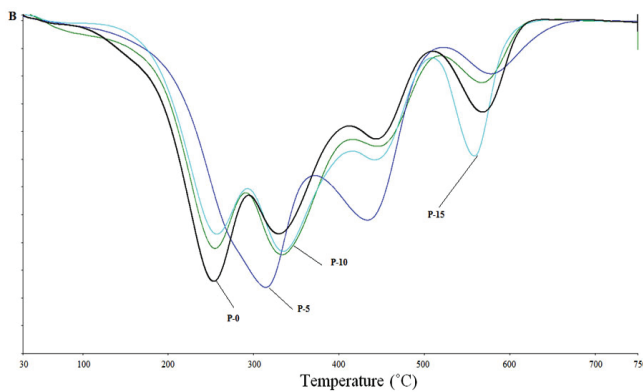


Figure 4B. DTG curves of the composite PCMs, in air atmosphere

Table 2. Thermal properties of composite PCMs

Samples	INERT			AIR		
	T5% (°C)	T50% (°C)	Char (%)	T5% (°C)	T50% (°C)	Char (%)
P-0	203	332	2.96	188	328	1.88
P-5	190	335	4.66	217	346	2.32
P-10	218	345	4.15	198	338	3.00
P-15	194	352	6.62	216	351	3.24

3.4. Phase Transition Properties of PCMs

Figure 5 shows DSC curves of pure stearic acid and propargyl ester of stearic acid. The corresponding data of melting peak temperature (T_m), enthalpy of melting (ΔH_m), crystallization peak temperature (T_c), and enthalpy of crystallization (ΔH_c) are shown in Table 3. Pure stearic acid exhibits single phase change at 61°C. The latent heats of melting is 178 J/g. However, propargyl ester of stearic acid showed two melting peaks at 21 and 58 °C. Moreover the fattyacidester has considerably high latent heat of melting as a 65 and 203 J/g compare to pure stearic acid. The total amount of two latent heats is 268 J/g during melting. As can be seen from DSC results the melting points between stearic acid and its ester changed. The physical properties of a chemical compound affected to the melting point. Knothe et al. investigated and reported for melting points of some compounds. For example, the melting point difference between pure stearic acid and methyl-branched stearic acid ester is about 31.7 °C [20].

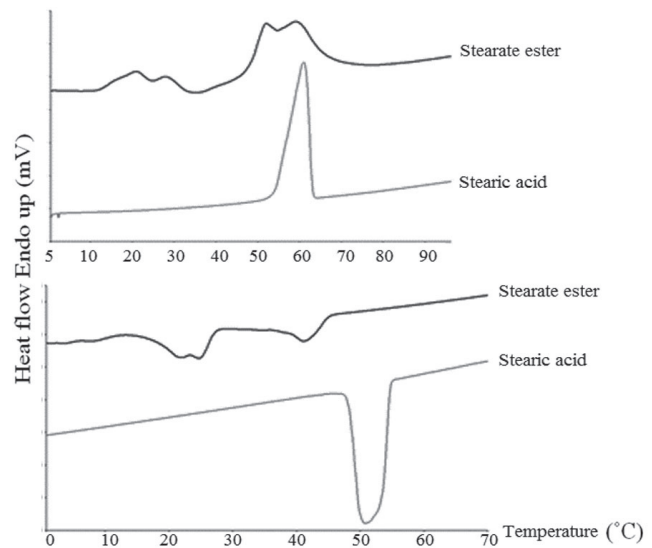


Figure 5: DSC curves of pure stearic acid and ester of stearic acid

Table 3. Latent heat storage properties of stearic acid, stearic ester and the composite PCMs

Samples	T_{m1}	T_{m2}	ΔH_{m1}	ΔH_{m2}	T_{c1}	T_{c2}	ΔH_{c1}	ΔH_{c2}
Stearic acid	-	61	-	178	-	51	-174	-
Stearate ester	21	58	65	203	25	41	-50	-22
P-0	14	61	11	39	7	43	-6	-40
P-5	20	54	14	30	10	42	-11	-28
P-10	22	56	11	23	14	46	-12	-21
P-15	22	52	13	18	7	43	-6	-26

The heating and freezing phase change enthalpy of thiol-yne clicked PCMs were investigated via differential scanning calorimeter and the results are listed in Table 2. As can be seen Figure 6, the melting temperature peaks (T_m) of P-0 were 14 and 61 °C. The latent heat of melting was 50 J/g. For freezing process, the latent heat of P-0 was 46 J/g. While 5 percent adding grapheneoxide, the melting peaks of P-5 were found 20 and 54 °C. The peaks shift to 20 and 54 °C because of the influence of the graphene oxide framework [21]. The latent heat of P-10 was 44 J/g, which decreases a little after adding graphene oxide. For freezing process, the latent heat of SAT-5 was 39 J/g. The latent heat of P-15 in melting and freezing process was 34 and 33 J/g, respectively. The melting temperatures of P-15 were 22 and 56 °C and the freezing temperatures of P-15 were 14 and 46 °C. The melting and freezing temperatures of composite PCMs are suitable for low temperature energy storage applications.

They often are suitable for floor heating systems and operate at temperatures of approximately 45 and 25-35 °C [22, 23]. Previous researches have been demonstrated that the phase change temperatures of nanoconfined materials decrease [24-26]. In nanoconfined systems, the decrease in the phase change temperatures of organic PCMs are due to the confined subnanometerspaces that become narrower [27].

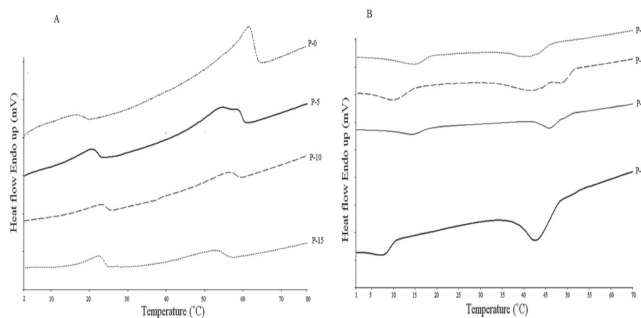


Figure 6. DSC curves of composite PCMs

The percentage of stearic acid (X) in PCMs (P-0, P-5, P-10 and P-15) was calculated by formula [28]

$$X\% = \frac{H}{H_0} * 100$$

Where H is the latent heat of PCM (J/g); H₀ is the latent heat of pure propargyl stearic acid (J/g). The percentages of stearic acid were 18, 16, 12 and 11.5 wt.% in P-0, P-5, P-10 and P-15, respectively. The theoretical melting enthalpy of the nanofibers can be calculated by formula [29]

$$HT = H_0 * \left(\frac{X}{1 - X} \right)$$

Where HT is for the theoretical melting enthalpy of PCM (J/g); H₀ is for the melting enthalpy of stearic propargyl ester; X is for the mass percentage of stearic propargyl ester in the PCM. By calculation, the theoretical melting enthalpy of nanofiber PCMs were about 58 J/g, 51 J/g, 36 J/g and 34 J/g for P-0, P-5, P-10 and P-15, respectively. Theoretical melting enthalpies were close to the measured melting enthalpies.

To confirm the prevention leakage, stearate acid and PCMs were heated to 100 °C. Figure 7 shows the digital photography of stearate ester and PCMs after heating at 100 °C for 2h. It can be seen that stearate ester completely melts and spreads onto the filter paper surface. However, UV-crosslinked PCMs no leakage was found. This means that P-0, P-5, P-10 and P-15 have well form stable performance.

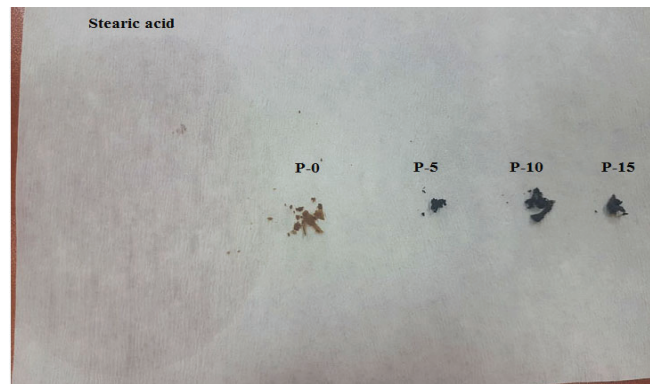


Figure 7. Photograph views of stearate ester and P-0, P-5, P-10 and P-15 after heating 100 °C

IV. CONCLUSIONS

In this study, stearic acid based composite phase change materials were prepared. Stearic ester was crosslinked with UV-induced thiol-yne click reaction to overcome the leakage problem of stearic acid. The leakage test indicated that UV-crosslinked stearate ester do not show leakage. TGA curves show that the addition of graphene oxide enhanced the thermal stability of composite PCMs. Furthermore, the composite PCMs have lowered the melting and freezing points compared to stearic acid. Therefore, it can be said that the composite PCMs can potentially be used as form-stable PCMs for lower temperature applications.

REFERENCES

- [1] Li, C., Xie, B., & Chen, J. (2017). Graphene-decorated silica stabilized stearic acid as a thermal energy storage material. *RSC Advances*, 7(48), 30142–30151.
- [2] Sharma, S. D., & Sagara, K. (2005). Latent Heat Storage Materials and Systems: A Review. *International Journal of Green Energy*, 2(1), 1–56.
- [3] Baetens, R., Jelle, B. P., & Gustavsen, A. (2010). Phase change materials for building applications: A state-of-the-art review. *Energy and Buildings*, 42(9), 1361–1368.
- [4] Baştürk, E., & Kahraman, M. V. (2016). Photocrosslinked-biobased phase change material for thermal energy storage. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(32).
- [5] Grynning, S., Goia, F., Rognvik, E., & Time, B. (2013). Possibilities for characterization of a PCM window system using large scale measurements. *International Journal of Sustainable Built Environment*, 2(1), 56–64.
- [6] Alva, G., Huang, X., Liu, L., & Fang, G. (2017). Synthesis and characterization of microencapsulated myristic

- acid-palmitic acid eutectic mixture as phase change material for thermal energy storage. *Applied Energy*, 203, 677–685.
- [7] Zhang, T., Chen, M., Zhang, Y., & Wang, Y. (2017). Micro-encapsulation of stearic acid with polymethylmethacrylate using iron (III) chloride as photo-initiator for thermal energy storage. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 25(10), 1524–1532.
- [8] Döğüşcü, D. K., Altıntaş, A., Sarı, A., & Alkan, C. (2017). Polystyrene microcapsules with palmitic-capric acid eutectic mixture as building thermal energy storage materials. *Energy and Buildings*, 150, 376–382.
- [9] Feldman, D., Banu, D., & Hawes, D. (1995). Low chain esters of stearic acid as phase change materials for thermal energy storage in buildings. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 36(3), 311–322.
- [10] Cheng, X., Li, G., Yu, G., Li, Y., & Han, J. (2017). Effect of expanded graphite and carbon nanotubes on the thermal performance of stearic acid phase change materials. *Journal of Materials Science*, 52(20), 12370–12379.
- [11] Baştürk, E., & Kahraman, M. V. (2016). Photocrosslinked-biobased phase change material for thermal energy storage. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(32), 43757–43765.
- [12] Baştürk, E., Deniz, D. Y., & Kahraman, M. V. (2016). Preparation of thiol-ene based photo-crosslinked polymer as a potential phase change material. *Materials Chemistry and Physics*, 177, 521–528.
- [13] Tiwari A, Syvajarvi M, editors. 2016 Advanced 2D materials. Hoboken, New Jersey: Scrivener Publishing, Wiley, 511 p.
- [14] Zhong, Y., Zhou, M., Huang, F., Lin, T., & Wan, D. (2013). Effect of graphene aerogel on thermal behavior of phase change materials for thermal management. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 113, 195–200.
- [15] Cui, Y., Liu, C., Hu, S., & Yu, X. (2011). The experimental exploration of carbon nanofiber and carbon nanotube additives on thermal behavior of phase change materials. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 95(4), 1208–1212.
- [16] Wang, J.-H., Cheng, C.-C., Yen, Y.-C., Miao, C.-C., & Chang, F.-C. (2012). Block-copolymer-like supramolecules confined in nanolamellae. *Soft Matter*, 8(14), 3747.
- [17] Anandhi, A., Palraj, S., Subramanian, G., & Selvaraj, M. (2016). Corrosion resistance and improved adhesion properties of propargyl alcohol impregnated mesoporous titanium dioxide built-in epoxy zinc rich primer. *Progress in Organic Coatings*, 97, 10–18.
- [18] Han, C., Liu, Y., Ma, J., & He, H. (2012). Key role of organic carbon in the sunlight-enhanced atmospheric aging of soot by O₂. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(52), 21250–21255.
- [19] Țucureanu, V., Matei, A., & Avram, A. M. (2016). FTIR Spectroscopy for Carbon Family Study. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(6), 502–520.
- [20] Knothe, G., & Dunn, R. O. (2009). A Comprehensive Evaluation of the Melting Points of Fatty Acids and Esters Determined by Differential Scanning Calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 843–856.
- [21] Ye, S., Zhang, Q., Hu, D., & Feng, J. (2015). Core-shell-like structured graphene aerogel encapsulating paraffin: shape-stable phase change material for thermal energy storage. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(7), 4018–4025.
- [22] Ding, L., Wang, L., Georgios, K., Lü, Y., & Zhou, W. (2017). Thermal characterization of lauric acid and stearic acid binary eutectic mixture in latent heat thermal storage systems with tube and fins. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, 32(4), 753–759.
- [23] Myhren, J. A., & Holmberg, S. (2008). Flow patterns and thermal comfort in a room with panel, floor and wall heating. *Energy and Buildings*, 40(4), 524–536.
- [24] Li, B., Liu, T., Hu, L., Wang, Y., & Nie, S. (2013). Facile preparation and adjustable thermal property of stearic acid-graphene oxide composite as shape-stabilized phase change material. *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 819–826.
- [25] Karaman, S., Karaipekli, A., Sarı, A., & Biçer, A. (2011). Polyethylene glycol (PEG)/diatomite composite as a novel form-stable phase change material for thermal energy storage. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 95(7), 1647–1653.
- [26] Zhang, D., Tian, S., & Xiao, D. (2007). Experimental study on the phase change behavior of phase change material confined in pores. *Solar Energy*, 81(5), 653–660.
- [27] Uemura, T., Yanai, N., Watanabe, S., Tanaka, H., Numaguchi, R., Miyahara, M. T., Kitagawa, S. (2010). Unveiling thermal transitions of polymers in subnanometre pores. *Nature Communications*, 1(7), 1–8.
- [28] Fu, X., Liu, Z., Xiao, Y., Wang, J., & Lei, J. (2015). Preparation and properties of lauric acid/diatomite composites as novel form-stable phase change materials for thermal energy storage. *Energy and Buildings*, 104, 244–249.
- [29] He, H., Zhao, P., Yue, Q., Gao, B., Yue, D., & Li, Q. (2015). A novel polynary fatty acid/sludge ceramsite composite phase change materials and its applications in building energy conservation. *Renewable Energy*, 76, 45–52.

Automatic Detection and Calculation of Drusen Areas in Retinal Fundus Fluorescein Angiography Images

Retinal Fundus Anjiyografi Görüntülerinde Drusen Alanlarının Otomatik Tespiti ve Hesaplanması

Önder DEMİR¹, Buket DOĞAN¹, Esra ÇALIK BAYEZİT², Kazım YILDIZ¹

¹ Computer Engineering Department, Technology Faculty, Marmara University 34722, Kadıköy / İSTANBUL

² Vocational School, Fatih Sultan Mehmet Vakif University, ISTANBUL, TURKEY

Abstract

Computer aided detection (CAD) systems are widely used in the analysis of biomedical images. In this paper, we present a novel CAD system to detect age-related macular degeneration (ARMD) on retinal fundus fluorescein angiography (FFA) images, and we provide an areal size calculation of pathogenic drusen regions. The purpose of this study is to enable identification and areal size calculation of ARMD-affected regions with the developed CAD system; hence, we aim to discover the condition of the disease as well as facilitate long-term patient follow-up treatment. With the aid of this system, assessing the marked regions will take less time for ophthalmologists and observing the progress of the treatment will be a simpler process. The CAD system consists of four stages, a) preprocessing, b) segmentation, c) region of interest detection and d) feature extraction and drusen area detection. Detection through CAD and calculation of drusen regions were performed with a dataset composed of 75 images. The results obtained from the developed CAD system were examined by a specialist ophthalmologist, and the performance criteria of the CAD system are reported as conclusions. As a result, with 66 correct detections and 9 incorrect detections, the developed CAD system achieved an accuracy rate of 88%.

Keywords: Computer Aided Detection, Age Related Macular Degeneration, Morphologic Image Processing, Retinal Fundus Fluorescein Angiography

Öz

Bilgisayar destekli tespit (BDT) sistemleri biyomedikal görüntülerin analizinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu çalışmada retinal fundus anjiyografi görüntüleri üzerinde yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) hastalığının tespiti için bir BDT sistemi gerçekleştirilmiş ve patojenik drusen alanlarının büyüklüğünün hesaplanması sağlanmıştır. Çalışmanın amacı YBMD hastalığının görüldüğü alanların tespitinin ve büyüklüğünü hesaplamının yanında hastalığa karşı uygulanan tedavinin sonucunun takibini de sağlamaktır. Geliştirilen sistemin yardımıyla optalmoloji uzmanları işaretlenen alanları kısa sürede tespit edebilecek ve hastalığın tedaviye verdiği cevabı basit bir şekilde gözlemleyebileceklerdir. Geliştirilen BDT sistemi 4 aşamadan oluşmaktadır, a) ön işleme aşaması, b) bölütleme aşaması, c) ilgi alanı tespiti ve d) öz nitelik çıkarma ve tespit aşaması. Geliştirilen BDT sistemi 75 görüntüden oluşan bir veri setiyle test edilmiştir. BST sisteminin elde ettiği sonuçlar bir optalmoloji uzmanıyla karşılaştırılarak sonuç bölümünde sunulmuştur. Geliştirilen BDT sistemi 66 doğru, 9 hatalı tespit yaparak %88 doğruluk oranı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Bilgisayar Destekli Tespit, Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu, Morfolojik Görüntü İşleme, Retinal Fundus Anjiyografi

I. INTRODUCTION

Eye problems brought about by advanced age can have a serious impact, including loss of vision if untreated at an early stage. Macula (yellow spot) is a region in the retina layer where optic cells are most concentrated [1]. ARMD is an eye condition commonly known as “yellow spots” caused by deformation of the macula region of the eye.

According to the World Health Organization (WHO), ARMD ranks third in vision disorders that result in loss of sight with 8.7% prevalence[2]. The disease affects the macula in such a way that the eye gradually loses its ability to see. The early findings of ARMD-related loss of vision may include seeing shadowy areas in central vision and mostly blurred or distorted vision. The main risk factor in developing macular degeneration is advancing age. In developed countries, the most significant reason for blindness in people over 50 years of age is macula disease [3,4].

Macular degeneration develops as a result of the aging of the macula region. FFA has been a standard tool in the investigation and management of retinal diseases since 1961 [5,6].

In order to detect ARMD in retinal images, structures like optic discs, blood vessels, and macula should be identified within the image. In the literature, relevant studies concentrating on detection of structures like optic discs, blood vessels, and macula in retina use various methods, such as phase congruency [7], morphological image processing [8,9], Gabor filter [10], wavelet transform [11], region growing, Gaussian filter [12], and multilevel image processing [13]. In light of the previous studies, detecting ARMD by using features like the position of optic disc in retina, the convergence of blood vessels on the optic disc, the distance of the macula region to the optic disc, pixel intensity values of the optic disc, blood vessels, and drusen is found to provide successful outcomes in diagnosis of the disease.

Güven[14] uses Hough transform to determine optic disc localization, the thresholding method is used to obtain the brightest pixel region, and Canny’s method is used for edge detection. Contrast-limited adaptive histogram equalization is used for the segmentation and detection of ARMD. The ARMD segmentations created through the proposed method were then compared by an ophthalmologist through the process of manual segmenting. The positive predictive value of the proposed method was calculated as 95.68%. The study does not contain sensitivity information of the system.

Köse and Yavuz use the retinal blood vessels as reagents to identify the positions of significant structures, such as the optic disc in the retina and macula in addition to the diagnosis of the disease. For this purpose, in the aforementioned

study, the green band of the colored fundus image was filtered through a Gabor filter to clarify the vessels. In order to bring the vessels to the forefront, top hat conversion and highest percentage thresholding (p-tile) were used. The study was tested on 20 images selected from STARE database and reported to achieve 86.31% sensitivity and 92.9% accuracy[15]. Joseph employs a gradient-based segmentation algorithm to detect drusens that isolate drusens and provide basic drusen characterization for the modeling stage. The detected drusens are then fitted by using Modified Gaussian functions, producing a model of the image that is used to evaluate the affected area[16].

Brandon and Hoover use a multilevel analysis in the detection of drusens in retinal images. Their study was composed of a multilayered structure that contains a pixel layer, a region layer, an area layer, and an image layer. In area-layered classification, regions marked as false positive were eliminated with filtering and each area was separated into sub-regions that contain no drusens, fewer drusens, or many drusens. In image-layered classification used in the final stage, the regions marked by areal layer are counted and classified by checking their average area. The study consisted of 38 healthy images, 68 unhealthy images with drusens, and 19 abnormal drusen images without drusens. They reported a success rate of 87% [13].

In our previous work, a CAD system was developed using morphological image processing technique to detect regions of interest affected by ARMD disease on data set composed of 87 images. Following the segmentation phase, region of interests were labeled by analyzing the most important morphological features that would identify ARMD. The accuracy of CAD system is tested by ophthalmologist and the accuracy of the system is %85.05 [9].

Upon analysis of the studies in the literature, it can be concluded that even if the results show a high accuracy rate for some of the images, these could not provide a long-term tool in monitoring the whole treatment course of patients with ARMD, and how the patients respond to treatment. This study, on the other hand, differs from other studies in that it allows physicians to calculate the area of the diseased region during the whole course of the treatment, and monitor the growth and reduction in this area.

With contemporary treatments, it is possible not only to prevent loss of vision due to ARMD, but also to increase sight [17,18]. ARMD is a chronic disease that requires regular treatment. Therefore, it is extremely important to observe follow-up and treatment plans recommended by the physician. The physician should examine and monitor the patient frequently [3,18]. When the increasing number of patients

and the cost of healthcare are considered, this study provides advantages by reducing the duration of the detection process, increasing accuracy, and lowering costs.

This study develops a CAD system that can be used to diagnose deformations caused by ARMD in the macula region and track their course in time. Thus, the study aims to achieve a higher assessment rate with fewer images in less time by decreasing the number of images an ophthalmologist should examine, and providing preliminary information during the follow-up phase of the disease.

II. MATERIALS AND METHODS

This study, which was conducted with the permission and approval of TR Ministry of Health and the Turkish Institute of Public Hospitals, used a dataset composed of 75 images, 16 of which were healthy images and 39 unhealthy images obtained from the Beyoglu Eye Training and Research Hospital. In addition, the dataset was extended with the addition of 20 unhealthy images from STARE dataset [19] downloaded from the website “<http://www.parl.clemson.edu/stare>”. The retinal images were composed of structures of blood vessels, optic discs, and the macula region. In order to identify the macula region where drusens develop, blood vessels and optic discs should be removed from the images. Despite having different shapes, the similarities in the colors and tissues of these structures can cause the elimination of the region of interest (ROI), such as the macula region, from the images during the segmentation stage [15]. For this reason, an algorithm was used that allowed pixel neighborhood-dependent optic disc elimination by using feature extraction for blood vessel segmentation from the images, elimination of the optic discs, and identification of the region of interest.

2.1 The Stages of the Developed CAD System

The block diagram of CAD system is presented in Figure 1. The developed CAD system consists of 4 stages. In the initial stage of preprocessing, the vessels are eliminated from the image. In the second stage, thresholding and edge detection are performed for segmentation. In the third stage, regions of interest are identified and features are extracted. In the final stage, decisions are made by evaluating the data obtained.

2.2 Preprocessing Stage

FFA images are RGB colored images. During the preprocessing stage, FFA images are initially separated into the green color band. The image in the green color band is then diluted and subjected to thresholding in order to eliminate the vessels in the image.

By running the colored image of the fundus in the retinal images through the green color band, better results were achieved for optic discs and ARMD detection. By using morphological image processing and various operators, a number of operations were performed on the images, such as identification and extraction of structures like borders and skeletons in the image, and the removal of noises and segmentation [20]. Dilation is one of the main operators of mathematical morphology [20]. Dilation is the process of enlarging the object in the digital image to the size of the segments it intersects with structuring elements (SE). Dilation is performed by moving each pixel in the digital image to the center point of SE. SE adds pixels to the empty areas by moving onto each pixel value and hence provides a clearer image. In the initial stage of the developed CAD system, a dilation operator is

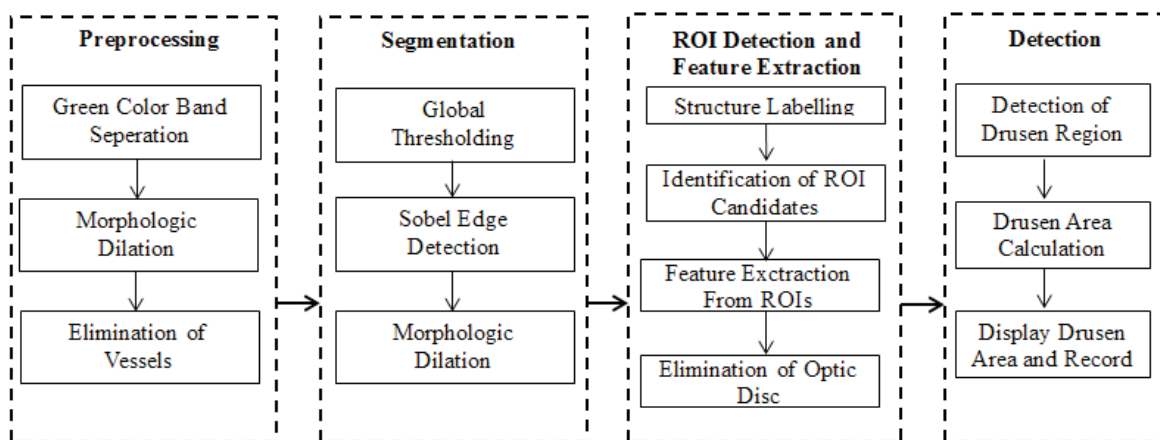


Figure 1. The block diagram of CAD system

used to eliminate vessels as one of the morphological image processing operators. To be able to perform dilation, an appropriate structuring element should be selected. Since selecting the structuring element based on the shape sought in the image will provide better detection results, the structuring element selected for this system developed a disc shape to detect drusens caused by ARMD. By using this selected structuring element, the dilation process was performed. After the dilation operator is applied to attenuate the clarification of the vessels, the vessels with reduced visibility are eliminated by thresholding.

Figure 2 (a) shows the original image and Figure 2 (b) shows the separated image into the green color band. In the image where the dilation operator is applied, the vessels are substantially eliminated and their visibility reduced. After the dilation operator is applied, the elimination of the vessels with reduced visibility is achieved as seen in Figure 2 (c).

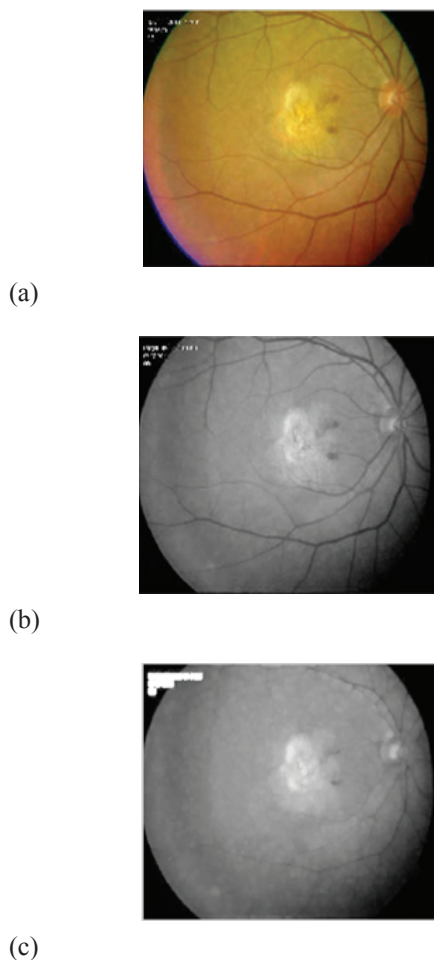


Figure 2. (a) Original image (b), image separated into green, (c) and image obtained after the application of green color band of the dilation operator

2.3 Segmentation Stage

Thresholding is the process of equalizing pixel values that form the image matrix from a larger or smaller value to another value. Usually, for an image with 256 gray level intensity, this value is equalized to 0 (black) or 255 (white). Hence, regions with undesired intensity are removed from the image. Following the process of thresholding, the image is converted into a binary image to obtain a matrix composed of 0 and 1.

In this study, global thresholding method is used. The thresholding value (T) is determined by a value obtained through the histogram graphic of the image. The appropriate T value is obtained by calculating the threshold value of the pixel values of the diseased regions at minimum level through the histogram graphic analysis of the images in the data used. In line with the established T value, the threshold value is determined as well as the averages of the smaller and larger pixels. The average of these two values is used as the threshold value. After the application of thresholding value, Sobel edge detection algorithm is used to identify the structural borders in the data image as well as to clarify vertical and horizontal edges. Applying Sobel edge detection algorithm on the image might cause some of the border lines to break. To remove these breaks, the dilation operator is re-applied. For this process, a disc-shaped structuring element of one unit is used. As a result, areal values are retained by minimally dilating the borders of regions of interest.

Figure 3 (a) shows the binary image converted after thresholding a sample FFA image. Figure 3 (b), on the other hand, shows the image after Sobel edge detection algorithm is applied. Figure 3 (c) shows the Sobel edge detection algorithm applied the image of relevant pixels coupled with the dilation operator by using the disc-shaped structural element of one unit.



Figure 3. (a) Image after thresholding, (b) image after Sobel algorithm, and (c) image after dilation

2.4 Identification of ROI and Feature Extraction Stage

In the case of images where edges are clarified by using the dilation operator, possible ROIs are identified. All structures located in these regions are separated from the background image and labeled by identifying their borders.

These labels aid in extracting neighboring information of the objects through analysis of the number of objects in the image together with data about the borders. Information about the number of objects in the image as well as the neighborhood of the identified objects is obtained by a matrix that contains information about the borders. Pixels in close proximity are combined within this neighborhood. This process facilitates monitoring the changes in the potential ROIs during the course of treatment. As can be seen in Figure 5 (b), potential ROIs are marked and its borders are indicated with different colors.

In the present study, after identification of the regions that could potentially be ROIs, the area, border, shape, and perimeter features of these ROIs are extracted. By using these features, ROIs are encircled in a specified region through the algorithm developed.

Since the aim of the present study is to detect ARMD developed in the macula region, the optic disc should be eliminated from the images. The optic disc has a diameter of around 1.5 mm. The blood vessels in the retina merge in the optic disc. Because of these characteristics of the optic disc, it is considered to be a region with fixed features in the retinal images. In the study conducted, a rule-based detection of the optic disc is performed. Then, the perimeter, area, and shape features of the detected ROI's are identified according to the criteria and marked in the images.

The optic disc is usually located as the largest area in the spherical structure. The rule that detects and eliminates the optic disc in the images can be seen in Figure 4. Figure 5 shows the camera image of fundus when the optic disc is eliminated.

2.5 Detection Stage

In the final stage, ARMD in the macula region of the retina is detected and marked. Figure 5 (a) shows the calculated value of the drusen region in a sample FFA image. In Figure 5 (b), the region where ARMD has developed is marked and indicated with a perimeter in the original image. At this stage, the area of the detected macula region is computed and recorded. This information aids ophthalmologists in assessing the progress of the disease and response to the treatment.

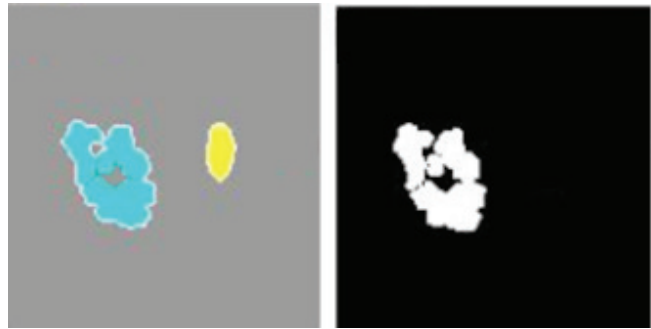


Figure 5. (a) Image with clarified borders (b) image obtained through optic disc elimination

III. RESULTS AND DISCUSSION

To be able to measure the success rate of the method employed in ARMD detection, the developed CAD system was tested by an ophthalmologist and the success rate of the applied method was determined. For accurate detection of ROI in the images obtained through the implementation of the CAD

```

E: Label Number of ROI (Initialize Value of E = 1)
MaxArea= Area of Largest Circular ROI (Initialize Value of MaxArea = 0)
M: Label Number of ROI has Maximum Area
If (E is Circular)
{
    If (Area of E > MaxArea)
    {
        M = E
        E++
    }
    Else E++
}
Else E++
Remove M From Image

```

Figure 4. Elimination rule of optic disc

system, certain criteria were defined. As seen in Table 1, the values calculated by using four basic values, True Positive (TP), False Positive (FP), False Negative (FN), True Negative (TN), were used as the performance criteria to assess the results of all tests implemented on the medical images [21].

Table 1. CAD System Results and Performance Criteria

CAD System Results				Performance Criteria		
TP	TN	FP	FN	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
51	15	1	8	86.44%	93.75%	88%

The developed CAD system was used on 75 retinal images, 16 of which were healthy and 59 of which exhibited ARMD. Then, the elimination of the optic disc from the image and accurate marking of the macula region that developed ARMD were tested. Of the 75 images, 66 of them (TP and TN) were detected accurately while 9 (FP and FN) were false detections. The assessment results were expressed as performance criteria. Table 1 shows the performance criteria obtained by application of the CAD system. Based on the calculations, the sensitivity value was found to be 86.44% and the specificity was 93.75%. Through the computer-aided detection of ARMD developed in the retina, the test conducted on 75 FFA images achieved an accuracy rate of 88%. Furthermore, the area of each region marked as diseased on FFA images was calculated, and individual sizes of each region as well as the total size of the diseased region were determined.

In addition to increasing the accuracy of our previous work [9], the areas of interests of the ARMD disease in the images were calculated in this study. The database has similar feature with in [15]. Our results show sensitive of the algorithm is higher but accuracy is not as good as [15]. But our algorithm has capability to find area and can make a comparison with time. In [15] authors only work with selected 20 images. In this work, the algorithm was tested on more images so the accuracy could be rule out.

IV. CONCLUSIONS

In this study, a computer-aided detection system for ARMD was performed on healthy and diseased FFA images. For the detection of ARMD, by utilizing the shape differences of the blood vessels, their visibility was reduced from the images. Following the segmentation stage, the characteristic structural features that could differentiate ARMD were analyzed, ROIs were labeled, and the optic disc was eliminated by using its specific features on the retina to separate the optic disc from the macula region, where ARMD had developed. On the image, the regions labeled as drusen were

marked over the original image to be detected, and their areal sizes were calculated and then displayed. In this way, ophthalmologists can now compare FFA images of patients taken in different times, and monitor the changes in drusen regions that occur over time.

The developed method contributes to the literature with morphological image processing stages and the designed approach. In the designed CAD system, the aim is to develop a method that could be used in the diagnosis and monitoring of a number of eye diseases, such as retinopathy of prematurity, diabetic retinopathy, and retinal detachment, to facilitate the work processes of ophthalmologists.

In the literature, studies conducted on retinas are performed on two-dimensional images. In the future, the target is to develop three-dimensional retinal images to assist in the diagnosis of retinal diseases.

References

- [1] Edwards, M., Bressler, N., & Raja, S. (1999). Macular disorders-Age-related macular degeneration. *Ophthalmology, 1st ed. London, UK: Mosby International, 8.*
- [2] Kılınç, D., Borandağ, E., Yücalar, F., Tunalı, V., Şimsek, M., & Özçift, A. (2016). KNN algoritması ve r dili ile metin madenciliği kullanılarak bilimsel makale tasnifi.
- [3] Coleman, H. R., Chan, C.-C., Ferris, F. L., & Chew, E. Y. (2008). Age-related macular degeneration. *The Lancet, 372(9652), 1835-1845.*
- [4] Ding, X., Patel, M., & Chan, C.-C. (2009). Molecular pathology of age-related macular degeneration. *Progress in retinal and eye research, 28(1), 1-18.*
- [5] Novotny, H. R., & Alvis, D. L. (1961). A method of photographing fluorescence in circulating blood in the human retina. *Circulation, 24(1), 82-86.*
- [6] Kwan, A. S., Barry, C., McAllister, I. L., & Constable, I. (2006). Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: the Lions Eye experience. *Clinical & experimental ophthalmology, 34(1), 33-38.*
- [7] Geng, L., Shao, Y.-T., Xiao, Z.-T., Zhang, F., Wu, J., Li, M., & Shan, C.-Y. (2014). Fundus optic disc localization and segmentation method based on phase congruency. *Bio-medical materials and engineering, 24(6), 3223-3229.*
- [8] Pourreza, R., Pourreza, H., & Banaee, T. (2010). *Segmentation of blood vessels in fundus color images by Radon transform and morphological reconstruction.* Paper presented at the Advanced Computational Intelligence (IWACI), 2010 Third International Workshop on.
- [9] Calik, E., Dogan, B., & Ucan, O. N. (2015). *Computer Aided Detection of age related macular degeneration in retinal images.* Paper presented at the Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU), 2015 23th.

- [10] Soares, J. V., Leandro, J. J., Cesar, R. M., Jelinek, H. F., & Cree, M. J. (2006). Retinal vessel segmentation using the 2-D Gabor wavelet and supervised classification. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 25(9), 1214-1222.
- [11] Freund, D. E., Bressler, N., & Burlina, P. (2009). *Automated detection of drusen in the macula*. Paper presented at the Biomedical Imaging: From Nano to Macro, 2009. ISBI'09. IEEE International Symposium on.
- [12] Abramoff, M. D., & Niemeijer, M. (2006). *The automatic detection of the optic disc location in retinal images using optic disc location regression*. Paper presented at the Engineering in Medicine and Biology Society, 2006. EMBS'06. 28th Annual International Conference of the IEEE.
- [13] Brandon, L., & Hoover, A. (2003). Drusen detection in a retinal image using multi-level analysis *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention-MICCAI 2003* (pp. 618-625): Springer.
- [14] Güven, A. (2013). Automatic detection of age-related macular degeneration pathologies in retinal fundus images. *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*, 16(4), 425-434.
- [15] Yavuz, Z., & Köse, C. (2011). *Retinal blood vessel segmentation using Gabor filter and top-hat transform*. Paper presented at the Signal Processing and Communications Applications (SIU), 2011 IEEE 19th Conference on.
- [16] Joseph, M. S. G. (2015). Automated Drusen Detection and Quantification for Early Identification of Age Related Macular Degeneration in Retinal Images Using Analytical Modeling Algorithms.
- [17] Vingerling, J. R., Dielemans, I., Hofman, A., Grobbee, D. E., Hijmering, M., Kramer, C. F., & de Jong, P. T. (1995). The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology*, 102(2), 205-210.
- [18] Jonasson, F., Arnarsson, A., Sverrisson, T., Stefánsson, E., Sigurdsson, H., Gislason, I., . . . Bird, A. (2003). 5-year incidence of age-related maculopathy-Reykjavik Eye study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(13), 3083-3083.
- [19] McCormick, B., & Goldbaum, M. (1975). *STARE= Structured Analysis of the Retina: Image processing of TV fundus image*. Paper presented at the Jet Propulsion Laboratory, Pasadena, CA: USA-Japan Workshop on Image Processing.
- [20] Dougherty, G. (2009). *Digital image processing for medical applications*: Cambridge University Press.
- [21] Dhawan, A. P. (2011). *Medical image analysis* (Vol. 31): John Wiley & Sons.

Lineer Olmayan Dalga Denkleminin Lie Grupları Analizi

Lie Group Analysis of Nonlinear Wave Equation

Saadet ÖZER 

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Matematik Mühendisliği Bölümü, Maslak 34469 İstanbul

Öz

Keyfi fonksiyonlar ya da parametreler içeren denklem kümesini, denklem ailesi olarak adlandırsak, ailenin üyeleri arasında geçişi mümkün kılan dönüşümler eşdeğerlik dönüşümleri olarak adlandırılır. Eşdeğerlik grupları, verilen bir diferansiyel denklem ailesini değişmez bırakan dönüşüm grupları olarak tanımlanır. Bu nedenle diferansiyel denklem ailelerinin eşdeğerlik grupları, aynı aileye ait, farklı denklemler arası mümkün ilişkilerin varlığını inceler ve bu ilişkileri ortaya çıkarır. Böylelikle, karmaşık bir denklemin tam çözümü ya da başka deyişle davranışı, aynı aileden daha basit bir denklem aracılığıyla belirlenebilir. Bu çalışmada, lineer olmayan tek boyutlu dalga denkleminin eşdeğerlik grupları, Lie gruplarının bir uygulaması çerçevesinde incelenmiş ve bazı örnekler ile lineer ve lineer olmayan denklemler arası geçişler sağlanmış, bazı karmaşık lineer olmayan denklemlerin çözümü belirlenmiştir. Bu tipte dönüşümlerin varlığı için, sonsuz küçük ureteçler üzerine gelen şartlar elde edilmiştir. Ayrıca, bu şekilde nokta dönüşümleri aracılığı ile, lineer dalga denklemine dönüştürülebilen, lineer olmayan denklemlerin asgari fonksiyonel bağılıkları da belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Eşdeğerlik Grupları, Lie Grupları, Dalga denklemleri, Lineer olmayan denklemlerin tam çözümleri

Abstract

Differential equations involving some free functions or parameters of independent, dependent variables and their derivatives are called “family of differential equations”. Each member of the family can represent the behavior of different materials for physical problems. Transformations which allow generating maps between members of the family, by keeping the family invariant are called equivalence transformations. Equivalence groups are defined as the group of transformations which leave a given family of differential equations invariant. Therefore, equivalence groups of family of differential equations may investigate the existence of possible relations between different equations belong to the same family and discover such relations. Equivalence groups of differential equations have been a great interest by the researchers not only to generate the invariant solutions or group classification of differential equations, but only to determine their exact solutions. If an admissible transformation exists, exact solution or in another word, behavior of a complicated equation can be determined via a simple equation from the same family by equivalence transformations.

In this work, the equivalence groups of nonlinear one dimensional wave equation are investigated within the framework of an application to Lie groups and especially, the existence of appropriate transformations between linear and proper nonlinear (quasilinear) equations are discussed in details. Exact solutions of some nonlinear equations are also obtained.

In the present paper, to investigate equivalence transformations, a general nonlinear one dimensional wave equation is taken in the form

$$u_{tt} - f(x, t, u, u_x, u_t)_x = 0$$

as a family of equation, where x and t are the independent variables representing local coordinate and time, respectively, f is a continuously differentiable free function of its variables and subscripts denote the partial derivative with respect to related coordinates. A general vector field on the tangent space of the extended manifold can be given by

$$V = X \frac{\partial}{\partial x} + T \frac{\partial}{\partial t} + U \frac{\partial}{\partial u} + V_1 \frac{\partial}{\partial u_x} + V_2 \frac{\partial}{\partial u_t} + S^1 \frac{\partial}{\partial f} + S_1^1 \frac{\partial}{\partial f_x} + S_2^1 \frac{\partial}{\partial f_t} + S \frac{\partial}{\partial f_u} + S^{11} \frac{\partial}{\partial f_{u_x}} + S^{12} \frac{\partial}{\partial f_{u_t}}$$

To determine the equivalence groups, here we have used the method which is called Isovector method. It depends on the geometric approach to Lie groups generated by Harrison and Estabrook [27], developed then after by Edelen [29] and Şuhubi [29] for symmetry groups. Şuhubi [21] studied the method for equivalence groups and obtained the explicit solutions of the determining equations namely, components of isovector field for general second order Balance equations. Here we have used these results directly by expressing the wave equation as a balance equation.

The most general infinitesimal generators associated to the equivalence groups for the family of one dimensional wave equation are explicitly determined. We showed that if the infinitesimal generator U which generates the transformation of the dependent variable, depends on the dependent variable u nonlinearly, if the infinitesimal generator related to local coordinate X , depends on the dependent variable. Basically, $U_{uu} \neq 0$ is possible if and only if $X_u \neq 0$. In addition to this result, the minimal functional dependence of the free function f has been also investigated under some restrictions on it, so that transformations between linear and nonlinear members of the family of wave equation are possible. For that purpose, a particular restriction to the family has been taken by considering $\frac{\partial f}{\partial u_t} = 0$, namely, another family of wave equation is examined in the form of

$$u_{tt} - f(x, t, u, u_x)_x = 0.$$

Due to the special functional form of f , as the variables f_{u_t} is missing from the extended manifold, the corresponding component of isovector field should vanish; $S^{12} = 0$. We have showed that in this case, the theorem developed in the previous case is no longer valid. We also discovered that appropriate equivalence transformations between linear and nonlinear members of the wave equation taken in the form in this text, are only possible when the free function f depends on u_t , in other words, a nonlinear one dimensional wave equation can be reduced into a linear one, if it involves u_t .

In the last section, some examples of equivalence transformations between linear and nonlinear one dimensional wave equations are given. To show the reader how the procedure runs, for simplicity the constant coefficient wave equation $u_{xx} - u_{tt} = 0$ is taken into consideration by choosing $f = u_x$. A special simple equivalence transformation: $\bar{x} = x - \epsilon u$ is chosen as an example which maps the nonlinear equation

$$2 \epsilon \bar{u}_{\bar{t}} (1 + \epsilon \bar{u}_{\bar{x}}) \bar{u}_{\bar{x}\bar{t}} + (1 - \epsilon^2 \bar{u}_{\bar{t}}^2) \bar{u}_{\bar{x}\bar{x}} - (1 + \epsilon \bar{u}_{\bar{x}})^3 \bar{u}_{\bar{t}\bar{t}} = 0$$

onto the constant coefficient wave equation, so that the general solution of the wave equation $u = \Psi(t - x) + \Phi(t + x)$ generates $\bar{u} - \Psi(\bar{t} - \bar{x} - \epsilon \bar{u}) - \Phi(\bar{t} + \bar{x} + \epsilon \bar{u}) = 0$ as an implicit solution to the nonlinear equation. The infinitesimal generators obtained in this study can be used to map any member of the family, even the ones is not a wave equation. To show that, by taking $f = u$, the constant coefficient equation $u_x - u_{tt} = 0$ is also studied as another example and mapped onto a nonlinear differential equation.

It is obviously clear, other types of transformations such as between constant coefficient and variable coefficient or homogeneous and nonhomogeneous wave type equations, which can be expressed as members of family we have considered here can be investigated by choosing various different infinitesimal generators. In this paper, we have only concentrated on the transformations between linear and nonlinear wave equations as members of the particular family examined here.

Keywords: Equivalence Groups, Lie Groups, Wave equation, Exact solutions of nonlinear equations

1. GİRİŞ

Lineer olmayan diferansiyel denklemlerin çözümlerinin tam, yaklaşık ya da sayısal olarak belirlenmesi, çözümlerin belirlenmesinin mümkün olmadığı hallerde ise, denklemlerin davranışının incelenmesi diferansiyel denklemlerin en ilgi çeken, temel konularındandır. Bu amaçlarla, birçok araştırmacı tarafından çok değişik yöntemler, yaklaşımlar geliştirilmiş ve halen geliştirilmektedir. Lie gruplarının diferansiyel denklemlere uygulanması, tam çözümlerin belirlenmesi açısından uygulanan yöntemlerden biridir. Lie grupları, diferansiyel denklemlerin değişmez çözümlerinin elde edilmesi, denklemlerin sınıflandırılması, korunum yasalarının bulunması ve birbirine denk denklemlerin belirlenmesi açısından güçlü bir yaklaşımdır.

Yapısında keyfi parametre ya da fonksiyonlar barındıran denklemler, denklem ailesi olarak adlandırılabilir. Lie gruplarının diferansiyel denklemlere uygulanması çerçevesinde, simetri grupları bir denklemin çözüm ailelerini sınıflandırmak için kullanılır iken, eşdeğerlik grupları, denklem ailesinin yapısını korumakla birlikte, içerisindeki keyfi fonksiyonların değişimine izin verdiği için, uygun dönüşümler bulunabildiği takdirde davranışı bilinen bir denklem ile daha karmaşık olan bir diğeri arasında dönüşümlerin mümkün sınıflarını üretir. Bu anlamda, diferansiyel denklemlerin eşdeğerlik dönüşümleri, esasen, aynı aileye ait farklı denklemler arasındaki ilişkileri yapılandırır. Temel fizik ve mühendislik problemlerini temsil eden diferansiyel denklemler, problemin içerisinde bulunduğu ortamın temel özelliklerini ifade eden bazı parametrelerce birbirlerinden farklılaşır. Bu anlamda, özünde yapı korunur iken, yukarıda da ifade edildiği üzere, aynı denklem ailesinin farklı üyeleri, farklı malzemeler için farklı denklemlerce temsil edilir. Eşdeğerlik dönüşümlerinin gruplarının bu tip denklemler arası ilişkilerin yapılandırılmasında da kullanılabilceği öngörülebilir. Örnek verecek olursak, eşdeğerlik grupları, homojen ile homojen olmayan, sabit katsayılı ile değişken katsayılı denklemler arasında geçişi mümkün kılmasının yanı sıra, lineer ve lineer olmayan denklemler arasında dönüşümleri de

sağlaması anlamında elverişlidir. Bu mümkün dönüşümler, denklemlerin çözümlerinin, davranışlarının belirlenmesinde de kullanılabilir. Özellikle lineer olmayan denklemlerin tam çözümlerinin belirlenmesinde önemli bir yaklaşım olarak ele alınabilir. Son yıllarda birçok araştırmacı tarafından lineer olmayan diferansiyel denklemlerin incelenmesinde, gerek değişmez çözümlerin bulunması [1-7], gerek denklemlerin sınıflandırılmasında [7-9], gerekse tam çözümlerin belirlenmesinde [10-14], eşdeğerlik grupları kullanılmıştır.

Eşdeğerlik Grupları hakkında genel bilgi [15-19] kaynaklarında bulunabilir. Lie'nin klasik değişmezlik yaklaşımının eşdeğerlik dönüşümlerinin gruplarını üretmek için kullanılabileceği fikri ilk olarak Ovsiannikov [16]'a dayanır, sonrasında bu fikrin uygulanması anlamında değişik yöntemler geliştirilmiştir. Eşdeğerlik dönüşümlerinin belirlenmesi için kullanılabilecek yöntemler [17-19]'da ayrıntıları ile verilmiştir. Bu yöntemlerin dışında, bizim bu çalışmada da kullanacağımız, Şuhubi [20-24] tarafından geliştirilen, genel denklik denklemlerinin eşdeğerlik gruplarının izovektör alanı, bir başka deyişle, grubun sonsuz küçük üreteçlerinin çözümleri, diğer yöntemlere göre daha kısa ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir.

Bu çalışmada tek boyutlu lineer olmayan dalga denklemleri ailesi ele alınmıştır. Lineer olmayan dalga denklemleri matematiksel fiziğin birçok alanında geniş uygulamaya sahip olmaları nedeni ile birçok alandan araştırmacı tarafından ele alınmış ve yaklaşık çözümler ya da sayısal çözümler dışında Lie grupları uygulamaları alanında da ilgi görmüştür. Lie grupları'nın dalga denklemlerine uygulamalarının oldukça geniş özeti Huang ve arkadaşlarının çalışmasından [25] incelenebilir.

En genel anlamda tek boyutlu dalga denklemi, Şuhubi [26] tarafından klasik izovektör yöntemi ile, denklemi dış formlar aracılığı ile yazarak ele alınmış, izovektör alanının üreteçleri belirlenmiş, bazı özel durumlar için üreteçlerin yapısı elde edilmiştir. Şuhubi, daha sonra bir başka çalışmasında [21], izovektör alanının katsayılarını, ikinci mertebeden genel denklik denklemleri için elde etmiş ve en genel dalga denklemini bir örnek olarak tekrar ele almıştır. Biz bu çalışma çerçevesinde, Şuhubi'nin [26]'de ele aldığı özel bir hal ve onun daha ayrıntılı özel halini, [21] ile elde ettiği yöntemle uygulayarak elde ettik ve problemi daha da ötesine taşıyarak, lineer ve lineer olmayan denklemler arasında geçişleri mümkün kılan dönüşümlerin koşullarını elde edip, çeşitli örnekler üzerinden lineer olmayan denklemlere geçişler sağlayıp, bu denklemlerin tam çözümlerini elde ettik.

Okuyucuya, makalenin takibini kolay sağlamak anlamında özetleyecek olur isek, bu çalışma kapsamında esas olarak

$$u_{tt} - f(x, t, u, u_x, u_t)_x = 0 \quad (1)$$

dalga tipi denklemlerin eşdeğerlik dönüşümlerinin yapısı incelenmiştir. Burada x ve t bağımsız değişkenleri, u bağımlı değişkeni, alt indis, gösterdiği değişkene göre kısmi türevi, f ise değişkenlerinin sabit olmayan bir fonksiyonunu temsil etmektedir. Temel bilgiler olarak adlandırılan 2. bölümde, genel tanımlar verildikten sonra, Şuhubi'nin [21] çalışmasında elde ettiği, ikinci mertebeden denklik denklemlerinin izovektör alanının katsayılarını açık olarak belirlediği yöntemin özeti verilmiş, yöntem, 3. bölümde yukarıda verilen dalga denkleminin uygulanmıştır. Burada temel olarak lineer ve lineer olmayan denklemler arası dönüşümlerin mümkün yapıları irdelenmiş, elde edilen sonuç, Teorem 2 ile yazılmıştır. Daha sonra, yapının daraltılması ile oluşan farklılıklar tartışılmış ve (1) tipi denklem ailesi için, eşdeğerlik dönüşümleri aracılığı ile, lineer denklemlere indirgenebilen, lineer olmayan denklem ailelerinin fonksiyonel bağılıkları üzerine gelen kısıt Teorem 3 ile verilmiştir. 4. bölümde ise, bir önceki bölümde elde edilen dönüşüm gruplarının alt gruplarından bazı örnekler ile, denklem ailesinin bazı üyeleri arasında, lineer ve lineer olmayan denklemler arası dönüşümler çalışılmış, karmaşık denklemlerin tam çözümleri, çözümü bilinen basit denklemler aracılığı ile belirlenmiştir. 5. ve son bölümde ise elde edilen sonuçlar tartışılmış ve çalışmanın ilerisi için bazı önerilerde bulunulmuştur.

II. TEMEL BİLGİLER

2.1 Temel Kavramlar

Eğer bir diferansiyel denklem, içerisinde bulunduğu ortamın fiziksel özelliklerini yansıtan bir takım keyfi fonksiyon ya da parametreler içeriyor ise "denklem ailesi" olarak adlandırılır. Ailenin her bir üyesi yapısal olarak ana denklemin özelliklerini taşımak ile birlikte, özünde farklı diferansiyel denklemlerdir.

Tanım 1:

$\{x_i, u^\alpha\}$, $i = 1, 2, \dots, n$, $\alpha = 1, 2, \dots, N$ sırası ile bağımlı, bağımsız değişkenlerin uzayını temsil etsin. $\Sigma_k(x_i, u^\alpha, u_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha)$, $k = 1, 2, \dots, m$ ler, $u_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha$, bağımlı değişkenlerin bağımsız değişkenlere göre keyfi mertebeli türevlerini temsil edecek şekilde, değişkenlerinin keyfi fonksiyonları olsun. Bu halde,

$$\Delta(x_i, u^\alpha, u_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha, \Sigma_{k,q}(x_i, u^\alpha, u_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha)) = 0 \quad (2)$$

denklemini bir *diferansiyel denklem ailesi* olarak adlandırılır. Burada $\Sigma_{k,q}$ ile, Σ_k fonksiyonu ve onun bağımlı, bağımsız değişkenler ve onların türevlerine göre kısmi türevleri temsil edilmektedir.

Tanım 2:

$\Delta(x_i, u_\alpha, u_{x_1 x_2 \dots x_i}^\alpha, \Sigma_{k,q}(x_i, u^\alpha, u_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha)) = 0$ ile verilen bir diferansiyel denklem ailesi için, \mathcal{E} ile temsil edilen eşdeğerlik grubu, bağımlı, bağımsız değişkenler, onların türevlerinin, diferansiyel denklemin yapısını koruyan, fakat, ailenin herhangi bir üyesi olan $\Delta(\bar{x}_i, \bar{u}^\alpha, \bar{u}_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha, \bar{\Sigma}_{k,q}) = 0$ denklemini, aynı ailenin bir başka üyesi olan $\Delta(\bar{x}_i, \bar{u}^\alpha, \bar{u}_{x_1 x_2 \dots x_p}^\alpha, \bar{\Sigma}_{k,q}) = 0$ denklemine dönüştüren sürekli dönüşümlerin grubudur.

Daha anlaşılır olması için, bu çalışmada ele alınacak olan (1) ile verilen dalga denklemi üzerinde ifade edecek olursak, denklemin \mathcal{E} eşdeğerlik grubu, açık hali ile aşağıda ifade edilen geçişi sağlayan dönüşümlerin grubudur:

$$u_{tt} - f(x, t, u, u_x, u_t)_x = 0 \implies \bar{u}_{\bar{t}\bar{t}} - \bar{f}(\bar{x}, \bar{t}, \bar{u}, \bar{u}_x, \bar{u}_t)_{\bar{x}} = 0.$$

Tanım 3:

Genel bir ikinci mertebe denklik denklemi aşağıdaki gibi tanımlanır:

$$\frac{\partial \Sigma^i(x^j, u, u_j)}{\partial x^i} + \Sigma(x^j, u, u_j) = 0, \quad i = 1, 2, \dots, n$$

burada x^j, x^j ler bağımsız değişkenleri, u bağımlı değişkeni ve Σ^i, Σ lar ise bağımlı ve bağımsız değişkenler ile türevlerine bağlı, düzgün keyfi fonksiyonları temsil etmektedir. Açık ki tekrarlayan indisler üzerinde toplama uyulaşımı mevcuttur, metin içerisinde aksi belirtilmedikçe, tekrarlayan indisler üzerinde toplama uyulaşımı olduğu anlaşılmalıdır.

Açıkça görülmektedir ki, (3) ile verilen ikinci mertebe genel denklik denklemi, (2) ile tanımlanan bir denklem ailesidir. Denklik denklemleri, klasik fiziğin hemen hemen tüm denklemlerini, uygun eşlemeler altında temsil edebilmesi açısından önemli uygulama alanlarına sahiptir.

2.2 Yöntem

Bu çalışmada kullanılan yöntem, Harrision ve Estabrook'un [26] geliştirdiği, esasen Cartan'ın [28] diferansiyel denklemlerin dış formlar aracılığı ile yazılması fikrine dayanan geometrik bir yaklaşımdır. Yöntem, daha sonra Edelen [29] tarafından denklik denklemlerinin simetri dönüşümleri için genişletilmiş ve Özer [22] tarafından birinci mertebe denklik denklemlerine, Şuhubi [23] tarafından, ikinci mertebe denklik denklemlerine ve son olarak yine Şuhubi [24] tarafından keyfi mertebe denklik denklemlerinin eşdeğerlik dönüşümlerinin üretilmesine genişletilmiş, üreticiler belirleyici denklemlerinin çözülmesi ile açık olarak elde edilmiştir.

Şimdi, (3) ile verilen ikinci mertebeden genel bir denklik denkleminin eşdeğerlik dönüşümlerinin grubunun belirlenebilmesi için Şuhubi [24] tarafından geliştirilen yöntemin özetini verelim.

$M = \mathbb{R}^n$; örtüsü (x^i) olan n boyutlu katman, $G = \mathbb{R}^n \times \mathbb{R}$; (x^i, u) koordinat örtülü graf uzayı olsun. İkinci mertebeden denklik denkleminin eşdeğerlik gruplarını yapılandırabilmek için, katmanımıza,

$$v_i = u_{,i}$$

ile tanımlanan yeni değişken ile, Σ^i ve Σ 'nin kendilerinin ve onların fonksiyonel bağılıklarını göz önüne alabilmek için, aşağıda açık olarak verilen, bağlı oldukları değişkenlere göre türevlerinin:

$$s_j^i = \frac{\partial \Sigma^i}{\partial x^j}, \quad \sigma^i = \frac{\partial \Sigma^i}{\partial u}, \quad s^{ij} = \frac{\partial \Sigma^i}{\partial v^j}, \quad t_i = \frac{\partial \Sigma}{\partial x^i}, \quad \tau = \frac{\partial \Sigma}{\partial u}, \quad t^i = \frac{\partial \Sigma}{\partial v^i} \quad (4)$$

bağımsız değişkenler gibi eklenmesi gerekir. Böylelikle oluşturulan genişletilmiş katmanın koordinat örtüsü

$$K = \{x^i, u, v_i, \Sigma^i, \Sigma, s_j^i, \sigma^i, s^{ij}, t_i, \tau, t^i\}$$

olacaktır. K katmanının teğet uzayında bir vektör alanı $V \in T(K)$ $V \in T(K)$,

$$V = X^i \frac{\partial}{\partial x^i} + U \frac{\partial}{\partial u} + V_i \frac{\partial}{\partial v_i} + S^i \frac{\partial}{\partial \Sigma^i} + \mathcal{S} \frac{\partial}{\partial \Sigma} + S_j^i \frac{\partial}{\partial s_j^i} + \mathcal{S}^i \frac{\partial}{\partial \sigma^i} + S^{ij} \frac{\partial}{\partial s^{ij}} + T_i \frac{\partial}{\partial t_i} + \mathcal{T} \frac{\partial}{\partial \tau} + T^i \frac{\partial}{\partial t^i} \quad (5)$$

şeklinde yazılır ve (3) ile verilen ikinci mertebeye denklik denkleminin izovektör alanı olarak adlandırılır. Denklik denkleminin eşdeğerlik dönüşümlerinin grupları ise, aşağıda verilen teorem aracılığı ile tanımlanır.

Teorem 1: [1]

Bir m boyutlu M türetilebilir katmanı üzerinde bir V vektör alanı

$$V = v^i(x) \frac{\partial}{\partial x^i}, \quad p = \varphi^{-1}(x)$$

ile verilmektedir. Burada $(\Omega, \varphi), p \in M$ olacak şekilde bir tasvirdir. Bir $\gamma: I \rightarrow M$ eğrisi ancak ve ancak $x^i(t)$ koordinat fonksiyonları \mathbb{R}^m de

$$\frac{dx^i}{dt} = v^i(x(t)), \quad i = 1, 2, \dots, m$$

adi türevli denklem takımının bir çözümü ise V vektör alanının bir integral eğrisidir.

Bu halde (3) ile verilen 2. mertebeye denklik denklemlerinin eşdeğerlik dönüşümleri, (5) izovektör alanı bileşenleri ile, yukarıda verilen teorem uyarınca,

$$\frac{d\bar{x}^i}{d\epsilon} = X^i, \quad \frac{d\bar{u}}{d\epsilon} = U, \quad \frac{d\bar{\Sigma}^i}{d\epsilon} = S^i, \quad \frac{d\bar{\Sigma}}{d\epsilon} = \mathcal{S}$$

adi türevli denklem takımının,

$$\bar{x}^i(0) = x^i, \quad \bar{u}(0) = u, \quad \bar{\Sigma}^i(0) = \Sigma^i, \quad \bar{\Sigma}(0) = \Sigma$$

başlangıç koşulları altında çözülmesi ile belirlenir.

(5) ile verilen izovektör alanının katsayıları, bir başka deyişle eşdeğerlik dönüşümlerinin grubunun sonsuz küçük üreteçleri, belirleyici denklemlerinin tam çözümleri elde edilerek Şuhubi [24] tarafından aşağıdaki şekilde elde edilmiştir:

$$X^i = -\phi^i(x^j, u), \quad U = U(x^j, u),$$

$$V_i = D_i U + (D_i \phi^j) v_j, \quad S^i = \left(w + \frac{\partial \phi^j}{\partial u} v_j \right) \Sigma^i - (D_j \phi^i) \Sigma^j + \alpha^{ij} v_j + \beta^i, \quad (6)$$

$$\mathcal{S} = \left(w + \frac{\partial \phi^i}{\partial u} v_i \right) \Sigma + D_i S^i.$$

Burada $D_i = \frac{\partial}{\partial x^i} + v_i \frac{\partial}{\partial u}$, $\alpha^{ij} = -\alpha^{ji}$ dir ve w, α_{ij} ile $\beta^i, (x^i, u)$ 'nin fonksiyonlarıdır.

Ayrıca, (5) izovektör alanında, eşdeğerlik grubu için gerekli olan, keyfi fonksiyonların fonksiyonel bağılıklarını göz önüne almak için eklenen ek bileşenlere ait katsayılar ise,

$$S_j^i = \frac{\partial F^i}{\partial x^j} + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma^k} s_j^k + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma} t_j, \quad S^i = \frac{\partial F^i}{\partial u} + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma^k} \sigma^k + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma} \tau, \quad S^{ij} = \frac{\partial F^i}{\partial v^j} + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma^k} s^{kj} + \frac{\partial F^i}{\partial \Sigma} t^j,$$

$$T_i = \frac{\partial G}{\partial x^i} + \frac{\partial G}{\partial \Sigma^j} s_i^j + \frac{\partial G}{\partial \Sigma} t_i, \quad \mathcal{J} = \frac{\partial G}{\partial u} + \frac{\partial G}{\partial \Sigma^j} \sigma^j + \frac{\partial G}{\partial \Sigma} \tau, \quad T^i = \frac{\partial G}{\partial v^i} + \frac{\partial G}{\partial \Sigma^j} s^{ji} + \frac{\partial G}{\partial \Sigma} t^i \quad (7)$$

$$F^i = -s_j^i X^j - \sigma^i U - s^{ij} V_j + S^i, \quad G = -t_i X^i - \tau U - t^i V_i + \delta$$

eşitlikleri ile belirlenir. Bu katsayılar genel ifadelerdir, ele alınan diferansiyel denklemin yapısı gereği Σ^i ler ile Σ nin bazı değişkenlere bağılılıkları olmaması halinde, onların katsayılarının izovektör alanında sıfıra özdeş olması gerekir. Öte yandan Σ^i ler ile Σ nin gerek birbirleri, gerek se genişletilmiş katmanın koordinat örtüsünün elemanları arasında bazı ilişkiler olması halinde, bu ilişkiler aracılığı ile vektör alanının katsayıları arasında da bir takım ilişkiler olacaktır. Bir sonraki kısımda burada özetlenen yöntem, (1) ile verilen tek boyutlu dalga tipi denkleminin uygulanacak ve eşdeğerlik dönüşümlerini üretecek olan izovektör alanı katsayıları, başka deyişle, dönüşüm gruplarının sonsuz küçük üreteçleri açık olarak elde edilecektir.

III. Tek Boyutlu Dalga Denkleminin Eşdeğerlik Gruplarının Sonsuz Küçük Üreteçleri

(1) denklemini ile verilen dalga denklemini (3) ile yazılan denklik denkleminin eşleyebilmek için aşağıdaki tanımlamaları yapalım:

$$x^1 = x, \quad x^2 = t, \quad v_1 = u_x, \quad v_2 = u_t, \quad \Sigma^1 = f, \quad \Sigma^2 = -v_2, \quad \Sigma = 0. \quad (8)$$

Dolayısıyla ele alacağımız denklik denklemini, özel halde

$$\frac{\partial f(x^1, x^2, u, v_1, v_2)}{\partial x^1} - \frac{\partial v_2}{\partial x^2} = 0$$

olacaktır. Bu halde (5) ile verilen izovektör alanına eş izovektör alanı, (1) denklemini için

$$V = X \frac{\partial}{\partial x} + T \frac{\partial}{\partial t} + U \frac{\partial}{\partial u} + V_1 \frac{\partial}{\partial v_1} + V_2 \frac{\partial}{\partial v_2} + S^1 \frac{\partial}{\partial f} + \dots \quad (9)$$

olarak yazılır. Öte yandan (4) ile tanımlanmış olan ek değişkenlerden sıfırdan farklı olanlar, (8) denklikleri göz önünde bulundurularak aşağıdaki gibi elde edilir:

$$s_1^1 = f_x, \quad s_2^1 = f_t, \quad \sigma^1 = f_u, \quad s^{11} = f_{u_x}, \quad s^{12} = f_{u_t}, \quad s^{22} = -1. \quad (10)$$

Ayrıca, sıfıra denk olan bileşenler ise,

$$s_1^2 = s_2^2 = \sigma^2 = s^{21} = t_1 = t_2 = t^1 = t^2 = \tau = 0, \quad s_1^2 = s_2^2 = \sigma^2 = s^{21} = t_1 = t_2 = t^1 = t^2 = \tau = 0 \quad (11)$$

olacaktır.

Uygulamada genellikle, lineer ve lineer olmayan diferansiyel denklemler arası geçişler, bağımlı değişkenin izovektör alanı katsayısının lineer olmayan bir yapıda alınması ile sağlanır. Fakat (1) denklem ailesinin üyeleri arasında bu durumda önemli bir kısıt ortaya çıkmaktadır. Aşağıdaki Teorem, (1) ile ifade edilen dalga denklemleri ailesinin, lineer ve lineer olmayan üyeleri arasında geçiş sağlayacak mümkün dönüşümlerin üretilmesinde kullanılacak olan sonsuz küçük üreteçlerin sağlaması gereken asgari koşulları belirler.

Teorem 2:

$u_{tt} - f(x, t, u, u_x, u_t)_x = 0$ dalga denkleminin eşdeğerlik dönüşümlerinin yapısında, bağımlı değişkenin dönüşümünün sonsuz küçük üreteci olan U , ancak yerel koordinatın dönüşümünün sonsuz küçük üreteci X in, bağımlı değişken olan u 'ya bağılı olması halinde, bağımlı değişkene lineer olmayan bir bağılılığa sahip olabilir.

İspat:

(1) ile verilen dalga denklemi ailesinin eşdeğerlik dönüşümlerinin grupları, (9) izovektör alanı katsayıları ya da diğer adı ile dönüşümlerin sonsuz küçük üreteçlerinin, yukarıda (8) ile ifade edilen denklemlerin ve (10) ve (11) ile verilen ek değişkenlerin üreteceği kısıtların, (6) ve (7) denklemlerine yazılıp uygun düzenlemeler ile belirlenmesi ile elde edilir. Öncelikle, açıktır ki (11) ek değişkenlerinin, Σ 'nin ve V_2 'nin vektör alanındaki katsayıları özdeş olarak sıfır olmalıdır:

$$S_1^2 = S_2^2 = S^2 = S^{21} = T_1 = T_2 = T^1 = T^2 = \mathcal{J} = S^{22} = 0 \quad (12)$$

$$S = 0 \quad (13)$$

Ayrıca, açıkça görülür ki (8) denklemleri nedeni ile (5) ve (9) izovektör alanı katsayıları arasında

$$S^2 + V_2 = 0 \quad (14)$$

ilişkisi vardır. (12) özdeşliklerini (7) denklemlerinden hesaplamak için, öncelikle F^1, F^2 ve $G = 0$ olduğu çok açıktır, doğrudan (12) eşitliklerinden, G ye bağlı olan tüm ek izovektör katsayıları otomatik olarak sıfıra denk olacaktır. Aynı şekilde $F^2 = 0$ olduğundan, ona bağlı ek bileşenlerin de özdeş olarak sıfıra eşit olmasından herhangi bir ek kısıt üretilmeyecektir. Bu durumda, eşdeğerlik dönüşümlerinin gruplarının yapısı, ancak geriye kalan (13) ve (14) denklemleri ile elde edilecek olan belirleyici denklemlerin çözümü ile belirlenecektir. (14) denklemi, (6) eşitliklerinden V_2 'nin düzenlenmesi ile açık olarak yazıldığı zaman elde edilen denklem, K katmanının koordinat örtüsünün tüm bileşenlerinin bağımsız bileşenler gibi göz önüne alınması ile çözülür. Denklem bileşenlerine göre düzenlenirse

$$-(\phi_x^1 + \phi_u^2 v_1) \Sigma^1 + (\alpha^{21} + \phi_t^1) v_1 + (U_u + 2 \phi_t^2 + \alpha^{22} - w) v_2 + \phi_u^2 v_2^2 + \beta^2 + U_t = 0$$

elde edilir. Burada tipik bir polinom özdeşliğinin çözümü ile

$$\phi_u^2 = \phi_x^2 = 0, \quad \alpha^{21} = -\phi_t^1, \quad w = U_u + \phi_t^2 + \alpha^{22}, \quad \beta^2 = -U_t$$

kısıtları üretilir. Bu kısıtların kullanılması ile, bağımlı ve bağımsız değişkenlerin izovektör alanı katsayıları, yani, dönüşümlerinin grubunun sonsuz küçük üreteçlerinin yapısı

$$X = -\phi^1(x, t, u), \quad T = -\phi^2(t), \quad U = U(x, t, u) \quad (15)$$

olur. İzovektör alanının diğer bileşenlerinin katsayıları ise;

$$V_1 = U_x + (U_u + \phi_x^1) v_1 + \phi_u^1 v_1^2, \quad V_2 = U_t + \phi_t^1 v_1 + (U_u + \phi^2) v_2 + \phi_u^1 v_1 v_2 \quad (16)$$

$$S^1 = (U_u + 2 \phi^2 + \alpha^{22}(x, t, u) - \phi_x^1) \Sigma^1 + \alpha^{11}(x, t, u) v_1 + 2 \phi_t^1 v_2 + \phi_u^1 v_2^2 + \beta^1(x, t, u) \quad (17)$$

formlarına indirgenir. Dikkat edilir ise burada, bağımlı ve bağımsız değişkenlerin dönüşümlerini belirleyen katsayılar arasında herhangi bir kısıt bulunmamaktadır. Fakat (13) ile verilen $S = 0$ denklemi sisteme yeni kısıtlar getirecektir. (6) eşitliklerinin sonucundan, denklem

$$\frac{\partial S^1}{\partial x} + \frac{\partial S^1}{\partial u} v_1 - \frac{\partial V_2}{\partial t} - \frac{\partial V_2}{\partial u} v_2 = 0$$

şeklinde yazılır. Denklemde, S^1 ve V_2 'nin açık ifadesi (17) ve (16) eşitliklerinden yerine yazılıp, düzenlendikten sonra, izovektör bileşenlerinin katsayıları arasında aşağıda verilen ilişkilerin olması gerektiği görülür:

$$(U_u - \phi_x^1)_u = 0, \quad (18)$$

$$(U_u - \phi_x^1 + \alpha^{22}(x, t))_x = 0, \quad (U_u - \phi_x^1)_t = -\frac{1}{\alpha} \phi^2. \quad (19)$$

(18) denkleminde $U_{uu} \neq 0$ olması için, yani U 'nun u 'ya lineer olmayan bağıllığı için ϕ^1 'in de bağımlı değişkene bağlı olması gerektiği görülür ki Teoremin ispatı burada tamamlanır.

□

Teoremin ispatında ele alınan son denklem, (18) ve (19) kısıtlarına ek olarak

$$\beta_x^1 = U_{tt}, \quad \alpha^{11} = \alpha^{11}(x, t), \quad \alpha^{22} = \lambda(x) + \gamma(t)$$

denkliklerini de üretir. Burada ara işlemler aşıkâr olduğu için atlanacak, sadece elde edilen sonuçlar verilir, yorumlanacaktır. Tüm bu elde edilen kısıtlar değerlendirilerek (15-17) sonsuz küçük üreteçleri açık olarak aşağıdaki gibi belirlenir:

$$X = -\phi^1(x, t, u), \quad T = -\phi^2(t), \quad U = \int \phi_x^1 du + \left(\lambda(x) - \frac{1}{2} \phi^2 \right) u + \eta(x, t), \quad (20)$$

$$V_1 = \int \phi_{xx}^1 du + \lambda(x) u + \frac{\partial \eta}{\partial x} + \left(2 \phi_x^1 - \frac{1}{2} \phi^2 + \lambda(x) \right) v_2 + \phi_u^1 v_1^2 \quad (21)$$

$$V_2 = \int \phi_{xt}^1 du - \frac{1}{2} \phi^2 u + \frac{\partial \eta}{\partial t} + \phi_t^1 v_1 + \left(\phi_x^1 + \frac{1}{2} \phi^2 + \lambda(x) \right) v_2 + \phi_u^1 v_1 v_2 \quad (22)$$

$$S^1 = \left(\frac{3}{2} \phi^2 + 2 \lambda(x) + \gamma(t) \right) \Sigma^1 + \alpha^{11}(x, t) v_1 + 2 \phi_t^1 v_2 + \phi_u^1 v_2^2 + \beta^1(x, t, u) \quad (23)$$

burada $\beta_x^1 = U_{tt}$ eşitliğinin sağlanması gerektiği unutulmamalıdır. Eşdeğerlik dönüşümleri, yukarıda (20-23) ile belirlenmiş olan sonsuz küçük üreteçleri kullanılarak

$$\frac{d \bar{x}}{d \epsilon} = X, \quad \frac{d \bar{t}}{d \epsilon} = T, \quad \frac{d \bar{u}}{d \epsilon} = U, \quad \frac{d \bar{f}}{d \epsilon} = S^1 \quad (24)$$

denklem sisteminin

$$\bar{x}(0) = x, \quad \bar{t}(0) = t, \quad \bar{u}(0) = u, \quad \bar{f}(0) = f \quad (25)$$

başlangıç koşulları altında integre edilmesi ile belirlenir. (20-23) ifadelerinde geçen fonksiyonların integre edilebilir oldukları açıktır, fakat bu elbette ki keyfî fonksiyonlar ile bu integrallerin hesaplanabileceği anlamına gelmez. Bu nedenle, eşdeğerlik dönüşümlerini en genel yapıda elde etmek mümkün değildir. 4. bölümde fonksiyonların bir takım özel halleri ele alınarak, denklem sistemi integre edilecek ve bazı alt grupların eşdeğerlik dönüşümlerine örnekler verilecektir.

Tek boyutlu birinci mertebeli dalga denklemi ailesi (1)'in bazı alt aileleri için çalışma, burada elde edilen sonuçlar üzerine, denklemin yapısal özelliklerinin getireceği ek koşullar incelenerek kolaylıkla belirlenebilir. Aşağıda buna bir örnek olarak, bir özel hal ele alınacaktır.

Teorem 3.

$$u_{tt} - f(x, t, u, u_x, u_t)_x = 0 \quad \text{şeklinde verilen dalga tipi denklem ailesinin,}$$

$$u_{tt} + A(x, t)u_{xx} + B(x, t)u_{xt} + C(x, t)u_x + D(x, t)u_t + F(x, t) = 0$$

şeklinde bir lineer üyesi ile, ancak

$$\bar{u}_{\bar{t}\bar{t}} - \bar{f}(\bar{x}, \bar{t}, \bar{u}, \bar{u}_x, \bar{u}_t)_x = 0, \quad \frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{u}_t} \neq 0$$

şeklinde bir lineer olmayan üyesi arasında, bir nokta tipi eşdeğerlik dönüşümü mümkündür.

İspat:

(1) ile ele alınan dalga tipi denklem ailesinin bir alt ailesi olarak, f fonksiyonunu daha dar bir yapıda, u_t ye bağlı olmayan halde ele alacak olursak, f fonksiyonunun bu şekilde seçilmesi ile, denklem ailesi

$$f(x, t, u, u_x)_x = u_{tt} \quad (27)$$

olacaktır. (27) denklem ailesinin bir üyesi elbette (1) denkleminin de bir üyesidir, fakat (27) ailesinin eşdeğerlik gruplarının (1) ailesinin eşdeğerlik gruplarından daha dar bir yapıda olacağı kolaylıkla öngörülebilir. Bu noktada yapının daraltılmasının, mümkün eşdeğerlik dönüşümlerinde de bir daralmaya neden olacağı söylenebilir. O halde denklem ailesinin üyeleri arasında en geniş geçiş sağlayan dönüşümler nasıl belirlenebilir ve bu geçişler uygulama anlamına ne kadar elverişlidir sorusu akla gelir.

Şimdi (27) denklemin, (1) denkleminin eşdeğerlik grupları yapısı üzerine getirdiği kısıtları inceleyelim. (27) denkleminin yapısındaki fonksiyonel bağıllık nedeni ile ek değişkenlerden (11) de bulunan

$$S^{12} = 0$$

olacağı, dolayısı ile ona bağlı izovektör alanı bileşeni

$$S^{12} = 0$$

olması gerektiği açıktır. S^{12} 'nin (7) denkleminde verilen ifadesi yazılır ve fonksiyonel bağıllıklar dikkate alınır ise aşağıdaki iki denklem elde edilir:

$$\frac{\partial V_1}{\partial v_2} = 0, \quad \frac{\partial S^1}{\partial v_2} = 0.$$

İkinci denklemden, S^1 'in (23) ile elde edilmiş olan ifadesi kullanılarak,

$$\phi_u^1 = 0, \quad \phi_t^1 = 0$$

sonuçları elde edilir ki Teorem 2'nin geçerliliğini kaybettiği görülür. Bu noktada aklan gelen soru, lineer ve lineer olmayan denklemler arası geçişin, böylesi bir yapıda hala geçerli olup olmadığıdır. Şimdi bu sorunun cevabını araştırmak için diğer üreteçleri belirleyelim. (18) denkleminde açıkça görülür ki, bu halde

$$U_{uu} = 0$$

olacaktır. Dolayısı ile denklem ailesinin dönüşümünü kontrol eden üreteçler, yerel koordinatların, başka deyişle bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkene bağıllığı yapısını ortadan kaldırmanın ötesinde, bağımlı değişkenin lineer olmayan dönüşümüne de imkan vermemektedir. Dolayısı ile buradan ancak lineer denklemlerin başka lineer denklemlere dönüşebileceği sonucu çıkartılabilir, yapısal olarak lineer ve lineer olmayan denklemler arası geçiş, ancak f nin u_t 'ye bağıllığı ile mümkündür. Bu sonuç, lineer olmayan denklemde, lineer olmayan kısmın u_t 'ye bağlı olacağı öngörüsünü ortaya çıkarır ki, teoremin ispatı burada tamamlanır.

□

Bir sonraki bölümde ele alınan örnekler ile okuyucu Teorem 3'ün sağlanmasını görecektir.

IV. TEK BOYUTLU DALGA DENKLEMİNİN EŞDEĞERLİK DÖNÜŞÜMLERİNİN LİNEER OLMAYAN DENKLEMLERE UYGULAMALARI

Bu bölümde, (1) ile verilen dalga denklemi ailesinin, eşdeğerlik dönüşümlerinin gruplarının, bazı alt grupları ele alınarak, denklem ailesinin iki üyesi arasında geçişler örneklenecektir. Çalışmanın amacı çerçevesinde, sadece lineer ve lineer olmayan denklemler arası dönüşümlere uygulamalar ele alınacaktır. Okuyucu ister ise benzer şekilde daha farklı tipte denklemler arası dönüşümleri, kolaylıkla üretebilir.

Örneklerde, (20-23) sonsuz küçük üreteçlerinin özel bazı halleri ele alınarak, (24) denklem sisteminin (25) başlangıç koşulları altında integre edilmesi ile dönüşümler belirlenip, geçişin ürettiği denklem ailesi üyeleri belirlenecek ve bu şekilde, lineer bir denklem için bilinen çözümden, eşdeğerlik dönüşümünün mümkün kıldığı karmaşık bir lineer olmayan denklemin tam çözümü bulunacaktır.

Örnek 1: Yukarıda (20-23) ile verilen sonsuz küçük üreteçlere bir örnek olarak

$$\phi^1 = u, \quad \phi^2 = 0 \quad (26)$$

alalım. Kolaylık olması açısından birbirleri ile ilişkileri de dikkate alacak şekilde, üreteçlerdeki serbest fonksiyonların tamamını özdeş olarak sıfır seçelim: $\alpha^{11} = \lambda = \gamma = \eta = 0$, bu halde

$$U = 0, \quad V_1 = v_1^2, \quad V_2 = v_1 v_2, \quad S^1 = -v_1 v_2$$

olacaktır. Bu ifadeleri (24) denklem sistemine yazıp, (25) başlangıç koşulları altında integre eder isek, alt grubun eşdeğerlik dönüşümleri aşağıdaki gibi belirlenir:

$$\bar{x} = x - \epsilon u, \quad \bar{t} = t, \quad \bar{u} = u$$

$$\bar{v}_1 = \frac{v_1}{1 - \epsilon v_1}, \quad \bar{v}_2 = \frac{v_2}{1 - \epsilon v_1}, \quad \bar{f} = f + \frac{\epsilon v_2^2}{1 - \epsilon v_1}. \quad (27)$$

Şimdi (1) denkleminde $f = u$ alalım. Bu durumda (1) ailesinin

$$u_x - u_{tt} = 0 \quad (28)$$

üyesi yazılır. Her ne kadar bu denklem, uzay zaman koordinatları yer değiştirmiş ısı denklemi yapısında olup, dalga denklemi olarak adlandırılmasa da, (1) denklem ailesinin bir üyesi olması nedeniyle ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar çerçevesinde incelenebilir. (28) denklemini, (27) dönüşümleri altında \bar{f} ve \bar{v}_2 nin kullanılması ile $\bar{f}_x - \bar{v}_2 \bar{f}_{\bar{t}\bar{t}} = 0$ üzerinden, lineer olmayan

$$(1 + \epsilon \bar{u}_{\bar{x}})(\bar{u}_{\bar{x}} - \bar{u}_{\bar{t}\bar{t}})(1 + \epsilon \bar{u}_{\bar{x}}) + 2 \epsilon \bar{u}_{\bar{t}} \bar{u}_{\bar{x}\bar{t}} - \epsilon^2 \bar{u}_{\bar{t}}^2 \bar{u}_{\bar{x}\bar{x}} = 0 \quad (29)$$

denkleminde dönüşür. Sabit katsayılı (28) denkleminin bir çözümü de (27)₁ 'den elde edilen ters dönüşümler ile (29) denkleminin bir çözümünü üretir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, genel çözümlerin dönüşümler altında genel çözümler üretmediği, fakat lineer olmayan denklemin sağlayan fonksiyonlar ürettiğidir, bir başka deyişle, lineer olmayan denklemin bir tam çözümü yazılmış olur.

Şimdi okuyucunun hesapları sağlayabilmesi adına (28) denklemini sağlayan basit bir fonksiyon alalım:

$$u(x, t) = \frac{1}{2} t^2 + x$$

(27)₁ 'den elde edilen ters dönüşümler ile

$$\bar{u} = \frac{1}{(1-\epsilon)} \left(\frac{1}{2} \bar{t}^2 + \bar{x} \right)$$

fonksiyonunun, son derece karmaşık görünen (29) denkleminin bir açık çözümü olduğu kolaylıkla sağlanabilir.

Örnek 2: Bir önceki örnekte ele alınan dönüşümü bu kez $f = u_x$ seçerek klasik sabit katsayılı dalga denkleminin uygulayalım:

$$u_{xx} - u_{tt} = 0. \quad (30)$$

Bu durumda dönüşmüş haldeki denklem, gerekli hesaplar yapıldıktan sonra

$$2\epsilon \bar{u}_\bar{t} (1 + \epsilon \bar{u}_x) \bar{u}_{\bar{t}\bar{t}} + (1 - \epsilon^2 \bar{u}_\bar{t}^2) \bar{u}_{\bar{x}\bar{x}} - (1 + \epsilon \bar{u}_x)^3 \bar{u}_{\bar{t}\bar{t}} = 0$$

kuazilineer denkleminin dönüşür. (30) dalga denkleminin genel çözümü olan $u = \Psi(t-x) + \Phi(t+x)$ $u = \Psi(t-x) + \Phi(t+x)$ fonksiyonu, yukarıdaki lineer olmayan denklem için

$$\bar{u} - \Psi(\bar{t} - \bar{x} - \epsilon \bar{u}) - \Phi(\bar{t} + \bar{x} + \epsilon \bar{u}) = 0$$

kapalı fonksiyonunu çözüm olarak üretir.

Sonsuz küçük üreteçlerin, her farklı seçiminde, farklı bir eşdeğerlik grubu altında yapının incelenebileceği açıktır. Lineer ve lineer olmayan denklemler dışında, sabit katsayılı ile değişken katsayılı ya da homojen ve homojen olmayan denklemler arasında da dönüşümler üretilebilir. Fakat bu çalışma kapsamında lineer olmayan denklemlerin, Lie grubunun bir uygulaması olan eşdeğerlik dönüşümleri grubu ile, çözümlerinin belirlenmesi konusu ele alınmıştır.

V. SONUÇ VE YORUMLAR

Çalışma kapsamında, (1) ile verilen tek boyutlu dalga tipi denklem ailesinin eşdeğerlik dönüşümlerinin grupları incelenmiş, eşdeğerlik dönüşümlerinin sonsuz küçük üreteçleri, en genel anlamda açık olarak elde edilmiştir. Çalışma, daha önce literatürde bulunan çalışmalardan farklı olarak, lineer olmayan denklemlerin tam çözümlerinin, eşdeğerlik dönüşümleri aracılığıyla elde edilebilir olması üzerine yoğunlaştırılmıştır. Yine daha önce literatürde elde edilmiş olan, dalga denklemi ailesinin lineer ve lineer olmayan üyeleri arasında mümkün dönüşümlerin üreteçlerinin yapısı üzerine kesin sonuçlar verilmiştir. Bu sonuçlar Teorem 2'de özetlenmiştir. Ayrıca denklem ailesinin, alt ailelerinin eşdeğerlik grubu yapısının nasıl incelenebileceği, bir örnek ile verilmiş ve buradan sonuçla, Teorem 3 yazılmıştır.

Son bölümde, eşdeğerlik grubunun üreteçlerinin, lineer ve lineer olmayan denklemler arasında geçişi mümkün kılan bir özel hali örnek olarak ele alınmış ve denklemler arası geçiş ile, lineer olmayan bazı denklemlerin açık çözümü elde edilmiştir. Okuyucu, buna benzer şekilde sadece lineer ve lineer olmayan değil, homojen ve homojen olmayan, sabit katsayılı ile değişken katsayılı vb. denklemler arasında geçişi mümkün kılan dönüşümlerin de üretilebileceğini kolaylıkla görebilir ve uygulayabilir. Bu anlamda Özer'in (2+1) boyutlu difüzyon denkleminin eşdeğerlik grupları üzerine olan çalışması [11] incelenebilir.

Bu çalışma kapsamında elde edilen eşdeğerlik grubunun üreteçleri, denklem ailesinin üyelerinin dönüşümü çerçevesinde ele alınmıştır. Problemin cebrik yapısına değinilmemiştir. Burada açık olarak belirlenmiş olan sonsuz küçük üreteçler kullanılarak, problemin değişmez çözümler araştırılabilir, cebirsel yapı aracılığı ile denklem ailesinin üyeleri arasında sınıflandırma çalışması yapılabilir ki bunların hepsi ayrı birer çalışma konusu olacaktır. .

TEŞEKKÜR

Çalışmayı, dikkatle okuyup, uyarılarda bulunan hakemlere teşekkürü borç bilirim.

KAYNAKLAR

- [1] De La Rosa, R., Bruzon, M.S. (2018). Differential Invariants Of A Generalized Variable-Coefficient Gardner Equation, Discrete & Continuous Dynamical Systems - Series S, 11(4), 747-757
- [2] Khabirov, S. V. (2018). Group analysis of a one-dimensional model of gas flow in a porous medium. Journal of Applied Mathematics and Mechanics.
- [3] Ibragimov, N. H. (2002). Invariants of a remarkable family of nonlinear equations, Nonlinear Dyn., 30, 155-166.
- [4] Tracina, R., (2004). Invariants of a family of nonlinear wave equations, Commun Nonlinear Sci Numer Simulat., 9, 127-133.
- [5] Senthilvelan, M., Torrisi, M., ve Valenti, A. (2006). Equivalence transformations and differential invariants of a generalized nonlinear Schrödinger equation, J. Phys. A: Math. Gen., 9, 3703-3713.
- [6] Sophocleous, C., ve Tracina, R. (2008). Differential invariants for quasi-linear and semi-linear wave-type equations, Applied Mathematics and Computation, 202, 216-228.
- [7] Huang, D. J., ve Ivanova, N. M. (2016). Algorithmic framework for group analysis of differential equations and its application to generalized Zakharov-Kuznetsov equations. Journal of Differential Equations, 260(3), 2354-2382.

- [8] Bihlo, A., ve Popovych, R. O. (2017). Group classification of linear evolution equations. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 448(2), 982-1005.
- [9] Long, F. S., Karnbanjong, A., Suriyawichitseranee, A., Grigoriev, Y. N. ve Meleshko, S. V. (2017). Application of a Lie group admitted by a homogeneous equation for group classification of a corresponding inhomogeneous equation. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 48, 350-360.
- [10] Jhangeer, A. (2018). Group Classification, Reductions and Exact Solutions of a Class of Higher Order Nonlinear Degenerate Parabolic Equation. *International Journal of Applied and Computational Mathematics*, 4(1), 2.
- [11] Özer, S. (2018). On the Equivalence Groups for (2+1) dimensional Nonlinear Diffusion Equation, *Nonlinear Analysis: Real World Applications*, No. 43, 155-166.
- [12] Huang, D., Zhu, Y., ve Yang, Q. (2016). Reduction operators and exact solutions of variable coefficient nonlinear wave equations with power nonlinearities. *Symmetry*, 9(1), 3.
- [13] Moitsheki, R. J., Hayat, T., ve Malik, M. Y. (2010). Some exact solutions of the fin problem with a power law temperature-dependent thermal conductivity. *Nonlinear Analysis: Real World Applications*, 11(5), 3287-3294.
- [14] Vaneeva, O. (2012). Lie symmetries and exact solutions of variable coefficient mKdV equations: an equivalence based approach. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 17(2), 611-618.
- [15] Şuhubi, E. S. (2008). Dış form analizi. *Türkiye Bilimler Akademisi*.
- [16] Ovsianikov, L. V. E. (2014). *Group analysis of differential equations*. Academic Press.
- [17] Ibragimov, N. K. (1999). *Elementary Lie group analysis and ordinary differential equations* (Vol. 197). New York: Wiley.
- [18] Lisle, I. (1992). *Equivalence transformations for classes of differential equations* (Doktora Tezi, University of British Columbia).
- [19] Olver, P. J. (2000). *Applications of Lie groups to differential equations* (Vol. 107). Springer Science & Business Media.
- [20] Lie, S. (1897). *Über Integralinvarianten und ihre Verwertung für die Theorie der Differentialgleichungen*, Leipzig. *Berichte*, 49, 369-410.
- [21] Şuhubi, E. S. (2000). Explicit determination of isovector fields of equivalence groups for second order balance equations. *International journal of engineering science*, 38(7), 715-736.
- [22] Özer, S. ve Şuhubi, E. (2004). Equivalence transformations for first order balance equations. *International journal of engineering science*, 42(11-12), 1305-1324.
- [23] Şuhubi, E. S. (2004). Equivalence groups for balance equations of arbitrary order—Part I. *International journal of engineering science*, 42(15-16), 1729-1751.
- [24] Şuhubi, E. S. (2005). Explicit determination of isovector fields of equivalence groups for balance equations of arbitrary order—Part II. *International journal of engineering science*, 43(1-2), 1-15.
- [25] Huang, D., Zhu, Y., & Yang, Q. (2016). Reduction operators and exact solutions of variable coefficient nonlinear wave equations with power nonlinearities. *Symmetry*, 9(1), 3.
- [26] Şuhubi, E. S. (1998). Equivalence transformations for one-dimensional wave equations of balance form. *ARI-An International Journal for Physical and Engineering Sciences*, 50(3), 151-160.
- [27] Harrison, B. K., ve Estabrook, F. B. (1971). Geometric approach to invariance groups and solution of partial differential systems. *Journal of Mathematical Physics*, 12(4), 653-666.
- [28] Cartan, E. (1945). *Les systèmes différentiels extérieurs et leurs applications géométriques*, Hermann, Paris.
- [29] Edelen, D. G. (2005). *Applied exterior calculus*. Courier Corporation.

Türkiye’de Lojistik Yönetiminde Endüstri 4.0 Etkileri ve Yatırım İmkanlarına Bakış Üzerine Anket Uygulaması

Survey on Logistics Management Industry Overview 4.0 Impacts and Investment Opportunities in Turkey

Ercan ÖZTEMEL¹, Samet GÜRSEV²

¹ Marmara Üniversitesi Mühendislik Fak, Endüstri Mühendisliği, İstanbul, eoztemel@marmara.edu.tr

² Marmara Üniversitesi Mühendislik Fak, Endüstri Mühendisliği, İstanbul, sametgursev@gmail.com

Öz

Bilişim sistemlerinin ve dijitalleşme hareketinin doğal bir sonucu olarak günümüz dünyası 4. toplumsal dönüşüm sürecini yaşamaktadır. Bu dönüşüm süreci özellikle endüstriyel yaşamı köklü değişiklikleri uygulama zorunda bırakacak şekilde gelişmektedir. Geleceğin imalat vizyonunun 4 temel bileşeni bulunmaktadır. Bunlar “ürün”, “zeka”, “iletişim”, “bilgi ağı” olacak şekilde gelişmektedir. Bu 4 temel bileşeni hareketlendirmek üzere Siber fiziksel sistemler, sensörler, nesnelerin interneti, makineler arası iletişim (M2M), zeki bilgi ağları ve güvenli bulut bilişim ortamları yaygın olarak gelişmektedir. Bu gidişat doğal olarak ürün tasarımı, süreç tasarımı, kalite yönetimi, pazarlama gibi tüm süreçleri de etkisi altına almakta ve kapsamlı bir süreç inovasyonu ile süreç dönüşümü gerçekleştirilmektedir. İşletmelerin tüm süreçlerini etkilediği gibi bu değişim ve dönüşüm tedarik süreçlerinin de yeniden yapılandırılmasını gerektirmektedir. Özellikle 4 Parti, 5 Parti ve 6 Parti Lojistik hizmetlerinin yaygın olarak kullanım alanı bulmasına yol açacak iş modellerinin gelişeceği görülmektedir. Bu makale dördüncü endüstri devrimi ile oluşan fırsatların ve yeniliklerin lojistik yönetimine etkisini irdelemektedir. Özellikle, lojistik yönetimi üzerindeki yenilikçi çözümler, IT çözümlerinin sektör üzerindeki etkilerine dikkatler çekilmiş ve Lojistik sektörde dördüncü dönüşümün sınırları çizilmeye çalışılmıştır. Diğer taraftan sektör aktörlerinin 4. Dönüşümü ve lojistik dünyasındaki etkilerini nasıl algıladıklarına yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Anket yolu ile bilgi toplanmış, gerekli analizler yapılarak neticeleri raporlanmıştır. Bu çalışmanın ülkemizde lojistik sektörünün yeni toplumsal dönüşüm sürecinde aktif olarak yol alabilmesi için rehberlik edecek bulgular sunulmaktadır. Bu kapsamda genel hatları ile işlemlerin uygulayabilecekleri bir yol haritasının oluşturulması hedeflenmiştir. Bu yol haritasının temel felsefesini günümüzde lojistik sektöründe hangi teknolojilerin daha öncelikli olarak uygulanması ve bu kapsamda yatırım stratejilerinin belirlenmesi için gerekli olan unsurlara işaret edilmesi olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Endüstri 4.0, Lojistik 4.0, İnovasyon, Stratejik Lojistik Yönetimi

Abstract

As a natural consequence of the information systems and the digitizing movement, today’s world is in the process of social transformation. This transformation process is developing in a way that will force industrial life to undergo radical changes. There are 4 basic components of the future vision of manufacturing. These develop as “product”, “intelligence”, “communication”, “information network”. Cyber physical systems, sensors, internet of things, machine to machine communication (M2M), intelligent information networks and secure cloud system environments are widely developed to mobilize these four basic components. This trend naturally affects all processes such as product design, process design, quality management and marketing, and process transformation takes place through a comprehensive process innovation.

It affects all of the processes of the business as well as the restructuring of the transformation and transformation procurement processes. Particularly, the business models that will lead to the widespread use of 4 Party, 5 Party and 6 Party Logistics services are seen to develop. This article examines the impact of the fourth industry revolution and the impact of innovations on logistics management. In particular, innovative solutions on logistics management, attention to the effects of IT solutions on the sector and attempts to limit the fourth transition in the logistics sector have been tried. On the other hand, a study has been conducted on how the sector actors perceive the effects of the

4th Transformation and the logistics world. Information was gathered through the questionnaire and necessary analyzes were made and the results were reported. Findings that will guide this study to enable the logistics industry to actively pursue the new social transformation process in our country are presented. In this context, it is aimed to create a roadmap to implement operations with general lines. The main philosophy of this roadmap will be to point out the elements that are necessary for the application of priority technologies in the logistics sector and the determination of investment strategies in this context.

Keywords: Industry 4.0, Logistics 4.0, Innovation, Strategic Logistic Management

I. GİRİŞ ve ANA BÖLÜMLER

Küreselleşme beraberinde rekabeti getirerek iç pazarından dışarı çıkamayan şirketlere zarar vermektedir. Küresel pazarda başarılı olmak isteyen şirketlerin mutlaka başarılı bir lojistik stratejileri olmalıdır. İşletmelerin ürünleri üretmek için ham madde temini ve satılan ürünü müşteriye teslimi konusunda lojistik önemli bir fonksiyondur. Lojistik süreçlerini verimli ve az maliyetli yapan işletmeler diğerlerine üstünlük sağlayabilir.

Endüstri 4.0 kavramı 2011 yılında Almanya’da ilk olarak anılmıştır. ABD,Çin gibi diğer küresel güçlerde aynı terimi farklı isimler vererek kendi yol planlarını açıklamışlardır. İngiltere bu sürece “Akıllı İmalat Koalisyonu”, AB “Geleceğin Fabrikaları”, Japonya “Toplum 5.0”, Fransa “Geleceğin Endüstri Girişimi” isimleri vermektedir. Aslında Almanya tarafından yapılan bu tanım ve açıklama diğer sanayi devrimlerinden farklı olarak planlanmış bir sanayi devrimi kavramını oluşturmuştur. Daha önceki sanayi devrimleri bir sonraki sanayi devrimi etkilerini göstermeye başladıktan sonra isimlendirilmiştir. Almanya tarafından yapılan tanımlama ve açıklama 2011 sonrası yapılan çalışmaların önümüzdeki 20 yıl içerisinde bizi götüreceği yeni dönemi tanımlamaktadır. Ülkemizin ekonomik hedefleri ve ilk 10 ekonomi arasında olma talebi de bu sebeple benzeri bir planlama ve çalışma ihtiyacını oluşturmaktadır.

Büyük veri analizi dediğimiz kavram aslında üretim yöntemleri ve içeriği açısından büyük önem teşkil etmektedir. Şirketler ve artan kapasiteleri büyük datalar oluşturmaktadır. Bu dataların detaylı analizi hem üretimdeki verimlilik artışına hem kalite artışına hem de talep tahminlerinde başarıya götürmektedir. Endüstri 4.0 da sistemlerin veri analizi konusunda başarılı olmasını bir temel koşul olarak görmektedir. Müşteri datasını analiz edemeyen ve kendi süreçlerinin performanslarını ölçüp değerlendiremeyen bir şirketin bu endüstri çağında kalması mümkün olmayacaktır. Endüstri 4.0

ve özellikle veri analizi Şekil 2 de görüldüğü gibi sistemleri etkileyecektir (Fallera ve Feldmüllera ,2015)

Endüstri 4.0 stratejisinde robotlar ve makinelerin iletişimi büyük rol oynamaktadır. Karanlık fabrikalar adı verilen yeni nesil üretim tesislerinde insansız yürütülen üretim süreçleri makinelerin M2M adı verilen süreç üzerinden birbirleriyle iletişimi üzerinden yürütülecektir (UK Government,2016). Robot sistemleri ve insanların üretim hatlarından çıkması verimlilik artışı, enerji tasarrufu, kalite artışı ve ürün çeşitliliği konularında büyük artış sağlayacaktır. Simülasyon çalışmaları da bu süreç içerisinde büyük önem teşkil edecektir. Ürünler pazara çıkmadan önce simülasyonlar üzerinden test edilecek ve bu durum pazara çıkış sürelerinde kısalma sağlayacaktır.

Nesnelerin interneti adı verilen yapıda makinelerin birbirleriyle iletişimi sağlayacak bir başka başlıktır. Makineler bakım sürelerini önceden planlayacak, üretim hattında yer alan bakım süre kayıpları ve darboğaz süreçlerden kaynaklı zaman kayıpları en aza indirilecektir. Çok yakın zamanda bu teknolojiler sayesinde cihazlar hem birbirleri ile hem de kontrol merkezleri ile iletişime geçip analiz ve karar verme süreçlerini tek elden yönetme imkanı sunacaktır. Bulut teknolojilerinin performansının artması sayesinde tepki süresi çok kısalmaktadır. Bunun sonucu olarak, bulut platformlarda yer alan makinelerle ait veriler ve işlevler artacak ve üretim sistemlerine veriye dayalı daha fazla hizmet sunulacaktır. 3D printer sistemleri ve artırılmış gerçeklik uygulamaları da hem pazarın ihtiyaçlarına hem de tanıtım ve reklam süreçlerine büyük katkılar sağlayacaktır.



Şekil 1. Endüstri 4.0 Etkileri (Tubitak,2016)

Lojistik sektörü tüm bu gelişmelerden büyük oranda etkilenmektedir. Öncelikle endüstri 4.0 ile gelen tüm yenilikçi çözümler ve yaklaşımlar lojistik ve tedarik zinciri iş süreçlerini büyük oranda değiştirmektedir. İnsan gücü ile yürütülen operasyonel süreçler hızla yerini otonom araçlara ve robotlara bırakmaktadır. Data analizi lojistik sektörü için artık

çok daha önceliklidir. Verimlilik artışı için araçların otonom yönlendirilmesi ve rota optimizasyonlarının etkin yapılması artık bir zorunluluk olmuştur. Depo sistemlerine gelen yenilikçi yaklaşımlar ve endüstri 4.0 felsefesi içerisinde yer alan akıllı ürünler verimlilik ve karlılık artışına destek vermektedir. Lojistik sektörü sadece yerel değil küresel rekabetin yaşandığı büyük bir pazardır. Doğru yatırımlar yapılması ve yatırımların sonuçlarının etkili olması büyük önem taşımaktadır. Karar alma döneminde kullanılacak simülasyon yöntemleri de bu konuda öncelik taşımaktadır. Lojistik sektöründe yer alan tüm alt kollar aynı oranda bu değişimden etkilenenecektir. Hiç bir lojistik firmasının bu değişimden etkilenmeden hayatına devam etmesi mümkün olmadığı gibi lojistik yapısı da kendi iç dinamikleri ile hızla değişecektir. Çalışmamızda Endüstri 4.0 literatür taraması, bileşenlerin lojistik yönetimine etkilerinin örnekleri ve anket araştırmamız aktarılmaktadır.

II. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Endüstri 4.0 konusu sadece reel sektörde değil akademik dünya için de büyük ses getiren ve güncelliğini koruyan önemli bir başlık olarak yer almıştır. Bu konsept operasyon verimliliği, yeni iş modelleri oluşturması, büyük ekonomik güç getirmesi ve toplumları derinden etkilemesi nedeniyle çok sayıda makaleye konu olmuştur. Bir çok araştırmacı bu konuya farklı başlıklardan bakmış ve bu devrimi anlamaya çalışmıştır.

Qin vd. (2007) endüstri 4.0 için temel başlıkları araştırmış ve temelini neye dayandığı hangi bileşenler oluştuğunu incelemiştir. Fabrika, iş, ürün ve müşteri olarak 4 katmanlı bir yapı üzerinden analiz etmiştir. Adeyeri vd. (2015) genel bir bakış ve kavramsal olarak endüstri 4.0 algısını incelemiştir. Filippi and Barattin (2012) endüstri 4.0 aktivitelerini ve neleri içerdiğini analiz etmiştir. Sogoti (2014) M2M kavramının ve makine iletişiminin endüstri 4.0 için önemini araştırmıştır. Lee vd. (2015) siber fiziksel sistemlerin modellenmesi ve endüstri 4.0 açısından önemini incelemiştir. Bu sistemlerin entegrasyonu süreci için de bir yol haritası oluşturmuştur. Rosendahl vd. (2016) değer zinciri yönetimi bakış açısı ile endüstri 4.0 alanında analizler gerçekleştirdi. Pan and Kraft (2015) endüstri 4.0 data yönetimi konusunda çalışmalar yaptı. Tuncel and Polat (2016) 250 farklı firmayı analiz ederek endüstri 4.0 bileşenleri ve firmaların bu seviyeye ulaşmak için neler yapması gerektiğini incelediler. Tekez and Taşdeviren (2016) sanayi devrimini analiz edebilmek için çok sayıda kriter ve katman içeren detaylı bir model oluşturdular. Schouh vd. (2015) üretim süreçlerinde değerlendirme ve ampirik analizler gerçekleştirdiler. Schumacher vd. (2016) öğrenen sistemler üzerine çalışmalar

yaptılar. Ruivo vd. (2014) artırılmış gerçeklik sistemlerinin endüstri 4.0 üzerindeki etkisini araştırdılar. Stock and Seliger (2016) endüstri 4.0 için geçerli olan güncel teknolojileri incelediler. Bourke and Mentis (2014) bir olgunluk modeli kurup endüstri 4.0 eğitim süreçlerini analiz ettiler. Wahlster (2013) endüstri 4.0 sonrası yeni trendleri araştırdılar. Hecklau vd. (2015) insan kaynakları süreçlerini göz önüne alan bir stratejik modeli endüstri 4.0 için uyguladı. Weyer vd. (2015) endüstri 4.0 süreçlerinin standardize edilmesi konusunda çalışmalar gerçekleştirdi.

Yusof vd. (2013) akıllı fabrikalar için akıllı iş süreçlerini analiz ettiler. Fallera and Feldmüllera (2015) kobiler için akıllı fabrika olabilme sürecini incelediler. Baygin vd. (2016) eğitimde endüstri 4.0 etkisini analiz ettiler. Giasirani and Sofos (2016) da benzer şekilde endüstri 4.0 sonrası eğitimde yapılacaklar için yol haritası çizmiştir. Sun (2012) RFID sistemlerin endüstri 4.0 ve nesnelerin interneti süreçlerindeki etkisini analiz etmiştir. Zarte ve Pechmann (2016) Bilgi teknolojileri süreçlerinin analizi konusunda çalışmalar yapmıştır.

Ackermann (2013) M2M uygulamalarını incelemiştir. Bilgi yönetim sistemlerinin uzaktan kontrolü, otonom araçların yönetimi, tedarik zinciri yönetimde akıllı araçların etkisi gibi başlıkları analiz etmiştir. Biral vd. (2015) M2M teknolojisinin etkilerini ve gelecekte çözmesi muhtemel sorunları incelemiştir. Dener ve Bostancıoğlu (2015) veri aktarımı performansı konusunu araştırmışlardır. Akıllı sensör sistemlerinin veri performanslarını geliştirici modeller üzerine çalışma yapmışlardır. Alayaa vd. (2014) makineler arası iletişim için bir protokol düzenlemesi yapmışlardır. Bu protokol tüm uzaktan kontrol makineleri kapsayacak şekilde tasarlanmıştır. Peres vd. (2016) data formatları ve data yönetimi konusunda endüstri 4.0 üretim sistemlerine yönelik çalışmalar yapmıştır. Xinga vd. (2009) endüstri 4.0 değerlendirmesi için olgunluk modeli kurmuşlardır.

Kim vd. (2005) gemi üretim sistemleri ile ilgili bir simülasyon çalışması yapmıştır. Ignaccolo (2010) hava limanı kapasitesini analiz eden bir simülasyon modeli uygulamıştır. Shi vd. (2017) plastik cerrahide kullanılmak üzere bir model kurgulamış ve artırılmış gerçeklik teknolojilerinden faydalanarak sağlık sektörünü endüstri 4.0 yapısına dahil etmiştir. Wang ve Chen (2009) artırılmış gerçeklik için bir çatı model kurgulamış ve kullanılabilmesi alanlar konusunda yön göstermiştir. Hofmann ve Rüsche (2017) endüstri 4.0 bileşenlerinin gelecekte logistik sistemlere nasıl etki edeceğini araştırmıştır. Bu konuda lojistik merkezli bir model kurmuşlardır. Witkowski (2017) inovatif çözümlerin lojistik yönetimine etkisini araştırmıştır. Veri madenciliği ve nesnelerin interneti gibi bileşenlerin lojistik sektörüne etkilerini analiz etmiştir.

III. LOJİSTİK SEKTÖRÜNDE ENDÜSTRİ 4.0 ETKİLERİ

Lojistik sektöründe Endüstri 4.0 etkilerini görebilmek için önceki sanayi devrimleri doğru analiz edilmesi gerekmektedir. Diğer sanayi devrimleri de tıpkı bu sanayi devriminde olduğu gibi ihtiyaçlardan kaynaklı olarak oluşmuştur. Sanayi 4.0 sürecinde makinelerin internet üzerinden birbirleriyle iletişimde olmaları “tam zamanında” lojistik hizmetlerinin daha verimli çalışabilmesi veya makine arızalarının önlenmesini sağlarken, üretimdeki atıl zamanın azaltılması ve sonuç olarak kaynakların daha verimli kullanılmasını sağlayacaktır. Yeni taşıtlar, yeni yakıt ve enerji kaynakları, altyapı ve yeni istihdam alanları başta ulaşım lojistiği olmak üzere her tür lojistiği etkileyecektir. Endüstri 4.0, lojistiğin 7 doğrusu adını verdiğimiz doğru ürünün, doğru miktarda, doğru biçimde, doğru zamanda, doğru kaynaktan, doğru yolla, doğru fiyata sağlanması aşamalarının hepsini ayrı ayrı etkileyecektir. dijital dönüşümü tetikleyen teknolojiler kısaca CAMPS diye tanımlanıyor. C (Cloud) bulut bilişimi, A (Analytics) büyük veri analizini, M (Mobility) mobil dünyayı, P (Productivity) Üretkenliği, S ise (Security) siber güvenliği tanımlıyor. Yani dijital dönüşümünü gerçekleştirmek isteyen bir kurum, bulut bilişim ile başlayıp güvenlik ile dönüşümünü sonlandırmalı. Lojistik sektöründe mevcut işler ve iş yapış süreçleri komple değişecek olup lojistik sektöründe çalışan insanların nitelikleri de değişime uğrayacaktır. Veri lojistikçileri, veri madenciliği, otonom sistem kontrolörleri ve bugün adını dahi bilmediğimiz pek çok yeni iş birimi ortaya çıkacaktır. Yani veri lojistiği de en önemli iş süreçlerimizden birisi olmaya başlamıştır ve olacaktır. Sektörün önünü açacak 7 pazar trendi şöyle sıralanıyor: büyüyen müşteri tabanı, dijital müşteri tabanındaki artış, jeopolitik ve ekonomik gelişmeler, 2008 krizinden sonra farklı segmentlerin büyümesi, nesnelere interneti, internet platformlarındaki artış, 3D baskı ve sürücüsüz araçlar. Buna bağlı olarak lojistik yönetiminde yeni teknoloji kullanımı, yeni nesil mobil sistemler, dronelerin lojistik sektöründe kullanımı, akıllı kentsel lojistik, nesnelere interneti, artırılmış gerçeklik uygulamaları, optimizasyon çalışmaları bu trendlerin çözümlenmesi için geliştirilmektedir.

ISO 500, üretimden satışlarda elliilik gruplara göre dağılım

	Üretimden satışlar (milyon tl)	Pay (%)
1-50	241.303	49,2
51-100	63.697	13,1
101-150	41.580	8,5
151-200	32.325	6,6
201-500	110.868	22,6
Toplam	490.043	100

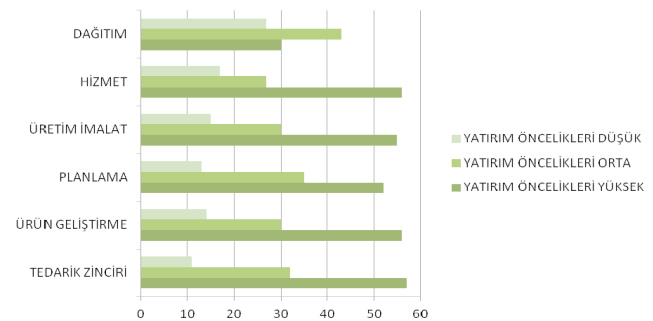
Şekil 2. Endüstri 4.0 Etkileri (TUSİAD,2017)

ISO tarafından yapılan araştırmada üretimden satış olarak adlandırılan ana kriter üzerinden yapılan analiz incelenmiştir. Üretimden satışlar, şirketin ürettiği mallardan yapılan satışlar ile malzemesini vererek dışarıya yani fason yaptırdığı mallardan satışlar ve başkalarının malzemelerini kullanarak onlar için yapılan (yani bir tür fason) üretim karşılığı elde edilen gelirleri kapsamaktadır. Bunun dışında bir firmadan alınıp, hiçbir işlem görmeden diğer firmaya satılan ürünler veya şirketin bankadaki mevduatının faiz gelirleri bu kapsama girmemektedir. Şekil 2’de görüldüğü üzere ilk 50 şirketi, toplam 490 milyar liralık üretimden satışların 241 milyar lirasını gerçekleştirerek, 2015 yılında yüzde 48,8 olan payını biraz daha artırmışlar ve yüzde 49,2’ye çıkarmışlardır. İlk 50’yi takip eden grupların paylarına baktığımızda, gruplar küçüldükçe giderek toplam üretimden satışlardaki ağırlıklarının da azaldığı görülüyor.

Firma Sektörü	Sanayi 4.0 yatırım oranı
Sanayi ve güvenlik	5
Otomotiv	5
Kimya	5
Elektronik	7
İnşaat ve Mühendislik	5
Paketleme ve kağıt	4
Metal	5
Sanayi üretimi	4
Taşıma ve Lojistik	5

Şekil 3. Türkiye’de Sektörlere Yönelik Endüstri 4.0 Yatırım Oranı Yüzdeliği (MUSİAD,2018)

MUSİAD tarafından hazırlanan raporda Türkiye’de endüstri 4.0 konusunda en çok çalışmayı yapan sektör Elektronik olmakla birlikte, lojistik sektörü otomotiv ve sanayi-güvenlik gibi büyük sektörler ile aynı derecede yatırım oranına sahiptir. Lojistik sektöründe yer alan firmaların yeni endüstri 4.0 çağına büyük oranda yatırım yapıldığı görülmektedir.



Şekil 4. Tedarik Zinciri Yönetiminde Nesnelere İnterneti Yatırım Oranları (MUSİAD,2018)

Musiad raporunda yayınlanan bir başka çalışma da Tedarik Zinciri Yönetimi süreçlerinde Nesnelerin interneti yatırımlarıdır. Bu oranlar Şekil 4’de gösterilmiştir. Bu rapora bakıldığında aslında IoT tüm süreçlerde büyük önem taşımaktadır. Buna ek olarak Tedarik zinciri yönetiminde büyük öncelik taşımaktadır. Dağıtım kanallarının etkin yönetimi için doğru yatırımlar yapılması ve IoT avantajlarından faydalanmak büyük önem taşımaktadır.

Lojistik sektöründe rekabet çok yüksek olduğu için değişimlerde kaçınılmazdır. Depo sistemlerinde “Depo Yönetim Sistemleri” etkisi hızla artmaktadır. AS/RS ve RFID teknolojileri de depo yönetim sistemi için ayrılmaz bir parça olmaktadır. Yeni sanayi devrimi sonrası depolar operasyonları otomatik hale getirebilen, online izlenebilen, anlık raporlama imkanı sunan altyapılara sahip olacaktır. Depoların yönetiminde ayrıca dronelar kullanılmaya başlanmıştır. drone kameraların depodaki malları saydığı ve belirli bir düzende kaydettiği, bu sayede çalışanların başka işlerle meşgul olması için çokça zamanın kaldığı uygulamalar mevcuttur. E-Ticaret sistemleri çok hızla değişmektedir. Online satış adetlerinin artması bize e-lojistik kavramını getirmiştir. Uluslararası pazarda küçük paketlerin hız kazandığı ve hava express kargonun hızla arttığı yeni bir döneme girmektedir. Sanal gerçeklik gözlükleri depo sistemlerinde ve eğitim süreçlerinde büyük önem teşkil etmektedir. Bir çok kargo firması sanal gerçeklik (VR) gözlüklerini kullanarak yoldaki olası tehlikeleri tespit etmek amacıyla çalışanlarına eğitim vermeyi planlıyor. Araçların, gemilerin insansız kullanımı kademeli olarak gündeme gelmiştir buna bağlı olarak yakın dönemde insansız araçlarda artış olması beklenmektedir. Veri madenciliği uygulamaları lojistik sektörü açısından büyük önem taşımakla birlikte artık talep yönetimi çalışmalarında etkinlik sağlayacaktır. Lojistik şirketleri tarafından bulut bilişim uygulamalarının da sıklıkla kullanıldığı gözlemlenmektedir. Endüstri 4.0 bileşenleri lojistik sektörü üzerinden büyük değişimlere yol açmaktadır ve yakın dönemde verimlilik ve karlılık artışı konusunda büyük ivmeler sağlanması beklenmektedir.

IV. ANKET UYGULAMASI

Anket için örneklem seçimi yapılırken ana kütle içerisinde yer alan ve Türkiye’de faaliyet gösteren lojistik firmalarından Ulaştırma Bakanlığı Kara Ulaştırması Genel Müdürlüğü’nden L1 ve L2 hizmet belgelerine sahip firmalar demiryolu ve havayolu işletmecileri firmalar, lojistik 4.0 üzerine araştırma yapan uzmanlar olmak üzere evren büyüklüğü yaklaşık 500 olarak belirlenmiştir. Bu evrenden yapılan örnekleme çalışmamızda +/-%10 örnekleme hatası ve incelenen olayın görülüş sıklığı $p=0,5$ ve görülme-yiş sıklığı $q=0,5$

olacak şekilde 90 anket uygulaması gerçekleştirilmiştir. Toplamda 110 anket yapılmış olmasına rağmen, eksik ve hatalı doldurulan bazı anketler çıkarıldığında, toplamda 90 anket değerlendirilmeye uygun ve güvenilir görülmüş ve sonuçları SPSS programı ile analiz edilmiştir. Anket soruları MUSİAD, TUSİAD ve TUBİTAK Sektör analiz raporları başta olmak üzere, yapılan geniş çaplı literatür taraması ve sektörde konuyla ilgili çalışmalar yapmış akademisyenlerle yapılan görüşme ve ön anket çalışmaları sonrasında ana teknolojilerin ve soru başlıklarının belirlenmesi sağlanmıştır. Soru sayısı evren büyüklüğü ve ankete katılacak kişi sayısı göz önüne alınarak hazırlanmıştır. Likert değerlendirme modeli SPSS’de değerlendirme aşamasında detaylı kırılımlar elde edebilmek amacıyla tercih edilmiştir.

Anket çalışmasında toplanan veriler üzerinde güvenilirlik ve faktör analizleri yapılmıştır (bkz Tablo 1). Ölçeklerin güvenilirlik katsayıları (Cronbach alpha) 0,90 üstünde çıkmıştır. Faktör analizi aynı yapıyı ölçen çok sayıda değişkenden az sayıda ve tanımlanabilir nitelikte anlamlı değişkenler elde etmeye yönelik çok değişkenli bir istatistiktir (Büyüköztürk, 2002). 90 adet anket için faktör analizi yapıldığında soruların beklendiği gibi (Lojistik 4.0 Yatırımlarını Olumlu Karşılama, Lojistik 4.0 Yatırımlarına Olumsuz Yaklaşım, Yatırım konusunda Muhtemel Sorunlar) olmak üzere 3 faktör tespit edilmiştir. Kaiser-Meyer-Olkin Örneklem uygunluk testi 0,722 olarak çıkmıştır. Barlett’s Test sonucu 2943,61 ve $df:263$ Sigma ,000 çıkmıştır. Bu sonuçlar faktör analizi testinin iyi bir şekilde çalıştığının göstergesidir. Sorunların açıkladığı varyans oranı istenilen seviyelerde çıkmıştır. Birinci grup için %24,722, ikinci grup için %20,498, üçüncü grup için 519,805, dördüncü grup için de %19 oranında çıkmıştır. Anketin araştırma sorusuna yanıt verme oranı %82 olarak belirlenmiştir. Tablo 1 de bu sonuçlar görülmektedir.

Ankete verilen cevaplar Likert Ölçeği ile değerlendirilmiştir. “1=Kesinlikle Katılmıyorum”, “2= Katılmıyorum”, “3=Ne katılıyorum, ne katılmıyorum”, “4=Katılıyorum”, “5=Kesinlikle Katılıyorum” anlamına gelmektedir. 90 kişilik anket sonucuna uygulanan faktör analizi sonucu Kaiser-Meyer-Olkin Örneklem uygunluk testi 0,723 olarak çıkmıştır. Barlett’s Test sonucu 2943,61 ve $df:263$ Sigma ,000 çıkmıştır. Bu sonuçlar faktör analizi testinin iyi bir şekilde çalıştığının göstergesidir. Sorunların açıkladığı varyans oranı istenilen seviyelerde çıkmıştır. Birinci grup için %25,722, ikinci grup için %22,498, üçüncü grup için 19,805, dördüncü grup için de %20 oranında çıkmıştır. Anketin araştırma sorusuna yanıt verme oranı %84 olarak belirlenmiştir. Tablo 1 de bu sonuçlar görülmektedir.

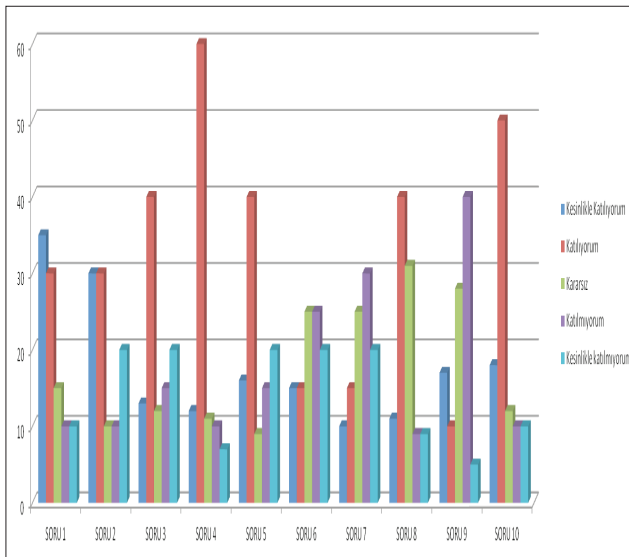
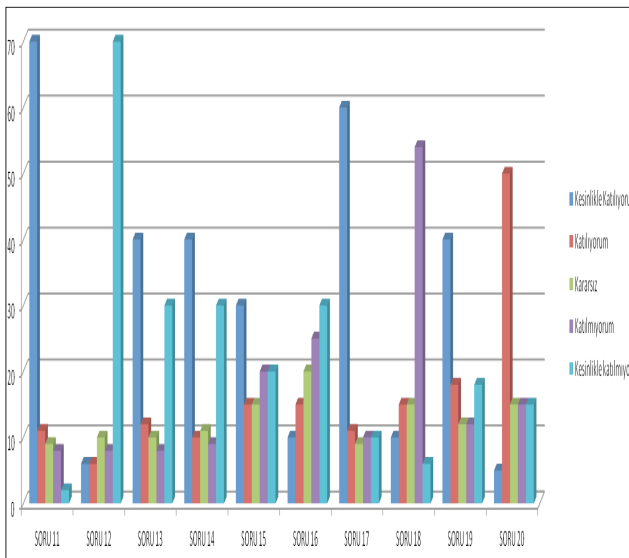
Tablo 1: Anket Uygulaması Faktör Analizi

<i>Faktörün Adı</i>	<i>Soru No</i>	<i>Soru İfadesi</i>	<i>Faktör Ağırlıkları</i>	<i>Faktörün Açıklayıcılığı</i>	<i>Güvenilirlik</i>
Lojistik 4.0 Yatırımlarını Olumlu Karşılama	1	Araçların kendi kendine insan müdahalesi olmadan karar verenler (otonom akıllı sistemler) sistemlere sahip olması ulaşım performansına artış sağlayacaktır.	0,908	25,722	0,983
	2	Yeni Nesil depo otomasyonu teknolojileri ile operasyonlarda verimlilik artışı sağlanacaktır.	0,922		
	3	Lojistik Dataların analizi iş süreçlerinin analizi ve geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.	0,932		
	4	ASRS(Otomatik yükleme ve boşaltma sistemleri) otomatik ayrıştırma sistemleri karlılık ve verimlilik artışı sağlayacaktır.	0,951		
	5	Görsel benzetimin gerçek dünya ile bütünleştirilmesi (artırılmış gerçeklik) depo yönetiminde kolaylık ve verimlilik artışı sağlayacaktır.	0,909		
	6	Paketleme süreçlerinde robot kullanılması kalite ve karlılık artışı sağlayacaktır	0,919		
	7	Bulut bilişim sistemi uygulamaları lojistik uygulamalarında verimlilik artışı sağlayacaktır.	0,902		
	8	4.,5. Ve 6. Parti lojistik hizmetleri lojistik sektöründe yer alacak ve fayda sağlayacaktır.	0,921		
Lojistik 4.0 Yatırımlarına Olumsuz Yaklaşım	9	Kendi kendine insan müdahalesi olmadan karar verenler (otonom akıllı sistemler) sektörde işsizlik oranını artıracak ve yatırım maliyetleri nedeniyle zarara neden olacaktır.	0,763	22,498	0,931
	10	Depo otomasyonları yatırımları kapasiteler yetersiz kaldığında verimlilik ve karlılık azalmasına neden olacaktır.	0,877		
	11	Lojistik sektöründe temiz data olmadığı için datanın analiz edilmesi yanlış karar verilmesine neden olacaktır	0,863		
	12	ASRS(Otomatik yükleme ve boşaltma sistemleri) lojistik süreçlerin performanslarını değiştirmeyecektir.	0,756		
	13	Görsel benzetimin gerçek dünya ile bütünleştirilmesi (artırılmış gerçeklik) depo süreçlerinde kontrol amaçlı kullanımı lojistik sektörü maliyet artışına neden olacaktır.	0,788		
	14	Paketleme süreçlerinde robot kullanımı daha yüksek maliyetli ürünlere neden olacaktır.	0,733		
	15	Bulut bilişim sistemi uygulamaları lojistik sektörü için verimsiz bir uygulama olacaktır.	0,792		
	16	4.,5. Ve 6. Parti lojistik hizmetleri lojistik sektöründe fayda sağlamayacaktır.	0,85		
Yatırım konusunda Muhtemel Sorunlar	17	Küçük ve orta ölçekli firmalar için yanlış planlanan yatırımlar büyük iflaslara ve ekonomik krizlere neden olabilir.	0,702	19,805	0,921
	18	Nesnelerin interneti ve robot sistemler kazaları ve kayıpları engellemekte yetersiz kalacaktır	0,71		
	19	Lojistik sektöründe yapılacak yeni uygulamalar sayesinde verimlilik ve karlılık büyük oranda artacaktır	0,721		
	20	İnsan hatasına bağlı kazalar ve kayıplar robot sistemler ile büyük oranda aşılacaktır	0,752		
		KAİSER MEYER OLKİN ÖLÇEK GEÇERLİLİĞİ	0,798		
		BARLETT KÜRESELLİK TESTİ	Kikare: 2943,61		
			df:263		
			Sigma:000		

Tablo 2’de görülen yapılan korelasyon analizi çalışmalarında lojistik sektöründe endüstri 4.0 yatırımları yapılmasını olumlu bulan kişilerin lojistik sektöründe yaşanabilecek sorunlara da muhtemel baktığı görüşü hakimdir. Buna karşın yatırımlara olumsuz bakan kişilerin de muhtemel sorunlara da olumsuz bakıldığı gözlemlenmiştir. Korelasyon sonucu elde edilen analiz bize sektörde yer alan uzmanların endüstri 4.0 yatırımları konusunda ileriye dönük karar alma sürecinde kararsız oldukları konusunda görüş vermektedir.

Tablo 2: Anket Uygulaması Korelasyon Analizi

	Yatırım Olumlu Yaklaşım	Yatırım Olumsuz Yaklaşım	Muhtemel Sorunlar
Yatırım Olumlu Yaklaşım	1	-,431**	,524**
Yatırım Olumsuz Yaklaşım	-,431**	1	-,077
Muhtemel Sorunlar	,524**	-,077	1



Şekil 4. Anket Sorular Cevap Oranları

Anket sorularına verilen cevaplar Likert ölçeğine göre değerlendirilmiş olup tüm soruların cevap dağılımı Şekil 2 de gösterilmiştir. Ankete katılanların yapmış olduğu cevaplar grafik olarak gösterilmiştir. Anket maddelerini detaylı olarak analiz ettiğimizde sektörün yeni sürece ve yatırımlara bakışı hakkında detaylı sonuçlar elde ettik.

Grafikte Soru 1 olarak geçen “Araçların kendi kendine insan müdahalesi olmadan karar verenler (otonom akıllı sistemler) sistemlere sahip olması ulaşım performansına artış sağlayacaktır.” maddesine yüzde 35 “kesinlikle katılıyorum” görüşü bildirmiş ve yüzde 10 “kesinlikle katılmıyorum” görüşü iletmiştir. Bu madde konusunda verilen cevaplar analiz edildiğinde sektördeki katılımcıların büyük kısmı araçlarda kullanılacak otonom sistemlerin zaman içerisinde başarılı olacağı olumlu görüşlere sahip olduğunu iletmiştir. Benzeri oranlar soru 2 “Yeni Nesil depo otomasyonu teknolojileri ile operasyonlarda verimlilik artışı sağlanacaktır.” için de tespit edilmiştir. Bu sorulara katılımcılar %60 üzerinde olumlu yanıt dönmüştür. Depo teknolojileri ile ilgili çalışmalar sektördeki uzmanlarca büyük bir gelişim ve iyileştirme olarak görülmektedir. Soru 3 de yer alan “Lojistik Dataların analizi iş süreçlerinin analizi ve geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.” görüşüne %13 kesinlikle katılıyorum, %40 katılıyorum, %15 katılmıyorum ve yüzde 20 kesinlikle katılmıyorum cevapları verilmiştir. Bu cevaptan lojistik sektöründe data analizi ile ilgili çalışmalara büyük önem verildiği görülmektedir. Benzer oranlar soru 4 “ASRS (Otomatik yükleme ve boşaltma sistemleri) otomatik ayrıştırma sistemleri karlılık ve verimlilik artışı sağlayacaktır.” ve soru 5 “Görsel benzetimin gerçek dünya ile bütünleştirilmesi (artırılmış gerçeklik) depo yönetiminde kolaylık ve verimlilik artışı sağlayacaktır” için de geçerlidir. Depo sistemleri ve artırılmış gerçeklik çalışmaları da sektördeki uzmanlar tarafından önemli olarak görülmektedir.

Soru 6 “Paketleme süreçlerinde robot kullanılması kalite ve karlılık artışı sağlayacaktır”, soru 7 “Bulut bilişim sistemi uygulamaları lojistik uygulamalarında verimlilik artışı sağlayacaktır” ve soru 8 “4.,5. Ve 6. Parti lojistik hizmetleri lojistik sektöründe yer alacak ve fayda sağlayacaktır.” de %25 kararsız, yaklaşık %50 e varan oranlarda katılmıyorum görüşü tespit edilmiştir. Sektörün ağırlıklı olarak paketleme sürecine yapılacak yatırımlara olumsuz baktığı buna ek olarak bulut bilişim ve 4PL-5PL-6PL gibi kavramları da henüz içselleştiremediği tespit edilmiştir.

Faktör analizinde tespit edilmiş olan lojistik yatırımlarına olumsuz bakış açısının yer aldığı önermeler de sonuçlar analiz edildiğinde bazı önemli noktalar tespit edilmiştir. Firmalar tüm anket boyunca paketleme süreci yatırımlarına, bulut bilişim yatırımlarına olumsuz yanıtlar vermiştir. Depo

otomasyonu ise büyük oranlarda destek görmektedir. Soru 17 de yer alan “Küçük ve orta ölçekli firmalar için yanlış planlanan yatırımlar büyük iflaslara ve ekonomik krizlere neden olabilir” önermesi %70 olumlu bulunmuş olup firmaların yapılacak yatırımlar konusunda doğru yönlendirmelere ihtiyacı olduğu tespit edilmiştir. Soru 18 de yer alan “Nesnelerin interneti ve robot sistemler kazaları ve kayıpları engellemekte yetersiz kalacaktır” önermesi katılımcıların otonom sistemlere olan olumlu görüşlerine göre olumsuz görülmüştür. Sektörün genel görüşü insansız otonom araçların büyük oranda verimlilik artışı sağlayacağı ve kazaların engelleneceği yönündedir. Soru 19 da “Lojistik sektöründe yapılacak yeni uygulamalar sayesinde verimlilik ve karlılık büyük oranda artacaktır” %40 kesin katılıyorum, %18 katılıyorum cevabı vermiştir buradan yenilikçi uygulamaların performansı konusunda büyük oranda olumlu beklenti olduğu tespit edilmektedir. Soru 20 de “İnsan hatasına bağlı kazalar ve kayıplar robot sistemler ile büyük oranda aşılabacaktır” benzer oranlarda katılımcılar tarafından kabul görmüş bir süreçtir.

V.SONUÇ VE ÖNERİLER

Endüstri 4.0 kavramı ve bileşenleri ülkemizde her alanda kendine yer bulmuş önemli başlıklar arasında yer alıyor. Ülkemizin daha önceki sanayi devrimlerine geç dahil olması ve buna bağlı ekonomisinde yaşadığı sorunlar içinde bulunan bu yeni sanayi devrimine çok daha fazla ilgi göstermesine neden olmaktadır. Yakın dönemde çoğu akademisyen ve araştırmacı bu konu üzerine yayınlarını yoğunlaştırmış olsa da dünyaya öncülük edecek noktaya ulaşamamıştır. Bu sebeple sanayi ve hizmet sektörlerinin her alanında devlet ve özel sektörde yer alan tüm kurumlar büyük bir iş birliği ile bu sürece dahil olmalı ve kendi süreçlerinin dijitalleşmesine yatırım yapmalıdır. Endüstri 4.0 sadece nesnelerin interneti, bulut bilişim ve 3d yazıcılar gibi teknolojik bazı araç gereçlerden ibaret olmayıp aynı zamanda insanın eğitimi ve girişimci olması, inovasyonun ön planda yer alması ve dijitalleşmenin tüm iş süreçlerine dağıtılması gibi büyük kapsamda bir yaklaşımdır.

Lojistik sektörü içerdiği yoğun rekabet ve değişim ortamı nedeniyle herşeyden önce teknolojiye ve onun getirdiği yeniliklere ihtiyaç duymaktadır. Ülkemiz bulunduğu coğrafya ve sahip olduğu lojistik avantajlar ile tüm taşımacılık türlerinde ve lojistik yönetiminin tüm bileşenlerinde hızla dijitalleşme sürecine girmesi gerekmektedir. Ülkemizde lojistik sektörünün Endüstri 4.0 performansını ölçen geniş çaplı bir çalışma yapılmamış olmakla birlikte Tubitak (2016) tarafından yapılan çalışmada ülke genelinde Endüstri 2.0 ile Endüstri 3.0 arasında bir konumda olduğu görülmektedir. Bu bilgiye ek olarak ülkemizde lojistik sektörünün çok

farklı dinamiklere sahip olduğu gerçeği de göz önüne alınmalıdır. Sektörün büyük kısmı küçük ve orta ölçekli firmalardan oluşmakla birlikte maliyet avantajı sağlamak için yatırımlar yetersiz kalmaktadır. Buna ek olarak sektörün öncü firmaları ilerleyen teknolojik gelişmelerin avantajlarından faydalanmak için büyük oranlarda yatırımlar yapmaktadır. Lojistik firmaları için bir değerlendirme yapılmak istendiğinde sektörde yer alan firmaları adet bazlı olarak değil ciro olarak sıralamak ve değerlendirme bu yönlü daha doğru olacaktır. Buna ek olarak lojistik sektöründe Endüstri 4.0 hangi bileşenleri yer alacağı konusunda da çalışma yapmak gerekmektedir. Araştırmamızda elde ettiğimiz verilerde teknolojik anlamda nesnelerin interneti, robotik, veri madenciliği, depo otomasyon sistemleri gibi teknolojiler sektörün ihtiyaçlarını karşılama konusunda yeterli gelmektedir. Endüstri 4.0 olgunluk modellerinde yer alan siber fiziksel sistemler, 3D yazıcılar ve diğer teknolojiler lojistik sektörü için etkili ve verimli olmamaktadır. Ülkemiz genelinde kamu tarafından da destek verilerek sektörün ihtiyaçlarını ölçen ve yön gösteren bir çalışma yapılması büyük önem taşımaktadır.

Yaptığımız anket çalışmasında sektörün görüşlerini aldık ve sektördeki ihtiyaçları belirlemeye çalıştık. Bu çalışmalarda sektörde Endüstri 4.0 yaklaşımının doğru algılanmadığı, bazı teknolojik bileşenlerin olumsuz görüşlere neden olduğunu tespit ettik. Sektör genelinde çoğunlukla küçük ve orta ölçekli firmalar yer alması firmalara endüstri 4.0 yolculuklarındaki yatırım planlarının ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuçlarda lojistik sektörü içerisindeki temel ihtiyaçların nitelikli iş gücü, doğru yatırım ve teknoloji yönetimi yapılması, sektöre dair süreçlerin ve verilerin doğru analiz edilmesi gibi ihtiyaçlara sahip olduğu tespit edilmiştir. Lojistik eğitiminin yeni teknolojiler göz önüne alınarak hazırlanması gerekmektedir. Şirketlere yatırımlar yapabilmeleri için teşvikler ve vergi avantajları sağlanmalıdır. Lojistik sektöründe küresel firmalara sahip olabilmek için değişen dünyayı ve değişen teknolojileri şirketlerin doğru anlaması ve kurum kültürüne doğru aktarması şarttır. Gelecek çalışmalarda otonom sistemlerde, veri madenciliğinde ve artırılmış gerçeklik teknolojilerinde lojistik uygulamaları daha detaylı araştırılması araştırmacılar için katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Ackermann R, 2013, M2M, Internet of Things and Industry 4.0 – An Industry Perspective, http://www.acatech.de/fileadmin/user_upload/Baumstruktur_nach_Website/Acatech/root/de/Material_fuer_Sonderseiten/Second_German-Indian-Workshop/India_01_13_Industrie40_m2m_Ackermann_SAP.pdf, (available on 28.08.2017)

- [2] Adeyeri S., Kanisuru M., Khumbulani M., Olukorede T. (2015), Integration of Agent Technology into Manufacturing Enterprise: A Review and Platform for Industry 4.0, *Proceedings of the 2015 International Conference on Industrial Engineering and Operations Management Dubai*, United Arab Emirates (UAE), pages 1625-1635
- [3] Alayaa M., Banouara D., Monteila S., Chassota Z., Drira T. (2014), OM2M: Extensible ETSI-compliant M2M service platform with self-configuration capability, *Computer Science*, vol. 32, pp. 1079-1086
- [4] Baygin M., Yetis H., Karakose M., Akin E. (2016), An Effect Analysis of industry 4.0 to Higher Education, *2016 15th International Conference on Information Technology Based Higher Education and Training (ITHET)*, July 10-12, 2017, Ohrid, Macedonia
- [5] Biral A., Centenaro M., Zanella A., Vangelista L., Zorzi M. (2015), The challenges of M2M massive access in wireless cellular networks, *Digital Communications and Networks*, Vol 1, No 1, pp. 1-19
- [6] Bourke R., Mentis M. (2014), An assessment framework for inclusive education: integrating assessment approaches, *Assessment in education*, volume 21, No. 4, pages 384-397
- [7] Büyüköztürk Ş., "Faktör Analizi", *Ankara Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Fakültesi*, 2002
- [8] Dener M., Bostancıoğlu C., (2015) Smart Technologies with Wireless Sensor Networks, *Social and Behavioral Sciences* Vol 195, pp. 1915 – 1921
- [9] Fallera C., Feldmüllera D. (2015), Industry 4.0 Learning Factory for regional SMEs, *The 5th Conference on Learning Factories 2015*, Volume 32, 2015, Pages 88-91
- [10] Filippi S., Barattin D. (2012), Classification and Selection of Prototyping Activities for Interaction Design, *Intelligent Information Management*, volume 4, Pages 147-156
- [11] Giasiranis S., Sofos L. (2016), Production and Evaluation of Educational Material Using Augmented Reality for Teaching the Module of "Representation of the Information on Computers" in Junior High School, *Creative Education*, volume 7, pages 1270-1291
- [12] Hofmann E., Rüscher M. (2017), Industry 4.0 and the current status as well as future prospects on logistics, *Computers in Industry*, Vol. 89, Pages 23-24
- [13] Ignaccolo M. (2010), A simulation model for airport capacity and delay analysis, *Transportation Planning and Technology*, April 2003 Vol. 26, No 2, Pages. 135–170
- [14] Kagermann, H., W. Wahlster and J. Helbig, eds., (2013), Recommendations for implementing the strategic initiative Industry 4.0: Final report of the Industry 4.0 Working Group, http://www.acatech.de/fileadmin/user_upload/Baumstruktur_nach_Website/Acatech/root/de/Material_fuer_Sonderseiten/Industrie_4.0/Final_report__Industrie_4.0_accessible.pdf Kba S. (2015), Cloud based health system, *Computer Science*, volume 18, pages 989-1000 (accessed in 22.05.2017)
- [15] Kim H., Lee S., Park H., Lee G., (2005), A model for a simulation-based shipbuilding system in a shipyard manufacturing process, *International Journal of Computer Integrated Manufacturing*, Vol. 18, No 6, September 2005, Pages. 427 – 441
- [16] Lee J., Bagheri B., Kao H. (2015a), "A cyber systems architecture for Industry 4.0 based manufacturing Systems", *Manufacturing Letters*, Volume 3, Pages 18–23
- [17] MUSİAD(2018), Lojistik Endüstri 4.0 raporu http://www.musiad.org.tr/F/Root/Pdf/lojistik_raporlari_2017_12_25.PDF
- [18] Pan M., Kraft M. (2015) Applying Industry 4.0 to the Jurong Island Eco-Park, *Energy Procedia*, Volume 75, August 2015, Pages 1536-1541
- [19] Peres R., Parreira-Rocha M., Rocha A., Barbosa J., Leitão P., Barata J. (2016), Selection of a Data Exchange Format for Industry 4.0 manufacturing Systems, *Industrial Electronics Society, IECON 2016 - 42nd Annual Conference of the IEEE*, 23-26 Oct. 2016, Florence, Italy
- [20] Qin J., Liu Y., Grosvenora R. (2007) A Categorical Framework of Manufacturing for Industry 4.0 and Beyond, *Virtual Production*, Volume 52, 2016, Pages 173-178
- [21] Rosendahl R., Schmidt N., Lüder A., Ryashentseva D. (2016), Industry 4.0 value networks in legacy systems, *Emerging Technologies & Factory Automation (ETFA), 2015 IEEE 20th Conference on*, 8-11 Sept. 2015, Luxembourg, Luxembourg
- [22] Ruivo P., Oliveira T., Neto M. (2014a), ERP post-adoption: value impact on firm performance, *Information Systems and Technologies (CISTI), 2012 7th Iberian Conference on*, 20-23 June 2012, Madrid, Spain
- [23] Schouh G., Gartzten T., Marks A. (2015), Promoting work-based learning through Industry 4.0, *CIRP Conference on Learning Factories*, Volume 32, 2015, Pages 82-87
- [24] Schumacher A., Erol S, Sihna W. (2016), A maturity model for assessing Industry 4.0 readiness and maturity of manufacturing enterprises, *Reconfigurable & Virtual Production*, volume 52, pages 161-166
- [25] Shi Y, Lin L., Zhou C., Zhu M., Xie L. Chai G. (2017), A study of an assisting robot for mandible plastic surgery based on augmented reality, *Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies*, Vol. 26, No 1, pp.23–30
- [26] Sogoti (2014), Industry 4.0 report, <https://www.fr.sogeti.com/globalassets/global/downloads/reports/vint-research-3-the-fourth-industrial-revolution>, accessed in (23.05.2017)
- [27] Stock T., Seliger G. (2016), Opportunities of Sustainable Manufacturing in Industry 4.0, *School of economy*, Volume 40, 2016, Pages 536-541
- [28] Sun C. (2012), Application of RFID Technology for Logistics on Internet of Things, *Procedia Computer Science*, Volume 1, 2012, Pages 106-111
- [29] Tekez E., Taşdeviren G. (2016), A model to assess leanness capability of enterprises, *Procedia Computer Science*, volume 100, pages 776-781

- [30] TÜBİTAK (2016), Endüstri 4.0 Yeni Sanayi Devrimi Yol Haritası, 3-4 Kasım 2016, Tubitak Ankara
- [31] Tuncel C., Polat A. (2016) Sectoral system of innovation and sources of technological change in machinery industry: an investigation on Turkish machinery industry, *Innovation and Business Management*, Volume 229, Pages 214-225
- [32] TUSIAD (2016), Tusiad industry 4.0 in turkey as an imperative for global competitiveness an emerging market perspective, http://tusiad.org/tr/yayinlar/raporlar/item/download/7848_180faab86b5ec60d04ec929643ce6e45 accessed in (23.05.2017)
- [33] UK Government office, Education Report of IOT technology, https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/409774/14-1230-internet-of-things-review.pdf (accessed in 18.06.2017)
- [34] Wang X. ,Chen R. (2009), An experimental study on collaborative effectiveness of augmented reality potentials in urban design, *CoDesign* ,Vol. 5, No. 4, pp.229–244
- [35] Weyer S., Schmitt M., Ohmer M., Gorecky D. (2015), Towards Industry 4.0 - Standardization as the crucial challenge for highly modular, *Multi-vendor production systems*, Volume 48, Issue 3, Pages 579-584
- [36] Witkowski K. (2017), Internet of Things, Big Data, Industry 4.0, Innovative Solutions in Logistics and Supply Chain Management, *Procedia Engineering*, Vol. 182, pages 763-769
- [37] Xinga Y., Malcolm R., Hornera W., El-Harama M., Bebbington J. (2009), A framework model for assessing sustainability impacts of urban development, *Accounting Forum*, Volume 33, Issue 3, September 2009, Pages 209-224
- [38] Yusof M., Othman M, Omar Y. and Yusof M. (2013), The Study on the Application of Business Intelligence in Manufacturing: A Review, *IJCSI International Journal of Computer Science Issues*, Vol. 10, Issue 1, No 3,317-324
- [39] Zarte M., Pechmann A. (2016), Building an Industry 4.0-compliant lab environment to demonstrate connectivity between shopfloor and IT levels of an enterprise, *Industrial Electronics Society , IECON 2016 - 42nd Annual Conference of the IEEE, 23-26 Oct. 2016, Florence, Italy*

İndoksakarb Kalıntısı ve Bozunma Ürünü için Yeni Bir Tayin Yöntemi Geliştirilmesi

Development of a New Determination Method for Indoxacarb Residue and Its Degradation Product

Soner ÇUBUK¹, Adnan AYDIN^{1,2}

¹ Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 34722, Kadıköy-İstanbul.

² İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 34394, Şişli- İstanbul.

Öz

Günümüzde özellikle son 20 yıl süresince kullanımı çarpıcı bir şekilde artan pestisitler, modern tarımda böcekler, yabancı otlar, mikroorganizmalar gibi zararlıları kontrol altına almak ve ürün verimini arttırmak için kullanılmakta olup hedef olmayan su, toprak ve gıdaları kirletmelerinin yanı sıra insan, evcil hayvanlar, bal arıları ve kuşlar için potansiyel sağlık riski gösterebilmektedirler. Zehirli olmalarının yanı sıra aynı zamanda bu bileşikler kanser yapıcı oluşumlara da sebep olurlar. Böceklerin ve yabancı otların bu kimyasallara olan dayanıklılığının artması sonucu dünya çapında pestisit kalıntı problemlerine yol açan daha fazla pestisit geliştirilmiş ve daha yüksek dozlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte pestisitler, besin zincirine çeşitli yollarla girerek canlıların vücutlarında biyolojik birikime uğramakta ve bu besin zincirinde ilerlerken her aşamada daha büyük miktarlara erişmektedirler.

Balın da arasında bulunduğu gıdalar başta olmak üzere birçok matristeki pestisitlerin analizinin yapılması canlıların ona ne oranda maruz kaldığının doğru bir şekilde değerlendirilmesi bakımından büyük bir önem arz etmektedir. Bu nedenle pestisitlere ait kalıntı seviyelerinin tespiti ve kullanılan metotların güncel mevzuatlarda yer alan tolere edilebilir kalıntı konsantrasyonları da kapsamı beklenmektedir. Son yıllarda bu alanda bazı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen ülkemizde ballardaki pestisit tayinleriyle ilgili çok az çalışma bulunmaktadır.

Çalışmamızda bal örneklerinde İndoksakarb ((S)-7-kloro-3-[metoksikarbonil-(4-trifluorometoksi-fenil)-karbamoyl]-2,5-dihidro-indeno[1,2-e][1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilik asit metil esteri) kalıntısının ve bozunma ürününün belirlenmesi için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Diklorometan ile ekstraksiyon sonrasında, Gaz Kromatograf-Kütle Spektrometresi kullanılarak indoksakarb ve bozunma ürününü tayin edilmiştir. Geliştirilen metota ait geri kazanım yüzdesi, tespit ve tayin sınırları sırasıyla %78,7±5,5 ; 0,03 mg/kg ve 0,11 mg/kg olarak hesaplanmıştır.

İndoksakarb ile kirletilmiş kestane, çiçek, çam ve ayçiçek balı numuneleri 3 farklı sıcaklıkta 8 ay süresince izlenmiş ve beşinci ayda 4-(trifluorometoksi)fenil izosiyanat, literatürde belirtilenlerden farklı bir bozunma ürünü olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: İndoksakarb, Bal, Bozunma Ürünü, GC-MS.

Abstract

Today pesticides, which have increased dramatically over the last 20 years, modern agriculture is used to control pests such as insects, weeds, microorganisms and to increase crop yields, but they pollute non-target water, soil and food, and can also present potential health risks for humans, domestic animals, honey bees and birds. Besides being toxic, they are also cause of cancerous formations. As a result of increasing resistance of insects and weeds to these chemicals, more pesticides have been developed worldwide and have begun to be applied to higher doses. In addition, pesticides enter the food chain in a various way, bioaccumulating in the bodies of living beings and reaching large quantities at each stage as they travel through this food chain. The analysis of pesticides in most of the matrices, especially the foodstuffs, including honey, including honey, is of great importance in terms of correctly assessing how the living beings are exposed to it. For this reason, it is expected that the residue levels of pesticides and the methods used will also include tolerable residue concentrations in current legislation. Although there have been some studies in this area in recent years, there are very few studies on pesticide determination in our country. In our study, a new method was developed to determine the residues of Indoxacarb ((S)-7-chloro-3-[methoxycarbon-

yl-(4-trifluoromethoxy-phenyl)- carbamoyl]-2,5-dihydro-indeno[1,2-e][1,3,4]oxadiazine-4a(3H)- carboxylic acid methyl ester) and its degradation product in honey samples. After extraction with dichloromethane, Indoxacarb and its degradation product were determined using Gas Chromatograph-Mass Spectrometry. The percent recovery, detection and detection limits of the developed method were $78.7 \pm 5.5\%$; 0.03 mg/kg and 0.11 mg/kg , respectively.

Samples of chestnut, flower, pine and sunflower honey spiked with indoxacarb were observed at 3 different temperatures for 8 months, and in the fifth month 4- (trifluoromethoxy) phenyl isocyanate was identified as a degradation product different from the ones mentioned in the literature.

Keywords: Indoxacarb, Honey, Degradation Product, GC-MS.

I. GİRİŞ

Pestisitler sayısız faydalarına rağmen doğamızı kirleten çok zehirli maddeler olup, canlıların vücutlarında biyolojik olarak birikmek suretiyle yoğunlaşmakta ve aynı zamanda gittikçe biyoderişiklenerek de daha büyük bir orana erişmektedir. Pestisitlerin bitki hastalıklarının ve böceklerin önlenmesi ve dolayısıyla ürün veriminin artırılması amaçlarıyla kullanılması, her ne kadar tarımsal açıdan birtakım faydalar getirirse de aşırı kullanımı çok fazla kalıntı bırakmakla kalmayıp aynı zamanda çevreyi de ciddi anlamda kirletmekte ve çeşitli yollarla besin zincirine katılarak insan ve hayvanların sağlığını ve hayatını tehdit etmektedir. Çoğunlukla pamuk, lahana, tatlı mısır, patlıcan, domates gibi sebzeler, elma, armut ve kiraz dahil meyveler için kullanılmakta olan indoksakarb; organofosfatlar, karbamatlar ve pretreoidlere karşı direnç kazanmış böcekler için ilk ticari pirazolin tip insektisit olmakla birlikte, bu pestisit çevre için güvenli, hedefte olmayan organizmalar için düşük zehirlilik, yüksek böcek öldürücü aktivite gibi özellikleri olduğu iddia edilmektedir. İnsanlar için her ne kadar pestisit veritabanlarında toksik etkilerine ait herhangi bir bilgi bulunmasına rağmen, laboratuvarında hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar indoksakarba çeşitli yollarla maruz kalan sıçan, fare, tavşan ve köpeklerin olumsuz olarak etkilendiğini göstermektedir. Bu yan etkiler arasında burun akıntısı, gözlerde iltihaplı akıntı, hareketsizlik, uyku hali, titreme, spazmlar, salya ve hızlı kilo kaybı bulunmaktadır. Ayrıca indoksakarba maruz kalan sıçanların 20 gün içinde öldüğü de raporlanmıştır. İndoksakarbın hayvanlar üzerindeki bu olumsuz etkilerinin yanı sıra insanlar için de methemoglobinemi, hemolitik anemi, rabdomiyoliz adı verilen kas dokularının hasarı, akut solunum sıkıntısı sendromu, periferik nöropati olarak bilinen sinir ucu iltihabı, akut böbrek yetmezliği, ritim bozukluğu, kalp yetmezliği ve kalp durması gibi olumsuz

durumları içeren nörolojik, kardiyovasküler ve hematolojik birçok vaka bildirilmiştir [1-3].

Balın insan tüketimi için güvenli olabilmesi herhangi bir kimyasal veya biyolojik kontaminasyondan arındırılmış olmasına bağlıdır. Pestisitler balın toplanması sırasında kovadaki hastalıkların tedavisinde kullanılmasıyla direkt olarak; toprak, hava, su aracılığı ile veya arıların bal yapmak için çiçeklerden nektar toplaması sırasında vücutlarına bulaşması ve kovana taşınması ile de indirekt olarak kirliliğe sebep olabilmektedir [4].

Günümüzde gıdalarda bulunan pestisit kalıntılarının miktarı kalite güvenliğinin önemli bir göstergesi haline gelmiş olup pestisit kalıntılarının etkin bir şekilde kontrol edilebilmesi için hızlı bir tespit yöntemi geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kullanılan numune hazırlama yöntemleri genellikle, ekstraksiyon, izolasyon ve gerektiğinde analiz yapılacak matristen hedef pestisit fraksiyonlanması için ek analitik adımlar içermektedir. Bu amaçla farklı ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Pestisit kalıntısının belirlenmesi için örnek ön işleme teknikleri, esas olarak geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE), matris katı faz dispersiyonu (MSPD), katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME), katı faz ekstraksiyonu (SPE), jel kromatografisi (GPC) ve QuEChERS (Hızlı, Kolay, Ucuz, Etkili, Sağlam, Güvenli) yöntemlerini içermektedir. Geleneksel yöntemlerin zaman alıcı olma, çok fazla numuneye ihtiyaç duyma, daha az doğruluk, laboratuvar personeli için düşük güvenlik, otomasyona uygun olmama ve sızıntı problemleri gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır. Literatürde baldaki pestisit kalıntı analizi için çeşitli metotlar önerilmiştir [5-7]. Öncelikle matristen analitin ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bunun için hekzan/asetonitril veya çözücü karışımları ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılabildiği gibi ODS-3 veya Florasil-5 kartuş kullanılarak katı faz ekstraksiyonu, süper kritik akışkan ekstraksiyonu veya katı faz mikro ekstraksiyonu da yapılabilmektedir [8-11]. Ekstraktlar genellikle Gaz Kromatograf- Kütle Spektrometresi (GC- MS), Gaz Kromatograf- Elektron Yakalama Dedektörü (GC-ECD), Gaz Kromatograf- Azot-Fosfor Dedektörü (GC- NPD), Gaz Kromatograf- Alev İyonizasyon Dedektörü (GC-FID), kapiler GC-MS, Gaz Kromatograf-Atomik Emisyon Dedektörü (GC-AED), Sıvı Kromatograf- Kütle Spektrometresi (LC-MS), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi- Diyot Dizinli Dedektör (HPLC-DAD) ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak analiz edilmektedir [9-10,12-17].

Çalışmamız iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama bal ortamındaki indoksakarbın tayin edilebilmesi için yeni bir yöntem geliştirilmesini içermekte olup tayin için gerekli uygun şartlar belirlenmiştir. Bu amaçla indoksakarb ile

kirletilmiş bal örneklerinden ekstraksiyon için en uygun çözücünün belirlenmesi yapılmış, ardından tayin için en uygun GC-MS şartlarına karar verilmiştir. İkinci aşamada ise çiçek, kestane, çam ve ayçiçeği bal numuneleri indoksakarbın bilinen bir konsantrasyonu ile kirletilmiş ve oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C’de 8 ay süresince izlenerek bu süre zarfında indoksakarb ve bozunma ürününün belirlenmesi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda indoksakarbın literatürde daha önce karşılaşılmamış olan 4-(triflorometoksi)fenil izosiyanat adlı bir bozunma ürünü ile karşılaşılmıştır. Geliştirilen yöntem ile bal numunelerinde indoksakarb kalıntısı güncel mevzuatların kriterlerini de karşılayacak şekilde [18], kolay, hızlı ve hassas olarak yapılabilmektedir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımızda kullanılan kimyasal maddelerin tamamı GC saflıkta olup indoksakarb Sigma’dan, diklorometan, etil asetat, kloroform, asetonitril, aseton ve metanol Merck’ten temin edilmiştir.

2.2. Deneysel Yöntemler

Çalışmamızda öncelikle bal numunelerindeki indoksakarbın tayini için yöntem geliştirilmesi amacıyla bu pestisit ile kirletilmiş bal örneklerinden ekstraksiyonunda kullanılacak en uygun çözücüye ve tayin için en uygun GC-MS şartlarına karar verilmiştir. İkinci aşamada ise çiçek, kestane, çam ve ayçiçeği balı numuneleri indoksakarbın bilinen bir konsantrasyonu ile kirletilmiş ve oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C’de 8 ay süresince izlenerek bu süre zarfında indoksakarb ve bozunma ürününün belirlenmesi yapılmıştır.

Uygun GC-MS şartlarının belirlenmesi için asetonitril içinde hazırlanmış indoksakarb çözeltisi kullanılarak yapılan çalışmada kromatogramdaki piklerin simetrik olması, kuyruklanma yapmamış olması gibi kromatografik olarak kabul edilebilir pik karakteristiklerine ulaşılması esas alınmış ve farklı sıcaklık programları, farklı enjeksiyon hacimleri gibi değişkenler incelenmiştir. GC-MS şartların belirlendikten sonra kalibrasyon grafiği hazırlanması aşamasına geçilmiştir. Asetonitrilde çözülerek hazırlanmış olan İndoksakarb çözeltisinden (100 ppm) uygun hacimler alınarak sırasıyla 9 farklı konsantrasyonda olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Karar verilen GC-MS şartlarında elde edilen grafik Şekil 1’de verilmiştir.

Ekstraksiyon için uygun çözücü seçimi yapılması amacıyla ise 1 ppm düzeyinde indoksakarb ile kirletilmiş bal örnekleri için farklı çözücülerle sıvı-sıvı ekstraksiyonu

çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen ekstraktlar azot gazı altında buharlaştırılmış ve daha önce karar verilen şartlarda GC-MS ile analiz edilmiştir. Bu şartlar altında elde edilen kromatogram ve spektrum Şekil 2’de, geri kazanım yüzdelelerini gösteren değerler Tablo 1’de verilmiştir.

Tespit ve tayin sınırlarının hesaplanması için 0,1 mg/kg konsantrasyonunda indoksakarb içeren 6 farklı bal örneği ile çalışılmıştır. Baldan indoksakarb ekstraksiyonu için yapılan işlemler aynı şekilde bu bal örneklerine de uygulanmıştır. Sonuçlara ait ortalama değer ile standart sapma değerinin 3 katıyla toplanmasıyla tespit sınırı (LOD), standart sapma değerinin 6 katıyla toplanmasıyla tayin sınırı (LOQ) elde edilmiştir.

İndoksakarb kalıntısının ve bozunma ürününün belirlenmesi amacıyla İstanbul Arı Yetiştiricileri Birliği’nden temin edilen çam, ayçiçeği ve kestane balları ile marketten temin edilen çiçek balı kullanılarak yapılan çalışmada, 8 ay süresince oda sıcaklığı, 30°C, 40°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta bekletilmek üzere 100’er gram bal örnekleri alınmış ve üzerine aseton içinde hazırlanmış 2000 ppm’lik indoksakarb çözeltisinden 1’er mL katıldıktan sonra mekanik olarak uygun bir hızda karıştırılan bal örneklerinde son indoksakarb konsantrasyonunun 20 mg/kg olması sağlanmıştır. Bu ballardan belirli zamanlarda yaklaşık 1’er gramlık tartımlar alınarak 1 mL saf su ile girdaplı karıştırıcı yardımıyla homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Bunu takiben 2 defa 2’şer mL diklorometan ile dakikada 2000 devir hızıyla dönen santrifüj cihazında santrifüjlenmiş ve ele geçen organik fazlar birleştirilmiştir. Organik faz azot gazı altında uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen kalıntı 1 mL asetonitril ile çözülerek GC-MS cihazında karar verilen şartlarda analiz yapılmıştır. Benzer şekilde indoksakarb içermeyen bal örneği şahit olarak kullanılmış ve her sıcaklık değeri için aynı şekilde ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda indoksakarb miktarındaki değişimleri gösteren grafikler; çiçek balı için Şekil 3’te, kestane balı için Şekil 4’te, çam balı için Şekil 5’te, ayçiçek balı için Şekil 6’da verilmiştir.

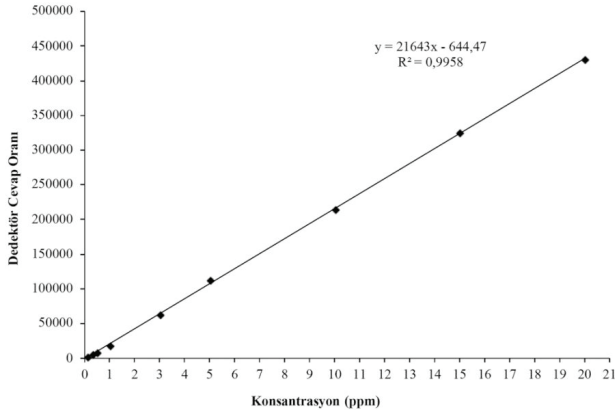
III. BULGULAR VE TARTIŞMA

Geliştirilen yönteme ait en uygun şartların belirlenmesi amacıyla farklı enjeksiyon hacmi ve farklı sıcaklık programlarında yapılan çalışmalar sonucunda kromatografik olarak kabul edilebilir pik karakteristiklerine ulaşılması esas alınarak yapılan değerlendirmeler ışığında tespit edilen analiz koşulları aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- Kolon: HP-5-MS (uzunluk: 30 m, iç çap: 0,25 mm, film kalınlığı: 0,25 µm)

- Hareketli faz: Dakikada 1 mL akış hızında Helyum gazı
- Enjeksiyon sıcaklığı: 300 °C
- Kolon başlangıç sıcaklığı: 70 °C
- Kolon son sıcaklığı: 300 °C
- İyonizasyon enerjisi: 70 eV
- Enjeksiyon türü: Ayrımsız (Splitless)
- Enjeksiyon hacmi: 2 µL

Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması için 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 ppm konsantrasyonlarında asetonitril içerisinde hazırlanmış olan indoksakarb standart çözeltileri kullanılmış olup ilgili grafik Şekil 1’de yer almaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda yöntemle ait tespit ve tayin sınırları sırasıyla 0,03 mg/kg ve 0,11 mg/kg olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. İndoksakarba ait Kalibrasyon Grafiği.

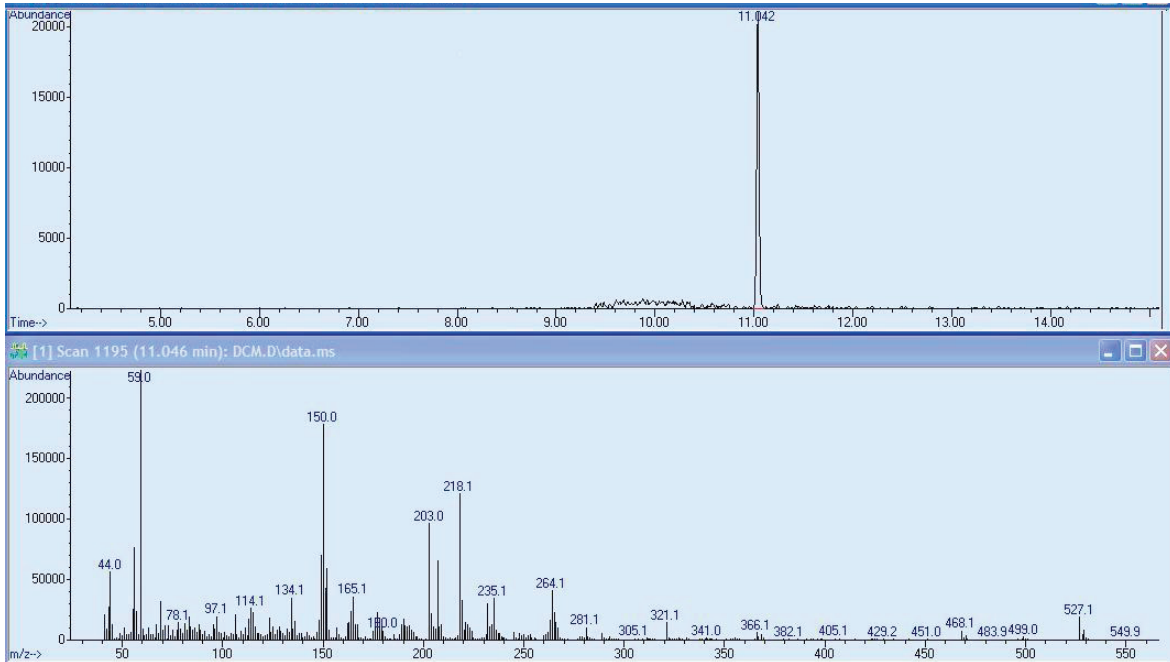
Yönteme ait karar verilen analiz şartları kullanılarak bal numunelerinden indoksakarbin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün tespiti amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen geri kazanım değerleri ve kromatogramlar incelendiğinde, geri kazanımı oranı olarak yeterli bir değer sağlayan ve karmaşık olmayan bir kromatogram veren diklorometana en uygun çözücü olarak karar verilmiştir. Tablo 1’den de görülebileceği gibi en yüksek geri kazanım oranını veren çözücü (%78,7±5,5) diklorometan olmuştur. Çalışmanın ilerleyen aşamalarındaki bal ortamından indoksakarbin ekstraksiyonunda diklorometan kullanılmıştır.

Tablo 1. Geri Kazanım Yüzdeleri (%95 Güven Aralığı, n=6)

Çözücü	% Geri Kazanım
Etil Asetat: Kloroform (80:20) (h/h)	56,7± 9,2
Kloroform	67,2± 9,4
Asetonitril	-
Diklorometan	78,7± 5,5

İstanbul Arı Yetiştiricileri Birliği’nden ve marketten temin edilen bal örnekleri, oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C’de bekletilmek suretiyle 8 ay boyunca indoksakarb miktarındaki değişimler izlenmiştir.

İlgili grafikler incelendiğinde çiçek balı örneğinde bulunan indoksakarb miktarları oda sıcaklığında 18,5 mg/kg değerinden 7,2 mg/kg değerine; 30 °C’de 17,6 mg/kg değerinden 7,4 mg/kg değerine ve 40 °C’de 19,9 mg/kg değerinden 7,7 mg/kg değerine düşmektedir (Şekil 3).

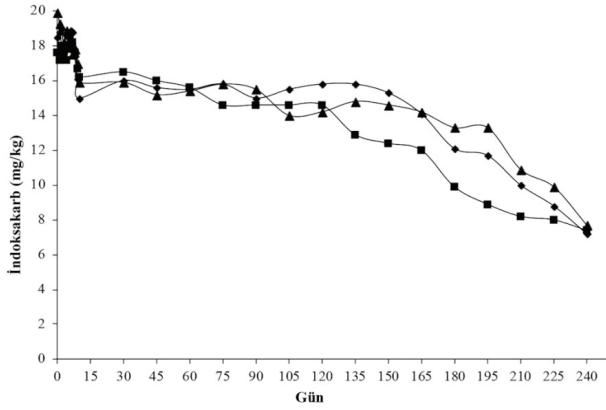


Şekil 2. Diklorometan İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum.

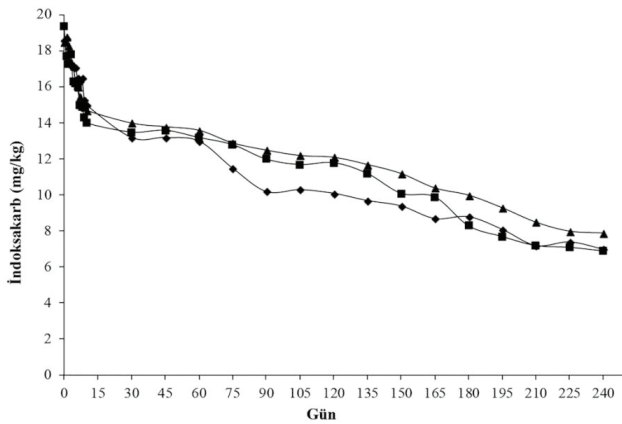
Kestane balı örneğine ait sonuçlara bakıldığında; oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C sıcaklıklarında indoksakarb miktarlarının sırasıyla 18,6 mg/kg değerinden 7,0 mg/kg değerine; 19,4 mg/kg değerinden 6,9 mg/kg değerine; 18,5 mg/kg değerinden 7,9 mg/kg değerine değiştiği görülmüştür (Şekil 4).

Çam balı örneğinde ise indoksakarb miktarlarının oda sıcaklığında 18,2 mg/kg değerinden 7,2 mg/kg değerine; 30 °C’ de 21,6 mg/kg değerinden 7,8 mg/kg değerine ve 40 °C’de 20,8 mg/kg değerinden 6,8 mg/kg değeri olacak şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 5).

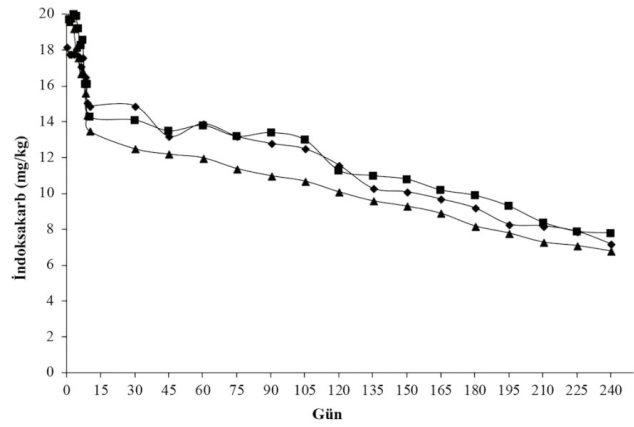
Yine benzer şekilde 8. ay sonunda ayçiçeği balı örneğindeki indoksakarb miktarları oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C sıcaklıklarında sırasıyla 18,7 mg/kg değerinden 7,2 mg/kg değerine; 20,9 mg/kg değerinden 6,9 mg/kg değerine; 19,1 mg/kg değerinden 6,8 mg/kg değerine azalmaktadır (Şekil 6).



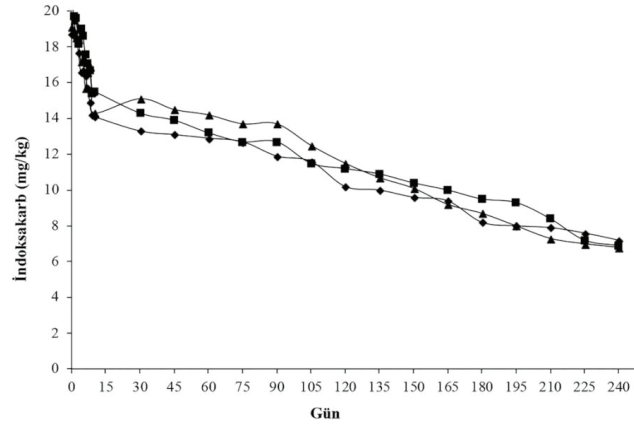
Şekil 3. Oda Sıcaklığı (u), 30 °C (n) ve 40 °C (p)'de Bekletilen Çiçek Balına Ait İndoksakarb Değişimi.



Şekil 4. Oda Sıcaklığı (u), 30 °C (n) ve 40 °C (p)'de Bekletilen Kestane Balına Ait İndoksakarb Değişimi.



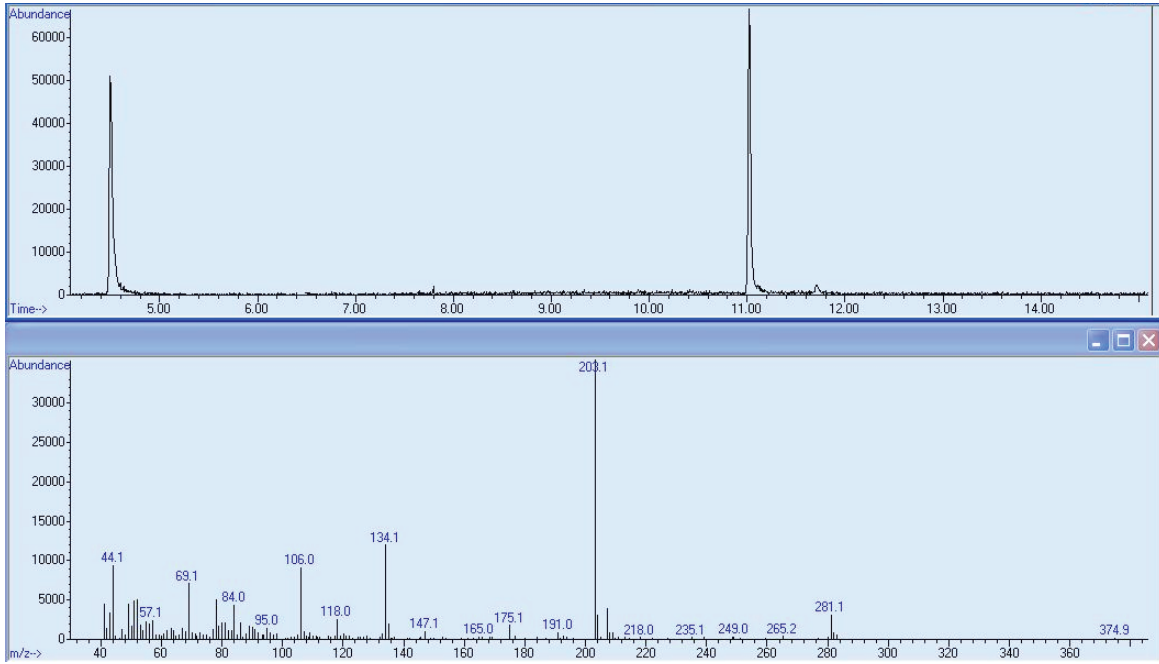
Şekil 5. Oda Sıcaklığı (u), 30 °C (n) ve 40 °C (p)'de Bekletilen Çam Balına Ait İndoksakarb Değişimi.



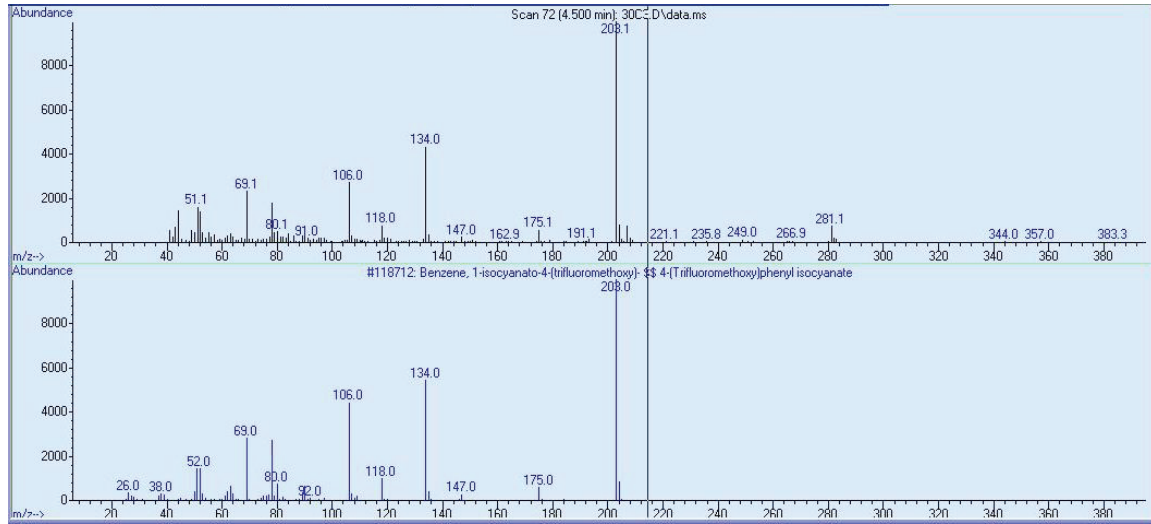
Şekil 6. Oda Sıcaklığı (u), 30 °C (n) ve 40 °C (p)'de Bekletilen Ayçiçeği Balına Ait İndoksakarb Değişimi.

3.1. Bozunma Ürünü İçin GC- MS Sonucu

Agilent firmasının kullandığı yazılım programında mevcut Pestisit; NIST ve Wiley kütüphanelerinde yapılan tarama sonucunda ilgili bozunma ürünü için 4-(triflorometoksi)fenil izosiyanat adlı madde bulunmuştur. İlgili kromatogram ve spektrumlar Şekil 7 ve Şekil 8, sonuca ait bilgiler ise Tablo 2’ de verilmiştir.



Şekil 7. Balda Gözlenen Bozunma Ürününe Ait Kromatogram ve Spektrum.



Şekil 8. Cihaza Ait Kütüphane Karşılaştırma Sonucunu Gösteren Spektrum.

Tablo 2. Cihazın Yazılımında Bulunan Pestisit, NIST ve Wiley Kütüphaneleri Tarama Sonucu.

Adı	: 4- (triflorometoksi)fenil izosiyanat
CAS Numarası	: 035037-73-1
Entry Number	: 118712
Molekül Formülü	: $C_8H_4F_3NO_2$
Diğer Bilgiler	
QI=899	Kaynak=NS-3-5588-0
Eşleşme Kalitesi	: 93
Molekül Ağırlığı	: 203,02

3.2. Sonuç ve Değerlendirme

Yaptığımız çalışmalar ışığında görülmüştür ki; geliştirilen yöntem balda indoksakarb analizini mümkün kılan kolay, basit ve hızlı bir yöntem olup literatürde ilk defa çalışılmıştır. John-Wiley ve Elsevier anahtar sözcük taramalarında ve ayrıca Chemical Index'lerde yapılan taramalarda, balda indoksakarb analizi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bizim çalışmamızda öncelikle sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi için çözücü seçimi yapılmıştır. Bunun için kloroform,

etil asetat:kloroform (80:20 (h/h), asetonitril ve diklorometan organik çözücülerini denemiş olup en iyi geri kazanım yüzdesini, %95 güven aralığında (n=6), %78,7± 5,5 ile diklorometan vermiştir. 1 gram bal örneği kullanıldığında tespit ve tayin sınırları sırasıyla 0,03 mg/kg ve 0,11 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Bu tespit sınırı aynı zamanda Avrupa Birliği Komisyonu tarafından belirlenen maksimum kalıntı limitleri mevzuatına göre ballarda izin verilen indoksakarb kalıntı limiti olan 0,05 mg/kg değerini de sağlamakta olup ilgili mevzuata uygun bir şekilde analiz yapılmasına da imkan sağlamaktadır [16]. Geliştirilen metot kolay uygulanabilir, hızlı ve balda indoksakarb kalıntısının belirlenmesi için uygulanabilir bir yöntemdir. Yöntemin uygulanması sırasında 1 gram bal örneğinden indoksakarbin ekstraksiyonu için 2 defa 2'şer mL diklorometan kullanılmalı ve her defasında ayrılan organik fazlar birleştirildikten sonra buharlaştırılarak GC- MS analizi için hazır hale getirilmelidir.

Oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C' de bekletilmiş olan market balı, kestane, çam ve çiçek balı örnekleri indoksakarb ile kirlendikten sonra belirli aralıklarla ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. İndoksakarb miktarlarındaki değişim sonuçları incelendiğinde; çiçek balı örnekleri için oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C' de sırasıyla %61,00; %57,60 ve %61,22 azaldığı görülmüştür. Benzer azalma miktarları kestane balı örneklerinde de tespit edilmiş olup değerler oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C' de sırasıyla %62,23; %64,54; %57,50'dir. Çam balı örneklerinde oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C' de sırasıyla 60,19; %64,06; %67, 29; ayçiçeği balı örneklerinde ise oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C' de sırasıyla %61,45; %66,92; %64,57'lik bir azalma tespit edilmiştir. 8 ay süresince yapılan analizler sonucunda indoksakarb miktarlarında meydana gelen azalma miktarları oldukça anlamlı olup pH'sı 4,0-4,50 arasında olan bal örnekleri için beklenen bir sonuçtur. Çalışmamızın en önemli bulgularından biri de indoksakarbin bal ortamında 4-(triflorometoksi)fenil izosiyanat bozunma ürünü vermesi olmuştur. İndoksakarbin bal ortamındaki bu bozunma ürününe literatürde ilk defa rastlanmıştır. Sağlık açısından bu bozunma ürününün ileri reaksiyonlar vermeden kalabilmesine balda fazla miktarda bulunan polihidroksi bileşiklerinin neden olduğu düşünülmektedir [19].

Dünyadaki endüstriyellemenin hızlı yayılımı, yeni teknolojilerin doğuşu, şehirlerin ve köylerin etrafındaki artan nüfus sebebiyle devamlı çarpık bir şekilde genişleyen kentleşme ve buna bağlı ihtiyaçların karşılanmasını sağlamak için yapılan teşebbüslerin hepsi ile pestisitlerin de aralarında olduğu kimyasal maddelerin aşırı miktarlarının tüketimi birbiriyle yakından ilişkilidir. Yaptığımız çalışma arılara olan zehirliliğinin yüksek olduğu bilinen indoksakarb adlı pestisit ve tespit edilen bozunma ürünün bal ve bal ürünlerine geçmesi sonucu bu ürünleri kullanan insanlardaki etkisinin değerlendirilmesi bakımından önemli bir katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Tankiewicz, M., Fenik, J., ve Biziuk, M. (2010). Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *Trends Analyt. Chem.*, 29(9), 1050-1063.
- [2] Sarver, J.W. (1996). Acute oral toxicity study with DPX-MP062 technical (approximately 75% DPX- KN128 and 25% DPX-KN127) in male and female rats. Unpublished report No. HLR 910-96 from DuPont Haskell Laboratory, Newark, Delaware, USA. Submitted to WHO by E.I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, Delaware, USA.
- [3] Shashibhushan, J., Huggi, V., Sunil Kumar, N., Poojari, M., Bobba, R. (2015). Indoxacarb Poisoning Presenting as Methemoglobinemia and Seizure. *J. Assoc. Physicians India.*, 63(12), 85-86.
- [4] Souza Tette, P.A., Rocha Guidi, L., de Abreu Glória, M.B., Fernandes, C. (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141.
- [5] Heinzen, H., Nollet, L.M.L., Fernandez-Alba, A.R. (2017). *Multiresidue Methods for the Analysis of Pesticide Residues in Food*, 1.baskı, CRC Press, Taylor-Francis Group, Boca Raton, Florida, U.S..
- [6] Kumar Das, S. (2014). Recent Developments in Clean up Techniques of Pesticide Residue Analysis for Toxicology Study: A Critical Review. *Univers. J. Agric. Res.*, 2(6), 199-203.
- [7] Merkle, S., Kleeberg, K.K., Fritsche, J. (2015). Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis-A Review. *Chromatography*, 2, 293-381.
- [8] Formica, G. (1984). Gas chromatographic determination of residues of bromopropylate and two of its degradation products in honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67(5), 896.
- [9] Blasco, C., Fernandez, M., Pico, Y., Font, G. (2004). Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1030(1-2), 77-85.
- [10] Rissato, S. R., Galhiane, M.S., Knoll, F.R.N., Apon, B.M. (2004). Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A*, 1048(2), 153-159.
- [11] Jimenez, J. J., Bernal, J.L., del Nozal, J., Martin, T., Mayorga, A.L. (1998). Solid-phase microextraction applied to the analysis of pesticide residues in honey using gas chromatography with electron-capture detection. *J. Chromatogr. A*, 829(1-2), 269-277.
- [12] Korta, E., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F. (1999). Kinetics and mechanism of amitraz hydrolysis in aqueous media by HPLC and GC-MS. *Talanta*, 48, 189-199.
- [13] Jimenez, J. J., Bernal, J.L., del Nozal, J., Toribio, K., Martin, T. (1998). Gas chromatography with electron-capture and

- nitrogen–phosphorus detection in the analysis of pesticides in honey after elution from a Florisil column: Influence of the honey matrix on the quantitative results. *J. Chromatogr. A*, 823 (1-2), 381-387.
- [14] Bernal, J.L., Jimenez, J.J., del Nozal, J., Higes, M., Llorente, J. (2000). Gas chromatographic determination of acrinathrine and 3-phenoxybenzaldehyde residues in honey. *J. Chromatogr. A*, 882(1-2), 239-243.
- [15] Korta, E., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., Kilchenmann, V., Bogdanov, S. (2001). Study of acaricide stability in honey. Characterization of amitraz degradation products in honey and beeswax. *J. Agric. Food Chem.*, 49(12), 5835-5842.
- [16] Korta, E., Bakkali, A., Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F. (2001). Study of semi-automated solid-phase extraction for the determination of acaricide residues in honey by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 930(1-2), 21-29.
- [17] Jimenez, J.J., Bernal, J.L., del Nozal, J., Novo, M., Higes, M., Llorente, J. (2000). Determination of rotenone residues in raw honey by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 871, 67-73.
- [18] Commission Regulation (EU) No 51/2014 of 20 January 2014 amending Annex II to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for dimethomorph, indoxacarb and pyraclostrobin in or on certain products is to be incorporated into the EEA Agreement.
- [19] Çubuk, S. (2008). Bal Örneklerinde Indoxacarb Kalıntısının ve Bozunma Ürünlerinin Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi. Doktora Tezi, Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adnan Aydın. Marmara Üniversitesi, Türkiye.

Carpobrotus Acinaciformis L. Metanol Ekstresinin Fitokimyasal Taraması ve Kanser Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması

Phytochemical Screening of *Carpobrotus Acinaciformis* L. Methanol Extract and Investigation of Cytotoxic and Apoptotic Effect of the Extract on the Human Metastatic Breast Cancer (MCF-7) and Human Colon Cancer (Caco-2) Cells

Tülay AŞKIN ÇELİK¹, Özlem Sultan ASLANTÜRK¹

¹ Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Merkez Kampüs, 09010, Aydın-TÜRKİYE

Öz

Bu çalışmanın amacı, *C. acinaciformis* L. (makas otu) bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinde (ME) fitokimyasal madde taramasının yapılması, ekstrenin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivitesi ve *in vitro* sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılmasıdır. Ekstrede bulunan fitokimyasallar standart metod ve HPLC analizi kullanılarak belirlenmiştir. *C. acinaciformis* ME, antioksidan aktivitesi (DPPH radikalini süpürme, H₂O₂ süpürme ve metal şelatlama assay), metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkisi MTT assay ile apoptotik etkisi ise DNA difüzyon assay ile belirlenmiştir.

Yapılan kalitatif fitokimyasal tarama test sonuçlarına göre; *C. acinaciformis* ME’de fenoller, taninler, flavonoidler ve antrakınon’ların bulunduğu, alkaloid ve saponinlerin ise bulunmadığı belirlenmiştir. Ekstrede bulunan toplam fenolik madde miktarı 61.26 ± 0,110 mg GAE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. ME’nin denenen bütün konsantrasyonlarda (100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml) yüksek seviyede DPPH radikalini süpürme aktivitesine sahip olduğu H₂O₂ süpürme aktivitesinin çok düşük olduğu, metal şelatlama aktivitesinin ise bulunmadığı belirlenmiştir.

ME, MCF-7 hücreleri üzerinde oldukça yüksek oranda sitotoksik etki göstermiş (p<0.05), Caco-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi ise daha düşük oranda olmuştur. ME’nin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerinde oluşturduğu apoptotik etki de sitotoksik etkiye benzerlik göstermiştir. Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi, Caco-2 hücrelerine nazaran daha fazla olmuş ve aradaki farkın istatistik açıdan da önemli olduğu bulunmuştur (p<0.05).

Anahtar Kelimeler: *Carpobrotus acinaciformis*, antioksidan aktivite, sitotoksik etki, apoptotik etki, fitokimyasal tarama

Abstract

Medicinal plants constitute an integral part of traditional healing customs in traditional culture. Many plants synthesize substances that are useful to the maintenance of health in humans and other animals. The demand for medicinal plants is currently increasing in both developed and developing countries for various reasons. For some it would be the growing recognition that natural products have fewer or even no side effects; for others it would be their accessibility and affordable costs that would tip the scales. A large number of extracts of plants, as well as some pure compounds isolated from these plants, have been screened for cytotoxicity against a wide range of cell lines. Such studies are necessary to determine whether biological activity is a specific phenomenon or whether it should be merely attributed to nonspecific toxicity. However, scientific data on biological effects and mechanisms of action of extracts from medicinal plants are still insufficient.

Cytotoxicity is a complicated process in human and animal systems, potentially involving direct cellular damage (e.g., with a cytotoxic anticancer agent, plant extracts) and other systemic effects. As it is difficult to measure cytotoxic effects *in vitro*, most assays investigate effects at the cellular level. Cells may die by necrosis, apoptosis, or autophagy (self-digestion), or they may cease proliferating (cytostasis) or become terminally differentiated. Cytotoxicity tests are therefore still useful, and new drugs, cosmetics, and food additives must be subjected to extensive cytotoxicity testing. *In vitro* tests are carried out widely in current ethnopharmacological research. The choice of assay to use when investigating cytotoxicity depends on the nature of the test substance, the expected response, and the target cell.

Cell growth or survival, the traditional measure of cytotoxicity, can be measured in various ways, including evaluating the net change in population size, a change in cell mass (total protein or DNA) or metabolic activity (e.g., DNA, RNA, or protein synthesis, MTT reduction). General viability criteria for cell cultures can also be divided in terms of the indicator and method of evaluation used.

Identification of medicinal plants with significant cytotoxic potential useful for the development of cancer therapeutics has gained increasing importance in the last decade, and research in this field is still expanding. Cancer is a public health problem all over the world. Herbal medicines have a vital role in the prevention and treatment of cancer and large numbers of plants and their isolated constituents have shown potential anticancer activity.

Carpobrotus acinaciformis (Aizoaceae) is a succulent plant, commonly found in the Mediterranean, living in salty soils, known for its resistance to cold, cold and thirst. It is known among the people as "makas otu" and "kaz ayağı" in our country. Extracts from *C. acinaciformis* plants are common in various countries including sinusitis, diarrhea, eczema in children and tuberculosis treatment; fresh leaves are used externally for mouthwashes, mouthwashes, lotions and antiseptic water.

In this study, qualitative phytochemicals were extracted from methanol extracts obtained from the aerial part of the *C. acinaciformis* plant, which is very uncommon in our country and very little information about secondary minerals. The phytochemicals present in the methanol extract (ME) were determined using standard methods and HPLC. ME of *C. acinaciformis* were tested for antioxidant activity by using DPPH radical scavenging, H₂O₂ scavenging and metal chelating assays. In vitro cytotoxic, apoptotic and necrotic effects of ME of *C. acinaciformis* on MCA-7 (human metastatic breast cancer) and Caco-2 (human colon cancer) cancer cell lines by using MTT assay, and apoptotic effect by using DNA diffusion assay.

As a result of qualitative phytochemical screening of ME of *C. acinaciformis* phenols, tannins, flavonoids and anthraquinones were detected but, alkaloids and saponins were not present. The total phenolic substance amount in the ME was calculated as 61.26 ± 0.110 mg GAE/g extract. ME was found to have high DPPH radical scavenging activity at all tested concentrations (100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml and 1000 µg/ml), but very low H₂O₂ scavenging activity and no metal chelating activity.

ME showed significantly high cytotoxic effect in MCF-7 cells (p < 0.05), while the cytotoxic effect on Caco-2 cells was lower. The apoptotic effect of ME on MCF-7 and Caco-2 cells was similar to the cytotoxic effect. The apoptotic effect of ME on MCF-7 cells was higher than that of Caco-2 cells and the difference was statistically significant (p < 0.05).

In vitro findings suggest that *C. acinaciformis* methanol extract may be used as a potential cytotoxic agent for DNA damage to breast cancer due to its strong cytotoxic and apoptotic effect on MCF-7 cells, and that it is a good candidate for herbal sources for breast cancer treatment and cancer therapy. However, it is necessary to study compounds in more detail, especially in the methanol extract.

Keywords: *Carpobrotus acinaciformis*, antioxidant activity, cytotoxic effect, apoptotic effect, phytochemical screening

I. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler ve tıbbi bitkilerden elde edilen ekstre, drog gibi ürünler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tıbbi bitkiler, özellikle antioksidan moleküller açısından zenginliği nedeniyle birçok çalışmanın odak noktası olmuş ve doğal antioksidanların araştırılmasına karşı gösterilen ilgi artmıştır. Ancak, tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraların biyolojik etkileri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilimsel veriler hala yetersizdir. Ülkemiz çok zengin bir bitki örtüsüne sahip olmasına rağmen bu kaynakların çeşitli hastalıkların tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmadığı, buna bağlı olarak da büyük bir parasal kaynağın yurtdışına aktarıldığı bilinmektedir.

Bitkilerin ikincil metabolik faaliyetleri sırasında ortaya çıkarak depolanan ve sadece besin olarak tüketildikleri zaman insan sağlığı için yararlı etkilerde bulunan biyoaktif bileşiklere fitokimyasallar (bitki kimyasalları) adı verilir [1]. Fitokimyasallar insan vücudunda barsak florasını, safra asitlerini ve pH'yı düzenledikleri gibi, intrasellüler matrikslerin bütünlüğünün sağlanmasına yardımcı olarak, hücrenin dış etkenlere karşı korunmasını da sağlarlar. Ayrıca enzimlerin aktivitesini arttırarak tümör oluşumu ve kanserleşmede önemli rol oynayan serbest radikallerin ve nitrozaminin oluşumunu engelleyici etkileri de bulunmaktadır [2].

Meyve, sebze ve bitkilerde bulunan doğal biyoaktif maddelerin kullanımı dünya çapında bir önemli hale gelmiştir [3-5]. Biyoaktif maddelerden bazılarının kanser önleyici ya da terapötik ajan olarak işlevleri olduğu [6-8], apoptotik hücre ölümünü başlatarak ve hücre siklusunun ilerlemesini engelleyerek kemoterapötik aktiviteye sahip oldukları ve biyoaktif maddelerin tümör hücrelerinde ortaya çıkardığı apoptozis indüksiyonunun, tümör tedavi yeteneğinin bir göstergesi olarak kabul edildiği belirtilmektedir [9-11].

Carpobrotus acinaciformis (Aizoaceae) Akdeniz Ülkeleri'nde yaygın olarak bulunan, tuzlu topraklarda yaşayan, sıcağa, soğuğa ve susuzluğa karşı dayanıklılığı ile bilinen, sukulent bir bitkidir. Ülkemizde halk arasında "makas otu" ve "kazayağı" olarak bilinmektedir. *C. acinaciformis* bitkisinden elde edilen ekstralar çeşitli ülkelerde geleneksel tıpta sinüzit, diyare, çocuklardaki egzama ile tüberküloz tedavisinde dahilen; taze yapraklarının suyu gargara, losyon ve antiseptik olarak ağız sağlığı için de haricen kullanılmaktadır [12].

Carpobrotus türlerinin flavonoidler, tanenler, alkaloidler, fitosteroller ve aromatik asitler gibi fitokimyasallar

(rutin, neohesperidin, hyperoside kateşin ve ferulik asit gibi flavonoidler) içerdiği ve bu kimyasalların antimikrobiyal, antioksidan, anti-enflamatuar aktivite gibi biyolojik özelliklere sahip oldukları daha önceki çalışmalarla gösterilmiştir [13, 14].

Bu çalışmada, ülkemizde kullanımı pek yaygın olmayan ve sekonder metabolitleri hakkında çok az bilgi mevcut olan *C. acinaciformis* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinde kalitatif fitokimyasal madde taraması yapılmış ve metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı, DPPH radikalini süpürme ile hidrojen peroksit süpürme ve metal şelatlama aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca, bitkiden elde edilen metanol ekstresinin MCF-7 (insan metastatik meme kanseri) ve Caco-2 (insan kolon kanseri) kanser hücre hatları üzerindeki *in vitro* sitotoksik, apoptotik ve nekrotik etkileri araştırılmıştır.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. C. acinaciformis'in Toplanması ve Metanol Ekstresinin Elde Edilmesi

C. acinaciformis bitkisi toprak üstü kısımları Adnan Menderes Üniversitesi, Merkez Kampüsü'nden 2011 yılı haziran ayında toplanmış, temizlenerek oda sıcaklığında ve gölgede kurutulmuştur. 50 g kuru bitki örneğinden metanol ekstraksiyonu yapılmış ve elde edilen ekstre filtre kağıdından süzülerek, evaporatörde 68 °C'de metanolü uçurulmuştur. Elde edilen stok ekstre denemelerde kullanılmaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

2.2. Fitokimyasal Madde Miktarının Belirlenmesi

Metanol ekstresinde bulunması muhtemel başlıca fitokimyasal grupları belirleyebilmek için, fitokimyasal madde (fenoller, taninler, steroidler ve terpenoidler, alkaloidler, saponinler ve flavonoidler) miktarının belirlenmesi için, Ravishankara et al (2002) ve Dominiquez (1974)'in belirlediği yöntemler kullanılmıştır [15, 16].

2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

C. acinaciformis metanol ekstresinin fenolik madde miktarının analizi, fenolik bileşiklerin FolinCiocalteu's çözeltisinde bulunan fosfotungustik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucu oluşan mavi renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun 760 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanan, Folin-Ciocalteu's spektrofotometrik yöntemine göre, kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.[17]. Çalışmada standart fenolik bileşik olarak gallik asit

kullanılmıştır. Ekstrenin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik asite(mg GAE/g ekstrakt) eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.4. Metanol Ekstresinin Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Analizi

C. acinaciformis metanol ekstresinde bulunan fenolik bileşiklerin HPLC ile belirlenmesi için yapılan analizler, Ege Üniversitesi EBİLTEM Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. HPLC analizi Agilent 110 series, DAD detektörü (diode array detection) ve, EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-10 C-18 tipi kolon kullanılarak 25 °C'de yapılmıştır. Enjeksiyon hacmi 0.5 ml'dir. Deteksiyon ise 282 ve 350 nm'de yapılmıştır. 0.1 % formik asit, su ve 0.1 % formik asit, asetonitril çözücü olarak kullanılmış ve analiz izokritik yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde standart olarak, neohesperidin, uvaol, rutin ve β-sitosterol kullanılmıştır.

2.5. Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ile Belirlenmesi

Metanol ekstresinin serbest radikal süpürme aktivitesi, DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) Brand-Williams ve ark. (1995)'na göre belirlenmiş [18] ve ekstrenin absorbans değeri 517 nm'de okunmuştur. Düşük absorbans değeri, yüksek orandaki serbest radikal süpürme aktivitesini göstermektedir. Çalışmada standart (kıyaslama maddesi) olarak bir flavonoid olan "rutin" kullanılmıştır. Ekstrenin denenen konsantrasyonlarının % DPPH radikal süpürme aktivitesi aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi} = \left[\frac{\text{Kontrolün absorbansı} - \text{Örneğin absorbansı}}{\text{Kontrolün absorbansı}} \right] \times 100$$

DPPH'nin %50'sinin inhibisyonunu sağlayan ekstre konsantrasyonu IC₅₀ olarak tanımlanır. Çalışmamızda bu değer, denemede kullanılan ekstre konsantrasyonlarına karşı % serbest radikal süpürme aktivite değerlerinin yerleştirilmesi ile elde edilen grafik kullanılarak hesaplanmış ve sonuç IC₅₀ = µg/mL olarak ifade edilmiştir.

2.6. H₂O₂ Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Metanol ekstresinin hidrojen peroksit süpürme aktivitesi Ruch ve arkadaşlarının belirledikleri yöntemine göre belirlenmiştir [19]. Çalışmada standart antioksidan olarak askorbik asit kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 3 ml metanol ekstresi ve askorbik asit çözeltisi üzerine fosfat tamponunda (0,1 M pH 7,4) hazırlanmış 1 ml 40 mM H₂O₂ çözeltisi eklenmiştir. Kontrol ise, 3 ml fosfat tamponu ve 1 ml 40 mM H₂O₂ çözeltisi olacak şekilde hazırlanmıştır. İçerisinde çözelti bulunan tüpler vorteksledikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 230 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Ekstre konsantrasyonlarının H₂O₂ süpürme aktivitesi aşağıda verilen formül kullanılarak belirlenmiştir:

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 \text{ süpürme aktivitesi} = 1 - \left[\frac{\text{Örneğin absorbanı}}{\text{Kontrolün absorbanı}} \times 100 \right]$$

2.7. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda (100, 250, 500 ve 1000 µg/ml) hazırlanan metanol ekstresinin demir (Fe²⁺) iyonlarını şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının belirledikleri yöntemle yapılmıştır [20]. 3 ml metanol ekstresi içerisine 150 µg 2 mM FeCl₂ çözeltisi eklenmiş, oda sıcaklığında 30 dakikalık inkübasyondan sonra, çözeltiye 5 mM 200 µg ferrozin çözeltisi eklenerek, karışım vortekslenmiştir. Karışım 10 dakika daha oda sıcaklığında bekletildikten sonra, sonuçlar 562 nm'deki absorbanı ferrozin hariç geriye kalan çözeltiden oluşan köre karşı kaydedilmiştir. Kontrol olarak metanol ekstresi yerine 3 ml distile su, standart şelatlayıcı ajan olarak da Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) kullanılmıştır. Ferrozin-Fe²⁺ kompleksinin metanol ekstresi tarafından inhibe edilme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Şelatlama Aktivitesi (\%)} = 1 - \left[\frac{\text{Örneğin Absorbansı}}{\text{Kontrolün Absorbansı}} \times 100 \right]$$

2.8. MCF-7 ve Caco-2 Kanser Hücrelerinin Çoğaltılması

Bu çalışmada kullanılan insan meme kanseri (MCF-7, ATCC® HTB-22) ve insan kolon kolorektal kanser hücre hatları (Caco-2, ATCC® HTB-37), Adnan Menderes Üniversitesi, Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ADÜ-BLTEM)'inden temin edilmiştir. Bu hücre hatlarının seçilme nedeni, meme ve kolon kanserlerinin ülkemizde de sık görülen kanser türleri arasında olması ve çok sayıda hastanın tedavisi için yeni ajanlara gereksinim duyulmasıdır.

Hücreler kendilerine özgü besi ortamlarında (MCF-7 için; 200 mM L-Glutamin, 10 mM essensiyel olmayan amino asit, 100 mM sodyum pruvat ve % 10 FBS içeren DMEM; Caco-2 için; 200 mM L-Glutamin, 10 mM essensiyel olmayan amino

asit, 100 mM sodyum pyruvate ve % 20 FBS içeren DMEM) 37 °C'de %5 CO₂ inkübatörde kültüre edilmiştir. Hücrelerin yeterince çoğalıp çoğalmadığının ve hücre canlılığının değerlendirilmesi için, hücreler tripan mavisi ile boyanarak sayım yapılmıştır. Yeterli sayıya ulaşan hücreler, 24'lük kuyucuklu plakalara besiyeri ortamında ekilmiştir.

2.8.1. Metanol Ekstresinin Kanser Hücreleri Üzerindeki in vitro Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) bir tetrazolyum tuzu olup, canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimine spesifiktir. Bu yöntemde, canlı hücrelerin mitokondrisinde yer alan süksinat-dehidrogenaz enzimi, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayarak suda çözünmeyen menekşe renkli formazan tuzlarını oluşturur. MTT yönteminde spektrofotometrik olarak ölçülen değer, kültürdeki hücrelerin metabolik aktivitelerini gösterir ve bu değer, yaşayan hücre sayısı ile ilişkilidir. Proliferasyon arttıkça formazan tuzu oluşumuna bağlı olarak absorbans değeri artış göstermektedir [21].

MCF-7 ve Caco-2 hücreleri farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (250 µg/ml, 500 µg/ml ve 1000 µg/ml) metanol ekstresi ile ön çalışmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak, 72 saat süreyle muamele edilmiş ve muamelelerden sonra hücrelerin bulunduğu ortama, besiyerinin 1/10'u kadar MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) ilave edilerek 4 saat süreyle inkübasyona devam edilmiştir. Süre sonunda ortama MTT solubilization çözeltisi (HCl/izopropanol) ilave edilerek, kristallerin çözünmesi için 1 saat süreyle oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda, çözünmeyen formazan kristalleri pipetaj yapılarak çözdürülmüş ve Eliza Plate Reader Spektrofotometre'de (Thermo Labsystems, Multiscan Spectrum) 570 nm'de absorbanslar belirlenmiştir. Çalışmada çözücü kontrol olarak % 0,1'lik DMSO ve pozitif kontrol olarak da 40 µg/ml Farmorubicin kullanılmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak sitotoksosite oranı hesaplanmıştır. Denemeler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.8.2. Metanol Ekstresinin Kanser Hücreleri Üzerindeki in vitro Apoptotik Etkisinin DNA Diffusion Yöntemi ile Değerlendirilmesi

C. acinaciformis metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerindeki in vitro apoptotik etkisi, DNA Diffusion Yöntemi ile belirlenmiştir [22]. Yöntem, erken, tipik ve

geç apoptotik hücrelerin belirlenmesine olanak sağlamanın yanı sıra apoptozisi nekrozisten ayırt etmek için de kullanılabilir.

Denemede kullanılan olan MCF-7 ve Caco-2 hücreleri 24 kuyucuklu plaklara ekilmiş, 24 saat inkübasyondan sonra ön denemelerden elde edilen sonuçlara dayanarak, 72 saat süreyle, hücre medyumunu ile seyreltilerek hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstresi ile muamele edilmiştir. Muamele süresi sonunda hücreler tripsinlenerek toplanmış ve santrifüjlendikten sonra süpernatant kısmı atılmış ve hücreler % 0,6'lık 3:1 yüksek çözünürlüklü agaroz (Agarose 3:1 HRB™, High Resolution Blend) ile süspanse edilmiştir. Süspanse edilen hücreler, %1'lik agarozla kaplanmış olan lamaların üzerine yayılarak preparat lamelle kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar oda sıcaklığında 5 dakika bekletilerek agarozun katılması sağlanmış, katılan agaroz üzerinden lamel dikkatlice uzaklaştırılmış ve preparat %2'lik SFR agaroz ile kaplanarak 3. bir tabaka oluşturulmuş ve preparat tekrar lamelle kapatılarak agarozun katılması için oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Preparatlar, taze hazırlanmış lysing (parçalama) ve DNA'yı denatüre edici özelliği olan çözültide (1,25 M NaCl, 1 mM tetrasodium EDTA, % 0,01 sodium lauroyl sarcosine, 5 mM Tris, % 0,2 DMSO, 0,3 N NaOH, pH>13,5) 10 dakika süreyle oda sıcaklığında kurutulmuş ve preparatlar, 30 dakika süreyle oda sıcaklığında nötralizasyon ve DNA'yı çöktürme çözültisinde (40 mM Tris-HCl, 50 ml saf etanol; final konsantrasyonu %50 + 100 mg spermine, final konsantrasyonu 1 mg/ml) bekletilmiştir (bu basamak tuzların, deterjanın ve hücresel makromoleküllerin uzaklaştırılması için tekrar edilmiştir). Preparatlar açık havada kurutulmuş ve 10 µM YOYO-1 boyası ile boyanmıştır.

Mikroskopik değerlendirmeler için, preparatlar 100 veya 400x büyütme, mavi filtreli (FITC uyarımı 490 nm, emisyon 510 nm ve dikroik 500 nm'de kullanılan) Olympus BX51 floresan mikroskopunda analiz edilmiştir. Her bir preparatta 1000 hücrede sayım yapılarak, apoptotik hücre yüzdesi hesaplanmıştır. Denemeler, uygulama grupları ve her bir kontrol grubu için 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.9. İstatistiksel Analiz

Üç tekrarlı denemelerden elde edilen tüm absorbansların sonuçları SPSS 13.00 (Statistic Program for Social and Science) yazılım programında ortalama ± SD (Standart hata) olarak hesaplanmıştır. Kontroller ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar, One Way ANOVA varyans analizi yapılarak değerlendirilmiştir (p<0,05).

III. BULGULAR

3.1. C. acinaciformis Metanol Ekstresinde Fitokimyasal Madde Taraması

C. acinaciformis bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinde yapılan kalitatif fitokimyasal tarama testlerine ait sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre, metanol ekstresinde en fazla fenollerin ve taninlerin olduğu belirlenmiş, flavonoid ve antrakinin'un az miktarda da olsa bulunduğu tespit edilmiş, alkaloid ve saponin'in varlığı ise gözlenememiştir.

Tablo 1. *C. acinaciformis* metanol ekstresinin fitokimyasal tarama bulguları

Aranan Fitokimyasal Madde	Test	Sonuç (Var/Yok*)
Fenoller	Phosphomolybdic acid test	++
Tanninler	Braemer's test	++
Alkaloidler	Dragondroff's test	-
Flavonoidler	Shinoda's test	+
Antrakininler	Bornträger test	+
Saponinler	Frothing test	-

+ : Varlığı az miktarda belirlenmiş

++ : Varlığı belirlenmiş

- : Varlığı belirlenememiş

3.2. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

C. acinaciformis metanol ekstresinin toplam fenolik madde analizi, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) reaktifi kullanılarak yapılmıştır. Analizde standart olarak gallik asit kullanılarak grafik oluşturulmuş ve bu grafik kullanılarak ekstredeki fenolik madde miktarı mg gallik asit (mg GAE/g ekstre) olarak hesaplanmıştır. Yapılan fenolik madde analizi sonucunda $61.26 \pm 0,110$ mg GAE/g ekstre olduğu belirlenmiştir. Metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarına ait sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. *C. acinaciformis* metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği (mg GAE/g ekstre)

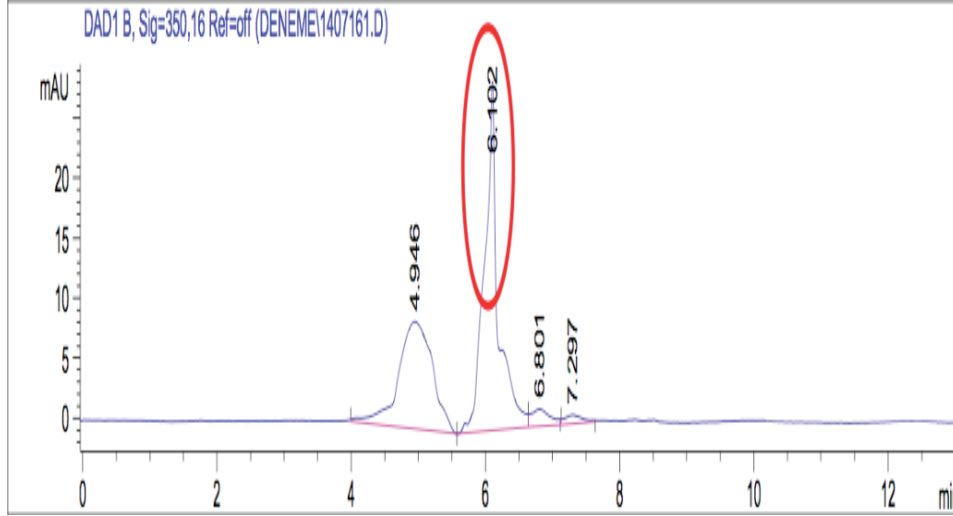
Ekstre tipi	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g ekstre)
Metanol ekstresi (CME)	$61.26 \pm 0,110$

CME: *C. acinaciformis* metanol ekstresi

Toplam fenolik içerik değeri, üç tekrarlı analizin ortalaması ± standart sapma değeridir.

3.3. HPLC Analizi sonuçları

C. acinaciformis metanol ekstresinin HPLC analiz sonuçları Şekil 1'de yer almaktadır. Analiz sonuçlarına göre, 1 ml metanol ekstresinde 753.4 ppm rutin bulunduğu tespit edilirken, neohesperidin, uvaol ve β -sitosterol varlığının ise bulunmadığı belirlenmiştir.



Şekil 1. *Carpobrotus acinaciformis* metanol ekstresi HPLC spektrumu

3.4. C. acinaciformis Metanol Ekstresinin DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Süpürme Aktivitesi

C. acinaciformis'den elde edilen farklı konsantrasyonlardaki (100, 250, 500 ve 1000 $\mu\text{g/ml}$) metanol ekstresinin antioksidan aktivitesine ilişkin elde edilen veriler Tablo 3'de yer almaktadır. Metanol ekstresi konsantrasyon artışına paralel olarak, oldukça yüksek seviyede DPPH radikalini süpürme aktivitesi göstermiştir. DPPH radikalini süpürme aktivitesi, en düşük konsantrasyon olan 100 $\mu\text{g/ml}$ 'de % 50 seviyesinin üzerine çıkmış, en yüksek konsantrasyon olan 1000 $\mu\text{g/ml}$ 'de ise, % 98.85 değerine ulaşmıştır. Bu değer, denemede standart olarak kullanılan rutin'den (% 95.80) bile daha yüksektir. Ekstrenin DPPH'ın %50'sini süpürdüğü konsantrasyon değeri (IC_{50}) ise, 15.23 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3: *C. acinaciformis* metanol ekstresinin DPPH süpürme, H_2O_2 süpürme ve metal şelatlama aktivitesi

Konsantrasyonlar	DPPH süpürme aktivitesi (% \pm SD)	DPPH süpürme için IC_{50} Değeri ($\mu\text{g/ml}$)	H_2O_2 süpürme aktivitesi (% \pm SD)	Metal şelatlama aktivitesi (% \pm SD)
100 $\mu\text{g/ml}$ CME	82.38 \pm 0.000*	15.23 \pm 0,057	0	0
250 $\mu\text{g/ml}$ CME	82.38 \pm 0.001*		0	1.67 \pm 0.003
500 $\mu\text{g/ml}$ CME	85.06 \pm 0.002*		0	2.28 \pm 0.002
1000 $\mu\text{g/ml}$ CME	98.85 \pm 0.002*		0	5.13 \pm 0.004
Rutin (10 $\mu\text{g/ml}$) ^x	95.80 \pm 0.000*		---	---
Askorbik asit (10 $\mu\text{g/ml}$) ^{xx}	---		43,90 \pm 0,005*	---
EDTA (50 $\mu\text{g/ml}$) ^{xxx}	---		---	77.56 \pm 0.330*

CME: *C. acinaciformis* metanol ekstresi, * $p < 0.05$

^x DPPH süpürme aktivitesi ölçümünde standart olarak kullanılmıştır.

^{xx} H_2O_2 süpürme aktivitesi ölçümünde standart olarak kullanılmıştır.

^{xxx} Metal şelatlama aktivitesi ölçümünde standart olarak kullanılmıştır.

3.5. C. acinaciformis Metanol Ekstresinin H_2O_2 Süpürme Aktivitesi

Metanol ekstresinin hidrojen peroksit (H_2O_2) süpürme aktivitesine ilişkin elde edilen veriler Tablo 3'de yer almaktadır. Elde edilen veriler incelendiğinde, metanol ekstresi denenen konsantrasyon aralığı içerisinde H_2O_2 süpürme aktivitesi göstermemiştir (Tablo 3).

3.6. C. acinaciformis Metanol Ekstresinin Metal Şelatlama Aktivitesi

Metanol ekstresinin denenen konsantrasyonlar aralığı içerisinde çok düşük oranda metal şelatlama aktivitesi göstermiştir (Tablo 3).

3.7. C. acinaciformis Metanol Ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 Kanser Hücre Hatları Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

C. acinaciformis metanol ekstresinin 250, 500 ve 1000 µg/ml'lik konsantrasyonları ile 72 saat süreyle muamele edilen MCF-7 ve Caco-2 kanseri hücre hatlarında ortaya çıkan *in vitro* sitotoksik etkiye ilişkin veriler Tablo 4 ve Şekil 2'de yer almaktadır. Metanol ekstresi MCF-7 hücrelerinde üzerinde denenen en düşük konsantrasyondan (250 µg/ml) başlayarak sitotoksik etki göstermeye başlamış (% 72.08) ve

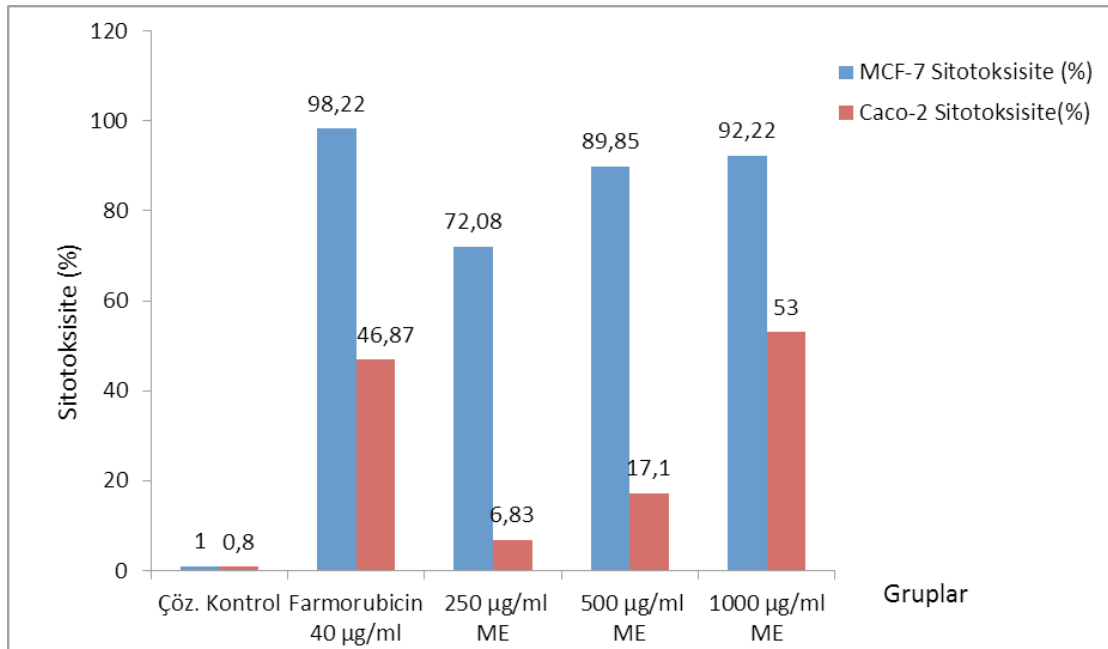
ekstre konsantrasyonunun artışı ile sitotoksik etki de artış göstermiştir. Denenen en yüksek konsantrasyon olan 1000 µg/ml'lik ekstre uygulaması sonucunda sitotoksik etki, % 92.22 değerine ulaşmıştır. Bu etki, meme kanseri tedavisinde kullanılan Farmorubicin'in gösterdiği sitotoksik etkiye (% 98.48) yaklaşmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, çözücü kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan da önemli bulunmuştur. ($p < 0.05$) (Tablo 4).

Metanol ekstresi en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 1000 µg/ml ekstre uygulaması hariç (% 53.00), Caco-2 hücreleri üzerinde kayda değer bir sitotoksik etki göstermemiştir. En yüksek ekstre konsantrasyonu uygulamasından elde edilen sonuç, çözücü kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiki açıdan önemli ($p < 0.05$) olup, Farmorubicin ile karşılaştırıldığında ise aradaki fark önemsizdir (Tablo 4 ve Şekil 2).

Tablo 4. C. acinaciformis bitkisinden elde edilen metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkisi

Gruplar	Konsantrasyon (µg/ml)	<i>in vitro</i> Sitotoksik Etki (%±sd) (MCF-7)	<i>in vitro</i> Sitotoksik Etki (%±sd) (Caco-2)
Çözücü Kontrol (DMSO)	% 0,1	1.00±0.001	0,80±0.001
Farmorubicin	40 µg/ml	98.22±0.003*	46.87±0.064*
CME	250 µg/ml	72.08±0.018*	6.83±0.124
	500 µg/ml	89.85±0.008*	17.10±0.193
	1000 µg/ml	92.22±0.105*	53.00±0.023*

CME: C. acinaciformis metanol ekstresi, * $p < 0.05$



Şekil 2: C. acinaciformis bitkisinden elde edilen metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkisi

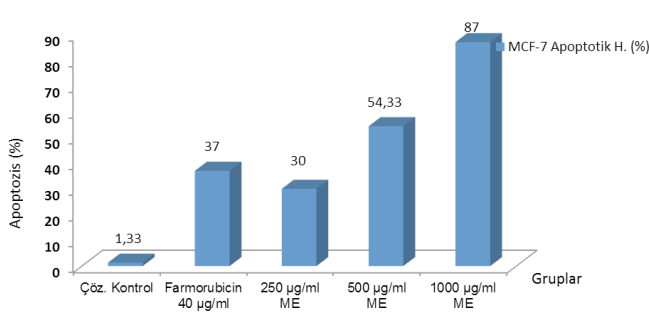
Tablo 5. C. acinaciformis metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 kanser hücreleri üzerindeki *in vitro* apoptotik ve nekrotik etkisi

Gruplar	Konsantrasyon	Sayılan Toplam Hücre	Hücreler			
			MCF-7		Caco-2	
			Apoptotik Hücre (%±SD)	Nekrotik Hücre (%±SD)	Apoptotik Hücre (%±SD)	Nekrotik Hücre (%±SD)
Çözücü Kontrol (DMSO)	% 0.1	3000	1.33±0.57	0.33±0.57	1.00±0.00	1.00±1.00
Farmorubicin	40 µg/ml	3000	37.00±2.00*	9.33±0.57	25.00±2.00*	2.00±1.00
CME	250 µg/ml	3000	30.00±1.00*	4.33±0.57	32.33±1.15*	5.33±0.57
	500 µg/ml	3000	54.33±2.08*	7.00±1.73	43.00±1.00*	6.67±1.00
	1000 µg/ml	3000	87.00±2.00*	2.33±0.57	49.00±1.00*	7.33±1.15

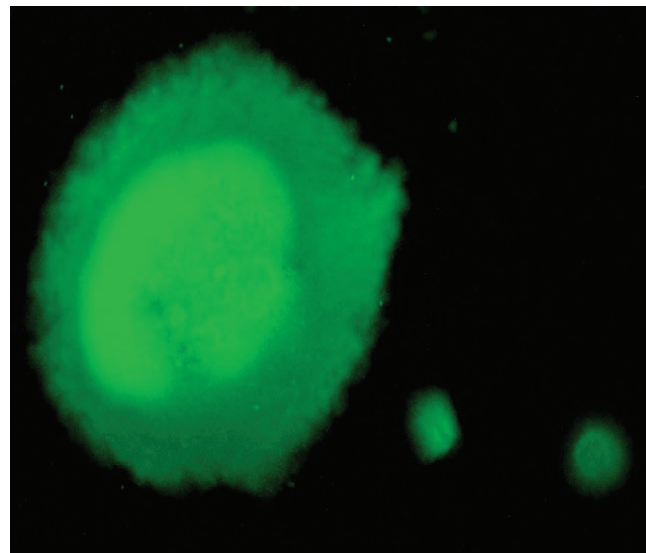
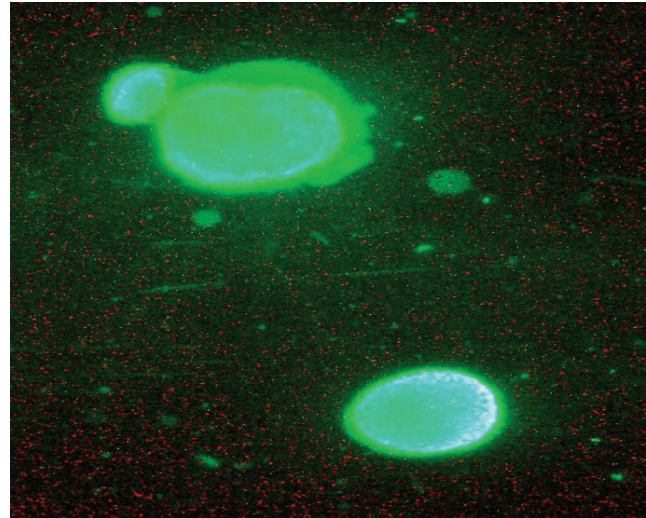
CME: C. acinaciformis metanol ekstresi, * p<0.05

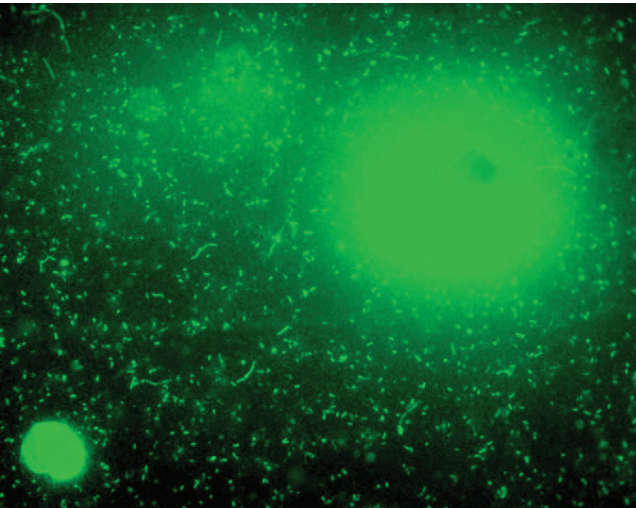
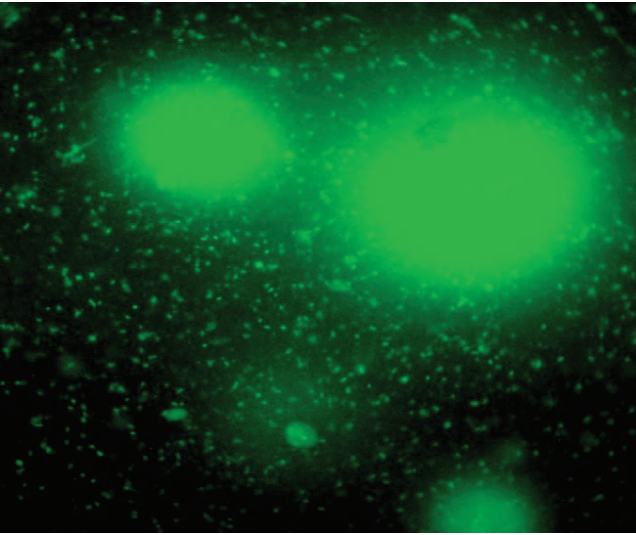
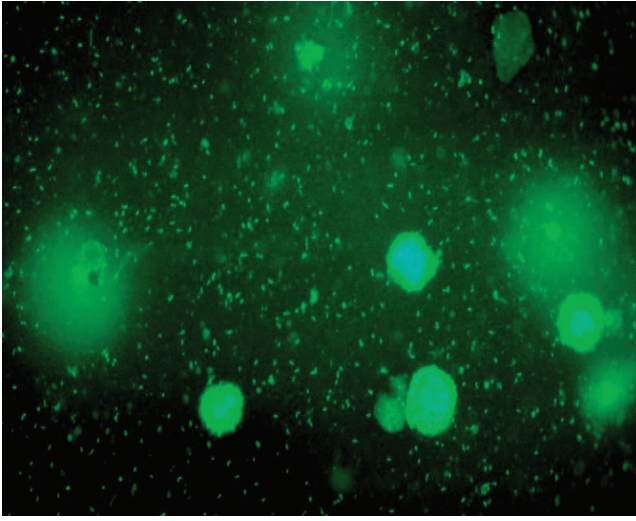
3.7. C. acinaciformis Metanol Ekstresinin Kanser Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Apoptotik Etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstresi ile 72 saat süreyle muamele edilen MCF-7 ve Caco-2 kanser hücrelerinde ortaya çıkan apoptotik ve nekrotik etkilere ilişkin veriler değerlendirildiğinde, metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde ekstre konsantrasyonu artışına bağlı olarak artan bir apoptotik etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 5). En yüksek uygulama konsantrasyonu olan 1000 µg/ml de gözlenen apoptotik etki % 87.00 olarak belirlenmiştir ki, bu antikanser ilaç olan Farmorubicin'nin gösterdiği etkiden (% 37.00) çok daha yüksektir: Bu sonuç kontrol grupları (pozitif kontrol ve çözücü kontrol) ile karşılaştırıldığında, istatistiki açıdan da önemlidir (Tablo 5, Şekil 3, Şekil 4). Gerek metanol ekstresi gerekse Farmorubicin MCF-7 hücreleri üzerinde önemli bir nekrotik etkide bulunmamıştır (Tablo 5 ve Şekil 3).



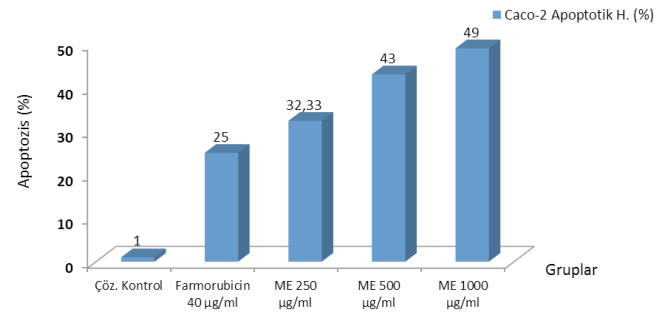
Şekil 3: C. acinaciformis metanol ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki *in vitro* apoptotik ve nekrotik etkisi



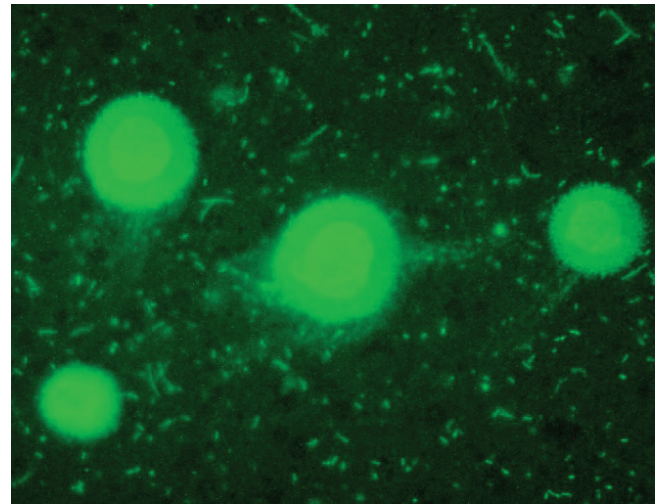


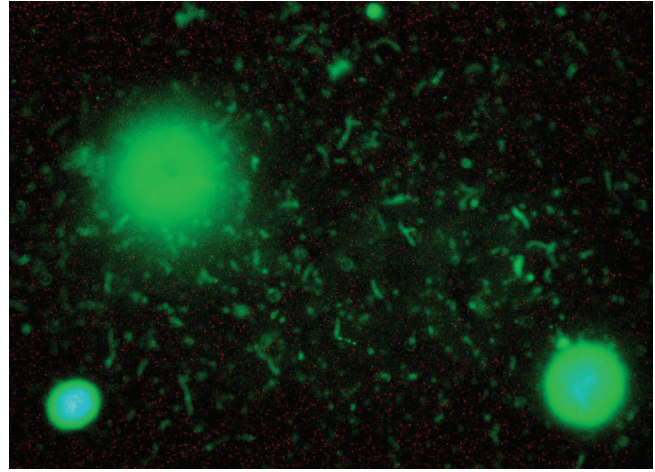
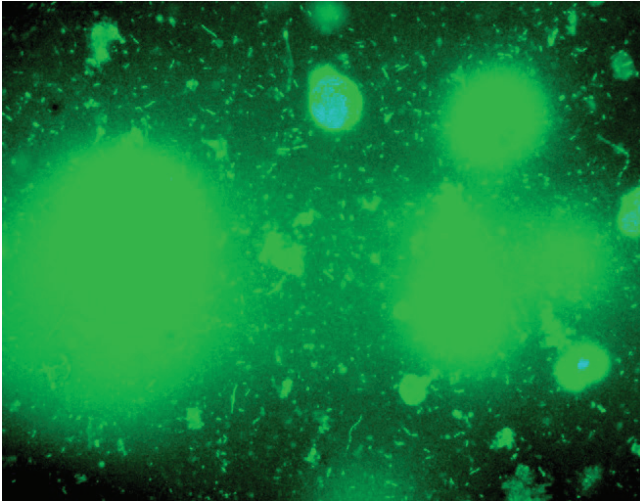
Şekil 4. *C. acinaciformis* metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki *in vitro* apoptotik ve nekrotik etkisi A: Çözücü kontrol; B: Farmorubicin; C: 250 µg/ml metanol ekstresi; D: 500 µg/ml metanol ekstresi; E: 1000 µg/ml metanol ekstresi (* normal hücre; apoptotik hücre)

Metanol ekstresinin Caco-2 hücreleri üzerindeki apoptotik etkisi ise konsantrasyon artışına bağlı olarak artmakla birlikte, MCF-7 hücrelerinde gözlenen apoptotik etkiye nazaran daha düşük olmuştur. 1000 µg/ml'lik en yüksek ekstre uygulamasında gözlenen etki ancak % 49.00'a ulaşabilmiştir (Tablo 5). Metanol ekstresinin Caco-2 hücreleri üzerindeki nekrotik etkisi de yine önemsiz olmakla birlikte, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha fazla nekrotik etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 5, Şekil 5, Şekil 6). Caco-2 hücrelerinde metanol ekstresi uygulaması sonrasında gözlenen nekrotik etki ile Farmorubicin'in nekrotik etkisi karşılaştırıldığında bu etki istatistiki açıdan önemsizdir (Tablo 5).

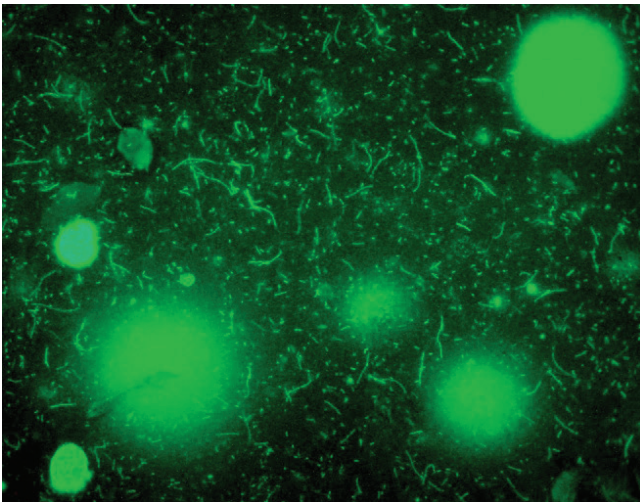
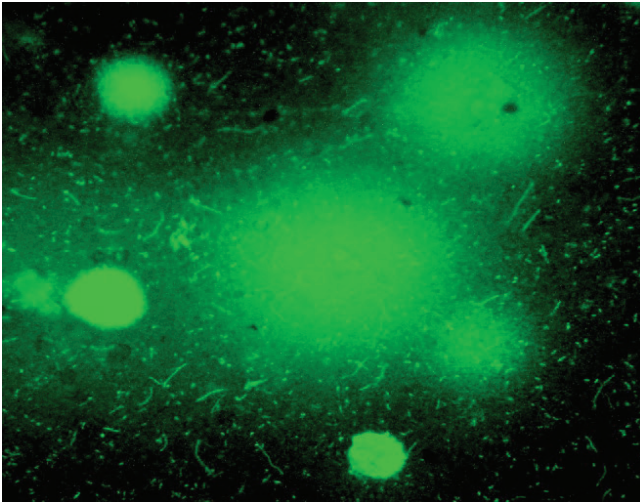


Şekil 5: *C. acinaciformis* metanol ekstresinin Caco-2 kolon kanseri hücreleri üzerindeki *in vitro* apoptotik ve nekrotik etkisi





Şekil 6: *C. acinaciformis* metanol ekstresinin Caco-2 hücreleri üzerindeki *in vitro* apoptotik ve nekrotik etkisi A: Çözücü kontrol Caco-2; B: Farmorubicin Caco-2; C: 250 µg/ml metanol ekstresi Caco-2; D: 500 µg/ml metanol ekstresi Caco-2; E: 1000 µg/ml metanol ekstresi Caco-2 (* normal hücre; apoptotik hücre; X nekrotik hücre).



IV. TARTIŞMA

Kalitatif fitokimyasal tarama testleri *C. acinaciformis* toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinde ağırlıklı olarak fenol ve taninlerin ve az miktarda da flavonoid ve antrakinon bulunduğunu, alkaloid ve saponinin ise olmadığını ortaya koymuştur (Tablo1). Ancak bu çalışmada sadece metanol ekstresi ile çalışıldığı için, değişik polaritelere sahip farklı ekstrelerde de bu taramanın yapılması sonucunda, farklı fitokimyasalların varlığının da belirlenebileceği düşünülmektedir.

Çalışmada metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğerliğine göre 61.26 ± 0.110 mg GA-E/g ekstre olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Fenolik maddece zengin olduğu gözlemlenen ekstrelerin serbest radikalleri süpürme aktivitesi de yüksek olmaktadır. Fenolik madde ve flavonoid miktarları ile antioksidan kapasitesi tayin yöntemleri arasında da bir ilişki mevcut olabileceği gibi, özellikle radikal süpürme temeline dayalı DPPH gibi metotların toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları ile ilişkisi de önemli olabilir [23].

DPPH radikali biyolojik bir radikal olmamasına rağmen, antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerinin tayini için kabul görmüş bir indikatördür [24, 25]. Metanol ekstresinin DPPH radikalini süpürme aktivitesinin konsantrasyon artışına bağlı olarak rutinden (% 95.80) bile oldukça yüksek (% 98.85) değerlere ulaştığı bulunmuştur (Tablo 2). Faleh ve arkadaşlarının [26] *Mesembryanthemum edule* L. (Aizoaceae) bitkisinin toprak üstü kısımları ile kökünden elde ettikleri

metanol ekstresinin antioksidan özelliklerini ve fenolik bileşiklerini belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre, bitkinin çalışılan bütün organlar pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'ye kıyasla yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. En yüksek antioksidan aktiviteyi bitkinin gövde ve yaprakların (sırasıyla, 86.5 ve 68.7 mg GAE g-1 DW) gösterdiği bulunmuştur. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarda, bu çalışmanın sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, metanol ekstresinde bulunan fenolik madde içeriğinin, ekstrenin gösterdiği antioksidan aktiviteyi de etkilediği söylenebilir. Bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen ekstraların çözücü özelliklerine göre farklı bileşikler içermesi, ekstraların DPPH üzerinden serbest radikali süpürücü aktivitelerinin birbirinden farklı olmasına ve polar çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraların, polar olmayan çözücüler kullanılarak elde edilen ekstralardan çok daha yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite göstermesine neden olabilmektedir [27-30]. Tek bir yöntemle antioksidan aktivitesi hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı, antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanılması ve elde edilen aktivite sonuçlarının, her bir özelliğe göre verilmesinin daha doğru bir yaklaşım olacağı da düşünülmektedir.

Canlı organizmalarda hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz gibi birçok enzim tarafından oluşturulabilir. Hidrojen peroksit çok reaktif değildir, fakat birçok hücre tipinde 20- 50 mg'ın üzerinde olduğunda serbest radikallerin artmasına sebep olduğundan, toksik etkiye neden olabilir. Hidrojen peroksit, hücre kültürüne ilave edildiğinde de geçiş metal iyonları varlığında oksidatif DNA hasarlarına sebep olan hidroksi iyonlarının oluşmasına sebep olur. Bütün bunlardan dolayı farmasötik ve gıda sistemlerini oksidatif hasardan korumak için bu sistemlerden hidrojen peroksidi uzaklaştırmak oldukça önemlidir [31]. Denemelerde standart olarak kullanılan askorbik asidin H₂O₂ süpürme aktivitesi % 43.90 iken; *C. acinaciformis* metanol ekstresinin H₂O₂ süpürme aktivitesinin bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Çalışmamızda metal iyonu şelatlama aktivitesi; bitki ekstraktlarının çözeltideki Fe²⁺ iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışmasına göre değerlendirilmiştir. Kıyaslama maddesi olarak iyi bir metal şelatlayıcı olan EDTA seçilmiştir. *C. acinaciformis* toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin metal şelatlama aktivitesinin neredeyse yok denecek kadar düşük olduğu belirlenmiş (sırası ile; % 0.00, % 1.67, % 2.28 ve % 5.13) ve standart olarak kullanılan EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi karşısında (% 77.56) etkisiz olduğu daha belirgin olmuştur (Tablo 3). Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi onun elektron transfer edebilmesiyle ilişkilidir ve potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilir. Geçiş

metalleri arasından Fe²⁺, lipid oksidasyonunda prooksidan olarak bilinir. Fenton reaksiyonu (Fe²⁺ + H₂O₂ → Fe³⁺ + OH⁻ + OH[•]) vasıtasıyla reaktif oksijen türlerini oluşturur ve lipid oksidasyonunu hızlandırır [32]. Bitki ekstraları, geçiş metal iyonlarını bağlayarak ortamdaki konsantrasyonlarını azaltır ve Fe²⁺ katalizli lipid peroksidasyonunu geciktirirler.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, *C. acinaciformis* bitkisi toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği ile DPPH radikalini süpürme aktivitesi arasında pozitif doğrusal bir ilişki olduğunu ve *C. acinaciformis* bitkisinde bulunan fenolik bileşiklerin (fenoller, taninler ve antrakınonlar) H₂O₂ süpürme aktivitesi çok düşük olmasına ve metal şelatlama aktivitesinin ise olmasına rağmen, iyi bir radikal süpürücü antioksidan kaynağı olabileceğini göstermiştir.

Sitotoksitenin belirlenmesi, çeşitli kimyasal ve fiziksel ajanlarla birlikte, bitkisel ekstraların potansiyel antineoplastik özelliklerinin belirlenmesine de yardımcı olmaktadır [33]. Kansere, proliferasyon dengesizliği ve apoptozis engeli ile karakterize edilen bir hastalık durumudur. Kontrolsüz hücre büyümesi ve proliferasyonu, karsinogenezisin en önemli özelliğidir [34]. Hücre proliferasyonunun inhibisyonu ve apoptozisin teşvik edilmesi tümör tedavisinde kullanılan etkili yöntemlerdendir [35, 36].

Araştırmanın sonuçları, *C. acinaciformis* toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin MCF-7 hücrelerinde oldukça yüksek oranda sitotoksik etkiye neden olduğunu, Caco-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin ise MCF-7'den daha düşük oranda olduğunu göstermiştir (p<0.05). *C. acinaciformis* toprak üstü kısımları metanol ekstresi artan konsantrasyonlarda MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerinde farklı derecelerde sitotoksik etki göstermiştir (Tablo 4, Şekil 2). MCF-7 hücreleri 1000 µg/ml metanol ekstresi ile muamele edildiğinde, ortaya çıkan sitotoksik etki % 92.22 olurken, aynı konsantrasyondaki metanol ekstresi muamelesi ile Caco-2 hücrelerinde gözlenen sitotoksik etki, ancak % 53.00 gibi bir değere ulaşabilmiştir. Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi pozitif kontrol olarak kullanılan ve antikanser ilaç olan Farmorubicin'in gösterdiği sitotoksik etkiye (% 98.22) yakın bulunmuştur (Tablo 4, Şekil 1).

Martins ve arkadaşları [37] *C. edulis*'in taze yapraklarını kullanarak elde ettikleri metanol ekstresinden saflaştırılan bileşiklerin (β-Amyrin, Oleanolic acid, Uvaol, Monogalactosyldiacylglycerol, Catechin, Epicatechin ve Procyanidin B5) fare lenfoma parental hücreleri ile insan MDR1 ile transfekte edilmiş fare lenfoma hücreleri üzerindeki antiproliferatif aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçları, *C. edulis* metanol ekstresinden elde edilen bileşikler ile muamele

edilen hem fare parental hem de MDR1 ile transfekte edilmiş hücrelerin çoğalmasının azaldığını göstermiştir. Oleanolik asit, uvaol ve kateşinin antiproliferatif aktivitesi ebeveyn hücre dizisinde daha belirgin olurken, β -Amyrin ve epikateşinin antiproliferatif etkisi ise her iki hücre dizisi için önemli ölçüde farklılık göstermemiştir. Araştırmacılar, Uvaol ve β -amirin veya oleanolik asit arasındaki yapısal farkın, C-29 pozisyonundaki metil grubundan kaynaklandığını ve bunun da bileşiklerin antiproliferatif aktivitesinde önemli bir rol oynadığını düşünmektedirler. Ayrıca, fare parental hücrelerinin de kanser hücreleri olmasından dolayı, metanol ekstresinde bulunan bileşiklerin bu hücrelerde de replikasyonu azalttığının gözden kaçırılmaması gerektiğini de belirtmişlerdir.

C. acinaciformis toprak üstü kısımları metanol ekstresinin MCF-7 ve Caco-2 hücreleri üzerinde oluşturduğu apoptotik etki de sitotoksik etkiye benzerlik göstermiştir (Tablo 5, Şekil 3, Şekil 4). Metanol ekstresi uygulaması ile MCF-7 hücreleri üzerinde Caco-2 hücrelerine nazaran daha fazla apoptotik etki ortaya çıkmış ve aradaki farkın istatistiki açıdan da önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdiği etki, antikanser ilaç olan Farmarubicin'in apoptotik etkisinden bile (% 37.00) çok daha yüksek olmuştur (sırası ile; % 30.00, % 54.33 ve % 87.00). Özellikle MCF-7 hücrelerinde ortaya çıkan güçlü sitotoksik ve apoptotik etki, metanol ekstresinde bulunan fenolik bileşikler (fenoller, taninler ve antrakınonlar) ile ilişkilendirilebilir. Çünkü fenolik bileşikler antioksidan aktivitenin yanı sıra, karsinojen metabolizmasının modülasyonu, hücre çoğalması ve farklılaşmasında onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde gen ifadesinin düzenlenmesi, hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozisin teşvik edilmesi, çeşitli sinyal akış yollarının inhibe edilmesi gibi çok sayıda tamamlayıcı ve bir arada çalışabilen etki mekanizmasına sahiptirler [28-42]. Ayrıca, fenolik bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak DNA'yı inhibe etmek suretiyle sitotoksik etki gösterdikleri de bilinmektedir [43].

Çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; *in vitro* bulgular, *C. acinaciformis* metanol ekstresinin MCF-7 hücreleri üzerinde gösterdiği güçlü sitotoksik ve apoptotik etki nedeni ile meme kanserine karşı DNA hasarına neden olabilecek potansiyel bir sitotoksik ajan olarak kullanılabilirliğini ve meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek bitkisel kaynaklar açısından kanser tedavisi için değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, özellikle metanol ekstresinde bulunan bileşiklerin izole edilerek daha ayrıntılı olarak çalışılması gerekmektedir. Ayrıca, bitkisel kökenli bileşiklerin *in vitro* ortamda farklı kanser hücreleri üzerinde gösterdiği sitotoksik ve apoptotik etkilerin, özellikle insan sağlığı açısından *in vivo* koşullarda nasıl bir etki oluşturacağına dair, daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu da açıktır.

TEŞEKKÜR

C. acinaciformis bitkisinin sistematik tayinini yapan Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Özkan Eren'e, *C. acinaciformis* metanol ekstresinin HPLC analizini Ege Üniversitesi EBİLTEM Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştiren Uzman Biyolog Fatih KARABEY'e ve bu çalışmayı FEF- 15034 No'lu proje ile destekleyen Adnan Menderes Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Visioli, F., Borsani, L. ve Gali, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc. Res.*, 47, 149-425.
- [2] Güney, O., Canbilen, A., Konak, A. ve Acar, O. (2003). The effects of folic acid in the prevention of neural tube development defects caused by phenytoin in early chick embryos. *Spine*, 28(5), 442-445.
- [3] Farr, D. R. (1997). Functional foods. *Cancer Letters*, 114, 59- 63.
- [4] Kitts, D.D., Wijewickreme, A.N. ve Hu, C. (2000). Antioxidant properties of a North American ginseng extract. *Molecular Cell Biochemistry*, 203, 1- 10.
- [5] Lee, J. C. ve Lim, K. T. (2001). Inhibitory effects of the ethanol extract of *Ulmus davidiana* on apoptosis induced by glucose- glucose oxidase and cytokine production in cultured mouse primary immune cells. *Journal of Biochemistry Molecular Biology*, 34, 463- 471.
- [6] Pezutto, J. M. (1997). Plant-derived anticancer agents. *Biochemecial Pharmacology*, 53, 121-133.
- [7] Christou, L., Hatzimichael E., Chaidos, A., Tsiara, S. ve Bourantas, K. L. (2001). Treatment of plasma cell leukemia with vincristine, liposomal doxorubicin and dexamethasone. *European Journal of Hematology*, 67, 51- 53.
- [8] Mukherjee, A. K., Basu, S., Sarkar, N. ve Ghosh, A. C. (2001). Advances in cancer therapy with plant-based natural products. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 1467- 1486.
- [9] Smets, L. A. (1994). Programmed cell death (apoptosis) and response to anticancer Drugs. *Anticancer Drugs*, 5, 3-9.
- [10] Paschka, A. G., Butler, R. ve Young, C. Y. F. (1998). Induction of apoptosis in prostate cancer cell lines by the green tea component, Epigallocatechin-3- Gallate. *Cancer Letters*, 130, 1-7.
- [11] Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem.*, 1, 569-590.
- [12] Wisura, W. ve Glen, H. F. (1993). The South African species of *Carpobrotus* (Mesembryanthema-Aizoaceae). *Contribution Bolus Herbal*, 15, 76-107.
- [13] Van der Watt, E. ve Pretorius, J. C. (2001). Short communication: Purification and identification of active antibacterial

- components in *Carpobrotus edulis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 76, 87-91.
- [14] Springfield, E. P., Amabeoku, G., Weitz, F., Mabusela, W. Ve Jhonson, Q. (2003). An assesment of two *Carpobrotus* species extracts as potential antimicrobial agents. *Phytomedicine*, 10, 434-439.
- [15] Ravishankara M. N. Neeta, S., Harish, P. ve Rajani, M. (2002). Evaluation of antioxidant properties of root bark of *Hemidesmus indicus* R. Br. (Anantmul). *Phytomedicine*, 9, 153-160.
- [16] Dominguez, X. A. 1973. Metodos de investigacion fitoquimica. In: Bolivar, P., Cruz-Peredes, C., Kernandez, L. R., Juarez, Z. N., Sanchez-Arreola, E., Av-Gay, Y. ve Bach, H. (2011). Antimicrobial, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of *Galium mexicanum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 141-147.
- [17] Singleton, V. L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [18] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. ve Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- [19] Ruch R. J., Cheng, S. J. ve Klaunig, J. E. (1989). Prevention of cyto-toxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10(6), 1003-1008.
- [20] Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almedia, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- [21] Mossman, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65, 55-63.
- [22] Singh, N. P. (2005). Apoptosis assessment by the DNA diffusion assay. *Methods in Molecular Medicine*, 111, 55-67.
- [23] Arıdur, R. ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi*, 17(2), 241-246.
- [24] Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czmerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.*, 105, 940-949.
- [25] Chen, T., Mei, N. ve Fu, P. P. (2010). Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology*, 30, 183-196.
- [26] Falleh, H., Ksouri, R., Medini, F., Guyot, S., Abdelly, C., Christian, M. (2011). Antioxidant activity phenolic composition of the medicinal and edible halophyte *Mesembryanthemum edule* L. *Industrial Crops and Products*. 34. 1066-1071
- [27] Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. ve Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231-237.
- [28] Vundać, V. B., Brantner, A. H. ve Plazibat, M. (2007). Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. *Food Chemistry*, 104, 1277-1281.
- [29] Aslantürk, Ö. S. (2010). Aydın Yöresinde Kullanılan Bazı Tıbbi Bitkilerin Antioksidan ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- [30] Aslantürk, Ö.S. ve Aşkın Çelik, T. A. (2013). Antioxidant activity and anticancer effect of *Vitex agnus-castus* L. (Verbenaceae) seed extracts on MCF-7 breast cancer cells. *Caryologia*, 66(3), 257-267.
- [31] Doğmuş, D. ve Durucasu, İ. (2013). Keten tohumu çeşitlerinin N-Bütanol fraksiyonlarının fenolik bileşenlerinin antioksidan aktivitesi. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 47 - 56.
- [32] Halliwell, B. ve Gutteridge J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- [33] Arunporn, I., Peter, J., Houghton, E. ve Amooquaye, E. (2004). *In vitro* cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *J. Ethnopharmacol.*, 90, 33-38.
- [34] Bartek, J., Lukas, C. ve Lukas, J. (2004). Checking on DNA damage in S phase. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5, 792-804.
- [35] Thompson, C. B. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 267, 1456-1462.
- [36] Kinloch, R. A., Trekerne, J. M., Furness, L. M. ve Hajimohamadreza, I. (1999). The pharmacology of apoptosis. *Trends in Pharmacology Science*, 20, 35-42.
- [37] Martins, A., Vasas, A., Schelz, M., Viveiros, M., Molnár, J., Hohman, J., Amaral, L. (2010). Constituents of *Carpobrotus edulis* inhibit P-glycoprotein of MDR-1 transfected Mouse lymphoma cells. *Anticancer Research*. 30.829-836.
- [38] Kwon, K. H., Barve, A., Yu, S., Huang, M.T. ve Kong, A.N.T. (2007). Cancer chemoprevention by phytochemicals: potential molecular targets, biomarkers, and animal models. *Acta Pharmacol. Sin.*, 28, 1409-1421.
- [39] Han, X. Z., Shen, T. ve Lou, H. X. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *Int. J. Mol. Sci.*, 8, 950-988.
- [40] Fresco, P., Borges, F., Diniz, C. ve Marques, M.P. (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Med. Res. Rev.*, 26, 747-766.
- [41] Garuti, L., Roberti, M. ve Pizzirani, D. (2005). Nitrogen-containing heterocyclic quinones: a class of potential selective anti-tumor agents. *Mini-Review Medicinal Chemistry*, 7, 481-489.
- [42] Demirezer, L. O., Kuruüzüm-Uz, A., Bergere, I., Schiewe, H. J. ve Zeeck, A. (2001). The structures of antioxidant and cytotoxic agents from natural source: anthraquinones and tannins from roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*, 58, 1213-1217.
- [43] Chang, Y. C., Tai, K. W., Huang, F. M., Huang, M. F. 2003. Cytotoxic and nongenotoxic effects of phenolic compounds in human pulp cell cultures. *J. Endodontics*, 26(8): 440-443.

Iterative Methods For Solving Nonlinear Lane-Emden Equations

Lineer Olmayan Lane-Emden Denklemlerinin Çözümünde İteratif Yöntemler

Faruk UÇAR ¹, Volkan YAMAN , Bülent YILMAZ ²

¹ Marmara University, Department of Mathematics, Kadikoy, 34722, Istanbul, Turkey

² Marmara University, Department of Mathematics, Kadikoy, 34722, Istanbul, Turkey

Abstract

In this paper we derive solutions for the nonlinear Lane-Emden type of equations with iterative methods, Daftardar-Jafari Method (DJM), Adomian Decomposition Method (ADM) and Differential Transformation Method (DTM). The difficulty of Lane-Emden type of equations for implementing these iterative methods is due to the singularity at $x = 0$. We compare the efficiency of DJM – which is the authentic part of the paper – with ADM and DTM in solving the nonlinear, singular, initial value Lane-Emden type of equations.

Keywords: Daftardar-Jafari Method (DJM), Adomian Decomposition Method (ADM), Differential Transformation Method (DTM), Lane-Emden type of equations, e nonlinear, singular, initial value Lane-Emden type of equations

Öz

Bu çalışmada lineer olmayan Lane-Emden tip denklemlerin Daftardar-Jafari Method (DJM), Adomian Decomposition Method (ADM) ve Differential Transformation Method (DTM) isimli yinelemeli yöntemlerle çözümlerini elde ettik. Bu yinelemeli yöntemlerin Lane-Emden tip denklemlere uygulanmasındaki zorluk, denklemlerin da tekil noktalarının olmasındandır. Bu çalışmanın özgün tarafı olarak, tekil, lineer olmayan, başlangıç değerli Lane-Emden tip denklemlerin çözümünde DJM yönteminin ADM ve DTM yöntemleriyle karşılaştırması yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Daftardar-Jafari Metodu (DJM), Adomian Ayrıştırma Metodu (ADM), Diferansiyel Dönüşüm Yöntemi (DTM), Lane-Emden tip denklemler.

I. INTRODUCTION

Lane-Emden equations are singular initial value problems that arise in the study of stellar structures. In this paper we consider Lane-Emden equations of the first kind;

(1)

$$\frac{d^2y}{dx^2} + \frac{2}{x} \frac{dy}{dx} + y^n = 0, \quad y(0) = 1, \frac{dy}{dx} \Big|_{x=0} = 0$$

and Lane-Emden equations of the second kind;

(2)

$$\frac{d^2y}{dx^2} + \frac{2}{x} \frac{dy}{dx} + e^y = 0, \quad y(0) = 1, \frac{dy}{dx} \Big|_{x=0} = 0$$

Lane - Emden equation of the first kind can be solved analytically for $n = 0, 1$ and 5 , for the remaining values of n numerical methods need to be applied [13]. There are some decomposition methods in literature that have been proposed to solve nonlinear problems without simplifying the original problem.

ADM, DTM and DJM have been shown to solve effectively and accurately large class of linear and nonlinear equations [1, 2, 3]. In literature first and second kind of Lane-Emden equations have been studied with ADM and DTM [5, 6, 7, 8, 9], but not with DJM so far.

In this paper we investigate the efficiency of DJM compared with ADM and DTM applied both to first and second kind of Lane-Emden equations through two numerical examples.

The paper is organized as Section 2 to illustrate briefly the theory of DJM, ADM and DTM, Section 3 to show the application of these 3 methods to two numerical problems and analysis of the results, and Section 4 to give a discussion and conclusion.

II. THEORY OF METHODS

1.1. Daftardar-Jafari Method (DJM). Let

(3)

$$y = N(y) + g$$

where N might be a nonlinear operator and g is a known function. DJM decomposes the solution y into series as

(4)

$$y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$$

With the series expansion (4), nonlinear operator $N(y)$ in (3) can be decomposed as

(5)

$$N\left(\sum_{n=0}^{\infty} y_n\right) = N(y_0) + \sum_{n=1}^{\infty} \left(N\left(\sum_{m=0}^n y_m\right) - N\left(\sum_{m=0}^{n-1} y_m\right) \right)$$

From (4) and (5), (3) can be rewritten as

(6)

$$y_0 + y_1 + \sum_{n=2}^{\infty} y_n = g + N(y_0) + \sum_{n=1}^{\infty} \left(N\left(\sum_{m=0}^n y_m\right) - N\left(\sum_{m=0}^{n-1} y_m\right) \right)$$

DJM considers $y_0 = g$ and $y_1 = N(y_0)$, and obtain the remaining y_n terms by the following recurrence relation;

(7)

$$y_0 = g$$

$$y_1 = N(y_0)$$

⋮

$$y_{m+1} = N(y_0 + y_1 + \dots + y_m) - N(y_0 + y_1 + \dots + y_{m-1}), \quad m =$$

This yields

(8)

$$y_1 + y_2 + \dots + y_{m+1} = N(y_0 + y_1 + \dots + y_m), \quad m = 1, 2, \dots$$

From this y can be written as follows

(9)

$$y = g + \sum_{n=0}^{\infty} y_n$$

It is shown that if N is a contraction operator then $y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$ converges absolutely and uniformly to the unique y in view of Banach fixed point theorem [4]. The practical solution will be the k -term approximation to y .

(10)

$$y \approx \sum_{n=0}^k y_n$$

2.2. Adomian Decomposition Method (ADM). Let

(11)

$$Ly + Ry + Ny = g$$

where L is the highest order linear differential operator ($L = \frac{d^n}{dt^n}(\cdot)$; with invertibility assumption), R is the remainder linear operator and N is the nonlinear operator and g is any function. By applying the inverse operator L^{-1} we get the following

(12)

$$L^{-1}Ly = L^{-1}g - L^{-1}Ry - L^{-1}Ny$$

where for initial value problems the inverse operator L^{-1} is conveniently defined as the n -fold definite integration operator from 0 to t . ADM decomposes the solution into a series

(13)

$$y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$$

Then

(14)

$$L^{-1}Ly = L^{-1}L \sum_{n=0}^{\infty} y_n = L^{-1}g - L^{-1}R \sum_{n=0}^{\infty} y_n - L^{-1}N$$

As N is a nonlinear operator, Ny can not be evaluated as $Ny_0 + Ny_1 + \dots$. ADM replaces Ny with a series of "Adomian" polynomials ($A_n, n = 0, 1, 2, \dots$) which are generated for the particular nonlinearity of the operator N . Thus we have

(15)

$$Ny = \sum_{n=0}^{\infty} A_n$$

With the definition of L^{-1} and by taking y_0 (the first term of the series $\langle y_n \rangle$) as the sum of $L^{-1}g$ and with the terms resulting from the initial conditions, (14) can be written as

(16)

$$y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n = y_0 - L^{-1}R \sum_{n=0}^{\infty} y_n - L^{-1} \sum_{n=0}^{\infty} A_n$$

Where A_n can be formulated as follows

(17)

$$A_0 = f(y_0)$$

(18)

$$A_n = \sum_{v=1}^n c(v,n) f^{(v)}(y_0), \quad n = 1, 2, \dots$$

Where $f^{(v)}(y_0)$ is the v^{th} derivative of the nonlinear term evaluated at y_0 and $c(v,n)$ is the function defined in [1]. A_1, A_2 and A_3 are calculated as given below

(19)

$$A_1 = c(1,1) f'(y_0) = y_1 f'(y_0)$$

$$A_2 = c(1,2) f'(y_0) + c(2,2) f''(y_0) = y_2 f'(y_0) + \frac{y_1^2}{2} f''(y_0)$$

$$A_3 = c(1,3) f'(y_0) + c(2,3) f''(y_0) + c(3,3) f^{(3)}(y_0) = y_3 f'(y_0) + y_1 y_2 f''(y_0) + \frac{y_1^3}{3!} f^{(3)}(y_0)$$

Convergence of $\sum_{n=0}^{\infty} A_n$ has been shown based on the assumption that nonlinear operator N is a contraction in Banach space [10].

Using (18) following recursive relation is obtained

(20)

$$y_1 = -L^{-1}Ry_0 - L^{-1}A_0$$

$$\vdots$$

$$y_n = -L^{-1}Ry_{n-1} - L^{-1}A_{n-1}$$

As y_0 is calculated from the initial conditions and A_n depends only on y_0, y_1, \dots, y_n we can find all y_n and A_n respectively.

The practical solution will be the k -term approximation to y .

(21)

$$y \approx \sum_{n=0}^k y_n$$

Convergence of the series $y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$ can be evaluated with the ratio test.

For $n = 0, 1, 2, \dots$ we define

(22)

$$\alpha_n = \frac{\|y_{n+1}\|}{\|y_n\|}$$

then the series $y = \sum_{n=0}^{\infty} y_n$ converges when $\alpha_n < 1$ for all $n = 0, 1, 2, \dots$ [11]

By the same ratio test, domain of convergence can also be determined as the interval where each α_n is less than 1 [12].

2.3 Differential Transformation Method (DTM). An arbitrary analytic function $y(x)$ can be expanded by a Taylor series about any point x_0 as

(23)

$$y(x) = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{1}{k!} \left. \frac{d^k y(x)}{dx^k} \right|_{x=x_0} (x - x_0)^k$$

Differential Transformation of $y(x)$ is defined as

(24)

$$Y(k) = \frac{1}{k!} \left. \frac{d^k y(x)}{dx^k} \right|_{x=x_0}, \quad k = 0, 1, 2, \dots$$

and Differential inverse transform of $Y(k)$ is defined as

(25)

$$y(x) = \sum_{k=0}^{\infty} Y(k) (x - x_0)^k$$

Thus, with n -terms approximation we obtain

(26)

$$y(x) \approx \sum_{k=0}^n Y(k) (x - x_0)^k$$

The fundamental operations of DTM performed at $x = 0$ is shown in Table 1.

Table 1 - Most used Diff Transform Operators

Original Function	Transformed Function
$y(x) = u(x) \pm v(x)$	$Y(k) = U(k) \pm V(k)$
$y(x) = c u(x)$	$Y(k) = c U(k)$
$y(x) = u(x)v(x)$	$Y(k) = \sum_{l=0}^k U(l)V(k-l)$
$y(x) = \frac{d^n u(x)}{dx^n}$	$Y(k) = \frac{(k+n)!}{k!} U(k+n)$
$y(x) = x^n$	$Y(k) = \delta(k-n) = \begin{cases} 1, & \text{if } k = n \\ 0, & \text{if } k \neq n \end{cases}$
$y(x) = e^{\lambda x}$	$Y(k) = \frac{\lambda^k}{k!}$

III. NUMERICAL APPLICATIONS

In this section we consider numerical examples to compare the efficiency of DJM, ADM and DTM in solving two Lane-Emden type of equations, one of first kind and other is of second kind.

Example 1. Lane-Emden equation of first kind;

(27)

$$\frac{d^2y}{dx^2} + \frac{2}{x} \frac{dy}{dx} + y^5 = 0$$

$$y(0) = 1, \quad y'(0) = 0$$

Exact solution is $\left(1 + \frac{x^2}{3}\right)^{-\frac{1}{2}}$ [13].

Solving with ADM:

To interpret the equation in operator form in a way to rescue from the singularity at $x = 0$ we define the operator L as follows as shown in [5];

$$L(.) = x^{-2} \frac{d}{dx} \left(x^2 \frac{d}{dx} \right) (.)$$

$$Ly = x^{-2} \frac{d}{dx} \left(x^2 \frac{d}{dx} \right) y = \frac{2}{x} \frac{dy}{dx} + \frac{d^2y}{dx^2}$$

So (27) can be interpreted as

(28)

$$Ly = -y^5$$

Conveniently we define the inverse operator

$$L^{-1}(.) = \int_0^x x^{-2} \int_0^x x^2 (.) dx dx$$

Applying L^{-1} to (28) we obtain;

(29)

$$y = y(0) - L^{-1}y^5$$

Taking into consideration the initial values and series expansion of y we obtain the following recursive relation with $y_0 = 1$.

(30)

$$y_i = - \int_0^x x^{-2} \left(\int_0^x x^2 A_{i-1} dx \right) dx$$

for $i = 1, 2, \dots$ where the A_i are the Adomian polynomials for the nonlinear term y^5 .

The ADM solution for the first 13 terms of y_i is as follows;

$$y = \frac{676039 x^{24}}{2229025112064} - \frac{29393 x^{22}}{30958682112} + \frac{46189 x^{20}}{15479341056} - \frac{12155 x^{18}}{1289945088} + \frac{715 x^{16}}{23887872} \\ - \frac{143 x^{14}}{1492992} + \frac{77 x^{12}}{248832} - \frac{7 x^{10}}{6912} + \frac{35 x^8}{10368} - \frac{5 x^6}{432} + \frac{x^4}{24} - \frac{x^2}{6} + 1$$

We now check the region of convergence of this solution y by the ratio test defined in (2.20) through the first 12 terms of the series. We are looking for the upper limit of x that make all $\alpha_i < 1$ ($i = 0$ to 12).

As shown on the graph upper limit of x gets almost steady starting from 8^{th} term which means the upper limit of the region of convergence will not be less than 1.5.

Graph of the exact solution and Adomian solution $y(x)$ is shown below in the region of convergence $x \in (0, 1.5)$;

Solving with DTM:

To remove singularity at $x = 0$ both sides of (27) is multiplied by x . So we have

(31)

$$x \frac{d^2y}{dx^2} + 2 \frac{dy}{dx} + x y^5 = 0$$

Applying Differential Transform to (31) we obtain

(32)

$$\sum_{l=0}^k \delta(l-1) (k-l+1) (k-l+2) Y(k-l+2) + 2 (k+1) Y(k+1) + \sum_{l=0}^k \delta(l-1) \left(\sum_{m=0}^{k-l} Y(m) \left(\sum_{t=0}^{k-l-m} Y(t) \left(\sum_{p=0}^{k-l-m-t} Y(p) \left(\sum_{r=0}^{k-l-m-t-p} Y(r) Y(k-l-m-t-p-r) \right) \right) \right) \right) \right)$$

From initial conditions we get $Y(0) = 1$ and $Y(1) = 0$. The remaining $Y(k)$ are recursively obtained from (3.6). The DTM solution for the 23 terms of y_i ($i = 0$ to 22) is as follows;

$$y = \frac{46189 x^{20}}{15479341056} - \frac{12155 x^{18}}{1289945088} + \frac{715 x^{16}}{23887872} - \frac{143 x^{14}}{1492992} + \frac{77 x^{12}}{248832} - \frac{7 x^{10}}{6912} + \frac{35 x^8}{10368} - \frac{5 x^6}{432} + \frac{x^4}{24} - \frac{x^2}{6} + 1$$

Solving with DJM:

We use the same inverse operator L^{-1} as used in ADM solution.

(33)

$$Ly = -y^5$$

(34)

$$y = y(0) - L^{-1}y^5$$

By applying the DJM on (34) we get the following

(35)

$$y_{i+1} = - \int_0^x x^{-2} \left(\int_0^x x^2 \left(\left(\sum_{k=0}^i y_k \right)^5 - \left(\sum_{k=0}^{i-1} y_k \right)^5 \right) dx \right) dx, \quad i = 0, 1, \dots$$

where from the initial conditions we have $y_0 = y'(0) = 1$. y_1, y_2 and y_3 are shown below, and remaining y_i are found recursively.

$$y_1 = -\frac{x^2}{6}$$

$$y_2 = \frac{x^{12}}{1213056} - \frac{x^{10}}{28512} + \frac{5x^8}{7776} - \frac{5x^6}{756} + \frac{x^4}{24}$$

$$y_3 = -\frac{x^{62}}{10259743193767782369829953843757056}$$

$$+ \frac{45192062724133692873264662052864}{170655x^{58}}$$

$$- \frac{6971801742056723225964870528663552}{1222645x^{56}}$$

$$+ \frac{6954823849639869721128603066826752}{787296635x^{54}}$$

$$- \frac{85418832769825016462132128644071424}{45537508673x^{52}}$$

$$+ \frac{121097892548167564490553573324619776}{132931480411x^{50}}$$

$$- \frac{106953294398244470706011914255728640}{1803028635x^{48}}$$

$$+ \frac{52696947466204028616851060686848}{1329643780895x^{46}}$$

$$- \frac{166079883996987040626285704380416}{6697763153581x^{44}}$$

$$+ \frac{41404744437731736770382976253952}{37659458624195x^{42}}$$

$$+ \frac{5801288321401x^{40}}{129904692527318733362848333824} - \frac{189472789416445x^{38}}{304343107560615298081795080192}$$

$$+ \frac{15781104767624555319407935488}{10426114956665x^{34}} + \frac{46601856508615x^{32}}{50681726188984432749182976}$$

$$- \frac{117489456165373003191287808}{5398476088321x^{30}} + \frac{50681726188984432749182976}{17160622399925x^{28}}$$

$$- \frac{618313070389026924527616}{39894960567365x^{26}} + \frac{224941851772352089030656}{119572763x^{24}}$$

$$- \frac{6482314476268951764992}{26018783219810304}$$

$$- \frac{50429974571x^{22}}{1584736629814001664} + \frac{407717491x^{20}}{1993021273571328} - \frac{708048755x^{18}}{579603125477376} + \frac{159505x^{16}}{23538138624}$$

$$- \frac{638941x^{14}}{18307441152} + \frac{92975x^{12}}{560431872} - \frac{421x^{10}}{598752} + \frac{65x^8}{27216} - \frac{5x^6}{1008}$$

⋮

The graph of DJM solution for the 6 terms of y_i ($i = 0$ to 5) is as follows;

Example 2. Lane-Emden equation of second kind;

(36)

$$\frac{d^2y}{dx^2} + \frac{2}{x} \frac{dy}{dx} + 4(2e^y + e^{\frac{y}{2}}) = 0$$

With initial conditions $y(0) = 0$ and $y'(0) = 0$.

Exact solution is $-2 \ln(1 + x^2)$

Solving with ADM:

We use the same operator L and the inverse operator L^{-1} used in the first example

(37)

$$Ly = -4(2e^y + e^{\frac{y}{2}})$$

(38)

$$y = y(0) - L^{-1}4(2e^y + e^{\frac{y}{2}})$$

(39)

$$y_i = -\int_0^x x^{-2} \left(\int_0^x x^2 A_{i-1} dx \right) dx$$

for $i = 1, 2, \dots$ where the A_i are the Adomian polynomials for the nonlinear term $4(2e^y + e^{\frac{y}{2}})$.

The ADM solution for the first 13 terms of y_i ($i = 0$ to 12) is as follows

$$y = \frac{x^{24}}{6} - \frac{2x^{22}}{11} + \frac{x^{20}}{5} - \frac{2x^{18}}{9} + \frac{x^{16}}{4} - \frac{2x^{14}}{7} + \frac{x^{12}}{3} - \frac{2x^{10}}{5} + \frac{x^8}{2} - \frac{2x^6}{3} + x^4 - 2x^2$$

For the convergence region of the series y we check the upper limit of the domain x that ensure $\alpha_i < 1$ for each $i = 0$ to 11 by the ratio test defined at (2.20).

As shown on the graph upper limit of x gets steady at the value 1 starting from the δ^{th} term which means the upper limit of the region of convergence will be around 1.0.

Graph of exact solution and Adomian solution $y(x)$ is shown below for $x \in (0, 1.5)$;

We see on this graph that the series solution y is not a good approximation to the exact solution when x is out of region of convergence as stated above ($x > 1$)

Solving with DTM:

To overcome the singularity at $x = 0$ both sides of (36) is multiplied by x , obtaining

(40)

$$x \frac{d^2y}{dx^2} + 2 \frac{dy}{dx} + x4(2e^y + e^{\frac{y}{2}}) = 0$$

Table 1 does not include the differential transformation of functions in the form of $e^{\alpha y}$. This transformation can be handled by using Maclaurin series expansion of $e^{\alpha y(x)}$ where α is a scalar.

(41)

$$e^{\alpha y(x)} = e^{\alpha y(0)} + \alpha y'(0) e^{\alpha y(0)} x + \frac{(\alpha y''(0) e^{\alpha y(0)} + (\alpha y'(0))^2 e^{\alpha y(0)})}{2} x^2 +$$

$$\frac{(\alpha y^{(3)}(0) e^{\alpha y(0)} + e^{\alpha y(0)} \alpha y''(0) y'(0) + 2 \alpha y'(0) e^{\alpha y(0)} y''(0) + e^{\alpha y(0)} (\alpha y'(0))^3)}{3!} x^3 + \dots$$

We define $g(x) = e^{y(x)}$ whose differential transform is $G(k)$ and $q(x) = e^{\frac{y(x)}{2}}$ whose differential transform is $Q(k)$.

We then apply differential transformation to (41)

(42)

$$\sum_{l=0}^k \delta(l-1) (k-l+1) (k-l+2) Y(k-l+2) + 2 (k+1) Y(k+1)$$

$$+ 8 \sum_{l=0}^k \delta(l-1) G(k-l) + 4 \sum_{l=0}^k \delta(l-1) Q(k-l) = 0$$

where from the initial conditions we have $Y(0) = 0$, and $Y(1) = 0$.

$G(k)$ ($k = 0, 1, \dots$) is derived from the following illustration of $g(x)$ again with the initial conditions of $Y(0) = 0$ and $Y(1) = 0$ and $y^{(k)}(0) = k! Y(k)$. As seen $G(k)$ s depend only on $Y(j)$ s with $j \leq k$.

$$g(x) = 1 + Y(2) x^2 + Y(3) x^3 + \frac{1}{4} [2 Y(2)^2 + 4 Y(4)] x^4 + \frac{1}{5} [5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)] x^5$$

$$+ \frac{1}{6} \left[3 Y(3)^2 + 4 Y(2) Y(4) + \frac{1}{2} Y(2) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + c_6 Y(6) \right] x^6$$

$$+ \frac{1}{7} \left[4 Y(3) Y(4) + \frac{3}{4} Y(3) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 5 Y(2) Y(5) + \frac{2}{5} Y(2) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) \right. \\ \left. + 7 Y(7) \right] x^7$$

$$+ \frac{1}{8} \left[Y(4) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 5 Y(3) Y(5) + \frac{3}{5} Y(3) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + 6 Y(2) Y(6) \right. \\ \left. + \frac{1}{3} Y(2) \left(3 Y(3)^2 + 4 Y(2) Y(4) + \frac{1}{2} Y(2) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 6 Y(6) \right) \right. \\ \left. + 8 Y(8) \right] x^8$$

$$\begin{aligned}
& + \frac{1}{9} \left[\frac{5}{4} (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) Y(5) + \frac{4}{5} Y(4) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + 6 Y(3) Y(6) \right. \\
& \quad + \frac{1}{2} Y(3) \left(3 Y(3)^2 + 4 Y(2) Y(4) + \frac{1}{2} Y(2) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 6 Y(6) \right) \\
& \quad + 7 Y(2) Y(7) \\
& \quad + \frac{2}{7} Y(2) \left(4 Y(3) Y(4) + \frac{3}{4} Y(3) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 5 Y(2) Y(5) \right. \\
& \quad \left. \left. + \frac{2}{5} Y(2) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + 7 Y(7) \right) + 9 Y(9) \right] x^9
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& + \frac{1}{10} \left[Y(5) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + \frac{3}{2} (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) Y(6) \right. \\
& \quad + \frac{2}{3} Y(4) \left(3 Y(3)^2 + 4 Y(2) Y(4) + \frac{1}{2} Y(2) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 6 Y(6) \right) \\
& \quad + 7 Y(3) Y(7) \\
& \quad + \frac{3}{7} Y(3) \left(4 Y(3) Y(4) + \frac{3}{4} Y(3) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 5 Y(2) Y(5) \right. \\
& \quad \left. + \frac{2}{5} Y(2) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + 7 Y(7) \right) + 8 Y(2) Y(8) \\
& \quad + \frac{1}{4} Y(2) \left(Y(4) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 5 Y(3) Y(5) \right. \\
& \quad + \frac{3}{5} Y(3) (5 Y(2) Y(3) + 5 Y(5)) + 6 Y(2) Y(6) \\
& \quad + \frac{1}{3} Y(2) \left(3 Y(3)^2 + 4 Y(2) Y(4) + \frac{1}{2} Y(2) (2 Y(2)^2 + 4 Y(4)) + 6 Y(6) \right) \\
& \quad \left. \left. + 8 Y(8) \right) + 10 Y(10) \right] x^{10} + \dots
\end{aligned}$$

$Q(k)$ ($k = 0, 1, \dots$) is derived from the similar illustration of $q(x)$.

With these $G(k)$ and $Q(k)$ and initial conditions, (42) can be solved for each k up to the desired approximation term.

The DTM solution for the 19 terms of y_i ($i = 0$ to 18) is found as

$$y = 0.25 x^{16} - 0.285714 x^{14} + 0.333333 x^{12} - 0.4 x^{10} + 0.5 x^8 - 0.666667 x^6 + x^4 - 2 x^2$$

Solving with DJM:

We use the same operator L and L^{-1} used in the first example.

(43)

$$Ly = -N(y)$$

(44)

$$y = y_0 - \int_0^x x^{-2} \left(\int_0^x x^2 4 (2e^y + e^{\frac{y}{2}}) dx \right) dx$$

By applying DJM we obtain the following recurrent relation

(45)

$$y_{i+1} = - \int_0^x x^{-2} \int_0^x x^2 \left[8 e^{\sum_{k=0}^i y_k} + 4 e^{\sum_{k=0}^i \frac{y_k}{2}} - \left(8 e^{\sum_{k=0}^{i-1} y_k} + 4 e^{\sum_{k=0}^{i-1} \frac{y_k}{2}} \right) \right] dx dx$$

With $y_0 = 1$ from the initial conditions.

Integral in (45) can't be solved analytically for $i > 0$.

However we can use Maclaurin series expansion of e^y by agreeing with the truncation error which would definitely converge to zero as the number of the series terms (n) increase. So (45) can be rewritten as follows

(46)

$$y_{i+1} = - \int_0^x x^{-2} \int_0^x x^2 \left[8 \sum_{r=0}^{\infty} \frac{(\sum_{k=0}^i y_k)^r}{r!} + 4 \sum_{r=0}^{\infty} \frac{(\sum_{k=0}^i \frac{y_k}{2})^r}{r!} - \left(8 \sum_{r=0}^{\infty} \frac{(\sum_{k=0}^{i-1} y_k)^r}{r!} + 4 \sum_{r=0}^{\infty} \frac{(\sum_{k=0}^{i-1} \frac{y_k}{2})^r}{r!} \right) \right] dx dx$$

For the practical solution we take n as a finite number. Using (46) we get

$$y_1 = -2 x^2$$

$$y_2 = -4.463632181023485 x^{22} + 0.0000269012 x^{20} - 0.00014881 x^{18} + 0.000749883 x^{16} - 0.0034127 x^{14} + 0.0138889 x^{12} - 0.05 x^{10} + 0.157407 x^8 - 0.428571 x^6 + x^4$$

⋮

The DJM solution for 21 terms of y_i ($i = 0$ to 20) is as follows

$$y = -0.181818 x^{22} + 0.2 x^{20} - 0.222222 x^{18} + 0.25 x^{16} - 0.285714 x^{14} + 0.333333 x^{12} - 0.4 x^{10} + 0.5 x^8 - 0.666667 x^6 + x^4 - 2 x^2$$

IV.CONCLUSION

We analyzed 3 iterative methods for solving singular nonlinear Lane-Emden equations. As can easily be seen from solution plots Lane-Emden equation of first kind is solved very effectively with all ADM, DTM and DJM. Second kind Lane-Emden equation can be solved by ADM and DTM directly whereas DJM requires to use the series expansion of the exponential nonlinear term. We also find out second kind Lane-Emden equation with the exponential nonlinear term can be approximated within a narrower convergence region compared with the first kind equation.

REFERENCES

- [1] Adomian, G. (1986). *Nonlinear stochastic operator equations*. Academic Press. New York
- [2] Zhou, J.K. (1986). *Differential transformation and its applications for electrical circuits (in Chinese)*. Huazhong University Press. China
- [3] Daftardar-Gejji, V. and Jafari, H. (2006). An iterative method for solving nonlinear functional equations. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 316, 753-763
- [4] Bhalekar, S., Daftardar-Gejji, V. (2011). Convergence of the new iterative method. *International Journal of Differential Equations*, Vol:2011, 1-10

- [5] Wazwaz, A.M. (2001). A new algorithm for solving differential equations of Lane-Emden type. *Applied Mathematics and Computation*, 118, 287-310
- [6] Wazwaz, A.M., Rach, R. (2011). Comparison of the Adomian decomposition method and the variational iteration method for solving the Lane-Emden equations of the first and second kinds. *Kybernetes*, Vol. 40, No. 9/10, 1305-1318
- [7] Mukherjee, S., Roy, B., Chatterjee, P.K (2011). Solution of Lane-Emden equation by differential transform method. *International Journal of Nonlinear Science*, Vol.12, No.4, 478-484
- [8] Khan, Y., Svoboda, Z., Smarda, Z. (2012). Solving certain classes of Lane-Emden type of equations using the differential transformation method. *Advances in Difference Equations*, <https://doi.org/10.1186/1687-1847-2012-174>
- [9] Wazwaz, A.M., Rach, R., Duan, J.S. (2013). A study on the systems of Volterra integral forms of the Lane-Emden equations by the Adomian decomposition method. *Mathematical Methods In The Applied Science*, DOI: 10.1002/mma.2776
- [10] Cherruault, Y., Adomian, G., Abbaoui, K. and Rach, R. (1995). Further remarks on convergence of decomposition method. *International Journal of Bio-Medical Computing*, 38, 89-93
- [11] Hosseini, M. M., Nasabzadeh, H. (2006). On the convergence of Adomian decomposition method. *Applied Mathematics and Computation*, 182, 536-543
- [12] Adomian, G. (1984). On the convergence region for decomposition solutions. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 11, 379-380
- [13] Chandrasekhar, S. (1967). *An introduction to the study of stellar structure*. Dover. New York. pp.91 - 95

Pseudevernia furfuracea (L.) Zopf Likeninin Antibakteriyel Aktivitesi ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması

Assessment of Antibacterial Activity and Antioxidant Capacity in Lichen Pseudevernia furfuracea (L.) Zopf

Sinem GÜLTEKİN¹, Gülşah ÖZYİĞİTOĞLU²

¹Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kadıköy/İstanbul, TÜRKİYE.

²Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kadıköy/İstanbul, TÜRKİYE.

Öz

Bir mantar (mikobiyont) ve bir yeşil algin ve/veya siyanobakterinin (fotobiyont) bir araya gelmesiyle oluşan likenler; bu ortak yaşam sonucunda kendilerine özgü sekonder metabolitler üretirler. Yapılan araştırmalarda likenlerin bu sekonder metabolitler sayesinde çeşitli biyolojik aktivitelere ve antibakteriyel etkilere sahip oldukları bildirilmektedir. Bu çalışmada bir epifitik (ağaç üzerinde yetişen) dalsı liken *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf türüne ait örneklerden elde edilen aseton ekstrelerinin ATCC 29212 *Enterococcus faecalis*, ATCC 25923 *Staphylococcus aureus*, CECT 4122 *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 25922 *Escherichia coli* suşları üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca aynı liken ekstrelerinin antioksidan kapasiteleri Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri Gram negatif bakterilere karşı etkisiz olurken Gram pozitif bakterilerin gelişimini inhibe etmiştir. Antioksidan olarak ise $9,653 \pm 0,102 \mu\text{g TE/gr}$ değerinde hesaplanan yüksek düzeyde kapasite göstermiştir. Doğadan elde edilmiş olan *P. furfuracea* likeninin farmakoloji alanında aktif olarak kullanılabilir potansiyele sahip olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Liken, *Pseudevernia furfuracea*, antibakteriyel aktivite, antioksidan kapasite, sekonder metabolit

Abstract

Lichens are formed by the combination of a fungus (mycobiont) and a green alga and / or a cyanobacterium (photobiont), and as a result they produce unique secondary metabolites. Studies have shown that lichens have various biological and antibacterial effects due to these secondary metabolites. In this study, an antibacterial activity of acetone extracts from an epiphytic (growing on tree) fruticose lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf were investigated by disk diffusion method against ATCC 29212 *Enterococcus faecalis*, ATCC 25923 *Staphylococcus aureus*, CECT 4122 *Pseudomonas aeruginosa* and ATCC 25922 *Escherichia coli* strains. Also antioxidant capacities of the same extracts were assessed by Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) method. According to the results obtained, the antibacterial activities of *P. furfuracea* acetone extracts were ineffective against Gram negative bacteria but inhibited the development of Gram positive bacteria. In addition, a high level of antioxidant activity was calculated with a value of $9.653 \pm 0.102 \mu\text{g TE / gr}$. It is seen that *P. furfuracea* has a potential to be used as a natural resource in the field of pharmacology.

Keywords: Lichen, *Pseudevernia furfuracea*, antibacterial activity, antioxidant capacity, secondary metabolite

I. GİRİŞ

Likenler en az bir mantar türü ile bir fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterinin mutualist birliktelikleri ile oluşan ortakyaşar organizmalardır. Liken birliklerinde mantar; yaşamını sürdürmek, büyüebilmek ve üreyebilmek için gerekli olan karbon kaynağı olarak algi kullanırken alg, fotosentezde kullanacağı su ve minerali mantardan sağlamanın yanında, fiziksel

olarak olumsuz koşullara karşı da mantar tarafından korunur [1, 2]. Bu ortak yaşam sonucunda likenler, kendisini oluşturan mantar veya alg ortağına hiç benzerlik göstermeyen, yepyeni özellikler gösterirler.

Ekstrem koşullarda likenin fotosentez gibi fizyolojik olaylarının yavaşlaması sonucu büyümeleri de çok yavaş olmaktadır. Likenler, çok yavaş üremelerinden kaynaklanan rekabette zayıf kalma dezavantajlarını, ürettikleri özel maddeler sayesinde telafi ederler. Metabolizmaları sonucu açığa çıkan ve antimikrobiyal etkiye sahip bu maddeler likene özgü olup izole haldeki mantar ve algde bulunmamaktadır [3, 4]. Liken sekonder metabolitlerinin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu çok sayıda araştırmayla ortaya konulmuştur. Bu çalışmalardan bir kısmı likenlerin antibakteriyel [5, 6], antioksidan [7, 8], antiviral [9], bir kısmı antitümöral [10], antiinflamatuvar [11] gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Eski ve yeni literatürde likenler, “soğuk algınlıkları, barsak kurtlarının düşürülmesi, kuduz, ateşli hastalıklar, humma nöbetleri, alerji, cilt hastalıkları, sarılık, boğmaca, solunum yolu hastalıkları, öksürük ve kemik kırıklarının” tedavisinde; balgam söktürücü olarak ve laksatif amaçlı kullanımlarının yanında, damar küçültücü olarak da kan akışı engellenmesinde kullanımları ile kayıtlıdır.

Likenler sentezledikleri sekonder metabolitleri çevresel koşullara uyum sağlama ve savunma aracı olarak kullanılırlar [12]. Bu metabolitlerin özellikle Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere oranla daha etkili olduğu ve bazı mantarlara karşı antagonist aktivite gösterdiği bildirilmiştir [13]. Gram negatif bakterilerin daha duyarsız olma sebebi amfipatik ya da hidrofobik moleküllere daha az geçirgen olan bir dış membrana sahip olması ile açıklanmıştır [14].

En dış yörüngede eşleşmemiş elektrona sahip moleküller olarak tanımlanan “serbest radikaller” vücutta normal metabolik reaksiyonlar sonucu ya da sigara ve alkol kullanımı, hava kirliliği, bazı ilaçlar ve radyasyona maruz kalma gibi nedenlerle oluşabilirler [15, 16]. Gıdalarda veya vücutta düşük derişimlerde bulunduğu bir hedef molekülün oksidatif hasarını geciktiren, engelleyen veya ortadan kaldıran maddeler antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan özellikteki maddeler serbest radikallerin lipitlere, proteinlere veya DNA ya verebileceği zarara karşı bir savunma kalkanı niteliğindedir [17]. Bu zarar veya hasarlar kalp hastalıkları, şeker hastalığı, damar sertliği gibi çeşitli ciddi hastalıklara sebep olabilmektedir [18]. Serbest radikallerin etkisiz duruma getirilmesi dokuların bu hasarlardan korunabilmesi için önemlidir. Çeşitli bitkilerden elde edilmiş karotenoidler, fenoller, askorbik asit ve azotlu bileşikler doğal

kaynaklı antioksidanlardır [5]. Bu bilgilere dayanarak son yıllarda likenlerin de antioksidan kapasitelerinin araştırıldığı çalışmalar artmaya başlamıştır [6, 8, 19].

Dalsı liken türü *Pseudevernia furfuracea*, bir koruyucu olarak (sabun, kozmetik kokuları gibi) ve besleyici olarak (ekmek yapımında) tarih boyunca işlenmiştir [20]. Bu çalışmada *P. furfuracea* liken örneklerinin antibiyotik ve antioksidan kapasite potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Liken aseton ekstralarının hazırlanması

Bursa ili Alaçam bölgesinden toplanan liken örnekleri *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf olarak tayin edilmiştir. Tanımlaması yapılan liken örnekleri yıkanıp kurumaya bırakılmış, kuruyan likenler porselen havanda parçalanarak toz haline getirilmiştir. Toz halindeki örnekler hassas terazi ile ölçüm alınarak steril falkonlara doldurularak üzerlerine 35 ml (mililitre) aseton ilave edilmiştir. Liken sekonder metabolitleri için iyi bir çözücü olarak bilinmesinden dolayı liken ekstraları aseton ile hazırlanmıştır. Hazırlanan falkon tüpler 24 saat boyunca ışık görmeyen ortamda beklemeye bırakılmıştır. Bekleme süresi bittikten sonra Whatman No.1 filtre kağıdından geçirilerek Soxhlet ekstraktörü yardımıyla asetonun büyük bir kısmı uçurularak, kalan asetonun da uçması için steril cam petrilere alınarak 24 saat çeker ocakta bekletilmiştir. Asetonun uçmasıyla cam petrilere kalan liken ekstraları kazınarak steril ependorflara konulmuş ve deneyde kullanılmak için uygun şartlarda muhafaza edilmiştir.

2.2. Test bakterilerinin hazırlanması

Test edilen bakteriler, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 4122) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922), Yeditepe Üniversitesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Luria Bertoni (LB) besiyerinde prosedürlere uygun olarak çoğaltılan bakteri suşları 1 gece boyunca 37 °C' de inkübe edilmiştir. UV-VIS Spektrofotometre ile bakteri konsantrasyonları 0,5 McFarland'a ayarlanmıştır.

2.3. Disk difüzyon testi

P. furfuracea türüne ait liken örneklerinden elde edilen ekstralardan hassas terazide 13,8 mg ölçülerek 1462,5 mikrolitre (1,4625 ml) asetonla çözündürülmüştür. 9 mg/ml konsantrasyona sahip olan ekstralar 6 mm çapındaki steril disklerle önce bir yüzeye 10 µl eklenilmiş ve asetonun uçması beklenildikten sonra steril diskin diğer yüzüne de 10

µl ekstre eklenilmiştir. İşlem 20 µl, 40 µl ve 80 µl dozlarını elde edene kadar yapılmıştır. 0,5 McFarland konsantrasyonundaki bakterilerden 35 µl alınarak steril cam baget ile LB Agar besi yerlerine yayılarak hazırlanmış petrilere hazırlanan diskler uygun mesafelerde ve üç doz olacak şekilde yerleştirilmiştir. Karşılaştırma amaçlı; *E. faecalis* ve *S. aureus* suşlarının yayıldığı besi yerlerine Sulphamethoxazole 25 µg, *P. aeruginosa* ve *E. coli* suşlarının olduğu besi yerlerine ise Ciprofloxacın 5 µg antibiyotik diski yerleştirilmiştir. Kontrol amacı ile aseton emdirilmiş diskler de hazırlanmış ve tüm petrilere 37 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilere bulunan disklerde inhibisyon zonu oluşup oluşmadığı kontrol edildikten sonra inhibisyon zonuna sahip disklerin ölçümleri cetvel ile yapılarak kaydedilmiştir. Deney üç tekrarlı olarak çalışılmış ve sonuçlar ortalama değerler hesaplanarak bulunmuştur.

2.4. Antioksidan kapasite testi

Apak ve ark. (2004) tarafından geliştirilen CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi kullanılmıştır [21].

CUPRAC yöntemi için; 1,0 x 10⁻² M CuCl₂ · 2H₂O ve 1,0 M amonyum asetat 250 ml distile su, 1,0 M neocuproin 50 ml etanol içerisinde çözündürülmüştür. Antibakteriyel aktivite deneyi ile aynı konsantrasyonda (9 mg/ml) olacak şekilde toz liken ekstresi asetonunda çözülmüştür. Hazırlanan üç solüsyondan 50 µl alınarak cam tüpe konulduktan sonra üzerine 55 µl liken ekstresi konulmuştur. Kontrol grubu olarak üç solüsyona liken ekstresi yerine 55 µl aseton konulmuştur. İyice çalkanan tüpler ağzı kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. 30 dakikalık bekleme süresinin ardından örnekler UV spektrofotometrede 450 nm absorbansta ölçülmüştür. Troloks referans antioksidan olarak kullanılmış ve elde edilen verilerin standart sapmaları ve ortalamaları belirlenmiştir. Deneyler üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

III. BULGULAR

3.1. Antibakteriyel aktivite

Disk difüzyon ile elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Zon ölçümleri ortalama değerlerine göre, en yüksek antibakteriyel etki *S. aureus* üzerinde, en yüksek doz olan 80 µl *P. furfuracea* aseton ekstresinin emdirildiği diskte 18 mm olarak ölçülmüştür. Disklere emdirilen ekstre miktarının azalması ile birlikte zon çaplarının da küçüldüğü görülmüştür. Gram pozitif bakterilere karşı belli oranda inhibisyon zonu oluştururken Gram

negatif bakterilerin olduğu besi yerlerinde disk etrafında herhangi bir zon oluşmadığı gözlemlenmiştir.

Tablo 1. *Pseudevernia furfuracea* aseton ekstresinin inhibisyon zonları

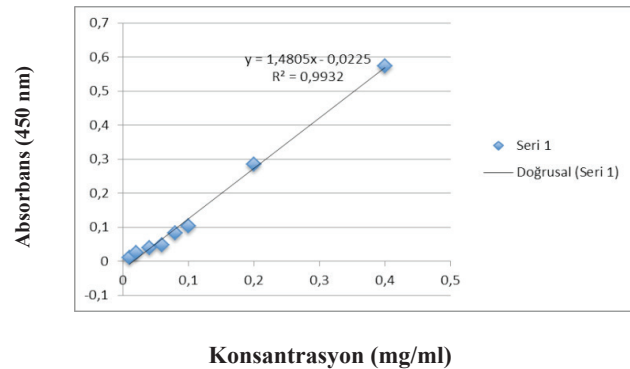
BAKTERİ SUŞU	İNİHİBİSYON ZONLARI (mm)				
	20 µl	40 µl	80 µl	CIP 5 µg	SXT 25 µg
Enterococcus faecalis (ATCC 29212)	15±1	16±1	17±0.7	D	26±0.6
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	16±0.7	17±0.7	18±0.7	D	26±1
Pseudomonas aeruginosa (CECT 4122)	-	-	-	32±0.6	D
Escherichia coli (ATCC 25922)	-	-	-	25±0.6	D

* Rakamlar mm olarak inhibisyon zonlarının çaplarını ifade etmektedir. Her disk 6 mm çapındadır.

Sonuçlar yapılan üç deneyin ortalamasını göstermektedir. (-): inhibisyon yok, (D): denenmedi

3.1. Antioksidan kapasite

P. furfuracea liken aseton ekstresinin antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemi ile test edilmiştir. Bu yöntemde antioksidan kapasite, 2,9 dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbanı veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanılarak hesaplanmaktadır.



Şekil 1. Liken aseton ekstresinin Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi

CUPRAC karışımı *P. furfuracea* ekstresi ve kontrol grubu olarak aseton ilave edilerek ölçüm yapılmış ve *P. furfuracea*'ya ait grupta antioksidan kapasitesine bağlı olarak sarı renk oluşumu gözlemlenmiştir. Troloks çözeltisinden alınan hacime bağlı ml bazındaki absorban değerleri ölçülerek troloks kalibrasyon grafiği çıkarılmış ve grafikteki

troloks etkinliği ile *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin etkinlikleri oranlanmıştır (Şekil 1). Sonuç olarak *P. furfuracea* ekstrelerinin CUPRAC yöntemi ile ölçülen antioksidan değeri; $9,653 \pm 0,102 \mu\text{g TE/gr}$ olarak hesaplanmıştır.

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Likenlerin yaşamlarını sürdürebilmelerinde liken madelerinin rolü büyüktür. Yetiştikleri habitatlarda kendilerini mikroorganizmalara, böceklerle, radyasyona, vb. etkilere karşı koruyabilmeleri için sekonder metabolitleri ürettikleri birçok yayında belirtilmiştir [2, 4, 14, 22].

Likenlerin kendilerine özgü ürettikleri bu sekonder metabolitler sayesinde çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdikleri bilinmektedir. Bu çalışmada incelenen *Pseudevernia furfuracea* likeninden atrarık asit [8, 23], atranorin [8, 24], fisodik asit, oksifisodik asit, fisodalik asit, virensik asit [24], kloratranorin, metil hematomat, metil klorohematomat [23], absisik asit, poliaminler (putresin and spermidin) [25] ve furfurik asit [26] gibi metabolitler elde edilmiştir. *P. furfuracea* (var. *ceratea*) likeninin aseton ekstresinden izole edilen olivetorik asitin güçlü anti-anjiyogenik aktivite sergilediği ve bununla birlikte diklorometan, aseton ve metanol ekstreleri arasında en yüksek antioksidan kapasitesinin aseton ekstresinde olduğu rapor edilmiştir [27].

Bu çalışmada, ülkemizdeki ormanlarda geniş yayılış gösteren dalsı ağaç likeni *P. furfuracea* aseton ekstrelerinin, ikisi Gram pozitif ikisi Gram negatif olan 4 bakteriye karşı disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesi ve bunun yanında CUPRAC yöntemi ile antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Çözücü olarak asetonun tercih edilmesinin nedeni asetonun liken içindeki sekonder metabolitler için iyi bir çözücü olduğunun literatürde sıklıkla kaydedilmesidir [25, 26, 27]. Bakterilere karşı inhibisyon aktiviteleriyle ilgili çalışmalarda test edilecek olan liken ekstrelerinin hazırlanmasında kullanılan farklı çözücülerin farklı metabolitleri aktif hale getirdikleri görülmüştür. Nitekim, liken sekonder metabolitleri ve likenlerin biyolojik aktiviteleriyle ilgili çok sayıda çalışmadan oluşan güncel bir derlemede; likenlerin türlerine, sekonder metabolit içeriklerine ve yetiştikleri ortama bağlı olarak değişen oranlarda antimikrobiyal etkiler gösterdikleri ve bununla birlikte kullanılan çözücü ya da yöntemsel farklılıkların da etkinlik düzeylerini etkilediği bilgisi verilmiştir [22].

Çeşitli liken türlerinin antibakteriyel etkinliklerinin test edildiği birçok yayın bulunmaktadır. Ancak likenlerin biyolojik aktivite seviyeleri türe göre değiştiğinden, burada özellikle çalışmamızdaki ile aynı liken türünü (*P. furfuracea*) içeren çalışmaların sonuçları karşılaştırılmıştır. Yine de liken türleri veya kullanılan yöntemler bakımından farklılık

göstermeleri nedeniyle bazı çalışmaların sonuçlarının karşılaştırılmaları güç olmaktadır. Bu çalışmada antibakteriyel etkileri bakımından test edilen liken aseton ekstreleri, Gram negatif bakteriler üzerinde herhangi bir inhibe edici etki göstermezken, Gram pozitif bakterilere karşı orta seviyede antibakteriyel etki göstermişlerdir. Bununla birlikte antioksidan kapasite testi sonucu oldukça yüksektir.

Osmanağaoğlu ve ark. (2000) tarafından *P. furfuracea* var. *furfuracea* ve *Evernia divaricata* likenleri ile yapılan çalışmada, aseton ve kloroform liken ekstreleri Gram pozitif çomak ve koklar, Gram negatif çomaklar ve *Candida albicans* üzerinde disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Çalışmamızla benzer olarak, sadece Gram pozitif bakterilerde inhibisyon zonları görülürken Gram negatif bakterilerde herhangi bir etki görülmemiştir. Ayrıca çalışmada çözücü olarak aseton kullanımının kloroform kullanımına göre daha büyük çaplarda inhibisyon zonu oluşumu sağladığı sonucuna varılmıştır [28].

Mitrovic ve ark. (2014) tarafından *Platismatia glauca* ve *P. furfuracea* liken türlerinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmada, altı Gram pozitif ve beş Gram negatif bakteri suşu ile çalışılmış ve farklı çözücülerde gösterdikleri etkileri karşılaştırılmıştır. Her iki liken türünün de benzer bakterilere etki gösterdiği fakat *P. furfuracea*'nın daha yüksek antimikrobiyal etkisi olduğu belirtilmiştir. *P. furfuracea*'nın metanol ekstresinin, diğer çözücülere kıyasla, *S. aureus* üzerinde daha güçlü etkili olduğunu göstermişlerdir. Buna göre *P. furfuracea* likeni için metanolün asetonundan daha iyi bir çözücü olduğu düşünülebilir. İki çalışma arasında, aynı liken türü için dahi (*P. furfuracea*), toplandığı bölgeler, antimikrobiyal aktivitede kullanılan yöntem (mikrodilüsyon) ve kullanılan çözücüler bakımından farklılıklar bulunduğu görülmektedir [8].

P. furfuracea türüne ait farklı ekstrelerin çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla Gücin ve ark. (1997) tarafından yapılan bir başka çalışmada, Gram negatif bakterilere karşı hiçbir etki olmazken Gram pozitif bakterilerden *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. subtilis*e karşı tüm ekstrelerde antibakteriyel etki saptanmıştır. Elde ettikleri sonuçlar çalışmamızla paralellik göstermektedir [5].

Güvenç ve ark. (2012) tarafından *P. furfuracea* üzerinde disk difüzyon ile yapılan diğer bir çalışma ise çalışmamızı destekler nitelikte sonuçlara sahiptir. Buna göre *E. coli* üzerinde etki göstermeyen ekstrelerin Gram pozitif mikroorganizmalara karşı belirgin aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak metanol, etil asetat ve diklorometan ekstrelerinin kullanılması nedeniyle çözücü bakımından çalışmamız ile farklıdır [23].

P. furfuracea likeninin antioksidan kapasitesiyle ilgili pek az çalışma bulunmaktadır. Örneğin *P. glauca* ve *P. furfuracea* türlerinin güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu kaydedilen Mitrović ve ark. (2014)'ın çalışmasında yöntem bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Çalışmada su ve metanol ekstraları radikal süpürücü kapasite yöntemi olan (-Difenil-1-pikrihidrazil) DPPH ile değerlendirilmiştir [8]. Yine Güvenç ve ark. (2012) tarafından *P. furfuracea* üzerinde DPPH yöntemiyle fakat farklı çözücülerle yapılan antioksidan kapasite çalışmasında metanol ekstralarına göre daha düşük bulunmuştur [23].

Odabaşoğlu ve ark. (2005)'nın çalışmasında ise *P. furfuracea* metanol ekstresinin toplam fenolik içeriğinin yüksek olmasına rağmen antioksidan kapasitesinin düşük olduğu sonucu elde edilmiştir [29].

Sarıkürkçü ve ark. (2016) tarafından *P. furfuracea* metanol ve su ekstralarının in vitro antioksidan kapasiteleri ve enzim önleme faaliyetlerinin değerlendirildiği bir çalışmada yine metanol ekstralarının hem fenolik hem de flavonoid bileşikler bakımından zengin olduğu kaydedilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız aseton ekstralarından farklı olarak, bu çalışmalarda metanol ile hazırlanmış olan *P. furfuracea* ekstralarının belirgin olarak daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir [19].

Biyolojik aktivite üzerine yapılan çeşitli *in vitro* çalışmalar, likenlerin bazı doğal ve deneysel faktörlere bağlı olarak değişen oranlarda antibakteriyel etkileri ve antioksidan kapasiteleri olduğunu ortaya koymaktadır. Ülkemizde doğal yayılışı çok olan *P. furfuracea* likeninin antibakteriyel ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı bu çalışma ise, likenin toplandığı yer ve aseton çözücü kullanılması nedeniyle diğerlerinden farklılık göstermektedir. Aynı liken üzerine yapılan diğer çalışmaların sonuçları, uygulanan yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte bu liken türünün genel anlamda hem antibakteriyel hem antioksidan potansiyele sahip olduğunu söylemek mümkündür.

Bu çalışma, seçilen türün geleneksel tıbbi kullanıma sahip olması ile ve aseton ekstralarının test edilmesi yönüyle diğer çalışmalardan ayrılmaktadır. Çalışmamızın doğal bitkisel kaynaklarımız olan likenlerden alternatif antibiyotik ve antioksidan olarak yararlanılabilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışma sürecinde laboratuvar imkanı sağlayan Doç. Dr. N. Cenk SESAL'a ve deney aşamasındaki yardımları için Ezgi UÇARKUŞ ile Barış GÖKALSIN'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Nash III, TH. (1996). Lichen Biology, Cambridge: Cambridge University Press.
- [2] Dayan, F. E., & Romagni, J. G. (2001). Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 12(6), 229-232.
- [3] Harmala, P., Hiltunen, R., Oksman-Caldentey, K. M., Laakso, T., & Kauppinen, V. (1992). Isolation and in vitro cultivation of lichen algae and their antimicrobial properties. *Fitoterapia*, 63, 217-225.
- [4] Lawrey, J. D. (1986). Biological role of lichen substances. *Bryologist*, Volume 89(2), 111-122.
- [5] Gücün, E., Dülger, B. Aslan, A. (1997). *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. Likenin Antimikrobiyal Aktivitesi, *Ekoloji-Çevre Dergisi*, 7(25), 22-24.
- [6] Öztürk, Ş., Güvenç, Ş., (1995). Farklı Bölgelerden Toplanan Liken Örneği *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. var. *furfuracea*'nın Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması. *Tr. J. of Botany*, 19, 145-148.
- [7] Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- [8] Mitrovic, T., Stamenkovic, S., Cvetkovic, V., Radulovic, N., Mladenovic, M., Stankovic, M., ... & Comic, L. (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents. *EXCLI journal*, 13, 938.
- [9] Neamati, N., Hong, H., Mazumder, A., Wang, S., Sunder, S., Nicklaus, M. C., ... & Pommier, Y. (1997). Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *Journal of medicinal chemistry*, 40(6), 942-951.
- [10] Demleitner, S., Kraus, J., & Franz, G. (1992). Synthesis and antitumor activity of derivatives of curdlan and lichenan branched at C-6. *Carbohydrate research*, 226(2), 239-246.
- [11] Süleyman, H., Yildirim, D., Aslan, A., Göçer, F., Gepdiremen, A., & Güvenalp, Z. (2002). An Investigation of the Anti-inflammatory Effects of an Extract from *Cladonia rangiformis* HOFFM. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(1), 10-13.
- [12] Huneck, S. (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86(12), 559-570.
- [13] Culberson W., L. (1970). Chemosystematics and ecology of lichens-forming fungi. *Ann Rev Ecol Sys*, 1, 153-70.
- [14] Lawery, J. D. (1989). Lichen secondary Compounds Evidence for a Correspondence Between Antiherbivore and Antimicrobial Function. *Bryologist*, 92(3), 326-328.
- [15] Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445.
- [16] Fang, Y. Z., Sheng, Y., WU, G. (2002). *Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition*. Department of Biochemistry

- and Molecular Biology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing, China. Oct; 18, 872-879.
- [17] Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- [18] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- [19] Sarikurcu, C., Kocak, M. S., Calapoglu, M., Ocal, C., & Tepe, B. (2016). Biological and phytochemical evaluation: *Pseudevernia furfuracea* as an alternative multifunctional agent. *Journal of Functional Foods*, 24, 11-17.
- [20] Joulain, D., & Tabacchi, R. (2009). Lichen extracts as raw materials in perfumery. Part 2: treemoss. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(3), 105-116.
- [21] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [22] Özyiğitoğlu, G. Ç., Açıkgöz, B., & Sesal, C. (2016). Lichen secondary metabolites: Synthesis pathways and biological activities. *Acta Biologica Turcica*, 29(4), 150-163.
- [23] Güvenç, A., Akkol, E. K., Süntar, İ., Keleş, H., Yıldız, S., & Çalış, İ. (2012). Biological activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf extracts and isolation of the active compounds. *Journal of ethnopharmacology*, 144(3), 726-734.
- [24] Proksa, B., Adamcova, J., Sturdikova, M., & Fуска, J. (1994). Metabolites of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and their inhibition potential of proteolytic enzymes. *Die Pharmazie*, 49(4), 282-283.
- [25] Unal, D., Senkardesler, A., & Sukatar, A. (2008). Abscisic acid and polyamine contents in the lichens *Pseudevernia furfuracea* and *Ramalina farinacea*. *Russian journal of plant physiology*, 55(1), 115-118.
- [26] Gunzinger, J., & Tabacchi, R. (1985). Isolement et identification de l'acide furfurique, nouvelle depsidone du lichen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Ach. *Helvetica chimica acta*, 68(7), 1936-1939.
- [27] Koparal, A. T., Ulus, G., Zeytinoğlu, M., Tay, T., & Türk, A. Ö. (2010). Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. *Phytotherapy research*, 24(5), 754-758.
- [28] Osmanağaoğlu, Ö., Yıldız, A., & Saçılık, S. (2000). Türkiye'deki farklı bölgelerden izole edilen likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 30, 17-19.
- [29] Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Bayir, Y., & Halici, M. (2005). Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76(2), 216-219.